

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ»**

На правах рукописи

МОРОЗ АННА АНДРЕЕВНА

**НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У
ВЗРОСЛЫХ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПАТОЛОГИЕЙ БЕЛОГО
ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА**

14.01.11 – Нервные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН,
профессор, доктор медицинских наук
С.Н. Иллариошкин

Москва – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. ЦАДАСИЛ	13
1.2. Лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ).....	21
1.3. Синдром тремора/атаксии, ассоциированный с ломкой X-хромосомой (FXTAS).....	28
1.4. Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами (НДЛС) ..	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	39
2.1. Методы клинического обследования	39
2.2. Нейрофизиологические методы обследования	42
2.3. Нейровизуализационные методы обследования	44
2.4. Молекулярно-генетические методы обследования.....	46
2.5. Статистический анализ данных	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	55
3.1. Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ)	55
3.1.1. Клиническая характеристика пациентов.....	55
3.1.2. Нейропсихологическое тестирование	59
3.1.3. Эндогенные (когнитивные) вызванные потенциалы Р300.....	66
3.1.4. Нейровизуализационное обследование.....	67
3.1.5. Генетическое обследование	69
3.1.6. Характеристика семейных случаев ЦАДАСИЛ	72
3.2. Лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ)	75
3.2.1. Клиническая характеристика пациентов.....	75
3.2.2. Нейропсихологическое тестирование	77

3.2.3. Эндогенные (когнитивные) вызванные потенциалы Р300.....	79
3.2.4. Нейровизуализационное обследование.....	82
3.2.5. Генетическое обследование.....	83
3.3. Синдром тремора/атаксии, ассоциированный с ломкой X-хромосомой (FXTAS).....	88
3.4. Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами (НДЛС) ..	91
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	107
ВЫВОДЫ.....	110
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	112
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	116
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	139

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы и степень разработанности темы исследования

Лейкоэнцефалопатии (ЛЭ) – обширная гетерогенная группа заболеваний, проявляющихся патологией белого вещества головного мозга различного генеза. Причин, вызывающих изменение белого вещества (БВ), множество, основными являются сосудистые заболевания нервной системы, демиелинизирующие заболевания, а также митохондриальные болезни и другие редкие формы моногенных заболеваний ЦНС. Для этих форм патологии характерны широкий спектр неспецифических клинических симптомов, а также схожая нейровизуализационная картина.

Традиционно считается, что наследственные лейкоэнцефалопатии (ЛЭ) и лейкодистрофии (ЛД) встречаются преимущественно у детей. На сегодняшний день имеется крайне мало данных о взрослых формах наследственных ЛЭ. Начало некоторых наследственных форм ЛЭ после 20 лет, их хроническое, медленно прогрессирующее течение, отсутствие патогномичных клинических и МР-симптомов часто приводят к диагностическим ошибкам [136, 189].

Группа поздних наследственных ЛЭ чрезвычайно разнородна и постоянно пополняется новыми нозологическими формами. Среди них особый интерес представляют церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ), лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ), синдром тремора/атаксии, ассоциированный с ломкой X-хромосомой (Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome, FXTAS) и некоторые другие формы, доступные для

диагностики и описанные в ряде популяций. До настоящего времени данные формы изучены недостаточно, что обуславливает низкую осведомленность специалистов – неврологов, генетиков. Поздний возраст дебюта заболеваний ассоциирован с наличием сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы, которые могут приводить к хронической недостаточности мозгового кровообращения, что усугубляет поражение белого вещества головного мозга и в определенной степени «маскирует» проявления наследственных ЛЭ [155]. Неверный и/или несвоевременный диагноз у таких пациентов закономерно приводит к назначению неадекватной терапии.

Цель исследования:

Оценить встречаемость основных форм наследственных ЛЭ, доступных для диагностики, в группе пациентов взрослого возраста, а также установить их клинические, нейровизуализационные и генетические особенности.

Задачи исследования:

- На невыборочной серии случаев патологии белого вещества оценить встречаемость основных форм наследственных ЛЭ с поздним дебютом (ЦАДАСИЛ, ЛССЛ, FXTAS и др.).
- Определить спектр клинических и нейровизуализационных проявлений выявленных форм наследственных ЛЭ с поздним дебютом, провести сопоставления «генотип-фенотип» в отдельных группах пациентов.
- Разработать подходы к дифференциальной диагностике наследственных форм ЛЭ с поздним дебютом.
- На основании обследования первой российской серии случаев ЦАДАСИЛ и здоровых лиц определить ориентировочную частоту и спектр мутаций гена *NOTCH3* в российской популяции.

Научная новизна

Впервые в российской популяции проведено крупномасштабное исследование клинико-генетических основ ЦАДАСИЛ. В ходе работы был оценен спектр мутаций гена *NOTCH3*, характерный для российских семей, показано отсутствие клинико-генетических коррелятов для данного заболевания. Впервые проведен скрининг здоровых добровольцев на наличие мутаций в гене *NOTCH3* и оценена ориентировочная встречаемость мутаций гена в российской популяции.

Впервые среди российских пациентов описана ЛССЛ с поздним началом, установленные основные фенотипические характеристики. Выявлен случай ЛССЛ с дебютом в возрасте 40 лет, что является самым поздним из описанных в литературе на сегодняшний день. У пациентов с ЛССЛ определен спектр мутаций гена *DARS2*, характерный для российских семей, проведен анализ клинико-генетических корреляций.

Описаны первый в России случай синдрома FXTAS и второй случай наследственной диффузной лейкоэнцефалопатии со сфероидами. Проведен анализ клинической картины, нейровизуализационных данных в сопоставлении с генотипами данных пациентов.

Теоретическая и практическая значимость

Установлено, что наиболее частыми среди наследственных форм ЛЭ с дебютом во взрослом возрасте являются ЦАДАСИЛ и ЛССЛ. Проведенный клинико-нейровизуализационный анализ с определением генотипов позволил разработать диагностические алгоритмы для двух указанных форм ЛЭ с поздним началом. Разработанный алгоритм помогает корректно выявлять данные заболевания на начальных этапах, что предотвращает назначение иммуномодулирующей терапии (применяемой в лечении рассеянного склероза, самого частого ошибочного диагноза при ЦАДАСИЛ и ЛССЛ), часто имеющей серьезные нежелательные явления.

Показано, что ЦАДАСИЛ нередко развивается на фоне одного или нескольких сосудистых факторов риска, поэтому их наличие не исключает

диагноза наследственной формы ЛЭ. Выявленные закономерности течения ЦАДАСИЛ в виде неврологического либо психоневрологического синдрома позволяют в определенной степени прогнозировать индивидуальное течение заболевания.

Описан специфический клинический и нейровизуализационный симптомокомплекс, характерный для взрослых форм ЛССЛ, что поможет повысить осведомленность специалистов о данном заболевании и повысить его выявляемость.

Благодаря созданной базе семей, отягощенных поздними формами наследственных ЛЭ, удалось выявить носителей мутаций на ранних (в т.ч. доклинических) стадиях заболевания. Это позволило осуществить индивидуальный подход к превентивному назначению терапии, коррекции образа жизни, медико-генетическому консультированию и планированию потомства.

Методология и методы исследования

Объектом исследования являлись 243 пациента с подозрением на наследственную форму ЛЭ. Обследование испытуемых проводилось амбулаторно, включало неврологический осмотр, осмотр психоневролога, тестирование по ряду психометрических шкал, регистрацию вызванных потенциалов Р300 и томографическое обследование. Проанализированы полученные данные, сопоставлены генотипы пациентов с клиническими, нейрофизиологическими и нейровизуализационными параметрами заболеваний.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Наиболее распространенной формой наследственных ЛЭ взрослых является ЦАДАСИЛ. Для российских пациентов с ЦАДАСИЛ характерен ряд отличительных черт в виде более раннего возраста дебюта заболевания, высокой частоты головных болей напряжения и экстрапирамидного синдрома, различных вариантов течения заболевания.

2. Второй по частоте формой наследственных ЛЭ взрослых вобследованной выборке пациентов является ЛССЛ, для которой характерны высокая частота когнитивных расстройств и поражения периферической нервной системы.

3. Среди российских пациентов с ЦАДАСИЛ и ЛССЛ большинство мутаций затрагивают, соответственно, 4-й экзон гена *NOTCH3*, 2-й и 4-й интроны гена *DARS2*. Для большинства мутаций указанных локализаций характерно отсутствие клинко-генетических коррелятов; тем не менее, редкие мутации с вовлечением 6-го и 9-го экзонов гена *NOTCH3*, а также 6-го экзона гена *DARS2* ассоциированы с более тяжелыми клиническими проявлениями обоих заболеваний.

4. Для наследственных форм ЛЭ характерно наличие ряда специфических проявлений и биомаркеров, позволяющих дифференцировать их от других заболеваний, в первую очередь от РС как наиболее частого ошибочного диагноза. Для своевременной постановки корректного диагноза необходимо рекомендовать генетический скрининг на носительство мутаций в основных кандидатных генах наследственных ЛЭ всем пациентам при выявлении специфических симптомов, а также прямым родственникам носителей мутаций, в том числе при отсутствии симптомов заболевания.

5. Верификация наследственных форм ЛЭ у взрослых может проводиться с помощью разработанного комплексного алгоритма, облегчающего проведение диагностического поиска.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в разработке и выполнении протокола исследования, постановке цели и задач исследования, обосновании выводов и практических рекомендаций. Автором самостоятельно была проведена молекулярно-генетическая диагностика образцов ДНК, проанализированы результаты секвенирования и фрагментного анализа. Самостоятельно выполнен клинический осмотр каждого участника

исследования. Автором проведена регистрация когнитивных вызванных потенциалов и последующая обработка полученных данных. Автор принимал участие в анализе полученных изображений МРТ. Аналитическая и статистическая обработка, обобщение полученных данных выполнены непосредственно автором. Подготовлены статьи с последующей публикацией в научных журналах.

Степень достоверности и апробация работы

Работа апробирована и рекомендована к защите на совместном заседании сотрудников I, II, III, V, VI неврологических отделений, отделения нейрохирургии, научно-консультативного отделения, отделения лучевой диагностики, отделения нейрореабилитации и физиотерапии, отделения реанимации и интенсивной терапии, лаборатории ультразвуковых исследований ФГБНУ «Научный центр неврологии» от 30 июля 2018 г. Материалы диссертации были представлены и обсуждены на: 3-м конгрессе Европейской академии неврологии (3rd congress of the European Academy of Neurology, 24–27 июня 2017 г., Амстердам, Нидерланды), Европейском конгрессе радиологии (European Congress of Radiology, 28 февраля – 3 марта 2018 г, Вена, Австрия), 26-м Европейском конгрессе по психиатрии (26th European Congress of Psychiatry, 3–6 марта 2018 г, Ницца, Франция), 27-й Европейской конференции по инсульту (27th European stroke conference, Eurostroke-2018, 11–13 апреля 2018 г, Афины, Греция), XII Всероссийском национальном конгрессе лучевых диагностов и терапевтов «Радиология-2018» (22–24 мая 2018 года, Москва), 4-м Конгрессе Европейской академии неврологии (4th Congress of the European Academy of Neurology, 16–19 июня 2018 г., Лиссабон, Португалия).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России, 3 из которых приняты в печать, получен 1 патент.

Внедрение результатов работы

Полученные результаты внедрены в практику работы ДНК-лаборатории, 5-го неврологического отделения, научно-консультативного отделения и отделения лучевой диагностики ФГБНУ НЦН.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В современной неврологии неуклонно возрастает роль генетических исследований. В связи со значительной гетерогенностью наследственных заболеваний нервной системы вопросы клинико-генетических корреляций являются особенно сложными, причем это характерно как для нервно-мышечных заболеваний [6, 68], так и для заболеваний с вовлечением ЦНС и нейрометаболических синдромов [1, 3, 5]. Детальный анализ клинико-генетических корреляций имеет важнейшее значение и для заболеваний из группы наследственных лейкоэнцефалопатий.

Традиционно принято считать, что наследственные (генетические) формы ЛЭ, являются заболеваниями детского возраста. Некоторые из них к настоящему времени описаны достаточно полно, а постановка диагноза не вызывает каких-либо проблем. Тем не менее, существует целый ряд наследственных ЛЭ, манифестирующих во взрослом возрасте. Данные заболевания являются малоизученными, а осведомленность о них среди практикующих врачей крайне низкая. На данный момент нет четкого определения и общепринятой классификации генетически обусловленных форм ЛЭ [84]. Мнения специалистов расходятся даже относительно использования таких терминов, как «лейкодистрофии» и «лейкоэнцефалопатии» [144]. Термин «наследственная лейкоэнцефалопатия» представляется наиболее удобным и обобщающим. К наследственным ЛЭ относят все спорадические взрослые заболевания, поражающие белое вещество головного мозга: митохондриальные энцефалопатии, сосудисто-генетические синдромы, метаболические наследственные патологии и др. [3,186]. Одним из подходов к систематизации

наследственных ЛЭ является классификация по типу наследования: аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные, X-сцепленные, митохондриальные. К аутосомно-доминантным формам относят церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ, англ.: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, CADASIL), наследственную диффузную лейкоэнцефалопатию со сфероидами (НДЛС, англ.: Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids, HDLS) и другие формы. К аутосомно-рецессивным относят лейкоэнцефалопатию с «исчезающим» белым веществом (Vanishing White Matter Disease, VWM), метахроматическую лейкодистрофию (metachromatic leukodystrophy, MLD), лейкоэнцефалопатию с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ, Leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation, LBSL). В последние годы особое внимание привлекает клинически весьма полиморфный синдром тремора/атаксии, ассоциированный с ломкой X-хромосомой (Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome, FXTAS), наследуемый по X-сцепленному типу [1, 84].

Как упоминалось выше, особенностью взрослых форм многих наследственных ЛЭ является частое их развитие на фоне сопутствующей цереброваскулярной патологии. Клинические и радиологические симптомы данных состояний «маскируют» проявления друг друга и задерживают своевременную постановку верного диагноза. Более того, согласно литературным данным, часто возникают сложности в дифференциальной диагностике наследственных ЛЭ и рассеянного склероза [136, 175]. Это, в свою очередь, ведет к неоправданному назначению иммуномодулирующей терапии пациентам, не нуждающимся в ней, или наоборот, отдалает применение таковой в случае демиелинизирующих заболеваний.

Таким образом, вопрос изучения взрослых форм наследственных ЛЭ крайне актуален. Требуется проведение сравнительных исследований на различных популяциях и этнических группах, подробные описания соответствующих

фенотипов, разработка алгоритмов, упрощающих постановку диагноза. Для российской популяции рассматриваемые заболевания практически не описаны, отсутствуют эпидемиологические, демографические данные, не оценивались клинико-генетические и нейровизуализационные характеристики.

В настоящей работе детальный анализ был проведен для таких формнаследственных ЛЭ с поздним началом, как ЦАДАСИЛ, ЛССЛ, НДЛС и синдром FXTAS. Данные нозологии являются наиболее значимыми, их ожидаемая частота встречаемости является достаточно высокой по сравнению с прочими формами наследственных ЛЭ взрослого возраста. Несмотря на тот факт, что при ЦАДАСИЛ отмечается поражение как белого, так и серого вещества головного мозга, это заболевание было включено в нашу работу, поскольку ядро клинической картины ЦАДАСИЛ представлено преимущественно симптомами поражения белого вещества, а гиперинтенсивные изменения белого вещества (ГИБВ) представляет основной МР-паттерн заболевания.

1.1. ЦАДАСИЛ

Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) – наследственное заболевание центральной нервной системы, в основе которого лежит поражение мелких и средних артерий, локализующихся преимущественно в головном мозге. Таким образом, ЦАДАСИЛ относится к ЛЭ с аутосомно-доминантным типом наследования, в основе которого лежит васкулопатия.

Заболевание обусловлено мутациями в гене *NOTCH3*, локализованном на 19-й хромосоме (локус 19p13) [76]. Ген представлен 33 экзонами, в которых на настоящему времени описано более 200 различных мутаций [78]. Истинная популяционная частота встречаемости ЦАДАСИЛ окончательно не определена. Считается, что на практике имеет место гиподиагностика заболевания. По различным данным, распространенность ЦАДАСИЛ колеблется от 2 до 8 на 100000 населения [22, 79, 114, 137]. Случаи заболевания ЦАДАСИЛ отмечены повсеместно, однако в Европе распространенность значительно выше остальных

регионов. Эффект основателя был описан для финской популяции, а также среди пациентов региона Марше в Италии [16, 102].

Патогенные мутации описаны в экзонах 2–24 гена *NOTCH3*, однако большинство затрагивает экзоны со 2-го по 6-й [1, 29, 43]. Имеются некоторые территориальные различия в спектре мутаций [22, 47]. Так, в большинстве исследований было показано, что абсолютное большинство мутаций затрагивают 4-й экзон гена [2, 78, 102, 116, 123]. Во Франции, Великобритании, Германии описано множество мутаций 3-го экзона *NOTCH3* [78, 102, 123], в голландской популяции – 11-го экзона [117].

Генетический дефект преимущественно представлен миссенс-мутациями (95%), приводящими к изменению числа цистеиновых остатков (потере или приобретению) в одном из EGF-подобных повторов домена нейрогенного локуса протеина Notch 3 [39]. Помимо миссенс-мутаций описано несколько инсерций, делеций и альтернативных вариантов сайтов сплайсинга, которые также приводят к изменению числа остатков цистеина в EGF-подобных повторах домена [143].

Продукт гена – трансмембранный белок Notch 3, состоит из 2321 аминокислотного остатка. Белок связывается со своим естественным лигандом за счет экстрацеллюлярного домена, представленного 34 EGF-подобными повторами. Сигнальный путь Notch – эволюционно высококонсервативный внутриклеточный механизм регуляции васкулогенеза; он играет важную роль в процессах дифференцировки и созревания клеток гладкой мускулатуры сосудов, а также в регуляции сосудистого тонуса [12, 36]. Основным местом экспрессии гена являются миоциты сосудистой стенки мелких и средних артерий головного мозга.

Изменение числа остатков цистеина в белке приводит к тому, что в его структуре появляются «свободные» неспаренные остатки цистеина. Это, в свою очередь, ведет к нарушению структуры дисульфидных мостиков и последующей агрегации внеклеточного домена Notch. В результате нарушается сигнальный путь Notch и происходит дисрегуляция дифференцировки, созревания и функционирования миоцитов сосудистой стенки [109]. В исследованиях сигналинга Notch на клеточных культурах мышей и людей было показано, что

патологические изменения в миоцитах запускаются именно мутантным белком, в то время как полное отсутствие протеина не приводит к развитию заболевания [25, 142].

Результатом возникновения мутации и синтеза патологического белка является постепенная аккумуляция гранулярного осмиофильного материала (ГОМ) в миоцитах медуллярных и лептоменингеальных сосудов головного мозга [13]. Следствием отложения ГОМ является постепенная дегенерация миоцитов и снижение реактивности мелких сосудов головного мозга [127, 79].

Вышеописанные процессы приводят к существенному снижению церебральной перфузии как у симптомных, так и у асимптомных носителей мутаций гена *NOTCH3* [23, 27, 177]. Более того, скомпрометированные сосуды становятся крайне хрупкими, что проявляется наличием множественных микрокровоизлияний в веществе мозга [40, 91]. Интересно отметить, что описанные изменения, помимо головного мозга, затрагивают также сосуды кожи и почечные артерии, что имеет применение в диагностике и дифференциальной диагностике заболевания [53, 61, 135, 139].

Дебют заболевания колеблется от 20 до 80 лет, но в среднем составляет 45 лет [28]. Оба пола болеют с одинаковой частотой [62]. Клиническая картина ЦАДАСИЛ крайне гетерогенна. Симптомы заболевания разнятся не только среди носителей разных мутаций, но также и в пределах одной семьи. ЦАДАСИЛ характеризуется несколькими основными синдромами: субкортикальными ишемическими нарушениями кровообращения, когнитивными расстройствами, мигренью с аурой, псевдобульбарным параличом, аффективными нарушениями.

Ядром клинической картины заболевания являются различные нарушения кровообращения ишемического характера. Транзиторные ишемические атаки (ТИА) либо ишемические инсульты (ИИ) являются самыми часто встречающимися симптомами и отмечены у 85% пациентов [41]. Более того, ТИА и ИИ в большинстве случаев оказываются первыми симптомами заболевания. Средний возраст возникновения нарушений кровообращения составляет 45-50 лет [118]. Чаще всего нарушения кровообращения протекают по типу лакунарных

инфарктов, в виде синдромов «чисто моторного инсульта», «чисто сенсорного инсульта», «атактического гемипареза-дизартрии» и проч. На ранних стадиях заболевания восстановление неврологических функций, как правило, хорошее, однако со временем регресса симптомов не отмечается, что приводит к постепенному развитию стойких парезов, тазовых нарушений, псевдобульбарного паралича. Обширные инфаркты головного мозга, охватывающие бассейны кровоснабжения крупных артерий, встречаются значительно реже.

Когнитивные расстройства (КР) различной степени выраженности – второй по частоте встречаемости симптом ЦАДАСИЛ. Они могут развиваться уже на ранних стадиях заболевания. Более того, у 75% пациентов с ЦАДАСИЛ по мере прогрессирования заболевания КР достигают степени деменции [37, 41]. Спектр когнитивных расстройств представлен нарушением регуляторных функций, снижением вербальной беглости, памяти, сужением круга интересов [124]. Как правило, КР носят медленно прогрессирующий характер с периодическими резкими ухудшениями. Считается, что умеренные КР иногда могут предшествовать ТИА и ИИ [11].

Головные боли мигренозного характера встречаются, по различным данным, у 5–77% пациентов [9, 154, 190]. У 90% пациентов, страдающих мигренью, развивается мигренозная аура [9, 41]. Также описаны случаи атипичной мигрени, такие как базилярная и гемиплегическая мигрень, мигрень, сопровождающаяся угнетением сознания, развитием менингизма, комы. Первый эпизод головной боли встречается в среднем в возрасте от 26 до 29 лет [9, 41].

Психические расстройства встречаются, согласно литературным данным, у трети пациентов, страдающих заболеванием [9, 41]. Спектр психических нарушений при ЦАДАСИЛ варьирует от депрессий (75% пациентов) до расстройства личности. Апатия описана у 40% пациентов. Описаны случаи заболевания, манифестирующие именно с психических симптомов [93, 113, 121].

Среди более редких проявлений заболевания описаны судорожный синдром (10% пациентов) [28, 35, 41, 63], а также задняя обратимая энцефалопатия в виде угнетения сознания, головной боли, судорог, гипертермии, в некоторых случаях

вплоть до летального исхода [9, 28, 49, 134, 147]. В некоторых исследованиях было показано, что при ЦАДАСИЛ может страдать и периферическая нервная система [148, 153].

Согласно литературным данным, среди пациентов, страдающих ЦАДАСИЛ, значительно чаще встречается развитие инфаркта миокарда и/или появление патологических Q-зубцов на ЭКГ [90]. Также было отмечено более частое развитие аритмий вследствие удлинения интервала QT у пациентов по сравнению с общей популяцией [128, 141].

Заболевание носит неуклонно прогрессирующий характер. Средний возраст развития зависимости от ухаживающего лица составляет 60 лет, возраст, в котором пациент оказывается прикованным к постели – 64 года. Средний возраст гибели пациентов составляет 68 лет. Более того, считается, что у пациентов мужского пола заболевание прогрессирует несколько быстрее. Предполагается, что определенным защитным эффектом обладают эстрогены, более высокая приверженность терапии среди женщин, социальная поддержка [118]. Наиболее распространенными причинами смерти пациентов с ЦАДАСИЛ считаются пневмония, внезапная коронарная смерть и асфиксия.

Существует ряд исследований, в которых авторам удалось выявить некоторые клиничко-генетические корреляции [12, 21, 91], тем не менее, на сегодняшний день не представляется возможным прогнозировать течение и фенотипические проявления, опираясь на генотип [154]. Возраст дебюта болезни, ее тяжесть и скорость прогрессирования, фенотипические проявления могут сильно различаться даже в пределах одной семьи. Пенетрантность гена очень высока, считается, что она достигает 100%. Экспрессивность же варьирует, что и объясняет различные фенотипические проявления заболевания у пациентов со схожим генотипом.

Среди инструментальных методов обследования пациентов с ЦАДАСИЛ особая роль отводится нейровизуализации, а именно магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга. При проведении МРТ мозга удается выявить следующие изменения: ГИБВ, множественные лакунарные инфаркты в области

базальных ядер, ствола мозга и мозжечка; церебральные микрокровоизлияния, расположенные, преимущественно, в таламусах; расширение периваскулярных пространств [33, 40, 91, 117, 182, 192]. Более того, в последние годы стали появляться описания и крупных церебральных кровоизлияний, определяемых у пациентов с ЦАДСИЛ [87, 94, 194]. Патогномоничным для ЦАДСИЛ считается обнаружение симметричной ГИБВ в полюсах височных долей и наружных капсулах [15, 119]. Полагается, что именно гиперинтенсивность передних полюсов височных долей является первым МР-симптомом заболевания, выявляемым у асимптомных носителей мутаций в возрасте 20-30 лет [117, 181]. Следующими по частоте поражаются глубокие отделы лобных долей больших полушарий и перивентрикулярные области [26, 119, 15]. По мере прогрессирования заболевания ГИБВ распространяется, начинает носить сливной характер и имитирует ГИБВ гипертонического характера [26].

На сегодняшний день не существует общепринятых критериев диагноза ЦАДСИЛ. Предположить диагноз ЦАДСИЛ и рекомендовать проведение ДНК-диагностики следует, если [9, 41]:

- ТИА и/или ИИ развивается в возрасте до 70 лет при отсутствии очевидных сосудистых факторов риска; нарушения кровообращения затрагивают субкортикальные области головного мозга и протекают по типу лакунарных синдромов.
- КР манифестируют с нарушения регуляторных функций, по типу умеренных, носят прогрессирующее течение, могут резко ухудшаться после перенесенного ОНМК.
- Имеют место атипичные проявления мигрени, такие как мигрень с пролонгированной аурой, базилярная и гемиплегическая мигрень, нарушение сознания, лихорадка, менингизм.
- Имеется ГИБВ в области полюсов височных долей и наружных капсул.

Диагноз ЦАДСИЛ считается достоверным при обнаружении патогенной мутации в гене *NOTCH3* в гетерозиготном состоянии. Описано несколько случаев

мутаций в гомозиготном состоянии, однако, фенотипически данные пациенты не отличались от гетерозиготных носителей аналогичных мутаций [95, 134, 157, 176, 187].

Если проведение молекулярно-генетического анализа по каким-либо причинам невозможно, либо не удастся выявить мутаций в экзонах 2–24 гена (5%), альтернативным способом подтверждения диагноза является биопсия кожи и последующий ультраструктурный анализ образца для оценки строения мелких сосудов [56, 140]. Электронная микроскопия позволяет выявить депозиты ГОМ в мышечной стенке сосудов, что является патогномоничным для ЦАДАСИЛ. Чувствительность данной методики невелика [44, 101, 102, 111, 174], допустимо дополнение электронной микроскопии иммуногистохимическим исследованием, что позволяет в разы повысить чувствительность методики [77, 117]. Золотым стандартом диагностики ЦАДАСИЛ является прямое секвенирование гена и выявление патогенной мутации.

Дифференциальная диагностика ЦАДАСИЛ является достаточно сложной задачей. Широкий спектр клинических проявлений заболевания, неспецифические изменения по данным МРТ, различные возраст дебюта и скорость прогрессирования симптомов часто обуславливают диагностические ошибки и позднюю постановку верного диагноза. Частота ошибочных диагнозов при ЦАДАСИЛ еще выше и составляет около 35 % [136].

ЦАДАСИЛ следует дифференцировать с:

- рассеянным склерозом (РС);
- ЦАРАСИЛ (церебральной аутосомно-рецессивной артериопатией с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией);
- аутосомно-доминантной формой болезни мелких сосудов, ассоциированная с геном *HTRA1*;
- синдромом MELAS;
- спорадическими формами болезни мелких сосудов, в т.ч. болезнью Бинсвангера;
- первичным ангиитом ЦНС.

Наибольшие сложности возникают при дифференциальной диагностике ЦАДАСИЛ и РС [115, 120]. Это объясняется тем, что оба заболевания манифестируют в молодом возрасте и для них нередко отсутствуют патогномичные клинические проявления. Более того, диссеминация симптомов во времени и пространстве, характерная для РС, правомочна и для ЦАДАСИЛ. Нейровизуализационные методы исследования при обоих заболеваниях выявляют многоочаговое поражение вещества головного мозга. В диагностике ЦАДАСИЛ крайне важно обращать внимание на такие проявления, как ГИБВ в области полюсов височных долей, выявляемая при МРТ, отсутствие признаков неврита зрительного нерва, интактный спинной мозг, отсутствие признаков интратекального синтеза олигоклональных антител, отягощенный семейный анамнез по головным болям, ОНМК и деменции [38]. Верифицировать диагноз помогает наличие экстрацеребральных симптомов, особенности МРТ, тип наследования, лабораторные данные.

На сегодняшний день нет терапии ЦАДАСИЛ с доказанной эффективностью. Более того, антиагрегантная терапия, традиционно назначаемая пациентам с ЦАДАСИЛ, также не доказала свою эффективность.

Мигрень при ЦАДАСИЛ лечится согласно общепринятой тактике ведения пациентов с головной болью. Несмотря на то, что не было показано негативного влияния триптанов либо алкалоидов спорыньи на течение заболевания, некоторые специалисты рекомендуют избегать этих препаратов в лечении мигрени при ЦАДАСИЛ [34]. Обязательной медикаментозной коррекции согласно общепринятым рекомендациям требует развитие таких состояний, как гипертония, сахарный диабет, гиперхолестеринемия и атеросклероз.

Не рекомендуется проведение контрастной ангиографии, а также применение антикоагулянтов, ввиду высокого риска осложнений (ОНМК) [91]. Тромболитическая терапия (системный внутривенный тромболизис) также противопоказана пациентам с ЦАДАСИЛ, т.к. данные пациенты находятся в группе высокого риска по развитию внутримозговых кровоизлияний [40, 91].

Курение также повышает риск развития ОНМК у пациентов с ЦАДАСИЛ, причем риск значительно выше, чем в общей популяции [154].

Несмотря на то, что заболевание на сегодняшний день изучено достаточно хорошо, данные сильно варьируют в зависимости от изучаемой популяции. Более того, создается впечатление, что истинная частота встречаемости ЦАДАСИЛ значительно выше, чем считается. Это обусловлено наличием большого числа случаев с мягкими фенотипическими проявлениями, которые остаются нераспознанными. Таким образом, актуальным в настоящее время является изучение особенностей ЦАДАСИЛ на пациентах различных популяций, в том числе и российской.

1.2. Лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ)

Лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ) представляет собой редкое аутосомно-рецессивное заболевание нервной системы, в основе которого лежит митохондриальная дисфункция. Первая публикация, посвященная этому заболеванию, приходится на 2003 г., и с тех пор в литературе все чаще появляются описания клинических случаев ЛССЛ [5,185].

В 2007 г. был описан молекулярно-генетический дефект, приводящий к развитию заболевания. Развитие ЛССЛ ассоциировано с мутациями в гене *DARS2*. Ген картирован на 1-й хромосоме (локус 1q25.1) и кодирует митохондриальную аспартил-тРНК-синтетазу. Данный фермент отвечает за присоединение остатка аспарагиновой кислоты к тРНК. Образование комплекса аминокислота-тРНК является одним из ключевых моментов трансляции. Таким образом, митохондриальная аспартил-тРНК-синтетаза необходима для синтеза всех 13 митохондриальных белков [146]. Результатом мутации гена является снижение активности фермента и невключение остатка аспарагиновой кислоты в структуру

митохондриальных пептидов. В большей степени это касается белков I и IV дыхательных комплексов митохондрий, наиболее богатых аспаратом [146].

Ген *DARS2*, кодирующий митохондриальную аспартил-tРНК-синтетазу, представлен 17 экзонами. Описано более 60 мутаций гена, которые встречаются как в экзонах, так и в интронах. Самым распространенным местом возникновения мутаций является полипиримидиновая область 3'-конца 2-го интрона. Мутации этой области ведут к нарушению сплайсинга 3-го экзона, что приводит к сдвигу рамки считывания и преждевременному окончанию трансляции [180]. На сегодняшний день описано 13 мутаций, затрагивающих данный регион, представленных делециями и инсерциями различного числа пиримидиновых остатков (самая частая мутация с.228-21_-20delTTinsC) [179]. Заболевание имеет аутосомно-рецессивный характер наследования; практически все случаи, описанные в литературе, представляли собой компаунд-гетерозиготное носительство двух различных мутаций, причем, одна из мутаций всегда затрагивает именно 2-й интрон. На втором аллеле же могут встречаться практически любые мутации: описаны делеции, дупликации, нонсенс- и миссенс-мутации во всех экзонах и некоторых интронах гена. В литературе описано также два случая гомозиготного носительства мутаций гена *DARS2* [107].

В экспериментах *invitro* и *invivo* было показано, что активность различных мутантных форм фермента может быть сниженной в 400 и более раз, при том, что остаточная активность остается неизменной. Это говорит о том, что мутации не приводят к полному прекращению работы фермента, но только к снижению его функционирования. Этот факт объясняет широкий спектр клинических форм заболевания, а также относительно благоприятный его прогноз. Более того, показано, что молекулы мутантных форм фермента значительно более крупные, хрупкие и чувствительные к стрессовому воздействию по сравнению с нормальным типом [145].

Несмотря на то, что в последние несколько лет появилось больше описаний заболевания, убедительных эпидемиологических данных о ЛССЛ

нет. Носительство мутаций в общей популяции очень низкое, исключение составляет Финляндия, где частота носительства мутаций составляет 1:95 [69].

Клинически заболевание характеризуется медленно прогрессирующими спастичностью и мозжечковой атаксией, а также признаками поражения задних канатиков спинного мозга. Ноги поражаются в значительно большей степени, чем руки. Сухожильные рефлексy, как правило, остаются сохранными. В конечностях существенно снижается глубокая чувствительность, что приводит к развитию сенситивной атаксии. Часто, развивается аксональное поражение периферической нервной системы, что проявляется дистальной мышечной слабостью, арефлексией, снижением поверхностной чувствительности [69, 173, 178, 185]. Когнитивные нарушения, как правило, отмечаются только на поздних стадиях заболевания, хотя описаны единичные случаи когнитивного снижения с первых лет заболевания [151, 185]. У некоторых пациентов развивается судорожный синдром, который хорошо поддается медикаментозной коррекции [185].

Спектр клинических форм ЛССЛ колеблется от тяжелых неонатальных, приводящих к смерти пациента в возрасте до 2 лет [161], до поздних форм, проявляющихся умеренным двигательным дефицитом [179]. Самой частой является форма с дебютом в детском возрасте. Как правило, пациенты не отстают в психическом и моторном развитии от сверстников, ухудшение двигательных функций начинается в детском или подростковом [97, 151, 173, 178] либо, значительно реже, во взрослом возрасте [88, 126, 179]. Большинство пациентов, заболевших в детстве, длительное время способны передвигаться самостоятельно и прибегают к вспомогательным средствам передвижения в возрасте 25 лет и старше. Показано, что тяжесть заболевания зависит от возраста его дебюта: чем позднее манифестирует ЛССЛ, тем «мягче» она протекает. На сегодняшний день в литературе имеются лишь единичные случаи описания взрослых форм ЛССЛ [88, 110, 126, 167]. Возраст дебюта ЛССЛ с поздним началом колеблется от 20 до 35 лет. У всех пациентов описана достаточно «мягкая» симптоматика в виде умеренного спастического тетрапареза с акцентом в ногах, мозжечковой атаксии, негрубого снижения глубокой чувствительности, ни у кого из описанных

пациентов не было выявлено когнитивных нарушений. Предполагается, что пациенты, заболевшие во взрослом возрасте, имеют более благоприятный прогноз, длительное время остаются когнитивно сохранными и до пожилого возраста способны передвигаться самостоятельно [88, 167].

Хотя уже доказано, что заболевание прогрессирует медленно и без обострений, тем не менее, описаны случаи эксацербации после перенесенных инфекционных заболеваний, сопровождавшихся лихорадкой, а также после черепно-мозговых травм. Изредка такие состояния провоцируют нарушения уровня сознания и резкое ухудшение симптоматики с формированием стойкого грубого неврологического дефицита [151].

Сложно говорить о наличии каких-либо клинико-генетических корреляций, учитывая большое количество мутаций, затрагивающих различные локусы гена. Тем не менее, по результатам одного исследования было предположено, что мутации, затрагивающие область 2-го интрона гена *DARS2*, опосредуют более «мягкий» фенотип заболевания [179].

Данных о патоморфологических изменениях, встречаемых при ЛССЛ, крайне мало. Единичные исследования свидетельствуют в пользу вакуолярной дегенерации миелина на уровне пораженного белого вещества. В субкортикальных отделах белого вещества головного мозга изменения выявляются в незначительной степени, но носят более грубый характер в глубинных отделах белого вещества, которое постепенно инфильтрируется макрофагами, что, в свою очередь, приводит к демиелинизации и вторичной аксональной дегенерации. Аналогичные изменения происходят в стволе головного мозга и белом веществе мозжечка. Также отмечается массивная гибель клеток Пуркинье мозжечка, в то время как кора больших полушарий остается интактной. Определенные изменения описаны и в периферической нервной системе: так, проведение биопсии нерва может выявить по ходу нервных волокон отложения овоидов миелина, хотя признаки активной демиелинизации и ремиелинизации не выявляются [160, 191].

Изменения вещества головного и спинного мозга удастся визуализировать при выполнении МРТ. Исследование выявляет изменение сигнала от белого вещества, гипоинтенсивное на T1-ВИ и гиперинтенсивное на T2-ВИ, локализующееся перивентрикулярно, в глубоких отделах полушарий большого мозга (как правило, изменения носят очаговый характер, реже – сливной), поражение задних отделов мозолистого тела, заднего бедра внутренней капсулы; несколько позже в процесс вовлекается белое вещество мозжечка, преимущественно субкортикальные отделы, а также верхние и нижние ножки мозжечка (средние ножки, если и вовлекаются в процесс, то значительно позже); на уровне среднего мозга поражаются пирамидные тракты, медиальная петля и среднемозговой путь тройничного нерва; на уровне продолговатого мозга – перекрест пирамидных путей и спиноцеребеллярные пути. В спинном мозге, преимущественно на шейном уровне, отмечается распространение патологического процесса на задние и боковые канатики. МР-спектроскопия выявляет снижение пика N-ацетиласпартата и повышение пиков лактата и холина в измененном белом веществе [82, 161].

Диагностика и дифференциальная диагностика ЛССЛ является трудоемкой задачей. Стандартные лабораторные исследования, в т.ч. анализ ЦСЖ, как правило, не выявляют каких-либо отклонений от нормативных значений. В нескольких случаях было описано незначительное и непостоянное повышение уровня лактата в крови и/или ЦСЖ. В отличие от прочих митохондриальных заболеваний биопсия мышечной ткани, оценка морфологии миоцитов, фибробластов, лимфобластов не обнаруживает признаков митохондриальной дисфункции [183].

Предполагать диагноз ЛССЛ следует у всех пациентов, имеющих соответствующие изменения на МРТ [146, 161, 185]. Основные диагностические признаки – изменение сигнала (гипоинтенсивного на T1 и гиперинтенсивного на T2 ВИ) в:

- белом веществе головного мозга, очагового или сливного характера, в т.ч. субкортикально;

- задних канатиках спинного мозга и латеральных кортикоспинальных трактах (достаточным является обнаружение изменений на шейном уровне спинного мозга);
- пирамидах продолговатого мозга либо на уровне перекреста медиальной петли в продолговатом мозге.

Дополнительные критерии – изменение сигнала (гипоинтенсивного на T1 и гиперинтенсивного на T2 ВИ) в:

- валике мозолистого тела;
- заднем бедре внутренней капсулы;
- верхних и нижних ножках мозжечка;
- ядре среднемозгового пути тройничного нерва;
- переднем спиноцеребеллярном тракте на уровне продолговатого мозга;
- белом веществе мозжечка.

Диагноз считается вероятным при наличии всех основных и одного дополнительного критерия. МР-спектроскопия выявляет повышение уровня лактата в измененном белом веществе у большинства пациентов [88, 126, 173, 185]. Однако данный критерий не является специфичным для заболевания. Если уровень лактата остается в пределах нормативных значений, но выполняются остальные МР-критерии ЛССЛ, диагноз не следует ставить под сомнение. И наоборот, если снимки МРТ не удовлетворяют критериям ЛССЛ, диагноз не может быть установлен, несмотря на повышение лактата, поскольку такие изменения могут указывать на любую форму митохондриальной энцефалопатии. На сегодняшний день диагноз ЛССЛ считается вероятным при обнаружении патогномичного МР-паттерна, а достоверным при обнаружении биаллельной мутации в гене *DARS2* [110].

В литературе приведено несколько случаев, в которых была обнаружена одна мутация во втором интроне гена, вторая же мутация при анализе ядерной ДНК не была выявлена. Также, согласно литературным данным, в нескольких

случаях не удалось найти ни одной мутации, хотя состояния удовлетворяли МР-критериям ЛССЛ [146]. Согласно рекомендациям относительно постановки диагноза в аналогичных ситуациях, а также данным *VanderKnaapetal.*, впервые описавших заболевание, следует выставлять диагноз ЛССЛ при исключении прочих причин поражения белого вещества головного мозга [183].

Патогенетического лечения ЛССЛ на сегодняшний день нет. К поддерживающей терапии относят физиотерапевтическое лечение, двигательную реабилитацию, логопедическую помощь, психологическую поддержку, при необходимости миорелаксанты, противосудорожную терапию. Важна высокая двигательная активность, профилактика контрактур, сколиоза, профилактика вторичных осложнений. Высокая частота мутаций в области сайта сплайсинга 2-го интрона позволяет рассмотреть регуляцию сплайсинга как потенциальную мишень для лечения заболевания. Ранее было показано, что использование антисмысловых нуклеотидов позволяет регулировать сплайсинг участка интрон 2 – экзон 3 [180].

Как упоминалось выше, клиническая картина ЛССЛ представлена медленно прогрессирующей мозжечковой атаксией, спастичностью, дисфункцией задних канатиков спинного мозга. Данный симптомокомплекс напоминает множество заболеваний, в т.ч. различные спиноцеребеллярные атаксии (СЦА) и в первую очередь болезнь Фридрейха. Тем не менее, МРТ позволяет четко дифференцировать ЛССЛ от СЦА [50, 185]. Сочетание симптомов спиноцеребеллярной атаксии с МР-признаками поражения задних канатиков спинного мозга, латеральных кортикоспинальных трактов и белого вещества головного мозга в определенной степени напоминает клинику дефицита витамина В12 [98]. Тем не менее, признаки поражения ствола головного мозга, типичные для ЛССЛ, не встречаются при В12-дефицитном состоянии. Повышенный уровень лактата, выявляемый при проведении МР-спектроскопии, либо определяемый в крови и ЦСЖ (а также сочетание этих симптомов), наталкивает на диагноз митохондриальной патологии, но характерное сочетание симптомов

поражения ствола головного мозга и спинного мозга являются специфичными именно для ЛССЛ [184].

Гипомиелинизация с вовлечением спинного мозга и ствола головного мозга, развитием спастичности в ногах может имитировать рассеянный склероз (РС). Часто именно РС является первым диагнозом у пациентов, что ведет к назначению гормональной терапии, терапии интерферонами и т.д. Для ЛССЛ не является характерным накопление очагами контрастного вещества, отсутствует интратекальный синтез олигоклональных антител, не отмечается поражение зрительного нерва.

Взрослые формы ЛССЛ ввиду более легких фенотипических проявлений остаются нераспознанными и неизученными. Для ЛССЛ с поздним дебютом характерен наиболее высокий процент ошибочной диагностики. В этом свете нам представляется крайне важным более подробно изучить именно взрослые формы заболевания.

1.2. Синдром тремора/атаксии, ассоциированный с ломкой X-хромосомой (FXTAS)

Среди ЛЭ с X-сцепленным типом наследования значительный интерес представляет синдром FXTAS. Это обусловлено тем, что, по мнению многих исследователей, синдром является одной из самых частых форм нейродегенеративных заболеваний пожилого возраста, однако на практике очень плохо диагностируется. Эпидемиологических данных о заболевании на сегодняшний день нет, тем не менее, предположительная частота носительства мутации, опосредующей заболевание, составляет 1:430 среди мужчин и 1:209 среди женщин [25, 172]. Пенетрантность гена *FMRI* достаточно низкая и возраст-зависимая. Считается, что среди носителей мутации симптомы заболевания развиваются у 50% мужчин и лишь у 8% женщин в возрасте 40 лет и старше [73]. По прогностическим расчетам ориентировочная частота встречаемости синдрома среди мужчин составляет 1: 8000 [74].

Синдром FXTAS, наряду с такими состояниями как синдром Мартина–Белл и первичная овариальная недостаточность, относится к заболеваниям, ассоциированным с ломкой X-хромосомой. Синдром Мартина–Белл (син. синдром ломкой X-хромосомы) является одной из самых частых причин аутизма среди мальчиков. Характеризуется олигофренией, атаксией, речевыми нарушениями и формированием специфического внешнего вида (долихоцефалическая форма черепа, удлиненное лицо с выступающим лбом и прогенией, увеличенные оттопыренные ушные раковины, широкое основание носа, опущенные углы рта, высокое небо, подслизистые расщелины неба и языка, удлинение пальцев и уплощение стоп, в постпубертатном периоде – макроорхизм) [6,55]. Первичная овариальная недостаточность характеризуется различными нарушениями менструального цикла вплоть до аменореи, трудностями в зачатии, наступлением менопаузы в возрасте до 40 лет [32, 164]. Синдром FXTAS характеризуется прогрессирующей мозжечковой атаксией, интенционным тремором и тремором покоя, полинейропатией, когнитивными и психоэмоциональными нарушениями, дебютирующими в возрасте 50 лет и старше [36, 73, 75].

Три данных совершенно разных по фенотипическим проявлениям нозологии ассоциированы с одной мутацией гена *FMRI*, наследуемой по X-сцепленному доминантному типу. Ген *FMRI* лоцируется на X-хромосоме (Xq27.3), представлен 17 экзонами, экспрессируется преимущественно в головном мозге, плаценте, яичниках, яичках, легких и почках [45, 67]. Промоторная 5'-нетранслируемая область гена содержит участок CGG-повторов, количество которых в норме составляет 30 (от 20 до 50) [51]. Данный участок часто является местом возникновения мутаций, а именно повышения числа копий(экспансии) тандемных CGG-повторов. Различная степень экспансии тринуклеотидных повторов обуславливает, соответственно, различные фенотипические проявления и развитие того или иного заболевания, ассоциированного с ломкой X-хромосомой.

Увеличение числа копий CGG-повторов до 200 и выше считается полной

мутацией. При наличии экспансии такой степени данный участок гена подвергается метилированию, что останавливает экспрессию гена [19, 105, 166] и приводит к развитию синдрома ломкой X-хромосомы [129]. Участок экспансии CGG-повторов величиной от 55 до 199 не подвергается метилированию, а наоборот – определяет повышенную экспрессию гена и последующий синтез аномального белка [83, 132, 170]. Наличие премутации ассоциировано с развитием синдрома FXTAS и первичной овариальной недостаточности [152].

Синдром FXTAS за редким исключением встречается только у мужчин, хотя и описаны единичные случаи синдрома у женщин [20, 73]. Носительство мутантного аллеля на одной из X-хромосом у женщин чаще обуславливает развитие первичной овариальной недостаточности, хотя и данный синдром развивается лишь у 20% носительниц премутации. Это связано, вероятно, с достаточно низкой пенетрантностью гена *FMR1* [152].

Ген кодирует белок FMRP, относящийся к семейству РНК-связывающих протеинов. Белок несет РНК-связывающий домен, что обуславливает его функцию: транспортировку РНК из кариоплазмы в цитозоль клетки [14]. FMRP группируется с активно транскрибируемыми полирибосомами, ассоциированными с синапсоматомами [48]. Лигандами FMRP являются мРНК основного белка миелина, некоторых белков цитоскелета, сигнальных белков нервных окончаний. Считается, что в головном мозге белок принимает участие в формировании синапсов и обеспечивает синаптическую пластичность [138].

Развитие синдрома FXTAS связывают с цитотоксическим воздействием мутантного белка FMRP [10, 83, 171]. Следует отметить, что структура аномального белка сохраняется практически неизменной ввиду того, что мутация затрагивает 5'-нетранскрибируемую область гена. Таким образом, не до конца ясно, что именно приводит к отложению белка в виде клеточных агрегатов и токсическому воздействию на нейроны. Патоморфологические изменения, выявляемые у носителей премутации, представлены эозинофильными внутриядерными включениями, обнаруживаемыми в нейронах и астроцитах различных регионов головного мозга (кора лобных долей больших полушарий,

гиппокамп, ядра ствола головного мозга и мозжечка, эпендимальные клетки и хориоидальные сплетения), периферической нервной системы (параспинальных ганглиях, мезентериальных сплетениях), а также экстраневрально (клетки поджелудочной железы) [58, 59]. Включения представляют собой убиквитинированные белки, связывающиеся с FMRP и участвующие в регуляции работы мРНК [70]. До сих пор нет ответа на вопрос, являются ли данные включения причиной развития заболевания, либо его проявлением. Также описано несколько случаев выявления у пациентов с клиникой синдрома FXTAS телец Леви в черной субстанции ствола мозга [59]. Макроскопические изменения представлены диффузной атрофией коры больших полушарий, очаговым размягчением и атрофией белого вещества больших полушарий и ствола головного мозга (преимущественно моста). Очаговые изменения вещества головного мозга обусловлены спонгиозом, аксональной дегенерацией и демиелинизацией [58, 59].

Средний возраст дебюта заболевания составляет 60 лет, однако, для FXTAS, как и для многих болезней экспансии, характерна обратная корреляция между количеством нуклеотидных повторов и возрастом манифестации болезни [169]. Классическими проявлениями синдрома являются мозжечковая атаксия, постурально-кинетический тремор, паркинсонизм и когнитивные расстройства. Мозжечковый синдром и акционный тремор встречаются практически у всех пациентов, хотя могут быть выражены негрубо. Верхние конечности задействованы, как правило, в большей степени, чем нижние. Паркинсонизм при данном заболевании носит негрубый характер, чаще всего проявляется гипомимией, генерализованной ригидностью и брадикинезией, такой симптом как тремор покоя не является характерным для FXTAS. Паркинсонизм, ассоциированный с мутацией гена *FMRI*, плохо отвечает на лечение препаратами леводопы. [89]. Когнитивные расстройства также встречаются практически у всех пациентов. Более того, описана прямая корреляция между выраженностью двигательного дефицита и когнитивным снижением. У 40% мужчин, страдающих FXTAS, по мере прогрессирования заболевания когнитивные расстройства

достигают степени деменции, которая носит смешанный (корковый и подкорковый) характер [150].

Несколько реже встречаются признаки вегетативной дисфункции (тазовые нарушения, ортостатическая гипотензия) и поражения периферической нервной системы (аксональная сенсомоторная полинейропатия, более выраженная в ногах), а также психические нарушения. [72]. В отличие от когнитивных расстройств, психические нарушения развиваются независимо от двигательного дефицита и могут возникать уже на ранних стадиях заболевания [66]. Среди психических расстройств описаны тревожно-депрессивный синдром, депрессия, апатия, обсессивно-компульсивный синдром, раздражительность и агрессия. Среди редких симптомов описаны глазодвигательные нарушения, пирамидная недостаточность и развитие нижнего спастического парапареза, дистония различной локализации [71, 100, 163]. Первым симптомом, как правило, является мозжечковая недостаточность и кинетический тремор. В дебюте синдром FXTAS может имитировать такие заболевания, как мультисистемная атрофия, эссенциальный тремор, болезнь Шарко–Мари–Тута [64, 122]. По сравнению с общей популяцией у носителей премутации гена *FMR1* мужского пола значительно чаще встречается артериальная гипертензия, различные нарушения ритма сердца, сердечная недостаточность.

Среди женщин – носительниц премутации гена *FMR1* у 20% развивается первичная овариальная недостаточность. Считается, что у некоторого процента носителей премутации женского пола может развиваться и клиника синдрома FXTAS, однако, в более «мягкой» форме: характерен негрубый двигательный и когнитивный дефицит. Вероятно, вторая X-хромосома оказывает определенный защитный эффект. Среди пациенток женского пола часто встречаются мышечные боли, имитирующие фибромиалгии [30].

Для заболевания описаны характерные изменения вещества головного мозга, выявляемые при проведении МР-томографии. К ним относятся диффузная атрофия, поражение белого вещества головного мозга, изменение МР-сигнала от средних ножек мозжечка. Атрофия затрагивает большие полушария головного

мозга, кору мозжечка, мозолистое тело, мост мозга. Поражение белого вещества головного мозга по характеру и локализации напоминает изменения, встречающиеся при микроангиопатии. Очаговое изменение МР-сигнала в области средних ножек мозжечка является типичным для FXTAS симптомом, который встречается у 60% пациентов мужского пола (данный симптом характерен также для МСА и рецессивных спиноцеребеллярных дегенераций) [24, 162]. Все описанные изменения имеют более выраженный характер у пациентов мужского пола [8].

Диагностика синдрома FXTAS затруднена ввиду не только малой осведомленности о заболевании, но также и по причине широкого спектра фенотипических проявлений заболевания. До открытия генетического дефекта использовались диагностические критерии, основанные на клинических и радиологических симптомах. Диагноз считался достоверным при наличии одного основного клинического (интенционный тремор, динамическая атаксия) и одного основного радиологического (изменение МР-сигнала от средних ножек мозжечка) симптома [72]. На сегодняшний день для постановки диагноза синдрома FXTAS необходимо выявление промежуточной экспансии CGG-повторов (55–199 копий) в 5'-нетранслируемой области гена *FMRI*.

Этиотропного лечения на сегодняшний день нет. Основными подходами являются реабилитация и проведение медико-генетического консультирования, т.к. семьи пациентов с синдромом FXTAS находятся в группе риска по развитию синдрома ломкой X-хромосомы.

1.4. Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами (НДЛС)

Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами (НДЛС) – генетически обусловленное аутосомно-доминантное дегенеративное заболевание ЦНС, характеризующееся поражением белого вещества и диффузной атрофией головного мозга [16]. До недавнего времени НДЛС считалась крайне редким заболеванием, однако, согласно последним исследованиям, оно обуславливает 10–25% взрослых форм ЛЭ [60, 81].

В 2011 г было показано, что заболевание ассоциировано с наличием мутаций в гене *CSF1R* (Colony-StimulatingFactor 1 Receptorgene, ген рецептора колониестимулирующего фактора 1) [133]. Ген лоцируется на 5-й хромосоме (5q32), представлен 24 экзонами. Белковый продукт гена – рецептор колониестимулирующего фактора 1, расположен на наружной мембране клеток различных органов, в том числе в микроглии ЦНС и, в меньшей степени, в нейронах [131, 188]. Рецептор относится к семейству тирозин-специфичных протеинкиназ, представлен экстрацеллюлярным, трансмембранным и активным доменами [130]. Связывание лиганда с рецептором приводит к образованию гомодимеров рецептора, фосфорилированию остатков тирозина его внутриклеточного домена, а также многих цитоплазматических белков (шаперонов, Src-киназ, фосфолипаз, белков сигнального пути ERK и проч.) [65]. Рецептор играет ключевую роль в процессах пролиферации, дифференцировки и регуляции работы макрофагов и моноцитов [133, 159].

Повышенная экспрессия гена *CSF1R* и, как следствие, активация глии в головном мозге, отмечена также при болезни Альцгеймера и после черепно-мозговых травм [106]. Более того, показано, что колониестимулирующий фактор-1 и его рецептор играют важную роль в дифференцировке клеток молочной железы [168]. На сегодняшний день описано более 60 мутаций, встречающихся во всех экзонах гена. Некоторые из мутаций ассоциированы с карциномой молочной железы, анапластической крупноклеточной лимфомой, хронической миеломоноцитарной лейкемией [168]. Экзоны с 12 по 22 кодируют активный тирозин-киназный домен рецептора; мутации данной локализации ассоциированы с развитием НДЛС [133]. Наиболее часто мутациям подвержены экзоны 18 и 19, в то время как в 16-м экзоне мутаций на сегодняшний день обнаружено не было. Практически все мутации являются миссенс-мутациями, но также описаны единичные делеции области сайтов сплайсинга со сдвигом рамки считывания [133].

Результатом возникновения мутаций в гене является гиперактивация рецептора, что, в свою очередь, ведет к избыточной клеточной пролиферации и

возникновению новообразований [156]. Механизмы, лежащие в основе развития фенотипа НДЛС, на сегодняшний день изучены мало. Предполагается, что мутации, затрагивающие киназный домен рецептора, приводят к образованию неактивных гомодимеров, и, следовательно, полному или частичному прекращению дальнейшего внутриклеточного сигналинга и дисфункции микроглии [133]. В экспериментах *invivo* было показано, что полное прекращение сигналинга CSF1R приводит к быстрой гибели всей микроглии путем апоптоза, это говорит о том, что рецептор необходим для поддержания жизнедеятельности глиальных клеток [46].

Патоморфологические изменения НДЛС представлены разрушением миелина и аксонов, а также сфероидными включениями в аксонах на уровне пораженного белого вещества. Сфероиды представляют собой агрегаты фосфорилированных нейрофиламентов и клеточных органелл, главным образом, митохондрий, рибосом и везикул. Интересно отметить, что сфероиды различных нейронов отличаются по составу и, вероятно, отражают хронологию деградации аксонов. Нет однозначного мнения, является ли деградация аксонов причиной заболевания, либо его следствием. Помимо сфероидных включений при НДЛС в окружающей микроглии выявляются реактивация астроцитов и скопление макрофагов, перегруженных липидами, что обуславливает ее пигментацию. Максимально выражены данные изменения в лобно-теменных и височных долях головного мозга и носят билатеральный характер. В одном исследовании было также показано расширение капилляров и утолщение их стенки за счет отложения коллагена и нарушение строения их базальной мембраны [16].

Точных эпидемиологических данных о заболевании на сегодняшний день нет. Считается, что НДЛС обуславливает 10–25% ЛЭ со взрослым началом [60, 81, 99]. Средний возраст дебюта заболевания составляет 43 года (колеблется от 18 до 78 лет), средняя продолжительность заболевания составляет 6,8 лет (1–29), средний возраст гибели пациентов составляет 53 года (23–84). Женщины заболевают раньше мужчин, что связывают с различной пенетрантностью гена в зависимости от пола [86].

Клинически заболевание характеризуется широким спектром когнитивных, аффективных и двигательных нарушений, судорожным синдромом. Первыми симптомами, как правило, являются признаки дисфункции лобных долей головного мозга, личностные изменения, аффективные расстройства [158]. Достаточно быстро присоединяются когнитивные расстройства от умеренных до деменции, нарушение походки, дискоординация и судорожный синдром [103, 54]. Часто встречаются апраксия конечностей, нарушение сложных видов чувствительности, афазия, выпадение полей зрения, пирамидная недостаточность, псевдобульбарный паралич, мозжечковая атаксия, нарушение тазовых функций. Среди более редких проявлений НДЛС описаны различные расстройства движений, такие как тремор покоя и миоклонический тремор, миоклонус, дистония различной локализации, хорей, атипичный паркинсонизм [17]. Среди первоначальных диагнозов, имевших место у пациентов с генетически подтвержденной НДЛС, в литературе описаны паркинсонизм, кортикобазальная дегенерация, лобновисочная деменция, первичный васкулит ЦНС, РС, ЦАДАСИЛ, ОНМК [60, 46].

Заболевание неуклонно прогрессирует, средняя его продолжительность составляет 6–7 лет, хотя и описаны единичные случаи стажа заболевания более 20 лет. Пациенты, как правило, оказываются достаточно быстро прикованными к кровати ввиду грубой апраксии, спастичности и общей мышечной ригидности. Гибель пациентов наступает в связи с инфекционными осложнениями. Выраженность синдромов и скорость прогрессирования заболевания разнятся среди пациентов даже в пределах одной семьи, имеющих сходный генотип. Таким образом, для НДЛС не обнаружено каких-либо клинико-генетических корреляций.

Для заболевания описан типичный паттерн изменений, выявляемых при нейровизуализационном исследовании. МР-томография головного мозга обнаруживает двусторонние асимметричные очаговые (со временем приобретающие сливной характер) изменения белого вещества лобных, височных и теменных долей больших полушарий головного мозга, атрофию и очаговые

изменения мозолистого тела, а также диффузную атрофию больших полушарий и, соответственно, заместительную гидроцефалию [57]. Описанные изменения встречаются практически в 100% случаев НДЛС, несколько реже удается выявить измененный сигнал от пирамидных трактов. Режим ДВИ примерно в трети случаев выявляет ограничение диффузии в измененном белом веществе. Изменения сигнала в режиме ДВИ, вероятнее всего, соответствуют зонам цитотоксического отека. Показано, что при НДЛС отмечается персистирующее повышение сигнала на ДВИ. Предполагается, что патогенетической основой является ограничение движения молекул воды внутри измененной миелиновой оболочки или интрамиелиновый цитотоксический отек [103, 104]. Примерно у половины пациентов с НДЛС при выполнении компьютерной томографии головного мозга удается выявить множественные мелкие кальцинаты в толще белого вещества, расположенные преимущественно в лобных долях больших полушарий, вблизи мозолистого тела и переднего рога бокового желудочка, в субкортикальных отделах теменных долей [52, 85].

Диагноз НДЛС следует заподозрить у всех пациентов, имеющих ЛЭ с поздним началом при отсутствии прочих очевидных причин заболевания [99]. Для заболевания не является характерным наличие каких-либо отклонений в анализах крови и ЦСЖ. Также не было подтверждено наличие интратекального синтеза олигоклональных антител у носителей мутаций гена *CSF1R*, хотя в литературе есть единичные указания на интратекальный синтез антител среди носителей мутаций p.Asn854Lys и p.Val838Leu [81, 92, 149, 165]. На сегодняшний день диагноз считается достоверным только при обнаружении гетерозиготной мутации в 12–22 экзонах гена *CSF1R*.

Данную форму ЛЭ с поздним началом следует дифференцировать со следующими заболеваниями: болезнь Александра, аутосомно-доминантная лейкодистрофия с поздним началом (ассоциированная с геном *LMNB1*), лобновисочная деменция, *MAPT*-ассоциированные состояния, ЦАДАСИЛ, болезнь Альцгеймера с ранним началом, болезнь Насу–Хакола, митохондриальные энцефалопатии, РС и др. Для верификации диагноза важно

обращать внимание на семейный анамнез, особенности неврологического и психоневрологического статуса, быстро прогрессирующие когнитивные и аффективные нарушения, МР-паттерн (ЛЭ в сочетании с корковой атрофией, вовлечением мозолистого тела и пирамидного тракта).

Патогенетического лечения в настоящий момент нет. Показана симптоматическая терапия в необходимом объеме (леводопа, антидепрессанты, противосудорожные препараты и проч.), двигательная, психологическая и социальная реабилитация, профилактика вторичных осложнений. Пациентам, страдающим НДЛС, противопоказаны типичные нейролептики, т.к. могут усилить проявления судорожного и экстрапирамидного синдромов. На сегодняшний день имеется лишь одно отечественное описание НДЛС [4].

Таким образом, анализ литературы показал, что данных о таких наследственных формах ЛЭ с поздним началом, как ЛССЛ, НДЛС или синдром FXTAS, крайне мало. Более известна ЦАДАСИЛ, но даже для этой формы ЛЭ полученные данные чрезвычайно варьируют среди различных популяций. Многие наследственные ЛЭ могут имитировать течение друг друга, длительное время протекать под маской сосудистого или демиелинизирующего заболевания либо быть вовсе не замеченными ввиду «мягкого» фенотипа. Отсутствие диагностических алгоритмов наследственных ЛЭ взрослых отдалает постановку верного диагноза. Своевременная диагностика этих форм патологии чрезвычайно важна, поскольку, даже при отсутствии сегодня для многих из них патогенетического лечения, представляется принципиально важным избегать неоправданной терапии и осуществлять медико-генетическое консультирование, направленное на выявление лиц из группы риска и профилактику случаев болезни в отягощенных семьях.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методы клинического обследования

Настоящая работа выполнена на базе ФГБНУ «Научный центр неврологии» (ФГБНУ НЦН). Клиническая часть проводилась в V неврологическом отделении ФГБНУ НЦН, молекулярно-генетический анализ проводился в ДНК-лаборатории V неврологического отделения ФГБНУ НЦН, нейровизуализационная часть – в отделении лучевой диагностики, нейрофизиологическая часть – в лаборатории клинической нейрофизиологии. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 1-7/16 от 27.01.2016 г). Перед проведением исследования все пациенты были ознакомлены с предстоящими процедурами и подписали информированное согласие. Обследование проводилось амбулаторно.

Суммарно в работу было включено 340 больных и клинически здоровых лиц, в том числе: 243 пациента с подозрением на наследственную форму ЛЭ, а также 97 здоровых добровольцев, сформировавших группу контроля для проведения скрининга на носительство мутаций в гене *NOTCH3*. Набор субъектов в группу контроля проводился из клинически здоровых лиц без указания на наличие в семейном анамнезе каких-либо форм поражения головного мозга.

В результате проведения генетического скрининга на носительство мутаций в кандидатных генах и, соответственно, идентификации конкретных молекулярных формнаследственных ЛЭ была выделена основная группа пациентов (n=44). Основные сведения о пациентах приведены в таблице 1.

Все потенциальные носители мутаций в «генах интереса» первоначально проходили процедуру медико-генетического консультирования, в рамках которой им предоставлялась информация о клинических характеристиках заболевания, а также о том, как положительный результат ДНК-тестирования может отразиться

на величине риска носительства мутации другими членами семьи. В случае положительного результата ДНК-тестирования обследуемому предоставлялась более подробная информация относительно заболевания, возможных социальных и психологических последствий выставляемого диагноза, доступных на текущий момент методов коррекции симптомов заболевания, подходов к планированию семьи.

Таблица 1. Общая характеристика обследованных пациентов

	ЦАДАСИЛ	ЛССЛ	FXTAS	НДЛС	Общее число обследованных
Число больных (n)	30	11	1	2	243
Пол (м:ж)	16:14	5:6	1:0	2:0	128:115
Возраст (годы)	45,4 ±17,3	27,5 ±7,7	60	55; 32	44,4 ±13,8
Дебют заболевания (годы)	35,6 ±12,3	16,5 ±11,3	35	53	-
Длительность заболевания (годы)	12,3 ±13,1	11 ±9,2	25	1,5	-

По результатам ДНК-диагностики дальнейшему обследованию подвергались все носители мутаций генов *NOTCH3*, *DARS2*, *FMRI* и *CSF1R* (вне зависимости от наличия/отсутствия клинических проявлений заболевания). Носитель мутации расценивался как симптомный при наличии любых неврологических либо нейропсихологических проявлений, либо как пациент на доклинической стадии заболевания при отсутствии клинических проявлений и наличии изменений в веществе головного мозга, выявляемых при проведении МРТ. Носитель мутации в гене *FMRI* на момент выявления мутации и постановки окончательного диагноза скончался, поэтому в работе приводится ретроспективный анализ медицинской документации больного.

У остальных участников исследования был собран общий и семейный анамнез, выполнялся неврологический и нейропсихологический осмотр. Всем носителям мутаций в каком-либо из анализируемых генов для оценки когнитивных функций, выявления лобной дисфункции, выявления и оценки тяжести депрессии и тревоги дополнительно проводилось тестирование по шкалам MoCA (Montreal Cognitive Assessment, Монреальская шкала оценки

когнитивных функций), FAB (FrontalAssessmentBattery, Батарея лобной дисфункции), HADS (HospitalAnxietyandDepressionScale, Госпитальная шкала тревоги и депрессии), соответственно. Используемые в работешкалы и интерпретация результатов приведены в Приложении.

Нейропсихологическое тестирование пациентов включало методики и пробы для оценки высших психических функций (ВПФ): праксиса, зрительного, слухового и тактильного гнозиса, речи, мышления, памяти (непосредственное и отсроченное воспроизведение вербального и невербального материала).

Для оценки зрительного восприятия использовались следующие методические приемы:

1. Зрительно-предметное восприятие: «опознание реалистичных предметных изображений», «опознание контурных перечеркнутых изображений», «проба Поппельрейтера (наложенные изображения)», «зашумленные изображения»;

2. Зрительно-пространственное восприятие: «проба немые часы», «недорисованные изображения», самостоятельный рисунок по речевой инструкции геометрических фигур и предметов разной сложности (куб, стол на четырех ножках).

Для оценки акустического неречевого восприятия применялась проба на слухомоторные координации (моторное воспроизведение воспринимаемого на слух ритмического комплекса).

Для исследования тактильного восприятия и межполушарного взаимодействия использовалась «Доска Сегена».

Для оценки произвольных движений и действий (праксиса) использовались следующие методические приемы:

1. Кинестетический праксис: пробы на воспроизведение различных поз пальцев руки по кинестетическому образцу;

2. Кинетический (динамический) праксис: проба «кулак—ребро—ладонь», графическая проба (копирование узора из двух меняющихся звеньев), проба на реципрокную координацию (оценка межполушарного взаимодействия в

двигательной сфере);

3. Пространственный праксис: «пробы Хэда»;
4. Регуляторный праксис: «проба реакция выбора».

Для оценки памяти использовались следующие методические приемы:

1. Слухоречевая память: методика заучивания 10 слов, заучивание двух групп по 3 слова, двух предложений, двух небольших рассказов.
2. Зрительная память: «фигуры Рея или Остеррайха», «трудновербализуемые фигуры» (в количестве 7 штук).

Для исследования мышления применялись следующие методические приемы: серийное вычитание «от 100 по 7»; решение арифметических задач; пространственные операции с «кубиками Кооса»; толкование переносного смысла пословиц, поговорок и метафор; понимание смысла и морали рассказов; понимание содержания отдельных или серийных сюжетных картинок; исключение предметов.

2.2. Нейрофизиологические методы обследования

Всем носителям мутаций в одном из исследуемых генов для оценки когнитивных функций и выявления ранних доклинических нарушений проводилось исследование эндогенных (когнитивных) вызванных потенциалов P300 на аппарате Нейро-МВП-4 (Нейрософт). Регистрация P300 осуществлялась в условиях опознания значимого (редкого) стимула, который был представлен в виде тонового щелчка с частотой 2000 Гц среди частых незначимых слуховых стимулов частотой 1000 Гц. Запись проводилась по двум каналам в отведениях Cz-M1, Cz-M2. Полоса регистрируемых частот от 0,2 до 100 Гц, усиление 5 или 10 мкВ/деление. Длительность подаваемых стимулов составляла 50 мс, интенсивность – 80 дБ, частота подачи стимула – 1 раз в секунду. Стимулы подавались бинаурально и появлялись в псевдослучайной последовательности в соотношении 80:20. Число усреднений было отдельно для значимых и незначимых стимулов и устанавливалось равным от 10 до 25 для значимых

стимулов. Выделение ответа проводилось в условиях счета пациентом значимых стимулов. За время регистрации ВП давалось три попытки счета.

Данные обрабатывались при помощи программного обеспечения «Нейро-МВП». Когнитивный компонент ответа оценивался с определением латентности пиков N2, P3, N3 в мс, а также амплитуд N2/P3 и P3/N3 в мкВ. Увеличение латентности пика P300 расценивалось как слабость процессов опознания и дифференцировки, уменьшение амплитуды пика P300 – как снижение объема оперативной памяти, постепенное уменьшение амплитуды пика P300 в последующих сериях эксперимента – как быстрая истощаемость и утомляемость пациента (нормативные значения амплитуды и латентности пика P300 для различных возрастных групп приведены в приложении).

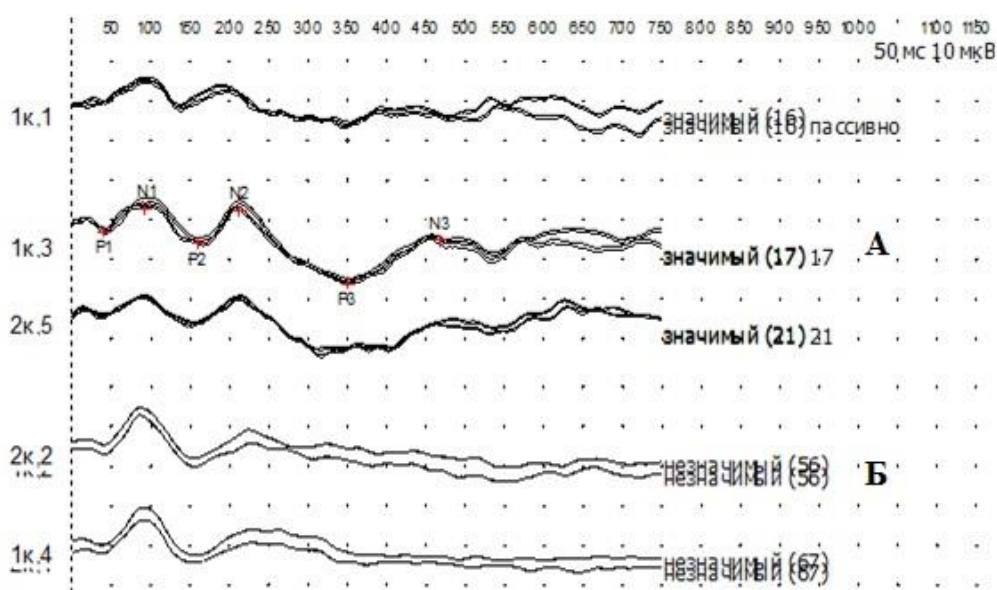


Рисунок 1 -Когнитивные ВП P300 в норме. Пациентка С, 52 года: P300 при счете значимого стимула (А) и прослушивании незначимого стимула (Б); в пробе со счетом (счет правильный) латентность пика P3=350 мс, амплитуда 18,4 мкВ, что соответствует возрастной норме

На рисунке 1 показан пример регистрации и интерпретации P300 в норме. Можно видеть, что при распознавании значимого стимула выделяется отчетливый когнитивный комплекс. При прослушивании незначимого стимула регистрируется только сенсорный пик N1.

2.3. Нейровизуализационные методы обследования

Магнитно-резонансная томография

Всем пациентам было выполнено МРТ-исследование на аппарате «Siemens Magnetom Verio 3 T» (Германия) в следующих режимах: T1 MPR, T2, T2 dark-fluid (FLAIR). Стандартные режимы T2 FLAIR и T2-взвешенные изображения (T2-ВИ) проводились с целью оценки очагового поражения вещества мозга и исключения другой патологии, исследование в режиме 3D-T1 градиентное эхо (3D T1-MPR) – для возможности последующей реконструкции изображений в любых проекциях для получения подробных анатомических данных. Пациентам с ЦАДАСИЛ для выявления микрокровоизлияний исследование выполнялось также в режиме SWI, пациентам с НДЛС – в режимах SWI(с целью выявления кальцификатов) и ДВИ (для выявления признаков цитотоксического отека). Оценка изображений проводилась при помощи программы для работы с медицинскими изображениями eFilmWorkstation.

1. Стандартный режим T2 dark-fluid (межд. FLAIR) выполнялся в аксиальной плоскости. Срезы были параллельны линии, проводимой между нижним краем гипофиза и дном четвертого желудочка. Параметры сканирования: TR (время повторения) 9000 мс; TE (время эхо) 92 мс; толщина среза 5,0 мм; межсрезовой интервал 1,5 мм; количество срезов 22; поле обзора 230 мм, матрица 256x256 пикселей, продолжительность исследования – 4 мин 32 с. T2 dark-fluid использовался для подсчета объема поражения головного мозга. Однако, учитывая, что данный режим обладает высокой чувствительностью в выявлении юстакортикальных и перивентрикулярных очагов, но низкой – в выявлении инфратенториальных очагов, он дополнялся режимом T2-ВИ для наилучшей визуализации и сопоставления очагов в структурах задней черепной ямки. Импульсная последовательность T2-ВИ также выполнялась в аксиальной плоскости, идентично плоскости сканирования режима T2 TIRM.

2. Исследование в режиме 3D-T1 градиентное эхо (3D T1-MPR) выполнялось для получения подробных анатомических данных. Параметры сканирования были следующими: матрица 256 × 246, TR (время повторения) –

1900, TE (время эхо) – 2,5, толщина среза – 1 мм, FOV (поле зрения) – 26 × 26, время исследования составило 4 мин 18 сек.

3. Режим SWI.

Наличие микрокровоизлияний определялось по данным изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости (режим SWI). Параметры сканирования были следующими: TR 29 мс, TE 20 мс, FOV 256 (фаза FOV 75%), толщина среза 2 мм, размер вокселя – 1 x 0,5 x 2 мм, количество усреднений – 1, время исследования 6:39 мин. На рисунке 2 приведен пример изображений, полученных при исследовании в режиме SWI.

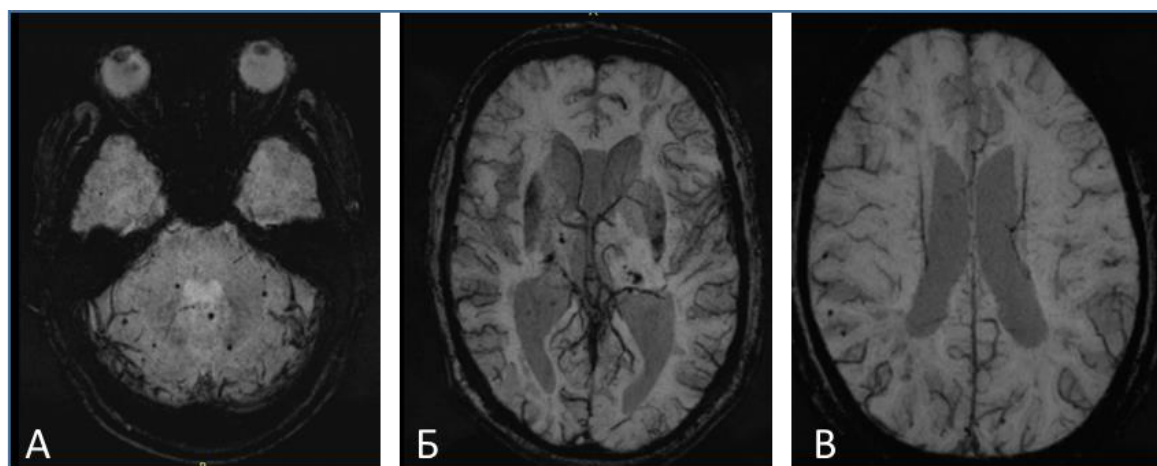


Рисунок 2 - Микрокровоизлияния как признак микроангиопатии по данным МРТ. Примеры изображений МРТ в режиме SWI, демонстрирующих микрокровоизлияния в области мозжечка, таламуса и субкортикального белого вещества полушарий большого мозга

Магнитно-резонансная спектроскопия

Пациентам группы ЛССЛ дополнительно проводилась магнитно-резонансная спектроскопия. Исследование заключалось в выполнении одновоксельной магнитно-резонансной спектроскопии по водороду (^1H -MPC) с временем эхо (TE) – 30 мс. Параметры сканирования были следующими: TR – 2000, TE – 30, толщина среза – 1 мм, количество усреднений данных - 128 раз, FOV (поле зрения) – 20 × 20, общее время сканирования (включая шиммирование) составило 4 мин 24 сек.

После сбора сырых данных постпроцессорную обработку проводили с помощью дополнительного программного обеспечения (Spectroscopy Application), установленного производителем (Siemens). В нашем исследовании зоны интереса (воксели) выставлялись на участки измененного белого вещества. В спектрах получали данные о содержании следующих основных наиболее стабильных метаболитов головного мозга: N-ацетиласпартат (NAA), холин (Cho), креатин (Cr), лактат (Lac). Основным интерес представлял лактат, являющийся конечным продуктом анаэробного гликолиза, маркером гипоксии. У здоровых людей концентрация лактата находится на уровне предела чувствительности метода, то есть, как правило, на спектрах не обнаруживается. Двойной пик лактата находится на 1,33 ppm, причем при TE 135 мсек он инвертирован (находится в противофазе), при TE 30 мсек – направлен вверх (находится в фазе). На рисунке 3 представлен результат одновоксельной спектроскопии для здорового человека.

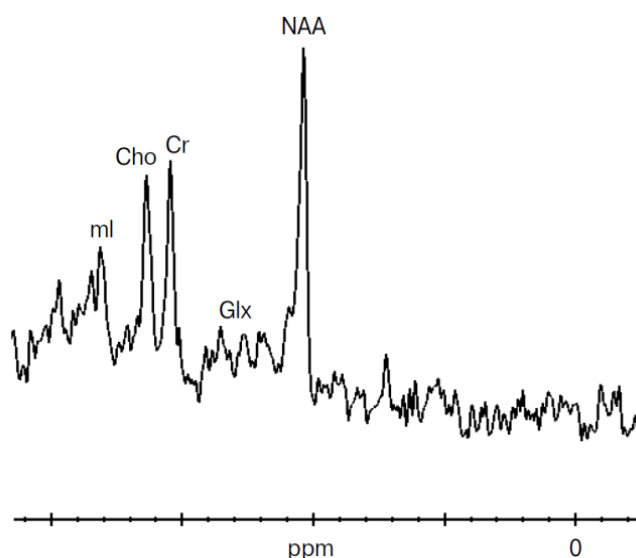


Рисунок 3 - Пример одновоксельной спектроскопии по водороду для здорового человека: пик лактата не идентифицируется

2.4. Молекулярно-генетические методы обследования

ДНК-экстракция

Образцы геномной ДНК выделялись из цельной крови с помощью набора для выделения Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Cat. #A1125), на основе протокола, состоящего из следующих основных этапов:

1. Осаждение лейкоцитов из периферической крови.
2. Разрушение плазматической и ядерной мембран лизирующими буферами.
3. Освобождение от клеточных белков путем высаливания.
4. Экстракция геномной ДНК из водного раствора изопропанолом.
5. Отмывка полученной ДНК этанолом.

Генотипирование ДНК образцов проводили следующими молекулярно-генетическими методами:

- прямое капиллярное секвенирование по Сэнгеру;
- фрагментный анализа на капиллярном генетическом анализаторе;
- секвенирование нового поколения (NGS).

Прямое секвенирование

Мутационный скрининг 23 экзонов (область EGF-подобных повторов, мутации в которой ассоциированы с синдромом ЦАДАСИЛ) гена *NOTCH3* и всех экзонов гена *DARS2*, а также прилежащих участков интронов (не менее 50 пар нуклеотидов с каждого конца), проводили методом прямого капиллярного секвенирования.

- Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) фрагментов ДНК, содержащих различные экзоны, для последующего секвенса проводили в 10 мкл реакционной среды, содержащей: 50мМ KCl, 50мМ Трис-HCl (pH 8,8), 2,5мМ MgCl₂, 250мкМ dNTP, 2% формамида* (* данный реагент использовался в протоколе ПЦР гена *NOTCH3*), 0,2 ед Taq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами («Синтол», Москва), по 0,25 мкМ прямого и обратного праймеров. Праймеры, фланкирующие интересующие области, выбирали с помощью компьютерной программы «Primer3» и проверяли в программе «Primer-BLAST». В случаях близкой расположенности экзонов друг к другу праймеры подбирались

на два или три экзона вместе, а для более точного сиквенса выбирались дополнительные, внутренние праймеры. ПЦР осуществляли на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems) по протоколу реакции, представленному в таблице 2.

Таблица 2. Температурно-временной режим амплификации фрагментов гена *NOTCH3*

№ п/п	Назначение этапа	Температурно-временной режим	Число циклов
1	Начальная денатурация	95°C – 5 мин	1
2	Плавление матрицы	95°C – 30 с	40
3	Отжиг праймеров	*59-65°C – 60 с	
4	Элонгация цепи	72°C – 120 с	
5	Заключительная элонгация	72°C – 10 мин	1

* Температура отжига праймеров колебалась в диапазоне от 59⁰ до 65⁰С в зависимости от амплифицируемого экзона. Дизайн праймеров, а также их температуры отжига приведены отдельно для каждого экзона гена в таблице «Праймеры» (см. Приложение 1)

- Эффективность и чистоту проведенной ПЦР оценивали методом горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле, при комнатной температуре в буфере TAE (40 мМ Трис-ацетат рН 8,1, 2 мМ ЭДТА), содержащем 0,4 мкг/мл бромистого этидия (интеркалирующего красителя), при напряжении электрического поля 70 В в течение 90 мин. Распределение фрагментов ДНК оценивали в длинноволновом ультрафиолетовом освещении с использованием гель-документирующей системы.

- Для удаления из реакционной смеси оставшихся свободных праймеров и нуклеотидов (dNTPs) полученный ПЦР-продукт подвергали ферментативной очистке в 5 мкл реакционной смеси, содержащей: 2,5 мкл образца, 0,5 ед. креветочной щелочной фосфатазы (например, SAP, Promega) и 5ед. экзонуклеазы 1 (например, exoI, Fermentas); при температуре 37°C – 30 мин с последующей инактивацией ферментов при 37°C – 15мин.

- Сиквенсовую реакцию проводили в 96-луночных плашках, в 10 мкл, с прямого или обратного праймера, соответствующих анализируемому ампликону,

с использованием реагентов коммерческого набора BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems»), на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems) по протоколу реакции, представленному в таблице 3.

Таблица 3. Температурно-временной режим реакции секвенирования

№ п/п	Назначение этапа	Температурно-временной режим	Число циклов
1	Начальная денатурация	96°C – 60 с	1
2	Плавление матрицы	96°C – 10 с	25
3	Отжиг праймеров	50°C – 5 с	
4	Элонгация цепи	60°C – 240 с	

- Для очистки сиквенсового продукта к 10 мкл продукта добавляли 100 мкл 75% изопропилового спирта и 15 мин выдерживали при комнатной температуре и постоянном перемешивании, после чего центрифугировали со скоростью 13 000 об/мин при 4°C в течение 20 мин. Далее к осадку добавляли 60 мкл 75% изопропилового спирта и повторно центрифугировали со скоростью 13 000 оборотов при 4°C в течение 2 мин. Осадок высушивали в течение 3 мин при 65°C.

- Полученный осадок денатурировали в 10 мкл Hi-Di формамида и анализировали нуклеотидную последовательность образцов на капиллярном генетическом анализаторе ABI Prism 3130 «Applied Biosystems». Обработка полученных данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Data Collection Software v3.0, Sequencing Analysis Software v5.2 и SeqScape Software v2.5 (рисунок 4). В случае положительных находок повторно проводили сиквенсовую реакцию с обратного праймера для подтверждения наличия найденного генетического повреждения.

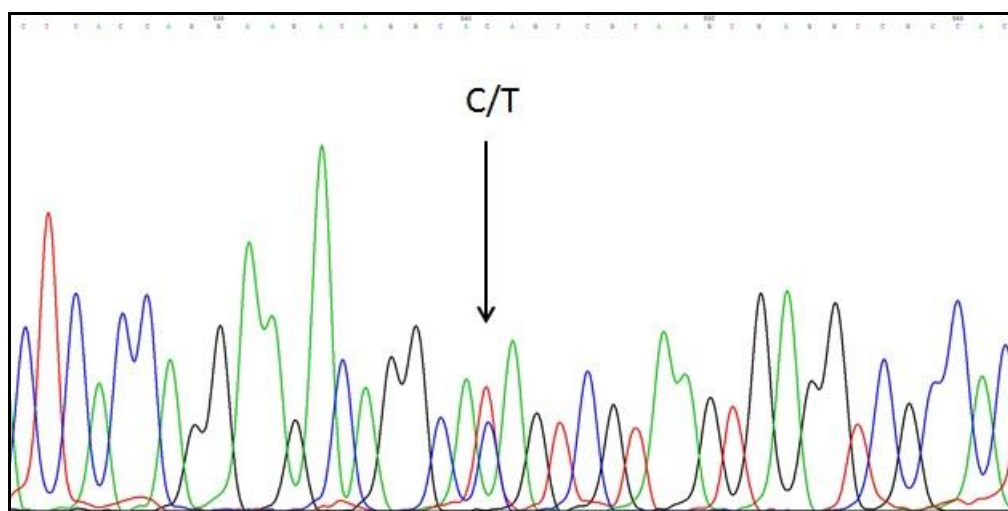


Рисунок 4 - Результат анализа четвертого экзона гена *NOTCH3* методом прямого секвенирования. Стрелкой указана патогенная мутация C222Y, приводящая к замене цистеина на тирозин (пациентка ЦАД-4, см. главу 3)

Фрагментный анализ

Микросателлитное генотипирование экспансии tandemных CGG-повторов, локализованной в 5'-нетранслируемой области гена *FMRI*, проводили методом анализа длин фрагментов с помощью капиллярного гель-электрофореза с лазериндуцированной флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР с флуоресцентно меченым праймером. Выявление экспансии CGG-повторов в исследуемом образце осуществляли в два этапа.

- На первом этапе проводилась амплификация локуса tandemных CGG-повторов промоторной области *FMRI* с помощью ПЦР с использованием двух специфических олигонуклеотидных праймеров, фланкирующих анализируемый регион ДНК, один из которых химически связан с флуоресцентным красителем, детектируемым на канале FAM капиллярного генетического анализатора. Таким образом, в ПЦР синтезировались флуоресцентно-меченые фрагменты ДНК, длину которых далее оценивали методом фрагментного анализа на капиллярном генетическом секвенаторе. Так как анализируемый локус находится на X-хромосоме, то в случае анализа женской ДНК амплифицируется два аллельных варианта, а в случае анализа мужской ДНК – один аллельный вариант. Максимально возможное количество CGG-повторов, детектируемое на этом этапе – 80.

Амплификацию участков гена, содержащих тандемные CGG-повторы, проводили в 10 мкл реакционной среды, специально подобранной для амплификации GC-богатых матриц, содержащей: 50мМ KCl, 50мМ Трис-HCl (pH 8,8), 2,5мМ MgCl₂, 250мкМ dNTP, 1М бетаина, 100мкМ 7-deaza-GTP, 5% DMSO, 0,5ед. Taq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами, по 0,5 пкмоль каждого праймера: прямого, (5'-CGCTCAGCTCCGTTTCGG-3') и обратного, меченого флуоресцентной меткой FAM (5'-(FAM)AAGTACCTTG TAGAAAGCGCCA-3'), на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems). Полученные ампликоны денатурировали в Hi-Di формамиде. Анализ количества тринуклеотидных повторов в полученных образцах проводили на капиллярном генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (AppliedBiosystems), используя размерный стандарт Liz 500, с помощью программного обеспечения DataCollectionsoftwarev3.0. Полученные результаты (рисунок5) обрабатывались при помощи программного обеспечения GeneMapper v. 4.0 (AppliedBiosystems).

- На втором этапе для всех образцов женской ДНК с одним выявленным аллельным вариантом и всех образцов мужской ДНК с отсутствием аллельного варианта проводили полимеразную цепную реакцию с использованием праймеров, специфичных к повторам, и последующий фрагментный анализ ампликонов. Для данного этапа были подобраны следующие праймеры: прямой праймер, меченый флуоресцентной меткой FAM (5'-(FAM)CGCTCAGCTCCGTTTCGG-3'), два обратных праймера, специфичных для CGG-повторов (5'-CAGGAAACAGCTATGAGGCCCA-3', 5'-CAGGAAACAGCTATGAGGCCAGCCGCCGCCC-3').

Секвенирование нового поколения (NGS)

Для 2 пациентов с признаками ЛЭ по данным МРТ головного мозга и неоднозначной клинической картиной был проведен мутационный скрининг с помощью диагностической таргетной панели на основе секвенирования нового поколения (NGS). Таргетная панель является собственной разработкой ФГБНУ

НЦН и направлена на секвенирование кодирующей области 300 генов наиболее значимых нейродегенеративных заболеваний, среди которых 22 гена ассоциированы с лейкоэнцефалопатиями.

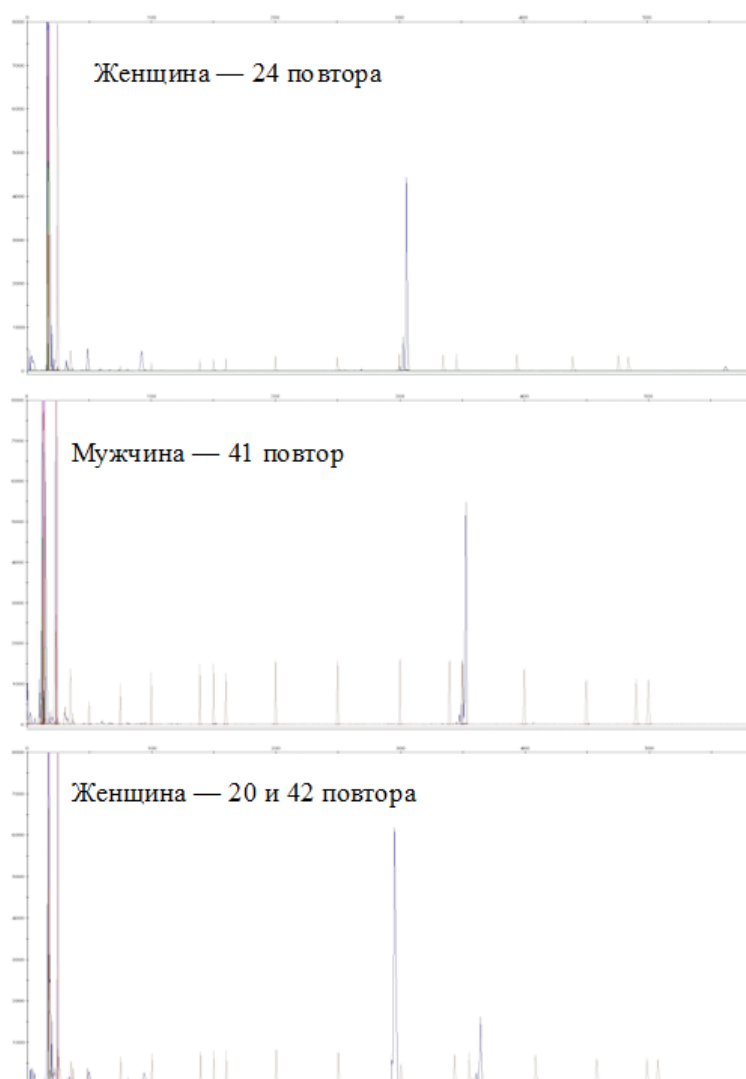


Рисунок 5 - Результаты фрагментного анализа образцов ДНК здоровых обследуемых. Синие пики – продукты амплификации, оранжевые пики – размерный стандарт 500 LIZ. А – женщина, 24 CGG-повтора в гомозиготном состоянии; Б – мужчина, 41 CGG-повтор; В – женщина, гетерозиготное носительство двух аллелей с различной величиной экспансии, 20 и 42 CGG-повтора

Таргетное секвенирование на основе NGS проводили на базе Центра коллективного пользования «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИ Сельхозбиотехнологий. Фрагментацию образцов ДНК проводили методом ультразвукового воздействия на фрагменты со средним размером 180–220 bp. Библиотеки готовили с использованием набора KAPA Library Preparation Kit

(Roche, Швейцария). Обогащение библиотеки ДНК проводили по технологии SeqCap EZLibrarySR с помощью специфических биотинилированных олигонуклеотидных зондов, комплементарных последовательностям кодирующих областей генов, входящих в нашу панель. Секвенирование полученных библиотек ДНК проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina), с использованием набора реагентов для секвенирования MiSeq® ReagentKitv3, 150 циклов. Поиск вариантов осуществляли с помощью программы GATK 3.1, а их аннотацию – с помощью онлайн-ресурса wANNOVAR (Yang, Wang, 2015). При оценке патогенности выявленных вариантов использовали следующие базы данных: Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>); dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>); OMIM (<http://www.omim.org/>); ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>). Положительные находки (мутации в гене *CSF1R*) были подтверждены методом капиллярного секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems). Для каждого варианта были подобраны специфические праймеры, фланкирующие область выявленной мутации, размером ~ в 300 п.н., с помощью компьютерных программ «Primer3» и «Primer-BLAST», которые представлены в Приложении. Амплификацию фрагментов ДНК, содержащих выявленные мутации, для последующего секвенса проводили в 10 мкл реакционной среды, содержащей: 50мМ KCl, 50мМ Трис-HCl (pH 8,8), 2,5мМ MgCl₂, 250мкМ dNTP, 0,2 ед Taq ДНК-полимеразы с ингибирующей активностью фермента антителами («Синтол», Москва), по 0,25 мкМ прямого и обратного праймера. ПЦР осуществляли на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems).

2.5. Статистический анализ данных

Статистический анализ проводили в программе IBM SPSS Statistics v23 (IBM corp., USA). В ходе анализа качественных данных рассчитывались абсолютные и относительные (в %) значения.

Для проверки нормальности распределения значений в выборке нами использовался критерий Шапиро–Уилка. С целью поиска различий по тем или

иным клиническим признакам нами использовался двухвыборочный t-тест при сравнении параметрических данных и двухвыборочный U-тест при сравнении непараметрических данных. Статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$.

Корреляционный анализ данных проводился при помощи расчета коэффициента корреляции Спирмена.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С помощью совокупности описанных выше методов нами была обследована невыборочная серия пациентов, обратившихся в ФГБНУ НЦН с характерными неврологическими жалобами и признаками поражения белого вещества головного мозга по данным МРТ, у которых предполагалась наследственная причина заболевания. Всего обследовано 243 пациента. Среди них по данным проведенного генетического анализа было выявлено:

- 39 случаев ЦАДАСИЛ (16%);
- 11 случаев ЛССЛ (4,5%);
- 2 случая НДЛС (0,8%);
- 1 случай синдрома FXTAS (0,4%).

Далее представлен детальный анализ выявленных случаев наследственных ЛЭ взрослого возраста, для которых была установлена конкретная молекулярная форма заболевания.

3.1. Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ)

3.1.1. Клиническая характеристика пациентов

В период с января 2013г по декабрь 2017 г в ДНК-лабораторию ФГБНУ НЦНс целью проведения генетического анализа на наличие мутаций в гене *NOTCH3* было направлено 162 пациента с подозрением на ЦАДАСИЛ. Были зафиксированы следующие причины направления на ДНК-анализ:

- наличие в анамнезе ОНМК по ишемическому типу (ТИА либо ИИ) при отсутствии очевидных сосудистых факторов риска;
- головная боль мигренозного характера;
- положительный семейный анамнез по ОНМК либо головным болям;
- родство с пациентами с верифицированным диагнозом ЦАДАСИЛ;
- обнаружение при проведении МРТ головного мозга диффузного поражения белого вещества головного мозга в сочетании с ишемическими очагами.

В результате генетического скрининга данной выборки пациентов было выявлено 39 носителей мутаций в гене *NOTCH3*. Среди них 30 человек было доступно для дальнейшего обследования. Таким образом, выборка ЦАДАСИЛ (носителей мутаций в гене *NOTCH3*) была представлена 30 пациентами, 3 из которых находились на доклинической стадии заболевания. Возраст дебюта и стаж заболевания на момент осмотра в ФГБНУ НЦН и постановки диагноза ЦАДАСИЛ составили соответственно 42,6 ($\pm 17,8$) и 12 ($\pm 13,1$) лет. Демографические данные приведены в таблице 4.

Таблица 4. Демографическая характеристика группы ЦАДАСИЛ

	Симптомные пациенты	Пациенты на доклинической стадии заболевания
Количество (n)	27	3
Пол (м:ж)	15:12	1:2
Возраст (годы)	42,6 \pm 17,8	20,3 \pm 2,3

Направительный диагноз

Среди 30 пациентов 19 (63,3%) имели положительный семейный анамнез. Тем не менее, большинство пациентов (n=70%), направленных в ФГБНУ НЦН на генетический анализ, несмотря на наличие семейного анамнеза, имели иной первичный диагноз:

- практически половина пациентов (43%) имела установленный диагноз РС (клинические проявления включали преходящие онемение либо слабость

конечностей в сочетании с многоочаговым поражением вещества головного мозга по данным МРТ), при этом 54% из них хотя бы один раз на протяжении жизни получали по этому поводу пульс-терапию глюкокортикостероидами, а 23% пациентов получали постоянную терапию препаратами, изменяющими течение РС (ПИТРС);

- у 5 пациентов была диагностирована цереброваскулярная патология – у них имели место тяжелая, плохо поддающаяся медикаментозной коррекции гипертония в сочетании с атеросклерозом брахиоцефальных артерий, а также повторные ОНМК (больные были направлены на генетический анализ ввиду обнаружения при проведении МРТ изменений, характерных для ЦАЛАСИЛ);

- 3 пациента длительное время наблюдались у психиатров по поводу панического расстройства. Решение о ДНК-диагностике было принято после проведения МРТ головного мозга и обнаружения характерных изменений. Интересно отметить, что в двух случаях нейровизуализационное исследование было проведено по желанию самих пациентов, в третьем – ввиду появления головных болей;

- 1 пациентка длительное время жаловалась на эпизодическое дрожание и онемение рук, наблюдалась у неврологов с диагнозом «эссенциальный тремор», получала терапию клоназепамом без эффекта. Нейровизуализация была выполнена спустя 5 лет от дебюта заболевания, были обнаружены типичные для ЦАДАСИЛ изменения;

- 1 пациентка длительное время наблюдалась с диагнозом «поздняя мозжечковая дегенерация» (вестибуло-атактический, псевдобульбарный синдромы), пока не была выполнена МРТ головного мозга, выявившая характерные для ЦАДАСИЛ изменения;

- 1 пациентка наблюдалась с диагнозом «остеохондроз шейного отдела позвоночника», в рамках которого рассматривались эпизодическое онемение руки и головные боли;

- 1 пациент имел первоначальный диагноз «антифосфолипидный синдром» с повторными ОНМК, получал терапию антикоагулянтами.

Положительный семейный анамнез, отягощенный по нарушениям мозгового кровообращения и когнитивным нарушениям, позволил заподозрить ЦАДАСИЛ.

Анализ неврологической картины

Спектр клинических проявления заболевания симптомных пациентов с ЦАДАСИЛ был представлен цефалгическим синдромом (мигрень либо головная боль напряжения), пирамидной, экстрапиримидной и мозжечковой недостаточностью, чувствительными нарушениями, тазовыми расстройствами, а также когнитивными и психоэмоциональными нарушениями.

Головные боли отмечены у половины пациентов (55,5%), преобладала головная боль напряжения (60% пациентов с головными болями), мигрень отмечена у 40% пациентов с головными болями, мигренозная аура была отмечена у одного пациента, атипичных проявлений мигрени выявлено не было. По мере прогрессирования заболевания и формирования стойкого неврологического дефицита практически у всех пациентов головные боли регрессировали, на момент обращения в ФГБНУ НЦН и постановки диагноза жалобы на головные боли сохранялись лишь у 4 пациентов.

Пирамидный синдром различной степени выраженности отмечен у большинства пациентов (81,5%), однако, лишь у двоих пациентов имел место грубый парез конечностей, у четырех – умеренный (14,8%). В основном, пирамидный синдром характеризовался монопарезами легкой степени, асимметрией сухожильных рефлексов и гиперрефлексией (n=17, 63%). Мозжечковый синдром отмечен у половины симптомных пациентов с ЦАДАСИЛ (59,2%), он характеризовался преимущественно динамической атаксией, легкой дискоординацией и интенционным тремором при движении руками. Лишь у одного пациента (3,7%) атаксия была выражена грубо, что требовало дополнительной опоры при ходьбе. Псевдобульбарный синдром имел место у 40,7% пациентов. Экстрапиримидный синдром, тазовые нарушения и расстройства чувствительности встречались значительно реже (33%, 33%, 18,5% соответственно). Спектр клинических проявлений, обнаруженных у симптомных пациентов, и частота их встречаемости представлены на рисунке

6. Корреляционный анализ обнаружил положительную ассоциацию между длительностью заболевания, выраженностью мозжечкового и пирамидного синдромов (коэффициенты корреляции = 0,7 и 0,55 соответственно).

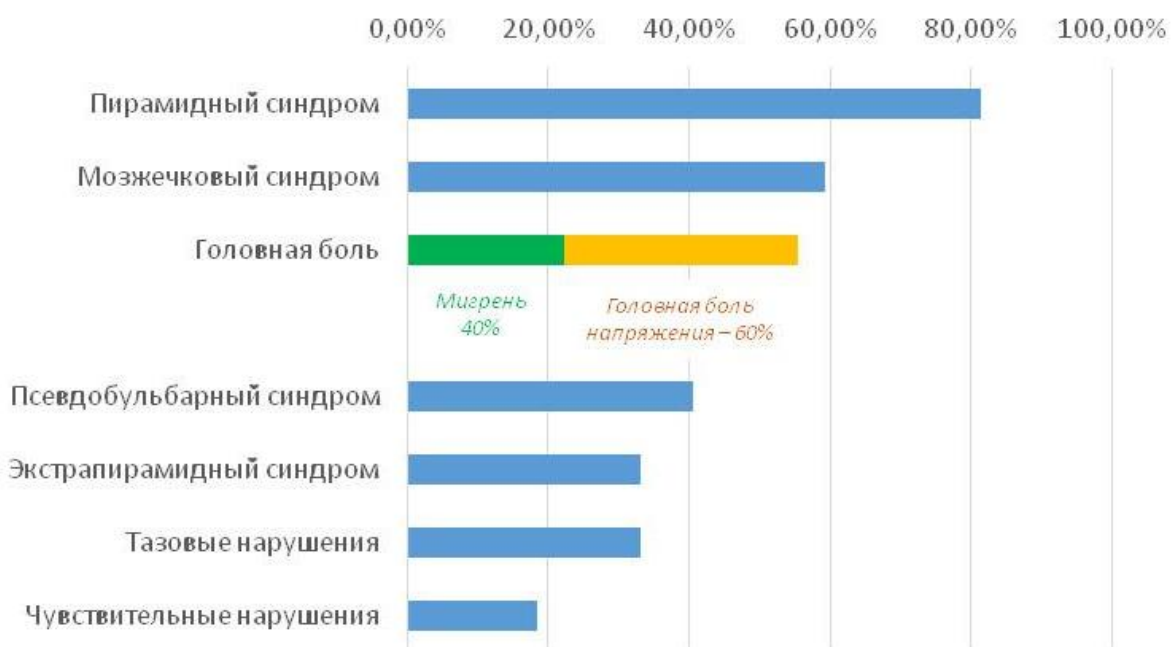


Рисунок 6 - Спектр неврологических проявлений ЦАДАСЛ

Несмотря на общепринятое мнение, что ЦАДАСИЛ опосредует развитие нарушений мозгового кровообращения в отсутствие сосудистых факторов риска, у большинства пациентов имелись сопутствующие заболевания, такие как гипертоническая болезнь (55,2%), атеросклероз брахиоцефальных артерий (34,5%), дислипидемия (29,6%) и сахарный диабет (17,9%). У двоих пациентов также имела место ЗЧМТ в анамнезе.

3.1.2. *Нейропсихологическое тестирование*

Большинство пациентов были контактны, адекватны, мотивированы к осмотру; 4 пациента (15%) тяжело шли на контакт. Среди 27 симптомных пациентов 6 (22,2%) были дезориентированы во времени, 2 (7,5%) были также дезориентированы в месте. Практически у половины пациентов (n=11, 40,5%) было отмечено снижение критики к ситуации обследования и к своему

состоянию. Также более чем у половины пациентов имели место когнитивные нарушения (66,7%), достигавшие степени деменции у 5 пациентов (18,5%), у половины пациентов (48%) были отмечены определенные эмоциональные нарушения – снижение фона настроения у 7 (26%) пациентов, эйфория у 6 (22%) пациентов.

У большинства пациентов (74%) были выявлены нарушения в сфере праксиса (динамического, пространственного) и гнозиса (44,5%). У половины испытуемых (52%) отмечались нарушения слухо-речевой памяти. Практически у всех пациентов были выявлены признаки нарушения регуляторной функции головного мозга и быстрая истощаемость по ходу исследования (70%).

Спектр нарушений, выявленных при проведении психоневрологического осмотра пациентов, а также частоты встречаемости симптомов представлены на рисунке 7.

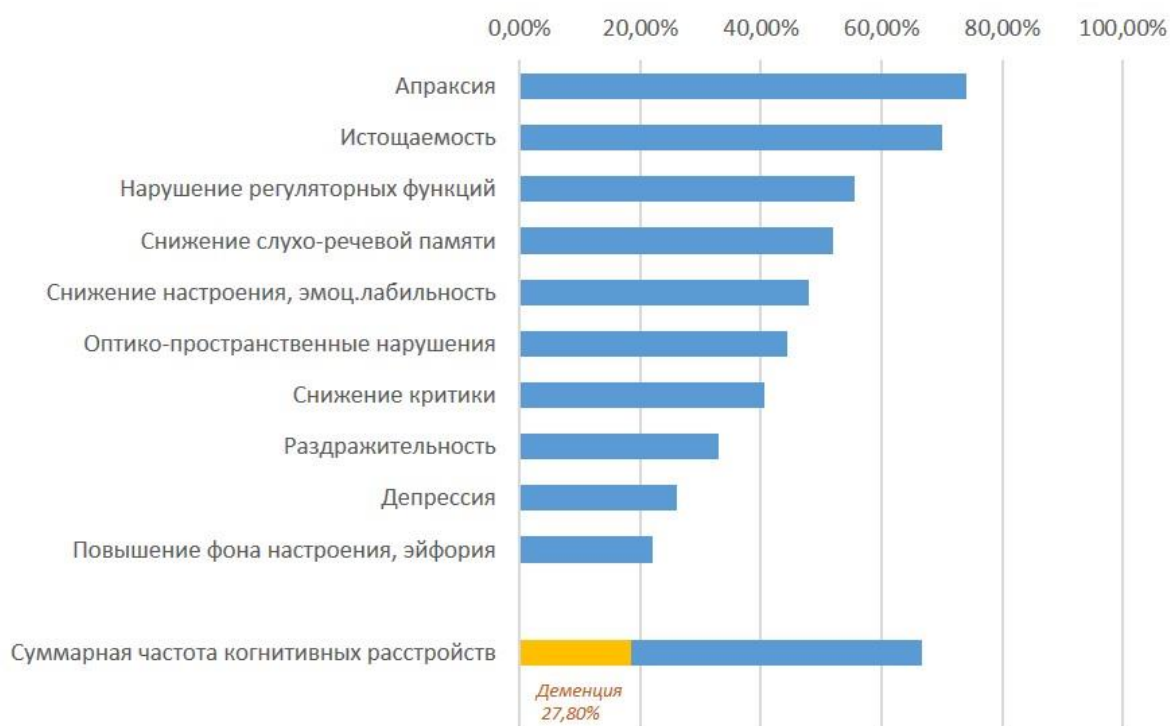


Рисунок 7 - Спектр психо-неврологических проявлений ЦАДАСЛ

Статистический анализ выявил положительную корреляцию между длительностью заболевания и выраженностью когнитивных расстройств (коэффициент корреляции $r=0,56$).

Шкала MoCA. Среди 27 симптомных пациентов 5 (18,5%) не предъявляли жалоб, но у всех пяти испытуемых объективно были выявлены когнитивные нарушения. Также 8 пациентов (29,5%) предъявляли жалобы на снижение памяти и проблемы с концентрацией внимания. По результатам тестирования испытуемых по шкале MoCA нормальных значений (26 и более баллов) достигли лишь 9 (33,3%) пациентов. Среди остальных средний балл составил $21,7 \pm 2,7$, медиана оценки составила 23 (20; 23) (таблица 5).

Таблица 5. Результаты тестирования пациентов с ЦАДАСИЛ по шкале MoCA: общий балл

Общий балл	Число больных, n	%
Норма (≥ 26)	9	33,3
Когнитивные нарушения ($25 \geq$)	18	66,7
	M [SD]	Me [25;75]
Общий балл среди симптомных пациентов (n=27)	24,3 [$\pm 3,7$]	25 [25;27]
Общий балл среди пациентов с когнитивными нарушениями (n=18)	21,7 [$\pm 2,7$]	23 [20;23]

Примечание. Здесь и далее в аналогичных таблицах: M [SD] – среднее значение (стандартное отклонение), Me [25;75] – медиана (25-й перцентиль; 75-й перцентиль).

При детализации результатов тестирования по шкале MoCA в целом у обследованных пациентов чаще отмечались нарушение памяти, зрительно-пространственного восприятия, регуляторной функции и беглости речи (таблица 6).

Таблица 6. Результаты тестирования пациентов с ЦАДАСИЛ по шкале MoCA: спектр когнитивных нарушений

Функция	Число больных, n	%
Слухо-речевая память	20	74
Зрительно-пространственное восприятие	12	44,4
Регуляторная функция	11	40,7
Беглость речи	10	37
Ориентация	6	22,2
Называние предметов	4	14,8
Абстрактное мышление	4	14,8
Внимание	4	14,8

Шкала HADS. При объективизации психоэмоциональных нарушений с помощью шкалы HADS среди симптомных носителей мутаций у 33,5% пациентов имелись признаки тревоги, у 26% – депрессии. Хотя большинство пациентов имело низкий балл по шкале, тем не менее, ни у кого не было зарегистрировано отметок «0» или «1» балл ни в разделе тревоги, ни в разделе депрессии. Медианы баллов оценки тревоги и депрессии по шкале HADS составили 4 (3; 8,5) и 4(1; 7,5) соответственно. Результаты тестирования пациентов выборки ЦАДАСИЛ по шкале приведены в таблице 7.

Таблица 7. Результаты тестирования пациентов с ЦАДАСИЛ по шкале HADS

Общий балл	Число больных, n	%
Тревога		
незначимая (0–7 баллов)	18	66,5
субклиническая (8–10 баллов)	4	15
клинически значимая (≥ 11)	5	18,5
Депрессия		
незначимая (0–7 баллов)	20	74
субклиническая (8–10 баллов)	5	18,5
клинически значимая (≥ 11)	2	7,5
	M [SD]	Me [25;75]
Тревога, общий балл среди симптомных пациентов (n=27)	6 [$\pm 4,5$]	4 [3; 8,5]
Депрессия, общий балл среди симптомных пациентов (n=27)	5 [± 4]	4[1; 7,5]

Шкала FAB. У большинства пациентов с ЦАДАСИЛ нейропсихологический осмотр выявил определенные нарушения лобной функции. С целью объективизации нарушений пациенты тестировались по шкале FAB. У 60% симптомных носителей мутаций гена *NOTCH3* была выявлена лобная дисфункция, в половине этих случаев она была грубой. Более того, практически никто из симптомных пациентов не справился с подтестом шкалы, направленным на оценку динамического праксиса (трехэтапной пробой Лурии «кулак-ребро-ладонь»), среди 27 пациентов лишь 1 (3,7%) справился с заданием без подсказок и

коррекции движений со стороны врача. Это говорит о том, что определенная тенденция к лобной дисфункции имела у всех пациентов данной выборки.

Медиана баллов оценки лобной дисфункции составила 15 (13; 17). Результаты тестирования пациентов выборки ЦАДАСИЛ по шкале приведены в таблице 8.

Таблица 8. Результаты тестирования пациентов с ЦАДАСИЛ по шкале FAB

Общий балл	Число больных, n	%
Нормальная лобная функция (16–18 баллов)	11	40
Умеренная лобная дисфункция (12–15 баллов)	8	30
Выраженная лобная дисфункция (<12 баллов)	8	30
	М [SD]	Me [25;75]
Общий балл среди симптомных пациентов (n=27)	14,7 [\pm 3,1]	15 [13; 17]

Анализ течения заболевания и хронологии возникновения клинических симптомов позволил нам выделить два основных варианта развития ЦАДАСИЛ: преимущественно ступенеобразное течение заболевания с развитием эксацербаций в виде повторных ОНМК и формирования стойкого неврологического дефицита при относительно сохранных когнитивных функциях (n=10); постепенное прогрессирование заболевания без обострений, быстрое нарастание когнитивного дефицита при минимальных неврологических проявлениях (n=12). Пациенты данных подгрупп не отличались ни по возрасту дебюта, ни по длительности заболевания. Стоит также отметить, что различий в нейровизуализационной картине у пациентов данных подгрупп выявлено не было.

Ниже приводится краткое клиническое описание двоих пациентов с ЦАДАСИЛ, имевших различные типы течения заболевания при сопоставимой длительности заболевания: у пациента Ки-1 заболевание развивалось постепенно, по типу психоневрологического дефицита, у пациента ЦАД-8 – ступенеобразно, с формированием очагового неврологического дефицита.

Клинический пример 1

Пациент Ки-1, М, 66 лет, жалоб активно не предъявляет, со слов жены, беспокоят нарушение походки, шаткость и неустойчивость, нечеткость речи, снижение памяти, быстрая утомляемость.

Анамнез: с возраста 58 лет стал отмечать повышенную утомляемость, слабость, подъемы АД до 160/90 мм рт ст. В 59 лет выявлен сахарный диабет 2 типа. В связи с периодически возникавшими головными болями выполнена МРТ головного мозга, выявлено расширение боковых желудочков, множественные очаги повышенного в T2 режиме сигнала перивентрикулярно и в конвекситальных отделах головного мозга, в мосту, лейкоареоз. Выставлен диагноз «Дисциркуляторной энцефалопатии». В возрасте 61 года появились шаткость и нечеткость речи. Повторная МРТ головного мозга выявила отрицательную динамику в виде нарастания ГИБВ, предположен диагноз ЦАДАСИЛ, который был подтвержден генетически (мутация R207Св 4-м экзоне гена *NOTCH3*).

Семейный анамнез: больная дочь, пациентка Ки-2.

Неврологический статус: во времени не ориентируется, критика снижена, апатичен. ЧН – нарушение плавных следящих движений глаз, конвергенции нет, дизартрия, тремор языка. Мышечный тонус в конечностях повышен по пластическому типу. Сухожильные рефлексy оживлены, D<S. Рефлексy Россолимо, Бабинского, кистевые Россолимо. Рефлексy орального автоматизма. Парезов нет. Олигобрадикинезия. В пробе Ромберга неустойчив. Походка атаксическая.

Осмотр психоневролога: выявляются нарушения регуляторного фактора, элементы апраксии, грубые мнестические нарушения.

Тестирование по шкалам: MoCA - 21/30 (КР), FAB: 11/18 (выраженная лобная дисфункция), HADS: T7, D8 (субклиническая депрессия).

Когнитивные вызванные потенциалы P300: Изменение когнитивных ВП P300. Изменения обусловлены сниженным объёмом оперативной памяти, нарушенной дифференцировкой стимулов.

Клинический пример 2

Пациент ЦАД-8, М, 48 лет. Предъявляет жалобы на слабость и ограничение движений в левых конечностях, снижение памяти, утомляемость, шаткость при ходьбе, нечеткость речи, недержание мочи.

Анамнез: В возрасте 32 лет развился эпизод слабости в левой ноге. Регрессировал самостоятельно в течение 20 мин, за мед. помощью не обращался. С 2004 г эпизодически стало подниматься АД до 150/90 мм рт ст. В возрасте 35 лет кратковременный эпизод онемения правых конечностей, купировался самостоятельно, за помощью не обращался. В 37 лет – эпизод слабости, шаткости при ходьбе, левосторонние гемипарез и гемигипестезия, госпитализировался в ФГБНУ НЦН. При проведении МРТ головного мозга выявлено: инфаркт правого полушария (задние отделы лентикулярного ядра, задние отделы бедра внутренней капсулы), множественные небольшие очаги измененного МР-сигнала в глубоких отделах белого вещества головного мозга, перивентрикулярно, в подкорковых ядрах, зрительном бугре, левом полушарии мозжечка, ГИБВ в области полюсов височных долей, наружных капсул обоих полушарий головного мозга. Предположен диагноз ЦАДАСИЛ, выполнена ДНК-диагностика, выявлена патогенная мутация С155F в 4-м экзоне гене *NOTCH3*.

Семейный анамнез: не отягощен.

Неврологический статус: Нарушение плавных следящих движений глаз. Дисфагия, дизартрия. Снижение мышечной силы в проксимальных отделах левых конечностей до 3 баллов, в левой кисти до 2,5 баллов. Тонус мышц повышен по спастическому типу в сгибателях предплечья слева, в левой кисти. Сухожильные рефлексы живые, D<<S. Кистевой Россолимо слева. Бабинского слева. Брадикинезия в левой руке. Расстройств чувствительности нет. Координаторные пробы выполняет удовлетворительно справа, слева с интенционным тремором, дискоординацией. В позе Ромберга неустойчив. Походка атаксическая, с односторонней опорой. Функции тазовых органов нарушены умеренно, недержание мочи, императивные позывы.

Тестирование по шкалам: МоСА - 28/30, FAB - 16/18, HADS – T6, D5.

Осмотр психоневролога: негрубое нарушение регуляторного фактора.

Когнитивные вызванные потенциалы P300: показатели в пределах возрастной нормы.

3.1.3. Эндогенные (когнитивные) вызванные потенциалы P300

С целью объективизации когнитивных нарушений и выявления субклинического когнитивного снижения использовалась регистрация эндогенных когнитивных вызванных потенциалов P300. Лишь у 8 пациентов (30%) параметры когнитивных вызванных потенциалов находились в пределах нормы. В большинстве случаев наблюдалось правильное распознавание значимых стимулов, ошибки при счете отмечались у 5 (18,5%) пациентов. Латентность пика P300 была увеличена у 5 пациентов (18,5%), амплитуда пика P300 была уменьшена у 3 пациентов (11,1%). Оба показателя были измененными у 6 пациентов (22,2%). У 13 пациентов (48%) отмечено постепенное уменьшение амплитуды пика P300 в последующих сериях эксперимента.

При сопоставлении данных, полученных при регистрации ВП и тестировании по шкале MoCA, было обнаружено, что данная методика несколько более чувствительна к ранним когнитивным расстройствам: КР выявлены у 19 пациентов при регистрации ВП P300 и у 18 при тестировании по шкале.

На рисунке 8 приведены варианты окончательной обработки результатов исследования двоих пациентов с ЦАДАСИЛ: А – пациент Ма-2, 32 года, амплитуда пика P300 –4,4 мВ, латентность - 418 мс (нормальные значения амплитуды и латентности пика P300 с поправкой на возраст составляют 9,5 и 320 соответственно), грубые изменения параметров пика P300 указывают на снижение объема оперативной памяти, нарушение дифференцировки стимулов; Б – пациентка Бе-2, 51 год, амплитуда пика P300 – 3,44 мВ, латентность – 285 мс (нормальные значения амплитуды и латентности пика P300 с поправкой на возраст составляют 5,9 и 360 соответственно), негрубые изменения параметров пика P300 в виде уменьшения амплитуды пика свидетельствуют о снижении объема оперативной памяти.

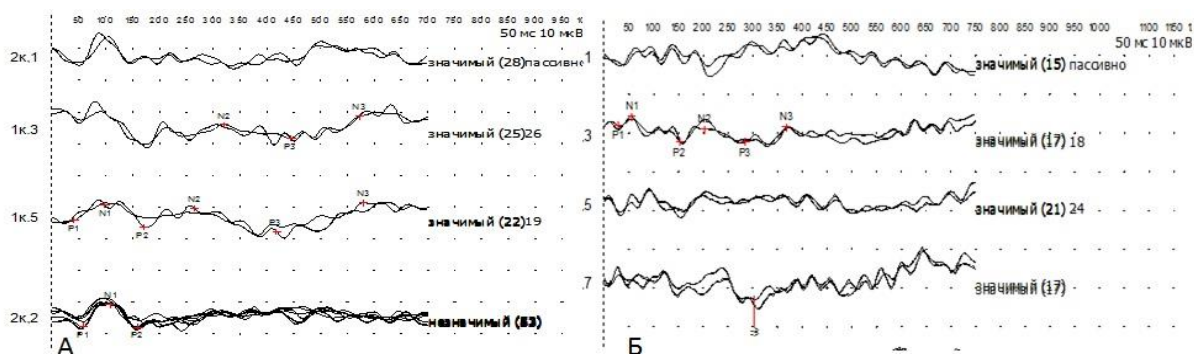


Рисунок 8 - Результаты регистрации когнитивных вызванных потенциалов P300. Пояснения приведены в тексте

3.1.4. Нейровизуализационное обследование

Основными нейровизуализационными параметрами, характеризующими ЦАДАСИЛ среди пациентов нашей выборки, оказались:

- ГИБВ (на T2-ВИ и T2 dark-fluid), локализованная преимущественно в области передних отделов височных долей и наружных капсул, но также определяемая перивентрикулярно и субкортикально;
- множественные лакунарные инфаркты в области базальных ядер, ствола мозга и мозжечка;
- микрокровоизлияния.

Диффузные изменения глубоких отделов белого вещества, больших полушарий были выявлены у всех пациентов, включая пациентов на доклинических стадиях (n=30). Двусторонняя ГИБВ, локализованная в полюсах височных долей была выявлена у 29 пациентов (96,6%), в наружных капсулах – у 27 пациентов (90%). Очаговые изменения вещества головного мозга выявлены у 22 пациентов (73,3%), лакунарные инфаркты – у 13 пациентов (43,3%), микрокровоизлияния – у 13 пациентов (43,3%). Следует отметить, что у 40% пациентов (n=12) выявлялись очаговые изменения в мозолистом теле, что считается не характерным для ЦАДАСИЛ. Нейровизуализационные данные пациентов приведены на рисунке 9.

Интересно отметить, что ГИБВ, поражение полюсов височных долей и наружных капсул определялись и у 3 пациентов, находившихся на ранней

доклинической стадии заболевания (рисунок 10), лакунарных инфарктов и микрокровоизлияний у данных пациентов обнаружено не было.



Рисунок 9 - Спектр радиологических проявлений ЦАДАСИЛ

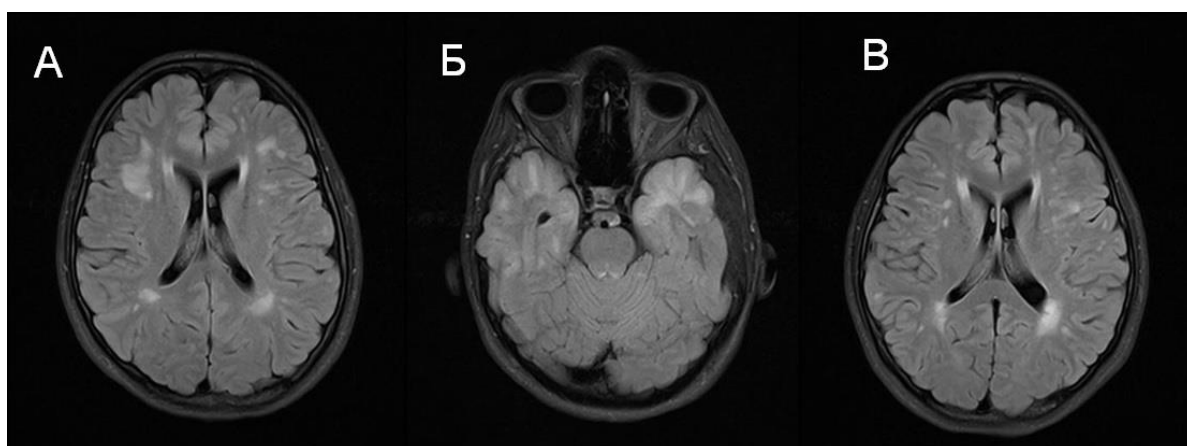


Рисунок 10 - МРТ-изображения в режиме T2 FLAIR. А– многоочаговое поражение белого вещества головного мозга, в т.ч. Б – полюсов височных долей с обеих сторон, В–наружной капсулы, преимущественно справа

Поиск корреляций между длительностью заболевания и степенью поражения вещества головного мозга по данным МРТ не выявил каких-либо закономерностей (коэффициент корреляции $= 0,27$). Это объясняет и наличие характерных изменений на МРТ, выявленных у пациентов на доклинической стадии заболевания (пациенты По-3, По-4, Ма-3, таблица 10).

3.1.5. Генетическое обследование

У абсолютного большинства пациентов с ЦАДАСИЛ (n=26, 86,6%) выявленная мутация располагалась в 4-м экзоне гена *NOTCH3*. Один пациент (3,3%) имел мутацию в 5-м экзоне, один – в 6-м экзоне и один – в 9-м экзоне гена. Также одна пациентка оказалась носителем двух мутаций в 4-м и 6-м экзонах гена. Среди мутаций 4-го экзона наиболее часто встречающимися были следующие: C222Y – 8 пациентов из 4 семей, R141C – 5 пациентов из 2 семей, Y189C – 4 члена одной семьи, R207C – 4 пациента из 3 семей. Найденные мутации и частоты их встречаемости приведены в таблице 9.

Таблица 9. Выявленные мутации в гене *NOTCH3*

Экзон	Мутация	rs	Число семей, n	Число больных, n[%]
4	C222Y	-	4	8[26,7]
4	R141C	-	2	5[16,7]
4	R207C	rs 75267348	3	4[13,2]
4	Y189C	-	1	4[13,2]
4	R169C	rs28933696	1	2[6,6]
4	R153C	rs797045014	1	1[3,3]
4	C194G	-	1	1[3,3]
4	R133C	rs137852642	1	1[3,3]
4	C155F	rs879254536	1	1[3,3]
5	Y258C	rs947976672	1	1[3,3]
6	V322M	rs115029695	2	2[6,6]
9	C484G	-	1	1[3,3]

На рисунке 11 приведены результаты анализа данных прямого секвенирования образцов ДНК пациентов выборки ЦАДАСИЛ и выявленные нами мутации.

Ввиду того, что различные генотипические варианты были представлены малым количеством пациентов, провести полноценный поиск корреляций между генотипом и фенотипом не представилось возможным. Краткая характеристика клинических и нейровизуализационных симптомов, а также генотипы пациентов приведена в таблице 10.

Таблица 10. Клинические, нейровизуализационные и генетические особенности пациентов с ЦАДАСИЛ

Код пациента	Пол	Возраст (годы)	Длительность (годы)	Сопутствующие заболевания	Симптомы	МРТ	Мутация/экзон
По-1	М	40	10	ГБ, ЗЧМТ	ГБН, ИИ, П, ПБ, Э, АФ	Д, НК, В, БП, С, МК	C222Y/4
По-2	М	43	2		ГБН, П	Д, НК, В, С, МК	C222Y/4
По-3	Ж	19	–	–	–	Д, НК, В	C222Y/4
По-4	Ж	19	–	–	–	Д, НК, В	C222Y/4
Ке-1	Ж	55	6	ГБ	ТИА, П, А, КР	Д, В, НК, БП, МТ, С	C222Y/4 V322M/6
Ке-2	М	28	3	ГБ	ТИА	Д, В, НК	C222Y/4
ЦАД-1	Ж	42	2		КР	Д, В, НК, БП, МТ	C222Y/4
ЦАД-2	Ж	46	10		П, А, Э, КР, АФ	Д, В, НК, БП, МТ, С	C222Y/4
Ма-1	Ж	53	20	ГБ, А, Д	М, П, ПБ, А, Э, Т, КР, АФ	Д, В, НК, БП, МТ, С, МК	R141C/4
Ма-2	М	32	7		М, П, Ч, КР	Д, В, НК, БП, МТ	R141C/4
Ма-3	М	23	–	–	–	Д, В, НК	R141C/4
Мо-1	М	55	30		М, П, А, Э, Ч, АФ	Д, В, НК, БП, С	R141C/4
Мо-2	М	30	1		ГБН, П	Д, В, НК	R141C/4
Бе-1	М	74	34	ГБ, А, Д, СД	ИИ, П, ПБ, А, Т, АФ, КР	Д, В, НК, БП, С, МК	Y189C/4
Бе-2	М	51	9	ГБ, А, Д, СД	ГБН, ТИА, Ч, КР	Д, В, НК, БП, МТ	Y189C/4
Бе-3	Ж	27	0	ГБ, Д	ИИ, КР	Д, В	Y189C/4
Бе-4	М	42	7	ГБ, А	ГБН, ТИА, П, КР	Д, В, НК, БП, МТ	Y189C/4
ЦАД-3	М	43	4	ГБ, ЗЧМТ	ИИ, П, ПБ, А, Т, АФ, КР	Д, НК, БП, С, МК	R207C/4
ЦАД-4	Ж	80	10	А	П, ПБ, А, Э, Т, АФ, КР	Д, В, НК, БП, С, МК	R207C/4
Ки-1	М	66	8	ГБ, А, Д, СД	ГБН, ИИ, П, ПБ, А, Э, Т, КР, АФ	Д, В, НК, БП, С, МК	R207C/4
Ки-2	Ж	29	14		ГБН, П, А, КР, АФ	Д, В, БП	R207C/4
Ку-1	М	55	5	ГБ, А	ГБН, КР	Д, В, НК, БП, МК	R169C/4
Ку-2	Ж	31	1		ТИА, П, Ч	Д, В, БП	R169C/4
ЦАД-5	Ж	31	8	ГБ, Д	М, ТИА, П, АФ, КР	Д, В, НК, БП, МТ	R153C/4
ЦАД-6	Ж	70	50	ГБ	М, П, ПБ, А, Т, КР	Д, В, НК, БП, МТ, С	C194G/4
ЦАД-7	Ж	33	0		М, ТИА, П, Ч	Д, В, НК, МК	R133C/4
ЦАД-8	М	48	16	ГБ, А, Д	ИИ, П, ПБ, А, Т	Д, В, НК, БП, МТ, С, МК	C155F/4
ЦАД-9	Ж	70	42	ГБ, А, Д, СД	ГБН, ТИА, П, ПБ, А, Э, Т, АФ	Д, В, НК, БП, МТ, МК	Y258C/5
ЦАД-10	М	69	19	ГБ, А, СД	П, ПБ, А, Э, Т, КР, АФ	Д, В, НК, БП, С, МК	V322M/6
ЦАД-11	М	59	11	ГБ, А, Д	ИИ, П, ПБ, А, Э, КР	Д, В, НК, БП, С, МК	C484G/9

Примечание к таблице - Сопутствующие заболевания: ГБ – гипертоническая болезнь, А – атеросклероз брахиоцефальных артерий головы, Д – дислипидемия, СД – сахарный диабет, ЗЧМТ – закрытая черепно-мозговая травма. Симптомы: М – мигрень, ГБН – головная боль напряжения, ИИ – ишемический инсульт, ТИА – транзиторная ишемическая атака, П – пирамидный синдром, ПБ – псевдобульбарный паралич, А – мозжечковая атаксия, Э – экстрапирамидный синдром, Ч – чувствительные нарушения, Т – тазовые нарушения, КР – когнитивные расстройства, АФ – аффективные расстройства. МРТ: Д-диффузное поражение белого вещества головного мозга, В – изменение сигнала от полюсов височных долей, НК – изменение сигнала от наружных капсул, БП – очаговое поражение больших полушарий головного мозга, С – очаговое поражение ствола головного мозга и/или мозжечка, МТ – очаговое поражение мозолистого тела, МК – микрокровоизлияния.

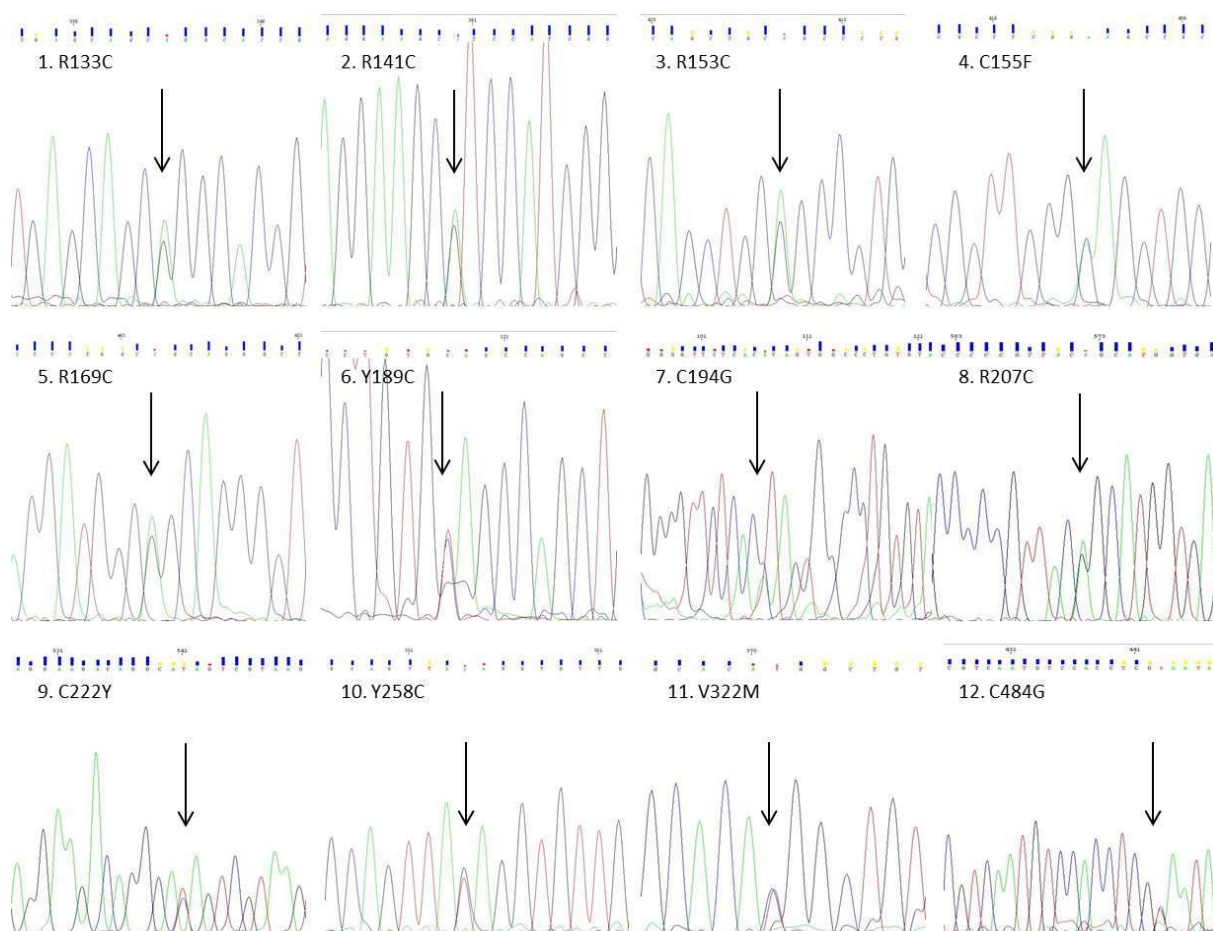


Рисунок 11- Выявленные мутации гена *NOTCH3* (результаты прямого секвенирования). Стрелка указывает на место нуклеотидной замены

Скрининг образцов ДНК здоровых добровольцев группы контроля (n=97) на носительство мутаций в гене *NOTCH3* выявил одного человека (мужчина, 52 года), имевшего патогенную мутацию V322M в 6-м экзоне гена. Мужчина был клинически здоровым, однако МРТ головного мозга выявила изменения, типичные для ЦАДАСИЛ (диффузные изменения белого вещества головного мозга, в т.ч. в области полюсов височных долей с обеих сторон, очаговое поражение субкортикальных отделов белого вещества больших полушарий), т.е. он находился на доклинической стадии заболевания. От дальнейшего осмотра и участия в исследовании пациент отказался. Таким образом, ориентировочная частота выявления мутаций в гене *NOTCH3* среди лиц в общей популяции составила 1,03% (носительство мутации – 0,52% исследованных хромосом).

3.1.6. Характеристика семейных случаев ЦАДАСИЛ

Нами было выделено 7 семей, отягощенных по ЦАДАСИЛ. Родословные семейных случаев заболевания представлены на рисунке 12.

Ниже представлено краткое описание наиболее репрезентативных семейных случаев ЦАДАСИЛ, демонстрирующих известные трудности в своевременной постановке диагноза.

Семья Ке., мутация С222У, 4-й экзон гена + V322М, 6-й экзон гена

Первой в ФГБНУ НЦН обратилась пациентка Ке-1 (55 лет) ввиду эпизодически появляющихся эпизодов диплопии, онемения и слабости левых конечностей. Выполненное ранее МРТ головного мозга выявило диффузное и многоочаговое поражение вещества головного мозга, изменения были расценены как проявления РС, проведена пульс-терапия стероидными препаратами, инициирована дальнейшая терапия глатирамера ацетатом. В ФГБНУ НЦН направлена для коррекции схемы лечения РС. Диагноз поставлен под вопрос. Наличие измененного МР-сигнала от полюсов височных долей и наружных капсул позволили поставить возможный диагноз ЦАДАСИЛ, который был подтвержден генетически: выявлены две мутации – С222У в 4-м экзоне и V322М в 6-м экзоне гена. Сын пробанда, пациент Ке-2 (28 лет), перенес две ТИА в

возрасте 26 и 27 лет. Ввиду клинической картины и положительного семейного анамнеза ему также была проведена ДНК-диагностика и выявлена мутация С222У в 4-м экзоне гена.

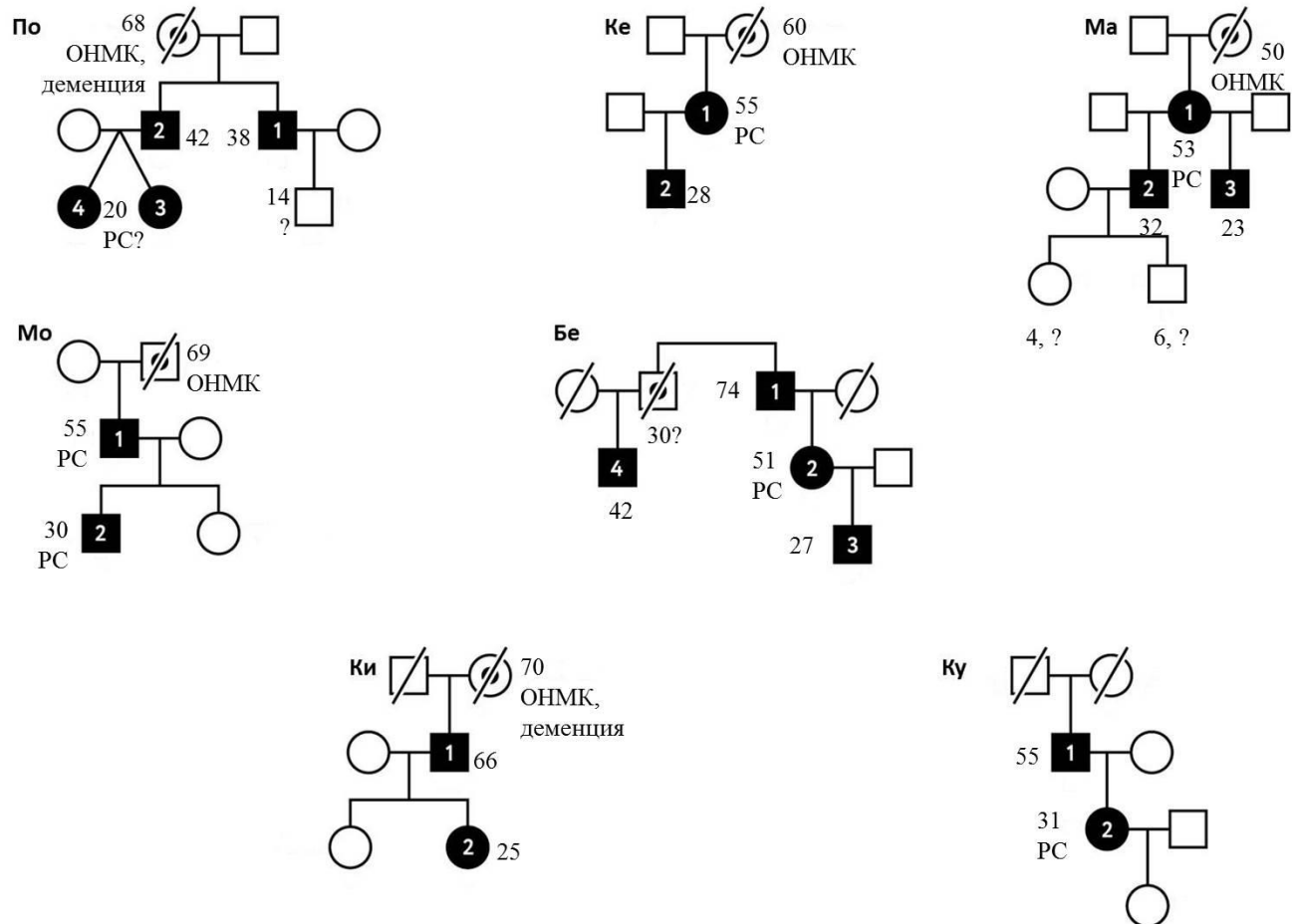


Рисунок 12 - Родословные семейных случаев ЦАДАСИЛ. Полностью закрашенные символы – носители мутаций; частично закрашенные символы – предположительные носители мутаций (имеется соответствующая симптоматика, либо семейный анамнез). «?» – нет информации о генотипе пациента. Цифрами указан возраст пациента на момент обращения в ФГБНУ НЦН, либо возраст смерти пациента (в этом случае рядом указана причина смерти: ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, РС – рассеянный склероз (т.е. пациент имел диагноз РС и получал соответствующее лечение))

Семья Ма., мутация R141C, 4-й экзон гена

Пациент Ма-2 (32 года) обратился в ФГБНУ НЦН с жалобами на выраженные головные боли мигренозного характера. При проведении МРТ

головного мозга выявлены диффузное и очаговые изменения вещества головного мозга. Генетический анализ выявил патогенную мутацию в 4-м экзоне гена *NOTCH3*. Мать пробанда, пациентка Ма-1 (55 лет), более 10 лет наблюдается у неврологов с диагнозом РС, многократно получала пульс-терапию кортикостероидами, несколько раз проводились попытки лечения различными препаратами интерферонов. После выявления мутации у сына (Ма-2) пациентке было рекомендовано проведение ДНК-диагностики, которая выявила патогенную мутацию в 4-м экзоне гена. У пациентки имеется второй сын от другого брака (пациент Ма-3, 25 лет), генетический анализ также выявил наличие патогенной мутации. Пациент клинически здоров, неврологической симптоматики не выявлено, но на МРТ обнаружены характерные для ЦАДАСИЛ изменения в веществе головного мозга.

Семья Бе., мутация Y189C, 4-й экзон гена

Первой в ФГБНУ НЦН обратилась пациентка Бе-2 (51 год) в связи с длительное время беспокоящими онемением правой руки, головными болями. Изначально врачами симптоматика трактовалась как остеохондроз шейного отдела позвоночника. МРТ головного мозга, выполненная спустя несколько лет от возникновения симптомов, выявила многоочаговое поражение белого вещества, выставлен диагноз РС. Пациентка направлена в ФГБНУ НЦН для подбора терапии, однако диагноз был поставлен под сомнение, а ДНК-диагностика выявила патогенную мутацию в гене *NOTCH3*. Далее генетический анализ был предложен отцу (Бе-1, 74 года; в анамнезе повторные ОНМК, когнитивные нарушения) и двоюродному брату (Бе-4, 42 года; в анамнезе ТИА) пациентки, а также ее сыну (Бе-3, 27 лет), у которого за несколько дней до назначенного визита развилось ОНМК по ишемическому типу. У всех троих пациентов была найдена мутация Y189C.

3.2. Лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ)

3.2.1. Клиническая характеристика пациентов

Среди обследованной нами группы пациентов было выявлено 11 пациентов (5 мужчин, 6 женщин) с различными мутациями в гене *DARS2*. Это определяет диагноз ЛССЛ.

Все пациенты были симптомными носителями мутаций, т.е. на момент осмотра имели клинические и нейровизуализационные проявления заболевания. Возраст дебюта и стаж заболевания на момент осмотра в ФГБНУ НЦН и постановки диагноза ЛССЛ составили соответственно 27,5 ($\pm 7,7$) и 11 ($\pm 9,2$). У троих пациентов дебют заболевания пришелся на детский возраст (2, 3 и 5 лет), у троих на подростковый период (13, 15, 16 лет), первые симптомы заболевания у остальных пациентов развились во взрослом возрасте ($n=5$, 45,5%).

Направительный диагноз

Среди 11 пациентов выборки 10 (91%) длительное время наблюдались у неврологов с иными диагнозами:

- половина пациентов ($n=5$, 45,5%) имела установленный диагноз РС, 2 из них (40%) многократно получали пульс-терапию кортикостероидами, один пациент получал постоянную терапию глатирамера ацетатом;
- у 3 пациентов стоял диагноз болезни Фридрейха; у 2 из них изначально выставлялся диагноз болезни Шарко–Мари–Тута, который впоследствии был заменен;
- у 3 (27,3%) пациентов был выставлен диагноз «неуточненной энцефаломиелопатии».

Решение о направлении на ДНК-диагностику всех пациентов было принято ввиду наличия специфических изменений вещества головного и мозга по данным МРТ в сочетании с симптомами поражения головного и спинного мозга.

Анализ неврологической картины

Спектр неврологических нарушений, выявленных у пациентов с ЛССЛ, представлен пирамидной и мозжечковой недостаточностью, признаками поражения задних и боковых канатиков спинного мозга, признаками полинейропатии, а также когнитивными и психоэмоциональными нарушениями. Признаки поражения пирамидных трактов, мозжечка и задних канатиков спинного мозга имели место у всех пациентов с ЛССЛ (100%). Полинейропатия была обнаружена у половины пациентов (n=5, 45,5%), несмотря на то, что данный симптом относится к редким проявлениям заболевания. У 5 пациентов выявлены когнитивные нарушения (45,5%). Интересно отметить, что у четверых из них заболевание дебютировало во взрослом возрасте, в то время как для взрослых форм ЛССЛ, согласно литературным данным, когнитивные нарушения не являются характерными. Признаки депрессии обнаружены у 4 пациентов (36,4%). Симптомы заболевания, выявленные у пациентов, и частоты их встречаемости представлены на рисунке 13.

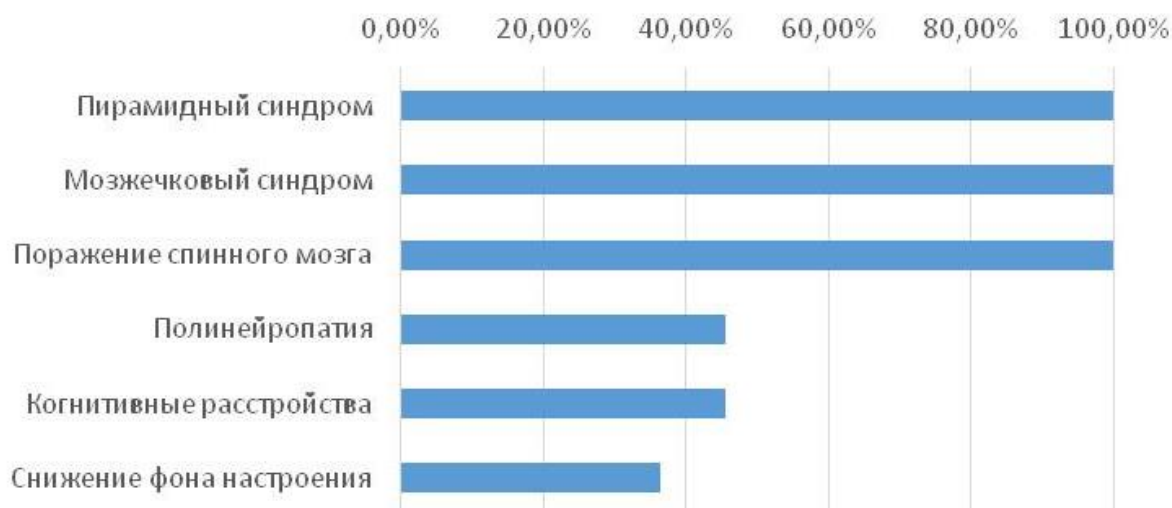


Рисунок 13 - Спектр неврологических проявлений ЛССЛ

У большинства пациентов выраженность неврологического дефицита была негрубой. Лишь двое пациентов (сибсы, пациенты Бл-1 и Бл-2) ввиду грубой атаксии были вынуждены на длительные расстояния перемещаться при помощи инвалидного кресла.

Корреляционный анализ не выявил каких-либо ассоциаций между длительностью заболевания и выраженностью неврологического дефицита.

3.2.2. *Нейропсихологическое тестирование*

Все пациенты были верно ориентированы во времени, месте, собственной личности. У 1 пациента(9%) было отмечено снижение критики к ситуации обследования и к своему состоянию. У 4 пациентов (36,4%) был отмечен сниженный фон настроения.

У половины пациентов (45,5%) были выявлены нарушения в сфере праксиса (динамического, пространственного) и гнозиса (54,5%). Практически у всех пациентов отмечались нарушения слухо-речевой памяти(82%), быстрая утомляемость (63,6%).

Спектр нарушений, выявленных при проведении психоневрологического осмотра пациентов, а также частоты встречаемости симптомов представлены на рисунке 14.

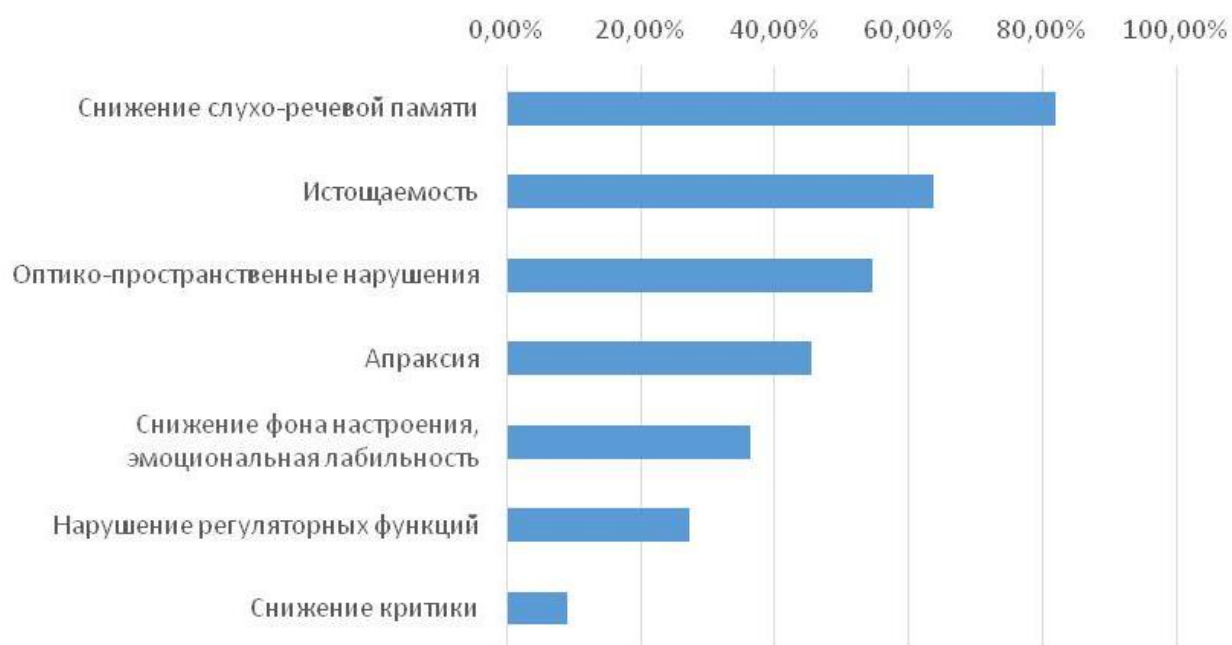


Рисунок 14 - Спектр психо-неврологических проявлений ЛССЛ

Корреляционный анализ не выявил каких-либо ассоциаций между длительностью заболевания и выраженностью симптоматики.

Шкала MoCA. Тестирование по шкале MoCA выявило у 4 пациентов (36,4%) наличие когнитивных нарушений. Результаты приведены в таблице 11.

Минимальный балл был выявлен при тестировании пациентки, имевший наиболее поздний возраст дебюта заболевания, 40 лет (см. клиническое описание пациентки ЛС-1).

Таблица 11. Результаты тестирования пациентов с ЛССЛ по шкале MoCA.
Общий балл

Общий балл	Число больных, n	%
Норма (≥ 26)	7	63,6
Когнитивные нарушения ($25 \geq$)	4	36,4
	M [SD]	Me [25;75]
Общий балл среди пациентов (n=11)	26 [$\pm 2,6$]	27 [25;28]
Общий балл среди пациентов с когнитивными нарушениями (n=4)	23,3 [$\pm 2,4$]	24 [22,3;25]

При детализации результатов тестирования по шкале MoCA в целом у обследованных пациентов чаще отмечались нарушение памяти, зрительно-пространственного восприятия, регуляторной функции и беглости речи. Следует отметить, что ошибки в заданиях на слухо-речевую память были допущены практически всеми испытуемыми (82%, таблица 12).

Таблица 12. Результаты тестирования пациентов с ЛССЛ по шкале MoCA.
Спектр когнитивных нарушений

Функция	Число больных, n	%
Слухо-речевая память	9	82
Зрительно-пространственное восприятие	6	54,5
Регуляторная функция	3	27,3
Беглость речи	2	18,2
Называние предметов	2	18,2
Абстрактное мышление	2	18,2
Внимание	2	18,2
Ориентация	1	9,1

Шкала HADS. При объективизации психоэмоциональных нарушений с помощью шкалы HADS у 36,4% (n=4) пациентов обнаружались клинически значимые признаки тревоги и депрессии. У 1 пациента признаков тревоги и депрессии не было, 6 пациентов показали балл, находящийся на границе между

значимыми и незначимыми проявлениями депрессии либо тревоги. Медианы баллов оценки тревоги и депрессии по шкале HADS составили 4 (3; 9) и 3 (1,5; 9) соответственно. Результаты тестирования пациентов выборки ЛССЛ по шкале приведены в таблице 13.

Таблица 13. Результаты тестирования пациентов с ЛССЛ по шкале HADS

Общий балл	Число больных, n	%
Тревога		
незначимая (0–7 баллов)	7	63,6
субклиническая (8–10 баллов)	4	36,4
клинически значимая (≥ 11)	0	0
Депрессия		
незначимая (0–7 баллов)	7	63,6
субклиническая (8–10 баллов)	3	27,3
клинически значимая (≥ 11)	1	9,1
	M [SD]	Me [25;75]
Тревога, общий балл (n=11)	5 [$\pm 3,7$]	4 [3; 9]
Депрессия, общий балл (n=11)	5 [± 4]	3 [1,5; 9]

Шкала FAB. Тестирование по батарее тестов на выявление лобной дисфункции выявило умеренную лобную дисфункцию у 5 пациентов (45,5%). Выраженная дисфункция отмечена не была. Медиана баллов оценки лобной дисфункции составила 16 (15; 17). Результаты тестирования пациентов с ЛССЛ по шкале приведены в таблице 14.

Таблица 14. Результаты тестирования пациентов с ЛССЛ по шкале FAB

Общий балл	Число больных, n	%
Нормальная лобная функция (16–18 баллов)	6	54,5
Умеренная лобная дисфункция (12–15 баллов)	5	45,5
Выраженная лобная дисфункция ($12 \geq$ баллов)	0	0
	M [SD]	Me [25;75]
Общий балл среди симптомных пациентов (n=27)	15,6 [$\pm 1,1$]	16 [15; 17]

3.2.3. Эндогенные (когнитивные) вызванные потенциалы P300

При исследовании Р300 в большинстве случаев ЛССЛ наблюдалось правильное распознавание значимых стимулов, ошибки при счете отмечены лишь у 1 (9,1%) пациента. Латентность пика Р300 была увеличена у 2 пациентов (18,2%), амплитуда пика Р300 уменьшена – у 2 пациентов (18,2%). У 10 пациентов (91%) отмечено постепенное уменьшение амплитуды пика Р300 в последующих сериях эксперимента. Интересно отметить, что у одного пациента исследование ВП выявило начальные проявления когнитивных расстройств, в то время как тестирование по шкале МоСА не выявило таковых (см. клиническое описание ЛС-5).

Клинический пример 3

Пациент ЛС-5, М, 21 год, жалобы: нечеткость речи, шаткость при ходьбе, двоение перед глазами, снижение памяти.

Анамнез: с возраста 19 лет стал замечать некоторую шаткость и неустойчивость при ходьбе. Постепенно симптоматика нарастала. Спустя год присоединились двоение и нечеткость речи. При проведении МРТ головного мозга выявлено очаговое и диффузное поражение белого вещества полушарий, ствола головного мозга, спинного мозга. Выставлялся диагноз лейкоэнцефалопатии неясного генеза, лечился по месту жительства нейрометаболическими препаратами, витаминотерапией без эффекта. Самостоятельно обратился в ФГБНУ НЦН для обследования.

Семейный анамнез: не отягощен.

Неврологический статус: крупноразмашистый горизонтальный нистагм с ротаторным компонентом во всех отведениях. Дизартрия, дисфонии, дисфагии нет. Нижний парапарез со снижением мышечной силы в ногах до 4 баллов. Мышечный тонус в руках снижен, в ногах негрубо повышен по спастическому типу. Сухожильные рефлексы с рук низкие, равные, с ног – высокие, с расширением рефлексогенных зон, равные. Патологические рефлексы не вызываются. Клоноиды стоп. Координаторные пробы выполняет с дисметрией, дискоординацией, интенционным тремором. Дисдиадохокинез, при закрывании глаз – титубация туловища. Поверхностная чувствительность сохранна, грубо

снижение вибрационной чувствительности в ногах. Походка атаксическая, на расширенной базе. МоСА – 26/30 баллов (соответствует нижней границы нормы), FAB– 15/18 баллов (умеренная лобная дисфункция), HADS– T2, Д1 (нет признаков значимой тревоги либо депрессии).

При нейропсихологическом обследовании выявлены нарушение слухоречевой памяти, регуляторных функций, элементы апраксии, трудности в пробах на зрительно-пространственное восприятие.

Когнитивные вызванные потенциалы P300: во второй серии определяется неверный счет стимулов, латентность пика P300 выше возрастной нормы, амплитуда пика P300 во второй серии эксперимента ниже возрастной нормы. Параметры ВП свидетельствуют о негрубых когнитивных нарушениях, быстрой утомляемости пациента (рисунок 15).

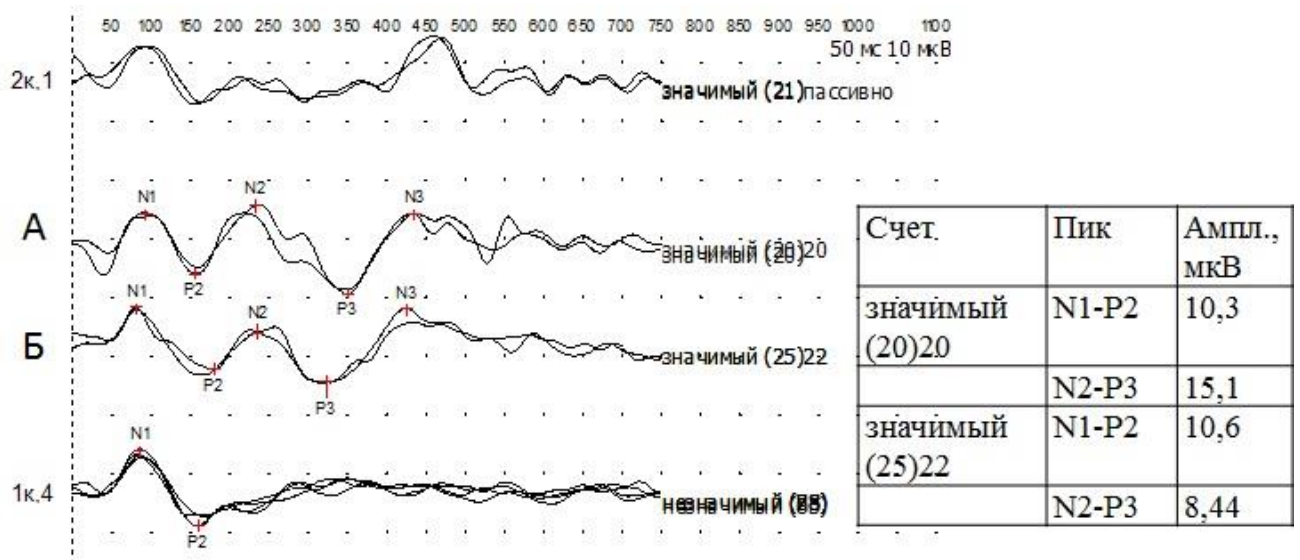


Рисунок 15 - Когнитивные вызванные потенциалы P300. Пациент ЛС-5, 21 год. Латентность пика P300 в сериях А и Б составила 350 и 323 мс, амплитуда пика 15,1 мкВ и 8,44 мкВ соответственно (возрастная норма для пациента 21 года составляет 314 мс и 11,7 мкВ)

МРТ головного мозга: выявлено диффузное поражение глубоких отделов белого вещества головного мозга, в т.ч. субкортикально, очаги в проекции пирамидных путей – в задних ножках внутренней капсулы с обеих сторон, мосту, продолговатом мозге, поражение нижних ножек мозжечка, задних и боковых канатиках спинного мозга. МРТ-данные соответствуют лейкоэнцефалопатии

неясного генеза. При проведении спектроскопии определяется повышение пика лактата.

ДНК-диагностика: выявлены две патогенные мутации во 2-ми 5-минтронах гена *DARS2* (с.228-20_21delTTinsC; с.492+2T>C).

3.2.4. Нейровизуализационное обследование

Основными нейровизуализационными параметрами, характеризующими выборку ЛССЛ, оказались следующие:

- ГИБВ (на T2-ВИ и T2 dark-fluid), локализованная перивентрикулярно, в глубоких отделах полушарий большого мозга, задних отделах мозолистого тела, в заднем бедре внутренней капсулы, полушариях мозжечка, верхних и нижних ножках мозжечка, а также в пирамидных и спинномозжечковых путях;
- гиперинтенсивность сигнала от спинного мозга, локализованная преимущественно на шейном уровне, по ходу задних и боковых канатиков;
- Повышение пика лактата в измененном белом веществе при МР-спектроскопии.

Все пациенты удовлетворяли МР-критериям заболевания, приведенным выше (см. раздел 2.2), т.е. имели все основные и, как минимум, один дополнительный МРТ-критерий. Среди дополнительных МР-симптомов ЛССЛ наиболее часто встречалось изменение сигнала от заднего бедра внутренней капсулы, а также очаговое поражение мозолистого тела. Появление пика лактата по данным МР-спектроскопии не является облигатным симптомом ЛССЛ, тем не менее, оно было обнаружено у 100% пациентов. Нейровизуализационные данные приведены на рисунке 16.

Корреляционный анализ не выявил какой-либо связи между длительностью заболевания и выраженностью, и объемом поражения вещества головного и спинного мозга по данным МРТ. Также не было выявлено отличий среди пациентов с дебютом ЛССЛ в детском и взрослом возрасте.

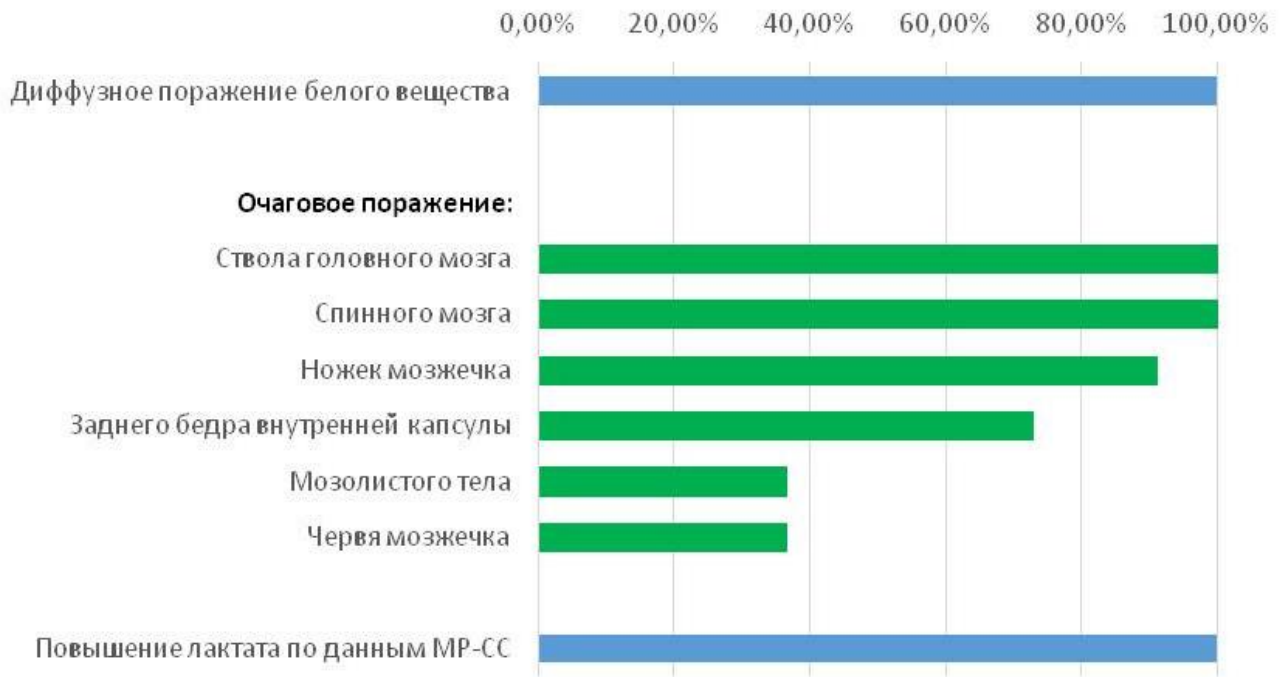


Рисунок 16 - Спектр радиологических проявлений ЛССЛ

3.2.5. Генетическое обследование

На рисунке 17 приведены мутации гена *DARS2*, выявленные нами. В таблице 15 также указаны частоты их встречаемости в нашей выборке.

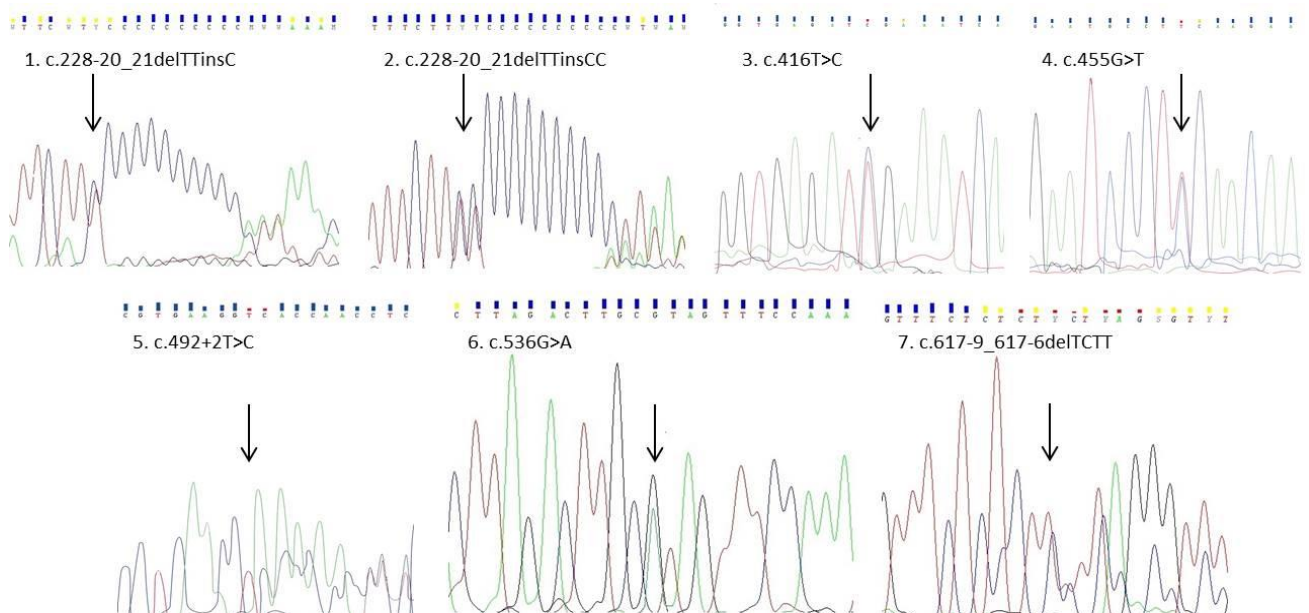


Рисунок 17 - Выявленные мутации гена *DARS2* (результаты прямого секвенирования).

Стрелка указывает на место делеции либо нуклеотидной замены

Все пациенты ЛССЛ (n=11) оказались компаунд-гетерозиготными носителями двух различных патогенных мутаций гена *DARS2*. Интересно отметить, что одна из двух мутаций у всех пациентов была одинаковой: мутация rs367543010 (в 9 случаях генотип с.228-20_21delTTinsC, в двух случаях с.228-21_20delTTinsCC), затрагивающая второй интрон гена и приводящая к сдвигу рамки считывания. Остальные мутации, выявленные при секвенировании гена *DARS2*, располагались в экзонах 5 (27,3%) и 6 (18,2%), а также прилегающих к ним участках интронов 5 (45,5%) и 6 (9,1%).

Таблица 15. Мутации гена *DARS2*, обнаруженные у пациентов с ЛССЛ

Локус	Мутация	rs	Число больных, n	%
Мутация 1				
2 интрон		rs367543010	11	100
	с.228-20_21delTTinsC		9	81,8
	с.228-20_21delTTinsCC		2	18,2
Мутация 2				
5 интрон	с.492+2T>C	rs142433332	5	45,5
5 экзон	с.455G>T	rs121918208	2	18,2
5 экзон	с.416T>C	-	1	9,1
6 интрон	с.617-9_617-6delTCTT	rs760225866	1	9,1
6 экзон	с.536G>A	rs121918210	2	18,2

Наиболее грубая клиническая симптоматика отмечалась у sibсов Бл-1 и Бл-2, имевших мутации в экзоне 6 гена *DARS2*. У пациентки ЛС-1, имевшей наиболее легкие симптомы и наиболее поздний возраст дебюта заболевания, вторая мутация находилась в интроне 6 в непосредственной близости к экзону 7, и, вероятно, затрагивала его сайт сплайсинга. Корреляций между генотипом и степенью поражения вещества головного мозга по данным МРТ выявлено не было.

Краткая характеристика клинических и нейровизуализационных симптомов, а также генотипы пациентов приведена в таблице 16.

Таблица 16. Клинические, нейровизуализационные и генетические особенности пациентов с ЛССЛ

Код пациента	Бе-1	Бе-2	ЛС-1	ЛС-2	ЛС-3	ЛС-4	ЛС-5	ЛС-6	ЛС-7	ЛС-8	ЛС-9
Пол	М	М	Ж	Ж	Ж	Ж	М	Ж	М	Ж	М
Возраст (годы)	30	28	43	20	39	31	21	20	24	24	23
Длительность (годы)	28	15	3	15	24	3	2	17	1	6	7
Диагноз	БФ	БФ	РС	БФ	ЭМ	РС	РС	ЭМ	ЭМ	РС	РС
Симптомы	П, М, СМ, ПНП	П, М, СМ, ПНП	П, М, СМ, КР, АФ	П, М, СМ, ПНП, АФ	П, М, СМ, К, АФ	П, М, СМ, ПНП	П, М, СМ, КР, АФ	П, М, СМ, КР	П, М, СМ	П, М, СМ, ПНП, АФ	П, М, СМ, К, АФ
МРТ	БП, ВК, П, НМ, СМ, Л	БП, ВК, П, НМ, СМ, Л	БП, ВК, П, НМ, СМ, Л	БП, ВК, П, НМ, СМ, Л	БП, МТ, П, СМ, Л	БП, П, НМ, ЧМ, СМ, Л	БП, ВК, П, НМ, СМ, Л	БП, ВК, П, НМ, ЧМ, СМ, Л	БП, ВК, МТ, П, НМ, ЧМ, СМ, Л	БП, ВК, МТ, П, НМ, ЧМ, СМ, Л	БП, МТ, П, НМ, СМ, Л
Мутация/ локализация	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 536G>A/ 6 экзон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 36G>A/ 6 экзон	c.228-20_21delTTinsCC/ 2 интронс. 617-9_617-6delTCTT/ 6 интрон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 492+2T>C/ 5 интрон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 455G>T/ 5 экзон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 492+2T>C/ 5 интрон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 492+2T>C/ 5 интрон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 492+2T>C/ 5 интрон	c.228-20_21delTTinsCC/ 2 интронс. 492+2T>C/ 5 интрон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 416T>C/ 6 экзон	c.228-20_21delTTinsC/ 2 интронс. 455G>T/ 5 экзон

Изначальный диагноз: БФ – Болезнь Фридрейха, РС – рассеянный склероз, ЭМ – энцефаломиелопатия неуточненная. Симптомы: П – пирамидный синдром, М – мозжечковый синдром, СМ – симптомы поражения спинного мозга, ПНП – полинейропатия, КР – когнитивные расстройства, АФ – аффективные расстройства. МРТ: БП – очаговое поражение больших полушарий головного мозга, ВК – изменение сигнала от заднего бедра внутренней капсулы, МТ – очаговое поражение мозолистого тела, П – изменение сигнала от пирамид продолговатого мозга, НМ – изменение сигнала от ножек мозжечка, ЧМ – изменение сигнала от червя мозжечка, СМ – изменение сигнала от дорсальных отделов спинного мозга. Л – повышение пика лактата по данным МР-спектроскопии

Клинический пример 4

Пациентка ЛС-1 (43 года), мутации с.228-20_21delTTinsCC (2 интрон) и с.617-9_617-6delTCTT (6 интрон) в гене DARS2.

Пациентка обратилась в ФГБНУ НЦН для подтверждения диагноза РС и подбора терапии. Предъявляла жалобы на шаткость при ходьбе, нарушение глотания, учащенное мочеиспускание, дневную сонливость, снижение фона настроения, апатию, снижение памяти на текущие события.

Анамнез: До 40 лет считала себя здоровой, за медицинской помощью не обращалась. В возрасте 40 лет после сильного эмоционального стресса стали беспокоить шаткость и неустойчивость при ходьбе, депрессия, апатия, снижение памяти. В течение последнего года стали усиливаться шаткость и неустойчивость, появились эпизоды поперхивания при еде, перемены настроения, тазовые нарушения, в связи с чем впервые обратилась к неврологу, рекомендовано проведение МРТ головного и спинного мозга. Выявлено многоочаговое поражение вещества головного мозга, шейного отдела спинного мозга, выставлен диагноз РС, пациентка направлена в ФГБНУ НЦН.

Семейный анамнез: не отягощен.

Осмотр: легкая дизартрия и дисфагия, оживление и асимметрия сухожильных рефлексов (D>S), кистевые рефлексы Россолимо, рефлексы Бабинского с двух сторон; незначительное повышение мышечного тонуса в ногах по спастическому типу; грубое снижение вибрационной чувствительности в руках и полное отсутствие в ногах с уровня остей подвздошных костей; учащенное мочеиспускание, недержание мочи. Нейропсихологический осмотр выявил нарушение праксиса, гнозиса, регуляторных функций, мнестические расстройства. Тестирование по шкале МоСА – 20 баллов из 30 (когнитивные расстройства), FAB – 17 баллов из 18 (соответствует норме), HADS – тревога 10 баллов, депрессия 9 баллов (субклинические проявления тревоги и депрессии).

МРТ головного мозга: выявлено изменение сигнала от глубоких отделов белого вещества больших полушарий, заднего бедра внутренней капсулы, моста,

продолговатого мозга, мозжечковых ножек, спинного мозга. МР-спектроскопия выявила повышение пика лактата в измененном белом веществе (рисунки 18,19).

Когнитивные вызванные потенциалы P300 выявили снижение амплитуды пика P300, что можно трактовать как снижение объема оперативной памяти.

ДНК-диагностика: выявлены две патогенных мутации с.228-20_21delTTinsCC и с.617-9_617-6delTCTT во 2-м и 6-м интронах гена *DARS2*(рисунок 17).

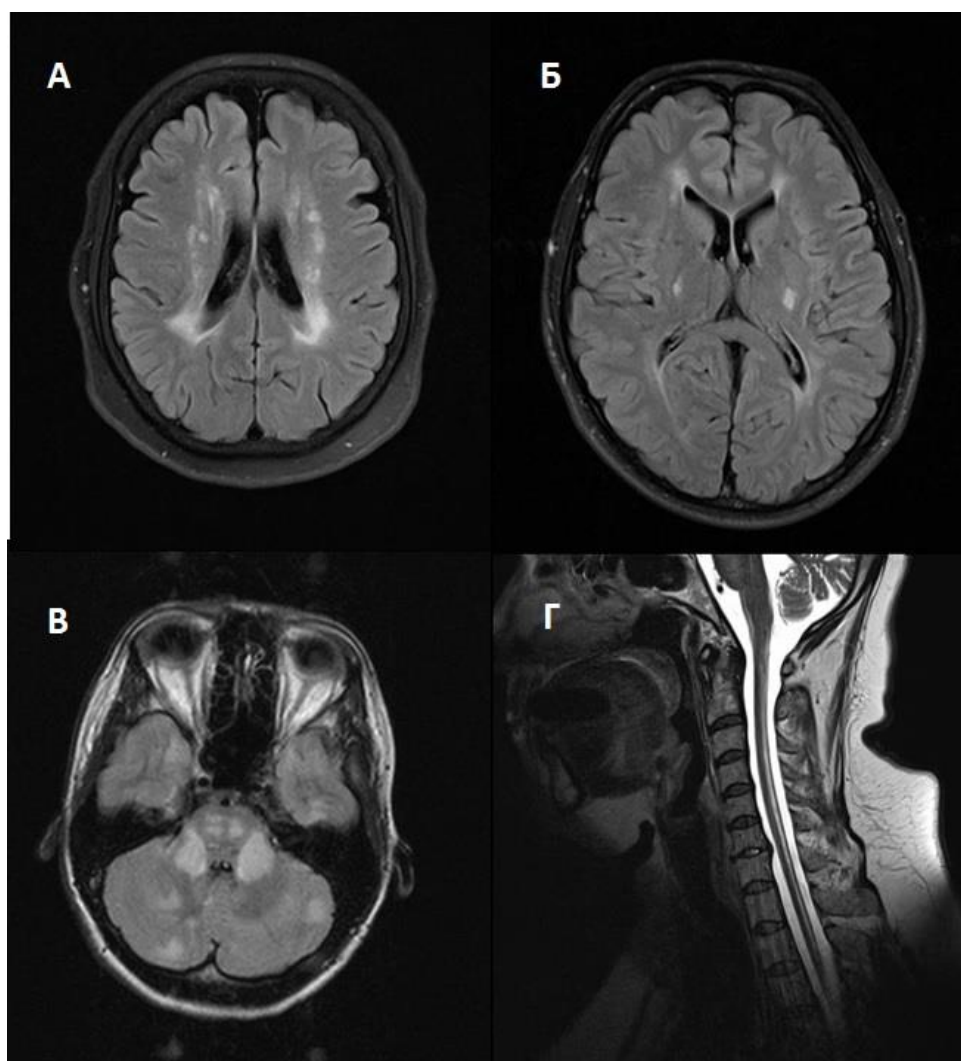


Рисунок 18 - МРТ, пациентка ЛС-1.

А–В– режим T2 FLAIR, Г – режим T2ВИ. Изменения сигнала от перивентрикулярных отделов белого вещества головного мозга (А), заднего бедра внутренней капсулы с обеих сторон (Б), моста и средних ножек мозжечка (В), дорсальных отделов спинного мозга (Г)

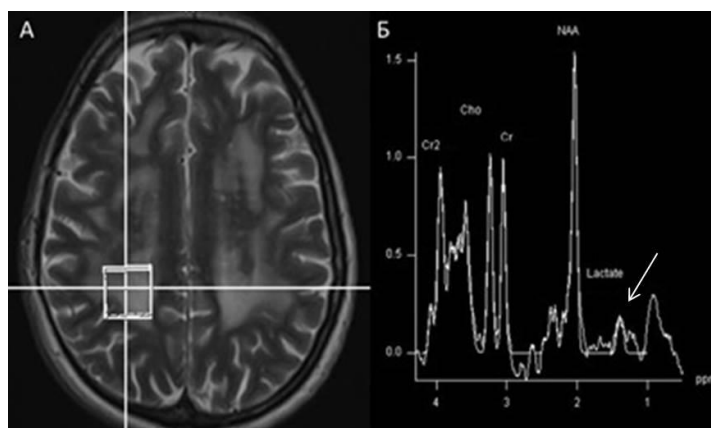


Рисунок 19 - МР-спектроскопия, пациентка ЛС-1.

А – локализация вокселя в зоне измененного белого вещества в правом полушарии большого мозга; Б – МР спектроскопия по водороду с $TE=30$ мс демонстрирует повышенный пик лактата

3.3. Синдром тремора/атаксии, ассоциированный с ломкой X-хромосомой (FXTAS)

На первом этапе работы с целью выявления синдрома ломкой X-хромосомы было обследовано 42 образца ДНК мальчиков в возрасте от 1 до 17 лет, страдающих задержкой психического развития либо аутизмом и имеющих дизэмбриогенетические стигмы (материал предоставлен Научно-практическим центром детской психоневрологии, Научно-исследовательским клиническим институтом педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева). В случае выявления у детей полной экспансии CGG-повторов в гене *FMR1* анализировались образцы ДНК матерей и дедушек по материнской линии пробандов для выявления носителей премутации гена *FMR1*. Было выявлено двое носителей полной экспансии CGG-повторов (более 200), что позволило выставить им диагноз синдрома Мартина–Белл. Мать одного из детей была гетерозиготным носителем премутации (23/57 повторов), будучи при этом клинически здоровой. Среди остальных родственников носителей премутации выявлено не было.

Далее был проведен скрининг на носительство мутаций и премутаций в гене *FMR1* образцов ДНК пациентов, наблюдавшихся в ФГБНУ НЦН в период с 2013 по 2018 гг. с диагнозами спиноцеребеллярной дегенерации, эссенциального тремора, мультисистемной атрофии, имевших атипичное течение заболевания, при

исключении носительства мутаций иных генов, способных приводить к развитию соответствующего экстрапирамидного синдрома. Суммарно было обследовано 19 пациентов, 8 со спиноцеребеллярной дегенерацией, 8 с эссенциальным тремором, 3 пациента с мультисистемной атрофией (12 мужчин, 7 женщин, $56,5 \pm 15,3$ года).

В результате нами был выявлен один носитель премутации в гене *FMRI*, число тандемныхCGG-повторов составило 58. На момент обнаружения мутации и постановки диагноза пациент скончался, поэтому далее в работе приведен ретроспективный анализ медицинской документации. Приводим выписку из истории болезни.

Пациент К., 60 лет, обратился в ФГБНУ НЦН с жалобами на дрожание рук и головы, неустойчивость при ходьбе.

Анамнез: с возраста 12 лет отмечает дрожание рук, возникающее при волнении. Постепенно дрожание стало возникать чаще, в течение последних 15 лет стало постоянным, увеличилась его амплитуда, дрожание значительно нарушало самообслуживание. Так же в течение последних 5 лет беспокоит неустойчивость при ходьбе. Исключен диагноз гепатолентикулярной дегенерации, выставлен диагноз эссенциального тремора (ЭТ), проводились попытки лечения β -адреноблокаторами, клоназепамом – без эффекта.

Семейный анамнез: у родной сестры болезнь Паркинсона.

Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь.

Неврологический статус: двусторонний горизонтальный нистагм при взгляде в стороны. Парезов нет, мышечный тонус не изменен, сухожильные рефлексы низкие, равные, патологических стопных знаков нет. Рефлексы орального автоматизма с двух сторон. Крупноамплитудный постурально-кинетический тремор обеих рук с выраженным интенционным компонентом, S>D, эпизодически – легкий тремор головы по типу «нет-нет». Координаторные пробы выполняет с интенционным тремором с двух сторон (S>D). Динамическая атаксия, походка атаксическая. Чувствительность не нарушена. Тазовые функции контролирует.

Тестирование по шкале MoCA: 22 балла, ошибки допущены в заданиях на

зрительно-пространственное восприятие и слухо-речевую память.

Сонография черной субстанции: гиперэхогенность черной субстанции с двух сторон, величина которой превышает пороговые значения. Расширение боковых и третьего желудочка головного мозга.

Пациенту также была выполнена треморограмма, выявившая нетипичные для ЭТ параметры гиперкинеза. Тремор был низкочастотным и асимметричным, 4 Гц в правой руке и 2,8 Гц в левой. Таким образом, диагноз ЭТ был поставлен под вопрос. Учитывая наличие выраженных когнитивных расстройств, косвенные признаки атрофии головного мозга, выявленные при проведении сонографии черной субстанции, было принято решение о проведении МРТ головного мозга. Исследование выявило диффузную атрофию и поражение белого вещества головного мозга, очаговое поражение средних ножек мозжечка. Сочетание экстрапирамидного синдрома и мозжечковой атаксии со специфическими нейровизуализационными симптомами позволили заподозрить синдром FXTAS.

ДНК-диагностика: методом фрагментного анализа выявлена промежуточная экспансия (58 повторов) промоторной 5'-нетранслируемой области гена *FMRI* (рисунок 20).

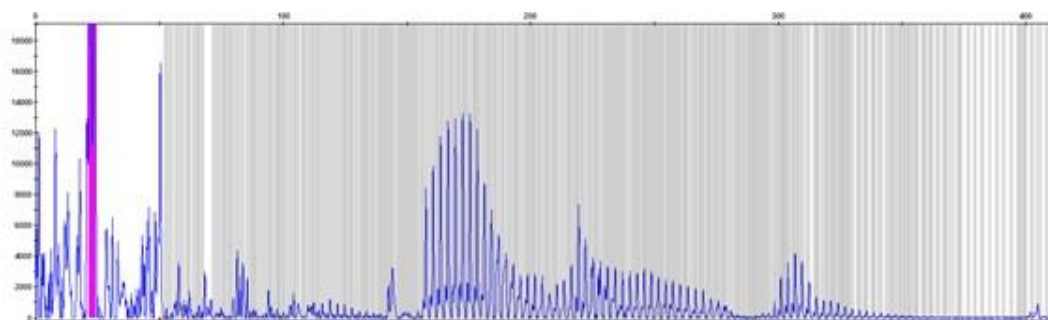


Рисунок 20 - Фрагментный анализ. Пациент К.
Выявлена повышенная экспансия CGG-повторов в гене *FMRI* величиной 58, что соответствует премутации.

Таким образом, на основании клинической картины, данных МРТ и других методов исследования, а также результатов молекулярно-генетического тестирования, у пациента может быть диагностирован синдром FXTAS. Это первый выявленный случай данной наследственной формы ЛЭ в нашей стране.

3.4. Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами(НДЛС)

При генетическом скрининге нами были выявлены два родственника пациента с редкой формой ЛЭ – наследственной диффузной лейкоэнцефалопатией со сфероидами (НДЛС). Приводим выписку из истории болезни.

Пациент Е-1, 55 лет, обратился в ФГБНУ НЦН с жалобами на неустойчивость при ходьбе, падения, нечёткость речи, поперхивание при глотании, учащенное мочеиспускание, снижение памяти на текущие события.

Анамнез: неустойчивость и падения беспокоят в течение полутора лет, в течение года – жалобы на учащённое мочеиспускание, поперхивание при глотании, нечеткость речи. В течение месяца ходьба стала возможной только с опорой, усугубились нарушения речи и глотания, снизилась память.

Семейный анамнез: отец погиб в возрасте 46 лет. У отца были нарушения походки, которые списывались на псориатический артрит.

Сопутствующие заболевания: Артериальная гипертензия 2 ст. Псориаз с 30 лет. В связи с развитием псориатического артрита и спондилита получает метотрексат 20 мг в/м 1 раз в неделю.

Неврологический статус: ориентирован правильно, снижена память на текущие события, замедленность мышления, внимание снижено. Дизартрия, дисфагия, рефлекс орального автоматизма с двух сторон. Гипомимия, олигобрадикинезия. Рефлекс Бабинского с двух сторон. В пробе Ромберга – падает. Ходит мелкими шагами, с широко расставленными ногами, с элементами пропульсии с опорой на трость. Трудности инициации ходьбы.

Нейропсихологический осмотр: умеренные изменения высших психических функций, проявляющиеся в снижении функции контроля в произвольной деятельности. Снижен уровень обобщения при исследовании мышления. Значительно снижены показатели объёма отсроченного воспроизведения слухоречевой памяти. Двигательные функции: наблюдаются динамические и кинетические нарушения при организации двигательного акта. Тестирование по шкале MoCA – 23 балла (КР), по шкале HADS т5, д10 (субклиническая

депрессия), тестирование по шкале FAB– 10 баллов (выраженная лобная дисфункция).

Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий: негрубые проявления атеросклероза в виде гемодинамически незначимых атеросклеротических бляшек; показатели линейной скорости кровотока в пределах возрастной нормы.

МРТ головного мозга: в субкортикальном и глубоком белом веществе обоих полушарий большого мозга, перивентрикулярно (преимущественно в теменных долях) определяются сливающиеся между собой диффузно-очаговые изменения повышенной интенсивности МР-сигнала в режимах T2, T2 FLAIR, пониженной – в T1 *mpg*. Также отмечается повышение МР-сигнала в режиме T2 от волокон мозолистого тела (задние отделы корпуса и валик мозолистого тела), вдоль волокон кортико-спинального тракта на уровне внутренних капсул, ножек мозга, моста мозга (вероятно, дегенерация Тюрка-Валлера). В семиовальных центрах с обеих сторон, валике мозолистого тела на фоне указанных зон измененного МР-сигнала от белого вещества визуализируются небольшие зоны повышенной интенсивности МР-сигнала в режиме ДВИ, пониженного МР-сигнала на ИКД-карте. В подкорковых структурах с двух сторон выявляется повышение сигнала в режиме SWI, вероятнее всего, соответствующее кальцинатам. При исследовании с контрастным усилением накопления контрастного вещества не отмечено.

Учитывая развитие подкоркового синдрома у пациента, страдающего артериальной гипертензией, не контролировавшего цифры АД и не получавшего стабильную гипотензивную терапию, а также указания на тяжелое течение псориаза, осложненного псориатическим артритом и спондилитом, требующих приема цитостатиков, дифференциальный диагноз диффузного многоочагового поражения белого вещества головного мозга проводился между спорадической (ассоциированной с возрастом и артериальной гипертензией) церебральной микроангиопатией и иммуноопосредованной микроангиопатией. Однако несоответствие степени АГ тяжести поражения белого вещества головного мозга, быстрое прогрессирование заболевания, отсутствие иных нейровизуализационных маркеров спорадической церебральной микроангиопатии (лакунарные инфаркты,

микровоизлияния), выявление зон повышенного МР-сигнала в режиме ДВИ, пониженного в ИКД от мозолистого тела, перивентрикулярных отделов белого вещества, кальцинаты в базальных ганглиях, отягощенный наследственный анамнез, позволили заподозрить наследственную форму ЛЭ. Параллельно с обследованием пробанда МР-томография головного мозга была выполнена и его сыну (пациент Е-2, 32 года), который на момент обследования был клинически здоров. Исследование показало наличие в субкортикальных отделах белого вещества преимущественно лобных долей обоих полушарий большого мозга многочисленных небольших очагов повышенной интенсивности МР-сигнала в режимах T2 и T2 d-f (МРТ пациентов приведены на рисунках 21 и 22).

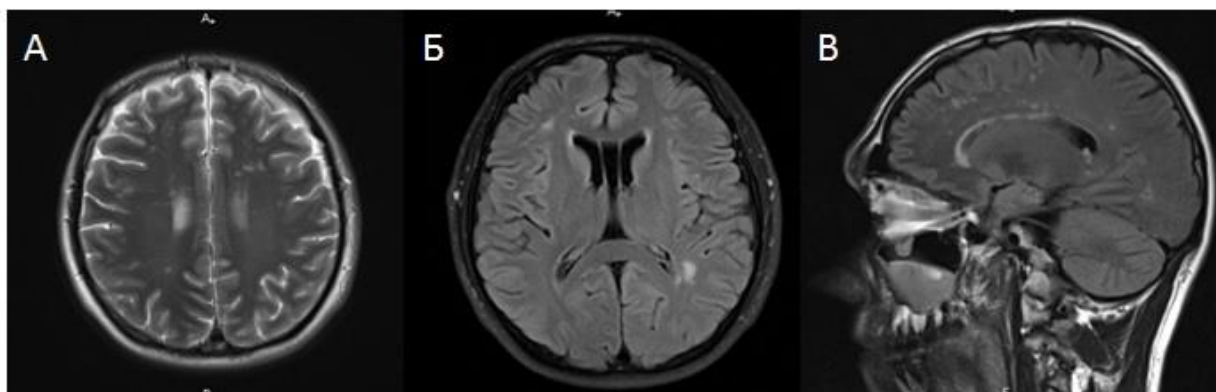


Рисунок 21 - МРТ головного мозга пациента Е-2. А – режим T2, Б, В – режим T2 FLAIR. В субкортикальных и глубоких отделах белого вещества обоих полушарий большого мозга визуализируются многочисленные небольшие очаги повышенной интенсивности МР-сигнала в режимах T2 и T2 FLAIR

Таким образом, стало очевидным, что речь идет об аутосомно-доминантной форме ЛЭ. Среди аутосомно-доминантных форм наследственных ЛЭ рассматривались ЦАДАСИЛ, болезнь Александра, лейкоэнцефалопатия, ассоциированная с геном *LMNB1*, а также НДЛС.

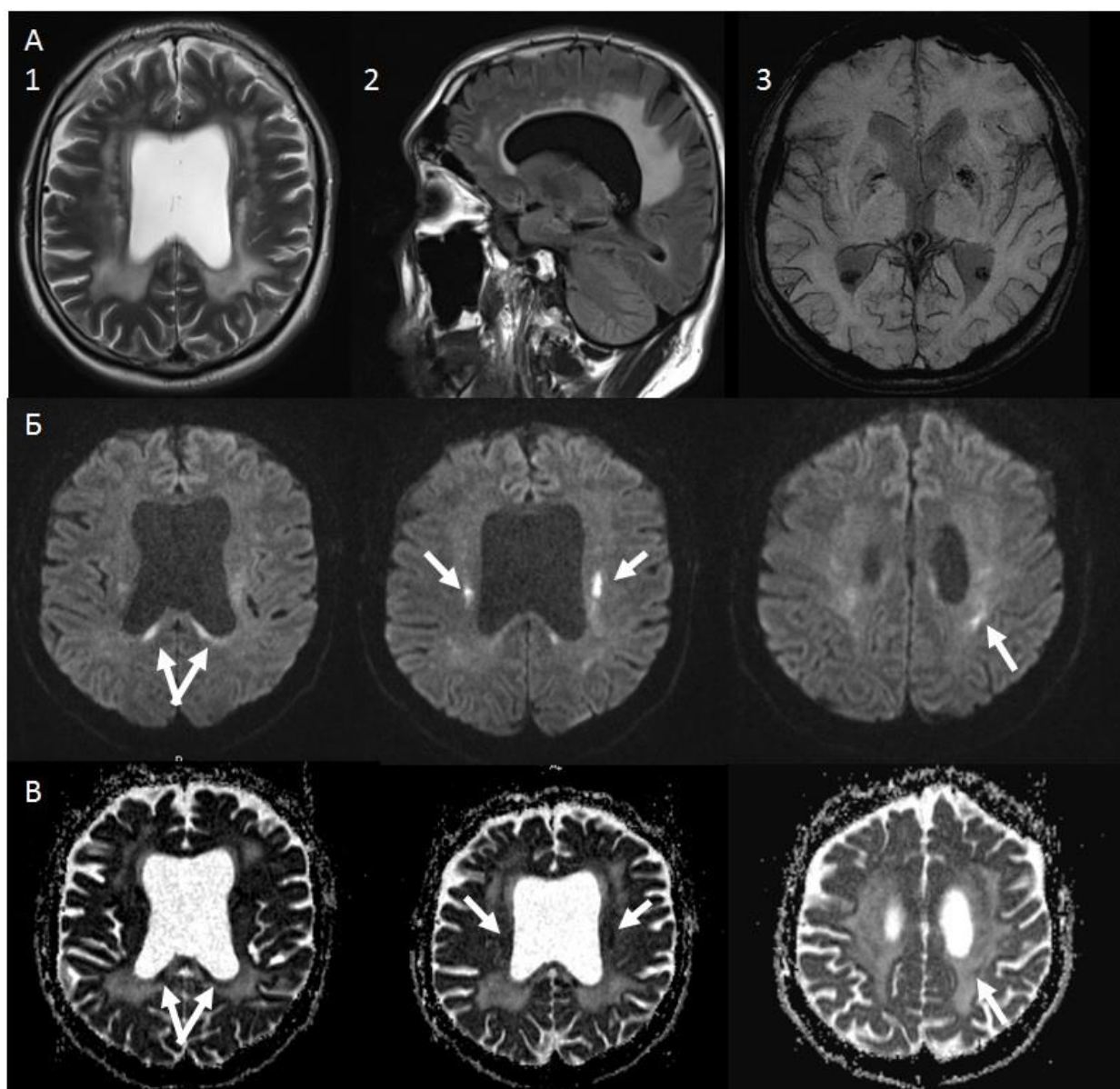


Рисунок 22 - МРТ головного мозга пациента Е-1. А1, 2 – режимы Т2, Т2 FLAIR. Диффузно-очаговые изменения повышенной интенсивности МР-сигнала в субкортикальном и глубоком белом веществе обоих полушарий большого мозга, преобладающие в теменных долях; повышение МР-сигнала в режиме Т2 от волокон мозолистого тела, атрофия мозолистого тела. А3 – режим SWI. Повышение сигнала от подкорковых структур с обеих сторон. Б, В – режим ДВИ, ИКД карта. В семиовальных центрах с обеих сторон, валике мозолистого тела на фоне указанных зон измененного МР-сигнала от белого вещества визуализируются зоны повышенной интенсивности МР-сигнала в режиме ДВИ, пониженного МР-сигнала на ИКД-карте

Проведение таргетного NGS-анализа с панелью нейродегенеративных заболеваний выявило наличие двух патогенных мутаций в 7-м и 17-м экзонах гена, соответственно. Наличие мутаций было подтверждено методом прямого

секвенирования (рисунок 23). Интересно отметить, что мутация с.2546_2548delTCT (rs281860276) в 17-м экзоне, согласно литературным данным, ассоциирована с развитием НДЛС, в то время как мутация с.1085A>G (His362Arg, rs10079250) в 7-м экзоне гена ассоциирована с онкологической патологией.

Окончательный диагноз: наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами.

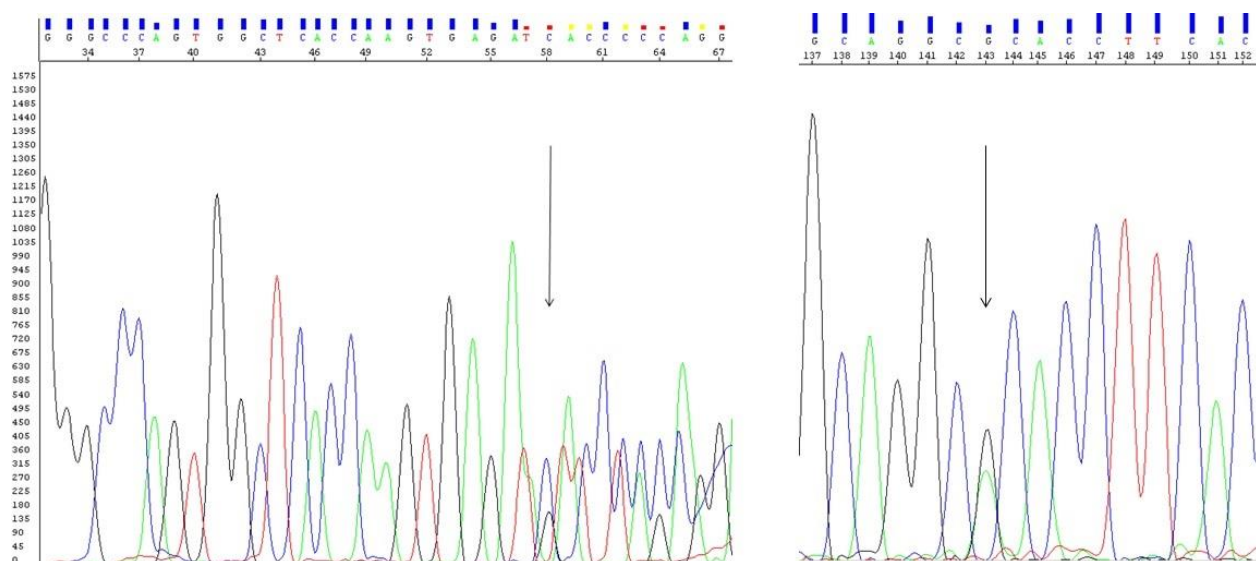


Рисунок 23 - Результаты секвенирования 17-го и 7-го экзонов гена *CSF1R* пациентов Е-1 и Е-2. А – делеция с.2546_2548delTCT (rs281860276) в 17-м экзоне гена, приводящая к сдвигу рамки считывания. Б – точечная миссенс-мутация с.1085A>G (His362Arg, rs10079250) в 7-м экзоне гена

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наследственные формы ЛЭ взрослых – обширная и малоизученная группа заболеваний. Большинство из нозологий данной группы остается недиагностированными, пациентам выставляется ошибочный диагноз и назначается некорректное лечение. Наиболее частым ошибочным диагнозом является РС, постановка такого диагноза ведет к назначению агрессивной терапии. В то же время несвоевременное назначение такой терапии пациентам, действительно имеющим демиелинизирующее заболевание ЦНС, значительно ухудшает прогноз течения болезни. В этом свете крайне важным было выявить отличительные особенности наследственных ЛЭ с поздним дебютом и построить алгоритм обследования пациентов с поражением белого вещества головного мозга.

В настоящей работе впервые в российской популяции предпринят анализ наследственных ЛЭ у пациентов взрослого возраста. Был проведен соответствующий генетический скрининг пациентов и их родственников, изучены фенотипические проявления ряда выявленных форм патологии, описаны их неврологические и нейропсихологические симптомы, а также оценен объем поражения вещества головного и спинного мозга. На основании полученных данных были сформулированы подходы к диагностике и дифференциальной диагностике наследственных ЛЭ взрослых.

4.1. ЦАДАСИЛ

Согласно литературным данным, в среднем 35% случаев ЦАДАСИЛ остается нераспознанными на первых годах заболевания. В основном это обусловлено некорректно собранным семейным анамнезом [136]. При анализе выборки ЦАДАСИЛ было обнаружено, что большинство пациентов (70%) длительное время наблюдались с иными диагнозами, несмотря на отягощенный семейный анамнез. Практически половина пациентов (43%) имела изначальный диагноз «Рассеянный склероз». Это приводило к назначению необоснованной терапии; более того, пациенты не знали, что их заболевание передается по наследству с вероятностью 50%.

Дебют заболевания в молодом возрасте, отсутствие классических сосудистых факторов риска, многоочаговое поражение вещества головного мозга, а также диссеминация симптомов во времени и пространстве создают определенные трудности при дифференциальной диагностике ЦАДАСИЛ и РС. На начальных стадиях ЦАДАСИЛ часто имитирует РС. Вместе с тем, ЦАДАСИЛ имеет ряд характерных особенностей, не встречающихся при демиелинизирующих заболеваниях: характерный МРТ-паттерн; отсутствие интратекального синтеза олигоклональных антител; аутосомно-доминантный тип наследования и наличие в части случаев отягощенного семейного анамнеза по острым нарушениям мозгового кровообращения, мигрени и деменции. У всех обследованных нами пациентов при более тщательном опросе был выявлен отягощенный семейный анамнез по ОНМК либо по деменции; на протяжении жизни ни у одного из них не был выявлен интратекальный синтез олигоклональных антител. У всех пациентов, наблюдавшихся с диагнозом РС, имелись типичные для ЦАДАСИЛ нейровизуализационные симптомы. Однако у 7 пациентов из 9 с ранее установленным диагнозом РС при проведении МРТ головного мозга были выявлены также очаговые изменения в мозолистом теле, что является характерным для демиелинизирующих заболеваний и может наталкивать на неверный диагноз.

У большинства пациентов имелись сопутствующие заболевания, такие как гипертоническая болезнь, атеросклероз брахиоцефальных артерий, дислипидемия и сахарный диабет, у двоих – ЗЧМТ в анамнезе. Эти состояния оказывают воздействие на малые сосуды головного мозга и ведут к развитию прогрессирующей сосудистой лейкоэнцефалопатии, что может затруднять диагностику ЦАДАСИЛ и отсрочивать проведение генетического исследования.

Типичный возраст дебюта заболевания составляет, согласно литературным данным, в среднем 45 лет[28]. В нашей выборке он составил $35,5 \pm 12,4$, что может являться особенностью российской выборки случаев данного заболевания. Интересно отметить, что среди нашей когорты были выявлены пациенты, считавшие себя здоровыми и не обращавшиеся за медицинской помощью – в основном, это были дети пробандов. При тщательном осмотре и обследовании практически у всех были обнаружены типичные для заболевания клинические и радиологические симптомы. Также благодаря генетическому скринингу родственников пациентов с ЦАДАСИЛ были выявлены и носители мутаций на ранней доклинической стадии заболевания, имевшие характерные изменения на МРТ головного мозга, но не имевшие клинических проявлений. Таким образом, диагноз был выставлен максимально рано, что позволило избежать неоправданного приема некоторых лекарственных препаратов, скорректировать образ жизни.

Нами описаны пациенты с крайне поздним дебютом заболевания (70 лет), что считается не характерным для ЦАДАСИЛ.

Анализ неврологических проявлений ЦАДАСИЛ нашей выборки пациентов выявил некоторые особенности. Так, согласно литературным данным, до 40% носителей мутаций в гене *NOTCH3* на начальных стадиях заболевания страдают мигренозными головными болями, сопровождающимися аурой[9,41]. В нашей выборке головные боли были отмечены у 55,5% симптомных носителей мутаций, однако при этом преобладала головная боль напряжения.

У большинства пациентов отмечены пирамидный, мозжечковый и псевдобульбарный синдромы, что соответствует общим данным о ЦАДАСИЛ.

Тазовые нарушения и нарушения чувствительности встречались в нашей выборке достаточно редко. Тем не менее, было показано, что у трети пациентов имеет место экстрапирамидный синдром в виде различных расстройств движения (паркинсонизм, дистония, дистонический и постурально-кинетический тремор), что не считается типичным для данного заболевания.

Нейропсихологическое обследование пациентов с ЦАДАСИЛ совместно с тестированием по шкалам выявило те или иные нарушения практически у всех пациентов. Преобладали мнестические нарушения, апраксия, быстрая истощаемость и нарушение регуляторных функций, т.е. в целом в развернутой стадии болезни КР носили смешанный характер. Тестирование по шкале МоСА показало, что лишь 33% пациентов достигли 26 баллов и выше, что указывает на широкую распространенность когнитивных нарушений среди пациентов с ЦАДАСИЛ. Тестирование по шкале FAB обнаружило клинически значимое нарушение лобной функции у 60% больных.

Сниженный фон настроения был выявлен у половины пациентов, у двоих он достигал степени тяжелой депрессии; у четверти пациентов, наоборот, отмечалось повышение фона настроения, эйфория. По данным тестирования по шкале HADS, клинически значимые тревога и депрессия имели место у 33,5% и 26% пациентов соответственно. Тем не менее, ни у кого не было зарегистрировано балльных отметок «0» или «1» ни в разделе тревоги, ни в разделе депрессии, что говорит о том, что у всех пациентов имеет место депрессия и тревога той или иной степени выраженности. Интересно отметить, что у всех пациентов, выявленных путем генетического скрининга и считавших себя здоровыми, среди прочих симптомов отмечалось снижение критики к своему состоянию. Вероятно, снижение критики является одним из ранних нейропсихологических симптомов заболевания, который, в свою очередь, приводит к позднему обращению за медицинской помощью и поздней постановке диагноза.

Регистрация эндогенных вызванных потенциалов Р300 выявила нарушения когнитивной функции более чем у половины пациентов, причем расстройства выявлялись независимо от возраста и длительности заболевания. Более того,

методика оказалась более чувствительной для выявления субклинических когнитивных нарушений по сравнению с тестированием по шкале MoCA. Таким образом, объективизация данных при помощи использования инструментальных методов диагностики позволят раньше выявлять когнитивные нарушения при ЦАДАСИЛ, начиная с самых начальных стадий заболевания.

Нейровизуализация выявила характерные изменения у всех носителей мутаций в гене *NOTCH3*, в том числе и у троих испытуемых (П-3, П-4, Ма-3), являвшихся клинически здоровыми, а также у одного добровольца группы контроля. Следовательно, у данных пациентов носительство мутации уже не является асимптомным, несмотря на клиническую компенсацию. Очевидно, изменения вещества головного мозга происходят задолго до манифестации клинической картины заболевания. Следует отметить, что у всех пациентов (за исключением пациента ЦАД-3) была обнаружена гиперинтенсивность белого вещества головного мозга в области передних отделов височных долей; изменение МР-сигнала в области наружных капсул было зарегистрировано у 27 пациентов из 30. Таким образом, гиперинтенсивность сигнала в области полюсов височных долей является наиболее специфичным маркером заболевания.

Нами было выявлено два основных варианта течения заболевания. ЦАДАСИЛ может протекать либо ступенеобразно, с периодами резкого ухудшения состояния и формированием грубых неврологических проявлений, либо, наоборот, плавно, приводя, в основном, к психическим нарушениям (см. клинические примеры 1 и 2). Статистический анализ показал, что длительность заболевания не всегда коррелирует с его тяжестью либо типом течения, а так же с нейровизуализационными показателями.

Спектр мутаций гена *NOTCH3* оказался чрезвычайно гетерогенным. Большинство мутаций (86,6%) затрагивало 4-й экзон гена, также были найдены две мутации в 6-м экзоне, по одной мутации в 5-м и 9-м экзонах гена. Мутация V322M, затрагивающая 6-й экзон, в отличие от всех других патогенных мутаций гена *NOTCH3*, не влияет на количество цистеиновых остатков протеина Notch, однако, ее значимость и патогенность доказаны [7].

Практически во всех исследованиях, посвященных генетическому скринингу ЦАДАСИЛ, было показано, что следующими по частоте мутирования (после 4-го экзона) являются экзоны 3 и 11. Тем не менее, в нашей выборке не было обнаружено мутаций данной локализации. Одна пациентка оказалась носителем двух патогенных мутаций в 4-м и 6-м экзонах гена. Интересно, что клинические и нейровизуализационные симптомы не отличались от таковых у других пациентов выборки, асимптоматика на момент обследования была негрубой. У сына пациентки была выявлена одна из двух мутаций (см. описание семьи Ки).

Поиск клиничко-генетических корреляций был затруднен ввиду того, что каждая из мутаций представлена малым числом пациентов. Тем не менее, удалось выявить некоторые особенности: наиболее инвалидизированными по сравнению со всей выборкой оказались пациенты ЦАД-10 и ЦАД-11 – носители мутаций в 6-м и 9-м экзонах гена *NOTCH3* соответственно (таблица 10). При анализе клинической картины носителей мутаций в 4-м экзоне гена не удалось выявить какой-либо значимой взаимосвязи между генотипом и наличием тех или иных неврологических, психоневрологических либо нейровизуализационных симптомов. Среди носителей одинаковых мутаций встречались пациенты как с «мягкой» симптоматикой при длительном стаже заболевания, так и грубо инвалидизированные пациенты с относительно коротким стажем заболевания.

Исходя из вышесказанного, можно говорить о том, что ген *NOTCH3* обладает 100% пенетрантностью, но его экспрессивность варьирует в широких пределах, что и объясняет столь значительную вариабельность клинических проявлений и различную выраженность симптомов. Факторами, усугубляющими течение заболевания, могут считаться цереброваскулярные заболевания и черепно-мозговая травма (таблица 10). И хотя четких корреляций «генотип-фенотип» выявлено не было, все же внутри имеется тенденция к схожему течению заболевания. Это факт позволяет предположить, на развитие заболевания оказывают определенное влияние и эндогенные внутрисемейные модификаты, изучение которых может положить начало новым исследованиям.

При ДНК-анализе образцов ДНК клинически здоровых лиц в общей популяции оказалось, что частота выявления мутаций в гене *NOTCH3* достаточно высока – ориентировочно 1 на 100 человек (1,03%); таким образом, носительство мутации было выявлено на 0,52% исследованных хромосом.

4.2. ЛССЛ

Лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата (ЛССЛ) с поздним началом считается крайне редкой формой наследственных ЛЭ. Малая осведомленность специалистов о данном заболевании обуславливает его гиподиагностику. Так, в нашей выборке ЛССЛ большинство пациентов (91%) длительное время имели иной диагноз.

Сочетание симптомов поражения пирамидного пути, мозжечка и задних канатиков спинного мозга чаще всего наводит на мысль о диагнозе болезни Фридрейха либо иных вариантах спиноцеребеллярных атаксий. Однако для них не характерно изменение сигнала от вещества головного мозга при проведении МРТ. Особые сложности возникают при проведении дифференциального диагноза с демиелинизирующими заболеваниями ЦНС, в особенности с РС, т.к. оба заболевания имеют сходную клиническую картину и изменения на МРТ. И все же для ЛССЛ удастся выявить ряд отличительных черт, таких как отсутствие обострений и ремиссий, более медленное прогрессирование, более диффузный и сливной характер очагов поражения вещества головного мозга при МРТ, которые не накапливают контрастное вещество и не имеют тенденции к регрессу на фоне иммунотерапии.

Особые диагностические сложности возникают, когда речь идет о взрослых формах заболевания, т.к. симптомы выражены негрубо, а их возникновение и развитие сильно растянуты во времени.

В литературе описаны лишь единичные случаи ЛССЛ с дебютом во взрослом возрасте, вплоть до манифестации в 35 лет [110]. Нами же выявлена пациентка с дебютом заболевания в возрасте 40 лет (пациентка ЛС-1) – на сегодня

это самый поздний возраст дебюта ЛССЛ из всех описанных в литературе случаев. Неврологические нарушения у нее были негрубыми, однако при этом наблюдались когнитивные расстройства, обычно нехарактерные для ЛССЛ с поздним началом.

Спектр неврологических проявлений ЛССЛ у пациентов нашей выборки был представлен симптомами пирамидной и мозжечковой недостаточности, симптомами поражения задних канатиков спинного мозга, которые встречались у 100% пациентов, а также полинейропатией, когнитивными и аффективными расстройствами, которые встречались реже (45% и 36,4% соответственно). По-видимому, эти данные отражают особенность именно обследованной нами российской выборки случаев: согласно имеющимся литературным данным, которых крайне мало [88,167], когнитивные и аффективные нарушения не считаются характерными для ЛССЛ с поздним началом.

Нейропсихологическое тестирование пациентов с ЛССЛ выявило мнестические нарушения практически у всех пациентов, а также нарушения праксиса и гнозиса. При тестировании пациентов по шкале МоСА когнитивные нарушения выявлены у четырех пациентов. При регистрации эндогенных вызванных потенциалов Р300 когнитивные нарушения были выявлены у пяти пациентов, что также позволяет судить о большей чувствительности данной методики к выявлению ранних КР. Тестирование по шкале FAB выявило признаки лобной дисфункции различной степени выраженности у половины пациентов, тестирование по шкале HADS выявило у трети пациентов признаки клинически значимых тревоги и депрессии, что ранее не считалось характерным для пациентов с поздней формой ЛССЛ.

Стандартная МРТ головного и спинного мозга выявила у 100% пациентов диффузное поражение белого вещества больших полушарий, поражение ствола головного мозга в проекции пирамидных путей и дорсальных отделов спинного мозга. У 91% пациентов выявлены очаги в ножках мозжечка, у 73% в заднем бедре внутренней капсулы с обеих сторон, у трети пациентов были обнаружены изменения в мозолистом теле и черве мозжечка. У всех пациентов было выявлено

повышение пика лактата при проведении МР-спектроскопии. Согласно литературным данным [185], в отсутствие генетического подтверждения носительства мутаций в гене *DARS2*, для постановки диагноза детской формы ЛССЛ достаточным является обнаружение измененного МР-сигнала от белого вещества больших полушарий головного мозга очагового либо сливного характера, задних канатиков спинного мозга, пирамид продолговатого мозга. Таким образом, согласно нашим результатам, для ЛССЛ с поздним дебютом также характерны указанные МР-симптомы.

При ДНК-исследовании у всех пациентов одна из двух мутаций была одинаковой, вторая мутация – разной. Это лишний раз демонстрирует, что наличие основных МР-критериев (поражение белого вещества больших полушарий, пирамидного тракта, задних канатиков спинного мозга) и выявление мутации rs367543010 во 2-м интроне гена *DARS2* может быть достаточным для постановки диагноза ЛССЛ.

Учитывая небольшую выборку пациентов, сложно говорить о каких-либо клинико-генетических либо клинико-нейровизуализационных корреляциях. Наиболее грубая клиническая симптоматика отмечалась у сибсов Бе-1 и Бе-2, имевших вторую мутацию в экзоне 6 гена *DARS2* (таблица 16). У пациентки ЛС-1, имевшей наиболее «мягкую» симптоматику, вторая мутация находилась в интроне 6 в непосредственной близости к экзону 7, и, вероятно, затрагивала его сайт сплайсинга (таблица 16, описание клинического случая ЛС-1). Тем не менее, для подтверждения данной гипотезы, необходимо исследование на более крупных выборках.

Остается не вполне ясным, почему возраст дебюта ЛССЛ столь вариабелен — от раннего детского до взрослого. Известно, что возникновение мутаций в гене *DARS2* ведет не к полному прекращению работы митохондриальной аспартил-тРНК-синтетазы, а лишь к снижению ее активности [145, 146]. Вероятно, разные генотипы, а именно комбинации мутаций и их взаимодействие, ведут к снижению ферментативной активности разной степени выраженности. Определенные генотипы могут обуславливать крайне «мягкие» фенотипические проявления,

ввиду чего большая часть ЛССЛ с поздним дебютом остается нераспознанной. Можно предполагать, что истинная частота встречаемости ЛССЛ значительно выше, чем принято считать на сегодняшний день.

4.3. Другие наследственные лейкоэнцефалопатии взрослого возраста

Среди других форм ЛЭ взрослого возраста, идентифицированных нами в обследованной выборке пациентов, были синдром FXTAS (один случай) и наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами (НДЛС – два пациента в одной семье).

Выявленный нами пациент с синдромом FXTAS – это первый случай данного заболевания в российской популяции. Для диагностики синдрома FXTAS важен подробный неврологический и нейропсихологический анализ, позволяющий на ранних стадиях обнаружить симптомы, не укладывающиеся в рамки эссенциального тремора, спиноцеребеллярных атаксий, болезни Паркинсона и проч. При обнаружении нетипичного сочетания симптомов следует выполнить нейровизуализационное исследование и, при наличии признаков ЛЭ (особенно очагов в основании ножек мозга, как у нашего пациента) и дегенеративных изменений, предпринять генетическое исследование. Своевременная постановка диагноза FXTAS не только поможет сориентировать пациента и его семью относительно дальнейшего прогноза заболевания, но так же выявить родственников, находящихся в группе риска по развитию иных заболеваний, ассоциированных с геном *FMRI*. Особенно актуальным это является для дочерей пациентов с FXTAS, которые могут страдать овариальной недостаточностью, а также с вероятностью 50% могут родить мальчика-носителя полной экспансии, приводящей к развитию синдрома Мартина–Белл.

Выявленная в настоящей работе семья с НДЛС – это второе в отечественной литературе описание данной формы ЛЭ. Особенностью случая является наличие тяжелой сопутствующей патологии у пробанда, маскирующей проявление основного заболевания, а также не совсем типичное течение заболевания. Возраст

дебюта заболевания пациента Е-1 составил 51 год – несколько позже, чем в типичных описанных в литературе случаях. Традиционно считается, что заболевание манифестирует с психических нарушений, но у описанного пациента в дебюте заболевания преобладали двигательные расстройства. Также не совсем типичным является и МР-паттерн: максимально пораженными были теменные доли, а не лобные, как описано в литературе [57]. Тем не менее, сочетание быстро прогрессирующих двигательных, когнитивных и аффективных расстройств, дополнительные МР-симптомы (поражение мозолистого тела, ограничение диффузии в режиме ДВИ, наличие кальцинатов в веществе головного мозга), а также аутосомно-доминантный тип наследования указывают на диагноз НДЛС, что и было подтверждено генетически. У сына пробанда была диагностирована ранняя, пресимптоматическая форма болезни, характеризующаяся отсутствием неврологических проявлений и наличием отчетливых изменений белого вещества мозга по данным МРТ.

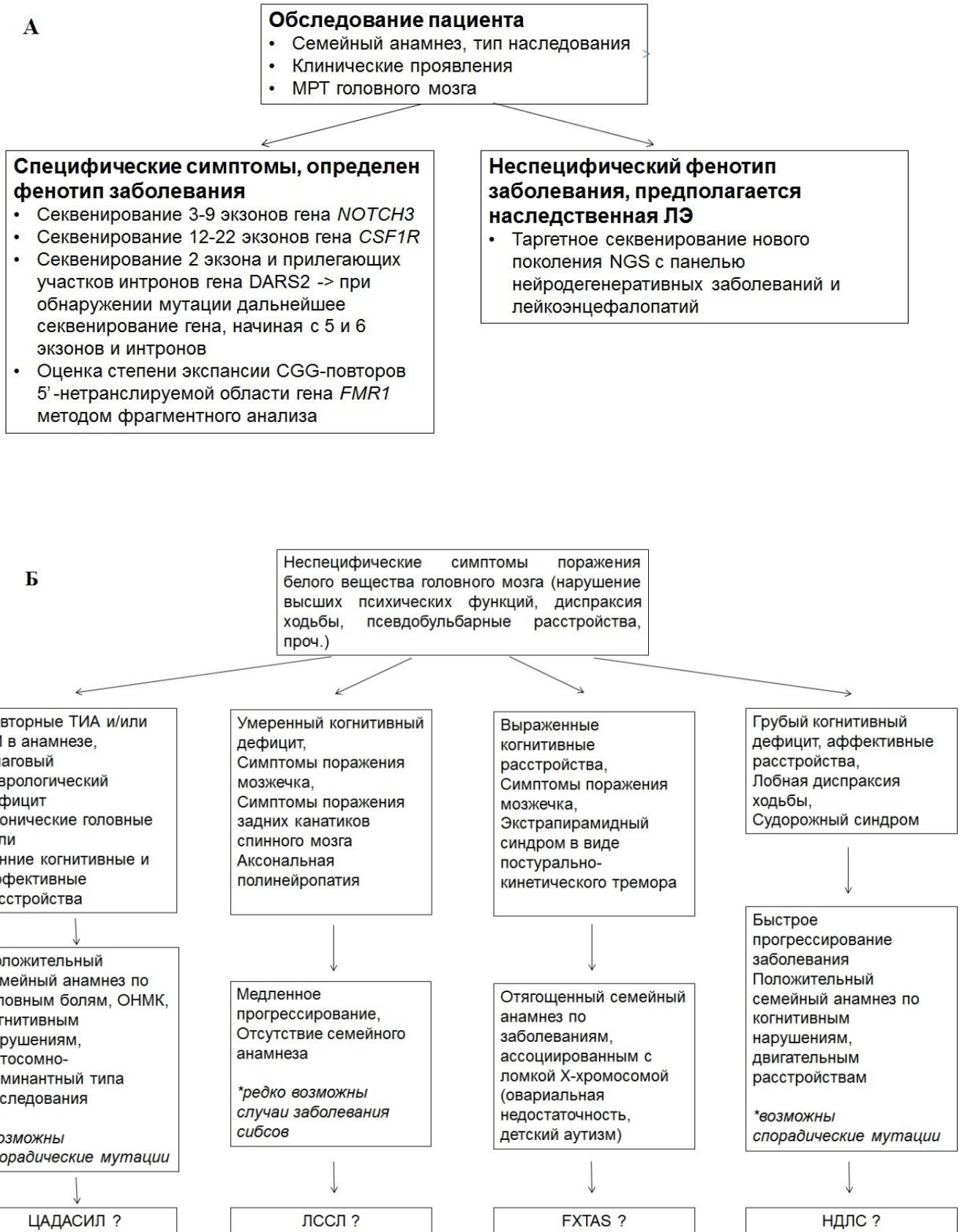
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в работе клинические описания демонстрируют сложности в дифференциальной диагностике поражения белого вещества головного мозга. Широкий спектр фенотипических проявлений ЛЭ с поздним началом, отсутствие патогномоничных клинических и нейровизуализационных симптомов, неспецифичность изменений белого вещества головного мозга, выявляемых на ранних стадиях заболевания, низкая осведомленность специалистов о данных заболеваниях обуславливают трудности в их диагностике. Следует помнить о том, что наличие таких состояний, как артериальная гипертензия и атеросклероз, системные заболевания, черепно-мозговые травмы не исключают наличия генетической патологии. Ключом к диагностике наследственных ЛЭ является тщательный сбор семейного анамнеза и скрупулёзный анализ клинических и нейровизуализационных симптомов.

Нами разработаны алгоритмы диагностики у взрослых пациентов наследственных форм ЛЭ, описанных в работе, упрощающие верификацию конкретной формы ЛЭ. Они схематически представлены на рисунке 24.

При наличии отягощенного семейного анамнеза, прогрессирующих когнитивных и двигательных расстройств в сочетании с признаками поражения белого вещества головного мозга, независимо от пола и возраста пациента, среди прочих заболеваний следует думать и о наследственных формах ЛЭ, выявляемость которых будет постепенно возрастать по мере расширения

современных диагностических возможностей и повышения осведомленности врачей об этих формах патологии.



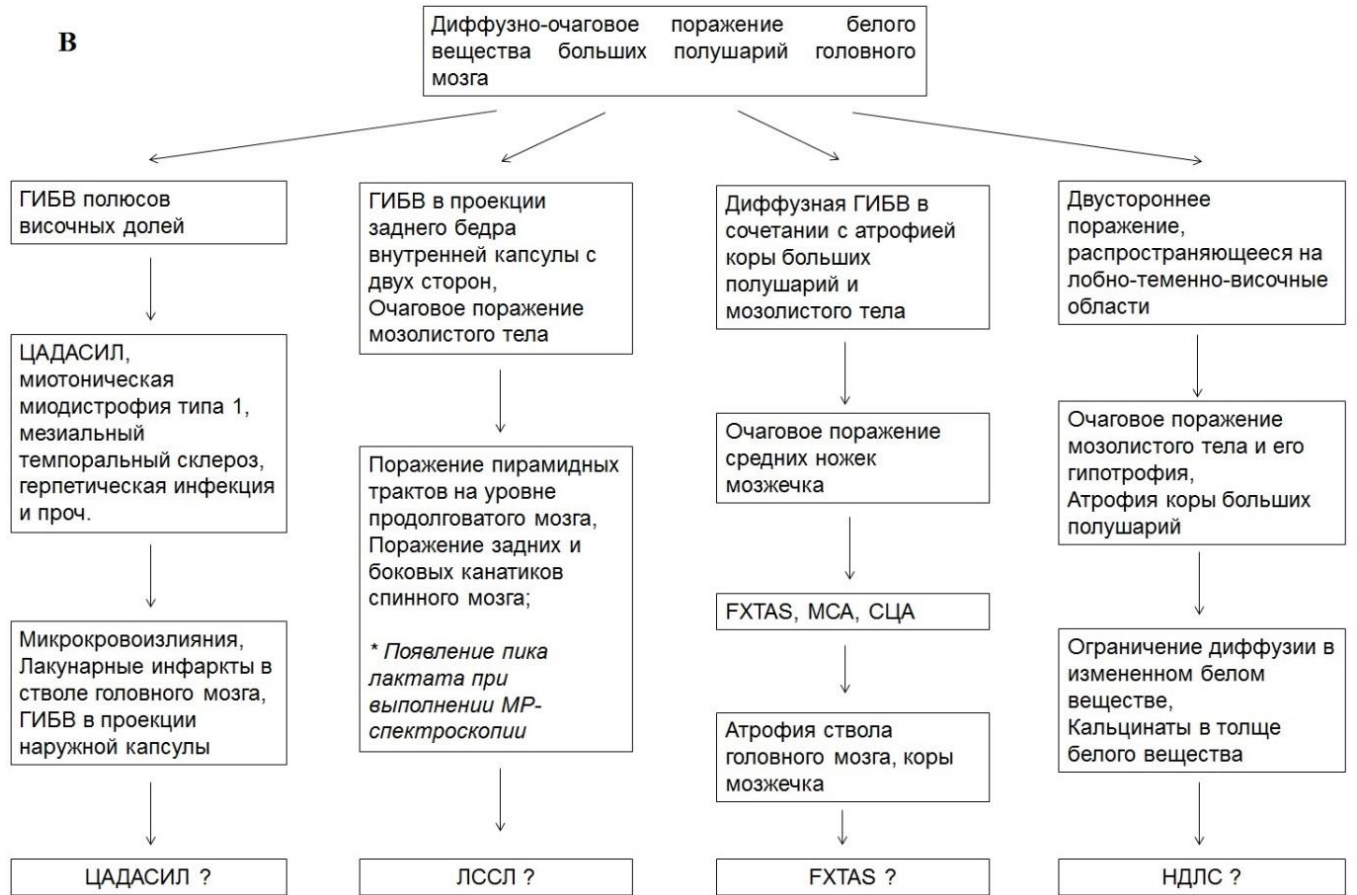


Рисунок 24 - А – общий алгоритм диагностики наследственных ЛЭ.
 Б – дифференциальная диагностика клинических симптомов некоторых наследственных ЛЭ. В – дифференциальная диагностика радиологических симптомов некоторых наследственных ЛЭ

ВЫВОДЫ

1. Наследственные лейкоэнцефалопатии взрослых – гетерогенная группа заболеваний, проявляющихся сочетанием двигательных, когнитивных и аффективных расстройств, а также сходной нейровизуализационной картиной в виде диффузно-очагового поражения белого вещества головного мозга. В выборке российских пациентов наиболее часто встречающимися формами этих заболеваний являются ЦАДАСИЛ и ЛССЛ, частота ошибочных диагнозов при которых достигает 70-90%; в единичных семьях могут выявляться также синдром FXTAS и наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами.

2. Клиническими особенностями ЦАДАСИЛ у пациентов в российской популяции являются: более ранний возраст дебюта заболевания по сравнению с другими выборками, описанными в мире; преобладание головной боли напряжения над мигренью (60% и 40%, соответственно); высокая частота встречаемости экстрапирамидного синдрома (33%); существование различных типов течения заболевания – неуклонно прогрессивных форм с развитием грубых когнитивных расстройств и форм с развитием повторных нарушений мозгового кровообращения и формированием стойкого неврологического дефицита.

3. У российских пациентов с ЦАДАСИЛ большинство мутаций *NOTCH3* (86,6%) локализованы в 4-м экзоне гена, описаны единичные мутации в 6-м (6,7%), 5-м и 9-м экзонах гена (по 3,3%). В основной подгруппе пациентов с мутациями в 4-м экзоне заболевание характеризуется отсутствием четких корреляций между генотипом и фенотипическими проявлениями (возрастом дебюта и длительностью болезни, клиническим синдромом, нейровизуализационными характеристиками).

4. Второй по частоте наследственной лейкоэнцефалопатией у взрослых является ЛССЛ. В российской популяции особенностями заболевания, помимо характерных для него пирамидно-мозжечкового синдрома и поражения дорсальных отделов спинного мозга, являются высокая частота поражения периферической нервной системы (45,5%) и когнитивных расстройств (45,5%), отсутствие судорожного синдрома. Большинство мутаций затрагивает 2-й и 4-й интроны гена *DARS2*. Наиболее тяжелые фенотипические проявления ЛССЛ ассоциированы с мутациями в 6-м экзоне гена *DARS2*.

5. При наследственных лейкоэнцефалопатиях взрослых имеет место длительный пресимптомный период, на протяжении которого постепенно формируются характерные изменения в белом веществе головного мозга. В связи с этим МРТ головного мозга может рассматриваться как ключевой метод ранней диагностики, предваряющий более сложное молекулярно-генетическое тестирование.

6. Для наследственных лейкоэнцефалопатий взрослых характерно наличие субклинических когнитивных нарушений, выявляемых уже на самых ранних стадиях заболевания. Чувствительным методом выявления когнитивных нарушений у данной категории пациентов являются когнитивные вызванные потенциалы, которые в качестве биомаркера могут применяться как у больных, так и у клинически здоровых лиц из группы риска.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Дифференциальная диагностика ЦАДАСИЛ базируется на анализе семейного анамнеза, наличии некоторых клинических (головная боль, ранние когнитивные расстройства) и нейровизуализационных (вовлечение в патологический процесс полюсов височных долей и др.) маркеров. Генетический скрининг на носительство мутаций *NOTCH3* следует рекомендовать пациентам с рассеянным склерозом, повторными нарушениями мозгового кровообращения в анамнезе при обнаружении соответствующих маркеров заболевания, а также прямым родственникам носителей мутаций в гене *NOTCH3*, в том числе при отсутствии симптомов заболевания.

2. При проведении ДНК-диагностики ЦАДАСИЛ первым этапом целесообразно выполнять генетический скрининг 4-го экзона *NOTCH3*. При исключении мутаций в этой области гена может быть рекомендовано секвенирование экзонов с 5-го по 9-й и, при необходимости, – всей кодирующей области гена.

3. Разработанные диагностические алгоритмы наследственных лейкоэнцефалопатий у взрослых могут быть рекомендованы для дифференциальной диагностики широкого круга заболеваний, сопровождающихся патологией белого вещества.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВИ – взвешенное изображение

ГБН – головная боль напряжения

ГИБВ – гиперинтенсивность белого вещества головного мозга

ГОМ – гранулярный осмиофильный материал

ДВИ – диффузионно-взвешенное изображение

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗЧМТ – закрытая черепно-мозговая травма

ИИ – ишемический инсульт

ИКД – измеряемый коэффициент диффузии

КР – когнитивные расстройства

ЛД – лейкодистрофия

ЛССЛ – лейкоэнцефалопатия с преимущественным поражением ствола головного мозга и спинного мозга и повышенным уровнем лактата

ЛЭ – лейкоэнцефалопатия

мРНК – матричная РНК

МРТ – магнитно-резонансная томография

НДЛС - наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами

НЛЭ – наследственные лейкоэнцефалопатии

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ПИТРС - препараты, изменяющие течение рассеянного склероза

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

РС – рассеянный склероз

СЦА – спиноцеребеллярная атаксия

ТИА – транзиторная ишемическая атака

тРНК – транспортная РНК

УКР – умеренные когнитивные расстройства

ЦАДАСИЛ – церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией

ЦАРАСИЛ – церебральная аутосомно-рецессивная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией

ЦНС – центральная нервная система

ЦСЖ – цереброспинальная жидкость

ЧМТ – черепно-мозговая травма

ЭКГ - электрокардиограмма

ЭТ – эссенциальный тремор

CADASIL – cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy

CSF1R - Colony Stimulating Factor 1 Receptor

EGF – endothelial growth factor

ERK - extracellular signal-regulated kinase

FAB - Frontal Assessment Battery

FXTAS – fragile X-associated tremor/ataxia syndrome

HADS - hospital Anxiety and Depression Scale

HDLS - hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids

LBSL - leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and lactate elevation

MELAS - mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes

MLD - metachromatic leukodystrophy

MAPT - microtubule-associated protein tau

MoCA - Montreal Cognitive Assessment

NGS – next generation sequencing

rs – reference SNP

SNP – single nucleotide polymorphism

SWI - Susceptibility weighted imaging

VWM – vanishing white matter disease

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинтер, Е.К. Современное медико-генетическое консультирование / Под ред. Е.К. Гинтера, С.И. Козловой // М.: Авторская академия, 2016. - С. 304.
2. Иллариошкин, С.Н. Клинический и молекулярно-генетический анализ церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) в российских семьях / Иллариошкин С.Н., Абрамычева Н.Ю., Калашникова Л.А. и др. // Неврологический журнал. - 2013. - №4. - С. 8-16.
3. Краснопольская, К.Д. Наследственные болезни обмена веществ / Краснопольская К.Д. // М.: Центр социальной адаптации и реабилитации детей "Фохат", 2005. - С. 364.
4. Руденская, Г.Е. Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами: первый российский случай, диагностированный методом таргетного NGS / Руденская Г.Е., Иткис Ю.С., Кашина Е.М. и др. // Медицинская генетика. - 2016 - Т.15, №8 - С. 30-32.
5. Сухоруков, В.С. Очерки митохондриальной патологии / Сухоруков В.С. // М.: Медпрактика-М, 2011. - С.287.
6. Темин, П.А. Наследственные нарушения нервно-психического развития детей / Под ред. Темина П.А., Казанцевой Л.З. // М.: Медицина, 2001. - С. 432.
7. Abramychева, N. New mutations in the Notch3 gene in patients with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) / Abramychева N., Stepanova M., Kalashnikova L. et al. // Journal of the Neurological Sciences. - 2015. – Vol.349. - P.196-201.

8. Adams, J.S. Volumetric brain changes in females with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) / Adams P.E., Nguyen D., et al. // *Neurology*.-2007. – Vol.69, №9.- P.851-859.
9. Adib-Samii, P. Clinical spectrum of CADASIL and the effect of cardiovascular risk factors on phenotype: study in 200 consecutively recruited individuals / Adib-Samii P., Brice G., Martin R.J. et al. // *Stroke*.-2010. – Vol. 41.- P.630–634.
10. Allen, E.G. Examination of the effect of the polymorphic CGG repeat in the FMR1 gene on cognitive performance / Allen E.G., Sherman S., Abramowitz A. et al. // *Behav Genet*.-2005.- Vol.35.- P.435–445.
11. Amberla, K. Insidious cognitive decline in CADASIL / Amberla K., Waljas M., Tuominen S. et al. // *Stroke*.-2004. – Vol.35.- P.1598–602.
12. Arboleda-Velasquez, J.F. C455R notch3 mutation in a Colombian CADASIL kindred with early onset of stroke / Arboleda-Velasquez J.F., Lopera F., Lopez E. et al. // *Neurology*.-2002. – Vol.59.- P.277–279.
13. Arima, K. Cerebral arterial pathology of CADASIL and CARASIL (Maeda syndrome) / Arima K., Yanagawa S., Ito N. et al. // *Neuropathology*.-2003. Vol.23, №4.- P. 327-334.
14. Ashley, C.T. Jr. FMR1 protein: conserved RNP family domains and selective RNA binding / Ashley C.T. Jr, Wilkinson K.D., Reines D, et al. // *Science*. - 1993.- Vol.262.- P.563-566.
15. Auer, D.P. Differential lesion patterns in CADASIL and sporadic subcortical arteriosclerotic encephalopathy: MR imaging study with statistical parametric group comparison / Auer D.P., Putz B., Gossel C. et al. // *Radiology*.-2001.- Vol.218.- P.443–451.
16. Axelsson, R. Hereditary diffuse leucoencephalopathy with spheroids / Axelsson R., Røyttä M., Sourander P., et al. // *Acta Psychiatr Scand Suppl*.-1984. – Vol.314.- P.1-65.
17. Baba, Y. Hereditary diffuse leucoencephalopathy with spheroids:

clinical, pathologic and genetic studies of a new kindred / Baba Y., Ghetti B., Baker M.C., et al. // *Acta Neuropathol (Berl)*.-2016. – Vol.11.-P.300–311.

18. Belin de Chantemèle, E.J. Notch3 is a major regulator of vascular tone in cerebral and tail resistance arteries / Belin de Chantemèle E.J., Retailliau K., Pinaud F. et al. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.-2008.- Vol. 28.- P. 2216–2224.

19. Bell, M.V. Physical mapping across the fragile X: Hypermethylation and clinical expression of the fragile X syndrome / Bell M.V., Hirst M.C., Nakahori Y. et al. // *Cell*.-1991. –Vol. 64.- P. 861-866.

20. Berry-Kravis, E. Tremor and ataxia in fragile X premutation carriers: blinded videotape study / Berry-Kravis E., Lewin F., Wu J. et al. // *Ann Neurol*.-2003.- Vol.53, №5.- P.616-623.

21. Bianchi, S. High frequency of exon 10 mutations in the NOTCH3 gene in Italian CADASIL families: phenotypic peculiarities / Bianchi S., Rufa A., Ragno M. et al. // *J Neurol*.-2010. – Vol.257.- P. 1039–1042.

22. Bianchi S. CADASIL in central Italy: a retrospective clinical and genetic study in 229 patients / Bianchi S., Zicari E., Carluccio A. et al. // *J Neurol*.-2015.- Vol.262.- P.134–141.

23. Bruening, R. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: decrease in regional cerebral blood volume in hyperintense subcortical lesions inversely correlates with disability and cognitive performance / Bruening R., Dichgans M., Berchtenbreiter C. et al. // *AJNR Am J Neuroradiol*.-2001. – Vol.22.- P. 1268–1274.

24. Brunberg, J.A. Fragile X premutation carriers: characteristic MR imaging findings of adult male patients with progressive cerebellar and cognitive dysfunction/ Brunberg J.A., Jacquemont S., Hagerman R.J., et al. // *AJNR Am J Neuroradiol*.-2002.- Vol.23, №10.- P. 1757-1766.

25. Brussino,A. FMR1 gene premutation is a frequent genetic cause of late-onset sporadic cerebellar ataxia / Brussino A., Gellera C., Saluto A. et al. // *Neurology*. – 2005. – Vol.64.- P.145–147.

26. Chabriat, H. Brain stem MRI signal abnormalities in CADASIL/ Chabriat H., Mrissa R., Levy C. et al. // *Stroke*.-1999. –Vol.30.- P. 457–459.
27. Chabriat, H. Cerebral hemodynamics in CADASIL before and after acetazolamide challenge assessed with MRI bolus tracking/ Chabriat H., Pappata S., Ostergaard L. et al. // *Stroke*.-2000. – Vol.31.- P.1904–1912.
28. Chabriat, H. Clinical spectrum of CADASIL: a study of 7 families. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy / Chabriat H., Vahedi K., Iba-Zizen M.T. et al. // *Lancet*.-1995. – Vol. 346.- P.934–939.
29. Choi, J. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: a genetic cause of cerebral small vessel disease/ Choi J. // *J Clin. Neurol*.-2010. –Vol.6.- P.1-9.
30. Coffey, S.M. Expanded clinical phenotype of women with the FMR1 premutation/ Coffey S.M., Cook K., Tartaglia N., et al. // *Am J Med Genet A*.-2008. –Vol.146A, №8.- P.1009-1016.
31. Cognat, E. Archetypal Arg169Cys mutation in NOTCH3 does not drive the pathogenesis in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy via a loss-of-function mechanism/ Cognat E., Baron-Menguy C., Domenga-Denier V. et al. // *Stroke*.-2014a.-Vol.45.- P.842–849.
32. Cronister, A. Heterozygous fragile X female: historical, physical, cognitive, and cytogenetic features / Cronister A., Schreiner R., Wittenberger M. et al. // *Am J Med Genet*.-1991. –Vol.38, №2-3.- P. 269-274.
33. Cumurciuc, R. Dilation of Virchow-Robin spaces in CADASIL / Cumurciuc R., Guichard J.P., Reizine D. et al. // *Eur J Neurol*.-2006a. – Vol.13.- P. 187–190.
34. Del Río-Espínola, A. CADASIL management or what to do when there is little one can do / Del Río-Espínola A., Mendióroz M., Domingues-Montanari S. et al. // *Expert Rev Neurother*.-2009. – Vol.9.-P. 197–210.
35. Desmond, D.W. The natural history of CADASIL: a pooled analysis of

previously published cases / Desmond D.W., Moroney J.T., Lynch T. et al. // *Stroke*.-1999.- Vol.30.- P.1230–1233.

36. Di Donato, I. Update on Several/Certain Adult-Onset Genetic Leukoencephalopathies: Clinical Signs and Molecular Confirmation / Di Donato I., Dotti M.T., Federico A. // *J Alzheimers Dis*.-2014. – Vol.42 Suppl 3.-P. S27-35.

37. Dichgans, M. Cognition in CADASIL / Dichgans M. // *Stroke*.-2009.- Vol.40.-S. P. 45–47.

38. Dichgans, M. Quantitative MRI in CADASIL: correlation with disability and cognitive performance / Dichgans M., Filippi M., Bruning R. et al. // *Neurology*.-1999.- Vol.52.- P. 1361–1367.

39. Dichgans, M. NOTCH3 mutation involving three cysteine residues in a family with typical CADASIL / Dichgans M., Herzog J., Gasser T.// *Neurology*.-2001.- Vol.57.- P.1714–1717.

40. Dichgans, M. Cerebral microbleeds in CADASIL: a gradient-echo magnetic resonance imaging and autopsy study / Dichgans M., Holtmannspotter M., Herzog J. et al. // *Stroke*.-2002. – Vol.33.- P.67–71.

41. Dichgans, M. The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases/ Dichgans M., Mayer M., Uttner I. et al. // *Ann Neurol*.-1998.- Vol.44.- P.731–739.

42. Domenga, V. Notch3 is required for arterial identity and maturation of vascular smooth muscle cells / Domenga V., Fardoux P., Lacombe P. et al. // *Genes Dev*.-2004. –Vol. 18.- P. 2730–2735.

43. Dong, Y. Yield of screening for CADASIL mutations in lacunar stroke and leukoaraiosis / Dong Y., Hassan A., Zhang Z. et al. // *Stroke*.-2003.- Vol.34.- P. 203-205.

44. Ebke, M. CADASIL: skin biopsy allows diagnosis in early stages/ Ebke M., Dichgans M., Bergmann M. et al. // *Acta Neurol Scand*.-1997. – Vol.95.- P. 351–357.

45. Eichler, E.E. Fine structure of the human FMR1 gene / Eichler

E.E., Richards S., Gibbs R.A. et al. // *Hum Mol Genet.*-1993. –Vol.2, №8.- P.1147-1153.

46. Elmore, M.R. Colony-stimulating factor 1 receptor signaling is necessary for microglia viability, unmasking a microglia progenitor cell in the adult brain / Elmore MR, Najafi AR, Koike MA., et al. // *Neuron.*-2014.- Vol.82, №2.- P.380-397.

47. Federico, A. The spectrum of mutations for CADASIL diagnosis / Federico A., Bianchi S., Dotti M.T. // *Neurol Sci.*-2005.- Vol.26.- P.117–124.

48. Feng, Y. Fragile X mental retardation protein: Nucleocytoplasmic shuttling and association with somatodendritic ribosomes / Feng Y., Gutekunst C.A., Eberhart D.E. et al. // *J. Neurosci.*-1997. – Vol.17.- P. 1539–1547.

49. Feuerhake, F. Reversible coma with raised intracranial pressure: an unusual clinical manifestation of CADASIL / Feuerhake F., Volk B., Ostertag C.B. et al. // *Acta Neuropathol (Berl).*-2002. –Vol.103.- P.188–192.

50. Finsterer, J. Ataxias with autosomal, X-chromosomal or maternal inheritance / Finsterer J. // *Can J Neurol Sci.*-2009. –Vol.36.- P. 409–428.

51. Fu, Y.H. Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox / Fu Y.H., Kuhl D.P., Pizzuti A. et al. // *Cell.*-1991. –Vol.67, 36.- P.1047-1058.

52. Fujioka, S. An adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia accompanied by brain calcifications: a case report and a literature review of brain calcifications disorders/ Fujioka S., Broderich D., Sundal C., et al. // *J Neurol.*-2013. – Vol.260, №10.- P. 2665–2668.

53. Furby, A. Differential diagnosis of a vascular leukoencephalopathy within a CADASIL family: use of skin biopsy electron microscopy study and direct genotypic screening/ Furby A., Vahedi K., Force M., et al. // *J Neurol.*-1998. – Vol.245, №11.- P. 734-740.

54. Freeman, S.H. Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids: clinical, neuroimaging and neuropathologic observations/ Freeman S.H., Hyman

B.T., Sims K.B., et al. // *Brain Pathol.*-2009. –Vol.19.- P. 39–47.

55. Gillberg, C. *Clinical Child Neuropsychiatry/ Gillberg, C. Cambridge University Press. Halaman.-1995.P.203- 208.*

56. Goebel, H.H. Characteristic morphologic manifestation of CADASIL, cerebral autosomal- dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, in skeletal muscle and skin/ Goebel H.H., Meyermann R., Rosin R., et al. // *Muscle Nerve.*-1997.- Vol.20.- P. 625–627.

57. Granberg, I. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids—a volumetric and radiological comparison with multiple sclerosis patients and healthy controls/ Granberg I., Hashim F., Andersen O., et al. // *Eur J Neurol.*-2016. – Vol.23, №4.-P. 817–822.

58. Greco, C.M. Neuropathology of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS)/ Greco C.M., Berman R.F., Martin R.M., et al. // *Brain.*-2006.- Vol.129.-P. 243-255.

59. Greco, C.M. Neuronal intranuclear inclusions in a new cerebellar tremor/ataxia syndrome among fragile X carriers/ Greco C.M., Hagerman R.J., Tassone F., et al. // *Brain.*-2002. – Vol.125.- P.1760-1771.

60. Guerreiro, R. Genetic analysis of inherited leukodystrophies: genotype-phenotype correlations in the CSF1R gene/ Guerreiro R. Kara E., Le Ber I., et al. // *JAMA Neurol.*-2013. – Vol.70, №7.- P. 875-882.

61. Guerrot, D. Nephroangiosclerosis in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: is NOTCH3 mutation the common culprit?/ Guerrot D., François A., Boffa J.J., et al.// *Am J Kidney Dis.*-2008. – Vol.52.- P.340–345.

62. Gunda, B. Effects of gender on the phenotype of CADASIL/ Gunda B., Herve D., Godin O., et al. // *Stroke.*-2012.- Vol.43.- P.137-141.

63. Haan, J. Epilepsy in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy/ Haan J., Lesnik Oberstein S.A., Ferrari M.D. // *Cerebrovasc Dis.*-2007. – Vol.24.- P.316–317.

64. Hagerman, R.J. Neuropathy as a presenting feature in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome/ Hagerman R.J., Coffey S.M., Maselli R., et al. // *Am J Med Genet A*.-2007. – Vol.143A.- P.2256–2260.
65. Hamilton, J.A. CSF-1 signal transduction/ Hamilton J.A. // *J Leukoc Biol*.-1997.- Vol.62, №2.- P.145-155.
66. Hessler, D. Abnormal elevation of FMR1 mRNA is associated with psychological symptoms in individuals with the fragile X permutation / Hessler D., Tassone F., Loesch D.Z., et al. // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*.-2005. – Vol.139.- P. 115–121.
67. Hinds, H.L. Tissue specific expression of FMR-1 provides evidence for a functional role in fragile X syndrome/ Hinds H.L., Ashley C.T., Sutcliffe J.S., et al. // *Nat Genet*.-1993. –Vol.3, №1.- P. 36-43.
68. Illarioshkin, S.N. Refined genetic location of the chromosome 2p-linked progressive muscular dystrophy gene / Illarioshkin S.N., Tanaka H., Tsuji S., et al. // *Genomics*. - 1997. - Vol. 42, № 2. - P. 345-348.
69. Isohanni, P. DARS2 mutations in mitochondrial leukoencephalopathy and multiple sclerosis/ Isohanni P., Linnankivi T., Buzkova., et al. // *J Med Genet*.-2010. – Vol.47.- P.66–70.
70. Iwahashi, C.K. Protein composition of the intranuclear inclusions of FXTAS/ Iwahashi C.K., Yasui D.H., An H.J., et al. // *Brain*.-2006. –Vol.129.- P. 256-271.
71. Jacquemont, S. Spastic paraparesis, cerebellar ataxia, and intention tremor: a severe variant of FXTAS?/ Jacquemont S, Orrico A., Galli L., et al.// *J Med Genet*.-2005. – Vol.42.-e14.
72. Jacquemont, S. Fragile X premutation tremor/ataxia syndrome: molecular, clinical, and neuroimaging correlates/ Jacquemont S., Hagerman R.J., Leehey M., et al. // *Am J Hum Genet*.-2003. –Vol.72, №4.-P. 869-878.
73. Jacquemont, S. Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in a premutation carrier population/ Jacquemont S., Hagerman R.J.,

Leehey M.A., et al. // JAMA.-2004. –Vol.291, №4.- P. 460-469.

74. Jacquemont, S. Size bias of fragile X premutation alleles in late-onset movement disorders/ Jacquemont S., Leehey M.A., Hagerman R.J., et al. // J Med Genet.-2006. –Vol.43, №10.- P.804-809.

75. Jacquemont, S. Aging in Individuals with the FMR1 Mutation/ Jacquemont S., Farzin F., Hall D., et al. // Am J Ment Retard.-2004. – Vol.109, №2.- P.154-164.

76. Joutel, A. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia/ Joutel A., Corpechot C., Ducros A., et al. // Nature.-1996.- Vol.383.-P. 707–710.

77. Joutel, A. Skin biopsy immunostaining with a Notch3 monoclonal antibody for CADASIL diagnosis/ Joutel A., Favrole P., Labauge P., et al. // Lancet.-2001.- Vol.358.- P.2049–2051.

78. Joutel, A. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients/ Joutel A., Vahedi K., Corpechot C., et al. // Lancet.-1997. – Vol.350.-P.1511–1515.

79. Kalimo, H. CADASIL: a common form of hereditary arteriopathy causing brain infarcts and dementia/ Kalimo H., Ruchoux M.M., Viitanen M., et al. // Brain Pathol.-2002.- Vol.12.- P.371–84.

80. Kamm, C. The fragile X tremor ataxia syndrome in the differential diagnosis of multiple system atrophy: data from the EMSA Study Group/ Kamm C., Healy D.G., Quinn N.P., et al. // Brain.-2005.- Vol.128.-P.1855–1860.

81. Karle, K.N. De novo mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids (HDLS)/ Karle K.N., Biskup S., Schüle R., et al. // Neurology.-2013.- Vol.81.- P. 2039–2044.

82. Kassem, H. Leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and lactate elevation (LBSL): assessment of the involved white matter tracts by MRI/ Kassem H., Wafaie A., Abdelfattah S., et al.// Eur J Radiol.-2014.- Vol.83, №1.- P. 191-196.

83. Kenneso, A. Reduced FMRP and increased FMR1 transcription is proportionally associated with CGG repeat number in intermediate-length and premutation carriers/ Kenneson A., Zhang F., Hagedorn C.H., et al. // *Hum Mol Genet.*-2001.- Vol.10.- P.1449–1454.

84. Kohlschütter A., Bley A., Brockmann K., et al. A diagnostic checklist of leukodystrophies and other genetic metabolic leukoencephalopathies/ Kohlschütter A., Bley A., Brockmann K., et al. // *Brain Dev.*-2010.- Vol.32, №1.- P.82-89.

85. Konno, T. Haploinsufficiency of CSF-1R and clinicopathologic characterization in patients with HDLS/ Konno T., Tada M., Koyama A., et al. // *Neurology.*-2014.- Vol.82.-P.139–148.

86. Konno, T. Clinical and genetic characterization of adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia associated with CSF1R mutation/ Konno T., Yoshida K., Mizuno T., et al. // *Eur J Neurol.*-2017.- Vol.24,№1.- P.37-45.

87. Koutroulou, I. CADASIL presenting with spontaneous intracerebral hemorrhage: report of a case and description of the first family in Northern Greece / Koutroulou I., Karapanayiotides T., Grigoriadis N., et al. // *Hippokratia.* - 2016. - Vol.20, №1. - P.76-79.

88. Labauge, P. Familial, adult onset form of leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement: inconstant high brain lactate and very slow disease progression/ Labauge P., Rouillet E., Boespflug-Tanguy O., et al. // *Eur Neurol.*-2007.- Vol.58.- P. 59–61.

89. Leehey, M.A. FMR1 CGG repeat length predicts motor dysfunction in premutation carriers/ Leehey M.A., Berry-Kravis E., Goetz C.G., et al. // *Neurology.*-2008.- Vol.70(16 Pt 2).- P.1397-1402.

90. Lesnik Oberstein, S.A. Myocardial infarction in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)/ Lesnik Oberstein S.A., Jukema J.W., Van Duinen S.G., et al.

// *Medicine (Baltimore)*.-2003.- Vol.82.- P.251–256.

91. Lesnik Oberstein, S.A. Cerebral microbleeds in CADASIL/ Lesnik Oberstein S.A., van den Boom R., van Buchem M.A., et al. // *Neurology*.-2001.- Vol.57.- P.1066–1070.

92. Levin, J. Diffuse leukoencephalopathy with spheroids: biopsy findings and a novel mutation/ Levin J., Tiedt S., Arzberger T., et al. // *Clin Neurol Neurosurg*.-2014.- Vol.122.-P. 113–115.

93. Leyhe, T. CADASIL: underdiagnosed in psychiatric patients?/ Leyhe T., Wiendl H., Buchkremer G., et al. // *Acta Psychiatr Scand*.-2005.-Vol.111.- P.392–396.

94. Lian, L. Spontaneous intracerebral hemorrhage in CADASIL / Lian L., Li D., Liang Q., et al. // *J Headache Pain*. - 2013. - 14. - P. 98.

95. Liem, M.K. Homozygosity for a NOTCH3 mutation in a 65-year-old CADASIL patient with mild symptoms: a family report/ Liem M.K., Lesnik Oberstein S.A., Vollebregt M.J., et al.// *J Neurol*.-2008b. – Vol.255.- P. 1978–1980.

96. Lin, W.L. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids: ultrastructural and immunoelectron microscopic studies/ Lin W.L., Wszolek Z.K., Dickson D.W. // *Int J Clin Exp Pathol*.-2010.- Vol.3,№7.-P. 665-674.

97. Linnankivi, T. Five new cases of a recently described leukoencephalopathy with high brain lactate/ Linnankivi T., Lundbom N., Autti T., et al.// *Neurology*.-2004.- Vol.63.- P. 688–692.

98. Locatelli, E.R. MRI in vitamin B12 deficiency myelopathy/ Locatelli E.R., Laurenco R., Ballard P., et al.// *Can J Neurol Sci*.-1999.- Vol.26.- P. 60–63.

99. Lynch, D.S. Hereditary leukoencephalopathy with axonal spheroids: a spectrum of phenotypes from CNS vasculitis to parkinsonism in an adult onset leukodystrophy series/ Lynch D.S., Jaunmuktane Z., Sheerin U.M., et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.-2016.- Vol.87, №5.- P. 512–519.

100. Macpherson, J. Observation of an excess of fragile-X premutations in a population of males referred with spinocerebellar ataxia/ Macpherson J., Waghorn

A., Hammans S., et al. // *Hum Genet.*-2003.- Vol.112.- P. 619–620.

101. Malandrini, A. Diagnostic value of ultrastructural skin biopsy studies in CADASIL/ Malandrini A., Gaudio C., Gambelli S., et al. // *Neurology.*-2007.- Vol.68.- P. 1430–1432.

102. Markus, H.S. Diagnostic strategies in CADASIL/ Markus H.S., Martin R.J., Simpson M.A., et al. // *Neurology.*-2002.- Vol.59.- P. 1134–1138.

103. Martinez-Saez, E. Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids and demyelinating plaque-like lesions/ Martinez-Saez E., Shah S., Costa C., et al. // *Neuropathol.*-2012.- Vol.32.- P.285–292.

104. Mateen, F.J. Sporadic leucodystrophy with neuroaxonal spheroids: persistence of DWI changes and neurocognitive profiles: a case study/ Mateen F.J., Keegan B.M., Krecke K., et al.// *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*-2010.- Vol.81.- P. 619–622.

105. McConkie-Rosell, A. Evidence that methylation of the FMR-I locus is responsible for variable phenotypic expression of the fragile X syndrome/ McConkie-Rosell A., Lachiewicz A.M., Spiridigliozzi G.A., et al.// *Am J Hum Genet.*- 1993.- Vol.53, №4.- P.800-809.

106. Mitrasinovic, O.M. Microglia overexpressing the macrophage colony-stimulating factor receptor are neuroprotective in a microglial-hippocampal organotypic coculture system / Mitrasinovic O.M., Grattan A., Robinson C.C., et al.// *J. Neurosci.*-2005.- Vol.25, №17.- P. 4442–4451.

107. Miyake, N. A novel homozygous mutation of DARS2 may cause a severe LBSL variant/ Miyake N., Yamashita S., Kurosawa K., et al. // *Clin. Genet.*-2011.- Vol.80.- P.293–296.

108. Miyakis, S. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)/ Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., et al. // *J Thromb Haemost.*-2006.- Vol.4.-295e 306.

109. Monet-Leprêtre, M. Abnormal recruitment of extracellular matrix proteins by excess Notch3 ECD: a new pathomechanism in CADASIL/ Monet-

Leprêtre M., Haddad I., Baron-Menguy C., et al. // *Brain*.-2013.- Vol.136.- P. 1830–1845.

110. Moore, S.A. Leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement (and high lactate): raising the bar for diagnosis / Moore SA, Kumar N, Gavrilova RH. // *J Neurol*.-2012.- Vol.259, №11.- P.2494-2497.

111. Morroni, M. Role of electron microscopy in the diagnosis of cadasil syndrome: a study of 32 patients/ Moore SA, Kumar N, Gavrilova RH. // *PLoS One*.-2013.- Vol.8.-e65482.

112. Mykkänen, K. Detection of the founder effect in Finnish CADASIL families/ Mykkänen K., Savontaus M.L., Juvonen V., et al. // *Eur J Hum Genet*.-2004.- Vol.12.- P. 813–819.

113. Nakamura, T. CADASIL with NOTCH3 S180C presenting anticipation of onset age and hallucinations / Nakamura T., Watanabe H., Hirayama M., et al. // *J Neurol Sci*.-2005.- Vol.238.- P.87–91.

114. Narayan, S.K. The minimum prevalence of CADASIL in northeast England/ Narayan S.K., Gorman G., Kalaria R.N., et al. // *Neurology*.-2012.- Vol.78.- P.1025–1027.

115. O’Riordan, S. CADASIL imitating multiple sclerosis: the importance of MRI markers/ O’Riordan S., Nor A., Hutchinson M. // *Multiple Sclerosis*.-2002.- Vol.8.- P. 430 – 432.

116. Oberstein, S.A. Diagnostic Notch3 sequence analysis in CADASIL: three new mutations in Dutch patients/ Oberstein S.A., Ferrari M.D., Bakker E., et al. // *Neurology*.-1999.- Vol.52.- P.1913–1915.

117. Oberstein, S.A.J. Diagnostic strategies in CADASIL/ Oberstein S.A.J. // *Neurology*.-2003.- Vol.60.- P. 2020.

118. Opherk, C. Long-term prognosis and causes of death in CADASIL: a retrospective study in 411 patients/ Opherk C., Peters N., Herzog J., et al. // *Brain*.-2004.- Vol.127.- P.2533–2539.

119. O’Sullivan, M. MRI hyperintensities of the temporal lobe and external

capsule in patients with CADASIL/ O'Sullivan M., Jarosz J.M., Martin R.J., et al. // *Neurology*.-2001.- Vol.56.- P.628–634.

120. Pandey, T. Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy: An Imaging Mimic of Multiple Sclerosis/Pandey T., Abubacker S. // *Med Princ Pract*.-2006.- Vol.15.- P. 391–395.

121. Park, S. Case report: bipolar disorder as the first manifestation of CADASIL/ Park S., Park B., Koh M.K., et al. // *BMC Psychiatry*.-2014.- Vol.14.- 175.

122. Peters, N. Intrafamilial variability in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome/ Peters N., Kamm C., Asmus F., et al. // *Mov Disord*.-2006.- Vol.21, №1.- P. 98-102.

123. Peters, N. Spectrum of mutations in biopsy-proven CADASIL: implications for diagnostic strategies/ Peters N., Opherk C., Bergmann T., et al. // *Arch Neurol*.-2005a.- Vol.62.- P. 1091–1094.

124. Peters, N. The pattern of cognitive performance in CADASIL: a monogenic condition leading to subcortical ischemic vascular dementia/ Peters N., Opherk C., Danek A., et al. // *Am J Psychiatry*.-c2005b.- Vol.162.- P. 2078–2085.

125. Petri, M. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus/ Petri M., Orbai A.M., Alacron G.S. // *Arthritis Rheum*.-2012.-Vol.64, №8.-P.2677-2686.

126. Petzold, G.C. Adult onset leucoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and normal lactate/ Petzold G.C., Bohner G., Klingebiel R., et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.-2006.- Vol.77.- P. 889–891.

127. Pfefferkorn, T. Reduced cerebrovascular CO(2) reactivity in CADASIL: A transcranial Doppler sonography study/ Pfefferkorn T., von Stuckrad-Barre S., Herzog J., et al.// *Stroke*.-2001.- Vol.32.- P.17–21.

128. Piccirillo, G. Increased QT variability in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy/ Piccirillo G., Magrì D., Mitra M., et al. // *Eur J Neurol*.-2008.- Vol.15.- P. 1216–1221.

129. Pieretti, M. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome/ Pieretti M., Zhang F.P., Fu Y.H., et al. // *Cell*.-1991.- Vol.66, №4.-P. 817-822.
130. Pixley, F.J. CSF-1 regulation of the wandering macrophage: complexity in action/ Pixley F.J., Stanley E.R. // *Trends Cell Biol*.-2004.- Vol.14, №11.- P. 628-638.
131. Pridans, C. CSF1R mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids are loss of function/ Pridans C., Sauter K.A., Baer K., et al. // *Sci Rep*.-2013.- Vol.22, №3.-P. 3013.
132. Primerano, B. Reduced FMR1 mRNA translation efficiency in fragile X patients with premutations/ Primerano B., Tassone F., Hagerman R.J., et al.// *RNA*.-2002.- Vol.8, №12.- P. 1482-1488.
133. Rademakers, R. Mutations in the colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) cause hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids/ Rademakers R., Baker M., Nicholson A. M., et al.// *Nat Genet*.- 2012.- Vol.44, №2.- P. 200-205.
134. Ragno, M. Parkinsonism is a late, not rare, feature of CADASIL: a study on Italian patients carrying the R1006C mutation/ Ragno M., Berbellini A., Cacchiò G., et al. // *Stroke*.-2013.- Vol.44.- P.1147–1149.
135. Ragno, M. Renal involvement in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL): report of a case with a six-year follow-up/ Ragno M., Trojano L., Pianese L., et al. // *Histol Histopathol*.-2012.- Vol.27.- P.1307–1314.
136. Razvi, S. Is inadequate family history a barrier to diagnosis in CADASIL?/ Razvi S., Davidson R., Bone I., et al. // *Acta Neurol. Scand*.-2005.- Vol.112.-P. 323-326.
137. Razvi, S.S. The prevalence of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in the west of Scotland/ Razvi S.S., Davidson R., Bone I., et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.- 2005b.- Vol.76.- P.739–741.

138. Ruby, K. Abnormal neuronal morphology and neurochemistry in the auditory brainstem of Fmr1 knockout rats/ Ruby K., Falvey K., Kulesza R.J. // *Neuroscience*.-2015.- Vol.303.- P. 285-298.
139. Ruchoux, M.M. Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy / Ruchoux M.M., Guerouaou D., Vandenhoute B., et al. // *Acta Neuropathol*.-1995.- Vol.89.- P.500–512.
140. Ruchoux, M.M. CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy/ Ruchoux M.M., Maurage C.A. // *J Neuropathol Exp Neurol*.-1997.- Vol.56.- P. 947–964.
141. Rufa, A. Cardiac autonomic nervous system and risk of arrhythmias in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)/ Rufa A., Guideri F., Acampa M., et al. // *Stroke*.-2007.- Vol.38.- P.276–280.
142. Rutten, J.W. Hypomorphic NOTCH3 alleles do not cause CADASIL in humans/ Rutten J.W., Boon E.M., Liem M.K., et al. // *Hum Mutat*.-2013.- Vol.34.- P.1486–1489.
143. Rutten, J.W. Interpretation of NOTCH3 mutations in the diagnosis of CADASIL/ Rutten J.W., Haan J., Terwindt G.M., et al. // *Expert Rev Mol Diagn*.-2014.- Vol.14.- P. 593–603.
144. Salsano, E. Leukodystrophy or genetic leukoencephalopathy? Nature does not make leaps/Salsano E. // *Mol Genet Metab*.-2015.- Vol.114, №4.- P. 491-493.
145. Sauter, C. Neurodegenerative disease associated mutants of a human mitochondrial aminoacyl-tRNA synthetase present individual molecular signatures/ Sauter C., Lorber B., Gaudry A., et al. // *Sci Rep*.-2015.- Vol.5.- P. 17332.
146. Scheper, G.C. Mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase deficiency causes leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation/ Scheper G.C., van der Klok T., van Andel R.J., et al. // *Nat*

Genet.-2007.- Vol.39.- P. 534–539.

147. Schon, F. "CADASIL coma": an underdiagnosed acute encephalopathy/ Schon F., Martin R.J., Prevett M., et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.-2003.- Vol.74.- P.249–252.

148. Schröder, J.M. Peripheral nerve and skeletal muscle involvement in CADASIL/ Schröder J.M., Zuchner S., Dichgans M., et al. // *Acta Neuropathol (Berl)*.-2005.- Vol.110.- P.587–599.

149. Schubert, M. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids: a microgliopathy due to CSF1 receptor impairment/ Schubert M., Levin J., Sawalhe D., et al. // *Nervenarzt*.-2014.- Vol.85.- P. 465–470.

150. Seritan, A.L. Dementia in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS): comparison with Alzheimer's disease / Seritan A.L., Nguyen D.V., Farias S.T. // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*.-2008.- Vol.147B(7).- P. 1138-1144.

151. Serkov, S.V. Five patients with a recently described novel leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and elevated lactate / Serkov S.V., Pronin I.N., Bykova O.V., et al. // *Neuropediatrics*.-2004.- Vol.35.- P.1–5.

152. Sherman, S.L. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome / Sherman S.L. // *Am J Med Genet*.-2000.- Vol.97.- P.189–194.

153. Sicurelli, F. Peripheral neuropathy in CADASIL / Sicurelli F., Dotti M.T., De Stefano N., et al. // *J Neurol*.-2005.- Vol.252.- P.1206–1209.

154. Singhal, S. The influence of genetic and cardiovascular risk factors on the CADASIL phenotype / Singhal S., Bevan S., Barrick T., et al. // *Brain*.-2004.- Vol.127.- P. 2031–2038.

155. Smith, E. Vascular Cognitive Impairment / Smith E. // *Continuum (Minneapolis)*.-2016.- Vol.22, №2.- P. 490–509.

156. Soares, M.J. CSF1R copy number changes, point mutations, and RNA and protein overexpression in renal cell carcinomas / Soares M.J., Pinto M.,

Henrique R., et al. // *Mod Pathol.*-2009.- Vol.22, №6.- P. 744-752.

157. Soong, B.W. A homozygous NOTCH3 mutation p.R544C and a heterozygous TREX1 variant p.C99MfsX3 in a family with hereditary small vessel disease of the brain / Soong B.W., Liao Y.C., Tu P.H., et al. // *J Chin Med Assoc.*-2013.- Vol.76.- P.319–324.

158. Stabile, C. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids (HDLS): update on molecular genetics / Stabile C., Taglia I., Battisti C., et al. // *Neurol Sci.*-2016.- Vol.37, №9.-P. 1565-1569.

159. Stanley, E.R. Biology and action of colony--stimulating factor-1 / Stanley E.R., Berg K.L., Einstein D.B., et al. // *Mol Reprod Dev.*-1997.- Vol.46, №1.- P. 4-10.

160. Steenweg, M.E. Leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate: quantitative magnetic resonance imaging / Stanley E.R., Berg K.L., Einstein D.B., et al. // *Brain.*-2011.- Vol.134.- P. 3333–3341.

161. Steenweg, M.E. Early-onset LBSL: how severe does it get?/ Steenweg M.E., van Berge L., van Berkel C.G., et al. // *Neuropediatrics.*-2012.- Vol.43.- P. 332–338.

162. Storey, E. Increased T2 signal in the middle cerebellar peduncles on MRI is not specific for fragile X premutation syndrome /Storey E., Billimoria P.// *J Clin Neurosci.*-2005.- Vol.12, №1.- P. 42-43.

163. Sulkowski G.M. Oculomotor abnormalities in a patient with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome / Sulkowski G.M., Kaufman L.M. // *J Aapos.*-2008.- Vol.12.- P.195–196.

164. Sullivan, S.D. FMR1 and the continuum of primary ovarian insufficiency / Sullivan S.D., Welt C., Sherman S. // *Semin Reprod Med.*-2011.- Vol.29.- P. 299–307.

165. Sundal, C. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids with phenotype of primary progressive multiple sclerosis / Sundal C., Baker M., Karrenbauer V., et al. // *Eur J Neurol.*-2015.- Vol.22.-P. 328–333.

166. Sutcliffe, J.S. DNA methylation represses FMR-1 transcription in fragile X syndrome / Sutcliffe J.S., Nelson D.L., Zhang F., et al. // *Hum Mol Genet.*-1992.- Vol.1, №6.- P. 397-400.
167. Synofzik, M. Acetazolamide-responsive exercise-induced episodic ataxia associated with a novel homozygous DARS2 mutation / Synofzik M., Schicks J., Lindig T., et al. // *J Med Genet.*-2011.- Vol.48, №10.- P. 713-715.
168. Tamimi, R.M. Circulating colony stimulating factor-1 and breast cancer risk / Tamimi R.M., Brugge J.S., Freedman M.L., et al. // *Cancer Res.*-2008.- Vol.68, №1.-P.18–21.
169. Tassone, F. CGG repeat length correlates with age of onset of motor signs of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) / Tassone F., Adams J., Berry-Kravis E.M., et al. // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*-2007.- Vol.144B(4).- P. 566-569.
170. Tassone, F. Expression of the FMR1 gene / Tassone F., Hagerman P.J. // *Cytogenet Genome Res.*-2003.- Vol.100(1-4).- P.124-128.
171. Tassone, F. Elevated levels of FMR1 mRNA in carrier males: a new mechanism of involvement in the fragile-X syndrome / Tassone F., Hagerman R.J., Taylor A.K., et al. // *Am J Hum Genet.*-2000.- Tassone F., Hagerman R.J., Taylor A.K., et al. Vol.66, №1.- P.6-15.
172. Tassone, F. Neuropathological, clinical and molecular pathology in female fragile X premutation carriers with and without FXTAS / Tassone F., Greco C.M., Hunsaker M.R., et al.// *Genes Brain Behav.*-2012.- Vol.11, №5.- P. 577-585.
173. Távora, D.G. Leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high brain lactate: report of three Brazilian patients / Távora D.G., Nakayama M., Gama R.L., et al.// *Arq Neuropsiquiatr.*-2007.-Vol.65.- P.506–511.
174. Tikka, S. Congruence between NOTCH3 mutations and GOM in 131 CADASIL patients / Tikka S., Mykkanen K., Ruchoux M.M., et al. // *Brain.*-2009.- Vol.132.- P. 933–939.
175. Trojano, M. The differential diagnosis of multiple sclerosis:

classification and clinical features of relapsing and progressive neurological syndromes / Trojano M., Paolicelli D. // *Neurol. Sci.*-2001.-Vol.22.-P. 98–102.

176. Tuominen, S. Phenotype of a homozygous CADASIL patient in comparison to 9 age-matched heterozygous patients with the same R133C Notch3 mutation / Tuominen S., Juvonen V., Amberla K., et al.// *Stroke.*-2001.- Vol.32.- P.1767–1774.

177. Tuominen, S. Positron emission tomography examination of cerebral blood flow and glucose metabolism in young CADASIL patients / Tuominen S., Miao Q., Kurki T., et al. // *Stroke.*-2004.- Vol.35.- P. 1063–1067.

178. Uluc, K. Leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and high lactate: a genetically proven case with distinct MRI findings / Uluc K., Baskan O., Yildirim K.A., et al.// *J Neurol Sci.*-2008.- Vol.273.- P. 118–122.

179. Van Berge, L. Leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and lactate elevation: clinical and genetic characterization and target for therapy / Van Berge L., Hamilton E.M., Linnankivi T., et al. // *Brain.*-2014.- Vol.137.- P.1019-1029.

180. Van Berge, L. Leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation is associated with cell-type-dependent splicing of mtAspRS mRNA / Van Berge L., Dooves S., van Berkel C.G. et al.// *Biochem. J.*-2012.- Vol.441.- P.955–962.

181. Van Den Boom, R. Cerebral hemodynamics and white matter hyperintensities in CADASIL / Van Den Boom R., Lesnik Oberstein S.A., Spilt A., et al.// *J Cereb Blood Flow Metab.*-2003.- Vol.23.- P. 599–604.

182. Van Den Boom, R. Subcortical lacunar lesions: an MR imaging finding in patients with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy / Van Den Boom R., Lesnik Oberstein S.A., van Duinen S.G., et al.// *Radiology.*-2002.- Vol.224.- P.791–796.

183. Van der Knaap, M.S. Leukoencephalopathy with Brain Stem and

Spinal Cord Involvement and Lactate Elevation / Van der Knaap M.S., Salomons G.S. // Gene Reviews.

184. Van der Knaap, M.S. Magnetic Resonance of Myelin Myelination and Myelin Disorders / Van der Knaap M.S., Valk J. // 3 ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 2005.

185. Van der Knaap, M.S. A New Leukoencephalopathy with Brainstem and Spinal Cord Involvement and High Lactate / Van der Knaap M.S., Van der Voorn P., Barkhof F., et al. // Ann Neurol.-2003.- Vol.53, №2.- P. 252-258.

186. Vanderver, A. Case Definition and Classification of Leukodystrophies and Leukoencephalopathies / Vanderver A., Prust M., Tonduti D., et al. // Mol Genet Metab.-2015.- Vol.114, №4.-P. 494–500.

187. Vinciguerra, C. Homozygosity and severity of phenotypic presentation in a CADASIL family / Vinciguerra C., Rufa A., Bianchi S., et al. // Neurol Sci.-2014.- Vol.35.- P.91–93.

188. Wang, Y. Expression of colony stimulating factor-1 receptor (CSF-1R) by CNS neurons in mice / Wang Y., Berezovska O., Fedoroff S. // J Neurosci Res.-1999.- Vol.57, №5.- P.616-32.

189. Wang, Y.-X. Progress in Diagnosing Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes / Wang Y.-X., Le W.-D. // Chin Med J (Engl).-2015.- Vol.128, 313.- P.1820–1825.

190. Wang, Z. NOTCH3 mutations and clinical features in 33 mainland Chinese families with CADASIL / Wang Z., Yuan Y., Zhang W., et al. // J Neurol Neurosurg Psychiatry.-2011.- Vol. 82.-P. 534–539.

191. Yamashita, S. Neuropathology of leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate caused by a homozygous mutation of DARS2 / Yamashita S., Miyake N., Matsumoto N., et al. // Brain Dev.-2013.- Vol.35.- P. 312–316.

192. Yao, M. Dilated perivascular spaces in small-vessel disease: a study in CADASIL / Yao M., Herve D., Jouvent E., et al. // Cerebrovasc Dis.-2014.-

Vol.37.- P. 155–163.

193. Yelnik, C.M. Cognitive disorders and antiphospholipid antibodies / Yelnik C.M., Kozora E., Appenzeller S. // *Autoimmun Rev.*-2016.- Vol.15, №12.- P.:1193-1198.

194. Yelnik, C.M. Non-stroke Central Neurologic Manifestations in Antiphospholipid Syndrome / Yelnik C.M., Kozora E., Appenzeller S. // *Curr Rheumatol Rep.*-2016.- Vol.18, №2.-1.

195. Zhang, C. CADASIL: two new cases with intracerebral hemorrhage / Zhang C., Li W., Li S., et al. // *Ann Clin Transl Neurol.* - 2017. - Vol.4, №4. - P.266-271.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

196. Патент на изобретение №2620944 Российской Федерации. Способ выявления экспансии тринуклеотидных CGG-повторов в 5'-нетранслируемой промоторной области гена *FMRI* при заболевании – синдроме тремора/атаксии, ассоциированном с ломкой X-хромосомой (FXTAS) / Н.Ю. Абрамычева, Е.Ю. Федотова, А.А. Мороз, Е.О. Иванова, Я.И. Алексеев, С.Н. Иллариошкин, С.Л. Тимербаева.: заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение « Научный центр неврологии».- №2016151607/16; заявл. 27.12.16: опубл. 30.05.17.

197. Мороз, А.А. Дифференциальная диагностика церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией / А. А. Мороз, Н. Ю. Абрамычева, М. С. Степанова и др. // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова.* — 2017. — Т. 117, № 4. — С. 75–80.

198. Мороз, А. А. Атипичные клинические случаи церебральной аутосомнодоминантной артериопатии с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (цадасил)/ А. А. Мороз, Н. Ю. Абрамычева, Е. О. Иванова и др // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.*

— 2017. — Т. 11, № 1. — С. 68–71.

199. Moroz, A. Atypical phenotypes of CADASIL / Moroz A., Abramychева N., Konovalov R., Illarioshkin S., Timerbaeva S. // *European Journal of Neurology*. - 2017. - Vol. 24, Suppl. 1. - P. 309.

200. Moroz, A. Neuropsychological approach to the diagnostics of white matter brain pathology on a clinical model of patients with cadasil disease / M. Kovyazina, K. Fomina, A. Moroz, N. Kurochkina // *European Psychiatry*. — 2018. — Vol. 48, no. S. — P. 579–579.

201. Moroz, A. Late-onset leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and lactate elevation (LBSL): Russian experience / A. Moroz, E. Nuzhnyi, Y. Seliverstov, N. Abramychева, I. Krotenkova, S. Illarioshkin // *European Journal of Neurology*. - 2018. - Vol. 25, Suppl. 2. - P. 450.

202. Kurochkina, N. Neuroimaging signs and features of brain lesions in patients with CADASIL / N. Kurochkina, A. Moroz, R. Konovalov, M. Krotenkova, S. Illarioshkin // *Insights Imaging*. - 2018. - Vol. 9, Suppl. 1. - P. 331-332.

203. Fomina, K. The prospects of inter-analyzer (IAI) research in neuropsychology / Fomina K., Kovyazina M., Moroz A., Kurochkina N. // *Cerebrovascular diseases*. - 2018. - Vol. 45, Suppl. 1. - P. 324.

204. Мороз, А.А. Редкая форма лейкоэнцефалопатии, ассоциированная с геном DARS2: российский опыт / А.А. Мороз, Е.П. Нужный, Ю.А. Селивёрстов и др // *Неврологический журнал*. – 2018. - Т. 23, № 2. - в печати.

205. Мороз, А.А. Наследственная диффузная лейкоэнцефалопатия со сфероидами ассоциированная с двумя мутациями гена *CSFR1*: описание семейного случая / А.А. Мороз, М.Р. Забитова, З.Ш. Гаджиева и др // *Нервные болезни*. - 2018. - в печати.

206. Курочкина, Н.С. Нейровизуализационные характеристики изменений вещества головного мозга при генетической форме микроангиопатии (ЦАДАСИЛ) / Н.С. Курочкина, А.А. Мороз, Р.Н. Коновалов и др // *Медицинская визуализация*. – 2018. - в печати.

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. *Использованные в работе праймеры*

Ген	Экзон	Прямой праймер, F	Обратный праймер, R	t° плав °C
NOTCH3	2	5'- TGCCAAGAAGAGTGCAGAGC -3'	5'- TCCCTGCACCCGCAGA -3'	60
	3-6	5'- TCAGACTTCTTATTTGCCCTCAC -3'	5'- TATATGTTCTCCTTGCCTGGACC -3'	65
	7-10	5'-CTGTTTCTGCCCCACCTC-3'	5'- AAGGGGTGTGGCCTTTTG -3'	65
	11-12	5'-GGACAACCTCGTTGGACAAG-3'	5'- TGGGGGCGGGATTTAACTGT-3'	65
	13-16	5'-GAAATGACAGCACAGTGCCA-3'	5'- ATGATCTGGGGCAAGTCAGC -3'	65
	17-20	5'-TACCCAGAGTGACACCCACA-3'	5'- TCCTCTGACCAAATGCACCC-3'	65
	21-23	5'- CGATGTCTCCCCTAAAGCCAC -3'	5'- CTGGTAGTGCCTGAACATCT -3'	61
	24	5'- ACAGACACACGGACAGACAC -3'	5'- GGTCTCCAGTGTGAAAGGG -3'	59
DARS2	1	5'- AACGATGGTTGGCTACAGTTT -3'	5'- TTGTGGTGAAGAATGTTGCCTG -3'	62
	2	5'- CCTGTAGCCCTGACATACCTA -3'	5'- TCTTCGGACTGGTTGTAAATTAGTA -3'	58
	3	5'- TTGCATGAATGTAACATAAGAGGT -3'	5'- AGCTTACCCAGCAATAGCA -3'	58
	4	5'- AAGTCATTAAGGAGCAGCCCA -3'	5'- ACACAGATGGTGCAAATGCATAC -3'	61
	5	5'- TCAGCCACATATGCATAAGAATG -3'	5'- GACAGTGTGCCAAGAAGTTGTAG -3'	58
	6	5'- ATTAACAGCATAAGTGGGCTACTT -3'	5'- GCAACATCTTGACCTCATGCTAA -3'	60
	7	5'- TGTGAACAGTATGCTTTATGAACAG -3'	5'- TGACCATCCTGAGGCAGTAA -3'	58
	8	5'- AGCAGGAAATGTCTCTGTCAATTG -3'	5'- ATAGTGGCCACCCAATAAACCT -3'	59
	9	5'- AGCTTGCATTGCTTTAACTTTTGG -3'	5'- TGGCCCTGTGCTATCCA -3'	60
	10	5'- TTAGCACAGTGTCTGACATAAAAG -3'	5'- GCTCTAGCTCTGTAACAACGA -3'	57
	11	5'- TTGGGCAAGTTCTTATTTCTGT -3'	5'- TTGGACAAAGTTACTTCAAAGCAT -3'	59
	12	5'- TGTCATTTGATCGCATAACCATGT -3'	5'- TGATCTGAAATAACAAGATGCTCAA -3'	58
	13	5'- TCTTCTATTGGGAACCGGAAAT -3'	5'- GATTATGCAGAGCAGCTCCATT -3'	58
	14	5'- CCTTCCTAGAGAATGGCCTGG -3'	5'- GGGTCCTATCTTCATCAGACCT -3'	60
	15	5'- GGTCTGATGAAAAGATAGGACCCA -3'	5'- GCCCAGGATAGCAGATGATGT -3'	59
	16	5'- ATTGGTTAAGTCAGTTTAACTGTT -3'	5'- AACTCTTGGACTCATCCTTCCAC -3'	58
	17	5'- AACGATGGTTGGCTACAGTTT -3'	5'- TTGTGGTGAAGAATGTTGCCTG -3'	59
FMRI	1 этап	5'- CGCTCAGCTCCGTTTTCGG-3'	5'- (FAM)AAGTACCTTGTAGAAAAGCGCCA -3'	60
	2 этап	5'- (FAM) CGCTCAGCTCCGTTTTCGG -3'	1)5'CAGGAAACAGCTATGAGGCCAGCCGC CGCCGCC-3' 2)5'-CAGGAAACAGCTATGAGGCCCA-3'	
CSFIR	7	5'- TGGCAAAAGCAGAATGTGGC -3'	5'- TC AATGGCACCTGTCTGAG -3'	62
	17	5'- CCAAACAGCTTTGTCCACCAG -3'	5'-AGGGTTTGTGGTAAAGGACCAA -3'	62

2. MoCA (Montrealcognitiveassessment, монреальская шкала оценки когнитивных функций).

Монреальская шкала оценки когнитивных функций		ИМЯ: Образование: Пол:	Дата рождения: ДАТА:																				
<p>Зрительно-конструктивные/исполнительные навыки</p> <p>Скопируйте куб</p>	<p>Нарисуйте ЧАСЫ (Десять минут двенадцатого) (3 балла)</p>	<p>БАЛЛЫ</p>																					
<p>Д Конiec</p> <p>А</p> <p>Б</p> <p>2</p> <p>1 Начало</p> <p>Г</p> <p>4</p> <p>3</p> <p>В</p> <p>[]</p>	<p>[]</p>	<p>[] [] []</p> <p>Контур Цифры Стрелки</p>	<p>___/5</p>																				
НАЗЫВАНИЕ																							
<p>[]</p>	<p>[]</p>	<p>[]</p>	<p>___/3</p>																				
ПАМЯТЬ		<p>Прочтите список слов, испытуемый должен повторить их. Делайте 2 попытки. Попросите повторить слова через 5 минут.</p>			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">ЛИЦО</td> <td style="text-align: center;">БАРХАТ</td> <td style="text-align: center;">ЦЕРКОВЬ</td> <td style="text-align: center;">ФИАЛКА</td> <td style="text-align: center;">КРАСНЫЙ</td> </tr> <tr> <td>Попытка 1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Попытка 2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		ЛИЦО	БАРХАТ	ЦЕРКОВЬ	ФИАЛКА	КРАСНЫЙ	Попытка 1						Попытка 2					
	ЛИЦО	БАРХАТ	ЦЕРКОВЬ	ФИАЛКА	КРАСНЫЙ																		
Попытка 1																							
Попытка 2																							
ВНИМАНИЕ		<p>Прочтите список цифр (1 цифра/сек). Испытуемый должен повторить их в прямом порядке. [] 2 1 8 5 4</p> <p>Испытуемый должен повторить их в обратном порядке. [] 7 4 2</p>			<p>___/2</p>																		
<p>Прочтите ряд букв. Испытуемый должен хлопнуть рукой на каждую букву А. Нет баллов при > 2 ошибок.</p>		<p>[] ФБАВМНАА ЖЛБАФАКДЕАААЖАМОФААБ</p>			<p>___/1</p>																		
<p>Серийное вычитание по 7 из 100.</p>		<p>[] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65</p>	<p>4-5 правильных отв.: 3 балла, 2-3 правильных отв.: 2 балла, 1 правильный отв.: 1 балл, 0 правильных отв.: 0 баллов.</p> <p>___/3</p>																				
РЕЧЬ		<p>Повторите: Я знаю только одно, что Иван – это тот, кто может сегодня помочь. []</p> <p>Кошка всегда пряталась под диваном, когда собаки были в комнате. []</p>			<p>___/2</p>																		
<p>Беглость речи/ за одну минуту назовите максимальное количество слов, начинающихся на букву Л</p>		<p>[] _____ (N ≥ 11 слов)</p>			<p>___/1</p>																		
АБСТРАКЦИЯ		<p>Что общего между словами, например, банан-яблоко = фрукты [] поезд - велосипед [] часы - линейка</p>			<p>___/2</p>																		
ОТСРОЧЕННОЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ		<p>Необходимо назвать слова БЕЗ ПОДСКАЗКИ</p>			<p>___/5</p>																		
ДОПОЛНИТЕЛЬНО ПО ЖЕЛАНИЮ		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center;">Подсказка категории</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Множественный выбор</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			Подсказка категории						Множественный выбор						<p>Баллы только за слова БЕЗ ПОДСКАЗКИ</p>						
Подсказка категории																							
Множественный выбор																							
ОРИЕНТАЦИЯ		<p>[] Дата [] Месяц [] Год [] День недели [] Место [] Город</p>			<p>___/6</p>																		
© Z.Nasreddine MD Version 7.1		www.mocatest.org		Норма 26 / 30																			
Проведено: _____		перевод: Посохина О. В. Смирнова А. Ю.		КОЛИЧЕСТВО БАЛЛОВ ___/30																			
				Добавить 1 балл, если образование ≤ 12																			

3. FAB (frontal assessment battery, батарея лобной дисфункции).

1. **Концептуализация.** Пациента спрашивают: «Что общего между яблоком и грушей?» правильным считают ответ, который содержит категориальное обобщение («это фрукты»), если больной затрудняется или дает иной ответ, ему говорят правильный ответ.

Потом спрашивают: «что общего между пальто и курткой?» (одежда), «Что общего между столом и стулом?» (мебель).

Каждое категориальное обобщение оценивается в 1 балл. 0-3 б.

2. **Беглость речи.** Просят закрыть глаза и в течение минуты называть слова на букву «С». при этом имена собственные не засчитываются.

Результат: более 9 слов в минуту – 3 балла, 7-9 слов – 2 балла, 4-6 слов – 1 балл, менее 4 слов – 0.

3. **Динамический праксис.** Больному предлагаются повторить за врачом одной рукой серию движений: кулак (ставится горизонтально, параллельно поверхности стола) – ребро (кисть ставится вертикально на медиальный край) – ладонь (кисть ставится горизонтально ладонью вниз).

При первом предъявлении серии больной следит только за врачом, при втором предъявлении – повторяет движение врача, следующие 2 серии больной выполняет самостоятельно. при самостоятельном исполнении подсказки больному недопустимы.

Результат: правильное выполнение 3х серий движений – 3б, 2 серий – 2 б, одной серии (совместно с врачом) – 1 б.

4. **Простая реакция выбора.** Дается инструкция «Сейчас я проверю ваше внимание. Мы будем выстукивать ритм. Если я ударю 1 раз. Вы должны ударить 2 раза подряд. Если я ударю 2 раза, Вы ударите только 1 раз».

Выстукивается следующий ритм: 1-1-2-1-2-2-1-1-2.

Оценка результата: правильное выполнение – 3б, не более 2 ошибок – 2б, много ошибок – 1 б, полное копирование ритма врача – 0б.

5. **Усложненная реакция выбора.** Дается инструкция: «Теперь если я ударю 1 раз. то вы ничего не должны делать, если я ударю 2 раза подряд – вы должны ударить только 1 раз».

Выстукивается ритм: 1-1-2-1-2-2-1-1-2.

Оценка результата аналогична п.4.

6. **Исследование хватательных рефлексов.** Больной сидит, его просят положить руки ладонями вверх и проверяют хватательный рефлекс.

Отсутствие рефлекса – 3б, если больной спрашивает, должен ли он схватить – 2б.

Если больной хватает, ему дается инструкция не делать этого и рефлекс проверяется снова. Если при повторном исследовании рефлекс отсутствует - ставится 1б, в противном случае – 0б.

Интерпретация

16-18б – нормальная лобная функция.

12-15б - умеренная лобная дисфункция.

0-12 б – выраженная лобная дисфункция.

4. HADS (hospital anxiety and depression scale, госпитальная шкала тревоги и депрессии).

Т	Я испытываю напряженность, мне не по себе Все время Часто Время от времени, иногда Совсем не испытываю	3 2 1 0	Т	Беспокойные мысли крутятся у меня в голове Постоянно Большую часть времени Время от времени и не так часто Только иногда	3 2 1 0
Д	То, что приносило мне большое удовольствие, и сейчас вызывает у меня такое же чувство Определенно это так Наверное, это так Лишь в очень малой степени это так Это совсем не так	0 1 2 3	Д	Я испытываю бодрость Совсем не испытываю Очень редко Иногда Практически все время	3 2 1 0
Т	Я испытываю страх, кажется, будто что-то ужасное может вот-вот случиться Определенно это так, и страх очень сильный Да, это так, но страх не очень сильный Иногда, но это меня не беспокоит Совсем не испытываю	3 2 1 0	Т	Я легко могу сесть и расслабиться Определенно это так Наверное, это так Лишь изредка это так Совсем не могу	0 1 2 3
Д	Я способен рассмеяться увидеть в том или ином событии смешное Определенно это так Наверное, это так Лишь в очень малой степени это так Совсем не способен	0 1 2 3	Д	Мне кажется, что я стал все делать очень медленно Практически все время Часто Иногда Совсем нет	3 2 1 0
Д	Я не слежу за своей внешностью Определенно это так Я не уделяю этому столько времени, сколько нужно Может быть, я стал меньше уделять этому внимания Я слежу за собой так же, как и раньше	3 2 1 0	Т	Я испытываю внутреннее напряжение или дрожь Совсем не испытываю Иногда Часто Очень часто	0 1 2 3
Т	Я испытываю неуверенность, словно мне постоянно нужно двигаться Определенно это так Наверное, это так Лишь в некоторой степени это так Совсем не испытываю	3 2 1 0	Т	У меня бывает внезапное чувство паники Очень часто Довольно часто Не так уж часто Совсем не бывает	3 2 1 0
Д	Я считаю, что мои дела (занятия, увлечения) могут принести мне чувство удовлетворения Точно так же, как и обычно Да, но не в той степени, как раньше Значительно меньше, чем обычно Совсем так не считаю	0 1 2 3	Д	Я могу получить удовольствие от хорошей книги, радио- или телепрограммы Часто Иногда Редко Очень редко	0 1 2 3

Интерпретация

- 0 – 7 баллов - отсутствие достоверно выраженных симптомов тревоги и депрессии
- 8 – 10 баллов - субклинически выраженная тревога/депрессия
- 11 баллов и выше - клинически выраженная тревога/депрессия

5. Показатели латентности и амплитуды пика P300 в норме в зависимости от возраста.

Возраст	19-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	>80
Латентность, мс	314	321	338	361	366	380	401
Амплитуда, мкВ	11,7	9,54	7,74	5,94	4,14	2,34	<2