

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

На правах рукописи

НУЖНЫЙ ЕВГЕНИЙ ПЕТРОВИЧ

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
АУТОСОМНО-РЕЦЕССИВНЫХ АТАКСИЙ
У ПАЦИЕНТОВ ВЗРОСЛОГО ВОЗРАСТА**

14.01.11 – Нервные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук,

профессор

С.Н. Иллариошкин

Москва – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Структура и распространенность наследственных атаксий.....	12
1.2. Принципы классификации аутосомно-рецессивных атаксий.....	13
1.3. Характеристика основных форм аутосомно-рецессивных атаксий.....	16
1.3.1. Митохондриальные аутосомно-рецессивные атаксии.....	16
1.3.1.1. Болезнь Фридрейха.....	17
1.3.1.2. <i>POLG</i> -ассоциированные атаксии.....	21
1.3.2. Атаксии с нарушением репарации ДНК.....	24
1.3.2.1. Атаксия-телеангиэктазия.....	26
1.3.2.2. Атаксии с окулоmotorной апраксией.....	27
1.3.3. Спастические атаксии и наследственные спастические параплегии с атаксией.....	29
1.3.4. Лизосомные болезни накопления с атаксией.....	32
1.3.5. <i>PNPLA6</i> -ассоциированные и другие формы аутосомно-рецессивных атаксий.....	35
1.4. Технологии массового параллельного секвенирования в диагностике аутосомно-рецессивных атаксий.....	39
1.5 Лечение аутосомно-рецессивных атаксий.....	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, ДИЗАЙН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45

2.1. Общий дизайн и методология исследования.....	45
2.2. Молекулярно-генетические методы исследования.....	51
2.3. Статистическая обработка данных.....	58
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59
3.1. Общие результаты реализации диагностического алгоритма.....	59
3.2. Болезнь Фридрейха.....	73
3.3. <i>POLG</i> -ассоциированные атаксии.....	78
3.4. Атаксия-телеангиэктазия.....	88
3.5. Атаксия с окуломоторной апраксией 1 типа.....	91
3.6. Атаксия с окуломоторной апраксией 2 типа.....	93
3.7. Спастические атаксии и наследственные спастические параплегии-плюс.....	94
3.8. <i>PNPLA6</i> -ассоциированные атаксии.....	97
3.9. Другие редкие формы аутосомно-рецессивных атаксий.....	99
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	108
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	121
ВЫВОДЫ.....	124
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	153
БЛАГОДАРНОСТЬ.....	163

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Аутосомно-рецессивные атаксии (АРА) – это крайне обширная и гетерогенная группа прогрессирующих наследственных заболеваний (около 100 нозологических форм), характеризующихся дегенерацией или нарушением развития мозжечка, поражением спинного мозга и/или периферической нервной системы, аутосомно-рецессивным типом наследования и, в большинстве случаев, дебютом в детском или молодом возрасте [Anheim M. et al., 2012; Rossi M. et al., 2018]. Учитывая тот факт, что данные инвалидизирующие заболевания поражают преимущественно лиц трудоспособного возраста, проблема изучения аутосомно-рецессивных атаксий актуальна как в медицинском, так и социальном плане.

Распространенность АРА в различных популяциях составляет 3–6 на 100000 [Ruano L. et al., 2014]. Среди отдельных нозологических форм АРА практически во всех популяциях преобладает болезнь Фридрейха (редко встречается в Финляндии и не описана в Японии), далее следуют атаксия-телеангиэктазия и атаксии с окуломоторной апраксией (атаксия-телеангиэктазия больше распространена в Норвегии, атаксии с окуломоторной апраксией – во Франции и Португалии). [Salman M.S., 2018]. В Японии наиболее частой атаксией является атаксия с окуломоторной апраксией 1 типа, в Финляндии – *POLG*-ассоциированные атаксии, в странах Северной Африки и Средиземноморья – атаксия с дефицитом витамина E [Salman M.S., 2018]. В России данные о распространенности АРА и их отдельных нозологических форм в различных возрастных группах, в том числе у пациентов взрослого возраста, до настоящего времени отсутствуют. Также не разработаны алгоритмы диагностики АРА, применимые для использования в отечественном здравоохранении, не определен спектр популяционно-специфичных мутаций для каждой из групп АРА. Работы, посвященные комплексному нейрофизиологическому и нейровизуализационному исследованию таких пациентов, отсутствуют.

До настоящего времени ДНК-диагностика АРА состояла в последовательном анализе генов, выбранных на основании клинической картины и параклинических обследований, методом классического сэнгеровского секвенирования [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2002]. Учитывая значительную гетерогенность, фенотипический полиморфизм, а также наличие «перекрывающихся» фенотипов и атипичных форм АРА, такой подход может занимать длительное время и является достаточно трудоемким. В последние годы ситуация с молекулярным анализом сложных групп заболеваний, к которым относятся АРА, значительно изменилась в связи с появлением новейших высокопроизводительных молекулярно-генетических технологий и, в первую очередь, массового параллельного секвенирования (Massive Parallel Sequencing, MPS). MPS позволяет за один рабочий цикл генерировать миллиарды нуклеотидных последовательностей, что обеспечивает параллельный анализ сотен выбранных генов или даже тотальное секвенирование всего генома [Erdmann J., 2011]. Известны три основных стратегии применения технологии MPS на практике: полногеномное секвенирование, полноэкзомное секвенирование и таргетное панельное секвенирование [Xue Y. et al., 2015]. В последние годы появились немногочисленные работы зарубежных авторов, обсуждающие целесообразность и эффективность использования технологий MPS для диагностики наследственных атаксий [Sawyer S.L. et al., 2014; Hamza W. et al., 2015; Mallaret M. et al., 2016; Hadjivassiliou M. et al., 2017; Iqbal Z. et al., 2017; Sun M. et al., 2019; Kang C. et al., 2019]. В выборке российских пациентов взрослого возраста с АРА подобные исследования ранее не проводились.

Цель исследования

Клинико-генетический анализ аутосомно-рецессивных атаксий в российских семьях у пациентов взрослого возраста, оценка частоты встречаемости отдельных форм этих заболеваний и разработка алгоритмов их молекулярно-генетической диагностики с использованием технологии массового параллельного секвенирования.

Задачи исследования

1. На невыборочной серии пациентов взрослого возраста с прогрессирующими атаксиями первично-дегенеративного генеза оценить встречаемость отдельных нозологических форм АРА в российских семьях.
2. Определить спектр клинических, электромиографических и нейровизуализационных проявлений АРА у пациентов взрослого возраста.
3. Оценить возможности использования оригинальной таргетной мультигенной MPS-панели в диагностике АРА.
4. Провести клинико-генетические сопоставления с оценкой данных нейровизуализационных и нейрофизиологических параметров в отдельных группах АРА.
5. Разработать алгоритм дифференциальной диагностики наиболее распространенных форм АРА.

Научная новизна

Впервые в России проведено комплексное исследование репрезентативной группы АРА с использованием современных методов молекулярно-генетической диагностики. Определен нозологический спектр данной группы заболеваний, выявлена высокая распространенность атаксий митохондриальной природы (32,9%). Впервые для дифференциальной диагностики АРА были использованы современные подходы, основанные на применении технологии MPS, позволившие установить молекулярный диагноз в 40% исследованных случаев. Подробно изучена репрезентативная группа пациентов с синдромом SANDO: описаны наиболее характерные клинические проявления, выявлены нейровизуализационные особенности данного заболевания, определена мажорная мутация p.W748S в гене *POLG*, составившая 85% мутантных аллелей в российской популяции. Впервые в России были идентифицированы или подробно описаны пациенты с редкими фенотипами АРА: атаксия с окулоmotorной апраксией 1 типа, синдром MEMSA, *PNPLA6*-ассоциированные атаксии (синдром Буше-Нойхаузера и синдром Гордона Холмса), SCAR10 (*ATX-ANO10*) и SCAR16 (*ATX-STUB1*),

нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге типа 2В, ювенильная форма болезни Краббе.

Теоретическая и практическая значимость

Установлены наиболее характерные фенотипы основных форм АРА, встречающихся у российских пациентов: выявлено преобладание классического клинического варианта болезни Фридрейха у взрослых пациентов (86%), показана высокая частота атипичных форм атаксии-телеангиэктазии (без телеангиэктазий и признаков иммунодефицита, с незначительно повышенным уровнем альфа-фетопротеина). Разработан комплексный алгоритм диагностики АРА, основанный на клинической картине заболевания, а также данных электромиографии, нейровизуализации и биохимических показателей.

При анализе спорадических случаев дегенеративных атаксий установлена целесообразность ДНК-диагностики наиболее частых аутосомно-доминантных спиноцереbellарных атаксий, связанных с экспансией микросателлитных повторов, перед проведением MPS. Показано, что использование таргетной мультигенной MPS-панели позволяет оптимизировать диагностический процесс у пациентов с АРА.

Выявлены пациенты с превалирующим синдромом атаксии и мутациями в классических генах наследственных спастических параплегий, что доказывает патофизиологическое сходство атаксий и параплегий нейродегенеративной природы в рамках общего континуума наследственных спиноцереbellарных дегенераций. Уточнен оптимальный перечень генов и связанных с ними групп заболеваний для включения в диагностические MPS-панели при обследовании пациентов с подозрением на АРА (наследственные спиноцереbellарные атаксии, наследственные спастические параплегии, нейродегенерации с накоплением железа в головном мозге, наследственные лейкодистрофии).

Методология и методы исследования

С использованием комплексного алгоритма проведено обследование 87 пациентов взрослого возраста с атаксиями предположительно дегенеративного генеза. Проводился подробный неврологический осмотр с использованием специализированных шкал, оценка экстраневральных проявлений. Исключались приобретенные и другие ненаследственные причины атаксии. На первом этапе скрининга проводилась прямая ДНК-диагностика наиболее распространенных форм аутосомно-доминантных спиноцереbellарных атаксий (АД-СЦА 1, 2, 3, 6, 17 типов) и болезни Фридрейха, нейровизуализационное и нейрофизиологическое обследование, а также исследование различных специфических биохимических параметров. На следующем этапе скрининга большинству пациентов проведено генотипирование с использованием оригинальной таргетной мультигенной MPS-панели. На основании данных обследований были сформированы однородные по нозологиям группы пациентов с АРА, изучены их клиничко-генетические характеристики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Среди всех форм АРА в группе российских пациентов взрослого возраста наиболее часто встречаются болезнь Фридрейха, *POLG*-ассоциированные атаксии, атаксия-телеангиэктазия и атаксии с окуломоторной апраксией, составляющие суммарно 42% случаев данных заболеваний.
2. У российских пациентов взрослого возраста имеется ряд фенотипических особенностей основных форм АРА – преобладание классического «полиорганного» клинического варианта болезни Фридрейха, высокая частота атипичных форм атаксии-телеангиэктазии (без телеангиэктазий и признаков иммунодефицита, с незначительно повышенным уровнем альфа-фетопротеина).
3. *POLG*-ассоциированные атаксии представлены преимущественно фенотипом синдрома SANDO с характерными клиническими и нейровизуализационными признаками (симметричные очаговые изменения в

полушариях мозжечка, стволе головного мозга и таламусах), при этом на 85% мутантных хромосом выявляется мажорная мутация p.W748S.

4. Для ряда форм АРА характерно наличие специфических биомаркеров, позволяющих дифференцировать отдельные заболевания между собой, что может упростить диагностический поиск.
5. Для верификации конкретных нозологических форм АРА целесообразно использовать разработанный комплексный алгоритм, включающий в себя применение технологий MPS; использованная в работе оригинальная таргетная мультигенная MPS-панель позволяет установить диагноз в 40% случаев АРА.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в разработке и выполнении протокола исследования, постановке цели и задач исследования, обосновании выводов и практических рекомендаций. Все этапы клинического осмотра, интерпретация нейрофизиологических и нейровизуализационных данных выполнены автором лично. ДНК-диагностика болезни Фридрейха, а также анализ данных MPS, в том числе с использованием биоинформатических методов и специализированных программ, выполнены автором лично. Автором проведен анализ и статистическая обработка данных, сформулированы выводы по результатам работы, подготовлены статьи с последующей публикацией в научных журналах.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов обусловлена достаточным объёмом группы обследованных пациентов, четкой постановкой цели и задач, применением современных молекулярно-генетических, нейровизуализационных, нейрофизиологических и клинических методов исследования, адекватной статистической обработкой полученных результатов.

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на заседании сотрудников 1-го, 2-го, 3-го, 5-го и 6-ого неврологических отделений, научно-консультативного отделения с лабораторией нейроурологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии» (Протокол № 3 от 18 июля 2019 года).

Материалы диссертации были представлены в виде постерных и устных докладов на следующих конференциях: IV Национальном конгрессе с международным участием «Болезнь Паркинсона и расстройства движений» (Москва, Россия, 11-13 сентября 2017 г.); International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Гонконг, 5-9 октября 2018 г.); Российской научно-практической конференции «Перекрестные синдромы и фенотипы при наследственных и приобретенных болезнях нервной системы» (Москва, Россия, 14-15 декабря 2018 г.); 71st American Academy of Neurology Annual Meeting (Филадельфия, США, 4-10 мая 2019 г.); международном научном конгрессе «Генетика 21 века» (Москва, Россия, 25-28 мая 2019 г.); объединённом XI Всероссийском съезде неврологов и IV Конгрессе Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (Санкт-Петербург, Россия, 15-19 июня 2019 г.); 5th Congress of the European Academy of Neurology (Осло, Норвегия, 29 июня — 2 июля 2019 г.), а также на семинарах 5-го неврологического отделения.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 7 статей в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации, 1 из которых принята в печать.

Внедрение результатов работы

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

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 163 листах машинописного текста, содержит 19 таблиц и иллюстрирована 22 рисунками. Диссертация построена из следующих разделов: оглавление, введение, обзор литературы, материалы, методология и методы исследования, результаты исследования, обсуждение, выводы и практические рекомендации, список литературы, приложения. Библиографический указатель содержит 36 отечественных и 176 зарубежных источников литературы, а также 12 собственных публикаций автора, подготовленных по теме диссертационной работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Структура и распространенность наследственных атаксий

Наследственные атаксии – это генетически гетерогенная группа заболеваний двигательной сферы, ведущей клинической характеристикой которых является эпизодическое или постоянное нарушение равновесия и координации движений, возникающее в результате поражения мозжечка, его связей и/или соответствующих сенсорных систем [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2006].

В настоящее время по типу наследования атаксии подразделяют на аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные, X-сцепленные и формы с митохондриальным типом наследования, также выделяют спорадические формы с неустановленным или неизвестным типом передачи [Mancuso M. et al., 2014].

Распространенность наследственных атаксий составляет около 5–10 случаев на 100000 населения, в частности, аутосомно-доминантных форм – 1–5 на 100000 населения, аутосомно-рецессивных форм — 3–6 на 100000 [Ruano L. et al., 2014]. Приведенные данные позволяют говорить о наследственных атаксиях как об одной из наиболее широко распространенных групп среди всех наследственных болезней нервной системы, уступающей по своей частоте лишь наследственным нервно-мышечным заболеваниям [Zeitlberger A. et al., 2018].

Аутосомно-рецессивные атаксии (АРА) – это крайне обширная и гетерогенная группа прогрессирующих наследственных заболеваний (около 100 нозологических форм), характеризующихся дегенерацией или нарушением развития мозжечка, поражением спинного мозга и/или периферической нервной системы, аутосомно-рецессивным типом наследования и, в большинстве случаев, дебютом в детском или молодом возрасте [Anheim M. et al., 2012; Rossi M. et al., 2018]. Помимо поражения нервной системы, для данной группы заболеваний характерно вовлечение других органов (сердца, эндокринных желез, сетчатки и хрусталика, кожи, иммунной системы и др.) [Palau F. et al., 2006].

На сегодняшний день существует ограниченное число публикаций, посвященных эпидемиологии АРА. По данным крупного систематического обзора,

распространенность АРА составляет 2,3–4,8 на 100000 населения (в среднем 3,3 на 100000), при этом наибольшая распространенность отмечена в Испании (7,8/100000) и Франции (5,3/100000), наименьшая — в Японии (0,0–0,3/100000) [Ruano L. et al., 2014]. Среди отдельных форм АРА практически во всех популяциях преобладает болезнь Фридрейха (редко встречается в Финляндии и не описана в Японии), далее следуют атаксия-телеангиэктазия и атаксии с окуломоторной апраксией (атаксия-телеангиэктазия больше распространена в Норвегии, атаксии с окуломоторной апраксией — во Франции и Португалии) [Salman M.S., 2018]. В Японии наиболее частой атаксией является атаксия с окуломоторной апраксией 1 типа, в Финляндии — *POLG*-ассоциированные атаксии, в странах Северной Африки и Средиземноморья — атаксия с дефицитом витамина E [Salman M.S., 2018]. В России данные о распространенности АРА и их отдельных нозологических форм до настоящего времени отсутствуют.

1.2. Принципы классификации аутосомно-рецессивных атаксий

Существует несколько классификаций АРА. Удобная для формирования статистических отчетов, Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) кодирует наследственные атаксии шифром G11.X и является крайне упрощенной. За основу данной классификации взяты такие признаки, как начало заболевания (ранняя/поздняя мозжечковая атаксия), наличие или отсутствие прогрессирувания, отдельно выделяются так называемые атаксии с нарушением репарации ДНК. Очевидно, что данный подход является условным и не учитывает генетическое и клиническое разнообразия АРА [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2006].

По характеру поражения периферических нервов выделяют 3 группы АРА [Anheim M. et al., 2012]:

1. АРА с аксональной сенсорной невропатией: болезнь Фридрейха, атаксия с дефицитом витамина E, синдром SANDO, абеталипопротеинемия и др.;
2. АРА с аксональной сенсомоторной невропатией: атаксия-телеангиэктазия, атаксии с окуломоторной апраксией, болезнь Рефсума, атаксия Шарлевуа-

Сагенэ, церебротендинальный ксантоматоз, поздняя форма GM2-ганглиозидоза и др.;

3. АРА без невропатии: аутосомно-рецессивные мозжечковые атаксии 1 и 2 типов, болезнь Ниманна-Пика типа С и др.

Данная классификация удобна для применения в клинической практике, так как позволяет упростить диагностический поиск после выполнения стимуляционной электромиографии (ЭНМГ).

Другая классификация, основанная на этиологическом и патогенетическом принципах, предполагает геномный подход, что позволяет выделять самостоятельные генетические формы с помощью проведения ДНК-анализа. Согласно этой классификации, выделяют следующие группы АРА [Palau F. et al., 2006]:

- врожденные (непрогрессирующие) атаксии: синдром Жубер, атаксия Каймановых островов, различные варианты аплазии и гипоплазии полушарий и червя мозжечка и др.;
- метаболические атаксии (включая ферментопатии): атаксия с дефицитом витамина Е, болезнь Рефсума, абеталипопротеинемия, атаксии при лизосомных болезнях накопления, митохондриальные атаксии и др.;
- атаксии с нарушением репарации ДНК: атаксия-телеангиэктазия, атаксии с окулоmotorной апраксией, пигментная ксеродерма и др.;
- дегенеративные атаксии: болезнь Фридрейха, спастическая атаксия Шарлевуа-Сагенэ, синдром Маринеску-Шегрена и др.;
- идиопатические атаксии с неизвестной этиологией.

Данная классификация не лишена недостатков — так, по сути, большинство из перечисленных выше АРА по своему патогенезу являются нейродегенеративными заболеваниями. С другой стороны, например, болезнь Фридрейха, учитывая ее этиологию и патогенез, может быть отнесена к метаболическим (митохондриальным) атаксиям. Однако данная классификация подчеркивает тот важный факт, что АРА являются гетерогенной по этиологии и

патофизиологии группой заболеваний, объединенной общим признаком — поражением мозжечка и/или его связей с развитием синдрома атаксии.

Были предприняты попытки классификации АРА, аналогичные принципам классификации АД-СЦА, где каждой новой молекулярной форме присваивался определенный номер (например, SCAR1 – атаксия с окуломоторной апраксией 2 типа, SCAR2 – непрогрессирующая конгенитальная гипоплазия мозжечка, тип Нормана и т.д., где SCAR – spinocerebellar ataxia recessive), однако данная классификация не получила широкого развития из-за неудобства использования в клинической практике.

В 2017 г. Marie Beaudin с соавт. предложили новую классификацию АРА (45 нозологий). На основании выраженности атаксии и сопутствующих клинических проявлений выделяют следующие группы заболеваний [Beaudin M. et al., 2017]:

1. Собственно АРА: болезнь Фридрейха, атаксия-телеангиэктазия, атаксии с окуломоторной апраксией, синдром SANDO и др.;
2. Аутосомно-рецессивные мультисистемные и комплексные двигательные расстройства с клинически значимой атаксией: болезнь Ниманна-Пика типа С, болезнь Рефсума, абеталипопротеинемия, *PNPLA6*-ассоциированные атаксии и др.;
3. Аутосомно-рецессивные заболевания, при которых может выявляться атаксия, однако она не является превалирующим синдромом: нейрональные цероидные липофусцинозы, сиалидозы, большое число нейрометаболических заболеваний детского возраста.

Данная классификация не подразумевает патофизиологический подход, однако в ней уделяется большое внимание точному описанию клинической картины (фенотипа) заболевания с выделением наиболее значимых и сопутствующих синдромов. Несомненным достоинством данного подхода является удобство в применении в клинической практике — возможность предсказать молекулярно-генетический диагноз после проведения подробного клинического осмотра и необходимых дополнительных обследований.

В 2018 г. данная классификация была изменена и дополнена Malco Rossi с соавт. и стала включать в себя 100 отдельных нозологий. В новой классификации авторы предлагают использовать систему префиксов для обозначения превалирующего синдрома (АТХ – атаксия, НСП – наследственная спастическая параплегия, МУС – миоклонус, ДУТ – дистония и др.) с указанием каузального гена (например, АТХ-*FXN* – болезнь Фридрейха, НСП/АТХ-*SPG7* – *SPG7*-ассоциированная спастическая атаксия). Данная классификация, хотя и является громоздкой, удобна для планирования ДНК-диагностики у пациентов с известным фенотипом и отражает значительную генетическую гетерогенность АРА. Кроме того, префиксы могут изменяться со временем по мере накопления новых данных о фенотипическом полиморфизме АРА [Rossi M. et al., 2018].

Большую роль в накоплении данных о нозологической структуре АРА играют международные базы данных, в первую очередь МИМ (Mendelian Inheritance in Man) и соответствующий интернет-вариант ОМИМ (Online Mendelian Inheritance in Man). Каждой нозологической форме соответствует определенный порядковый номер, что облегчает поиск информации и позволяет избежать неясности в использовании различных классификаций АРА.

1.3. Характеристика основных форм аутосомно-рецессивных атаксий

1.3.1. Митохондриальные аутосомно-рецессивные атаксии

Митохондриальные атаксии – гетерогенная группа наследственных митохондриальных болезней, одним из ведущих проявлений которых являются нарушения равновесия и координации движений [Finsterer J., 2009]. Атаксия часто наблюдается при митохондриальных болезнях, однако крайне редко является изолированным и единственным проявлением заболевания. Помимо атаксии, для данной группы заболеваний характерен широкий спектр других неврологических (эпилепсия, невропатия, миопатия, экстрапирамидные нарушения и др.) и экстракраневральных (кардиомиопатия, ретинопатия, гепато- и нефропатия, эндокринопатии) проявлений, что связано с системным поражением наиболее энергозависимых тканей организма [Иллариошкин С.Н., 2007]. Митохондриальные

атаксии развиваются вследствие нарушения работы дыхательной цепи митохондрий и недостаточности окислительного фосфорилирования [Federico A. et al., 2012]. Полипептиды, участвующие в этих процессах, кодируются как митохондриальной ДНК (мтДНК), так и ядерными генами. Известно, что клетки Пуркинье коры мозжечка, а также структуры спиноцеребеллярных трактов и нейроны нижних олив являются крайне энергозависимыми, что объясняет их частое поражение при митохондриальной дисфункции [Manto M. et al., 2018]. Ниже будут рассмотрены наиболее частые аутомно-рецессивные митохондриальные атаксии, ассоциированные с мутациями в ядерных генах.

1.3.1.1. Болезнь Фридрейха

Болезнь Фридрейха (БФ) – самая распространенная аутомно-рецессивная атаксия, в большинстве случаев обусловленная гомозиготным носительством нестабильной GAA-экспансии в 1-м интроне гена фратаксина (*FXN*). Примерно в 4% случаев заболевание связано с компаунд-гетерозиготным носительством GAA-экспансии и точковой мутацией, делецией или инсерцией [Manto M. et al., 2018]. Распространенность заболевания в различных популяциях Западной Европы составляет от 1:20000 до 1:125000, частота гетерозиготного носительства – от 1:60 до 1:120 [Schulz J.V. et al., 2009; Vankan P., 2013].

Фратаксин – белок, связанный с внутренней мембраной митохондрий, играющий важную роль в обмене железа и формировании железосерных кластеров, защите клетки от окислительного стресса и регуляции энергетического обмена [Heidari M.M. et al., 2009]. Известно, что изменение структуры фратаксина приводит к митохондриальной дисфункции вследствие нарушения работы белков дыхательной цепи митохондрий и окислительного фосфорилирования [Faraj S.E. et al., 2014]. Таким образом, по своему патогенезу, БФ является митохондриальной атаксией [Ершова М.В. с соавт., 2003].

Средний возраст начала заболевания при классическом фенотипе составляет $10,5 \pm 7,4$ лет [Harding A.E., 1981], однако данный показатель был определен до появления методов ДНК-диагностики и основан на использовании клинических

критериев постановки диагноза и не учитывает наличие атипичных форм. Таким образом, дебют заболевания в этих исследованиях является заниженным [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2006].

Ядром клинической картины БФ является атаксия смешанного (сенситивная и мозжечковая) характера, обусловленная дегенеративными изменениями спинальных ганглиев, задних канатиков спинного мозга, спиноцереbellарных трактов, вестибулярных ядер и мозжечка [Parkinson M.H. et al., 2013]. Дегенерация кортикоспинальных трактов приводит к появлению пирамидных стопных знаков, в редких случаях развивается спастичность с формированием фенотипа спастической атаксии [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2000]. При МРТ обнаруживают дегенеративные изменения спинного мозга в виде его уплощения, преимущественно на шейном и грудном уровнях. На поздних стадиях заболевания обнаруживают признаки атрофии продолговатого мозга и верхних отделов червя мозжечка [Wolf N.I. et al., 2013].

На ранних стадиях БФ атаксия проявляется неустойчивостью при ходьбе, со временем появляются падения, необходимость в использовании посторонней помощи или опоры. В среднем через 15,5 лет от начала заболевания пациенты вынуждены использовать инвалидное кресло для передвижения [Harding A.E., 1981]. По мере прогрессирования заболевания развиваются пирамидные парезы, более выраженные в нижних конечностях, что маскирует проявления атаксии. Ранними признаками типичной БФ являются отсутствие или снижение глубоких рефлексов, мышечная гипотония, снижение вибрационной и проприоцептивной чувствительности вследствие дегенерации спинальных ганглиев, задних канатиков спинного мозга и развития сенсорной аксональной полиневропатии. Расстройства поверхностной чувствительности по полиневритическому типу, как правило, выявляются на развернутой стадии болезни [Burk K., 2013]. Другими характерными проявлениями являются широкий спектр глазодвигательных нарушений (нарушение плавности слежения, саккадические интрузии, квадратные осцилляции (square wave jerks), нистагм, замедление, гипо- и гиперметрия саккад), дизартрия, нейросенсорная тугоухость [Oguri M., 2017]. На развернутых стадиях

БФ могут выявляться дисфагия, тазовые нарушения, атрофия зрительных нервов, когнитивные и аффективные нарушения [Parkinson M.H. et al., 2013].

Экстраневральными проявлениями БФ являются кардиомиопатия, эндокринопатии (сахарный диабет, гипогонадизм, низкорослость), костные деформации (сколиоз, деформации стоп и кистей), поражение органа зрения (пигментный ретинит, катаракта) [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2006]. Наиболее характерными изменениями на ЭКГ, в том числе и при атипичных формах БФ, являются инверсия или уплощение зубца Т в левых грудных отведениях, депрессия или элевация сегмента ST, которые могут обнаруживаться при проведении плановых профилактических осмотров до появления неврологической симптоматики [Schadt K.A. et al., 2012]. На ЭХО-КГ выявляются признаки симметричной гипертрофии миокарда левого желудочка (концентрическая у 35% и эксцентрическая у 5% пациентов) без обструкции выносящего тракта [Regner S.R. et al., 2012]. При проведении МРТ сердца с контрастным усилением на ранних этапах выявляются признаки фиброза миокарда, что в дальнейшем приводит к истончению стенок и развитию дилатационной кардиомиопатии со сниженной фракцией выброса [Weidemann F. et al., 2015]. Необходимо отметить, что поражение сердца (прогрессирующая сердечная недостаточность, жизнеугрожающие нарушения ритма и проводимости) является основной причиной смерти пациентов с БФ, что требует активного наблюдения кардиолога и своевременного назначения терапии.

Нарушения углеводного обмена при БФ обусловлены как митохондриальной дисфункцией и прогрессирующей гибелью бета-клеток островков Лангерганса, так и инсулинорезистентностью [McCormick A. et al., 2017; Pappa A. et al., 2018]. Частота встречаемости сахарного диабета составляет 8-49% в зависимости от стадии заболевания [Finocchiaro G. et al., 1988]. Диабет развивается в среднем спустя 15 лет от дебюта заболевания, однако описаны случаи острого начала с развития кетоацидоза [Bird T.D. et al., 1978].

Существуют гено-фенотипические корреляции длины GAA-экспансии и клинической картины БФ. Размер экспансии более 30 повторов считается

патогенным, при классическом фенотипе БФ чаще всего обнаруживают экспансии от 600 до 900 GAA-повторов [Pandolfo M., 2002]. Хорошо известна обратная корреляционная связь между длиной более короткого аллеля и возрастом дебюта заболевания [Ершова М.В., 2003]. Длинные аллели (1000 GAA-повторов и более) ассоциированы с тяжелыми фенотипами с ранним дебютом и быстрым прогрессированием заболевания, а также частым и ранним развитием экстраневральных проявлений [Parkinson M.H. et al., 2013]. Однако на фенотип БФ также могут влиять гены-модификаторы, соматический мозаицизм, наличие вставок в структуре экспансии, а также эпигенетические механизмы (метилирование CpG-сайтов, модификация гистонов и др.) [Herman D. et al., 2006].

Наличие меньшей длины экспансии (44-600 повторов), а также других типов мутаций (точковых, делеций, инсерций) может приводить к развитию атипичных фенотипов (до 25-30% пациентов БФ): с поздним дебютом в 25-39 лет (late onset Friedreich's ataxia, LOFA), с очень поздним дебютом после 40 лет (very late onset Friedreich's ataxia, VLOFA), с сохранными сухожильными рефлексам (Friedreich's ataxia with retained reflexes, FARR), фенотип спастической атаксии, форма с преобладанием полиневропатии и имитирующая наследственную моторно-сенсорную невропатию (ранее выделяемый фенотип Русси-Леви) и др. [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2004; Иллариошкин С.Н. с соавт., 2006; Burk K., 2013]. Таким образом, учитывая значительное фенотипическое разнообразие БФ, проведение ДНК-диагностики может быть рекомендовано всем пациентам с сочетанием атаксии и полиневропатии (спорадические формы и случаи с аутосомно-рецессивным типом наследования) вне зависимости от возраста дебюта и клинической картины [Anheim M. et al., 2012]. Alvarez V. с соавт. описали пациентку 82 лет с дебютом заболевания в 80 лет, при проведении ДНК-диагностики выявлено гомозиготное носительство GAA-экспансии в гене *FXN* (170 и 1300 повторов), установлен диагноз БФ [Alvarez V. et al., 2013]. Необходимо отметить, что описаны семьи с псевдоминантным типом наследования БФ, что наиболее характерно для инбрендных браков и может затруднять постановку правильного диагноза [Illarioshkin S.N. et al., 2000].

1.3.1.2. *POLG*-ассоциированные атаксии

Мутации в гене *POLG*, кодирующем каталитическую субъединицу митохондриальной полимеразы-гамма, приводят к развитию широкого спектра заболеваний с частично перекрывающимися фенотипами, одним из частых проявлений которых является атаксия [Horvath R. et al., 2006]. В большинстве случаев атаксия сочетается с рядом других проявлений, типичных для *POLG*-ассоциированных заболеваний: наружная прогрессирующая офтальмоплегия, птоз век, проксимальная (реже дистальная) миопатия, сенсорная и сенсомоторная аксональная полиневропатия, эпилепсия, паркинсонизм, двигательные расстройства (дистония, хорей, миоклонус), психические и когнитивные нарушения, нейросенсорная тугоухость, инсультоподобные состояния и мигрень [Руденская Г.Е. с соавт., 2018; Cohen В.Н. et al., 2010; Rahman S. et al., 2019]. Пирамидный синдром встречается крайне редко, что облегчает дифференциальную диагностику с БФ [Synofzik M. et al, 2012]. Наиболее распространенными экстраганеральными проявлениями являются гепатопатия с высоким риском развития фульминантной печеночной недостаточности, гипогонадизм, сахарный диабет, кардиомиопатия [Horvath R. et al., 2006; Cohen В.Н. et al., 2010]. В исследовании Schicks J. с соавт., мутации в гене *POLG* были выявлены у 9 из 80 (11%) пациентов с атаксиями, которым были исключены болезни экспансий, что свидетельствует о высокой распространенности данных заболеваний [Schicks J. et al., 2010].

В литературе на настоящий момент описан ряд классических синдромов, для которых наличие атаксии является характерным проявлением [Cohen В.Н. et al., 2010; Rahman S. et al., 2019]:

- миоклонус-эпилепсия с миопатией и сенсорной атаксией (MEMSA);
- прогрессирующая наружная офтальмоплегия–плюс, при которой, помимо атаксии, могут наблюдаться когнитивные нарушения, паркинсонизм, полиневропатия, миопатия и др.;
- прогрессирующая атаксия с тремором мягкого неба;

- фенотипы с сочетанием атаксии и невропатии (*ataxia neuropathy spectrum, ANS*): синдром SANDO (акроним от «сенситивная атаксия, невропатия, дизартрия, офтальмоплегия») и MIRAS (акроним от «синдром митохондриальной рецессивной атаксии»).

Кроме того, учитывая значительный фенотипический полиморфизм, существует ряд несиндромных форм, отнесение которых к конкретному фенотипу затруднительно [Finsterer J., 2009].

В настоящий момент описано более 300 патогенных мутаций в гене *POLG* [Rahman S. et al., 2019]. Патогенность данных мутаций реализуется двумя путями – развитием множественных делеций мтДНК и истощением мтДНК (снижение числа копий мтДНК в пораженных тканях без ее структурного повреждения), что в конечном счете приводит к нарушению тканевого дыхания и, в ряде случаев, к лактат-ацидозу [Дегтярева А.В. с соавт., 2017]. Описан значительный фенотипический полиморфизм, когда носительство одних и тех же мутаций может приводить к формированию различных синдромов: от летальных младенческих до взрослых «мягких» форм [Rahman S. et al., 2019]. Среди пациентов взрослого возраста с атаксией наиболее часто встречаются синдромы MEMSA, MIRAS и SANDO [Finsterer J., 2009; Schulte C. et al., 2009].

1) MEMSA (включает в себя синдром «спиноцеребеллярной атаксии с эпилепсией») характеризуется сочетанием миоклонической эпилепсии, миопатии и атаксии. В большинстве случаев первым симптомом является медленно прогрессирующая мозжечковая атаксия, дебютирующая в раннем взрослом возрасте. В дальнейшем присоединяется дистальная или проксимальная миопатия, которая может проявляться лишь нарушением толерантности к физическим нагрузкам. Эпилепсия чаще дебютирует с фокального эпилептического миоклонуса верхних конечностей, в дальнейшем генерализуясь, с частым развитием рефрактерных эписпадусов [Cohen B.H. et al., 2010; Finsterer J. et al., 2012].

2) MIRAS – одна из наиболее частых форм АРА в различных популяциях стран Северной Европы и Бельгии, где частота гетерозиготного носительства

патогенных мутаций, ассоциированных с MIRAS (p.W748S и p.A467T), составляет от 0,6 до 2% [Palin E.J. et al., 2012; Mignarri A. et al., 2015]. При MIRAS, помимо атаксии, встречается практически весь спектр неврологических проявлений, характерный для *POLG*-ассоциированных атаксий [Rahman S. et al., 2019].

3) Синдром SANDO впервые описан Fadic R. с соавт. в 1997 г. у четырех пациентов с мутациями в гене *POLG*, множественными делециями мтДНК и характерной клинической картиной в виде сочетания сенситивной атаксии, сенсорной аксональной полиневропатии, дизартрии и офтальмопареза [Fadic R. et al., 1997]. Средний возраст дебюта заболевания составляет 33 года (от 5 до 73 лет) [Hanisch F. et al., 2015]. Как и при БФ, атаксия при синдроме SANDO имеет смешанный характер и обусловлена сочетанным поражением мозжечка, спинальных ганглиев с вторичной дегенерацией аксонов сенсорных волокон нервов [Kirschenbaum D. et al., 2018]. Офтальмопарез и птоз век обусловлен миопатией глазодвигательных мышц, кроме того, в ряде случаев обнаруживаются признаки поражения скелетной мускулатуры конечностей с развитием поясно-конечностной миодистрофии [Milone M. et al., 2008]. Реже при синдроме SANDO встречаются другие неврологические проявления: эпилептические приступы (29%), дисфагия (24%), когнитивные и аффективные расстройства (25%), экстрапирамидные нарушения (миоклонус, дистония, паркинсонизм) [Schulte C. et al., 2009; Hanisch F. et al., 2015; Tranchant C. et al., 2016]. Из экстракраневральных проявлений наиболее часто выявляется сахарный диабет [Horvath R. et al., 2006].

Для *POLG*-ассоциированных атаксий описаны характерные нейровизуализационные признаки: наиболее часто обнаруживают симметричные зоны повышенного МР-сигнала в режимах T2-ВИ и T2-FLAIR в таламусах, базальных ядрах, белом веществе полушарий мозжечка и нижних оливах без признаков накопления контрастного вещества и ограничения диффузии в режиме DWI, реже выявляются атрофические изменения мозжечка и большого мозга, лейкодистрофия больших полушарий мозга [Johansen K.K. et al., 2008; Henaо A.I. et al., 2016]. Могут выявляться инсультоподобные очаги с поражением коры и

подкоркового белого вещества, преимущественно затылочных и теменных долей, сходные с очагами при синдроме MELAS [Anagnostou M.E. et al., 2016].

Важную роль в диагностике *POLG*-ассоциированных атаксий может играть анализ ЭЭГ. Характерным паттерном является обнаружение эпилептиформной активности или локальное замедление коркового ритма в затылочных долях, реже – в лобных и теменных долях, либо мультифокальные изменения ЭЭГ [Engelsen V.A. et al., 2008; Anagnostou M.E. et al., 2016].

Помимо мутаций в гене *POLG*, известны более редкие формы митохондриальных атаксий, ассоциированные с мутациями в других ядерных генах. Мутации в гене *TWINK* (*c10orf2*) могут приводить к формированию фенотипа синдрома SANDO или СЦА с эпилепсией [Finsterer J., 2009], мутации в гене *ANTI* — к прогрессирующей наружной офтальмоплегии с атаксией [Galassi G. et al., 2008], в гене *RNASEH1* – к СЦА с офтальмоплегией, миопатией и ранним развитием дыхательной недостаточности [Bugiardini E. et al., 2017], однако большинство публикаций по данной проблеме содержат описания единичных случаев либо немногочисленные наблюдения [Руденская Г.Е. с соавт., 2018].

1.3.2. Атаксии с нарушением репарации ДНК

Атаксии с нарушением репарации ДНК – гетерогенная группа прогрессирующих нейродегенеративных заболеваний с преимущественным поражением мозжечка и развитием полиневропатии, включающих в себя ряд отдельных нозологических форм: атаксию-телеангиэктазию (АТ), атаксии с окулоmotorной апраксией (АОА), пигментную ксеродерму и др. [Palau F. et al., 2006; Anheim M. et al., 2012; Manto M. et al., 2018]. Известно, что нервная ткань характеризуется высокой интенсивностью окислительного фосфорилирования с повышенной продукцией активных форм кислорода, способных вызывать окислительные модификации азотистых оснований ДНК [Caldecott K.W., 2008]. При данных заболеваниях происходят нарушения процессов репарации поврежденных молекул ДНК (одно- и двунитевых разрывов), поддержания целостности генома и контроля клеточного цикла, что в конечном счете приводит

к нейродегенерации вследствие активации апоптоза, онкогенезу, преждевременному старению [Jiang B. et al., 2017]. Причины и механизмы преимущественного поражения мозжечка и периферических нервов при данных заболеваниях до конца не известны.

Для ряда заболеваний данной группы характерно наличие феномена окуломоторной апраксии (ОА), которая возникает вследствие расстройства зрительного контроля движений глаз, грубого нарушения инициации саккад, что приводит к трудностям при переносе и фиксации взора [Cooper S.A. et al., 2016]. Типичным признаком ОА является значительное нарушение саккад. При ОА больные не могут по команде осуществить как следящие, так и саккадирующие движения глаз. Характерна диссоциация движений головы и глаз, при произвольном взгляде и попытке фиксации взора голова «опережает» глазные яблоки, возникает чрезмерный поворот головы к объекту, возможны толчкообразные движения головы, рефлекторный тонический поворот глаз в противоположную сторону и лишь затем происходит замедленное движение глаз к объекту; «дефиксация» объекта тоже затруднена и требует вспомогательных приемов (мигание и т. п.) [Руденская Г.Е. с соавт., 2012]. Однако необходимо отметить, что ОА, с одной стороны, не является облигатным симптомом для данной группы атаксий и в ряде случаев может отсутствовать. С другой стороны, существует ряд атаксий, при которых может наблюдаться ОА (БФ, болезнь Гоше, SCAR18, СЦА36 и др.) [Manto M. et al., 2018]. Кроме того, для некоторых заболеваний данной группы характерно повышение уровня сывороточного белка альфа-фетопротейна (АФП), что позволяет использовать его в качестве биохимического маркера. АФП является сывороточным гликопротеином с множеством функций (лиганд-связывающая, антиоксидантная, регуляция иммунного ответа и др.) [Молдогазиева Н.Т. с соавт., 2006]. Повышение уровня АФП наблюдается при состояниях, связанных с нарушением целостности ДНК и контроля клеточного цикла: при онкологических заболеваниях, хромосомных aberrациях у плода, а также при атаксиях с нарушением репарации ДНК [Schieving J.H. et al., 2014]. Повышение уровня АФП не является высокоспецифичным и

может выявляться при АТ, АОА 1–4 типов, реже при митохондриальных атаксиях, ассоциированных с мутациями в генах *POLG* и *C10orf2* [Mariani L.L., 2017]. Тем не менее, уровень АФП может иметь дифференциально диагностическое значение: при АОА 2 типа его концентрация составляет около 10–100 МЕ/мл, при АОА 1 типа – 10–20 МЕ/мл, при АТ – 50–500 МЕ/мл. Причины увеличения уровня АФП при данных заболеваниях не ясны [Schieving J.H. et al., 2014].

1.3.2.1. Атаксия-телеангиэктазия

Атаксия-телеангиэктазия (синдром Луи-Бар, синдром Бодера-Сэдживика) – распространенная атаксия дегенеративного генеза, ассоциированная с мутациями в гене *ATM*. Ген включает в себя 66 экзонов и кодирует белок АТМ – фермент из семейства фосфатидилинозитол-3-киназ, который активируется при наличии разрывов двунитевой ДНК и играет важную роль в контроле клеточного цикла, релизации апоптоза и участвует в системах защиты от оксидативного стресса [Shiloh Y., 2003; Ambrose M. et al., 2013]. Частота встречаемости АТ составляет 1 на 40000–100000, среди всех рецессивных атаксий АТ составляет 3–5%, являясь второй по частоте АРА после БФ [Anheim M. et al., 2012].

При классическом фенотипе заболевание дебютирует в возрасте до 5 лет с появления прогрессирующей статико-локомоторной атаксии или гиперкинезов. Клиническая картина представлена мозжечковой атаксией, экстрапирамидными нарушениями (миоклонус – 92%, дистония и хореоатетоз – 89%, тремор – 74%, паркинсонизм – 41%), глазодвигательными нарушениями (окуломоторная апраксия – 82%, нистагм – 59%), сенсомоторной аксональной полиневропатией (73%), реже выявляется пирамидный синдром (20%) [Rothblum-Oviatt C. et al., 2016; Levy A. et al., 2018]. Экстраневральные проявления представлены конъюнктивальными и кожными телеангиэктазиями (84% и 60%, соответственно), проявлениями иммунодефицита (частые кишечные и бронхолегочные инфекции, снижение иммуноглобулинов и лимфоцитов в крови – 67%), повышенной чувствительностью к ионизирующему излучению, прогерическими изменениями кожи [Levy A. et al., 2018]. Пациенты с АТ, а также их гетерозиготные

родственники, имеют повышенный риск развития злокачественных новообразований (до 38%), особенно лейкозов и лимфом (85% всех *ATM*-ассоциированных опухолей), что согласуется с клеточной ролью белка *ATM* [Manto M. et al., 2018]. Повышение уровня белка альфа-фетопротеина в крови наблюдается у 95-98% пациентов, что используется как важный диагностический маркер заболевания [Schieving J.H. et al., 2014; Levy A. et al., 2018]. При МРТ головного мозга выявляются признаки атрофии червя и полушарий мозжечка.

Помимо классического фенотипа, описаны атипичные формы заболевания: взрослая форма с дебютом до 32 лет и медленным прогрессированием заболевания, а также *ATM*-ассоциированная дистония, проявляющаяся в детском или взрослом возрасте в виде фокальной, сегментарной или генерализованной (в ряде случаев — ДОФА-чувствительной) дистонии без атаксии [Verhagen M.M. et al., 2009; Charlesworth G. et al., 2013; Kuhm C. et al., 2015; Lohmann E. et al., 2015]. Установлено, что у пациентов с атипичным фенотипом экспрессия *ATM* и остаточная активность белка *ATM* выше по сравнению с классической формой [Manto M. et al., 2018].

1.3.2.2. Атаксии с окуломоторной апраксией

Атаксии с окуломоторной апраксией (АОА) – гетерогенная группа дегенеративных атаксий, включающая в себя 5 отдельных нозологических форм (АОА 1–5 типов). Наиболее часто в различных популяциях встречаются АОА 1 и 2 типов, реже – АОА 4 типа [Manto M. et al., 2018].

Ген *APTX* состоит из 20 экзонов и кодирует белок апратаксин, который участвует в восстановлении одно- и двуцепочечных разрывов ДНК [Magiani L.L., 2017]. Мутации в данном гене приводят к развитию АОА 1 типа, характеризующейся ранним началом (средний возраст начала 6,8 лет, от 2 до 18 лет), прогрессирующей мозжечковой атаксией, сенсомоторной аксональной полиневропатией (100%), ОА (86%), хореей (79%), дистонией (39%) и когнитивными нарушениями (до 100%) [Renaud M. et al., 2018]. Уровень АФП превышает норму у 41% пациентов, однако отличительными биохимическими

маркерами данного заболевания являются гиперхолестеринемия (у 75% пациентов) и гипоальбуминемия (83%), генез которых до конца не ясен [Yokoseki A. et al., 2011]. При наличии миссенс-мутаций описаны редкие случаи позднего дебюта АОА 1 типа до 40 лет [Crisciolo C. et al., 2005]. При МРТ головного мозга обнаруживают неспецифические признаки атрофии червя и полушарий мозжечка.

Ген *SETX* состоит из 33 экзонов и кодирует белок сенатаксин. Сенатаксин является РНК/ДНК геликазой, что объясняет его основную функцию — регуляцию транскрипции и обеспечение стабильности генома. Помимо этого, сенатаксин участвует в реализации противовирусного клеточного ответа, регуляции сплайсинга РНК и рекомбинации хромосом в процессе мейоза [Manto M. et al., 2018]. Мутации в данном гене в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии приводят к развитию АОА 2 типа, характеризующейся более поздним по сравнению с АОА 1 типа и АТ возрастом дебюта (около 15 лет), описаны случаи начала от 2 до 30 лет [Lu C. Et al., 2016]. В 98–100% случаев развивается как сенсорная, так и сенсомоторная аксональная полиневропатия [Gazulla J. et al., 2009; Gazulla J. et al., 2010]. Отмечаются парезы и гипотрофии, преимущественно дистального типа, снижение вибрационной, тактильной (57%) чувствительности, суставно-мышечного чувства (74%), снижение и выпадение глубоких рефлексов, высокие своды стоп, реже — формирование *pes cavus*, чем объясняется фенотипическое сходство с болезнью Фридрейха. По данным Anheim M. с соавт., пирамидные знаки встречались у 20,5% пациентов [Anheim M. et al., 2009].

Среди гиперкинезов для АОА 2 типа наиболее характерны постуральный тремор головы (14%), дистония (13,5%), хорей и хореоатетоз (9,5%) [Anheim M. et al., 2009]. Дистония чаще встречается у пациентов с более мягким фенотипом заболевания: при наличии миссенс-мутаций в геликазном домене сенатаксина дистония выявлялась в 41,7% случаев, в то время как при более тяжелом течении заболевания, ассоциированном с миссенс-мутациями вне геликазного домена, нонсенс-мутациями и делециями, дистония выявлялась у менее 10% пациентов [Pearson T.S. et al., 2016]. В единичных случаях определяются конъюнктивальные телеангиэктазии, дисфагия, тазовые нарушения [Moreira M. Et al., 2018].

При проведении МРТ головного мозга обнаруживают признаки атрофии мозжечка (преимущественно червя) различной степени выраженности, реже выявляется легкая/умеренная атрофия ствола головного мозга, истончение спинного мозга [Nanetti L. et al., 2013].

Биохимическим маркером АОА 2 типа является повышение концентрации АФП в сыворотке крови. При исследовании 90 пациентов с АОА 2 типа отмечена отрицательная корреляция уровня АФП с пирамидными знаками, страбизмом и тремором головы, однако корреляции с ОА обнаружено не было [Anheim M. et al., 2009].

Наблюдения пациентов с АОА 3 типа (ген *PIK3R5*) и АОА 5 типа (ген *XRCC1*) представлены описанием единичных семей из Саудовской Аравии и Пакистана, поэтому говорить о фенотипических особенностях данных заболеваний в настоящий момент затруднительно [Al Tassan N. et al., 2012; Emer O'Connor E. et al., 2018].

АОА 4 типа, связанная с носительством мутаций в гене *PNKP*, наиболее часто дебютирует в детском возрасте [Paucar M. et al., 2016]. В клинической картине отмечаются типичные проявления АОА (атаксия, полиневропатия, ОА, гиперкинезы), нередко когнитивные нарушения и ожирение. В анализах крови отмечаются признаки, характерные как для АОА 1 типа (гипоальбуминемия и гиперхолестеринемия), так и для АОА 2 типа (повышение уровня АФП) при нормальных уровнях иммуноглобулинов [Dumitrache L. et al., 2017]. На 2018 г. в мире описаны 18 семей с АОА 4 типа, в том числе 2 пациента из Белоруссии [Rudenskaya G.E. et al., 2019].

1.3.3. Спастические атаксии и наследственные спастические параплегии с атаксией

По современным представлениям, наследственные атаксии и параплегии являются единым спектром нейродегенеративных заболеваний – *спиноцереbellарных дегенераций*, различаясь между собой степенью поражения верхнего мотонейрона и выраженностью атаксии (Рисунок 1) [Ruano L. et al., 2014].

Между неосложненными наследственными спастическими параплегиями (НСП) и «чистыми» атаксиями находятся ряд переходных форм: НСП-плюс с атаксией (пирамидный синдром > атаксии), спастические атаксии (пирамидный синдром = атаксия) и СЦА (атаксия > пирамидного синдрома).



Рисунок 1 – Континуум спиноцереbellярных дегенераций

Подтверждением данной концепции являются многочисленные наблюдения аллельных вариантов заболеваний, обусловленных мутациями в гене *SPG7* (белок параплегин, компонент митохондриального ААА-протеазного комплекса), которые могут приводить как к НСП (осложненные и неосложненные формы — НСП 7 типа), так и к АРА с пирамидным синдромом и фенотипу «чистой атаксии» [Manto M. et al., 2018; Руденская Г.Е. с соавт., 2019]. Было показано, что симптомы атаксии наблюдаются у 39–57% пациентов с НСП 7 типа [van Gassen K.L. et al., 2012]. С другой стороны, носительство мутаций в гене *SPG7* могут обуславливать от 18% до 38% случаев среди атаксий неясной этиологии, что делает эту форму одной из наиболее частых АРА среди взрослых пациентов [Choquet K. et al., 2016]. Средний возраст дебюта составляет около 30 лет (от 10 до 69 лет), в клинической картине наблюдаются мозжечковая атаксия, пирамидный синдром, атрофия мозжечка по данным МРТ (у 40% пациентов), реже встречаются офтальмоплегия, атрофия зрительных нервов и тазовые нарушения [Klebe S. et al., 2012].

Особые трудности для дифференциального диагноза представляют АРА с пирамидным синдромом и осложненные формы АР-НСП с атаксией. Наиболее часто встречающейся АР-НСП с атаксией является НСП 11 типа, связанная с носительством мутаций в гене спатаксина (*SPG11*) и проявляющаяся

прогрессирующим нижним спастическим парапарезом с тазовыми нарушениями, атаксией, когнитивными нарушениями, паркинсонизмом, полиневропатией с дистальными амиотрофиями и пигментной дегенерацией сетчатки [Stevanin G. et al., 2008; de Souza P.V.S. et al., 2017]. Заболевание дебютирует в подростковом и раннем взрослом возрасте, при МРТ головного мозга обнаруживают характерную нейровизуализационную картину – истончение мозолистого тела и гиперинтенсивный сигнал от перивентрикулярного белого вещества у передних рогов боковых желудочков (симптом «ушей рыси») [Pascual B. et al., 2019].

Спастические атаксии – группа разнообразных по этиологии, патогенезу и клиническим проявлениям нейродегенеративных заболеваний, объединенных общим синдромокомплексом – сочетанием атаксии и спастического парапареза. В данную группу входят ряд АРА (атаксия Шарлевуа-Сагенэ, БФ, *SPG7*-ассоциированная атаксия и др.), аутосомно-доминантные СЦА (СЦА 1, 3, 8 и др. типов), наследственные болезни обмена веществ (церебротендинальный ксантоматоз и др.), лейкодистрофии (болезнь Александра и др.), некоторые нейродегенерации с накоплением железа в головном мозге, а также ряд редких фенотипов, объединенных в отдельную группу спастических атаксий (SPAХ 1–5 типов) [de Bot S.T. et al., 2012]. Данное объединение различных заболеваний является искусственным, однако оправдано для упрощения проведения дифференциального диагноза.

Спастическая атаксия Шарлевуа-Сагенэ – одна из наиболее частых форм АРА после БФ и АТ, широко распространенная в большинстве популяций мира [Anheim M. et al., 2012; Pilliod J. et al., 2015]. Заболевание начинается в раннем детстве (около 1 года) и проявляется сочетанием пирамидного синдрома (прогрессирующая спастичность, патологические рефлексy и гиперрефлексия), мозжечковой атаксии и аксонально-демиелинизирующей полиневропатии с дистальными амиотрофиями и деформациями стоп с формированием фридрейхоподобного фенотипа [Fogel B.L. et al., 2007]. Реже могут развиваться когнитивные и тазовые нарушения, офтальмоплегия, эписиндром [Ali Z. et al., 2016; Nascimento F.A. et al., 2016]. При офтальмоскопии обнаруживают характерную

картину – гипермиелинизацию нервных волокон сетчатки, при МРТ головного мозга – атрофию ростральных отделов червя мозжечка, тигроидный паттерн в варолевом мосту (линейные участки гипоинтенсивного сигнала на T2-ВИ и T2-FLAIR), истончение мозолистого тела и спинного мозга [Pablo L.E. et al., 2011; Bouhlal Y. et al., 2011]. Заболевание развивается вследствие мутаций в гене *SACS*, кодирующем белок саксин, участвующий в убиквитин-протеазной системе и процессинга атаксина-1 [Parfitt D.A. et al., 2009].

1.3.4. Лизосомные болезни накопления с атаксией

Лизосомные болезни накопления (ЛБН) – группа заболеваний, обусловленных нарушением внутрилизосомного гидролиза макромолекул (гликозаминогликанов, гликолипидов и гликопротеинов) и накоплением данных субстратов в клетке, что в конечном счете приводит к ее гибели [Михайлова С.В. с соавт., 2017]. Наиболее часто атаксия наблюдается в клинической картине болезни Ниманна-Пика типа С (БНП-С), болезни Гоше, поздних форм нейрональных цероидных липофусцинозов, болезни Краббе, GM1- и GM2-ганглиозидозов.

БНП-С – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, связанное с нарушением внутриклеточного транспорта холестерина и других липидов, приводящим к накоплению неэстерифицированного холестерина в лизосомах и эндосомах [Клюшников С.А., 2014]. В 95% случаев БНП-С вызвана носительством мутаций в гене *NPC1*, примерно в 4% - *NPC2*, в 1% случаев мутации в данных генах не обнаруживаются [Patterson M.C. et al., 2017]. Клиническая картина заболевания и возраст дебюта характеризуются значительным полиморфизмом. Выделяют 3 группы синдромов: (1) висцеральный синдром (гепато-/спленомегалия, тромбоцитопения, водянка плода, затянувшаяся желтуха новорожденных); (2) неврологические проявления (вертикальный надъядерный паралич взора, атаксия, дистония, мышечная гипотония, дизартрия, дисфагия, эпилептические приступы, геластическая катаплексия и др.); (3) психические нарушения (ранние когнитивные нарушения, психозы, агрессивное поведение и др.) [Клюшников С.А., 2012]. Атаксия встречается в большинстве случаев БНП-С, что позволяет рассматривать данное

заболевание в структуре других классических АРА [Anheim M. et al., 2012]. Особенностью атаксии является преобладающая замедленность, неуклюжесть пациентов при относительно удовлетворительном выполнении координаторных и статических проб. Выраженные атрофические изменения мозжечка могут выявляться при длительном течении заболевания [Walterfang M. et al., 2013]. Для взрослых пациентов полиневропатия нехарактерна, однако она может развиваться при проведении патогенетической субстратредуцирующей терапии препаратом миглустат, доказавшим свою эффективность в ряде клинических исследованиях [Селиверстов Ю.А., 2016; Pineda M. et al., 2018]. Для верификации диагноза используют ряд биохимических маркеров (концентрация триола, 7-кетохолестерина, лизосфингомиелина, активность хитотриозидазы), однако «золотым стандартом» является секвенирование генов *NPC1* и *NPC2* [Прошлякова Т.Ю. с соавт., 2016].

Болезнь Гоше – аутосомно-рецессивная ЛБН из группы сфинголипидозов, обусловленная носительством мутаций в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*) [Михайлова С.В. с соавт., 2017]. Атаксия характерна для подострой нейропатической формы (тип 3), сочетаясь с когнитивными, экстрапирамидными и глазодвигательными нарушениями, эписиндромом и психическими расстройствами, а также висцеральными проявлениями, формируя фенотип, клинически схожий с БНП-С [Hagit N. et al., 2014].

Синдром атаксии характерен для ряда поздних форм нейрональных цероидных липофусцинозов (НЦЛ) – болезни Куфса – гетерогенной группы нейрометаболических заболеваний, характеризующимися сочетанием миоклонус-эпилепсии, атаксии, экстрапирамидных, когнитивных и психических нарушений, а также атрофией зрительных нервов и пигментной дегенерации сетчатки. Возраст дебюта заболевания широко варьирует от второго до шестого десятилетия [Mole S.E. et al., 2013]. Идентифицированы несколько генов, приводящих к развитию болезни Куфса с атаксией: *CLN6* (НЦЛ4А), *GRN* (НЦЛ11), *CTSF* (НЦЛ13), *CLN5* (НЦЛ5) и другие [Руденская Г.Е. с соавт., 2018]. Однако необходимо отметить, что

данные формы являются крайне редкими и в большинстве случаев представлены немногочисленными наблюдениями [Руденская Г.Е. с соавт., 2018].

Болезнь Краббе – ЛБН из группы сфинголипидозов, обусловленная носительством мутаций в гене *GALC*, кодирующим лизосомный фермент галактоцереброзидазу. По своей патоморфологической и нейровизуализационной картине заболевание относится к лейкодистрофиям. Характерными признаками для ювенильных и поздних форм являются пирамидный синдром, атрофия зрительных нервов, полиневропатия, атаксия, когнитивные и тазовые нарушения, атрофия и фасцикуляции мышц языка [Debs R. et al., 2013]. При МРТ головного мозга обнаруживают поражение белого вещества зрительной лучистости, валика мозолистого тела и пирамидных трактов [Серков с соавт., 2003]. Хотя атаксия не является превалирующим синдромом, однако она может встречаться преимущественно при ювенильных и поздних формах, что требует проведения дифференциального диагноза с другими АРА [Клюшников С.А. с соавт., 2012].

Болезнь Тея-Сакса – GM2-ганглиозидоз, связанный с пониженной активностью фермента гексозаминидазы А вследствие мутаций в гене *HEXA*. Для поздней формы болезни Тея-Сакса характерно сочетание мозжечковой атаксии и признаков поражения нижнего мотонейрона (вялые парезы и амиотрофии) разной степени выраженности: иногда заболевание дебютирует как спинальная мышечная атрофия, тогда как атаксия присоединяется на более поздних этапах [Руденская Г.Е. с соавт., 2018]. В клинической картине могут сопутствовать когнитивные и психиатрические нарушения, бульбарный синдром, дистония и эпилептические приступы [Shapiro В.Е. et al., 2008]. Возраст начала заболевания варьирует от детского до пожилого возраста [Руденская Г.Е. с соавт., 2015]. При МРТ головного мозга в ряде случаев обнаруживают признаки атрофии мозжечка (иногда при отсутствии клиники атаксии), что затрудняет дифференциальный диагноз с СЦА и другими формами АРА. В нашей стране имеется пока единственное описание пациента с верифицированной болезнью Тея-Сакса с поздним началом и характерной клинической картиной [Руденская Г.Е. с соавт., 2015].

1.3.5. *PNPLA6*-ассоциированные и другие формы АРА

Ген *PNPLA6* состоит из 37 экзонов и кодирует пататинподобный фосфолипазный домен-содержащий белок 3, катализирующий гидролиз мембранного фосфатидилхолина до жирных кислот и глицерофосфохолина [Zaccheo O. et al., 2004]. Данный фермент в наибольшей степени экспрессируется в сетчатке, гипофизе, мозжечке и перивентрикулярных областях развивающегося мозга [Hufnagel R.B. et al., 2015]. Было показано, что мутации в данном гене приводят к нарушению обмена ацетилхолина и липидов, транспорта фосфолипидов и нейрональной дифференцировке в ходе онтогенеза [Synofzik M. et al., 2014]. Частыми проявлениями *PNPLA6*-ассоциированных синдромов являются мозжечковая атаксия, гипогонадотропный гипогонадизм и пигментная дегенерация сетчатки, что согласуется с данными о роли данного белка и степени его экспрессии в различных тканях [Synofzik M. et al., 2014].

Впервые в 2008 г. было обнаружено, что носительство мутаций в гене *PNPLA6* приводит к развитию осложненной формы НСП (НСП 39 типа) [Rainier S. et al., 2008]. В дальнейшем с появлением методов MPS мутации в данном гене были выявлены у пациентов с двумя схожими фенотипами – синдромом Буше-Нойхаузера (СБН) и синдромом Гордона Холмса (СГХ) [Deik A. et al., 2014]. По современным данным, *PNPLA6*-ассоциированные синдромы представляют собой единый спектр нейродегенеративных заболеваний с перекрывающимися фенотипами: «чистая» мозжечковая атаксия, атаксия в сочетании с дистонией, хореей и эписиндромом, пигментная дегенерация сетчатки, гипогонадизм, болезнь двигательного нейрона, синдром Оливера-МакФарлана, синдром Лоренса-Муна, конгенитальный амавроз Лебера [Hufnagel R.B. et al., 2015; Kmoch S. et al., 2015; Wiethoff S. et al., 2017; Salgado P. et al., 2019].

Классический СБН включает в себя триаду синдромов: мозжечковую атаксию, хориоретинальную дистрофию и гипогонадотропный гипогонадизм, реже могут выявляться негрубый пирамидный синдром, сенсомоторная полиневропатия, дистония, легкие когнитивные нарушения [Tarnutzer A.A. et al., 2015]. В большинстве случаев заболевание является медленно прогрессирующим

со значительной вариабельностью возраста дебюта и выраженности клинических проявлений: снижение зрения и атаксия могут развиваться на первой–третьей декаде жизни (чаще в детском возрасте), гипогонадизм дебютирует в пубертатном периоде [Zheng R. et al., 2018]. На МРТ головного мозга обнаруживают признаки атрофии червя и полушарий мозжечка, реже – атрофию ствола мозга или больших полушарий; при офтальмологическом обследовании выявляют снижение остроты и изменения полей зрения, нарушения цветовосприятия, картину хориоретинальной дистрофии при офтальмоскопии [Tarnutzer A.A. et al., 2015]. В крови отмечается низкий уровень гонадотропинов как следствие поражения аденогипофиза [Tojo K. et al., 1995].

СГХ – клинически гетерогенный синдром, в редких случаях связанный с мутациями в гене *PNPLA6*. Для СГХ характерны мозжечковая атаксия и гипогонадизм, однако, в отличие от СБН, часто выявляется пирамидный синдром и отсутствует ретинопатия [Salgado P. et al., 2019]. Примечательно, что одни и те же мутации в гене *PNPLA6* могут приводить как к СБН, так и к СГХ [Teive H.A.G. et al., 2018].

Дифференциальный диагноз СБН и СГХ чаще всего необходимо проводить с митохондриальными болезнями (синдром NARP, делеции мтДНК и др.), СЦА 7 типа, витамин Е-дефицитной атаксией, БФ, реже — с носительством экспансии в гене *FMRI* (при сочетании атаксии и овариальной недостаточности).

Значительная часть АРА представлена врожденными и младенческими формами с тяжелым инвалидизирующим течением и высокой смертностью. Другие формы АРА, которые могут наблюдаться у пациентов взрослого возраста, представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Другие формы аутосомно-рецессивных атаксий

Ген	Заболевание	Клиническая картина
<i>TTPA</i>	Атаксия с дефицитом витамина Е	Фридрейхоподобный фенотип: атаксия, сенсорная полиневропатия, гипо-/арефлексия, снижение вибрационной и проприоцептивной чувствительности, пигментный ретинит. В крови снижен уровень витамина Е
<i>CYP27A1</i>	Церебротендинальный ксантоматоз	Атаксия, пирамидный синдром, полиневропатия, эпилепсия, паркинсонизм, дистония, когнитивные и психические нарушения; ранняя катаракта, хроническая диарея, мальабсорбция, ранний атеросклероз, остеопороз, ксантомы сухожилий и мышц, ксантелазмы
<i>MTTP</i>	Абеталипопротеинемия (синдром Бассена–Корнцвейга)	Атаксия, полиневропатия, ретинопатия, гепатомегалия и стеатоз/цирроз печени, задержка роста, стеаторея. В крови — акантоцитоз, снижен уровень витаминов D, Е, К, А; холестерина и триглицеридов
<i>PHYH</i>	Болезнь Рефсума	Атаксия, полиневропатия, пигментный ретинит, тугоухость, anosmia, ихтиоз, кардиомиопатия. Повышение уровня фитановой кислоты в крови, гиперпротеинархия в ликворе
<i>SYNE1</i>	SCAR8	Фенотип «чистой» атаксии, реже — пирамидный синдром, поражение нижнего мотонейрона, когнитивные нарушения, полиневропатия
<i>ADCK3</i>	SCAR9	Фенотип «чистой» атаксии, реже — гиперкинезы (миоклонус, дистония), пирамидный синдром, эпилепсии, когнитивные нарушения. В анализах крови — лактат-ацидоз
<i>ANO10</i>	SCAR10***	Атаксия, пирамидный синдром, поражение нижнего мотонейрона, когнитивные и тазовые нарушения, эпилепсии, брадикинезия
<i>STUB1</i>	SCAR16***	Атаксия, пирамидный синдром, эпилепсия, экстрапирамидные гиперкинезы, когнитивные и тазовые нарушения, сенсорная полиневропатия, гипогонадизм
<i>PLA2G6</i>	ННЖГМ 2 типа***	Дистония, паркинсонизм, атаксия (при ранних формах), когнитивные и психические нарушения, пирамидный синдром, эпилепсии, аксональная сенсорная полиневропатия, атрофия зрительных нервов

<i>SIL1</i>	Синдром Маринеску-Шегрена	Атаксия, задержка психомоторного развития, миопатия, катаракта, низкорослость, скелетные деформации, гипогонадизм
<i>TDP1</i>	AP-СЦА с аксональной невропатией (SCAN1)	Атаксия, аксональная сенсомоторная полиневропатия, гиперхолестеринемия
<i>MRE11</i>	Атаксия-телеангиэктазия-подобный синдром	Атаксия, дистония, атетоз, хорья, миоклонус, окуломоторная апраксия, полиневропатия
<i>L2HGDH</i>	L-2-гидроксиглутаровая ацидурия	Задержка психомоторного развития, атаксия, макроцефалия, эпилепсия, пирамидный синдром, экстрапирамидные нарушения
<i>EPM2A</i> <i>NHLRC1</i>	Болезнь Лафоры	Эпиприступы (преимущественно миоклонические), дроп-атаки, атаксия, миоклонус, психические и когнитивные нарушения
<i>ATP7B</i>	Гепатолентикулярная дегенерация	Дистония, паркинсонизм, тремор, хорья, атаксия, пирамидный синдром, когнитивные и психические нарушения, поражение печени, анемия, тромбоцитопения, тубулопатия, кольцо Кайзера-Флейшера

Примечание: SCAR (spinocerebellar ataxia recessive) — аутосомно-рецессивная спиноцеребеллярная атаксия; ННЖГМ — нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге.

*** — формы, выявленные в данном исследовании

Данные взяты из публикаций Beaudin M. et al., 2017; Rossi M. et al., 2018; базы данных OMIM (<https://www.omim.org>).

1.4. Технологии массового параллельного секвенирования в диагностике аутосомно-рецессивных атаксий

До недавнего времени ДНК-диагностика отдельных форм АРА проводилась методом классического секвенирования генов-кандидатов методом Сэнгера, выбор которых основывался на клинической картине заболевания [Pang S.Y. et al., 2017]. Однако данный подход является трудоемким в диагностике такой сложной и гетерогенной по фенотипическому полиморфизму группе заболеваний как АРА [Galatolo D. et al., 2018]. Значительное перекрытие фенотипов, наличие аллельных вариантов и атипичных форм диктовали необходимость последовательного секвенирования множества генов-кандидатов, однако большинство таких генов являются достаточно протяженными и содержат большое количество экзонов (например, 154 экзона в гене *SYNE1*), что делает этот подход крайне затруднительным и дорогостоящим [Pang S.Y. et al., 2017].

Ситуация изменилась, когда в 2009 году были разработаны и позже внедрены в клиническую практику новейшие высокопроизводительные технологии массового параллельного секвенирования (Massive Parallel Sequencing, MPS), позволяющие за один рабочий цикл генерировать миллиарды нуклеотидных последовательностей, что обеспечивает параллельный анализ сотен выбранных генов или даже тотальное секвенирование всего генома [Erdmann J., 2011; Hui P., 2014]. Технологии MPS позволяют производить огромный объем данных с повышенной точностью, скоростью и пропускной способностью секвенирования и, следовательно, с меньшими финансовыми затратами. Разработаны три основных подхода MPS: (1) панельное секвенирование – наиболее эффективный метод анализа кодирующих областей ограниченного числа генов, включенных в панель; (2) секвенирование экзона (whole exome sequencing, WES), то есть секвенирование 1% всего генома человека, где расположены до 85% всех патогенных мутаций; (3) секвенирование генома (whole genome sequencing, WGS), наиболее дорогостоящий и ресурсоемкий метод, способный

обнаруживать мутации в кодирующих и некодирующих областях, а также вариации числа копий генов (copy number variations, CNV) [Xue Y. et al., 2015]. На сегодняшний день панельное секвенирование продолжает широко использоваться в клинической практике, поскольку позволяет проводить целевое исследование генома в пределах интересующих локусов, однако для диагностики групп заболеваний со сложными и перекрывающимися фенотипами, которыми являются АРА, все чаще используются методы WES и WGS [Galatolo D. et al., 2018].

Другой возможностью технологии MPS является поиск новых генов, ассоциированных с определенным фенотипом. До эпохи MPS идентификацию генов осуществляли методами позиционного клонирования и анализа сцеплений с последующим сэнгеровским секвенированием, однако данный подход требует наличия больших семей с достаточным количеством больных и здоровых родственников, что малоприменимо для АРА [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2002]. Появление MPS в первом десятилетии 2000-х годов оказало значительное влияние на всю область клинической генетики и привело к лавинообразному открытию многих новых генов, ассоциированных с развитием АРА (Рисунок 2). Кроме того, в последние годы технологии MPS, позволяющие проводить скрининг больших групп пациентов, позволили обнаружить новые мутации в известных генах атаксий и определить распространенность мутаций в различных популяциях мира, изначально присущих только определенным группам населения [Ruano L. et al., 2014; Keogh M.J. et al., 2015].



Рисунок 2 – Открытие новых генов, ассоциированных с АРА, в разные годы [Galatolo D. et al., 2018]

Особые трудности представляют биоинформатический анализ данных, полученный методом MPS, и интерпретация выявленного множества вариантов, каждый из которых необходимо трактовать как мутацию или полиморфизм. Помощь в решении данной проблемы оказывает руководство по интерпретации данных ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) [Richards S. et al., 2015], переведенное на русский язык и адаптированное для применения в клинической практике в 2017 году [Рыжкова О.П. с соавт., 2017]. Данные рекомендации предполагают использовать ряд критериев для оценки патогенности/доброкачественности выявленных вариантов, основываясь на нескольких параметрах (функциональная значимость мутации, оценка по программам предсказания патогенности *in silico*, частота минорного аллеля, данные о сегрегации в семье и др.). Таким образом, данный унифицированный алгоритм позволяет с высокой точностью определить степень патогенности выявленного варианта и его возможную связь с заболеванием. Тем не менее, у методов MPS имеется ряд ограничений, связанных с неполным покрытием целевых участков генома, что может приводить к ошибочно выявляемым вариантам [Koboldt D.C. et al., 2010, Meienberg J. et al., 2016]. Именно поэтому все обнаруженные варианты

требуют подтверждения «золотым стандартом» – секвенированием по методу Сэнгера. Кроме того, технологии панельного секвенирования и WES не способны обнаружить CNV (крупные делеции/инсерции, хромосомные aberrации), мутации в интронных областях вне сайтов сплайсинга, а также мутации, связанные с экспансией микросателлитных повторов (БФ, ряд АД-СЦА), что необходимо учитывать при планировании исследования и интерпретации результатов [Richards S. et al., 2015].

С 2013 года появились публикации, посвященные исследованию групп пациентов с наследственными атаксиями, также в ряд работ были включены пациенты с НСП. В трех работах обследовали только пациентов с предполагаемыми АРА. Во всех работах перед проведением MPS исключали атаксии, вызванные экспансией микросателлитных повторов (БФ, некоторые формы СЦА, *FMRI*-ассоциированные заболевания). Процент верифицированных методами MPS атаксий варьирует от 16% до 61%, среднее значение — 36% (Таблица 2).

Таблица 2 – Исследования наследственных атаксий с использованием MPS

Исследование	Число пациентов	Спектр нозологий	Метод MPS	% верифицированных случаев
Nemeth A.H. et al., 2013	50	АРА+СЦА	ТПС	18%
Ohba C. et al., 2013	25	АРА	WES	39%
Sawyer S.L. et al., 2014	28	АРА	WES	46%
Fogel B.L. et al., 2014	76	АРА+СЦА	WES	61%
Pyle A. et al., 2015	22	АРА+СЦА	WES	41%
Keogh et al., 2015	12	Спорадич.	WES	33%
Mallaret M. et al., 2016	145	АРА	ТПС	16%
van de Warrenburg B.P. et al., 2016	28	АРА+СЦА	WES	36%
Marelli C. et al., 2016	33	АРА+СЦА	WES	42%
Hadjivassiliou M. et al., 2017	146	АРА+СЦА	ТПС	32%
Iqbal Z. et al., 2017	105	АРА+СЦА+НСП	ТПС	29%
Sun M. et al., 2019	170	АРА+СЦА	ТПС	52%
Kang C. et al., 2019	80	АРА+СЦА	ТПС+WES	29%

Данные исследования позволили охарактеризовать нозологический спектр изучаемых патологий в различных популяциях, выявить ряд новых мутаций в известных генах, а также расширить представления о фенотипическом полиморфизме и аллельных вариантах наследственных атаксий и параплегий. Например, было показано, что мутации в гене *SPG7* (классическая форма осложненной НСП) в 50% случаев связаны с фенотипом аутосомно-рецессивной спастической атаксии [Boycott K.M. et al., 2013]. С другой стороны, мутации в гене *SYNE1* (SCAR8) могут приводить к осложненным формам НСП [Synofzik M. et al., 2016]. Данные работы показывают, что при исследовании пациентов с АРА, в таргетные мультигенные панели целесообразно включать не только гены, ассоциированные с развитием атаксий, но и гены из других групп заболеваний (НСП, лейкодистрофии, нейрометаболические расстройства, нарушения обмена металлов и др.), либо использовать технологии WES или WGS [Galatolo D. et al., 2018].

1.5. Лечение аутосомно-рецессивных атаксий

Для большинства АРА в настоящий момент лечение остается симптоматическим, лишь для некоторых форм разработаны методы патогенетической терапии: препараты идебенона или коэнзима Q10 при болезни Фридрейха, витамин Е при атаксии с дефицитом витамина Е и абеталипопротеинемии, миглустат при болезни Ниманна-Пика типа С, диета с ограничением поступления фитановой кислоты и плазмаферез при болезни Рефсума, хенодеоксихолевая кислота при церебросухожильном ксантоматозе, кетогенная диета при дефиците Glut1 [Braga Neto P. et al., 2016]. Активно используются методы лечебной гимнастики, эрготерапии, логопедические занятия, доказавшие свою эффективность в некоторых крупных исследованиях [Milne S.C. et al., 2017].

Таким образом, анализ литературы показал, что АРА являются обширной и гетерогенной, но малоизученной группой нейродегенеративных

заболеваний с большим количеством перекрывающихся фенотипов. Отечественные публикации, посвященные данной проблеме, немногочисленные и представлены единичными наблюдениями или сериями случаев. В настоящий момент не разработан алгоритм дифференциальной диагностики АРА с использованием технологии MPS и учетом спектра нозологий, применимый для использования в отечественном здравоохранении. Необходимо отметить, что ряд АРА являются потенциально курабельными заболеваниями с относительно благоприятным прогнозом, что требует совершенствования методов их своевременной диагностики.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, ДИЗАЙН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общий дизайн и методология исследования

Работа выполнена на базе ФГБНУ «Научный центр неврологии» (ФГБНУ НЦН). Клиническая часть работы проводилась в 5-м неврологическом отделении ФГБНУ НЦН и амбулаторно в научно-консультативном отделении ФГБНУ НЦН. Молекулярно-генетические исследования выполнялись в ДНК-лаборатории 5-го неврологического отделения ФГБНУ НЦН. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 9-2/18 от 14.11.2018 г.). Перед проведением исследования все пациенты были ознакомлены с предстоящими процедурами и подписали информированное согласие.

В исследование вошла невыборочная серия пациентов взрослого возраста с мозжечковой атаксией дегенеративного генеза, наблюдавшихся в ФГБНУ НЦН с 2016 г. по 2019 г. В общей сложности в ходе работы были обследованы 87 пациентов.

Критерии включения в исследование:

1. полученное разрешение на обработку персональных данных и подписанное информированное согласие на участие в исследовании;
2. возраст пациентов старше 18 лет;
3. дебют заболевания до 50 лет;
4. прогрессирование заболевания в течение более 1 года;
5. спорадические и семейные случаи с аутосомно-рецессивным типом наследования.

Критерии невключения в исследование:

1. возраст менее 18 лет;
2. дебют заболевания в возрасте более 50 лет;
3. семейный анамнез, свидетельствующий об аутосомно-доминантном, митохондриальном или X-сцепленном типе наследования;
4. установленные другие причины атаксии.

Критерии исключения из исследования:

1. отказ пациента от участия в исследовании на любом этапе;
2. противопоказания к проведению МРТ и электромиографии;
3. выраженные психические расстройства и наличие тяжелой соматической патологии.

Дизайн исследования. Работа выполнялась в несколько последовательных этапов (Рисунок 3).

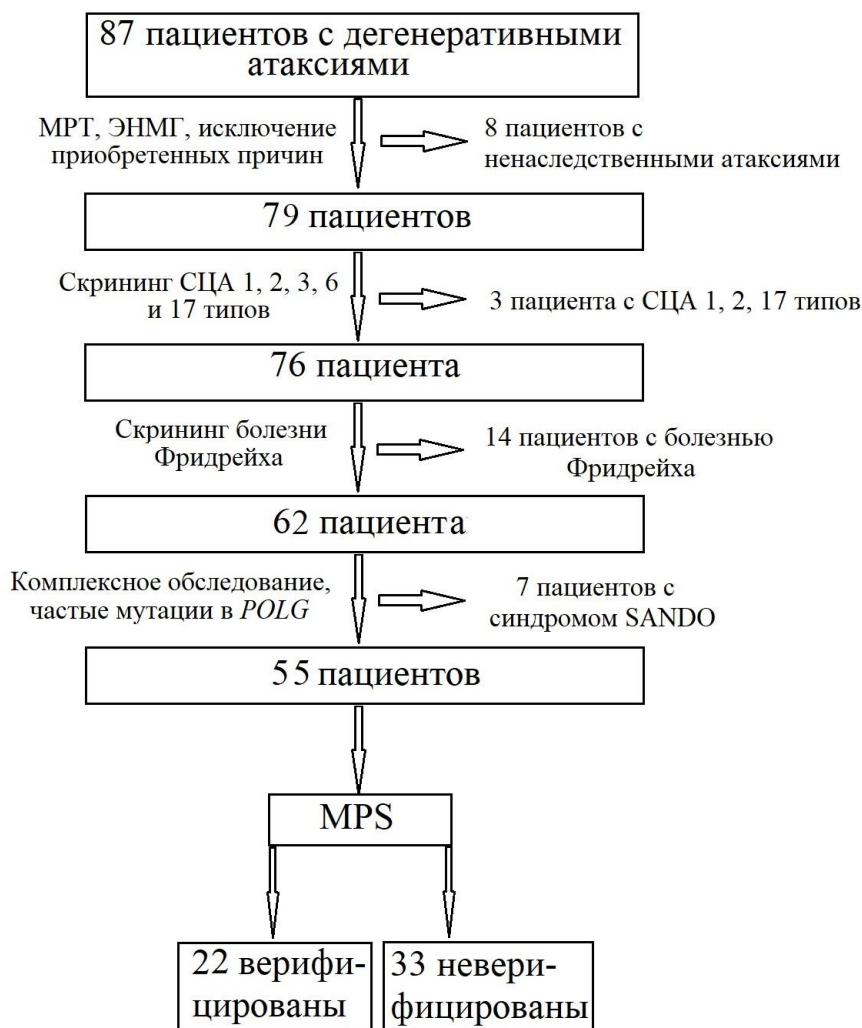


Рисунок 3 – Алгоритм диагностики АРА, использованный в настоящем исследовании

В исследование диагностического алгоритма АРА были включены 87 пациентов с прогрессирующей атаксией предположительно дегенеративного генеза. На первом этапе проводилось подробное исследование неврологического и

соматического статуса, сбор общего и генеалогического анамнеза с акцентом на выявление инбрендных браков в семье, уточнялась национальность пробанда. Оценка выраженности атаксии осуществлялась с использованием соответствующих шкал:

1. Шкала SARA (англ. *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* – Шкала оценки и определения степени атаксии). Данная шкала состоит из 8 оценочных модулей — ходьба, стояние, сидение, речь, пальцевое слежение, пальце-носовая проба, проба на дисдиадохокинез, пяточно-коленная проба. Суммарный балл по шкале SARA возможен в диапазоне от 0 (норма) до 40 (тяжелая атаксия), см. Приложение 1.
2. Шкала ICARS (англ. *International Cooperative Ataxia Rating Scale* – Международная объединённая шкала оценки атаксии). Шкала включает в себя 4 крупных блока: оценка статической атаксии (ходьба, стояние, сидение, максимум 34 балла), оценка динамической атаксии (пальце-носовая проба, проба на дисдиадохокинез, пяточно-коленная проба, рисование спирали Архимеда, максимум 52 балла), оценка речи (максимум 8 баллов) и оценка глазодвигательных нарушений (максимум 6 баллов). Отсутствие атаксии соответствует 0 баллам, тяжелая атаксия – 100 баллов. Шкала ICARS позволяет более точно оценивать выраженность атаксии, однако на ее выполнение затрачивается больше времени, чем на шкалу SARA (Приложение 2).

Данные шкалы валидированы и применяются при клинической оценке выраженности различных форм атаксий, преимущественно АД-СЦА и АРА [Brandsma R. et al., 2017].

Для скрининга когнитивных нарушений применялась Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCA): максимальный балл – 30, что соответствует норме, когнитивные нарушения соответствовали $MoCA < 26$ баллов (Приложение 3).

Из инструментальных методов обследования на данном этапе выполнялись:

1. МРТ головного мозга в стандартных режимах (T1-ВИ, T2-ВИ, T2-FLAIR и DWI). Особое внимание уделялось признакам атрофии мозжечка и ствола головного мозга (расширение субарахноидальных пространств и борозд мозжечка, истончение извилин мозжечка, расширение инфратенториальных цистерн, истончение мозжечковых ножек, симптом «зуба», симптом «креста»), очаговым изменениям вещества головного мозга, признакам атрофии больших полушарий головного мозга, структуре мозолистого тела.
2. Нейрофизиологическое обследование: стимуляционная (ЭНМГ), по показаниям — игольчатая электромиография (ЭМГ) для выявления и характеристики поражения периферического нейромоторного аппарата (уровни поражения — нейрональный, невральнй, первично-мышечный).

При необходимости на данном этапе проводился комплекс лабораторных исследований, позволяющих выявить приобретённые формы мозжечковых атаксий: глютеновую атаксию (антитела к дезаминированным пептидам глиадина и тканевой трансглутаминазе (IgA, IgG)), атаксию, ассоциированную с антителами к глутаматдекарбоксилазе (анти-GAD), паранеопластическую дегенерацию мозжечка (антинейрональные антитела (лайн-блот): Hu (ANNA 1), Yo-1 (PCA1), CV2, Ma2, Ri (ANNA2), амфифизин), исследовались гормоны и антитела к антигенам щитовидной железы, при необходимости выполнялась люмбальная пункция с последующим анализом ликвора (цитоз, белок, глюкоза, серологические реакции на нейроинфекции, иммунохимическое исследование).

Диагностика мультисистемной атрофии проводилась согласно критериям S. Gilman [Gilman S. et al., 2008]. Диагноз алкогольной мозжечковой дегенерации устанавливался на основании данных анамнеза злоупотребления алкоголем, характерной клинической картины и данных нейровизуализации.

На втором этапе проводилась ДНК-диагностика наиболее распространённых АД-СЦА, ассоциированных с экспансией микросателлитных повторов (СЦА 1, 2, 3, 6 и 17 типов).

На третьем этапе для диагностики БФ осуществлялся поиск GAA-экспансии в 1 интроне гена *FXN*. Величина экспансии более 60 считалась патологической.

Дополнительно у пациентов с БФ проводили ряд обследований для выявления и характеристики экстраневральных проявлений (ЭКГ, ЭХО-КГ, холтеровский мониторинг ЭКГ, гликемия натощак, глюкозотолерантный тест, гликированный гемоглобин), а также МРТ шейного и/или грудного отдела позвоночника и спинного мозга.

На четвертом этапе была сформирована условная группа АРА (за исключением пациентов с БФ, выявленных на предыдущем этапе). Пациентам данной группы проводилось:

1. Расширенное лабораторно-инструментальное обследование для уточнения возможной нозологической формы атаксии и оценки других неврологических и экстраневральных проявлений (Таблица 3).

Исследование уровня фитановой кислоты, а также скрининг на БНП-С, болезнь Гоше и GM2-ганглиозидозы проводился в лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБНУ МГНЦ (зав. лабораторией д.м.н. Захарова Е.Ю.) методами газовой хроматографии и энзимодиагностики. Для пациентов с типичной клинической картиной синдрома SANDO проводили исследование 7 частых мутаций в гене *POLG* (р.W748S, р.G848S, р.T914P, р.A467T, р.L304R, р.L587R, р.G737R; транскрипт NM_002693.2), используя таргетную MLPA-панель (Multiplex Ligase-dependent Probe Amplification – мультиплексная лигазная реакция зондов с амплификацией). Дизайн панели и анализ образцов ДНК также проведен в лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБНУ МГНЦ.

Таблица 3 – Обследования, проведенные в группе АРА

Название исследования	Число обследованных пациентов	Цель проведенного исследования
Холестерин	38	Повышен при АОА 1 и 4 типов, снижен при абеталипопротеинемии
Альбумин	37	Снижен при АОА 1 и 4 типов
АЛТ, АСТ, билирубин	21	Оценка функции печени при <i>POLG</i> -ассоциированных атаксиях, болезни Вильсона и др.

Витамин Е	18	Снижен при атаксии с дефицитом витамина Е
Альфа-фетопротеин	27	Повышен при АТ, АОА 2 типа
Иммуноглобулины IgG, IgM, IgA	12	Снижены при АТ
Лактат, лактат/пируват	14	Повышены при митохондриальных болезнях
Креатинфосфокиназа, общая активность	28	Косвенный маркер миолиза
Церулоплазмин, медь	26	Снижены при болезни Вильсона
Акантоциты (мазок крови)	3	Обнаруживаются при абеталипопротеинемии и нейроакантоцитозах
Фитановая кислота	3	Повышена при болезни Рефсума
Концентрация триола, 7-кетохолестерина и активность хитотриозидазы	15	Диагностика БНП-С
Активность глюкоцереброзидазы	4	Диагностика болезни Гоше
Активность гексозаминидазы и гексозаминидазы А%	4	Диагностика GM2-ганглиозидозов
Поиск 7 частых мутаций в гене <i>POLG</i>	8	ДНК-диагностика <i>POLG</i> -ассоциированных атаксий
ЭКГ	25	Скрининг кардиальных нарушений при митохондриальных атаксиях
УЗИ органов брюшной полости	16	Верификация гепато-/спленомегалии при болезнях обмена
ЭЭГ	17	Оценка нарушений активности мозга при митохондриальных атаксиях и эписиндроме в анамнезе
Осмотр офтальмолога	31	Оценка изменений глазного дна, ранней катаракты, кольца Кайзера-Флейшера

2. ДНК-диагностика с использованием оригинальной таргетной мультигенной MPS-панели на платформе Illumina MiSeq (США). Данная панель направлена на секвенирование кодирующей области 300 генов наиболее значимых нейродегенеративных заболеваний, в том числе 135 генов, мутации в которых приводят к развитию наследственных атаксий (Приложение 4). Генотипирование с использованием данной панели выполнено 47 пациентам. Часть исследований (3 пациента) была проведена в лаборатории «Геномед» с использованием мультигенной панели «Нейродегенеративные

заболевания», в лаборатории «Genetico» (полноэкзомное секвенирование) – 4 пациентам, одному пациенту – в ФГБНУ МГНЦ (панель «Наследственные лейкодистрофии и лейкоэнцефалопатии»).

2.2. Молекулярно-генетические методы исследования

В работе использовались следующие молекулярно-генетические методы:

- ДНК-экстракция;
- полимеразная цепная реакция (ПЦР);
- электрофорез в агарозном геле;
- фрагментный анализ на капиллярном генетическом анализаторе;
- прямое секвенирование ДНК по методу Сэнгера;
- массовое параллельное секвенирование (MPS).

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.

Определение количества GAA-повторов в гене *FHN*

Генотипирование экспансии GAA-повторов, локализованных в 1-м интроне гена *FHN*, проводили методом ПЦР с последующей визуализацией полученных ампликонов методом электрофореза в агарозном геле.

Аmplификацию фрагментов ДНК проводили в 20 мкл реакционной среды, содержащей: 50 мМ KCl, 50мМ Трис-HCl (pH 8.8), 2.5мМ MgCl₂, 250мкМ dNTP, 0.1% Triton X-100, 1 ед. Taq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью

фермента антителами («Синтол», Москва), 5 пкмоль прямого и 2,5 пкмоль обратного праймера, образец ДНК ($\approx 0,02$ нг/мкл); по следующему протоколу реакции: начальная денатурация при 95°C – 5 мин и далее 10 циклов с температурно-временным режимом: плавление при 95°C – 20 сек, отжиг праймеров 63°C – 30 сек и элонгация цепи при 70°C – 4 мин; далее 20 циклов с температурно-временным режимом: плавление при 95°C – 20 сек, отжиг праймеров 63°C – 30 сек и элонгация цепи при 70°C – 4 мин с увеличением времени элонгации на 20 сек каждый цикл; и заключительная элонгация при 72°C – 10 минут на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems).

Полученные ампликоны разделялись с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле («Promega»). Электрофорез проводили при комнатной температуре в буфере TAE (40 mM Трис-ацетат pH 8,1, 2 mM ЭДТА), содержащем 0,4 мкг/мл бромистого этидия, при напряженности электрического поля 70 В в течение 90 мин. Распределение фрагментов ДНК наблюдали и документировали в длинноволновом ультрафиолетовом освещении по флуоресценции связавшегося красителя с использованием прибора «BioDocAnalyse» и программного обеспечения фирмы «Biometra GmbH» (Goettingen, Germany) (Рисунок 4).

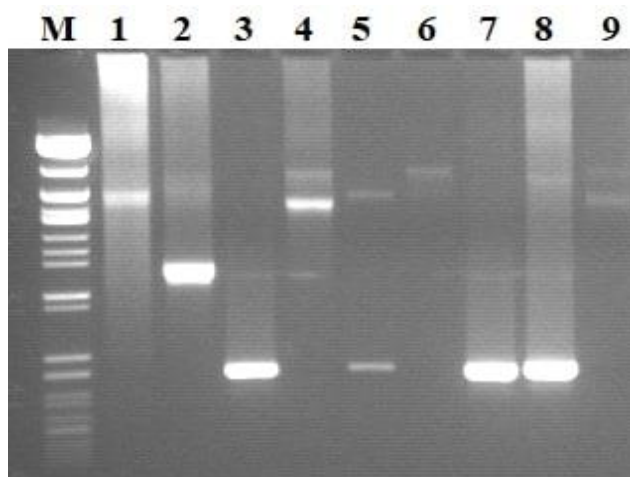


Рисунок 4 – Электрофореграмма продуктов амплификации области GAA-повторов гена *FXN*. М — Lambda DNA/Eco47I Marker, 13; 1, 2, 4, 6, 9 — пациенты с БФ; 5 и 8 — гетерозиготные носители GAA-экспансии; 3 и 7 — здоровые испытуемые (без экспансии).

Определение количества повторов в микросателлитах генов АД-СЦА

Для микросателлитного генотипирования tandemных CAG-повторов в генах *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN3*, *CACNA1A* и CAG/CAA-повторов в гене *TBP* были подобраны праймеры, фланкирующие область tandemных повторов с помощью компьютерных программ «Primer3» и «Primer-BLAST». Синтез осуществлен в компании «Синтол» (Москва).

Наработку фрагментов ДНК проводили в ходе ПЦР с использованием фермента Encyclo полимеразы (Евроген, Россия). Реакционная смесь в количестве 10 мкл содержала буфер от производителя, смеси dNTP (в конечной концентрации 200 мкМ каждого), двух праймеров, один из которых имел флуоресцентную метку на 5'-конце, (в конечной концентрации 100 нМ каждого), 2,5 ед. акт Encyclo полимеразы а также 5–10 нг исследуемой ДНК. В некоторых случаях для повышения эффективности амплификации к реакционной смеси добавляли DMSO до конечной концентрации 10%. Амплификацию проводили в амплификаторе Veriti (Applied Biosystems, США) в следующем температурном режиме: после начальной денатурации ДНК в течение 3 минут проводили 35 циклов смены температур 20 секунд при 94⁰С, 20 секунд при 60⁰С или 62⁰С и 25 секунд при 72⁰С. В конце пробы выдерживали при 72⁰С в течение 5 минут.

Полученные ампликоны разводили в 10 раз и аликвоту (0,5 мкл) денатурировали в 10 мкл Hi-Di формамида. Разделение продуктов амплификации проводили на секвенаторе ABI PRIZM 3130 (Applied Biosystems, США), используя размерный стандарт Liz 500. Анализ полученных результатов проводили с помощью программы GeneMapper (Applied Biosystems, США) (Рисунок 5).

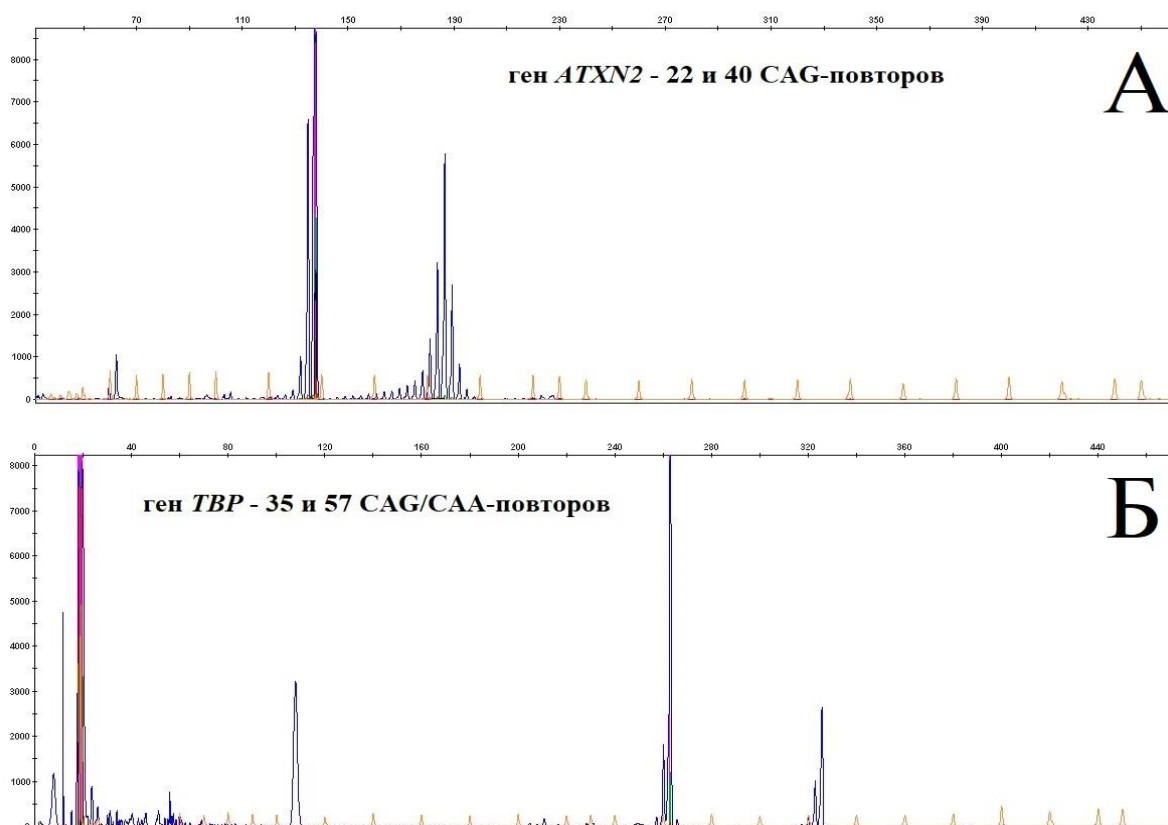


Рисунок 5 – Результаты фрагментного анализа. Синие пики – продукты амплификации, оранжевые пики – размерный стандарт 500 LIZ. А – пациентка КСК, диагноз – СЦА 2 типа; Б – пациент ЯДИ, диагноз – СЦА 17 типа.

Последовательность праймеров и условия проведения ПЦР для генотипирования БФ и СЦА 1, 2, 3, 6, 17 типов представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Праймеры и условия генотипирования микросателлитных повторов в генах БФ и СЦА

Ген	Последовательность праймеров, 5'→3'	Температура отжига праймеров	Наличие DMSO
<i>FXN</i>	F: GGCTTAAACTTCCCACACGTGTT R: AGGACCATCATGGCCACACTT	63 ⁰ С	-
<i>ATXN1</i>	F: (FAM) AACTGGAAATGTGGACGTAC R: CAACATGGGCAGTCTGAG	62 ⁰ С	-
<i>ATXN2</i>	F: (FAM) CCCTCACCATGTCGCTGAAGC R: CGACGCTAGAAGGCCGCTG	62 ⁰ С	+
<i>ATXN3</i>	F: (FAM) CCAGTGACTACTTTGATTCG R: TGGCSTTTCACATGGATG	60 ⁰ С	-
<i>CACNA1A</i>	F: TGGGTACCTCCGAGGGC R: (FAM) CCACACGTGTCCTATTCCCC	62 ⁰ С	+
<i>TBP</i>	F: (FAM) TGCSTTATGGCACTGGACTG R: TGAGTGGAAGAGCTGTGGTG	60 ⁰ С	-

Массовое параллельное секвенирование (MPS)

Таргетное секвенирование у обследованных пациентов на основе технологии MPS проводили на базе Центра коллективного пользования «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИ Сельхозбиотехнологий с помощью оригинальной панели. Поиск мутаций осуществлялся в 300 генах, ассоциированных с нейродегенеративной патологией. Полный список генов приведен в Приложении 4. В единичных случаях MPS-секвенирование было проведено в других лабораториях (см. выше).

Технология MPS включает в себя три этапа: 1) подготовка мультиплексных библиотек фрагментированной геномной ДНК; 2) определение последовательности фрагментов ДНК; 3) биоинформатический анализ полученных данных.

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 EZ Library SR с помощью специфических биотинилированных олигонуклеотидных зондов, комплементарных последовательностям кодирующих областей генов, входящих в нашу панель. Секвенирование полученных библиотек ДНК проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina) методом мостиковой ПЦР, 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.

Из аннотированных вариантов нуклеотидных последовательностей выбирались только несинонимичные варианты (nonsynonymous SNV) или варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания (frameshift deletion, frameshift insertion), или варианты, приводящие к преждевременной терминации (stopgain). Также выставлялся фильтр по частоте минорного аллеля (minor allele frequency, MAF) по базе данных «1000 геномов» (1000G_all), рассматривались варианты только с MAF <0,5%. Все отфильтрованные варианты были проанализированы на предмет соответствия фенотипу. После этого каждый выбранный вариант подробно

рассматривался и интерпретировался согласно «Руководству по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)» [Рыжкова О.П. с соавт., 2017].

В работе использовались следующие базы данных:

- ExAC – популяционная база данных (<http://exac.broadinstitute.org/>);
- dbSNP – база данных коротких генетических вариантов (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>);
- 1000 Genome project – популяционная база данных (<http://browser.1000genomes.org>);
- Pubmed – база данных медицинских и биологических публикаций (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>);
- OMIM – базы данных по нозологиям (<http://www.omim.org>);
- ClinVar – база данных о клинической значимости и фенотипической взаимосвязи (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>);
- LOVD – база данных по нозологиям (<http://www.lovdl.nl>).

Кроме того, использовались следующие программы предсказания патогенности вариантов нуклеотидной последовательности *in silico*:

- SIFT – эволюционная консервативность (<http://sift-dna.org>), где D – deleterious ($\text{sift} \leq 0.05$) и T – tolerated ($\text{sift} > 0.05$);
- PolyPhen2 hdiv – структура/функция белка и эволюционная консервативность (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>), где D – probably damaging (≥ 0.957), P – possibly damaging ($0.453 \leq \text{pp2_hdiv} \leq 0.956$) и B – benign ($\text{pp2_hdiv} \leq 0.452$);
- Mutation Taster – структура/функция белка и эволюционная консервативность (<http://www.mutationtaster.org>), где D – disease_causing; N – polymorphism и P – polymorphism_automatic;
- Gerp++ – нуклеотидная консервативность (<http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/>), вариант считается патогенным при оценке > 2 ;

- CADD – обобщение различных методов (<http://cadd.gs.washington.edu>), вариант считается патогенным при оценке >20;
- SNPs&Go – структура/функция белка (<http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go>);
- Human Splicing Finder – изменения в сайтах сплайсинга, основанное на положении варианта (<http://www.umd.be/HSF/>).

Каждый выбранный вариант после рассмотрения по перечисленным базам данных и программам предсказания патогенности относился к патогенным или доброкачественным по критериям конкретной базы данных. Затем на основании комбинации критериев вариант окончательно классифицировался по правилам Руководства как: 1) патогенный вариант, 2) вероятно патогенный, 3) вариант неопределенного значения, 4) вероятно доброкачественный вариант и 5) доброкачественный вариант.

Варианты, классифицированные как патогенные, вероятно патогенные варианты и варианты неопределенного значения подтверждались методом стандартного сэнгеровского секвенирования 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 5. Амплификацию фрагментов ДНК, содержащих выявленные мутации, для последующего секвенирования 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 ингибирующими активностью фермента антителами («Синтол», Москва), по 0,25 мкМ прямого и обратного праймера. ПЦР осуществляли на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems). Примеры результатов секвенирования представлены на рисунке 6.

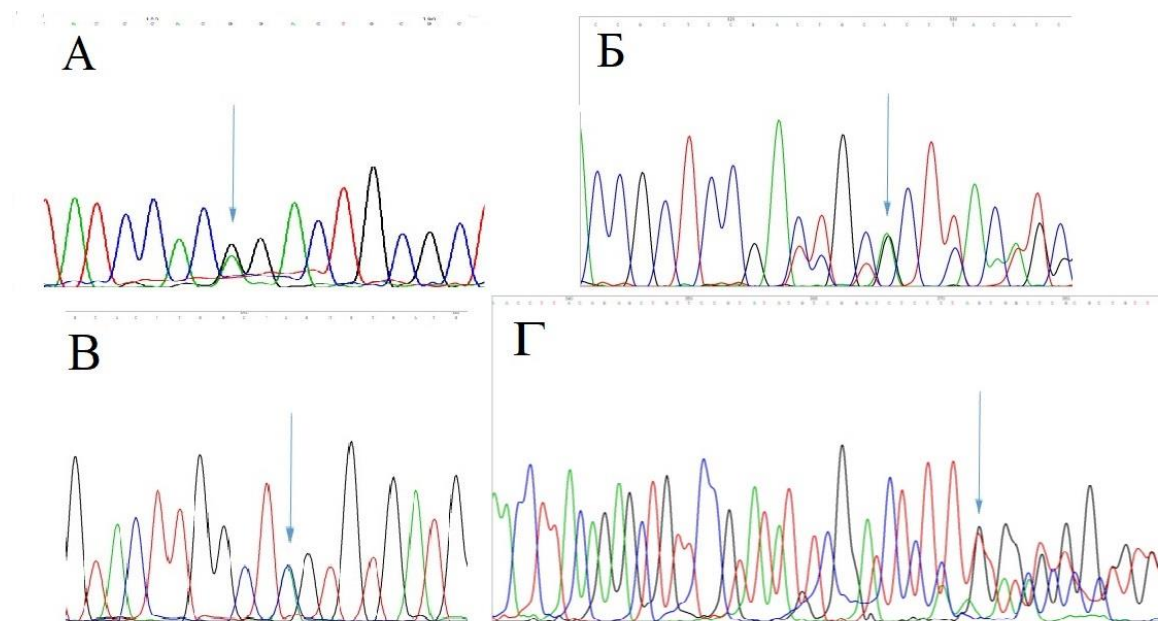


Рисунок 6 – Примеры результатов секвенирования по Сэнгеру: А – пациентка *Сед*, мутация в гене *POLG* (p.L311P); Б – пациентка *ГАН*, мутация в гене *PNPLA6* (p.R1020C); В – пациент *ЖЕС*, мутация в гене *SETX* (p.R2414L); Г – пациент *ТДВ*, делеция c.976_977delCT в гене *SETX*.

2.3. Статистическая обработка данных

Обработка данных проводилась в пакетах Excel, Statistica 10.0 и SPSS. Количественные данные описывались с помощью среднего и стандартного отклонения (в случае нормального распределения данных), медианы и квартилей (в случае ненормального распределения). Качественные данные были представлены в виде частот и процентов. Нормальность распределения оценивалась с помощью с помощью теста Шапиро-Уилка и графического представления распределения. В случае нормального распределения для сравнения двух независимых выборок применялся Т–критерий Стьюдента, в случае иного распределения данных применялся тест Манна–Уитни. Для оценки связи качественных признаков использовался критерий хи-квадрат, двусторонний точный критерий Фишера. Корреляционный анализ осуществлялся с помощью ранговой корреляции Спирмена. Для всех критериев и тестов уровень значимости принимался равным 0,05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Общие результаты реализации диагностического алгоритма

В ходе исследования за 2016–2019 гг. была сформирована и обследована невыборочная серия пациентов взрослого возраста (87 человек; 39 муж. и 48 жен., возраст 31 [26; 38] лет, возраст дебюта 21 [14; 30] лет) с превалирующим в клинической картине синдромом прогрессирующей атаксии.

На первом этапе в результате проведенных обследований из исследования были исключены 8 пациентов (9,4%) с ненаследственными причинами развития заболевания (7 муж., 1 жен., медиана возраста 44,5 [38; 46] лет; возраст дебюта 42,5 [35; 43,5] лет). Из них пяти пациентам был установлен диагноз «алкогольная мозжечковая дегенерация» на основании данных анамнеза (злоупотребление алкоголем), клинической картины (атаксия преимущественно при ходьбе и при выполнении пяточно-коленной пробы, негрубая мозжечковая дизартрия) и данных нейровизуализации (атрофия ростральных отделов червя мозжечка, диффузная атрофия больших полушарий головного мозга). У большинства этих пациентов выявлялись другие характерные признаки токсического (алкогольного) поражения нервной системы (полиневропатия, проксимальная миопатия, когнитивные нарушения от умеренных до деменции). Клиническая картина других 2 пациентов (мужчины 46 лет и женщины 44 лет) соответствовала критериям диагностики МСА-М: в этих случаях определялись статико-локомоторная атаксия, лёгкий паркинсонизм, пирамидный синдром, нарушения в REM-фазу сна и выраженные вегетативные нарушения (ортостатическая гипотензия, нейрогенный мочевого пузырь, импотенция). Одному пациенту с клинической картиной прогрессирующей атаксии, когнитивных нарушений и повторных нарушений мозгового кровообращения установлен диагноз «поздний симптомный нейросифилис» (*Клинический пример №1*). Аутоиммунных причин развития атаксии в нашей выборке выявлено не было. Необходимо отметить, что возраст дебюта заболевания у пациентов данной подгруппы был значимо больше, чем у пациентов с АРА ($p=0,001$).

Клинический пример №1.

Пациент ПКВ, 48 лет, обратился в ФГБНУ НЦН с **жалобами** на выраженную шаткость, невозможность самостоятельной ходьбы, слабость в левой руке и в ногах, снижение памяти, эмоциональную неустойчивость и агрессию.

Анамнез заболевания: в 37 лет проходил курс лечение по поводу первичного сифилиса. С 44 лет постепенно стали нарастать шаткость и неустойчивость при ходьбе. С 47 лет из-за выраженной шаткости перестал самостоятельно передвигаться, ухудшилась память, появились эпизоды агрессии. В мае 2017 г. при плановом обследовании выявлены положительные титры антител к *T.pallidum* (ИФА). Повторно обследован в кожно-венерологическом диспансере, по данным анализов крови: РИБТ, РИФ200, реакция микропреципитации, РПГА – отрицательные, РИФабс. – слабоположительная, РИФц 2+. Консультирован венерологом: данных за наличие сифилиса нет, серологические исследования указывают на перенесенный ранее сифилис.

В августе 2017 г. (48 лет) проходил стационарное лечение с диагнозом «поздняя мозжечковая дегенерация». В крови выявлено снижение уровня витамина В12 до 132 пг/мл, анализ крови на антинейрональные антитела и анти-GAD – не обнаружены. ДНК-диагностика БФ, СЦА 1, 2, 3, 6 и 17 типов – отрицательно. Для исключения специфического поражения нервной системы проведен анализ ликвора: цитоз 2/3, гиперпротеинария до 0,524 г/л, глюкоза – 3,0 ммоль/л. Серологическое исследование ликвора: антитела к *T.pallidum* (ИФА), РИФц, РИБТ – отрицательно. МРТ головного мозга: признаки атрофии мозжечка, ствола мозга и полушарий большого мозга, постинфарктные изменения в правом полушарии большого мозга (Рисунок 7, А и Б). Пациенту проведен курс внутримышечных инъекций цианокобаламина, однако улучшения состояния отмечено не было.

Ухудшение состояния с декабря 2017 года, когда перенес 2 эпизода нарушения мозгового кровообращения, сопровождающихся ограничением левого поля зрения и слабостью в левой руке, усилились мнестические нарушения. При повторной МРТ головного мозга: отрицательная динамика в виде появления

дополнительных лакунарных инфарктов в лобных долях, постинфарктных изменений в правой затылочной доле (Рисунок 7, В и Г).

В неврологическом статусе: сознание ясное; контактен, ориентирован правильно. Умеренные когнитивные нарушения. Менингеальных знаков нет. Глазные щели, зрачки OD=OS, фотореакции значительно снижены, реакции зрачков на конвергенцию и аккомодацию не нарушены. Нарушение плавных следящих движений глазных яблок. Лицо симметрично. Легкая дизартрия. Легкое снижение мышечной силы в левой руке, умеренное – в дистальных отделах ног, D=S. Паратонии в ногах. Глубокие рефлексы живые в руках, в ногах оживлены, D=S. Рефлексы Якобсона-Ласка, Россолимо, орального автоматизма с двух сторон. Снижение вибрационной чувствительности в ногах, проприоцептивная чувствительность не нарушена. ПНП выполняет с легкой дисметрией и интенционным тремором, ПКП – с грубым интенционным тремором с двух сторон. В позе Ромберга не стоит, титубация головы и туловища в положении сидя и стоя. Передвигается в инвалидном кресле, возможна ходьба с двусторонней поддержкой в пределах помещения на расширенной базе.

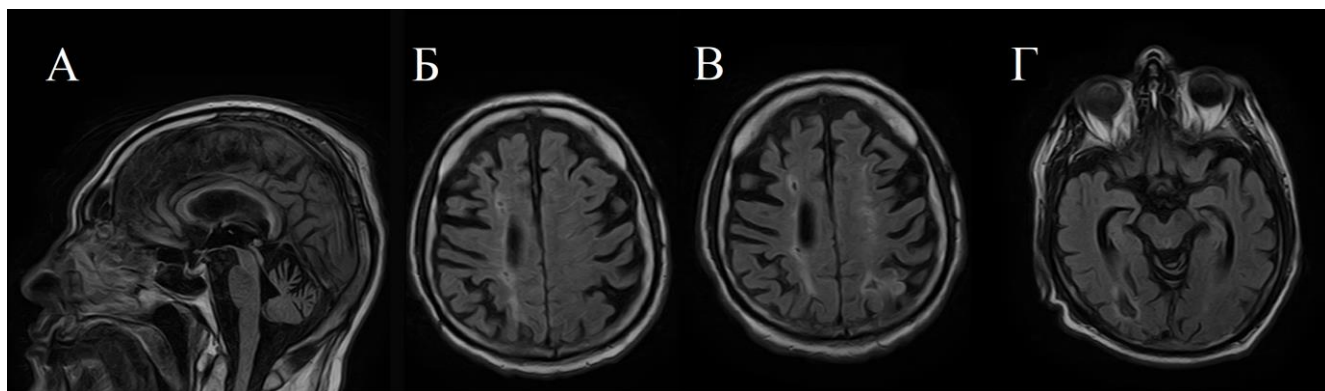


Рисунок 7 – МРТ головного мозга пациента *ПКВ*. А (T1-ВИ, сагиттальный срез): признаки атрофии мозжечка, истончение мозолистого тела; Б – Г (T2-FLAIR, аксиальные срезы): Б – лакунарные инфаркты в глубоком белом веществе правого полушария большого мозга, признаки атрофии головного мозга; В (динамика через 6 месяцев) – постинфарктные изменения определяются также в левом полушарии большого мозга, в т.ч. в коре левой теменной доли, диффузные изменения глубокого белого вещества семиовальных центров; Г – постинфарктные изменения в правой затылочной доле.

При дуплексном сканировании магистральных артерий головы выявлены УЗ-признаки окклюзии внутренних сонных артерий (ВСА) с двух сторон.

При исследовании сосудов головного мозга в режиме 3D-TOF ангиографии: МР-сигнал от кровотока по обеим ВСА не определяется на всем протяжении от устья. После введения контрастного вещества отмечается его интенсивное накопление стенками ВСА на экстракраниальном уровне.

Таким образом, на основании данных анамнеза, клинической картины заболевания (повторные ишемические инсульты у молодого пациента без сердечно-сосудистых факторов риска, МР-признаки васкулита обеих ВСА, симптом Аргайла Робертсона, прогрессирующая атаксия, снижение вибрационной чувствительности, когнитивные и аффективные нарушения), несмотря на отрицательные результаты нетрепонемных серологических тестов в крови и трепонемных тестов в ликворе, было принято решение о повторной консультации пациента врачом-дерматовенерологом.

Заключение дерматовенеролога: у пациента первичный сифилис в анамнезе от 2006 года. В настоящее время серологические тесты на сифилис отрицательные, включая РИБТ. Слабо положителен только РИФабс. (2+). В ликворе все серологические тесты (РИФц, РИБТ, ИФА) отрицательные, имеется только повышение уровня белка до 0,524 г/л. При этом клиническая картина (ишемические инсульты, васкулит ВСА, прогрессирующая атаксия) соответствует специфическому поражению ЦНС. В связи с этим рекомендуется проведение пробного лечения (*ex juvantibus*) антибиотиками по схеме нейросифилиса с предварительным в/м введением преднизолона в первые 3 дня по схеме 90-60-30 мг 1 раз в день утром для предотвращения реакции обострения.

Пациент был пролечен двумя курсами цефтриаксона в/в капельно 2,0 грамма 2 раза в день в течение 20 дней. В первые 4 дня инфузий цефтриаксона, несмотря на введение преднизолона, отмечалась реакция Яриша-Герксгеймера в виде повышением температуры тела до 39,0⁰С, озноба и тахикардии. После завершения первого курса антибиотикотерапии отмечался значительный положительный эффект: уменьшилась выраженность мозжечковой атаксии, пациент

самостоятельно стал передвигаться в пределах помещения. После второго курса существенных изменений в состоянии пациента отмечено не было.

Таким образом, клиническая картина заболевания была представлена проявлениями как менингovasкулярного нейросифилиса (в виде повторных нарушений мозгового кровообращения и специфического васкулита обеих ВСА с окклюзией их просвета), так и прогрессивного паралича (медленно нарастающими когнитивными и аффективными нарушениями). Однако отличительной особенностью данного случая явилось превалирование в клинической картине мозжечковой атаксии с практически полной невозможность к самостоятельному передвижению пациента, что трактовалось как проявление атаксии дегенеративного генеза.

Тем не менее, на основании клинической картины заболевания и данного анамнеза о перенесенном более 10 лет назад сифилисе, совместно с дерматовенерологами было принято решения о проведении лечения *ex juvantibus*. При проведении лечения у пациента развилась реакция Яриша-Герксгеймера, которая косвенно подтверждает диагноз.

На втором этапе проводимого скрининга в результате ДНК-диагностики СЦА 1, 2, 3, 6 и 17 типов были выявлены 3 пациента (3,4%), представлявшие собой спорадические случаи АД-СЦА (Таблица 5).

Таблица 5 – Характеристика пациентов с АД-СЦА

Пациент, пол	Возраст, лет	Возраст дебюта, лет	Ген	Длина экспансии (норма)	Клиническая картина	Диагноз
<i>АРА</i> , жен	44	36	<i>ATXN1</i>	45 (менее 39)	Грубая атаксия, замедление саккад, дистония, депрессия	СЦА 1 типа
<i>КСК</i> , жен	40	35	<i>ATXN2</i>	40 (менее 33)	Легкая атаксия, замедление саккад, дисфагия, тазовые нарушения	СЦА 2 типа
<i>ЯДИ</i> , муж	26	15	<i>TBP</i>	57 (менее 47)	Грубая атаксия, деменция, апраксия, лобные знаки, глазодвигательные нарушения, паркинсонизм, дистония	СЦА 17 типа

Таким образом, в результате выполнения вышеуказанных этапов предварительного скрининга из 87 человек условную группу АРА сформировали 76 пациента (87,4%): 31 муж., 45 жен., медиана возраста 30 [25; 35] лет, возраст дебюта 20 [12; 28] лет. Дебют заболевания до 18 лет отмечался у половины пациентов. Распределение по возрасту дебюта заболевания пациентов с разными формами АРА представлено на рисунке 8.

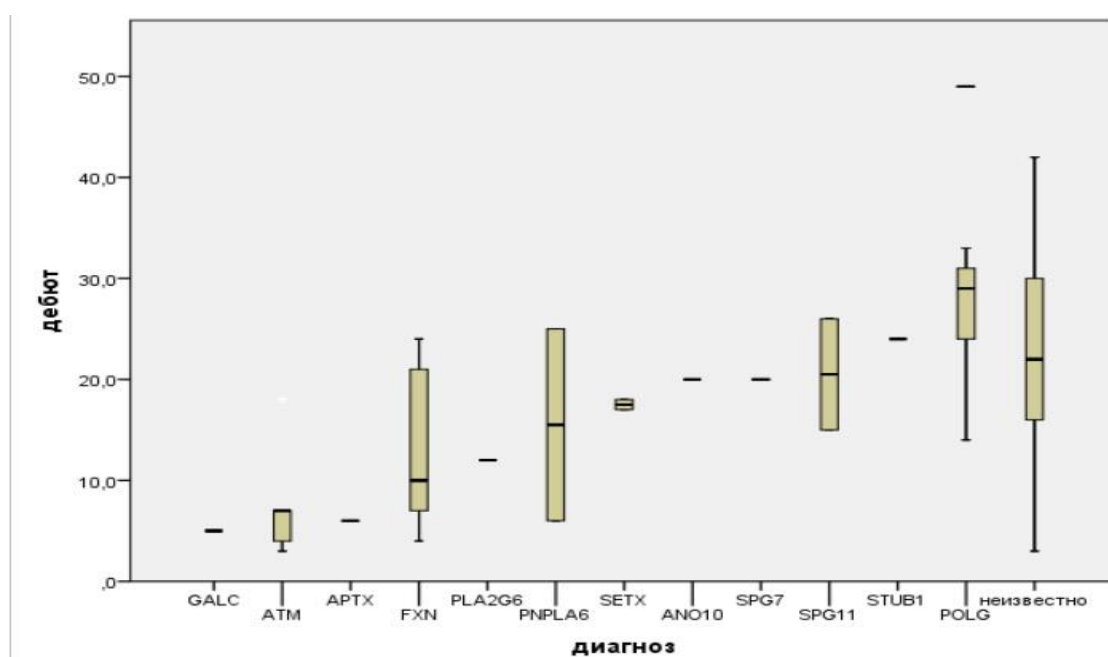


Рисунок 8 – Возраст дебюта заболевания у пациентов с различными формами АРА. Срединной чертой обозначена медиана, «ящичками» - межквартильный размах, «усами» - минимальное и максимальное значение.

По этническому составу данная группа была представлена следующим образом: русские – 52 пациента (68,4%), украинцы – 5 (6,7%), белорусы – 4 (5,4%), армяне – 3 (4,1%), по 2 пациента – аварцы и азербайджанцы (по 2,7%), остальные национальности (казахи, кабардинцы, чуваша, мордва, кумыки, агульцы, татары, грузины) – по одному пациенту (по 1,3%).

Большинство случаев АРА (81,1%) были спорадическими, положительный семейный анамнез, характерный для аутосомно-рецессивного типа наследования (2 больных sibса), выявлен в 7 семьях, инбрендные браки — в 3 семьях (Рисунок 9).

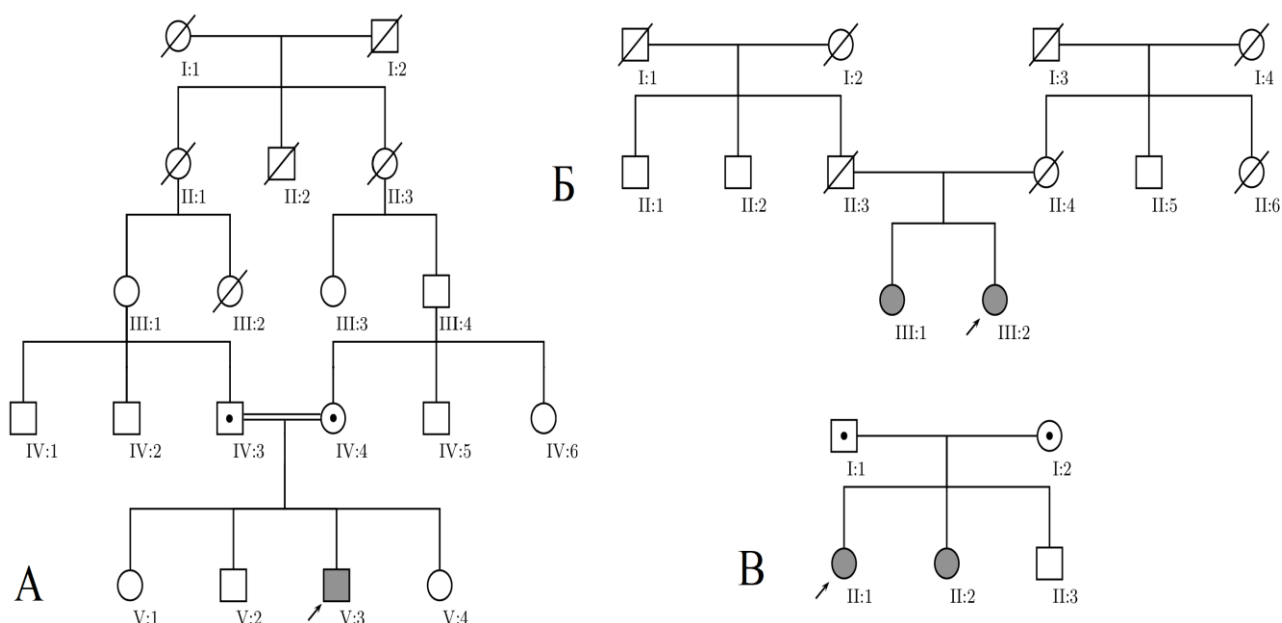


Рисунок 9 – Примеры родословных пациентов с АРА. А – семья *НРШ* (синдром SANDO), инбрендный брак; Б – семья *ИФ* и *ИЗ* (атаксия-телеангиэктазия); В – семья *СКА* и *САА* (болезнь Фридрейха).

Согласно предварительному (направительному) диагнозу, большинство пациентов до поступления в ФГБНУ НЦН наблюдались с диагнозами «СЦА», «мозжечковая дегенерация/атаксия», «болезнь Фридрейха» (без проведения ДНК-диагностики), у 7 пациентов предполагалось наличие демиелинизирующего заболевания ЦНС (рассеянный склероз или энцефаломиелит), реже были диагностированы аномалии и пороки развития мозжечка (аплазия/гипоплазия, аномалия Денди-Уокера), полиневропатия неуточненная и синдром Русси-Леви, последствия перенесенной нейроинфекции или гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Наиболее часто предполагались болезнь Вильсона, В12-дефицитные состояния, демиелинизирующие и митохондриальные болезни.

Группа АРА характеризовалась широким спектром неврологических проявлений (Таблица 6).

Таблица 6 – Спектр неврологических проявлений АРА

Синдром	Дебют ≤18 лет, n=38 (%)	Дебют >18 лет, n=38 (%)	Всего пациентов, n=76 (%)
Глазодвигательные нарушения, нарушения саккад и нистагм	38 (100%)	38 (100%)	76 (100%)
Когнитивные нарушения	30 (78,9%)	24 (63,2%)	54 (71,1%)
Полиневропатия	26 (68,4%)*	15 (39,5%)	41 (53,9%)
Пирамидный синдром	20 (52,6%)	20 (52,6%)	40 (52,6%)
Поражение задних канатиков	13 (34,2%)	15 (39,5%)	28 (36,8%)
Экстрапирамидные расстройства	17 (44,7%)*	8 (21,1%)	25 (32,9%)
Эписиндром	4 (10,5%)	2 (5,2%)	6 (7,9%)
Поражение нижнего мотонейрона	3 (7,9%)	0	3 (3,9%)
Миопатия	0	1 (2,6%)	1 (1,3%)
Нейросенсорная тугоухость	1 (2,6%)	1 (2,6%)	2 (2,6%)
Тазовые нарушения	1 (2,6%)	3 (7,9%)	4 (5,2%)

Примечание: * – $p < 0,05$, критерий хи-квадрат

Наиболее частыми сопутствующими атаками проявлениями были глазодвигательные нарушения с нарушением саккад (гипо- и гиперметрия, нарушения инициации и увеличение латентности саккад, нарушения плавности следящих движений глаз) и различные виды нистагма, когнитивные нарушения различной степени выраженности (от умеренной до деменции), полиневропатия, пирамидный синдром и поражение задних канатиков. У пациентов с дебютом заболевания младше 18 лет достоверно чаще выявлялась полиневропатия ($p=0,01$) и экстрапирамидные расстройства ($p=0,028$). Среди экстрапирамидных нарушений в большинстве случаев выявлялась дистония, другие синдромы (хорея, атетоз, миоклонус, постуральный тремор, паркинсонизм) присутствовали у единичных пациентов.

Экстраневральные проявления АРА были выявлены преимущественно у пациентов с ранним дебютом заболевания и представлены скелетными деформациями, поражением сердца, эндокринопатиями, гепато-/спленомегалией, острым лейкозом, хориоретинальной дистрофией, гипербилирубинемией. Ввиду

разнородности нозологических форм данные проявления будут подробно освещены отдельно для каждого заболевания.

Всем пациентам была выполнена МРТ головного мозга, результаты которой отражены в Таблице 7.

Таблица 7 – Спектр нейровизуализационных проявлений АРА

Выявленные изменения головного мозга	Число пациентов (%)
Атрофия червя мозжечка	10 (13,2%)
Атрофия полушарий мозжечка	3 (3,9%)
Атрофия червя и полушарий мозжечка	36 (47,4%)
Атрофия мозжечка и ствола мозга	3 (3,9%)
Атрофия больших полушарий головного мозга	11 (14,5%)
Поражение белого вещества головного мозга	6 (7,6%)
Очаговые изменения в мозжечке	5 (6,7%)
Очаговые изменения в стволе мозга и таламусе	4 (5,2%)
Истончение мозолистого тела	2 (2,6%)
Накопление металла в скорлупе в режиме DWI (b=0)	1 (1,3%)
Норма	15 (19,7%)

Атрофические изменения мозжечка были выявлены у 70% пациентов и в большинстве случаев сопровождались другими нейровизуализационными находками, чаще всего – атрофией больших полушарий, очаговыми изменениями МР-сигнала и признаками лейкоэнцефалопатии. МР-изображения и их анализ представлены в соответствующих разделах.

Результаты проведения ЭНМГ и игольчатой ЭМГ представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Нейрофизиологические характеристика пациентов с АРА

Характер выявленных изменений	Число пациентов (%)
Сенсорная аксональная полиневропатия	25 (32,9%)
Сенсорная аксонально-демиелинизирующая полиневропатия	1 (1,3%)
Сенсомоторная аксональная полиневропатия	5 (6,7%)
Сенсомоторная аксонально-демиелинизирующая полиневропатия	10 (13,2%)

Поражение нижнего мотонейрона	3 (3,9%)
Первично-мышечный паттерн	1 (1,3%)
Норма	31 (40,8%)

Таким образом, электрофизиологические признаки поражения периферического нейромоторного аппарата выявлены у 59,2% пациентов, в подавляющем большинстве случаев представленные полиневропатией (сенсорная аксональная и сенсомоторная аксонально-демиелинизирующая).

На третьем этапе скрининга в результате проведения ДНК-диагностики были верифицированы 14 случаев БФ. Подробная характеристика данной группы представлена ниже в соответствующей главе.

На четвёртом этапе комплексное лабораторно-инструментальное обследование было выполнено 62 пациентам (24 муж. и 38 жен., медиана возраста 31 [25; 36] лет; возраст дебюта 21 [15; 30] лет). У 7 пациентов в результате целенаправленного поиска была выявлена мажорная мутация p.W748S в гене *POLG* в гомозиготном состоянии.

Остальным 55 пациентам для верификации диагноза было проведено генетическое исследование с использованием технологии MPS, среди них окончательный молекулярно-генетический диагноз установлен 22 пациентам (22/55, 40,0%). Генетическая характеристика пациентов и анализ выявленных мутаций представлены в Таблице 9. В результате реализации предложенного нами алгоритма конкретный диагноз АРА был верифицирован у 43 пациента (43/87, 49,4%), а окончательный нозологический диагноз (с учетом ненаследственных форм и СЦА) – 54 пациентам (54/87, 62,0%).

Таблица 9 – Выявленные методом MPS мутации и оценка их патогенности

Пациент	Ген: вариант Мутация	dbSNP_ID MAF	SIFT/PolyPhen2 HDIV/MutTast	Критерии и классификация	Пример ссылки на описание	Диагноз
1. ШС и ШМ	ATM : nonsynonymous SNV NM_000051.3:exon36:c.T5471C:p.L1824R	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PM3+PP1+PP3+PP4+PP5= <u>вер. патоген.</u>	Cavalieri et al., 2006	АТ
	ATM : nonsynonymous SNV NM_000051.3:exon52:c.A8615T:p.H2872L	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PP1+PP3+PP4= неопред.	Н/д	
2. Бол	ATM : nonsynonymous SNV – <u>ГОМОЗИГОТ.</u> NM_000051.3:c.A722G:p.K241R	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PP3+PP4+PP5= неопред.	Н/д	АТ
3. ИФ и ИЗ	ATM : splicing NM_000051.3:intron22:c.3284+4A>G	Н/д Н/д	-	PM2+PM3+PP1+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	АТ
	Del chr11:108196036-108235945	Н/д Н/д	-	PVS1+PM1+PM4+PP1+PP4= <u>патоген.</u>	Н/д	
4. ТДВ	SETX : frameshift deletion NM_015046:exon8:c.976_977del:p.R326fs	Н/д Н/д	-	PVS1+PM3+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	АОА 2 типа
	SETX : nonsynonymous SNV NM_015046:exon15:c.A6029G:p.N2010S	Н/д Н/д	D/D/D	PS1+PM2+PP3+PP4+PP5= <u>вер.патогенный</u>	Anheim et al., 2009	
5. ЖЕС	SETX : frameshift deletion NM_015046:exon10:c.4839_4840del:p.S1613fs	Н/д Н/д	-	PVS1+PM3+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	АОА 2 типа
	SETX : nonsynonymous SNV NM_015046:exon25:c.G7241T:p.R2414L	Н/д Н/д	D/D/D	PS1+PM2+PP3+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	
6. ГВА	APTX : stopgain NM_175069.2:c.C781T:p.R247X	rs778258042 0,0018	-	PVS1+PM2+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Mosesso et al., 2005	АОА 1 типа
	APTX : nonsynonymous SNV NM_175069.2:c.c.G689T:p.V230G	rs536584919 0,0016	D/D/D	PS1+PM2+PM5+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Ferrarini et al., 2007	
7. Ляш	POLG : nonsynonymous SNV – <u>ГОМОЗИГОТ.</u> NM_002693:exon13:c.G2243C:p.W748S	rs113994097 Н/д	D/D/A	PS1+PM2+PP2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Hakonen et al., 2005	SANDO

8. <i>Ced</i>	POLG : nonsynonymous SNV NM_002693:exon10:c.C1735T:p.R579W	rs556925652 0.0002	D/D/D	PS1+PM2+PP2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Filosto et al., 2003	SANDO
	POLG : nonsynonymous SNV NM_002693:exon4:c.T932C:p.L311P	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PM3+PP3+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	
9. <i>Bap</i>	POLG : nonsynonymous SNV NM_002693:exon13:c.G2243C:p.W748S	rs113994097 Н/д	D/D/A	PS1+PM2+PP2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Hakonen et al., 2005	SANDO
	POLG : nonsynonymous SNV NM_002693.2:exon18:c.T2792G:p.L931R	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PM3+PP3+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	
10. <i>CHA</i>	POLG : nonsynonymous SNV NM_002693:exon2:c.C428T:p.A143V	rs796052899 Н/д	D/D/D	PS1+PM2+PP2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Tang et al., 2011	MEMSA
	POLG : nonsynonymous SNV NM_002693:exon13:c.G2243C:p.W748S	rs113994097 Н/д	D/D/A	PS1+PM2+PP2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Hakonen et al., 2005	
11. <i>KMJ</i>	SPG11 : stopgain NM_025137:exon13:c.C2431T:p.Q811X	Н/д Н/д	-	PVS1+PM2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Travaglini et al., 2018	НСП 11 типа
	SPG11 : frameshift insertion NM_025137:exon40:c.7168dupC:p.P2390fs	rs756134516 Н/д	-	PVS1+PM4+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	
12. <i>XIOB</i>	SPG11 : stopgain NM_025137:exon13:c.C2431T:p.Q811X	Н/д Н/д	-	PVS1+PM2+PP3+PP4+PP5= <u>патоген.</u>	Travaglini et al., 2018	НСП 11 типа
	SPG11 : frameshift deletion NM_025137:exon4:c.733_734del:p.M245fs	rs312262720 Н/д	-	PVS1+PM4+PP4+PP5= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Stevanin et al., 2008	
13. <i>KMB</i>	SPG7 : stopgain NM_199367:exon2:c.T233A:p.L78X	rs121918358 Н/д	- /- /A	PVS1+PM2+PM4+PP4= <u>патоген.</u>	Choquet et al., 2016	НСП 7 типа
14. <i>ГАН</i>	PNPLA6 : frameshift deletion NM_006702:exon19:c.1848_1858del:p.D616fs	Н/д Н/д	-	PVS1+PM4+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	СБН
	PNPLA6 : nonsynonymous SNV NM_006702:exon28:c.C3058T:p.R1020C	rs576986571 0.0002	D/D/D	PM2+PM3+PP3+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	
15. <i>ЛНЛ</i>	PNPLA6 : splicing NM_001166114:exon27:c.3397+1G>A	Н/д Н/д	-	PM1+PM2+PM4+PP4= <u>вер.</u> <u>патогенный</u>	Н/д	СГХ

	PNPLA6: nonsynonymous SNV NM_006702:exon27:c.G2890A:p.G964S	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PM3+PP3+PP4= вер. патогенный	Н/д	
16. <i>БКМ</i>	PLA2G6: stopgain NM_003560:exon17:c.T2370G:p.Y790X	rs121908680 Н/д	- /-/A	PVS1+PM2+PM4+PP4= патоген.	Gregory et al., 2008	ННЖГМ 2 типа
	PLA2G6: nonsynonymous SNV NM_003560:exon7:c.G1018A:p.G340R	Н/д Н/д	T/D/D	PM2+PM3+PP4+PP5= вер. патогенный	Gregory et al., 2008	
17. <i>ТКЕ</i>	GALC: nonsynonymous SNV NM_000153:exon2:c.A199C:p.T67P	Н/д Н/д	D/D/D	PS1+PM2+PM5+PP3+PP4= патоген.	Н/д	Болезнь Краббе
	GALC: nonsynonymous SNV NM_000153:exon9:c.A956G:p.Y319C	rs183105855 0.002	D/D/D	PS1+PM2+PP3+PP4+PP5= патоген.	Duffner et al., 2012	
18. <i>ЗВС</i>	ANO10: splicing NM_018075.3:intron9:c.1477-2A>G	Н/д Н/д	-	PM1+PM2+PM4+PP4= вер. патогенный	Н/д	SCAR10
	ANO10: nonsynonymous SNV NM_018075.3:exon2:c.T104C:p.L35P	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PP3+PP4= неопред.	Н/д	
19. <i>КИМ</i>	STUB1: nonsynonymous SNV NM_005861.3:c.A433C:p.K145Q	rs146251364 0.001	D/D/D	PM2+PM3+PP4+PP5= вер. патогенный	Hayer et al., 2017	SCAR16
	STUB1: nonsynonymous SNV NM_005861.3:c.C683T:p.P228L	Н/д Н/д	D/D/D	PM2+PP3+PP4= неопред.	Н/д	
20. <i>МАВ</i>	NPCI: stopgain NM_000271.4:exon4:p.Q119X	Н/д Н/д	D/D/D	PVS1+PS3+PM4+PP4= патоген.	Н/д	БНП-С
	NPCI: nonsynonymous SNV NM_000271.4:exon20:c.G2974C:p.G992R	rs80358254 0,0001	D/D/D	PS1+PM2+PP2+PP3+PP4+PP5= патоген.	Millat et al., 2001	

Примечание: dbSNP_ID – обозначение номера по базе данных однонуклеотидных полиморфизмов. MAF (Minor Allele Frequency) – частота минорного аллеля. Nonsynonymous SNV – несинонимичный вариант. Stopgain – нонсенс-мутация. Frameshift insertion/deletion – инсерция/делеция со сдвигом рамки считывания. Н/д – нет данных. PVS1-PP5 – критерии для интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности. Неопред. – вариант неопределенного значения. Вер. патогенный – вероятно патогенный вариант. Патоген. – патогенный вариант. SIFT: D – Deleterious (патогенный); T – Tolerated (доброкачественный). PolyPhen2 HDIV: D – Probably damaging (вероятно повреждающий). MutationTaster: D(A) – disease causing (приводящий к заболеванию).

Суммарно у 22 пациентов, которым было выполнено MPS, выявлены 34 различных мутаций: миссенс – 22, нонсенс – 4, сплайсинговые мутации – 3, делеции со сдвигом рамки считывания – 3, инсерция со сдвигом рамки считывания – 1, протяженная делеция – 1. По своему функциональному значению мутации были распределены следующим образом: патогенные варианты – 13 (34,4%), вероятно патогенные – 17 (53,1%), варианты с неопределенной значимостью – 4 (12,5%). В данный и последующий анализ не были включены пациенты, у которых была выявлена только одна мутация с неопределенной значимостью и/или выявленные мутации не соответствовали фенотипу заболевания.

Спектр верифицированных молекулярно-генетических диагнозов в группе АРА (76 пациентов) представлен в таблице 10 и на рисунке 10.

Таблица 10 – Генетическая и нозологическая структура АРА

Заболевание	Ген	Число пациентов (%)
Болезнь Фридрейха	<i>FXN</i>	14 (18,4%)
<i>POLG</i> -ассоциированные атаксии	<i>POLG</i>	11 (14,5%)
Атаксия-телеангиэктазия	<i>ATM</i>	5 (6,5%)
Атаксия с окуломоторной апраксией 2 типа	<i>SETX</i>	2 (2,6%)
Атаксия с окуломоторной апраксией 1 типа	<i>APTX</i>	1 (1,3%)
Наследственная спастическая параплегия 11 типа	<i>SPG11</i>	2 (2,6%)
Наследственная спастическая параплегия 7 типа	<i>SPG7</i>	1 (1,3%)
<i>PNPLA6</i> -ассоциированные атаксии	<i>PNPLA6</i>	2 (2,6%)
Нейродегенерация с накоплением железа 2В типа	<i>PLA2G6</i>	1 (1,3%)
АР-СЦА 10 типа (SCAR10)	<i>ANO10</i>	1 (1,3%)
АР-СЦА 16 типа (SCAR16)	<i>STUB1</i>	1 (1,3%)
Болезнь Краббе	<i>GALC</i>	1 (1,3%)
Болезнь Ниманна-Пика типа С	<i>NPCI</i>	1 (1,3%)
Неверифицированные	-	33 (43,4%)

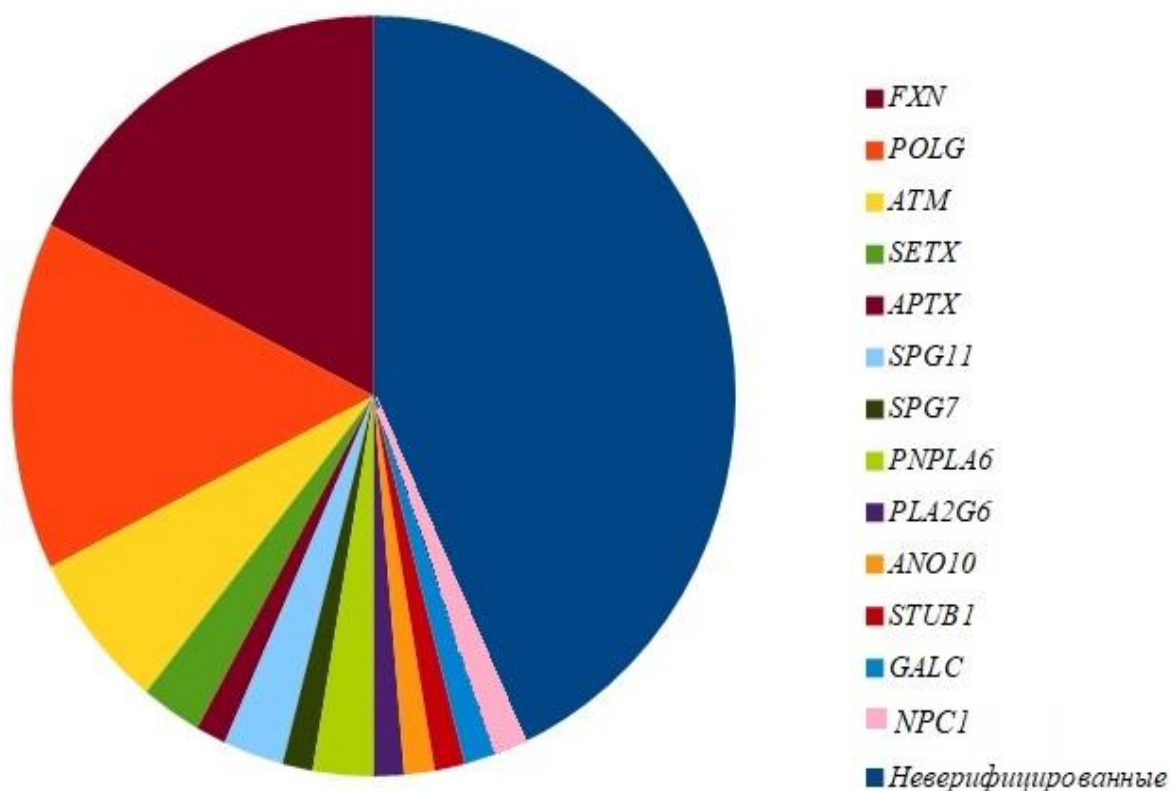


Рисунок 10 – Диаграмма установленных молекулярных диагнозов пациентов с АРА

Далее будет представлен анализ клинических характеристик, а также данные лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических методов обследования пациентов отдельных групп АРА, выявленных в ходе исследования.

3.2. Болезнь Фридрейха

В результате исследования были выявлены 14 пациентов из 13 семей с БФ — все были гомозиготными носителями патологической экспансии GAA-повторов в 1-м интроне гена *FXN* (7 муж., медиана возраста 27,5 [24; 37] лет; возраст дебюта 12 [7; 21] лет). У 4 пациентов заболевание дебютировало в возрасте 21–24 лет, что, однако, не позволяет диагностировать атипичную форму БФ с поздним началом (LOFA). Медиана длительности заболевания составила 16 [10; 18] лет. Длина GAA-экспансии в меньшем аллеле (GAA1) составила 500 [300, 700] повторов, в более длинном аллеле (GAA2) – 800 [700; 800] повторов. Предварительными диагнозами при поступлении в ФГБНУ НЦН были: БФ (11/14), СЦА (2/14), вегетососудистая

дистония (у пациентки с шаткостью, ощущением сердцебиения и изменениями на ЭКГ, 1/14).

Первыми симптомами БФ были шаткость при ходьбе (11/14), прогрессирующий кифосколиоз (1/14), асимптомные изменения на ЭКГ, которые длительное время трактовались как последствия перенесенного миокардита (2/14). Клиническая картина у большинства выявленных пациентов с БФ была типичной: атаксия смешанного характера (сенситивная, мозжечковая), снижение или отсутствие глубоких рефлексов, вялые парезы различной степени выраженности (больше в ногах), рефлекс Бабинского, вестибулярный синдром стволового уровня (спонтанный, разнонаправленный, вертикальный нистагм), снижение вибрационной и проприоцептивной чувствительности (преимущественно в ногах) (Таблица 11). У двух пациентов отмечалась атипичная форма заболевания – с сохраненными глубокими рефлексами (FARR, генотип 250/600 GAA-повторов) и фенотип спастической атаксии (генотип 600/700 GAA-повторов). Медиана оценки по шкалам тяжести атаксии составила: SARA 25,5/40 [16; 29] баллов, ICARS 65/100 [55; 69] баллов, что свидетельствует о преобладании тяжелых двигательных нарушений в данной группе; 10 пациентов (71,4%) на момент обследования самостоятельно не передвигались и использовали инвалидное кресло. Оценка когнитивных функций по шкале MoCA составила 24 [22; 27] баллов, у 9 пациентов (64,3%) отмечались легкие/умеренные когнитивные нарушения (MoCA < 26 баллов) преимущественно в тестах на внимание, абстрактное мышление и беглость речи. Выявлена отрицательная корреляция между длиной повтора GAA1 и возрастом дебюта ($R = -0,84$; $p = 0,00036$).

Таблица 11 – Спектр неврологических проявлений БФ

Неврологические проявления		Количество пациентов (%)
Атаксия	Мозжечковая	14 (100%)
	Сенситивная	14 (100%)
Дизартрия		13 (92,9%)
Центральный вестибулярный синдром		14 (100%)
Парезы	Нет	2 (14,3%)
	Нижних конечностей	3 (21,4%)
	Тетрапарез	9 (64,3%)
Гипотрофии	Нет	3 (21,4%)
	Нижних конечностей	1 (7,1%)
	Верхних и нижних конечностей	10 (71,5%)
Глубокие рефлексы	Живые	2 (14,2%)
	Снижены/отсутствуют	12 (85,8%)
Патологические рефлексы	Нет	1 (7,1%)
	Стопные	12 (85,8%)
	Стопные и кистевые	1 (7,1%)
Нарушения поверхностной чувствительности	Нет	8 (57,2%)
	Нижних конечностей	5 (35,7%)
	Верхних и нижних конечностей	1 (7,1%)
Нарушения глубокой и вибрационной чувствительности	Нет	0
	Нижние конечности	9 (64,3%)
	Верхние и нижние конечности	5 (35,7%)
Тазовые нарушения		2 (14,2%)
Нейросенсорная тугоухость		2 (14,2%)
Когнитивные нарушения (MoCA < 26 баллов)		9 (64,3%)

При проведении МРТ головного мозга у 5 пациентов (35,7%) отмечались легкие атрофические изменения мозжечка (преимущественно червя), при МРТ спинного мозга уплощение и атрофия последнего выявлялась у 10 пациентов (78,6%) (Рисунок 11).

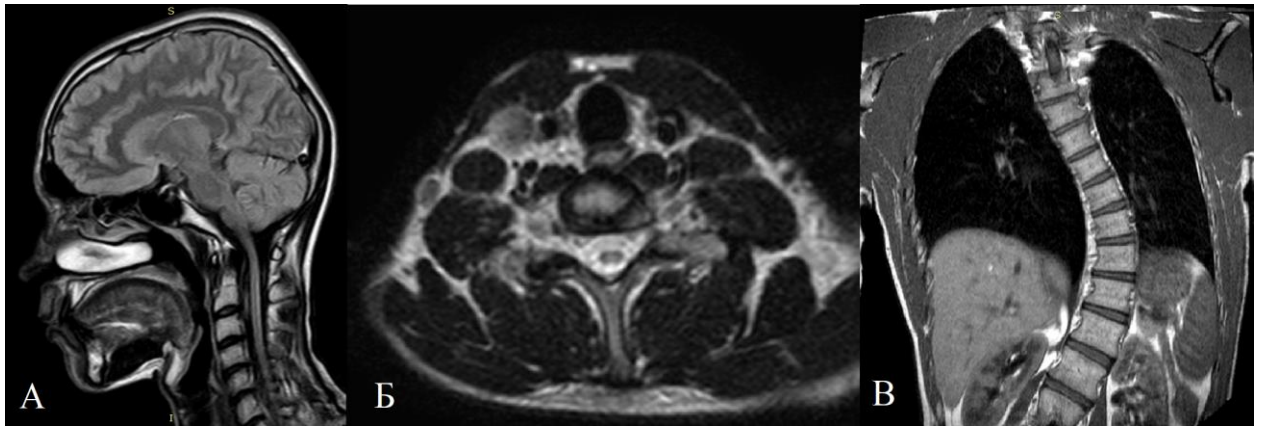


Рисунок 11. А – МРТ головного мозга и шейного отдела позвоночника (Т2-FLAIR, сагиттальный срез); Б – МРТ шейного отдела позвоночника (Т2-ВИ, аксиальный срез): определяются признаки истончения спинного мозга, мозжечок не изменен. В – МРТ грудного отдела позвоночника (Т1-ВИ, коронарный срез): сколиотическая деформация грудного отдела позвоночника.

При проведении ЭНМГ у всех пациентов выявлена сенсорная аксональная полиневропатия с нормальными параметрами проведения нервного импульса по моторным волокнам. Экстраневральные проявления в различных комбинациях присутствовали у всех пациентов (Рисунок 12).

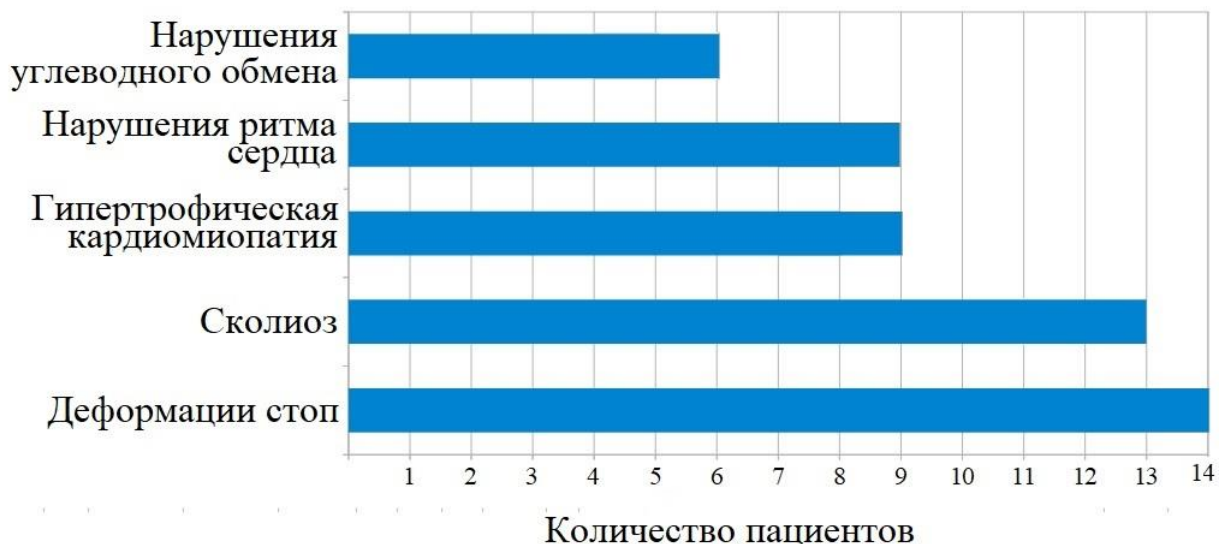


Рисунок 12 – Экстраневральные проявления у пациентов с БФ

Скелетные деформации были представлены деформациями стоп по типу «фридрейховских» (7/14) (Рисунок 13, А) либо высоким сводом стоп (7/14), сколиозом (12/14) (Рисунок 11, В). Изменения на ЭКГ были выявлены у 13/14

пациентов, чаще всего отмечались неспецифические изменения сегмента ST и/или зубца T (уплощение, инверсия, двухфазный зубец T). (Рисунок 13, Б)

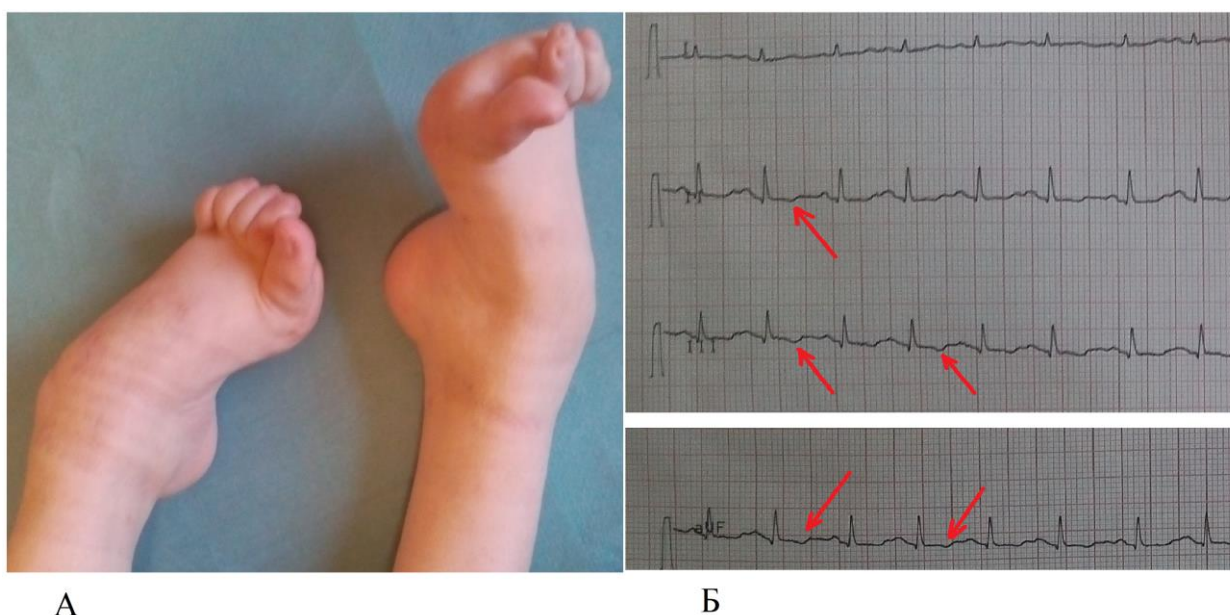


Рисунок 13 – Экстраневральные проявления БФ. А — деформации стоп по типу «фридрейховских»; Б — фрагмент записи ЭКГ пациентки с БФ (отрицательные зубцы T во II, III и aVF отведениях — указаны стрелками).

По данным ЭХО-КГ, у 9 пациентов (64,3%) были выявлены признаки кардиомиопатии: концентрическая гипертрофия левого желудочка без обструкции выносящего тракта (5/14 пациентов), очаги интрамурального фиброза миокарда (2/14), гипертрофия левого желудочка и межжелудочковой перегородки (1/14), расширение полости левого предсердия (1/14). У всех пациентов фракция выброса левого желудочка находилась в пределах нормы. Проплапс митрального клапана установлен у 5/14 пациентов. Нарушениями ритма и проводимости сердца (по данным ЭКГ и холтеровского мониторинга) были представлены частой желудочковой экстрасистолией (4/14), пароксизмальной наджелудочковой тахикардией (2/14), фибрилляцией-трепетанием предсердий (1/14), синоатриальной блокадой II степени (1/14), наджелудочковой экстрасистолией (1/14). Нарушения углеводного обмена были установлены у 6 пациентов (42,8%) и включали нарушение гликемии натощак (3/14) и нарушение толерантности к глюкозе (2/14), сахарный диабет (1/14).

3.3. *POLG*-ассоциированные атаксии

В ходе исследования были выявлены 11 пациентов с *POLG*-ассоциированными атаксиями. Четырем пациентам диагноз был верифицирован с использованием MPS-панели, 7 – при целенаправленном поиске мажорных мутаций в гене *POLG*. Клинические проявления у 10 пациентов соответствовали синдрому SANDO, у одной пациентки – недифференцированному синдрому, наиболее схожему с MEMSA.

Группа пациентов с синдромом SANDO (4 муж., 6 жен., возраст 32,5 [26, 37] лет) характеризовалась широким спектром возраста дебюта заболевания (медиана 29 [24; 32] лет). Длительность заболевания составила 5,5 [4; 7] лет. Первыми проявлениями болезни были атаксия (5/10), птоз век и офтальмоплегия (3/10), дизартрия (2/10). Положительный семейный анамнез выявлен у одного пациента — аналогичная клиническая картина отмечена у его брата с 50 лет, остальные случаи были спорадическими. Клиническая характеристика пациентов данной группы представлен в таблице 12.

Таблица 12 – Спектр клинических проявлений при синдроме SANDO

Неврологические проявления		Количество пациентов (%)
Атаксия	Мозжечковая	10 (100%)
	Сенситивная	10 (100%)
Дизартрия		10 (100%)
Офтальмопарез		10 (100%)
Птоз верхних век		6 (60%)
Нистагм		4 (40%)
Парезы	Нет	7 (70%)
	Нижних конечностей	2 (20%)
	Тетрапарез	1 (10%)
Гипотрофии	Нет	8 (80%)
	Нижних конечностей	2 (20%)
Снижение/отсутствие глубоких рефлексов		10 (100%)
Мышечный тонус	Снижен	8 (80%)
	Паратонии	2 (20%)

Нарушения поверхностной чувствительности	Нет	7 (70%)
	Нижних конечностей	3 (30%)
Нарушения глубокой и вибрационной чувствительности		10 (100%)
Высокий свод стоп		3 (30%)
Экстрапирамидные нарушения		2 (20%)
Эписиндром		1 (10%)
Когнитивные нарушения (MoCA < 26 баллов)		10 (100%)
Аффективные нарушения		1 (10%)
Тазовые нарушения		1 (10%)

У всех пациентов атаксия носила смешанный (сенситивный и мозжечковый) характер. Мозжечковая симптоматика была представлена характерным нистагмом (ротаторный при взгляде в стороны, вертикальный при взгляде вверх), нарушением саккадических и медленных следящих движений глазных яблок, дисметрией и интенционным тремором при выполнении координаторных проб, дисдиадохокinezом, диссинергией Бабинского, атаксической походкой (2 пациента передвигались с поддержкой). При оценке степени выраженности атаксии медиана счета по шкале SARA составила 14/40 [13; 17] баллов, а по шкале ICARS – 41,5/100 [36,5; 43,5] баллов. Медиана счета по шкале MoCA составила 22,5 [22; 25] балла. Другими характерными проявлениями были офтальмопарез, птоз верхних век (одному пациенту в дебюте заболевания выполнена блефаропластика), дизартрия (в одном случае — грубая дисфагия). Клинические проявления полиневропатии в различных комбинациях (гипо- и арефлексия, парезы, гипотрофии и снижение поверхностной чувствительности по дистальному типу, снижение проприоцептивной и вибрационной чувствительности, высокий свод стоп) были выявлены у всех пациентов. У 2 пациентов при проверке мышечного тонуса определялись паратонии (в сочетании с рефлексом орального автоматизма), что может указывать на поражение лобных долей при данном заболевании. Реже встречались экстрапирамидные (дистония, миоклонус), аффективные (тревога, депрессия) и тазовые (задержка мочи) нарушения; у одного пациента отмечались генерализованные миоклонические эпилептические приступы.

Пациентам проведены исследования функции печени, ЭКГ, ЭЭГ, стимуляционная ЭНМГ и МРТ головного мозга (Таблица 13).

Таблица 13 – Данные лабораторно-инструментальных методов обследования пациентов с синдромом SANDO

Обследование		Количество пациентов (%)
Функции печени	Повышение активности трансаминаз	4 (40%)
	Повышение билирубина	1 (10%)
Повышение лактата в крови		3 (30%)
Изменения на ЭКГ		5 (50%)
Изменения на ЭЭГ (выполнена 6 пациентам)		4 (67%)
ЭНМГ (полиневропатия)	Сенсорная аксональная	9 (90%)
	Сенсорная аксонально-демиелинизирующая	1 (10%)
Изменения на МРТ головного мозга		7 (70%)

Повышение активности АЛТ и АСТ в плазме крови в 2–3 раза обнаружилось у 2 пациентов; у 2 других это повышение имело незначительный характер, у одного пациента выявлена гипербилирубинемия до 22 мкмоль/л.

Учитывая данные о возможном развитии кардиальной патологии у некоторых пациентов с *POLG*-ассоциированными заболеваниями, в качестве скрининга всем пациентам выполнена ЭКГ в стандартных отведениях, что позволило выявить изменения у 5 человек: синусовая тахикардия (3 пациента), блокада передней ветви левой ножки пучка Гиса (1 пациент), ускоренное атрио-вентрикулярное проведение (1 пациент).

Данные рутинной ЭЭГ с функциональными пробами (фотостимуляция и гипервентиляция) были доступны у 6 пациентов. В ЭЭГ-заключениях были описаны:

- нормальная ЭЭГ-картина (2 пациента);
- доминирование патологической медленноволновой активности с билатерально-синхронной пароксизмальной активностью без типичных эпилептиформных знаков (3 пациента);

- эпилептиформная активность в лобных отделах (1 пациент).

У одного пациента с миоклоническими приступами, возникавшими 1–2 раза в год после пробуждения, на ЭЭГ выявлены единичные заостренные потенциалы в левой задневисочно-теменнозатылочной области и диффузное замедление ритма. На фоне применения леветирацетама (500 мг/сут) приступы прекратились.

При ЭНМГ признаки сенсорной аксональной полиневропатии были выявлены у 9 пациентов, а сенсорной аксонально-демиелинизирующей – у 1, что полностью соответствует клинической картине, наблюдавшейся у пациентов.

При проведении МРТ головного мозга у 7 пациентов обнаружены симметричные изменения МР-сигнала от белого вещества головного мозга в различных его отделах: в полушариях мозжечка (5 пациентов), нижних оливах (3 пациента), таламусах (3 пациента), варолиевом мосту и в среднем мозге (1 пациент) (Рисунок 14). Кроме того, у 2 пациентов выявлено диффузное повышение МР-сигнала в режимах T2 и T2-FLAIR от семиовальных центров, у 3 пациентов — слабое расширение ликворосодержащих пространств (преимущественно субарахноидальных пространств лобных долей), у 1 пациентки – признаки атрофии червя мозжечка. У 3 пациентов отклонений от нормы при проведении МРТ головного мозга не выявлено.

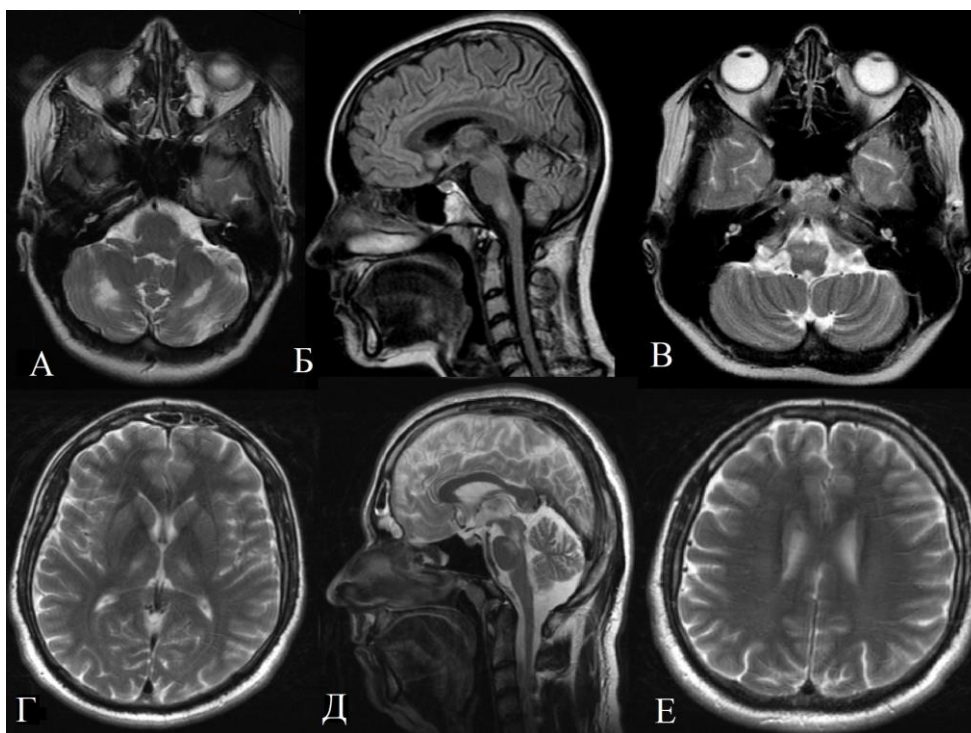


Рисунок 14 – МРТ головного мозга пациентов с синдромом SANDO. А (аксиальный срез, T2-ВИ) - симметричные зоны повышенного МР-сигнала от белого вещества обоих полушарий мозжечка; Б (сагиттальный срез, T2-FLAIR) и С (аксиальный срез, T2-ВИ) - гиперинтенсивный МР-сигнал от передних отделов продолговатого мозга (нижние оливы); Г (аксиальный срез, T2-ВИ) - симметричное повышение МР-сигнала от таламусов; Д (сагиттальный срез, T2-ВИ) - очаг повышенного МР-сигнала в покрышке моста и дорсальных отделах среднего мозга; Е (аксиальный срез, T2-ВИ) - диффузное симметричное повышение МР-сигнала от семиовальных центров

Молекулярно-генетический анализ выявил у всех пациентов носительство двух мутаций в гене *POLG*, при этом одна из частых мутаций p.W748S встречалась у 9 пациентов (у 8 из них – в гомозиготном состоянии), составив 85% мутантных аллелей. Методом MPS выявлена 1 пациентка с мутацией p.W748S в гомозиготном состоянии, а также 2 пациента с компаунд-гетерозиготным носительством мутаций (p.W748S/p.L931R и p.R579W/p.L311P).

Приводим описание клинического случая пациента с синдромом SANDO с дистоническим гиперкинезом и миоклоническими приступами с типичной для данного заболевания ЭЭГ-картиной.

Клинический пример №2.

Пациент НРШ, 33 лет, предъявлял **жалобы на:** неустойчивость при ходьбе, двоение, эпизоды «судорог по всему телу», нечеткость речи.

Анамнез заболевания. В 28 лет после пробуждения впервые развился эпизод «судорог по всему телу» длительностью около 2 минут без утраты сознания. За свою жизнь отмечает три подобных эпизода. В 30 лет появились шаткость и неуверенность при ходьбе, двоение, которые постепенно прогрессировали. С 31 года – нечеткость речи. МРТ головного мозга (2017 г.): в белом веществе обеих гемисфер мозжечка, варолиевом мосту, среднем мозге и таламусах определяются симметричные участки гиперинтенсивного МР-сигнала в T2-ВИ и T2-FLAIR (Рис. 14; Г, Д).

Семейный анамнез: родители состоят в инбрендном браке (Рис. 9А).

Неврологический статус: Сознание ясное. МоСА 25 баллов. Менингеальных знаков нет. Глазные щели симметричные, полуптоз с двух сторон. Наружный офтальмопарез. Диплопия при взгляде в стороны и вверх. Нистагма нет. Легкая дизартрия, дисфония. Парезов нет. Мышечный тонус в конечностях снижен. Глубокие рефлексы с рук снижены, D=S, коленные живые, D=S, ахилловы - abs. Дистонический тремор головы. Координаторные пробы выполняет с дисметрией и интенционным тремором с двух сторон. В пробе Ромберга неустойчив. Походка атаксическая, база расширена, тандемная ходьба 2-3 шага. Проприоцептивная и вибрационная чувствительность снижены на уровне стоп. SARA 14/40 баллов, ICARS 42/100 баллов.

По данным обследований:

- в биохимическом анализе крови — повышение активности трансаминаз (АЛТ 80 Ед/л, АСТ 42 Ед/л) и билирубина до 21,45 мкмоль/л, соотношение лактат/пируват 11,5 (норма менее 10).
- ЭНМГ — признаки генерализованной сенсорной аксональной полиневропатии;
- ЭЭГ — при закрытых глазах регистрируется продолженное диффузное замедление, иногда больше в центрально-вертексных или передневисочных

отведениях, а также единичные заостренные потенциалы в левой задневисочно-теменно-затылочной области.

Учитывая характерную клиническую и нейровизуализационную картину, проведена ДНК-диагностика частых мутаций в гене *POLG* методом MLPA, выявлена мутация p.W748S в гомозиготном состоянии, что позволило верифицировать у пациента синдром SANDO.

Помимо пациентов с синдромом SANDO, нами впервые была выявлена и подробно описана пациентка с широким спектром клинических проявлений, наиболее схожими с синдромом MEMSA. Учитывая редкость данной патологии среди взрослых пациентов, приводим краткое описание данного случая.

Клинический пример №3.

Пациентка СНА, 36 лет, предъявляла **жалобы** на шаткость и неустойчивость при ходьбе (хуже в темноте), дрожание головы и правой руки, нечеткость речи, двоение при взгляде в стороны, снижение памяти на текущие события, тревожность и чувство страха при выходе из на улицу, плаксивость, перепады настроения.

Анамнез заболевания: В 30 лет ночью после пробуждения возник приступ, характеризующийся напряжением и парестезиями в левой руке, переходящими на все тело, с последующим генерализованным тонико-клоническим припадком и утратой сознания в течение 2 мин. Аналогичные приступы повторялись примерно 2 раза в месяц, большинство — после пробуждения, один приступ произошел в состоянии активного бодрствования. В 34 года появилось непостоянное дрожание в правой кисти, со временем дрожание распространилось на всю руку, возник тремор головы. ЭЭГ: патологические медленные ритмы и эпилептиформная активность генерализованного характера, преимущественно теменно-задневисочных областях. МРТ головного мозга представлена на Рисунке 15. С 35 лет - прогрессирующая шаткость при ходьбе (хуже в темноте), нечеткость и «смазанность» речи. Была исключена болезнь Вильсона, анализ крови на ТТГ, витамин В12 и фолиевую кислоту — в норме. В крови выявлен повышенный уровень лактата (4,1 ммоль/л при норме до 1,6 ммоль/л). УЗИ брюшной полости —

признаки гепатомегалии. С 36 лет появились чувство страха и тревоги при выходе на улицу, плаксивость, перепады настроения. Психиатром диагностировано «органическое тревожное расстройство в связи с эписиндромом». В ЭЭГ от 2018 г. на фоне умеренных диффузных изменений регистрируется эпилептиформная активность в виде спайков, острых волн и ритмичных заостренных тета-колебаний в затылочно-теменно-задневисочных отделах, выраженных билатерально без четкой асимметрии. При ЭМГ-исследовании от 2018 г. отмечено снижение значения средней длительности потенциалов двигательных единиц, позволяющее предполагать первично-мышечное поражение; признаки сенсорной аксонопатии (сенсорные ответы нервов нижних конечностей не регистрируются).

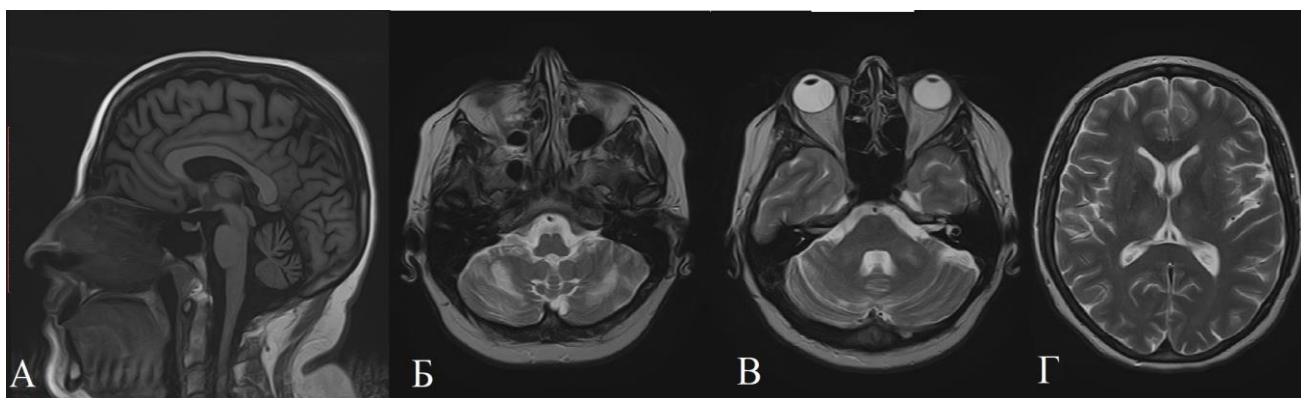


Рисунок 15 – МРТ головного мозга пациентки *СНА*. А – Т1-ВИ, сагиттальный срез: атрофия червя мозжечка. Б, В, Г – Т2-ВИ, аксиальный срез: гиперинтенсивные симметричные участки в полушариях мозжечка (Б), средних мозжечковых ножках (В), таламусе (Г) с обеих сторон.

Семейный анамнез: родной брат (44 года) злоупотребляет алкоголем, отмечались два генерализованных судорожных приступа.

В неврологическом статусе: сознание ясное; контактна, ориентирована правильно. МоСА – 17 баллов. Фон настроения снижен, тревожна, плаксива, астенизирована. Глазные щели, зрачки равные. Легкое расходящееся косоглазие за счет OS. Горизонтальный нистагм с ротаторным компонентом при взгляде в стороны. Ограничение взора вверх и в стороны. Лицо симметрично, легкая слабость лицевой мускулатуры. Легкая дизартрия, дисфагии и дисфонии нет.

Легкий вялый тетрапарез в проксимальных отделах конечностей. Глубокие рефлексы отсутствуют. Миоклонии в правой руке, преимущественно в дистальных отделах. Дистонический тремор головы, больше по типу «нет-нет», уменьшающийся при повороте головы влево. Болевая чувствительность снижена по полиневритическому типу в ногах («носки»). Проприоцептивное чувство снижено в суставах пальцев стоп, вибрационная чувствительность — на уровне стоп и колен. ПНП пробу выполняет с легкой дисметрией и интенционным тремором с двух сторон, ПКП - удовлетворительно. В пробе Ромберга неустойчива, выражен сенситивный компонент. Походка атактическая, неустойчивость при поворотах, тандемная ходьба затруднена (2-3 шага). Счет по шкале SARA – 10/40 баллов, ICARS – 27/100 баллов.

При проведении ДНК-диагностики с использованием оригинальной MPS-панели были выявлены 2 описанные ранее патогенные миссенс-мутации в гене *POLG* в компаунд-гетерозиготном состоянии: с.С428Т (р.А143V) во 2 экзоне и с.G2243С (р.W748S) в 13 экзоне.

Пациентке подобрана схема противоэпилептической терапии (леветирацетам 750 мг 2 раза в день), на фоне чего частота приступов уменьшилась.

Данный случай иллюстрирует трудности диагностики и широкий полиморфизм клинических проявлений *POLG*-ассоциированных атаксий.

Атаксии с нарушением репарации ДНК

Различные формы атаксий с нарушением репарации ДНК были выявлены у 8 пациентов из 6 семей (АТ – 5, АОА 2 типа – 2, АОА 1 типа – 1 пациент). В большинстве случаев клиническая картина (сочетание атаксии, полиневропатии и выраженных глазодвигательных нарушений) и возраст дебюта были типичными для всех диагностированных нозологических форм, что позволяет рассматривать их в рамках одной группы заболеваний. Наиболее характерные признаки данных патологий представлены на рисунке 16.

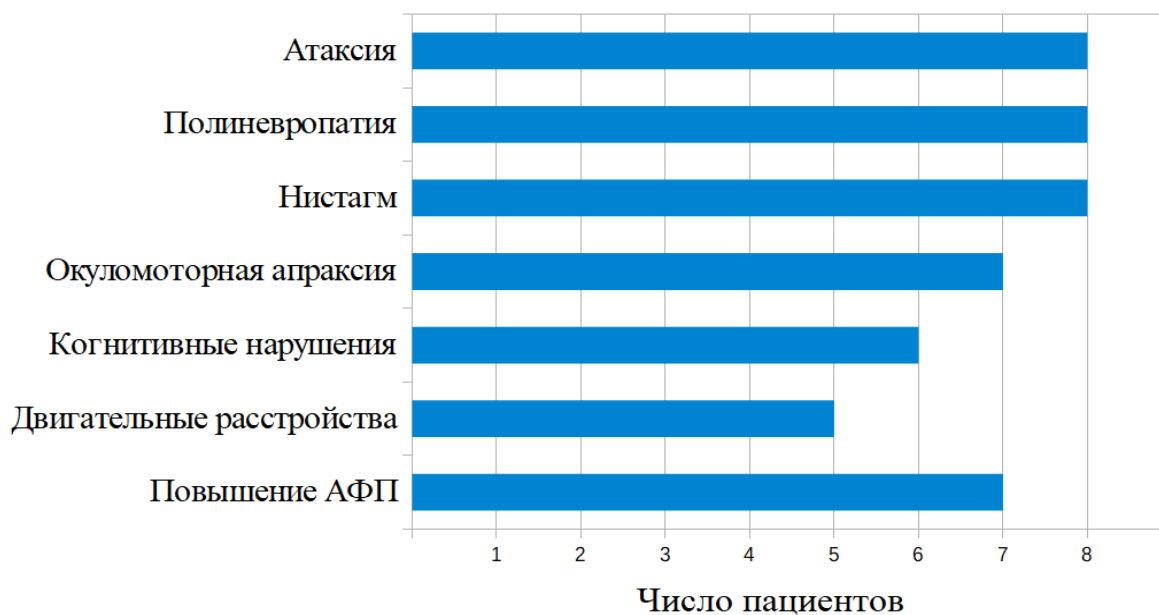


Рисунок 16 – Спектр клинических проявлений атаксий с нарушением репарации ДНК

При проведении МРТ головного мозга у всех пациентов были выявлены сходные изменения – признаки атрофии червя и полушарий мозжечка (расширение субарахноидальных пространств и истончение борозд червя и полушарий мозжечка, расширение IV желудочка) (Рисунок 17).

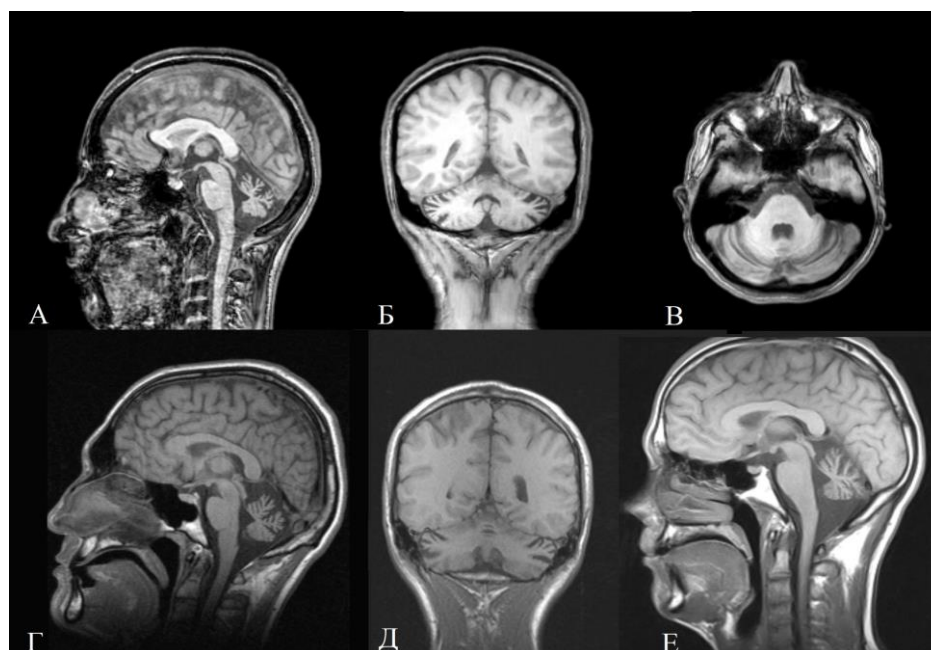


Рисунок 17 – МРТ головного мозга (Т1-ВИ): А–В – пациентка с АТ; Г, Д – пациенты с АОА 2 типа; Е – пациент с АОА 1 типа. Отмечается расширение субарахноидального пространства и борозд мозжечка, истончение извилин полушарий и червя мозжечка

Далее будет представлен детальный анализ клинической картины, лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических данных пациентов с верифицированными диагнозами.

3.4. Атаксия-телеангиэктазия

АТ была верифицирована у 5 пациентов из 3 семей (1 муж., 4 жен.). Возраст на момент осмотра составил 28 [27; 30] лет, возраст дебюта 7 [4; 7] лет, длительность заболевания 22 [21; 24] лет. Клиническая характеристика пациентов с АТ представлена в Таблице 14.

Таблица 14 – Характеристики пациентов с АТ

Пациент (код семьи)	<i>ШС (1)</i>	<i>ШМ (1)</i>	<i>ИЗ (2)</i>	<i>ИФ (2)</i>	<i>Бол (3)</i>
Пол	Жен	Жен	Жен	Жен	Муж
Возраст/дебют, лет	25/4	27/3	31/7	30/8	28/7
Первый симптом	Атаксия	Дизартрия	Атаксия	Атаксия	Дистония
SARA/ICARS, баллы	20,5/60	26/65	28/74	27/71	20/61
Дизартрия	++	++	+	+	+
ОА	+++	+++	++	++	++
Страбизм	++	++	Отсутствует		
Нистагм	+++	++	++	++	+++
Нарушение саккад	+++	+++	++	++	++
Двигательные нарушения	Дистония, хорей	Хореоатетоз	Дистония	Нет	Дистония
Полиневропатия (ЭНМГ)	СМ-А	СМ-А	СМ-АД	СМ-АД	СМ-АД
МоСА, баллы	17	16	25	25	21
Частые инфекции	Отсутствуют				
Онкопатология	ОВЛЛ	Отсутствует			
Телеангиэктазии	Отсутствуют				

Примечание: СМ-А – сенсомоторная аксональная; СМ-АД – сенсомоторная аксонально-демиелинизирующая; ОВЛЛ – острый В-лимфобластный лимфолейкоз.

В данной группе пациентов атаксия носила преимущественно мозжечковый характер и была наиболее инвалидизирующим проявлением — 3 пациентов

передвигались только с опорой, 2 пациента (сестры *ИЗ* и *ИФ*) использовали инвалидное кресло. Медиана оценки по шкале SARA составила 26/40 [25; 27] баллов, по шкале ICARS – 65/100 [64; 71] баллов. Характерным для данных пациентов является наличие широкого спектра глазодвигательных нарушений: ОА, горизонтальный и вертикальный нистагм, нарушение саккадических движений глазных яблок, ограничения взора встречались у 100% пациентов, у сестер *ШС* и *ШМ* выявлялся грубый страбизм. Также облигатным признаком являлось наличие клинических и электрофизиологических признаков полиневропатии в виде отсутствия глубоких рефлексов (5/5), гипотрофий мышц конечностей по дистальному типу (5/5), дистальных парезов (2/5), нарушения чувствительности по полиневритическому типу (5/5). У пациентки *ШС*, перенесшей острый В-лимфобластный лимфолейкоз, полиневропатия была наиболее выражена ввиду проведения повторных курсов полихимиотерапии. У 4/5 пациентов в неврологическом статусе отмечались гиперкинезы: дистония (3/5), хореоатетоз (1/5), хорея (1/5). Также у всех пациентов выявлялись когнитивные нарушения различной степени выраженности (MoCA 21 [17; 25] балла).

Среди экстраневральных проявлений только у одной пациентки был выявлен острый лейкоз; частых инфекционных заболеваний, а также телеангиэктазий на коже, конъюнктиве и слизистых оболочках ни у одного пациента не было обнаружено. Необходимо отметить, что оба родителя пациенток *ИФ* и *ИЗ* умерли в молодом возрасте от онкозаболеваний (отец – рак легкого, мать – рак шейки матки), что подтверждает высокий риск развития данной патологии у гетерозиготных носителей мутаций в гене *ATM*.

Данные лабораторных исследований представлены в Таблице 15.

Таблица 15 – Данные биохимических и молекулярно-генетических методов исследования

Показатель	<i>ШС (1)</i>	<i>ШМ (1)</i>	<i>ИЗ (2)</i>	<i>ИФ (2)</i>	<i>Бол (3)</i>
АФП, МЕ/мл	22,9 ↑	22,7 ↑	12,1 ↑	18,2 ↑	33,7 ↑
IgG, г/л	12,846	13,763	13,321	15,898	14,814

IgA, г/л	0,767 ↓	1,137	1,108	1,333	0,884 ↓
IgM, г/л	2,983	2,725	3,090 ↑	2,627	3,840 ↑
КФК, Ед/л	82	195	239 ↑	60	270 ↑
Мутация-1	с.Т5471С (р.Л1824R)		с.3284+4А>G		с.А722G (р.К241R)
Мутация-2	с.А8615Т (р.Н2872L)	Del chr11:108196036-108235945		с.А722G (р.К241R)	

Примечание: здесь и далее приняты референсные значения: IgG – 8,0-18,0 г/л, IgA – 0,9-4,5 г/л, IgM – 0,7-2,8 г/л, АФП — 0,5-5,5 МЕ/мл, КФК — 0-195 Ед/л.

По данным биохимических анализов, у всех пациентов отмечалось повышение уровня АФП в крови в 2–6 раз (медиана 22,7 [18,2; 22,94] МЕ/мл), что считается облигатным маркером АТ. Выявлена достоверная отрицательная корреляция между уровнем АФП в сыворотке крови и тяжестью атаксии по шкале ICARS ($R = -0,9$; $p = 0,037$). У двух пациентов выявлено снижение уровня IgA в крови, что также является характерным маркером данного заболевания. Повышение уровня IgM выявлено у 2/5 пациентов, что также может отражать иммунный дисбаланс при АТ. Незначительное повышение КФК выявлено у 2/5 пациентов, что, вероятнее всего, обусловлено наличием полиневропатии.

Мутация р.Л1824R была описана ранее у итальянского пациента с АТ [Cavalieri S. et al., 2006]. Миссенс-мутации р.Н2872L и р.К241R выявлены нами впервые и расценены как варианты с неопределенной клинической значимостью, однако полностью соответствующие фенотипу АТ. Другой ранее не описанный вариант с.3284+4А>G расположен в зоне сплайсинга и, согласно алгоритму Human Splicing Finder, нарушает сплайсинг, что также позволяет расценивать его как вероятно патогенный. Также по итогам анализа покрытия у пациенток ИМ и ИЗ была обнаружена крупная делеция участка chr11:108196036-108235945 в компаунд-гетерозиготном состоянии, затрагивающая 1–6 экзоны гена АТМ. Необходимо отметить, что подобные протяженные делеции являются характерными для данного гена и для большинства из них патогенность доказана. Данная делеция выявлена нами впервые, однако не была подтверждена референсным методом по техническим причинам.

3.5. Атаксия с окуломоторной апраксией 1 типа

В результате исследования диагноз АОА 1 типа был верифицирован и впервые подробно описан у одного пациента с характерной клинической картиной — ранним возрастом дебюта, фридрейхоподобным фенотипом заболевания с выраженной атаксией, окуломоторной апраксией, умеренными когнитивными нарушениями, гипоальбуминемией и гиперхолестеринемией. Приводим клиническое наблюдение данного случая.

Клинический пример №4.

Пациент ГВА, 35 лет, поступил в ФГБНУ НЦН с **жалобами** на шаткость и неустойчивость при ходьбе, невозможность самостоятельной ходьбы, нарушение мелкой моторики и дискоординацию в руках, нарушение почерка, нечеткость речи, трудности при чтении («прыгают строчки»).

Анамнез заболевания: с 6-7 лет появилась легкая шаткость и неустойчивость при ходьбе, «пьяная походка», которые медленно прогрессируют. В школе отметил изменения почерка (крупные неровные разорванные буквы). С 18-19 лет с трудом передвигается самостоятельно, стали нарастать дрожание и дискоординация в руках, похудели мышцы голеней и бедер, появились трудности при чтении («прыгают строчки»). В последующие годы — медленное прогрессирование координаторных нарушений, шаткости, похудания конечностей. Частые инфекционные заболевания (ОРВИ, фарингиты, синуситы, бронхиты и пневмонии) отрицает.

Семейный анамнез не отягощен: родители и брат (39 лет) клинически здоровы.

В соматическом статусе — без особенностей, телеангиэктазии на коже, конъюнктиве и слизистых оболочках отсутствуют.

Неврологический статус: Сознание ясное, контактен; ориентирован правильно. МоСА 21 балл. Менингеальных знаков нет. Глазные щели, зрачки OS=OD. Расходящееся косоглазие за счет OD. Не доводит глазные яблоки до наружных спаек. Окуломоторная апраксия. Прерывистые медленные движения глазных яблок. Замедление и гипометрия горизонтальных и вертикальных саккад.

Среднеамплитудный горизонтальный нистагм в крайних отведениях. Лицо симметрично. Легкая дизартрия (скандирование), дисфонии и дисфагии нет. Язык по средней линии. Нижний паразетоз 4 балла в проксимальных отделах, 3,5 балла в дистальных. Тонус мышц снижен. Глубокие рефлексy отсутствуют. Гипотрофии бедер, голеней и стоп. Координаторные пробы выполняет со среднеамплитудным интенционнyм тремором и выраженной дисметрией с двух сторон. Дисметрия в пробе с молоточком. Диссинергия Бабинского. Дисдиадохокинез, S>D. Титубация головы и туловища в положении сидя и стоя. Походка атактическая, передвигается с посторонней поддержкой, тандемная ходьба невозможна. В пробе Ромберга не стоит. Поверхностная чувствительность не нарушена, суставно-мышечное чувство снижено в суставах пальцев стоп, вибрационная снижена на уровне стоп, колен, тазовых остей, кистей, локтей и ключиц с двух сторон. Функции тазовых органов не нарушены. Счет по шкале SARA – 22/40 баллов, ICARS – 44/100 баллов.

По данным обследований:

- МРТ головного мозга: признаки атрофии червя и полушарий мозжечка (Рисунок 17, Е).
- ЭНМГ: признаки выраженного сенсомоторного первично-аксонального невральнoго поражения.
- В биохимическом анализе крови выявлена гиперхолестеринемия до 10,0 ммоль/л, гипоальбуминемия до 34 г/л (норма 38–44 г/л) при нормальных значениях общего белка; КФК общ. 172 Ед\л.
- Анализ крови на IgG, IgM, IgA, альфа-фетопротеин — в пределах нормы.

По результатам полноэкзомного секвенирования выявлены две патогенные мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии: с.739С>Т (р.Р247Х) и с.689Т>G (р.У230G) в гене *APTX*. Мутация р.Р247Х была описана ранее в литературе [Mosesso P. et al., 2005], приводит к образованию стоп-кодона и преждевременной терминации трансляции в 6 экзоне. Миссенс-замена р.У230G также расположена в 6 экзоне в консервативном сайте и также была описана ранее у пациентов с АОА 1 типа [Ferrarini M. et al., 2007].

Таким образом, диагноз АОА 1 типа был подтвержден на молекулярно-генетическом уровне.

3.6. Атаксия с окуломоторной апраксией 2 типа

В ходе исследования были выявлены 2 пациента с АОА 2 типа — оба мужчины 20 и 28 лет. Диагноз был верифицирован с использованием оригинальной MPS-панели, у обоих пациентов были обнаружены по 2 мутации в гене *SETX* в компаунд-гетерозиготном состоянии. Клинические и лабораторно-инструментальные данные пациентов представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Характеристика пациентов с АОА 2 типа

Пациент	Пациент <i>ТДВ</i>	Пациент <i>ЖЕС</i>
Пол	Муж	Муж
Возраст/возраст дебюта, лет	28/18	20/17
Клиническая картина		
Мозжечковая атаксия	+++	+++
Сенситивная атаксия	+	+
SARA/ICARS, баллы	14/44	15/46
Глазодвигательные нарушения	Горизонтальный и вертикальный нистагм, дисметрия саккад	
Окуломоторная апраксия	+	Нет
Дизартрия	++ (скандирование)	+ (скандирование)
Парезы/тонус/глубокие рефлексy	Нет/снижен/отсутствуют	
Гипотрофии мышц	Кисти, голени, стопы	Нет
Поверхностная чувствительность	Снижена в кистях и стопах	Не нарушена
Проприоцептивная/ вибрационная чувствительность	Снижены в стопах/на уровне стоп и колен	Снижены в стопах
Деформации стоп	Нет	Высокий свод
MoCA, баллы	27	28
Лабораторно-инструментальные данные		
MPT головного мозга	Атрофия червя и полушарий мозжечка	
ЭНМГ	Сенсомоторная аксональная полиневропатия	
Альфа-фетопротеин, МЕ/мл	13,9 ↑	55,7 ↑

Активность КФК, Ед/л	118	350 ↑
Мутация-1	c.A6029G (p.N2010S)	c.G7241T (p.R2414L)
Мутация-2	c.976_977del (p.R326fs)	c.4839_4840del (p.S1613fs)

Клиническая картина заболевания у обоих пациентов была типичной – характерный возраст дебюта (17–18 лет), «фридрейхоподобный» фенотип (сочетание мозжечковой и сенситивной атаксии, сенсомоторной аксональной полиневропатии, глазодвигательных нарушений), отсутствие когнитивных нарушений, характерные данные нейровизуализации и повышенный уровень АФП (при нормальных значениях холестерина, альбумина и иммуноглобулинов в крови), что позволило предположить диагноз АОА 2 типа на этапе, предшествующем ДНК-диагностике. Менее характерными являются отсутствие экстрапирамидных расстройств у обоих пациентов и ОА у пациента ЖЕС, однако данные симптомы не являются облигатными. Оба пациента на момент осмотра вынуждены передвигаться с односторонней поддержкой или опорой.

Выявленные мутации в гене *SETX* являются миссенс-заменами (p.N2010S и p.R2414L) и делециями, приводящими к сдвигу рамки считывания (p.R326fs и p.S1613fs). Мутация p.N2010S описана ранее в литературе как патогенная у пациентов с АОА 2 типа [Anheim M. et al., 2009], делеции выявлены впервые и по программам предсказания патогенности оценены как патогенные. Миссенс-мутация p.R2414L также выявлена впервые, однако в литературе ранее была описана патогенная нонсенс-замена в этом же положении (p.R2414X) [Anheim M. et al., 2009].

3.7. Спастические атаксии и НСП-плюс

Данная группа заболеваний, находящаяся на стыке НСП и СЦА, является крайне гетерогенной и разнообразной по своим генетическим основам, патофизиологии и клиническим проявлениям. Нами выявлены 3 пациента с фенотипом спастической атаксии, у которых были обнаружены мутации в генах НСП (*SPG11* – 2 пациента, *SPG7* – 1 пациент). Клинические проявления, данные обследований и выявленные мутации представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Характеристика пациентов со спастическими атаксиями.

Пациент	<i>КМЛ</i>	<i>ХЮВ</i>	<i>КМВ</i>
Пол	Жен	Жен	Муж
Возраст/дебют, лет	28/26	23/15	30/20
Атаксия	++	++	+++
SARA/ICARS, баллы	8/20	9/24	14/45
Нистагм	+	+	++
Нарушения саккад	+	+	++
Дизартрия	+	++	+
Нижний паразетез	+	++	++
Оживление глубоких рефлексов	+	++	+++
Патологические рефлексы	Рефлекс Бабинского с двух сторон		
Спастический тонус	+	++	++
Клонусы стоп	+	++	++
Нарушения чувствительности	Снижена вибрационная чувствительность в стопах	Нет	Нет
MoCA, баллы	23	18	27
ЭНМГ	Без патологии		
MPT головного мозга	Атрофия червя мозжечка, истончение мозолистого тела, симптом «уши рыси»		Атрофия червя мозжечка
Ген	<i>SPG11</i>	<i>SPG11</i>	<i>SPG7</i>
Мутация-1	c.C2431T (p.Q811X)	c.C2431T (p.Q811X)	c.T233A (p.L78X)
Мутация-2	c.7168dupC (p.P2390fs)	c.733_734delAT (p.M245fs)	-

У данных пациентов в клинической картине наблюдались как симптомы поражения мозжечка (негрубая статико-локомоторная атаксия, нистагм, нарушения саккад, дизартрия), так и нижний спастический паразетез с гиперрефлексией, клонусами стоп и рефлексом Бабинского. Все пациенты ранее наблюдались с диагнозом «СЦА». У пациентов *ХЮВ* и *КМВ* выраженность атаксии и пирамидного синдрома были сопоставимы, у пациентки *КМЛ* преобладала атаксия (в сочетании со снижением вибрационной чувствительности в стопах). У обеих пациенток с НСП 11 типа наблюдались когнитивные нарушения, на MPT

головного мозга выявлены характерные для данного заболевания изменения (Рисунок 18).

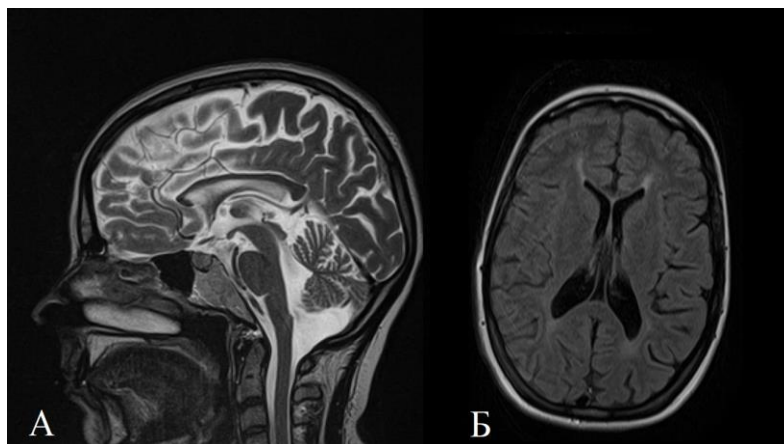


Рисунок 18 – МРТ головного мозга пациентки *КМЛ (SPG11)*. А (сагиттальный срез, T2-ВИ): определяется истончение мозолистого тела и признаки атрофии червя мозжечка; Б (аксиальный срез, T2-FLAIR): симметричное повышение МР-сигнала у передних рогов боковых желудочков (симптом «уши рыси»).

У обеих пациенток с НСП 11 типа выявлена нонсенс-мутация p.Q811X (rs756134516), расположенная в 13 экзоне и приводящая к терминации синтеза полипептидной цепи спатаксина. Данная мутация была описана ранее у итальянского пациента с НСП 11 типа с дебютом заболевания в 2 года в компаунд-гетерозиготном состоянии, атаксии в клинической картине не было [Travaglini L. et al., 2018]. Делеция c.733_734delAT в 4 экзоне, выявленная у пациентки *ХЮВ* и приводящая к сдвигу рамки считывания, была описана ранее у турецкого пациента с НСП 11 типа [Stevanin G. et al., 2008]. Мутация c.7168dupC в 40 экзоне, также приводящая к сдвигу рамки считывания, ранее в литературе описана не была и выявлена нами впервые.

У пациента *КМВ* была выявлена лишь одна патогенная нонсенс-мутация p.L78X в гене *SPG7* компаунд-гетерозиготном состоянии, однако детальное сопоставление с фенотипом позволяет рассматривать её как каузальную. Данная мутация расположена в начале гена (2 экзон) и была описана у франко-канадского пациента с дебютом спастической атаксии в 30 лет и атрофией мозжечка при МРТ

головного мозга [Choquet K. et al., 2016]. С другой стороны, данная мутация была обнаружена у трех пациентов из двух итальянских семей с фенотипом НСП-плюс [Arnoldi A. et al., 2008].

3.8. *PNPLA6*-ассоциированные атаксии

Нами были выявлены две пациентки — носительницы мутаций в гене *PNPLA6*, которым были установлены диагнозы СБН и СГХ. Пациенты с данными диагнозами ранее в России не выявлялись и подробно описаны нами впервые. Характеристика данных больных представлена в таблице 18.

Таблица 18 – Спектр клинических проявлений и данные обследований пациентов с *PNPLA6*-ассоциированными атаксиями.

Пациент	<i>ГАН</i>	<i>ЛНЛ</i>
Пол	Жен.	Жен.
Возраст/дебют, лет	33/5	32/14
Первый симптом	Атаксия	Аменорея
SARA/CARS, баллы	15/42	13/36
Нистагм	++	++
Глубокие рефлексы	Отсутствуют	Оживлены
Патологические рефлексы	Нет	Россолимо с 2х сторон
Мышечный тонус	Снижен	Снижен
Нарушения чувствительности	Нет	Нет
Двигательные нарушения	Дистонический тремор головы и рук	Нет
MoCA, баллы	Н/д	18
Поражение органа зрения	Хориоретинальная дистрофия	Нет
Гипогонадизм	+	+
МРТ головного мозга	Атрофия полушарий и червя мозжечка	
ЭНМГ	Норма	Норма
Мутация-1	c.1848_1858del (p.D616fs)	c.3397+1G>A
Мутация-2	c.C3058T (p.R1020C)	c.G2890A (p.G964S)
Диагноз	СБН	СГХ

У обеих пациенток наблюдалась типичная клиническая картина соответствующего заболевания. У пациентки *ГАН* заболевание дебютировало с атаксии, позже присоединились нарушения зрения, в пубертатном периоде выявлен гипогонадотропный гипогонадизм, была исключена СЦА 7 типа. Таким образом, клиническая картина заболевания полностью соответствует классическому фенотипу СБН. При МРТ головного мозга отмечаются признаки атрофии червя и полушарий мозжечка (Рисунок 19, А), при офтальмоскопии — картина хориоретинальной дистрофии (Рисунок 19, Б). Наличие дистонии менее характерно для СБН, однако диагнозу не противоречит. Выявленные в компаунд-гетерозиготном состоянии мутации в гене *PNPLA6* ранее описаны не были: делеция 11 нуклеотидов *CTGCACTTACA* в 19 экзоне (с.1848_1858del) приводит к сдвигу рамки считывания (p.D616fs); миссенс-мутация p.R1020C в 28 экзоне расположена в функционально значимой области гена – фосфолипид-эстеразном домене, по программам предсказания является патогенной.

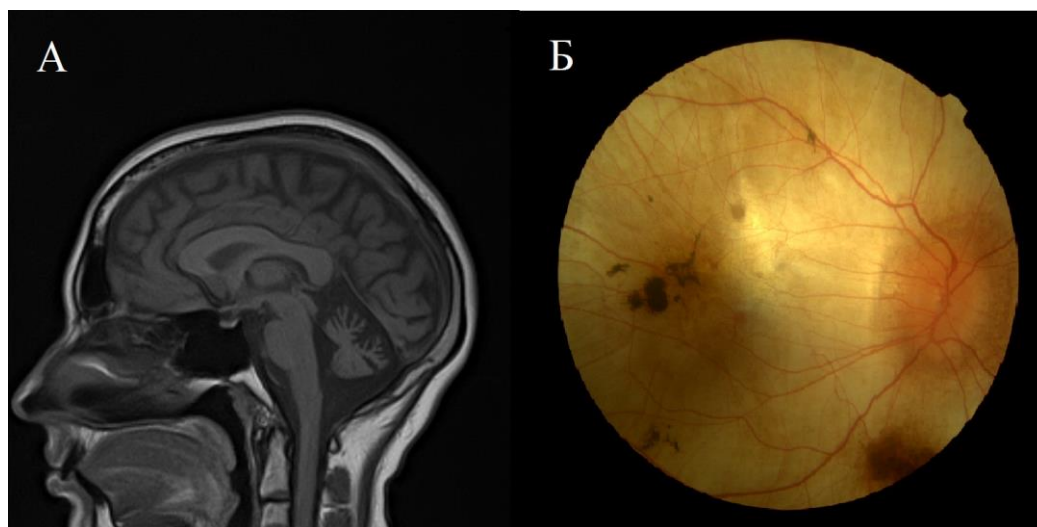


Рисунок 19 – МРТ головного мозга в режиме T1-ВИ, сагиттальный срез (рис. А) и фотография глазного дна при офтальмоскопии (рис. Б). Рис. А: признаки атрофии червя мозжечка. Рис. Б: картина хориоретинальной дегенерации (пигментные очаги, побледнение сетчатки и диска зрительного нерва).

У пациентки *ЛНЛ* клиническая картина полностью соответствует СГХ: заболевание дебютировало в пубертатном периоде (выявлен гипогонадизм), в 25 лет присоединилась атаксия, в клинической картине сопутствует негрубый

пирамидный синдром при нормальной остроте зрения и отсутствии изменений со стороны глазного дна. Выявленная в 27 экзоне мутация 3397+1G>A затрагивает канонический сайт сплайсинга, миссенс-мутация p.G964S также расположена в 27 экзоне и оценена как патогенная по программам предсказания патогенности.

3.9. Другие редкие формы аутосомно-рецессивных атаксий

Впервые в России нами были выявлены 4 пациента с редкими формами АРА, обусловленными носительством мутаций в генах *PLA2G6* (атипичная форма нейроаксональной дистрофии), *GALC* (ювенильная форма болезни Краббе), *ANO10* (SCAR10; АТХ-*ANO10*) и *STUB1* (SCAR16; АТХ-*STUB1*). Ниже приводится также краткое описание случая БНП-С, диагностированного в ФГБНУ НЦН с использованием технологии MPS.

Характеристика пациентов с аутосомно-рецессивными атаксиями 10 и 16 типов (SCAR10 и SCAR16) представлена в таблице 19.

Таблица 19 – Спектр клинических проявлений и данные обследований пациентов с АРА 10 и 16 типов

Пациент	<i>ЗВС</i>	<i>КИМ</i>
Пол	Жен	Муж
Возраст/дебют, лет	22/20	29/24
Атаксия	++	+++
SARA/ICARS, баллы	10/32	14/42
Нистагм	+	+
Нарушения саккад	+	++
Офтальмопарез	Страбизм	Нет
Дизартрия	+	++
Парезы	Нет	Нет
Пирамидный синдром	+	+ (рефлекс Бабинского)
Глубокие рефлексы	Оживлены	Снижены/отсутствуют
Мышечный тонус	Снижен	Снижен
Полиневропатия (ЭНМГ)	Нет	Сенсорная аксональная
Нарушения чувствительности	Нет	Нет
МоСА, баллы	26	24

МРТ головного мозга	Атрофия червя и полушарий мозжечка	
Примечания	Лактат 2,8 ммоль/л ↑	Хр. гломерулонефрит
Ген	<i>ANO10</i>	<i>STUB1</i>
Мутация-1	с.1477-2A>G	с.С683Т (р.Р228L)
Мутация-2	с.Т104С (р.Л35Р)	с.А433С (р.К145Q)
Диагноз	SCAR10	SCAR16

У обоих пациентов заболевание характеризовалось ранним дебютом (до 25 лет), первым и в дальнейшем превалирующим проявлением являлась статико-локомоторная атаксия. Клиническая картина заболевания пациента *КИМ* представлена фридрейхоподобной атаксией (сочетание сенсорной аксональной полиневропатии и рефлекса Бабинского) с легкими когнитивными нарушениями. У пациентки *ЗВС*, напротив, отмечается сочетание мозжечковой атаксии, негрубого пирамидного синдрома, страбизма с незначительным лактат-ацидозом (2,8 ммоль/л, норма <2,2 ммоль/л).

В гене *ANO10* выявлены две ранее не описанные мутации: в 9 интроне обнаружена мутация с.1477-2A>G, приводящая к нарушению канонического сайта сплайсинга (вероятно патогенная); миссенс-замена р.Л35Р во 2 экзоне по совокупности данных расценена как вариант с неопределенной клинической значимостью.

В гене *STUB1* обнаружена миссенс-мутация р.К145Q в компаунд-гетерозиготном состоянии (вероятно патогенная). Данная мутация была описана ранее у двух sibсов с клинической картиной прогрессирующей атаксии, гипогонадизма, пирамидного синдрома, экстрапирамидных нарушений и деменции [Hayer S.N. et al., 2017]. Другая миссенс-мутация р.Р228L выявлена нами впервые (вариант неопределенной клинической значимости).

Также нами был впервые верифицирован и подробно описан пациент с тяжелым мультисистемным нейродегенеративным заболеванием с преобладанием в клинической картине атаксии – нейродегенерацией с накоплением железа в головном мозге 2В типа (ННЖГМ 2В), атипичной формой нейроаксональной дистрофии. Примечательно, что на протяжении всей жизни пациент наблюдался с

диагнозом «болезнь Фридрейха». Приводим подробное описание данного клинического случая.

Клинический случай №5.

Пациент БКМ, 26 лет, кумык, **жалоб** не предъявляет из-за грубых когнитивных нарушений (деменция).

Анамнез заболевания: родился в неинбрендной семье от 2-х срочных родов. Раннее развитие — без особенностей. В возрасте 5-7 лет родители замечали некоторые сложности при выполнении мелких и точных движений (закручивание гайки, работа с мелкими деталями). Примерно с 12-14 лет появилась неустойчивость, усилились нарушения мелкой моторики. С 15 лет - отчетливое снижение успеваемости в школе. При МРТ головного мозга были выявлены диффузные атрофические изменения головного мозга и мозжечка. С 17-18 лет отметил слабость в ногах, трудности при подъеме и спуске с лестницы. Постепенно появилась и стала нарастать скованность в конечностях, появились деформации стоп. С 18 лет – ухудшение состояния, отметил похудание мышц левой ноги, спастичность в ногах при ходьбе, появились поперхивания при еде, ухудшилась речь (стала более растянутая, нечеткая). В 2011 г. клинически установлен диагноз «болезнь Фридрейха». Течение заболевания медленно, но неуклонно прогрессирующее. С 24 лет появились подергивания по типу миоклоний в правой руке, дистония в руках.

Семейный анамнез: родители и родная сестра 29 лет – клинически здоровы; младший ребенок в семье умер в родах.

В соматическом статусе – без особенностей.

В неврологическом статусе: В сознании, контакт затруднен. Инструкции выполняет не всегда, с задержкой, требуется повторение инструкции. Собственная речь фразовая, больше по типу «да/нет». Счет по шкале MoCA 6 баллов. Объем движений глазных яблок полный, нарушение плавности следящих движений глаз. Парез инициации саккад. Язык по средней линии. Лицо симметрично, рот открыт, гипомимия. Эпизоды насильственного смеха. Рефлексы орального автоматизма. Тетрапарез: в руках сила снижена преимущественно в проксимальных отделах,

ноги не поднимает, может сгибать в коленных суставах. Тонус в мышцах конечностей повышен по смешанному типу (в руках с преобладанием экстрапирамидного тонуса, в ногах с преобладанием спастичности). Мышечные гипотрофии, преимущественно в дистальных отделах ног, стопы Фридрейха. Элементы дистонии в мимической мускулатуре и руках. Миоклонии в правой руке. Общая брадикинезия. Глубокие рефлексы с рук: карпорадиальные отсутствуют, остальные с рук живые, патологические кистевые знаки. Глубокие рефлексы с ног отсутствуют. ПНП выполняет с дискоординацией и интенционным тремором, ПКП не выполняет. В пробе Ромберга не стоит. Походка спастико-паретическая, с атаксией, ходит только с поддержкой, с кровати встает с посторонней помощью. Выраженный общий гипергидроз. Хронические запоры.

По данным обследований:

- анализы крови на медь, церулоплазмин, гормоны щитовидной железы, витамин Е, лактат, альфа-фетопротеин, КФК — в норме;
- ДНК-диагностика БФ — мутации в гене *FHN* не обнаружены;
- МРТ головного мозга: МР-признаки дегенеративного процесса с преимущественным поражением мозжечка (Рисунок 20);
- ЭНМГ и игольчатая ЭМГ: определяются признаки генерализованного поражения периферических мотонейронов, более выраженного на пояснично-крестцовом уровне, исследованные чувствительные и двигательные нервы рук и ног интактны;
- ЭЭГ: билатерально-синхронная пароксизмальная медленноволновая активность, преобладающая в лобных отделах;
- УЗИ органов брюшной полости: признаки умеренно выраженной гепатоспленомегалии;
- консультация офтальмолога: оптические среды прозрачны; диски зрительных нервов розовые, границы четкие; сетчатка, вены и артерии без особенностей.

Учитывая возраст дебюта и клиническую картину заболевания в виде мультисистемного поражения нервной системы с вовлечением нижнего

мотонейрона и признаками гепатоспленомегалии, был исключен ряд лизосомных болезней накопления (БПН-С, БНП типы А и В, GM1- и GM2-ганглиозидозы, болезнь Гоше, мукополисахаридоз I типа). При проведении ДНК-диагностики с использованием оригинальной MPS-панели были выявлены 2 мутации в гене *PLA2G6* в компаунд-гетерозиготном состоянии: нонсенс-мутация с.T2370G (p.Y790X) в 17 экзоне и миссенс-мутация с.G1018A (p.G340R) в 7 экзоне. Мутация p.Y790X (rs121908680) была описана ранее у ряда пациентов с классическими формами ННЖГМ 2 типа и нейроаксональной дистрофией [Morgan N.V. et al., 2006; Gregory A. et al., 2008], мутация p.G340R также была ранее выявлена у пациента с инфантильной нейроаксональной дистрофией [Gregory A. et al., 2008].

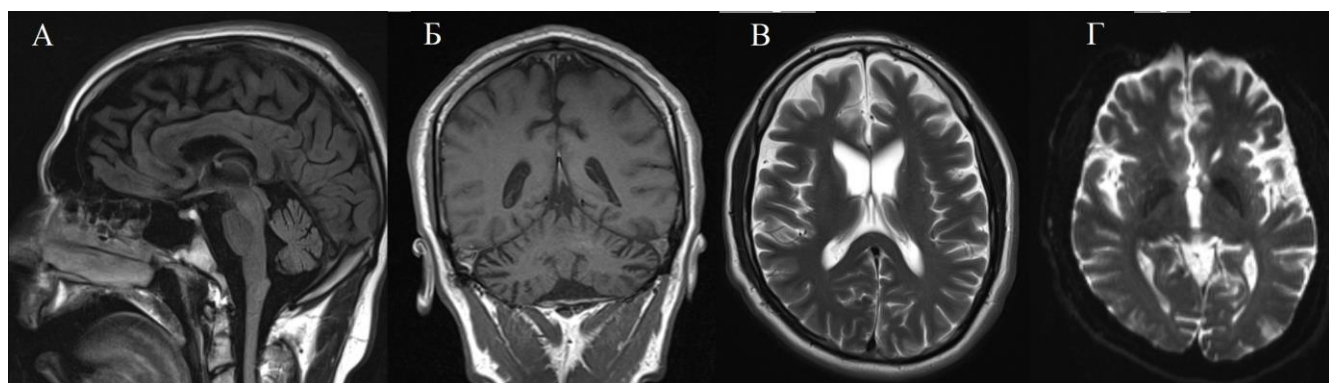


Рисунок 20 – МРТ головного мозга пациента *БКМ*. А – признаки атрофии червя мозжечка (T1-ВИ, сагиттальный срез); Б – расширение борозд обоих полушарий мозжечка (T1-ВИ, коронарный срез); В – расширение субарахноидального пространства лобных долей, сильвиевых щелей мозга, расширение боковых желудочков мозга (преимущественно передних рогов) (T2-ВИ, аксиальный срез); Г – в бледных шарах определяются гипоинтенсивные симметричные участки, режим DWI (b=0).

Таким образом, пациенту был установлен диагноз ННЖГМ 2В типа. Аллельным вариантом данного заболевания является ННЖГМ 2А типа или классическая инфантильная нейроаксональная дистрофия, которая характеризуется более ранним началом, быстрым течением и худшим прогнозом. Необходимо отметить, что поражение нижних мотонейронов и

гепатоспленомегалия не являются типичными проявлениями данного заболевания, однако клиническая картина ННЖГМ 2В типа ввиду своей крайней редкости нуждается в дальнейшем детальном описании и уточнении.

Другим редким наблюдением является пациентка с ювенильной формой болезни Краббе с комплексным фенотипом АРА (атаксия, снижение остроты зрения, глазодвигательные и экстрапирамидные нарушения, пирамидный синдром). Приводим описание данного клинического случая.

Клинический пример №6.

Пациентка *ТКЕ*, 23 лет, поступила в ФГБНУ НЦН с **жалобами** на снижение зрения (до уровня силуэтов), расходящееся косоглазие, неустойчивость при ходьбе, дрожание рук и головы, скованность в ногах (больше по утрам).

Анамнез заболевания: Ребенок от II беременности, затяжные роды, задний вид затылочного предлежания, счет по шкале Апгар 7/8 баллов. Раннее развитие — без особенностей. В 5 лет — ушиб мягких тканей головы без потери сознания, через полгода перенесла ветряную оспу. Спустя 2 месяца возникло медленно прогрессирующее снижение остроты зрения, шаткость при ходьбе, легкое дрожание в руках, изменился почерк. МРТ головного мозга: билатеральные симметричные участки повышения сигнала в T2-ВИ в перивентрикулярных отделах боковых желудочков. Проводились короткие курсы пульс-терапии дексаметазоном (подозревался демиелинизирующий процесс) — с некоторым улучшением зрения. Наблюдалась с диагнозами «рассеянный склероз», «резидуальная энцефалопатия», «последствия перенесенной нейроинфекции». Были исключены болезнь Вильсона, атрофия зрительных нервов Лебера, атрофия зрительных нервов-плюс (ген *OPA1*). С 21 года — значительное усиление тремора рук и головы.

Семейный анамнез — не отягощен, единственный ребенок в неинбрендной семье.

Соматический статус — без особенностей.

В неврологическом статусе: Сознание ясное, контактна, ориентирована правильно. Счет по шкале MoCA – 27 баллов. Зрение снижено на оба глаза до

уровня силуэтов. Глазные щели, зрачки OD=OS. Реакция зрачков на свет отсутствует. Расходящееся косоглазие за счет OD при взгляде прямо, при взгляде вверх — расходящееся косоглазие OU. Парез взора кнутри OU. Конвергенция резко снижена. Горизонтальный нистагм с ротаторным компонентом при взгляде в стороны. Лицо симметрично. Бульбарных нарушений нет. Язык по средней линии. Парезов нет. Легкое повышение мышечного тонуса по спастическому типу в ногах, D>S. Глубокие рефлексы в руках живые, D>S, в ногах оживлены, D=S. Клонусы стоп. Рефлекс Россолимо с двух сторон. Среднеамплитудный постурально-кинетический тремор рук, D>S. Дистонический тремор головы с легким левосторонним тортиколлизом. ПНП с дисметрией и выраженным интенционным тремором справа, с легким - слева; ПКП – с легким интенционным тремором, D=S. Диссинергия Бабинского. В пробе Ромберга пошатывается. Чувствительность не нарушена. Походка несколько атаксическая, неустойчивость при тандемной ходьбе. Функции тазовых органов не нарушены.

По данным обследований:

Зрительные вызванные потенциалы: амплитуда пиков на оба глаза резко снижена, латентность на правый глаз удлинена, на левый — в норме.

Оптическая когерентная томография: истончение нервных волокон диска зрительного нерва OU, в макулярной зоне – без видимой патологии.

Электроретинография: снижение активности сетчатки на периферии.

Консультация офтальмолога: частичная атрофия зрительных нервов OU.

ЭНМГ: признаков невральной патологии не выявлено.

МРТ головного мозга: двустороннее симметричное поражение зрительной лучистости, валика мозолистого тела и симметричное двухстороннее поражение кортико-спинальных трактов, прослеживающееся четко от семиовальных центров до моста мозга (Рисунок 21).

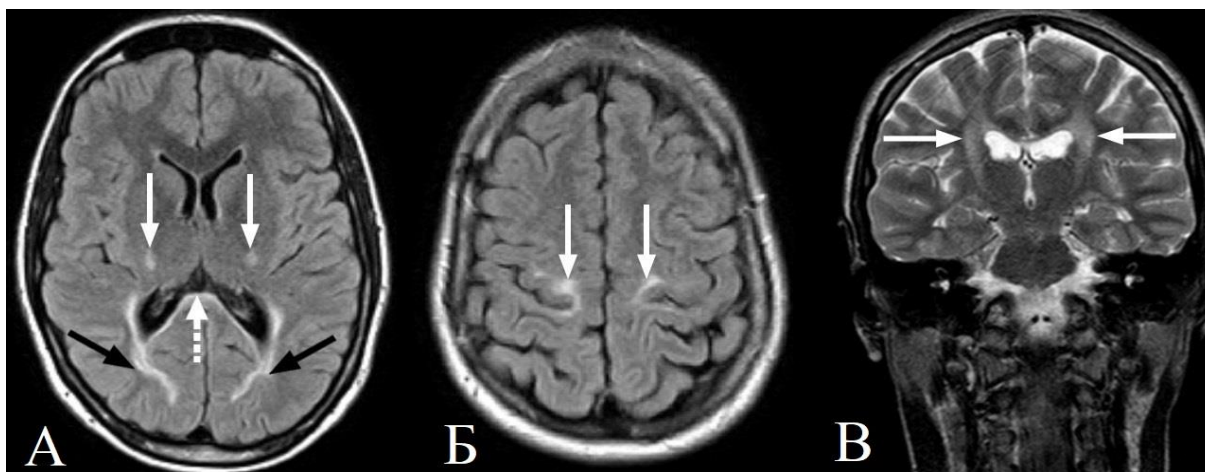


Рисунок 21 – МРТ головного мозга пациентки *ТКЕ*. А, Б — аксиальные срезы (T2-FLAIR); В — коронарный срез (T2-ВИ). Выявляется симметричное повышение МР-сигнала по ходу пирамидных трактов (белые стрелки), в зрительной лучистости (черные стрелки) и валике мозолистого тела (пунктирная стрелка).

Таким образом, учитывая клиническую картину заболевания в виде прогрессирующего снижения зрения с развитием атрофии зрительных нервов, нижнего спастического парализа и статико-локомоторной атаксии, а также данные нейровизуализации, было сделано предположение о наличии у пациентки ювенильной формы болезни Краббе.

При дообследовании в МГНЦ выявлено снижение активности фермента галактоцереброзидазы в лейкоцитах крови до 1,3 нМ/мг/час (норма 2,5-12,4) и сухом пятне методом масс-спектрометрии до 0,13 мкМ/л/ч (норма 0,7-10). При использовании таргетной MPS-панели «наследственные лейкодистрофии/лейкоэнцефалопатии» (МГНЦ) были выявлены две мутации в гене *GALC*: с.А199С (р.Т67Р) во 2-м экзоне и миссенс-мутация с.А956G (р.У319С) в 9-м экзоне. Мутация р.У319С была ранее описана как патогенная у пациента с ювенильной формой БК [Duffner P.C. et al., 2012]. Мутация р.Т67Р не была описана ранее, однако в базе HGMD в этой же нуклеотидной позиции описана другая патогенная мутация, а проверка в программах предсказательности SIFT и Polyphen2 показала высокую вероятность патогенности данной замены.

Окончательный диагноз, подтвержденный биохимическими и молекулярно-генетическими методами, был установлен спустя 18 лет от дебюта заболевания. Трудности диагностики, вероятнее всего, связаны как с неверной интерпретацией МРТ-данных в сторону приобретенных причин заболевания, так и с длительным стационарным течением болезни. Данный случай является первым в России описанием ювенильной формы болезни Краббе.

Пациентке *МAB*, 25 лет, которая длительное время наблюдалась в ФГБНУ НЦН с диагнозом «СЦА», был верифицирован диагноз БНП-С благодаря использованию оригинальной мультигенной MPS-панели. Заболевание дебютировало в 10 лет с появления и нарастания шаткости при ходьбе, постепенно присоединялись когнитивные нарушения, дистония. На момент осмотра выявлялся вертикальный надъядерный паралич взора, дизартрия, пирамидный синдром, дистония в дистальных отделах конечностей и туловище, статико-локомоторная атаксия и когнитивные нарушения в стадии деменции (MoCA 14 баллов). МРТ головного мозга: признаки атрофии червя и полушарий мозжечка, смешанная гидроцефалия. При проведении MPS выявлены две патогенные мутации в гене *NPC1* в компаунд-гетерозиготном состоянии: нонсенс-мутация p.Q119X в 4 экзоне (описана впервые) и миссенс-замена p.G992R в 20 экзоне, описанная ранее в литературе, что позволило подтвердить диагноз. Данный случай является показательным с точки зрения своевременной диагностики БНП-С ввиду наличия патогенетического лечения — пациентка стала принимать миглустат по 600 мг в сутки, на фоне чего состояние стабилизировалось, отмечалось улучшение походки и речи.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Аутосомно-рецессивные атаксии – генетически и клинически гетерогенная группа нейродегенеративных заболеваний, в клинической картине которых наблюдаются нарушения равновесия и координации движений, связанные с поражением мозжечка и/или его связей с другими структурами ЦНС [Anheim M. et al., 2012]. По современной классификации Rossi M. с совт., описано свыше 100 самостоятельных форм АРА, и этот список продолжает непрерывно пополняться новыми нозологиями, чему способствует широкое внедрение технологий MPS [Rossi M. et al., 2018]. АРА характеризуются исключительным полиморфизмом клинических проявлений, наличием перекрывающихся фенотипов, аллельных вариантов и атипичных форм, что значительно затрудняет их своевременную дифференциальную диагностику как с другими наследственными, так и с приобретенными и идиопатическими атаксиями. Существование потенциально курабельных форм (БНП-С, атаксия с дефицитом витамина Е, болезнь Рефсума, наследственный дефицит коэнзима Q10, церебротендинальный ксантоматоз и др.) и разработка новых патогенетических методов лечения делают эту проблему чрезвычайно актуальной [Sarva H. et al., 2014].

Для решения этих диагностических задач с 2013 г. используются методы MPS, что позволило охарактеризовать распространенность и эпидемиологию АРА в некоторых популяциях мира. Согласно данным исследованиям, наиболее частыми формами являются БФ, атаксия с дефицитом витамина Е, АТ, АОА 1 и 2 типов, спастическая атаксия Шарлевуа-Сагенэ и БНП-С, реже встречаются атаксии, ассоциированные с мутациями в генах *SPG7*, *ADCK3*, *SYNE1*, *ANO10* [Hamza W. et al., 2015; Mallaret M. et al., 2016; Hadjivassiliou M. et al., 2017]. Среди пациентов детского возраста с врожденными и младенческими формами АРА преобладают нейрометаболические заболевания и синдром Жубер [Ohba C. et al., 2013; Sawyer S.L. et al., 2014]. Необходимо отметить, что в настоящих исследованиях редко выявлялись *POLG*-ассоциированные атаксии, что, вероятнее всего, связано с генетическими особенностями исследуемых популяций. В России

до настоящего времени исследования, посвященные комплексному клинико-генетическому анализу АРА с использованием MPS, не проводились.

По данным литературы, наиболее частой АРА в России является БФ – 34,7% [Ершова с соавт., 2003]. Данные об остальных формах АРА в отечественных публикациях представлены единичными случаями или небольшими сериями наблюдений. Имеются подробные описания 3 случаев из двух семей пациентов с АОА 2 типа [Ключников с соавт., 2007; Руденская с соавт., 2012]. Также Руденской Г.Е. с соавт. была верифицирована пациентка 15 лет с АОА 1 типа, но без описания клинической картины [Руденская с соавт., 2012]. В другой работе приводится наблюдение белорусского пациента 9 лет с АОА 4 типа, диагноз был установлен методом панельного секвенирования [Rudenskaya G.E. et al., 2019]. В доступной литературе имеется несколько публикаций, посвященных описанию детей с АТ [Кондратенко с соавт., 2002; Юрасова с соавт., 2003; Прилуцкий с соавт., 2013; Хакимова с соавт., 2013; Ильченко с соавт., 2015; Голоусенко, 2016; Минаева с соавт., 2017], однако в большинстве из них акцент делался на экстраневральных проявлениях заболевания (иммунодефициты и онкопатология), а диагноз был установлен во всех случаях на основании характерной клинико-лабораторной картины без молекулярно-генетической верификации. Лишь в 2019 г. появилась публикация российских авторов, в которой методами панельного секвенирования и MLPA были выявлены 17 пациентов с АТ [Suspitsin E. et al., 2019]. Также имеются отечественные публикации, посвященные описанию пациентов с наследственными нейрометаболическими заболеваниями, в клинической картине которых присутствует атаксия: *POLG*-ассоциированные атаксии [Цыганкова с соавт., 2011; Михайлова с соавт., 2012; Яблонская с соавт., 2016], поздняя форма болезни Тея-Сакса [Руденская с соавт., 2015, Семенова с соавт., 2016], нейрональный цероидный липофусциноз [Зиновьева с соавт., 2009] и др., однако в большинстве работ представлены пациенты детского (в том числе младенческого) возраста. Таким образом, учитывая предполагаемую распространенность АРА по данным литературы, можно судить о низкой выявляемости данных заболеваний, в основном среди взрослых пациентов.

В настоящей работе впервые был использован алгоритм, использование которого позволяет установить нозологический диагноз в 62% случаев. В исследование были включены 87 пациентов с атаксией предположительно дегенеративного генеза. Были обследованы 7 семей с аутомно-рецессивным типом наследования (два больных сибса), однако большинство случаев были спорадическими из-за малого количества потомков в современных семьях. В исследование были включены только пациенты с возрастом дебюта до 50 лет, что позволяет с высокой долей вероятности исключить FXTAS и идиопатические мозжечковые дегенерации, частота которых увеличивается с возрастом [Yoshida K. et al., 2018]. На первом этапе были выявлены и исключены из дальнейшего исследования 8 пациентов с ненаследственным генезом атаксии. По данным зарубежной литературы, наиболее частыми приобретенными атаксиями являются аутоиммунные (глутеновая, ассоциированная с антителами к GAD, паранеопластическая) и МСА-М [van de Warrenburg V.P. et al., 2014; Mitoma H. et al., 2015; Nadjivassiliou M. et al., 2017]. В нашей работе самой распространенной формой оказалась алкогольная мозжечковая дегенерация (62,5%), что свидетельствует о высоком значении токсического поражения в генезе приобретенных атаксий в нашей стране.

АД-СЦА, обусловленные экспансией микросателлитных повторов, также могут быть выявлены среди пациентов со спорадическими формами атаксий, особенно с дебютом во взрослом возрасте. Положительный семейный анамнез может не выявляться вследствие генерации новой мутации из премутации (с промежуточной длиной экспансии), смерти родственников до дебюта заболевания или ложного отцовства/материнства. Согласно литературным данным, у 2–22% пациентов со спорадическими формами атаксии с дебютом во взрослом возрасте выявляется патологическая экспансия в одном из генов АД-СЦА, наиболее часто – в гене *CACNA1A* (СЦА 6 типа) [Schöls L. et al., 2000; Abele M. et al., 2002; Giordano I. et al., 2018]. Необходимо отметить, что в некоторых исследованиях с использованием технологий MPS среди спорадических случаев атаксий также были выявлены пациенты с АД-СЦА (СЦА 5, 6, 14, 15/29, 21, 35 и др. типов), для

которых характерны точковые мутации [Ohba C. et al., 2013; Sun M. et al., 2019]. В нашем исследовании спорадические формы АД-СЦА составили 3,4%, поэтому перед проведением MPS можно рекомендовать ДНК-диагностику наиболее частых АД-СЦА, обусловленных экспансией микросателлитных повторов, что связано как с ограничением метода MPS в выявлении экспансий, так и с меньшей стоимостью метода фрагментного анализа. При проведении MPS носителей точковых мутаций в генах АД-СЦА в нашей работе выявлено не было.

На следующем этапе была сформирована репрезентативная группа АРА, включающая 76 пациентов. Данная группа характеризовалась значительной вариабельностью по возрасту (от 18 до 61 года), возрасту начала заболевания (от 3 до 49 лет), этническому составу и клиническим проявлениям. Во всех случаях, согласно критериям включения, выявлялась мозжечковая статико-локомоторная и динамическая атаксия различной степени выраженности. В большинстве случаев атаксия сочеталась с другими неврологическими проявлениями, наиболее часто с когнитивными нарушениями, полиневропатией, пирамидным синдромом, поражением задних канатиков и экстрапирамидными расстройствами, случаи фенотипа «чистой атаксии» были единичными. Данный факт свидетельствует о значительной распространенности нейродегенеративного процесса с поражением периферической нервной системы, спинного мозга, ствола мозга, мозжечка, базальных ядер и коры больших полушарий при большинстве форм АРА [Rossi M. et al., 2018]. С другой стороны, развитие некоторых синдромов можно объяснить непосредственным поражением структур мозжечка. Широко известен факт участия мозжечка в реализации когнитивных функций [Buckner R.L., 2013], патогенезе тремора [Иванова с соавт., 2013] и дистонии [Manto M. et al., 2018]. Особую роль в клинической картине АРА играет широкий спектр глазодвигательных нарушений, которые были выявлены у всех пациентов в данном исследовании. При АРА поражаются структуры мозжечка, участвующие в регуляции движения глаз и фиксации взора (флоккулонодулярная доля, парафлоккулюс, ядра шатра и др.), что приводит к разнообразным глазодвигательным нарушениям: нарушение плавности следящих движений глаз, гипо- и гиперметрия саккад, различные виды нистагма,

нарушение подавления вестибулоокулярного рефлекса [Клюшников с соавт., 2015]. Кроме того, в некоторых случаях дегенеративных процесс затрагивает структуры ствола мозга, осуществляющие контроль окуломоторных функций, при синдроме SANDO развивается миопатия наружных мышц глаза, приводя к офтальмопарезу, а феномен окуломоторной апраксии, имеющий корковое происхождение вследствие нарушения функционирования фронтопариетальных связей, характерен для атаксий с нарушением репарации ДНК. Таким образом, при АРА выявляется практически весь спектр всевозможных глазодвигательных нарушений, имеющий, в свою очередь, важнейшее диагностическое значение. Другой особенностью АРА, отличающих их от АД-СЦА, является широкий спектр экстраневральных проявлений, наиболее выраженных при БФ, АТ, *POLG*- и *PNPLA6*-ассоциированных атаксиях. Во многих случаях данные проявления являются жизнеугрожающими (кардиомиопатия, сахарный диабет, онкопатология, иммунодефицит), что актуализирует своевременную диагностику данных патологий.

При анализе нейровизуализационных данных нормальная МР-картина наблюдалась у 19,7% пациентов, большинство из них (60%) были пациенты с БФ. У основной же части пациентов (70%) выявлялись атрофические изменения червя и/или полушарий мозжечка, часто в сочетании с другими патологическими находками. Таким образом, проведение МРТ головного мозга является важным этапом дифференциальной диагностики, однако нормальная МР-картина не исключает наличие нейродегенеративного процесса. Важную роль в диагностике АРА также играет проведение ЭНМГ: признаки полиневропатии были выявлены у всех пациентов с БФ, атаксиями с нарушением репарации ДНК и *POLG*-ассоциированными атаксиями. Кроме того, определение характера полиневропатии помогает предугадать возможную нозологическую форму АРА до этапа MPS-исследования.

Согласно рекомендациям EFNS/ENS по диагностике хронических атаксий, важную роль имеет комплексное обследование пациентов с подозрением на АРА, в том числе с использованием ряда биохимических маркеров [van de Warrenburg

P.V. et al., 2014]. При соответствующей клинической картине нами был проведен целенаправленный скрининг на атаксию с дефицитом витамина E, болезнь Вильсона, болезнь Рефсума, болезнь Гоше, БНП-С, при обнаружении признаков поражения нижнего мотонейрона исключались GM2-ганглиозидозы, однако ни в одном случае специфических отклонений в анализах выявлено не было. Важным биохимическим маркером зарекомендовал себя АФП, уровень которого был повышен у всех пациентов с АТ и АОА 2 типа, что соответствует литературным данным [Schieving J.H. et al., 2014].

Наконец, генотипирование с использованием технологии MPS выполнено 55 пациентам, окончательный молекулярно-генетический диагноз был установлен в 40%, что полностью соответствует мировым данным [Hadjivassiliou M. et al., 2017; Iqbal Z. et al., 2017; Kang C. et al., 2019]. Отсутствие верификации диагноза у оставшихся 60% пациентов обусловлено рядом причин. Во-первых, крайне важным является отбор пациентов для проведения MPS – должны быть исключены все приобретенные и идиопатические дегенеративные атаксии, что на практике может быть трудноосуществимым. Во-вторых, ограничением метода MPS является детекция динамических мутаций. В данном исследовании были исключены пациенты с наиболее часто встречаемыми в России АД-СЦА, обусловленными экспансией микросателлитных повторов (СЦА 1, 2, 3, 6 и 17 типов) и БФ, однако по современным данным список таких АД-СЦА более широк (СЦА 7, 8, 10 12, 31, 36 и 37 типов, дентаторубропаллидолюисова атрофия) [Manto M. et al., 2018]. В-третьих, ограничением метода панельного MPS является детекция крупных (более 10 пар нуклеотидов) делеций и инсерций, а также мутаций, локализованных в интронах, что также может быть причиной гиподиагностики АРА. В-четвертых, в данном исследовании не проводился анализ мтДНК, однако известно, что истинные митохондриальные заболевания часто проявляются атаксией, а положительный семейный анамнез может не выявляться. Наконец, основной проблемой панельного секвенирования является выбор генов, включенных в панель. Известно, что ежегодно происходят открытия новых генов, ассоциированных с развитием АРА, также пересматривается роль уже известных

генов, мутации в которых также могут приводить к АРА. Таким образом, важной задачей является регулярное обновление диагностических панелей, что в реальной практике может быть трудной задачей. Однако в данном исследовании была использована мультигенная панель, включающая в себя гены, ответственные за развитие широкого спектра нейродегенеративных заболеваний, что позволило выявить пациентов с НСП (*SPG7* и *SPG11*) и ННЖГМ (*PLA2G6*). Таким образом, для диагностики АРА необходимо использовать MPS-панели с большим набором генов других групп заболеваний, либо использовать технологии WES или WGS.

Среди верифицированных пациентов с АРА группа пациентов с БФ в данном исследовании оказалась самой многочисленной (18,4%), что согласуется с мировыми данными [Anheim M. et al., 2009; Mallaret M. et al., 2016]. Медианы длины GAA1- и GAA2-аллелей составили 500 и 800 повторов, соответственно, – меньше по сравнению с другими схожими исследованиями [Delatycki M.V. et al., 1999; Reetz K. et al., 2015]. Этот факт объясняется особенностями формирования группы среди взрослых пациентов ФГБНУ НЦН, тогда как БФ с длиной экспансии более 1000 GAA-повторов характеризуется тяжелым фенотипом с ранним (детским) возрастом дебюта и развитием кардиомиопатии, выраженной инвалидизацией и малой мобильностью, что может затруднять их обращение в нашу клинику. Другой особенностью данной группы является отсутствие компаунд-гетерозиготных носителей мутаций в гене *FXN*. По данным зарубежной литературы, примерно в 1–5% случаев заболевание связано с наличием точковой мутации либо делеции/инсерции в кодирующей области гена неэкспандированного аллеля [Cossee M. et al., 1999; de Castro M. et al., 2000; Galea C.A. et al., 2016], однако в отечественных публикация до настоящего момента не описаны компаунд-гетерозиготные пациенты с БФ, что может быть обусловлено популяционными особенностями. Неврологические и экстраневральные проявления, а также возраст дебюта заболевания были типичными для данного заболевания, у двух больных отмечалось атипичное течение БФ (фенотип FARR и фенотип спастической атаксии), что согласуется с более ранними отечественными исследованиями [Ершова М.В., 2003]. Когнитивные нарушения (согласно шкале MoCA) выявлены

у 61,5% пациентов. Традиционно считалось, что когнитивные функции при БФ не страдают [Harding A.E., 1981], однако в последние годы накапливаются данные о развитии легких/умеренных когнитивных нарушений у данных пациентов, что связывают с нарушением функционирования префронтальной и лобно-височной коры, а также церебро-пункто-мозжечково-таламо-церебральной петли [Mantovan M.C. et al., 2006; Nieto A. et al., 2012]. Необходимо отметить, что наибольшая выраженность атаксии и степень инвалидизация были у пациентов с БФ по сравнению с другими АРА, в ряде случаев осложняясь проявлениями кардиомиопатии и скелетными деформациями, что требует мультидисциплинарного подхода в наблюдении и лечении данных пациентов.

Второй по частоте группой АРА являются *POLG*-ассоциированные атаксии – 14,5% (синдром SANDO – 10 пациентов, MEMSA – 1 пациент). Все пациенты принадлежали к группе ANS (ataxia neuropathy spectrum) и характеризовались фридрейхоподобным фенотипом в сочетании с другими неврологическими проявлениями (птоз век, офтальмопарез, эписиндром, дистония, когнитивные и аффективные нарушения и др.), что неоднократно отмечалось в других исследованиях [Finsterer J., 2009; Schicks J. et al., 2010; Rahman S. et al., 2019]. В отличие от БФ, экстраневральные проявления (поражение сердца, нарушения углеводного обмена и скелетные деформации) не были столь выраженными, однако нами были выявлены лабораторные признаки субклинического поражения печени, что в целом характерно для *POLG*-ассоциированных заболеваний [Cohen, V.H. et al., 2010]. Полученные нами данные нейровизуализации свидетельствуют о высокой частоте очагового поражения в области ствола мозга, мозжечка и таламусов, что соответствует характерным МР-признакам *POLG*-ассоциированных заболеваний, но в ряде случаев побуждает клиницистов проводить дифференциальный диагноз с демиелинизирующими заболеваниями, токсическим поражением и болезнью Вильсона [Henaо A.I. et al., 2016]. Важно отметить, что у трех пациентов не были выявлены патологические изменения головного мозга при проведении МРТ. Это необходимо учитывать, сохраняя диагностическую настороженность при наличии характерной клинической картины и отсутствии

типичных нейровизуализационных изменений. Выявленные изменения на ЭКГ и ЭЭГ не являются высокоспецифичными, однако в целом характерны для митохондриальных заболеваний и нуждаются в более углубленном изучении на больших выборках пациентов [Rahman S. et al., 2019]. Нами было подтверждено наличие мажорной мутации p.W748S, составившей 85% мутантных аллелей, что в соответствии с характерной клинической картиной позволяет перед проведением MPS рекомендовать более простой анализ на поиск частых мутаций в гене *POLG*. Данная мутация является самой частой среди всех *POLG*-ассоциированных фенотипов с манифестацией в детском и взрослом возрасте [Cohen, V.H. et al., 2010]. Кроме того, в наших наблюдениях и по данным литературы отмечено, что гомозиготное состояние данной мутации чаще всего связано с более мягкими клиническими синдромами, проявляющимися во взрослом возрасте [Наконен А.Н. et al., 2005]. Необходимо отметить, что в некоторых популяциях, например в Финляндии, частота носительства мутации p.W748S составляет 1 на 125 человек [Наконен А.Н. et al., 2005]. В странах Восточной Европы частота гетерозиготного носительства доходит до 1–2%. Это следует учитывать при проведении ДНК-диагностики: в случае выявления одного частого мутантного аллеля следует провести полное исследование гена для исключения носительства более редких мутаций.

Таким образом, группа митохондриальных атаксий (*FXN*, *POLG*) составила 32,9% всех АРА, что может свидетельствовать о широкой распространенности данных патологий. Этот факт необходимо учитывать при планировании диагностического алгоритма, особенно при наличии у пациента сочетания мозжечковой и сенситивной атаксии с сенсорной аксональной полиневропатией. Важными для диагностики могут оказаться экстраневральные проявления и более ранний возраст дебюта (при БФ), а также офтальмопарез, птоз и эписиндром (при *POLG*-ассоциированных атаксиях), однако данные признаки не являются абсолютными.

К атаксиям с «фридрейхоподобным» фенотипом можно отнести и атаксии с нарушением репарации ДНК. Особого обсуждения заслуживают выявленные нами

пациенты с АТ. Возраст дебюта и неврологические проявления (атаксия, полиневропатия, грубые глазодвигательные нарушения, экстрапирамидные и легкие когнитивные расстройства) у данных пациентов были достаточно типичными [Rothblum-Oviatt C. et al., 2016]. Необычным является отсутствие телеангиэктазий на конъюнктиве, коже и слизистых оболочках. В «догенетическую» эпоху наличие телеангиэктазий считалось облигатным признаком и являлось ключевым критерием диагноза, однако с появлением современных молекулярно-генетических методов стало очевидно, что в ряде случаев (особенно при поздних и атипичных формах) данный признак может отсутствовать у 46% пациентов [Verhagen M.M. et al., 2009]. Атипичным также является отсутствие признаков иммунодефицита (клинических и лабораторных) – ни один пациент не страдал частыми инфекциями, а незначительное снижение уровня IgA в крови было выявлено лишь у двух больных. По данным исследований, не существует корреляций между возрастом дебюта, неврологическими проявлениями и тяжестью иммунопатологии, а клинически значимые проявления иммунодефицита выявляются у 67% пациентов [Levy A. et al., 2018]. Примерно у 22% пациентов с АТ в течение жизни возникнет злокачественное новообразование [Micol R. et al., 2011]. В нашем исследовании у одной пациентки (20%) развился острый В-лимфобластный лейкоз, что является наиболее характерной неоплазией у пациентов с АТ. Уровень АФП был повышен у всех пациентов, однако его концентрация была ниже (22,7 МЕ/мл), чем в большинстве других исследований (50-500 МЕ/мл) [Schieving J.H. et al., 2014]. Наиболее вероятно, что все вышеперечисленные особенности связаны с функциональной значимостью мутаций в гене *ATM*, что определяет остаточную активность АТМ-киназы и, соответственно, фенотип заболевания [Chaudhary M.W. et al., 2014].

К «фридрейхоподобным» атаксиям можно отнести АОА – гетерогенную группу клинически схожих заболеваний. Нами были выявлены 2 пациента с АОА 2 типа и 1 пациент с АОА 1 типа с типичной клинической картиной. Важным для таких пациентов является исследование уровня АФП, холестерина и альбумина в

крови, что помогает предположить верный диагноз до проведения ДНК-диагностики.

В последнее десятилетие, в связи с широким распространением методов MPS, наследственные атаксии и параплегии стали рассматриваться как единый континуум нейродегенеративных заболеваний с поражением мозжечка и пирамидной системы [de Souza, P.V.S. et al., 2017]. В работах, посвященных верификации случаев наследственных атаксий нередко обнаруживают мутации в классических генах НСП: *SPAST*, *SPG6*, *SPG7*, *SPG11*, *SPG15*, *SPG33* и др. [Fogel B.L. et al., 2014; Keogh et al., 2015; Pyle A. et al., 2015; Sun M. et al.; 2019 Kang C. et al., 2019]. С другой стороны, при обследовании пациентов с НСП выявляют мутации в генах, традиционно ассоциированных с наследственными атаксиями: *SACS* (спастическая атаксия Шарлевуа-Сагенэ), *PNPLA6* (синдром Гордона Холмса/Буше-Нойхаузера), *ITPR1* (СЦА 15/29 типа) и др. [Galatolo D. et al., 2018; Parodi L. et al., 2018; Elert-Dobkowska E. et al., 2019]. В настоящем исследовании были выявлены 3 пациента с клинической картиной мозжечково-пирамидного синдрома, у которых при проведении MPS были выявлены мутации в генах наиболее распространенных форм AP-НСП (*SPG11* и *SPG7*), что также свидетельствует о значительном перекрытии фенотипов не только внутри группы атаксий, но и между АРА и AP-НСП.

До появления молекулярно-генетической диагностики в литературе были описаны немногочисленные наблюдения пациентов, у которых мозжечковая атаксия сочеталась с гипогонадотропным гипогонадизмом. В последующие годы стало очевидно, что данная группа атаксий также является гетерогенной и связана с мутациями в нескольких генах (*RNF216*, *OTUD4*, *STUB1*), в том числе *PNPLA6* [Manto M. et al., 2018]. До настоящего времени в отечественной литературе отсутствуют публикации, описывающие верифицированные случаи *PNPLA6*-ассоциированных заболеваний. Возможно, это связано со значительным фенотипическим полиморфизмом данных патологий и низкой осведомленностью врачей разных специальностей (неврологов, эндокринологов, офтальмологов). Нами верифицированы типичные случаи синдрома Гордона Холмса (атаксия,

пирамидный синдром, гипогонадизм) и синдрома Буше-Нойхаузера (атаксия, гипогонадизм, хориоретинальная дистрофия) – компаунд-гетерозиготных носителей новых мутаций в гене *PNPLA6*. Диагноз был установлен спустя 18 и 28 лет от начала заболевания, что свидетельствует о значительных трудностях в дифференциальной диагностике данных нозологий. Мутации в гене *PNPLA6* приводят к не менее 7 различным фенотипам (аллельным вариантам), а внедрение технологий MPS позволяет увеличить данный список [Manto M. et al., 2018].

Атаксии, ассоциированные с мутациями в генах *ANO10* (*SCAR10*) и *STUB1* (*SCAR16*), также не были ранее описаны в отечественной литературе. Данные АРА, традиционно считавшиеся редкими и малоизученными формами, были описаны в 2010 году (*ANO10*) и 2012 году (*STUB1*) благодаря применению технологий MPS, поэтому информация об их клинической картине и фенотипическом полиморфизме в настоящий момент немногочислена [Rossi M. et al., 2018]. Нами выявлены два пациента с клинической картиной прогрессирующей ранней статико-локомоторной атаксии в сочетании с другими неврологическими проявлениями (пирамидный синдром, глазодвигательные и когнитивные нарушения, полиневропатия). Мутации в данных генах расценены как «вероятно патогенные» и «варианты с неопределенным значением», однако по мере накопления знаний о спектре мутаций при этих заболеваниях трактовка выявленных вариантов может измениться.

Нейродегенерации с нарушением обмена металлов являются группой мультисистемных заболеваний с поражением ЦНС, одним из проявлений которых в ряде случаев является мозжечковая атаксия. Широко известно, что симптомы атаксии могут выявляться у 12–30% пациентов с болезнью Вильсона [Lorincz M.T., 2010], однако данные о встречаемости атаксии среди группы ННЖГМ немногочисленны. Наиболее часто атаксия присутствует в структуре инфантильной и атипичной форм нейроаксональной дистрофии (ННЖГМ 2 типа – ген *PLA2G6*) и *FA2H*-ассоциированной ННЖГМ [Guo Y. et al., 2018; Levi S. et al., 2019]. Нами был выявлен пациент с клинической картиной атипичной формы нейроаксональной дистрофии – компаунд-гетерозиготный носитель двух описанных ранее мутаций в

гене *PLA2G6*. При проведении рутинного МРТ исследования в режимах T1, T2 и T2-FLAIR изменения сигнала от базальных ядер выявлено не было (режим SWI не проводился), однако в режиме DWI (b=0) выявлены симметричные гипоинтенсивные участки в бледных шарах, что косвенно указывает на накопления металла в данных структурах и подтверждает диагноз. Атипичность клинической картины также состоит в наличии гепатоспленомегалии и ЭМГ-признаков поражения нижнего мотонейрона, что не было описано ранее.

Болезнь Краббе – одна из ЛБН из группы лейкодистрофий, которую необходимо дифференцировать с АРА: мозжечковая атаксия чаще встречается при ювенильной и взрослой формах, чем при младенческих [Debs R. et al., 2013]. Необходимо отметить, что пациенты с болезнью Краббе были выявлены в крупных исследованиях как среди пациентов с наследственными атаксиями [Hadjivassiliou M. et al., 2017], так и у больных с НСП [Вајај N.P. et al., 2002]. В нашем исследовании была выявлена пациентка с ювенильной формой болезни Краббе, одним из доминирующих синдромов у которой была атаксия (без когнитивных и тазовых нарушений, полиневропатии и атрофии языка, что характерно для данного заболевания), правильная интерпретация данных нейровизуализации позволило провести целенаправленный диагностический поиск и установить диагноз. Следовательно, болезнь Краббе следует учитывать при проведении дифференциального диагноза среди АРА с патологией белого вещества головного мозга [Клюшников С.А. с соавт., 2012].

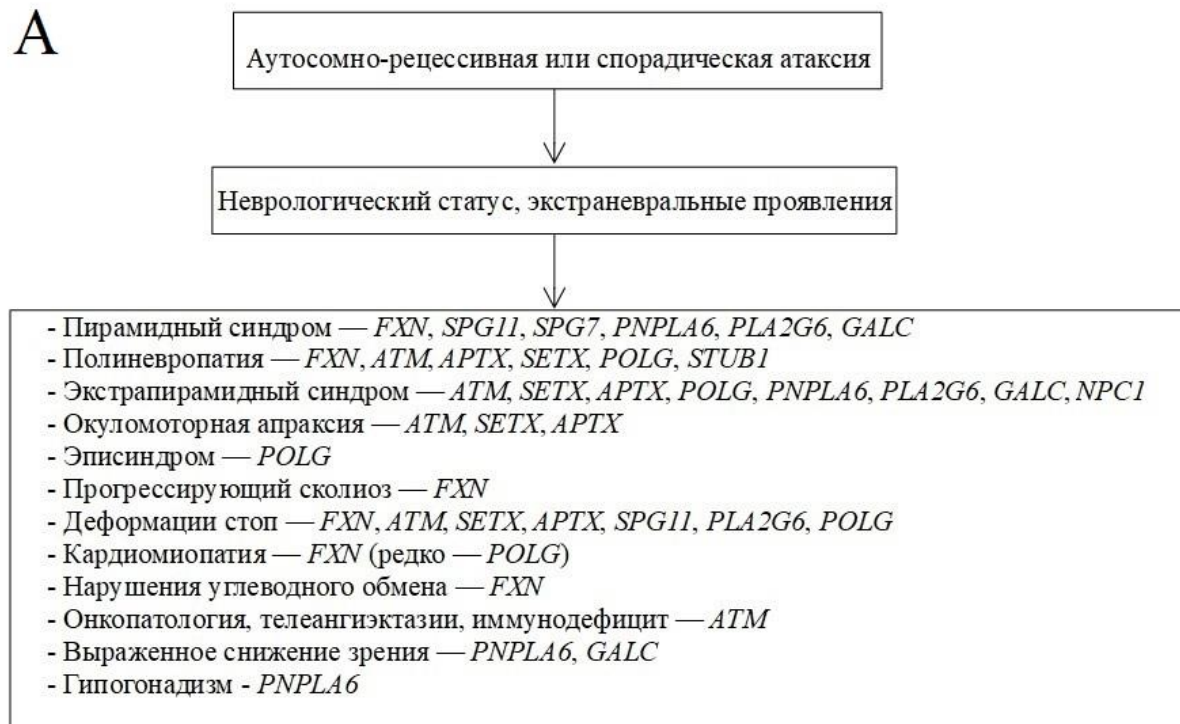
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проведено первое в нашей стране комплексное исследование большой группы пациентов с АРА взрослого возраста, в том числе с использованием нейрофизиологических, нейровизуализационных, лабораторных и современных молекулярно-генетических методов. Приведенные данные свидетельствуют о значительном клиническом полиморфизме и трудностях дифференциальной диагностики данной группы атаксий. Следует подчеркнуть, что диагностика АРА, несмотря на стремительное развитие технологий MPS, до сих пор базируется на тщательно собранных данных анамнеза, неврологического статуса и оценке экстраневральных проявлений, что может стать ключом к верному диагнозу. Только полноценное и грамотное описание фенотипа заболевания позволяет верно интерпретировать генетические варианты, полученные при проведении MPS.

В результате работы показано преобладание среди российских пациентов с АРА взрослого возраста митохондриальных форм патологии (БФ, синдром SANDO), АТ и атаксий с окуломоторной апраксией, впервые в России были подробно описаны пациенты с редкими нозологическими формами и фенотипами: АОА 1 типа, синдром MEMSA, *PNPLA6*-ассоциированные атаксии, SCAR10 (*ATX-ANO10*) и SCAR16 (*ATX-STUB1*), ННЖГМ 2В типа, ювенильная форма болезни Краббе.

Полученные в результате исследования данные позволили нам разработать комплексный алгоритм дифференциальной диагностики АРА, который целесообразно использовать при обследовании пациентов со спорадическими формами дегенеративных атаксий, либо в семьях с аутосомно-рецессивным типом наследования прогрессирующей атаксии (Рисунок 22). Основное назначение алгоритма – рациональный отбор пациентов на те или иные конкретные методы молекулярно-генетической диагностики.

А



Б



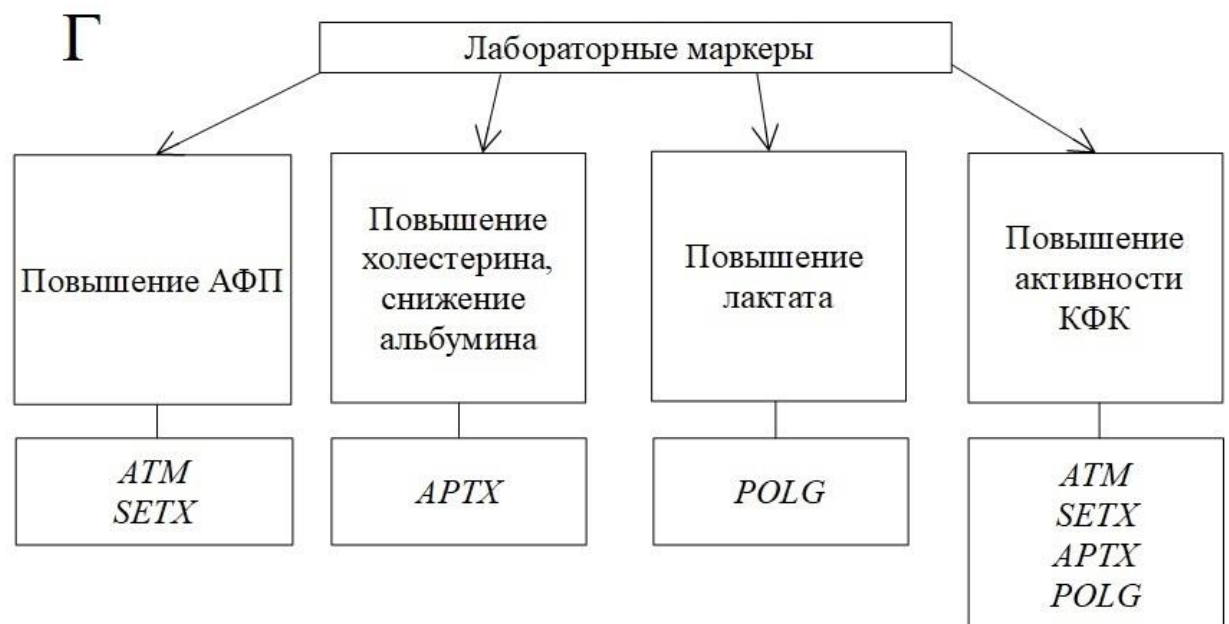
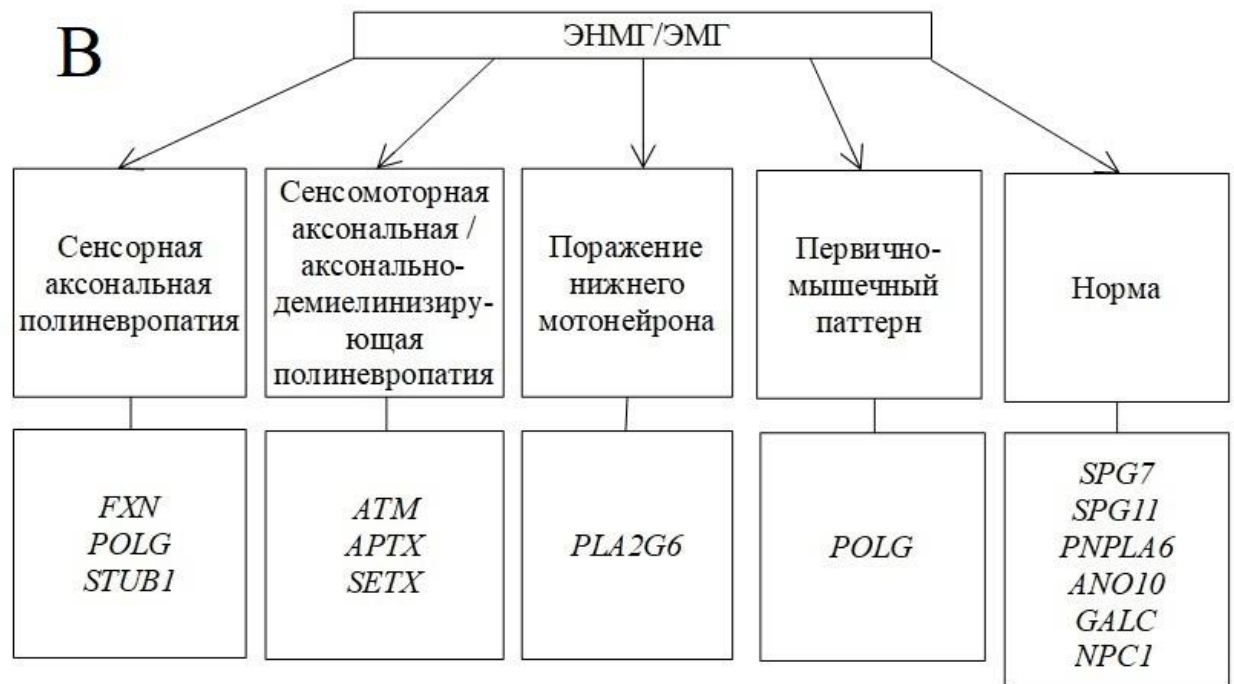


Рисунок 22 – Алгоритм дифференциальной диагностики АРА. А — по клинической картине заболевания; Б — по нейровизуализационным признакам; В — по данным ЭНМГ и ЭМГ; Г — по лабораторным исследованиям крови.

ВЫВОДЫ

1. Аутосомно-рецессивные атаксии в обследованной группе российских пациентов характеризуются разнообразием нозологических форм и значительным полиморфизмом неврологических и экстракраневральных проявлений. Наиболее часто встречаются атаксии митохондриальной природы (болезнь Фридрейха и *POLG*-ассоциированные атаксии – суммарно 32,9%), атаксия-телеангиэктазия (6,6%) и атаксии с окулоmotorной апраксией (3,9%), реже выявляются атаксии, обусловленные мутациями в генах *PNPLA6* и *SPG11* (по 2,6%), *SPG7*, *ANO10*, *STUB1*, *PLA2G6*, *NPC1* и *GALC* (по 1,3%).
2. У российских пациентов взрослого возраста с аутосомно-рецессивными атаксиями болезнь Фридрейха встречается в 18,4% случаев и характеризуется преимущественно классическим фенотипом и отсутствием компаунд-гетерозиготных носителей мутаций в гене *FHN*. Атипичные формы заболевания наблюдались у 14,3% пациентов и были представлены болезнью Фридрейха с сохранными глубокими рефлексам и фенотипом спастической атаксии.
3. *POLG*-ассоциированные атаксии являются второй по частоте встречаемости группой аутосомно-рецессивных атаксий взрослого возраста и представлены преимущественно синдромом SANDO с характерной клинической картиной и нейровизуализационными признаками (симметричные очаговые изменения в полушариях мозжечка, стволе головного мозга и таламусах). Выявленная мажорная мутация p.W748S составляет 85% мутантных аллелей, в том числе у 73% пациентов – в гомозиготном состоянии.
4. Атаксия-телеангиэктазия встречается у 6,6% взрослых пациентов с аутосомно-рецессивными атаксиями взрослого возраста и характеризуется рядом атипичных признаков: отсутствием телеангиэктазий, признаков иммунодефицита и незначительным повышением уровня альфа-фетопротеина.

5. Выявление у ряда пациентов с преимущественно атактическим фенотипом мутаций в классических генах наследственных спастических параплегий доказывает патофизиологическое сходство прогрессирующих атаксий и параплегий нейродегенеративной природы в рамках общего континуума наследственных спиноцереbellарных дегенераций.
6. Использованная оригинальная таргетная мультигенная MPS-панель позволяет установить диагноз в 40% случаев аутосомно-рецессивных атаксий, не идентифицированных на предыдущих этапах мутационного скрининга, что сопоставимо с большинством аналогичных мировых исследований. Проведенный анализ позволил впервые диагностировать или подробно описать ряд фенотипов: атаксию с окуломоторной апраксией 1 типа, синдром MEMSA, *PNPLA6*-ассоциированные атаксии (синдром Буше-Нойхаузера и синдром Гордона Холмса), SCAR10 (*ATX-ANO10*) и SCAR16 (*ATX-STUB1*), нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге 2В типа, ювенильную форму болезни Краббе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При анализе спорадических случаев атаксий дегенеративного генеза у пациентов взрослого возраста рекомендовано проводить ДНК-диагностику наиболее частых аутосомно-доминантных спиноцереbellярных атаксий, связанных с экспансией микросателлитных повторов, а также болезни Фридрейха, перед проведением MPS.
2. Для диагностики аутосомно-рецессивных атаксий в мультигенные MPS-панели необходимо включать гены, ответственные за развитие широкого спектра нейродегенеративных заболеваний (наследственные атаксии и параплегии, нейродегенерации с накоплением железа в головном мозге, лейкодистрофии).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АД — аутосомно-доминантный
- АОА — атаксия с окуломоторной апраксией
- АР — аутосомно-рецессивный
- АРА — аутосомно-рецессивные атаксии
- АТ — атаксия-телеангиэктазия
- АФП — альфа-фетопротеин
- БНП-С — болезнь Ниманна-Пика тип С
- БФ — болезнь Фридрейха
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- КФК — креатинфосфокиназа
- ЛБН — лизосомные болезни накопления
- МРТ — магнитно-резонансная томография
- МСА-М — мультисистемная атрофия мозжечкового типа
- мтДНК — митохондриальная дезоксирибонуклеиновая кислота
- ННЖГМ — нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге
- НСП — наследственные спастические параплегии
- НЦЛ — нейрональный цероидный липофусциноз
- ОА — окуломоторная апраксия
- ПКП — пяточно-коленная проба
- ПНП — пальценосовая проба
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- РНК — рибонуклеиновая кислота
- СБН — синдром Буше-Нойхаузера
- СГХ — синдром Гордона Холмса
- СЦА — спиноцеребеллярная атаксия
- ЦНС — центральная нервная система
- ЭКГ — электрокардиография
- ЭМГ - электромиография

ЭНМГ — электронейромиография

ЭХО-КГ — эхокардиография

ЭЭГ — электроэнцефалография

ANS (ataxia neuropathy spectrum) — фенотип с сочетанием атаксии и невропатии

CNV (copy number variations) — вариация числа копий гена

FARR (Friedreich's ataxia with retained reflexes) — болезнь Фридрейха с сохранными глубокими рефлексами

ICARS (International Cooperative Ataxia Rating Scale) — Международная объединённая шкала оценки атаксии

LOFA (late onset Friedreich's ataxia) — болезнь Фридрейха с поздним началом

MAF (minor allele frequency) - частота минорного аллеля

MEMSA (myoclonic epilepsy neuropathy sensory ataxia) — миоклонус-эпилепсия с миопатией и сенсорной атаксией

MIRAS (mitochondrial recessive ataxia syndrome) — синдром митохондриальной рецессивной атаксии

MPS (massive parallel sequencing) — массовое параллельное секвенирование

MoCA (Montreal Cognitive Assessment) — Монреальская шкала оценки когнитивных функций

REM-фаза — фаза сна с быстрыми движениями глаз

SANDO (sensory ataxic neuropathy, dysarthria, ophthalmoplegia) — сенситивная атаксия, невропатия, дизартрия, офтальмоплегия

SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) — Шкала оценки и определения степени атаксии

SCAR (spinocerebellar ataxia recessive) — аутосомно-рецессивная спиноцеребеллярная атаксия

VLOFA (very late onset Friedreich's ataxia) — болезнь Фридрейха с очень поздним началом

WES (whole exome sequencing) — полноэкзомное секвенирование

WGS (whole genome sequencing) — полногеномное секвенирование

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голоусенко, И.Ю. Необычные кожные проявления при атаксии-телеангиоэктазии (синдром Луи-Бар) / Голоусенко И.Ю. // Фарматека. - 2016. - Т. 2. - С. 14-16.
2. Дегтярева, А.В. Клиническое наблюдение пациента с синдромом истощения митохондриальной ДНК / Дегтярева А.В., Степанова Е.В., Иткис Ю.С. с соавт. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2017. - Т. 62, № 5. - С. 55-62.
3. Ершова, М.В. Молекулярные основы болезни Фридрейха / Ершова М.В., Иллариошкин С.Н. // Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2003. - Т. 103, № 2. - С. 61-67.
4. Ершова, М.В. Митохондриальная недостаточность при болезни Фридрейха (клинико-генетическое, биохимическое и цитохимическое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.13 / Ершова Маргарита Владимировна. - М., 2003. – 28 с.
5. Зиновьева, О.Е. Случай позднего инфантильного нейронального цероидного липофусциноза / Зиновьева О.Е., Мисник Е.В., Черняк З.В. с соавт. // Неврологический журнал. - 2009. - Т. 14, № 6. - С. 42-47.
6. Иванова, Е.О. Тремор: патогенез, особенности клинической картины и лечение / Иванова Е.О., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // Неврологический журнал. - 2013. - Т. 18, № 5. - С. 4-12.
7. Иллариошкин, С.Н. Спастическая атаксия как редкий клинический вариант болезни Фридрейха / Иллариошкин С.Н., Ершова М.В., Ключников С.А. с соавт. // Неврологический журнал. - 2000. - Т. 5, №1. - С. 40-43.
8. Иллариошкин, С.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии / Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д. // М.: Медицинское информационное агентство, 2002. – 591 с.

9. Иллариошкин, С.Н. Атипичные фенотипы болезни Фридрейха: ДНК-анализ и клинико-генетические сопоставления / Иллариошкин С.Н., Ершова М.В., Багыева Г.Х. с соавт. // Медицинская генетика. - 2004. - Т. 3, №1. - С. 36-42.
10. Иллариошкин, С.Н. Наследственные атаксии и параплегии / Иллариошкин С.Н., Руденская Г.Е., Иванова-Смоленская И.А. с соавт. // М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 416 с.
11. Иллариошкин, С.Н. Алгоритм диагностики митохондриальных энцефаломиопатий / Иллариошкин С.Н. // Нервные болезни. - 2007. - Т. 3. - С. 23-27.
12. Ильченко, С.И. Клинический случай синдрома Луи-Бар в сочетании с эпилепсией у подростка / Ильченко С.И., Коренюк Е.С., Самойленко И.Г. с соавт. // Международный неврологический журнал. - 2015. - Т. 6, № 76. - С. 188-192.
13. Ключников, С.А. Семейный случай атаксии с окуломоторной апраксией: первое наблюдение в российской популяции / Ключников С.А., Иллариошкин С.Н., Маркова Е.Д. с соавт. // Анн. клин. эксперим. неврол. - 2007. - Т. 2. - С. 34–39.
14. Ключников, С.А. Алгоритм диагностики наследственных атаксий / Ключников С.А., Иллариошкин С.Н. // Нервные болезни. - 2012. - Т. 1 – С. 7-12.
15. Ключников, С.А. Алгоритм диагностики болезни Ниманна–Пика, тип С. / Ключников С.А. // Нервные болезни. - 2012. - Т. 4. - С. 8-12.
16. Ключников, С.А. Болезнь Ниманна–Пика, тип С – лизосомная патология с нарушением внутриклеточного транспорта липидов / Ключников С.А. // Нервные болезни. - 2014. - Т. 1. - С. 4-14.
17. Ключников, С.А. Глазодвигательные расстройства в практике невролога / Ключников С.А., Азиатская Г.А. // Нервные болезни. - 2015. - Т. 4. - С. 41-45.
18. Кондратенко, И.В. Злокачественные новообразования у больных с атаксией-телеангиэктазией / Кондратенко И.В., Кузнецова М.А., Тогоев О.О. с соавт.

- // Вопр. гематол./онкол. и иммунопат. в педиатрии. - 2002. - Т. 1, № 1. - С. 44-47.
19. Минаева, Н.В. Случай ранней диагностики синдрома Луи-Бар / Минаева Н.В., Фалина А.А., Черемных Л.И. с соавт. // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2017. - Т. 96, № 5. - С. 195-197.
 20. Михайлова, С.В. Клинический полиморфизм митохондриальных энцефаломиопатий, обусловленных мутациями гена полимеразы гамма / Михайлова С.В., Захарова Е.Ю., Цыганкова П.Г. с соавт. // Российский вестник перинат. и педиатрии. - 2012. - Т.4, № 2. - С. 51-61.
 21. Михайлова, С.В. Нейрометаболические заболевания у детей и подростков / Михайлова С.В., Захарова Е.Ю., Петрухин А.С. // М.: Литтерра, 2017. – 368 с.
 22. Молдогазиева, Н.Т. Альфа-фетопротеин и факторы роста. Структурно-функциональные взаимоотношения и аналогии / Молдогазиева Н.Т., Терентьев А.А. // Успехи биолог. химии. - 2006. - Т. 46. - С. 99-148.
 23. Прилуцкий, А.С. Клинические и лабораторные особенности случая атаксии-телеангиэктазии / Прилуцкий А.С., Прилуцкая И.А., Ткаченко К.Е. с соавт. // Таврический медико-биологический вестник. - 2013. - Т. 16, № 1-3. - С. 146-150.
 24. Прошлякова, Т.Ю. Диагностика болезни Ниманна-Пика тип С с использованием биохимических маркеров / Прошлякова Т.Ю., Байдакова Г.В., Букина Т.М. с соавт. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2016. – Т. 61, № 4. - С. 202-203.
 25. Руденская, Г.Е. Атаксии с окуломоторной апраксией: клинико-генетические характеристика и ДНК-диагностика // Руденская Г.Е., Куркина М.В., Захарова Е.Ю. // Журн. неврол. и психиат. им. С.С Корсакова. - 2012. - Т. 112, № 10. - С. 58-63.
 26. Руденская, Г.Е. Ганглиозидоз GM2 у взрослых: первое российское наблюдение и обзор литературы / Руденская Г.Е., Букина А.М., Букина Т.М. с соавт. // Медицинская генетика. - 2015. - Т. 14, № 12. - С. 39-46.

27. Руденская, Г.Е. Наследственные нейрометаболические болезни юношеского и взрослого возраста / Руденская Г.Е., Захарова Е.Ю. // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 394 с.
28. Руденская, Г.Е. Распространенные формы наследственных спастических параличей / Руденская Г.Е., Кадникова В.А., Рыжкова О.П. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2019. - Т. 119, № 2. - С. 94-104.
29. Рыжкова, О.П. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) / Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. с соавт. // Медицинская генетика. - 2017. - Т. 16, № 7. - С. 4-17.
30. Селиверстов, Ю.А. Эффективность применения миглустата у пациентов с болезнью Ниманна-Пика типа С (обзор литературы) / Селиверстов Ю.А. // Нервные болезни. - 2016. - Т. 4. - С. 21-26.
31. Семенова, О.В. Клинический случай болезни Тея-Сакса с поздним началом / Семенова О.В., Ключников С.А., Павлов Э.В. с соавт. // Нервные болезни. - 2016. - Т. 3. - С. 57-60.
32. Серков, С.В. Нейрорентгенология в диагностике лейкодистрофий / Серков С.В., Пронин И.Н., Фадеева Л.М. с соавт. // Медицинская визуализация. - 2003. - Т. 2. - С. 77-90.
33. Хакимова, Р.Ф. Клинико-иммунологические особенности атаксии-телеангиэктазии при динамическом наблюдении / Хакимова Р.Ф., Камашева Г.Р. // Практическая медицина. - 2013. - Т. 1-2, №6 9. - С. 124-126.
34. Цыганкова, П.Г. Случай синдрома SANDO / Цыганкова П.Г., Руденская Г.Е., Сидорова О.П. с соавт. // В кн: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей по материалам II Национального конгресса. - М. - 2011. - С. 336-337.
35. Юрасова, А.С. Аногенитальный папилломатоз у больного с атаксией-телеангиэктазией / Юрасова А.С., Харьбина Е.И., Кузнецова М.А. с соавт. //

- Вопр. гематол./онкол. и иммунопат. в педиатрии. - 2003. - Т. 2, № 1. - С. 101-102.
36. Яблонская, М.И. Полиморфизм клинических проявлений прогрессирующей митохондриальной энцефаломиопатии, ассоциированной с мутацией гена POLG1 / Яблонская М.И., Николаева Е.А., Шаталов П.А., с соавт. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2016. - Т. 3. - С. 51–57.
 37. Abele, M. The aetiology of sporadic adult-onset ataxia / Abele M., Bürk K., Schöls L. et al. // Brain. - 2002. - V. 125. - P. 961–968.
 38. Ali, Z. Novel SACS mutations associated with intellectual disability, epilepsy and widespread supratentorial abnormalities / Ali Z., Klar J., Jameel M. et al. // J Neurol. Sci. - 2016. - V. 371. - P. 105–111.
 39. Al Tassan, N. A missense mutation in PIK3R5 gene in a family with ataxia and oculomotor apraxia / Al Tassan N., Khalil D., Shinwari J. Et al. // Hum Mutat. - 2012. - V. 33, № 2. - P. 351-354.
 40. Alvarez, V. Very late-onset Friedreich ataxia: later than life expectancy? / Alvarez V., Arnold P., Kuntzer T. // J Neurol. - 2013. - V. 260, № 5. - P. 1408-1409.
 41. Ambrose, M. Pathogenesis of ataxia-telangiectasia: the next generation of ATM functions / Ambrose M., Gatti R.A. // Blood. - 2013. - V. 121. - P. 4036–4045.
 42. Anagnostou, M.E. Epilepsy due to mutations in the mitochondrial polymerase gamma (POLG) gene: a clinical and molecular genetic review / Anagnostou M.E., Ng Y.S., Taylor R.W. et al. // Epilepsia. - 2016. - V. 57. - P. 1531–1545.
 43. Anheim, M. Ataxia with oculomotor apraxia type 2: clinical, biological and genotype/phenotype correlation study of a cohort of 90 patients / Anheim M., Monga B., Fleury M. // Brain. - 2009. - V. 132 (Pt 10). - P. 2688-2698.
 44. Anheim, M. Epidemiological, clinical, paraclinical and molecular study of a cohort of 102 patients affected with autosomal recessive progressive cerebellar ataxia from Alsace, Eastern France: implications for clinical management / Anheim M., Fleury M., Monga B. et al. // Neurogenetics. - 2010. - V. 11, № 1. - P. 1-12.
 45. Anheim, M. The autosomal recessive cerebellar ataxias / Anheim M., Tranchant C., Koenig M. // N Engl J Med. - 2012. - V. 366. - P. 636–646.

46. Arnoldi, A. A clinical, genetic, and biochemical characterization of SPG7 mutations in a large cohort of patients with hereditary spastic paraplegia / Arnoldi A., Tonelli A., Crippa F. et al. // *Hum Mutat.* - 2008. - V. 29, № 4. - P. 522-531.
47. Bajaj, N.P. Familial adult onset of Krabbe's disease resembling hereditary spastic paraplegia with normal neuroimaging / Bajaj N.P., Waldman A., Orrell R. et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* - 2002. - V. 72, № 5. - P. 635-638.
48. Beaudin, M. Systematic review of autosomal recessive ataxias and proposal for a classification / Beaudin M., Klein C.J., Rouleau G.A. et al. // *Cerebellum Ataxias.* - 2017. - V. 23, № 4. - P. 3.
49. Bird, T.D. Abnormal function of endocrine pancreas and anterior pituitary in Friedreich's ataxia. Studies in a family. / Bird T.D., Turner J.L., Sumi S.M. et al. // *Ann Intern Med.* - 1978. - V. 88, № 4. - P. 478–481.
50. de Bot, S.T. Reviewing the genetic causes of spastic-ataxias / de Bot S.T., Willemsen M.A., Vermeer S. et al. // *Neurology.* - 2012. - V. 79, № 14. - P. 1507-1514.
51. Bouhlal, Y. Autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix–Saguenay: an overview / Bouhlal Y., Amouri R., El Euch-Fayeche G. et al. // *Parkinsonism Relat Disord.* - 2011. - V. 17. - P. 418–422.
52. Boycott, K.M. Rare-disease genetics in the era of next-generation sequencing: discovery to translation / Boycott K.M., Vanstone M.R., Bulman D.E. // *Nat Rev Genet.* - 2013. - V. 14, № 10. - P. 681–691.
53. Braga Neto, P. Current concepts in the treatment of hereditary ataxias / Braga Neto P., Pedroso J.L., Kuo S.H. et al. // *Arq Neuropsiquiatr.* - 2016. - V. 74, № 3. - P. 244-252.
54. Brandsma, R. Reliability and discriminant validity of ataxia rating scales in early onset ataxia / Brandsma R., Lawerman T.F., Kuiper M.J. et al. // *Dev Med Child Neurol.* - 2017. - V. 59, № 4. - P. 427-432.
55. Buckner, R.L. The cerebellum and cognitive function: 25 years of insight from anatomy and neuroimaging / Buckner R.L. // *Neuron.* - 2013. - V. 80, № 3. - P. 807-815.

56. Bugiardini, E. Clinicopathologic and molecular spectrum of RNASEH1-related mitochondrial disease / Bugiardini E., Poole O.V., Manole A. et al. // *Neurol Genet.* - 2017. - V. 3, № 3. - e149.
57. Burk, K. Friedreich Ataxia: current status and future prospects / Burk K. // *Cerebellum Ataxias.* - 2017. – V. 4, № 4. - eCollection.
58. Caldecott, K.W. Single-strand break repair and genetic disease / Caldecott K.W. // *Nat Rev Genet.* - 2008. - V. 9. - P. 619–631.
59. de Castro, M. Genotype and phenotype analysis of Friedreich's ataxia compound heterozygous patients // de Castro M., Garcia-Planells J., Monros E. et al. // *Hum Genet.* - 2000. - V. 106. - P. 86–92.
60. Cavalieri, S. ATM mutations in Italian families with ataxia telangiectasia include two distinct large genomic deletions / Cavalieri S., Funaro A., Porcedda P. et al. // *Hum Mutat.* - 2006. - V. 27, № 10. - P. 1061.
61. Charlesworth, G. Ataxia telangiectasia presenting as dopa-responsive cervical dystonia / Charlesworth G., Mohire M.D., Schneider S.A. et al. // *Neurology.* - 2013. - V. 81. - P. 1148–1151.
62. Chaudhary, M.W. Ataxia-telangiectasia: future prospects / Chaudhary M.W., Al-Baradie R.S. // *Appl Clin Genet.* - 2014. - V. 7. - P. 159-167.
63. Choquet, K. SPG7 mutations explain a significant proportion of French Canadian spastic ataxia cases / Choquet K., Tetreault M., Yang S. et al. // *Eur J Hum Genet.* - 2016. - V. 24. - P. 1016–1021.
64. Cohen, B.H. POLG-Related Disorders / Cohen, B.H., Chinnery P.F., Copeland W.C. // *GeneReviews* [Internet]. - 2010 (Updated 2018).
65. Cooper, S.A. Here, there and everywhere: higher visual function and the dorsal visual stream / Cooper S.A., O'Sullivan M. // *Pract Neurol.* - 2016. - V. 16, № 3. - P. 176-183.
66. Cossee, M. Friedreich's ataxia: point mutations and clinical presentation of compound heterozygotes / Cossee M., Durr A., Schmitt M. et al. // *Ann Neurol.* - 1999. - V. 45. - P. 200–264.

67. Criscuolo, C. Very late onset in ataxia oculomotor apraxia type I / Criscuolo C., Mancini P., Menchise V. et al. // *Ann Neurol.* - 2005. - V. 57. - P. 777.
68. Debs, R. Krabbe disease in adults: phenotypic and genotypic update from a series of 11 cases and a review / Debs R., Froissart R., Aubourg P. et al. // *J. Inherit. Metab. Dis.* - 2013. - V. 36. - P. 859–868.
69. Deik, A. Compound heterozygous PNPLA6 mutations cause Boucher-Neuhauser syndrome with late-onset ataxia / Deik A., Johannes B., Rucker J.C. et al. // *J Neurol.* - 2014. - V. 261, № 12. - P. 2411–2423.
70. Delatycki, M.B. Clinical and genetic study of Friedreich ataxia in an Australian population / Delatycki M.B., Paris D.B., Gardner R.J. et al. // *Am J Med Genet.* - 1999. - V. 87, № 2. - P. 168–174.
71. Duffner, P.C. Later onset phenotypes of Krabbe disease: results of the world-wide registry / Duffner P.C., Barczykowski A., Kay D.M. et al. // *Pediatric Neurology.* - 2012. - V. 46. - e298e306.
72. Dumitrache, L. Polynucleotide kinase-phosphatase (PNKP) mutations and neurologic disease / Dumitrache L., McKinnon P.J. // *Mech Ageing Dev.* - 2017. - V. 161 (Pt A). - P. 121-129.
73. Elert-Dobkowska, E. Next-generation sequencing study reveals the broader variant spectrum of hereditary spastic paraplegia and related phenotypes / Elert-Dobkowska E., Stepniak I., Krysa W. et al. // *Neurogenetics.* - 2019. - V.20, № 1. - P. 27-38.
74. Engelsens, B.A. POLG1 mutations cause a syndromic epilepsy with occipital lobe predilection / Engelsens B.A., Tzoulis C., Karlsen B. et al. // *Brain.* - 2008. - V. 131. - P. 818–828.
75. Erdmann, J. Next generation technology edges genome sequencing toward the clinic / Erdmann J. // *Chem Biol.* - 2011. - V. 18, № 12. - P. 1513-1514.
76. Fadic, R. Sensory ataxic neuropathy as the presenting feature of a novel mitochondrial disease / Fadic R., Russell J.A., Vedanarayanan V.V. et al. // *Neurology.* - 1997. - V. 49. - P. 239–245.

77. Faraj, S.E. The alteration of the C-terminal region of human frataxin distorts its structural dynamics and function / Faraj S.E., Roman E.A., Aran M. et al. // FEBS J. - 2014. - V. 281, № 15. - P. 3397–3419.
78. Federico, A. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration / Federico A., Cardaioli E., Da Pozzo P. et al. // J Neurol Sci. - 2012. - V. 322. - P. 254–262.
79. Ferrarini, M. A novel mutation of aprataxin associated with ataxia ocular apraxia type 1: phenotypical and genotypical characterization / Ferrarini M., Squintani G., Cavallaro T. et al. // J Neurol Sci. - 2007. - V. 260, № 1-2. - P. 219-224.
80. Finocchiaro, G. Glucose metabolism alterations in Friedreich's ataxia / Finocchiaro G., Baio G., Micossi P. et al. // Neurology. - 1988. - V. 38, № 8. - P. 1292–1296.
81. Finsterer, J. Mitochondrial Ataxias / Finsterer J. // Can. J. Neurol. Sci. - 2009. - V. 36. - P. 543-553.
82. Finsterer, J. Mitochondrial toxicity of antiepileptic drugs and their tolerability in mitochondrial disorders / Finsterer J., Mahjoub S.Z. // Expert Opin Drug Metab Toxicol. - 2012. - V. 8, № 1. - P. 71-79.
83. Fogel, B.L. Clinical features and molecular genetics of autosomal recessive cerebellar ataxias / Fogel B.L., Perlman S. // Lancet Neurol. - 2007. - V. 6. - P. 245–257.
84. Fogel, B.L. Exome sequencing in the clinical diagnosis of sporadic or familial cerebellar ataxia / Fogel B.L., Lee H., Deignan J.L. // JAMA Neurol. - 2014. - V. 71, № 10. - P. 1237-1246.
85. Galassi, G. Additive effects of POLG1 and ANT1 mutations in a complex encephalomyopathy / Galassi G., Lamantea E., Invernizzi F. et al. // Neuromuscul Disord. - 2008. - V. 18. - P. 465-470.
86. Galatolo, D. Clinical application of next generation sequencing in hereditary spinocerebellar ataxia: increasing the diagnostic yield and broadening the ataxia-spasticity spectrum. A retrospective analysis / Galatolo D., Tessa A., Filla A. et al. // Neurogenetics. - 2018. - V. 19, № 1. - P. 1-8.

87. Galea, C.A. Compound heterozygous FXN mutations and clinical outcome in Friedreich ataxia / Galea C.A., Huq A., Lockhart P.J. et al. // *Ann Neurol.* - 2016. - V. 79. - P. 485–493.
88. van Gassen, K.L. Genotype-phenotype correlations in spastic paraplegia type 7: a study in a large Dutch cohort / van Gassen K.L., van der Heijden C.D., de Bot S.T. et al. // *Brain.* - 2012. - V. 135. - P. 2994–3004.
89. Gazulla, J. Sensorimotor neuronopathy in ataxia with oculomotor apraxia type 2 / Gazulla J., Benavente I., López-Fraile I.P. et al. // *Muscle Nerve.* - 2009. - V. 40, № 3. - P. 481-485.
90. Gazulla, J. Sensory neuronopathy in ataxia with oculomotor apraxia type 2 / Gazulla J., Benavente I., López-Fraile I.P. et al. // *J Neurol Sci.* - 2010. - V. 298, № 1-2. - P. 118-120.
91. Gilman, S. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy / Gilman S., Wenning G.K., Low P.A. et al. // *Neurology.* - 2008. - V. 26, № 71. - P. 670-676.
92. Giordano, I. Clinical and genetic characteristics of sporadic adult-onset degenerative ataxia / Giordano I., Harmuth F., Jacobi H. et al. // *Neurology.* - 2018. - V. 89. - P. 1-7.
93. Gregory, A. Neurodegeneration associated with genetic defects in phospholipase A(2) / Gregory A., Westaway S.K., Holm I.E. et al. // *Neurology.* - 2008. - V. 71, № 18. - P. 1402-1409.
94. Guo, Y. PLA2G6-Associated Neurodegeneration (PLAN): Review of Clinical Phenotypes and Genotypes / Guo Y., Tang B., Guo J. // *Front. Neurol.* - 2018. - V. 9. - P. 1100.
95. Hadjivassiliou, M. Causes of progressive cerebellar ataxia: prospective evaluation of 1500 patients / Hadjivassiliou M., Martindale J., Shanmugarajah P. et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* - 2017. - V. 88, № 4. - P. 301-309.
96. Hagit, N. Gaucher Disease: The Metabolic Defect, Pathophysiology, Phenotypes And Natural History Hagit N., Baris I., Cohen J. et al. // *Pediatr Endocrinol Rev.* - 2014. - V. 12, Supplement 1. - P. 72–81.

97. Hakonen, A.H. Mitochondrial DNA polymerase W748S mutation: a common cause of autosomal recessive ataxia with ancient European origin / Hakonen A.H., Heiskanen S., Juvonen V. et al. // *Am J Hum Genet.* - 2005. - V. 77. - P. 430–441.
98. Hanisch, F. SANDO syndrome in a cohort of 107 patients with CPEO and mitochondrial DNA deletions / Hanisch F., Kornhuber M., Alston C.L. et al. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* - 2015. - V. 86. - P. 630–634.
99. Harding, A.E. Friedreich's ataxia: a clinical and genetic study of 90 families with an analysis of early diagnostic criteria and intrafamilial clustering of clinical features / Harding A.E. // *Brain.* - 1981. - V. 104, № 3. - P.589–620.
100. Hayer, S.N. STUB1/CHIP mutations cause Gordon Holmes syndrome as part of a widespread multisystemic neurodegeneration: evidence from four novel mutations / Hayer S.N., Deconinck T., Bender B. Et al. // *Orphanet J Rare Dis.* - 2017. - V. 12, № 1. - P. 31.
101. Heidari, M.M. Complex I and ATP content deficiency in lymphocytes from Friedreich's ataxia / Heidari M.M., Houshmand M., Hosseinkhani S. et al. // *Can J Neurol Sci.* - 2009. - V. 36, № 1. - P. 26–31.
102. Henao, A.I. Characteristic brain MRI findings in ataxia-neuropathy spectrum related to POLG mutation / Henao A.I., Pira S., Herrera D.A. et al. // *Neuroradiol J.* - 2016. - V. 29. - P. 46–48.
103. Herman, D. Histone deacetylase inhibitors reverse gene silencing in Friedreich's ataxia / Herman D., Jenssen K., Burnett R. et al. // *Nat Chem Biol.* - 2006. - V. 2, № 10. - P. 551–558.
104. Horvath, R. Phenotypic spectrum associated with mutations of the mitochondrial polymerase- γ gene / Horvath R., Hudson G., Ferrari G. et al. // *Brain.* - 2006. - V. 129. - P. 1674–1684.
105. Hufnagel, R.B. Neuropathy target esterase impairments cause Oliver-McFarlane and Laurence-Moon syndromes / Hufnagel R.B., Arno G. et al. // *J Med Genet.* - 2015. - V. 52, № 2. - P. 85–94.
106. Hui, P. Next generation sequencing: chemistry, technology and applications / Hui P. // *Top Curr Chem.* - 2014. - V. 336. - P. 1–18.

107. Illarioshkin, S.N. Different phenotypes of Friedreich's ataxia within one 'pseudo-dominant' genealogy: relationships between trinucleotide (GAA) repeat lengths and clinical features / Illarioshkin S.N., Bagieva G.K., Klyushnikov S.A. et al. // *Eur J Neurol.* - 2000. - V. 7, № 5. - P. 535-540.
108. Iqbal, Z. Targeted high throughput sequencing in hereditary ataxia and spastic paraplegia / Iqbal Z., Rydning S.L., Wedding I.M. et al. // *PLoS One.* - 2017. - 31. - V. 12, № 3. - e0174667.
109. Jiang, B. Neurological disorders associated with DNA strand-break processing enzymes / Jiang B., Glover J.N., Weinfeld M. // *Mech Ageing Dev.* - 2017. - V. 161. - P. 130–140.
110. Johansen, K.K. Palatal tremor and facial dyskinesia in a patient with POLG1 mutation / Johansen K.K., Bindoff L.A., Rydland J. et al. // *Mov. Disord.* - 2008. - V. 23. - P. 1624–1626.
111. Kang, C. High Degree of Genetic Heterogeneity for Hereditary Cerebellar Ataxias in Australia / Kang. C., Liang C., Ahmad K.E. et al. // *Cerebellum.* - 2019. - V. 18, № 1. - P. 137-146.
112. Keogh, M.J. Frequency of rare recessive mutations in unexplained late onset cerebellar ataxia / Keogh M.J., Steele H., Douroudis K. et al. // *J Neurol.* - 2015. - V. 262, № 8. - P. 1822–1827.
113. Kirschenbaum, D. Distinctive cerebral neuropathology in an adult case of SANDO syndrome / Kirschenbaum D., Hedberg-Oldfors C., Oldfors A. et al. // *Neuropathol Appl Neurobiol.* - 2018. - V. 44, № 6. - P. 639-642.
114. Klebe, S. Spastic paraplegia gene 7 in patients with spasticity and/or optic neuropathy / Klebe S., Depienne C., Gerber S. et al. // *Brain.* - 2012. - V. 135. - P. 2980–2993.
115. Kmoch, S. Mutations in PNPLA6 are linked to photoreceptor degeneration and various forms of childhood blindness // Kmoch S., Majewski J., Ramamurthy V. et al. // *Nat Commun.* - 2015. - V. 6. - P. 5614.
116. Koboldt, D.C. Challenges of sequencing human genomes / Koboldt D.C., Ding L., Mardis E.R. et al. // *Brief Bioinform* – 2010. - V. 11, № 5. - P. 484-498.

117. Kuhm, C. Novel ATM mutation in a German patient presenting as generalized dystonia without classical signs of ataxia-telangiectasia / Kuhm C., Gallenmuller C., Dork T. et al. // *J Neurol.* - 2015. - V. 262. - P. 768–770.
118. Levi, S. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation Disorders: Valuable Models Aimed at Understanding the Pathogenesis of Iron Deposition / Levi S., Tiranti. V. // *Pharmaceuticals.* - 2019. - V. 12. - P. 27.
119. Levy, A. Ataxia-Telangiectasia: A Review of Movement Disorders, Clinical Features, and Genotype Correlations / Levy A., Lang A.E. // *Mov Disord.* - 2018. - V. 33, № 8. - P. 1238-1247.
120. Lohmann, E. Clinical variability in ataxia-telangiectasia / Lohmann E., Kruger S., Hauser A.K. et al. // *J Neurol.* - 2015. - V. 262. - P. 1724–1727.
121. Lorincz, M.T. Neurologic Wilson's disease / Lorincz M.T. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 2010. - V. 1184. - P. 173–187.
122. Lu, C. Identification of novel senataxin mutations in Chinese patients with autosomal recessive cerebellar ataxias by targeted next-generation sequencing / Lu C., Zheng Y.C., Dong Y. Et al. // *BMC Neurol.* - 2016. - V. 16, № 1. - P. 179.
123. Mallaret, M. Validation of a clinical practice-based algorithm for the diagnosis of autosomal recessive cerebellar ataxias based on NGS identified cases / Mallaret M., Renaud M., Redin C. et al. // *J Neurol.* - 2016. - V. 263, № 7. - P. 1314-1322.
124. Mancuso, M. The genetics of ataxia: through the labyrinth of the Minotaur, looking for Ariadne's thread / Mancuso M., Orsucci D., Siciliano G., Bonuccelli U. // *J Neurol.* - 2014. - V. 261, Supplement 2. - P. 528-541.
125. Manto, M. The Cerebellum: Disorders and Treatment / Manto M., Huisman T. // *Handbook of Clinical Neurology Series*, 1st Edition. - 2018. - V. 155. - P. 440.
126. Mantovan, M.C. Exploring mental status in Friedreich's ataxia: a combined neuropsychological, behavioral and neuroimaging study / Mantovan M.C., Martinuzzi A., Squarzanti F. et al. // *Eur J Neurol.* - 2006. - V. 13, № 8. - P. 827–835.

127. Marelli, C. Mini-Exome Coupled to Read-Depth Based Copy Number Variation Analysis in Patients with Inherited Ataxias / Marelli C., Guissart C., Hubsch C. et al. // *Hum Mutat.* - 2016. - V. 37, № 12. - P. 1340-1353.
128. Mariani, L.L. Comparing ataxias with oculomotor apraxia: a multimodal study of AOA1, AOA2 and AT focusing on video-oculography and alpha-fetoprotein / Mariani L.L., Rivaud-Péchoux S., Charles P. // *Sci Rep.* - 2017. - V. 7, № 1. - P. 15284.
129. McCormick, A. Impact of diabetes in the Friedreich ataxia clinical outcome measures study / McCormick A., Farmer J., Perlman S. et al. // *Ann. of Clinical and Translat. Neurol.* - 2017. - V. 4, № 9. - P. 622–631.
130. Meienberg, J. Clinical sequencing: is WGS the better WES? / Meienberg J., Bruggmann R., Oexle K. et al. // *Hum Genet.* - 2016. - V. 135, № 3. - P. 359–362.
131. Micol, R. Morbidity and mortality from ataxia-telangiectasia are associated with ATM genotype / Micol R., Ben Slama L., Suarez F. et al. // *J Allergy Clin Immunol.* - 2011. - V. 128, № 2. - P. 382-389.
132. Milone, M. Sensory ataxic neuropathy with ophthalmoparesis caused by POLG mutations / Milone M., Brunetti-Pierri N., Tang L.Y. et al. // *Neuromuscul Disord.* - 2008. - V. 18. - P. 626-632.
133. Mignarri, A. Mitochondrial recessive ataxia syndrome: A neurological rarity not to be missed / Mignarri A., Cenciarelli S., Da Pozzo P. et al. // *J Neurol Sci.* - 2015. - V. 349, № 1-2. - P. 254-255.
134. Millat, G. Niemann-Pick C1 disease: correlations between NPC1 mutations, levels of NPC1 protein, and phenotypes emphasize the functional significance of the putative sterol-sensing domain and of the cysteine-rich luminal loop // Millat G., Marcais C., Tomasetto C. et al. // *Am J Hum Genet.* - 2001. - V. 68, № 6. - P. 1373-1385.
135. Milne, S.C. Rehabilitation for Individuals With Genetic Degenerative Ataxia: A Systematic Review / Milne S.C., Corben L.A., Georgiou-Karistianis N. et al. // *Neurorehabil Neural Repair.* - 2017. - V. 31, № 7. - P. 609-622.

136. Mitoma, H. Guidelines for treatment of immunemediated cerebellar ataxias / Mitoma H., Hadjivassiliou M., Honnorat J. // *Cerebellum & Ataxias*. - 2015. - V. 2. - P. 14.
137. Mole S.E. Neuronal Ceroid-Lipofuscinoses / Mole S.E., Williams R.E. // *GeneReviews*. - Seattle (WA): University of Washington, Seattle. - 1993-2019.
138. Moreira, M. Ataxia with Oculomotor Apraxia Type 2 / Moreira M., Koenig M. // *GeneReviews* [Internet]. - 2004 (Updated 2018).
139. Morgan, N.V. PLA2G6, encoding a phospholipase A2, is mutated in neurodegenerative disorders with high brain iron / Morgan N.V., Westaway S.K., Morton J.E. et al. // *Nat Genet*. - 2006. - V. 38, № 7. - P. 752-754.
140. Mosesso, P. The novel human gene aprataxin is directly involved in DNA single-strand-break repair / Mosesso P., Piane M., Palitti F. Et al. // *Cell Mol Life Sci*. - 2005. - V. 62, № 4. - P. 485-491.
141. Nanetti, L. SETX mutations are a frequent genetic cause of juvenile and adult onset cerebellar ataxia with neuropathy and elevated serum alpha-fetoprotein / Nanetti L., Cavalieri S., Pensato V. // *Orphanet J Rare Dis*. - 2013. - V. 14, № 8. - P. 123.
142. Nascimento, F.A. Progressive myoclonus epilepsy associated with SACS gene mutations / Nascimento F.A., Canafoglia L., Aljaafari D. et al. // *Neurol Genet*. - 2016. - V. 2, № 4. - P. 23.
143. Nemeth, A.H. Next generation sequencing for molecular diagnosis of neurological disorders using ataxias as a model / Nemeth A.H., Kwasniewska A.C., Lise S. et al. // *Brain*. - 2013. - V. 136. - P. 3106-3118.
144. Nieto, A. Cognition in Friedreich ataxia / Nieto A., Correia R., de Nóbrega E. et al. // *Cerebellum*. - 2012. - V. 11, № 4. - P. 834–844.
145. O'Connor, E. Mutations in XRCC1 cause cerebellar ataxia and peripheral neuropathy / O'Connor E., Vandrovцова J., Bugiardini E. et al. // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. - 2018. - V. 89, № 11. - P. 1230-1232.
146. Ohba, C. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood / Ohba C., Osaka H., Iai M. et al. // *Neurogenetics*. - 2013. - V. 14, № 3-4. - P. 225-232.

147. Oguri, M. Friedreich Ataxia: clinical feature and electrophysiological symptoms / Oguri M. // *J Neurosci Rural Pract.* - 2017. - V. 8, № 4. - P. 691-692.
148. Pablo, L.E. Retinal nerve fiber hypertrophy in ataxia of Charlevoix-Saguenay patients / Pablo L.E., Garcia-Martin E., Gazulla J. et al. // *Mol Vis.* - 2011. - V. 17. - P. 1871-1876.
149. Palau, F. Autosomal recessive cerebellar ataxias / Palau F., Espinos C. // *Orphanet J Rare Dis.* - 2006. - V. 17, № 1. - P. 47.
150. Palin, E.J. Mitochondrial recessive ataxia syndrome mimicking dominant spinocerebellar ataxia / Palin E.J., Hakonen A.H., Korpela M. et al. // *J Neurol Sci.* - 2012. - V. 315, № 1-2. - P. 160-163.
151. Pandolfo, M. The molecular basis of Friedreich ataxia / Pandolfo M. // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2002. - V. 516. - P. 99-118.
152. Pang, S.Y. The role of gene variants in the pathogenesis of neurodegenerative disorders as revealed by next generation sequencing studies: a review / Pang S.Y., Teo K.C., Hsu J.S. et al. // *Translational Neurodegeneration.* - 2017. - V. 6. - P. 27.
153. Pappa, A. Diabetes mellitus in Friedreich ataxia: a case series of 19 patients from the German-Austrian diabetes mellitus registry / Pappa A., Hausler M.G., Veigel A. et al. // *Diabet Res Clin Pract.* - 2018. - V. 141. - P. 229-236.
154. Parfitt, D.A. The ataxia protein saccin is a functional co-chaperone that protects against polyglutamine-expanded ataxin-1 / Parfitt D.A., Michael G.J., Vermeulen E.G.M. et al. // *Hum. Molec. Genet.* - 2009. - V. 18. - P. 1556-1565.
155. Parkinson, M.H. Clinical features of Friedreich's ataxia: classical and atypical phenotypes / Parkinson M.H., Boesch S., Nachbauer W. et al. // *J. Neurochem.* - 2013. - V. 126, Supplement 1. - P. 103–117.
156. Parodi, L. Hereditary ataxias and paraparesias: clinical and genetic update / Parodi L., Coarelli G., Stevanin G. et al. // *Curr Opin Neurol.* - 2018. - V. 31, № 4. - P. 462-471.
157. Pascual, B. "Ears of the Lynx" MRI Sign Is Associated with SPG11 and SPG15 Hereditary Spastic Paraplegia / Pascual B., de Bot S.T., Daniels M.R. et al. // *AJNR Am J Neuroradiol.* - 2019. - V. 40, № 1. - P. 199-203.

158. Patterson, M.C. Recommendations for the detection and diagnosis of Niemann-Pick disease type C: An update / Patterson M.C., Clayton P., Gissen P. et al. // *Neurol Clin Pract.* - 2017. - V. 7, № 6. - P. 499-511.
159. Paucar, M. Expanding the ataxia with oculomotor apraxia type 4 phenotype / Paucar M., Malmgren H., Taylor M. Et al. // *Neurol Genet.* - 2016. - V. 2, № 11. - P. 49.
160. Pyle, A. Exome sequencing in undiagnosed inherited and sporadic ataxias / Pyle A., Smertenko T., Bargiela D. et al. // *Brain.* - 2015. - V. 138 (Pt 2). - P. 276-283.
161. Pearson, T.S. More Than Ataxia: Hyperkinetic Movement Disorders in Childhood Autosomal Recessive Ataxia Syndromes / Pearson T.S. // *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y).* - 2016. - V. 16, № 6. - P. 368.
162. Pilliod, J. New practical definitions for the diagnosis of autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix–Saguenay / Pilliod J., Moutton S., Lavie J. et al. // *Ann Neurol.* - 2015. - V. 78. - P. 871–886.
163. Pineda, M. Miglustat in Niemann–Pick disease type C patients: a review / Pineda M., Walterfang M., Patterson M.C. et al. // *Orphanet J Rare Dis.* - 2018. - V. 13. - P. 140.
164. Rahman, S. POLG-related disorders and their neurological manifestations / Rahman S., Copeland W.C. // *Nat Rev Neurol.* - 2019. - V. 15, № 1. - P. 40-52.
165. Rainier, S. Neuropathy target esterase gene mutations cause motor neuron disease / Rainier S., Bui M., Mark E. et al. // *Am J Hum Genet.* - 2008. - V. 82, № 3. - P. 780–785.
166. Reetz, K. Biological and clinical characteristics of the European Friedreich’s Ataxia Consortium for Translational Studies (EFACTS) cohort: a cross-sectional analysis of baseline data / Reetz K., Dogan I., Costa A.S. et al. // *Lancet Neurol.* - 2015. - V. 14, № 2. - P. 174–182.
167. Regner, S.R. Analysis of echocardiograms in a large heterogeneous cohort of patients with Friedreich ataxia / Regner S.R., Lagedrost S.J., Plappert T. et al. // *Am J Cardiol.* - 2012. - V. 109, № 3. - P. 401–405.

168. Renaud, M. Clinical, Biomarker, and Molecular Delineations and Genotype-Phenotype Correlations of Ataxia With Oculomotor Apraxia Type 1 / Renaud M., Moreira M.C., Ben Monga B. et al. // *JAMA Neurol.* - 2018. - V. 75, № 4. - P. 495-502.
169. Richards, S. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / Richards S., Aziz N., Bale S. et al. // *Genet Med.* - 2015. - V. 17, № 5. - P. 405-424.
170. Rossi, M. The genetic nomenclature of recessive cerebellar ataxias / Rossi M., Anheim M, Durr A. Et al. // *Mov Disord.* - 2018. - V. 33, № 7. - P. 1056-1076.
171. Rothblum-Oviatt, C. Ataxia telangiectasia: a review / Rothblum-Oviatt C., Wright J., Lefton-Greif M.A. // *Orphanet J Rare Dis.* - 2016. - V. 11, № 1. - P. 159.
172. Ruano, L. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies / Melo C., Silva M.C., Coutinho P. // *Neuroepidemiology.* - 2014. - V. 42, № 3. - P. 174-183.
173. Rudenskaya, G.E. Ataxia with Oculomotor Apraxia Type 4 with *PNKP* Common "Portuguese" and Novel Mutations in Two Belarusian Families / Rudenskaya G.E., Marakhonov A.V., Shchagina O.A. // *J Pediatr Genet.* - 2019. - V. 8, № 2. - P. 58-62.
174. Salgadoa, P. Gordon Holmes syndrome due to compound heterozygosity of two new *PNPLA6* variants – A diagnostic challenge / Salgadoa P., Carvalhob R., Brandaoc A.F. // *Neurological Sci.* - 2019. - V. 14. - P. 9-12.
175. Salman, M.S. Epidemiology of Cerebellar Diseases and Therapeutic Approaches / Salman, M.S. // *Cerebellum.* - 2018. - V. 17, № 4. - P. 11.
176. Sarva, H. Treatment Options in Degenerative Cerebellar Ataxia: A Systematic Review / Sarva H., Shanker V.L. // *Mov Disord Clin Pract.* - 2014. - V. 1, № 4. - P. 291-298.
177. Sawyer, S.L. Exome sequencing as a diagnostic tool for pediatric-onset ataxia / Sawyer S.L., Schwartzenruber J., Beaulieu C.L. et al. // *Hum Mutat.* - 2014. - V. 35, № 1. - P. 45-49.

178. Schadt, K.A. Cross-sectional analysis of electrocardiograms in a large heterogeneous cohort of Friedreich ataxia subjects / Schadt K.A., Friedman L.S., Regner S.R. et al. // *J Child Neurol.* - 2012. - V. 27, № 9. - P. 1187–1192.
179. Schicks, J. POLG, but not PEO1, is a frequent cause of cerebellar ataxia in Central Europe / Schicks J., Synofzik M., Schulte C. et al. // *Mov. Disord.* - 2010. - V. 25. - P. 2678–2682.
180. Schieving, J.H. Alpha-fetoprotein, a fascinating protein and biomarker in neurology / Schieving J.H., de Vries M., van Vugt J.M. // *Eur J Paediatr Neurol.* - 2014. - V. 18, № 3. - P. 243-248.
181. Schöls, L. Genetic background of apparently idiopathic sporadic cerebellar ataxia / Schöls L., Szymanski S., Peters S. et al. // *Hum Genet.* - 2000. - V. 107, № 2. - P. 132-137.
182. Schulte, C. Ataxia with ophthalmoplegia or sensory neuropathy is frequently caused by POLG mutations / Schulte C., Synofzik M., Gasser T. et al. // *Neurology.* - 2009. - V. 73. - P. 898–900.
183. Schulz, J.B. Diagnosis and treatment of Friedreich ataxia: a European perspective / Schulz J.B., Boesch S., Burk K. et al. // *Nature Reviews.* - 2009. - V. 5. - P. 222–234.
184. Shapiro, B.E. Late-onset Tay-Sachs disease: the spectrum of peripheral neuropathy in 30 affected patients / Shapiro B.E., Logigian E.L., Kolodny E.H. et al. // *Muscle Nerve.* - 2008. - V. 38, № 2. - P. 1012-1015.
185. Shiloh, Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity / Shiloh Y. // *Nature.* - 2003. - V. 3. - P. 155-168.
186. de Souza, P.V.S. Hereditary Spastic Paraplegia: Clinical and Genetic Hallmarks / de Souza P.V.S., de Rezende Pinto W.B.V., de Rezende Batistella G.N. et al. // *Cerebellum.* - 2017. - V. 16, № 2. - P. 525-551.
187. Stevanin, G. Spastic Paraplegia 11 / Stevanin G., Durr A., Brice A. // *GeneReviews* [Internet]. - 2008. - Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.
188. Stevanin, G. Mutations in SPG11 are frequent in autosomal recessive spastic paraplegia with thin corpus callosum, cognitive decline and lower motor neuron

- degeneration / Stevanin G., Azzedine H., Denora P. et al. // *Brain*. - 2008. - V. 131 (Pt 3). - P. 772-784.
189. Sun, M. Targeted exome analysis identifies the genetic basis of disease in over 50% of patients with a wide range of ataxia-related phenotypes / Sun M., Johnson A.K., Nelakuditi V. et al. // *Genet Med*. - 2019. - V. 21, № 1. - P. 195-206.
190. Suspitsin, E. ATM mutation spectrum in Russian children with ataxia-telangiectasia / Suspitsin E., Sokolenko A., Bizin I. et al. // *Eur J Med Genet*. - 2019. pii: S1769-7212(18)30902-9.
191. Synofzik, M. Characterizing POLG ataxia: clinics, electrophysiology and imaging / Synofzik M., Srulijes K., Godau J. et al. // *Cerebellum*. - 2012. - V.11, № 4. - P. 1002-1011.
192. Synofzik, M. PNPLA6 mutations cause Boucher-Neuhauser and Gordon Holmes syndromes as part of a broad neurodegenerative spectrum / Synofzik M., Gonzalez M.A., Lourenco C.M. et al. // *Brain*. - 2014. - V. 137. - P. 69–77.
193. Synofzik, M. SYNE1 ataxia is a common recessive ataxia with major non-cerebellar features: a large multi-centre study / Synofzik M., Smets K., Mallaret M. et al. // *Brain*. - 2016. - V. 139 (Pt 5). - P. 1378–1393.
194. Tarnutzer, A.A. Boucher–Neuhauser syndrome: cerebellar degeneration, chorioretinal dystrophy and hypogonadotropic hypogonadism: two novel cases and a review of 40 cases from the literature / Tarnutzer A.A., Gerth-Kahlert C., Timmann D. et al. // *J Neurol*. - 2015. - V. 262. - P. 194–202.
195. Teive, H.A.G. Different Cerebellar Ataxia Phenotypes Associated with Mutations of the PNPLA6 Gene in Brazilian Patients with Recessive Ataxias / Teive H.A.G., Camargo C.H.F., Sato M.T. et al. // *Cerebellum*. - 2018. - V. 17, № 3. - P. 380-385.
196. Tojo, K. A new family of Boucher–Neuhauser syndrome: coexistence of Holmes type cerebellar atrophy, hypogonadotropic hypogonadism and retinochoroidal degeneration: case reports and review of literature / Tojo K., Ichinose M., Nakayama M. et al. // *Endocr J*. - 1995. - V. 42. - P. 367–376.
197. Tranchant, C. Movement disorders in mitochondrial diseases / Tranchant C., Anheim M. // *Rev Neurol (Paris)*. - 2016. - V. 172. - P. 524–529.

198. Travaglini, L. The impact of next-generation sequencing on the diagnosis of pediatric-onset hereditary spastic paraplegias: new genotype-phenotype correlations for rare HSP-related genes / Travaglini L., Aiello C., Stregapede F. et al. // *Neurogenetics*. - 2018. - V. 19, № 2. - P. 111-121.
199. Vankan, P. Prevalence gradients of Friedreich's ataxia and R1b haplotype in Europe co-localize, suggesting a common Palaeolithic origin in the Franco-Cantabrian ice age refuge / Vankan P. // *J Neurochem*. - 2013. - V. 126, Supplement 1. - P. 11–20.
200. Verhagen, M.M. Clinical spectrum of ataxia-telangiectasia in adulthood / Verhagen M.M., Abdo W.F., Willemsen M.A. et al. // *Neurology*. - 2009. - V. 73. - P. 430–437.
201. Walterfang M. Subcortical Volumetric Reductions in Adult Niemann-Pick Disease Type C: A Cross-Sectional Study / Walterfang M., Patenaude B., Abel L.A. // *Am. J Neurorad*. - 2013. - V. 34, № 7. - P. 1334-1340.
202. van de Warrenburg, B.P. EFNS/ENS Consensus on the diagnosis and management of chronic ataxias in adulthood / van de Warrenburg B.P., van Gaalen J., Boesch S. et al. // *Eur J Neurol*. - 2014. - V. 21, № 4. - P. 552-562.
203. van de Warrenburg, B.P. Clinical exome sequencing for cerebellar ataxia and spastic paraplegia uncovers novel gene-disease associations and unanticipated rare disorders / van de Warrenburg B.P., Schouten M.I., de Bot S.T. et al. // *Eur J Hum Genet*. - 2016. - V.24, № 10. - P. 1460-1466.
204. Weidemann, F. The cardiomyopathy in Friedreich ataxia - new biomarker for staging cardiac involvement / Weidemann F., Liu D., Hu K. et al. // *Int. J. Cardiol*. - 2015. - V. 194. - P. 50-57.
205. Wiethoff, S. Pure Cerebellar Ataxia with Homozygous Mutations in the PNPLA6 Gene / Wiethoff S., Bettencourt C., Paudel R. // *Cerebellum*. - 2017. - V. 16. - P. 262–267.
206. Wolf, N.I. Progressive cerebellar atrophy: hereditary ataxias and disorders with spinocerebellar degeneration / Wolf N.I., Koenig M. // *Handb Clin Neurol*. - 2013. - V. 113. - P. 1869–1878.

207. Xue, Y. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing / Xue Y., Ankala A., Wilcox W.R. et al. // *Genet Med.* - 2015. - V. 17, № 6. - P. 444–451
208. Yokoseki, A. Genotype-phenotype correlations in early onset ataxia with oculomotor apraxia and hypoalbuminaemia / Yokoseki A., Ishihara T., Koyama A. et al. // *Brain.* - 2011. - V. 134. - P. 1387–1399.
209. Yoshidaa, K. Idiopathic cerebellar ataxia (IDCA): Diagnostic criteria and clinical analyses of 63 Japanese patients / Yoshidaa K., Kuwabarab S., Nakamurac K. et al. // *J Neurol Sci.* - 2018. - V. 384. - P. 30–35.
210. Zaccheo, O. Neuropathy target esterase and its yeast homologue degrade phosphatidylcholine to glycerophosphocholine in living cells / Zaccheo O., Dinsdale D., Meacock P.A. et al. // *J Biol Chem.* - 2004. - V. 279. - P. 24024–24033.
211. Zeitlberger, A. Advances in the understanding of hereditary ataxia – implications for future patients // Zeitlberger A., Ging H., Nethisinghe S., Giunti P. // *Expert Opinion on Orphan Drugs.* - 2018. - V. 6, № 3. - P. 203-217.
212. Zheng, R. A novel PNPLA6 compound heterozygous mutation identified in a Chinese patient with Boucher-Neuhäuser syndrome / Zheng R., Zhao Y., Wu J. et al. // *Mol Med Rep.* - 2018. - V. 18, № 1. - P. 261-267.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

213. Ключников, С.А. Генетическая структура аутосомно-доминантных и аутосомно-рецессивных атаксий в российской популяции / Ключников С.А., Абрамычева Н.Ю., Ветчинова А.С., Нужный Е.П., Ершова М.В., Иллариошкин С.Н. // *Болезнь Паркинсона и расстройства движения: руководство для врачей по материалам IV Национального конгресса по болезни Паркинсона и расстройствам движений.* - 2017. - С. 258-262.

214. Фомичева, Е.И. Кардиомиопатия при атаксии Фридрейха: клинические проявления и диагностика осложнений / Фомичева Е.И., Мясников Р.П., Селивёрстов Ю.А., Дадали Е.Л., Коталевская Ю.Ю., Харлап М.С., Корецкий С.Н., Нужный Е.П., Мершина Е.А., Сеницын В.Е., Вернохаева А.Н., Базаева Е.В., Драпкина О.М., Бойцов С.А. // Российский кардиологический журнал. - 2017. - Т. 22, № 10. - С. 100-106.
215. Nuzhnyi, E.P. *FXN* and *ATXN2* methylation profile in Friedreich's ataxia and spinocerebellar ataxia type 2 / Nuzhnyi E.P., Abramychева N.Yu., Pogoda T.V., Klyushnikov S.A., Ershova M.V., Illarioshkin S.N., Fedotova E.Yu. // *Movement Disorders*. - 2018. - V. 33, Supplement 2. - S302.
216. Ключников, С.А. Идентификация случаев болезни Ниманна-Пика типа С в группе атаксий неясного генеза у взрослых // Ключников С.А., Прошлякова Т.Ю., Байдакова Г.В., Нужный Е.П., Николаева Н.С., Гончарова З.А., Фомина-Чертоусова Н.А., Дегтерева Е.В., Черникова В.В., Горшкова К.В., Артемова Н.С., Шперлинг Л.П., Антипова Л.Н., Циплугина О.Ю., Иванова И.Л., Чепкасова Л.В., Иллариошкин С.Н. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. - 2018. - Т. 12, № 4. - С. 37-46.
217. Нужный, Е.П. Ювенильная форма болезни Краббе: описание клинического случая / Нужный Е.П., Коновалов Р.Н., Руденская Г.Е., Захарова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // *Медицинская генетика*. - 2018. - Т. 17, № 12. - С. 59-63.
218. Seliverstov, Y. Diagnostic value of next generation sequencing ataxia panel as a part of multistep investigation approach in sporadic and autosomal recessive cerebellar ataxias in Russia / Seliverstov Y., Nuzhnyi E., Klyushnikov S., Abramychева N., Vetchinova A., Illarioshkin S. // *Neurology*. - 2019. - V. 92, Supplement 15. - P1.8-013.
219. Калашникова, Л.А. Нейросифилис с постепенно нарастающей мозжечковой атаксией и ишемическими инсультами // Калашникова Л.А., Добрынина Л.А., Легенько М.С., Древаль М.В., Нужный Е.П., Лосева О.К. // *Нервные болезни*. - 2019. - № 1. - С. 28-33.

220. Нужный, Е.П. Диагностика аутосомно-рецессивных мозжечковых атаксий с использованием технологии массового параллельного секвенирования / Нужный Е.П., Ключников С.А., Абрамычева Н.Ю., Ветчинова А.С., Селивёрстов Ю.А., Ершова М.В., Иллариошкин С.Н. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. - 2019. - Т. 119, № 5. - С. 195.
221. Nuzhnyi, E. Recessive ataxias associated with oculomotor apraxia in Russia / Nuzhnyi E., Klyushnikov S., Abramychева N., Vetchinova A., Illarioshkin S. // European Journal of Neurology. - 2019. - V. 26, Supplement 1. - P. 884.
222. Абрамычева, Н.Ю. Эпигенетика болезни Фридрейха: метилирование области экспансии (GAA)_n-повторов гена FXN / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Нужный Е.П., Николаева Н.С., Ключников С.А., Ершова М.В., Танас А.С., Иллариошкин С.Н. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2019. - Т. 74, № 2. - С. 80-87.
223. Нужный, Е.П. Сенситивная атаксия, невропатия, дизартрия и офтальмопарез (синдром SANDO): характеристика серии клинических наблюдений в России / Нужный Е.П., Ключников С.А., Селиверстов Ю.А., Крылова Т.Д., Цыганкова П.Г., Захарова Е.Ю., Касаткин Д.С., Спирин Н.Н., Абрамычева Н.Ю., Иллариошкин С.Н. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2019. - Т. 13, № 2. - С. 5-13.
224. Нужный, Е.П. Алгоритм диагностики аутосомно-рецессивных атаксий / Нужный Е.П., Абрамычева Н.Ю., Ключников С.А., Селивёрстов Ю.А., Ветчинова А.С., Погода Т.В., Ершова М.В., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2019. - Т.119. - принята в печать.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Шкала оценки и определения степени атаксии (SARA)

<p>1) Походка Обследуемого просят (1) пройти на безопасной дистанции параллельно стене, развернуться и пройти в обратном направлении и (2) пройти гуськом (с пятки на носок) без поддержки.</p> <p>0 - Норма, затруднений при ходьбе, повороте и ходьбе гуськом не испытывает (допускается один неверный шаг)</p> <p>1 - Некоторые затруднения, которые становятся видны только после 10 последовательных шагов гуськом</p> <p>2 - Явно видимые изменения, ходьба гуськом >10 шагов невозможна</p> <p>3 - Заметное пошатывание, затруднения при развороте, но может идти без поддержки</p> <p>4 - Выраженное пошатывание, иногда требуется поддержка (опирается на стену)</p> <p>5 - Значительно выраженное пошатывание, требуется постоянная опора на трость или небольшая поддержка с опорой на одну руку</p> <p>6 - Ходьба > 10 м только с серьезной поддержкой (с опорой на две специальные трости, или на коляске, или с сопровождением)</p> <p>7 - Ходьба < 10 м только с серьезной поддержкой (с опорой на две специальные трости, или на коляске, или с сопровождением)</p> <p>8 - Ходить не может, даже с поддержкой</p>	<p>2) Поза (положение стоя) Обследуемого просят постоять (1) в естественной позе, (2) поставив стопы параллельно вместе (большие пальцы касаются друг друга) и (3) друг за другом (обе стопы в одну линию, носок касается пятки другой стопы). Обследуемый без обуви, глаза открыты. Для каждой позы допускается по три попытки. Учитывается попытка с наилучшим результатом.</p> <p>0 - Норма, может стоять в позе гуськом (стопы друг за другом) в течение > 10 сек</p> <p>1 - Может стоять, поставив стопы параллельно и вместе без пошатывания, но не в позе гуськом в течение > 10 сек</p> <p>2 - Может стоять, поставив стопы вместе, в течение > 10 сек, но пошатываясь</p> <p>3 - Может стоять в течение > 10 сек без поддержки в естественной позе, но не в позе, поставив стопы вместе</p> <p>4 - Может стоять в течение > 10 сек в естественной позе, но только с периодической опорой</p> <p>5 - Может стоять в течение > 10 сек в естественной позе, но только с постоянной опорой на одну руку</p> <p>6 - Не может стоять в течение > 10 сек, даже с постоянной опорой на одну руку</p>
<p>Результат оценки (баллы)</p>	<p>Результат оценки (баллы)</p>
<p>3) Положение сидя Обследуемого просят присесть на смотровой стол (кушетку), сидеть без опоры на стопы, глаза открыты и руки вытянуты вперед.</p> <p>0 - Норма, затруднений в положении сидя не испытывает в течение >10 сек</p> <p>1 - Некоторые затруднения, иногда пошатывается</p> <p>2 - Постоянно пошатывается, но может сидеть > 10 сек без поддержки (опоры)</p> <p>3 - Может сидеть > 10 сек только с периодической поддержкой (опорой)</p> <p>4 - Не может сидеть > 10 сек без постоянной поддержки (опоры)</p>	<p>4) Нарушение речи Речь оценивают во время обычного разговора.</p> <p>0 - Норма</p> <p>1 - Создается впечатление о возможном нарушении речи</p> <p>2 - Речь нарушена, но легко понимается</p> <p>3 - Сложно разобрать некоторые слова</p> <p>4 - Сложно разобрать многие слова</p> <p>5 - Понятны только некоторые слова</p> <p>6 - Речь неразборчива / анартрия (утрата членораздельной речи)</p>
<p>Результат оценки (баллы)</p>	<p>Результат оценки (баллы)</p>

<p>5) Пальцевая координация На каждой стороне оценивается отдельно Обследуемый сидит в комфортном положении. При необходимости допускается опора на стопы и туловище. Специалист сидит перед обследуемым и выполняет 5 последовательных внезапных и быстрых точечных движений в непредсказуемых направлениях во фронтальной плоскости примерно на расстоянии 50% от досягаемости обследуемым. Движения выполняются с амплитудой 30 см и частотой 1 движение каждые 2 сек. Обследуемого просят следить за движениями своим указательным пальцем с максимально возможной частотой и точностью. Оценивается средний результат последних 3 движений.</p> <p>0 - Расстройство координации (дисметрия) отсутствует 1 - Дисметрия, под/над мишенью на < 5 см 2 - Дисметрия, под/над мишенью на < 15 см 3 - Дисметрия, под/над мишенью на > 15 см 4 - Не может выполнить 5 точечных движений</p>			<p>6) Пальценосовая проба На каждой стороне оценивается отдельно Обследуемый сидит в комфортном положении. При необходимости допускается опора на стопы и туловище. Обследуемого просят выполнять повторяющиеся точечные движения от кончика своего носа до указательного пальца специалиста, который расположен перед обследуемым на расстоянии 90% от досягаемости обследуемого. Движения выполняются с умеренной скоростью. Оценивается среднее из всех движений с учетом амплитуды динамического (интенционного) тремора.</p> <p>0 - Тремор отсутствует 1 - Тремор с амплитудой < 2 см 2 - Тремор с амплитудой < 5 см 3 - Тремор с амплитудой > 5 см 4 - Не может выполнить 5 точечных движений</p>		
Результат оценки (баллы)	Справа	Слева	Результат оценки (баллы)	Справа	Слева
среднее с двух сторон (П+Л)/2			среднее с двух сторон (П+Л)/2		
<p>7) Быстрые чередующиеся движения руками На каждой стороне оценивается отдельно Обследуемый сидит в комфортном положении. При необходимости допускается опора на стопы и туловище. Обследуемого просят выполнить 10 циклов повторяющихся чередующих движений пронации и супинации, дотрагиваясь до бедер, с максимально возможной скоростью и точностью. Специалист показывает движения со скоростью примерно 10 циклов за 7 сек. Необходимо зафиксировать точное время для выполнения движений.</p> <p>0 - Норма, неравномерности нет (выполняет за <10 сек) 1 - Несколько неравномерные (выполняет за <10 сек) 2 - Явно неравномерные, отдельные движения сложно выполнить или заметны перерывы, но выполняет за <10 сек 3 - Очень неравномерные, отдельные движения сложно выполнить или заметны перерывы, выполняет за >10 сек 4 - Не может выполнить 10 циклов</p>			<p>8) Скользящие движения пяткой На каждой стороне оценивается отдельно Обследуемый лежит на смотровом столе (кушетке), не глядя на свои ноги. Обследуемого просят поднять одну ногу, поставить пятку на колено другой ноги, выполнять скользящее движение вниз вдоль голени к лодыжке и положить ногу обратно на кушетку. Задание выполняется 3 раза. Скользящие движения вниз должны выполняться в течение 1 сек. Если обследуемый выполняет скользящие движения без контакта с голенью все три раза – оценка 4.</p> <p>0 - Норма 1 - Небольшое нарушение, контакт с голенью сохранен 2 - Заметное нарушение, отрывает пятку от голени до 3 раз за 3 цикла 3 - Выраженное нарушение, отрывает пятку от голени 4 или более раз за 3 цикла 4 - Не может выполнить задание</p>		
Результат оценки (баллы)	Справа	Слева	Результат оценки (баллы)	Справа	Слева
среднее с двух сторон (П+Л)/2			среднее с двух сторон (П+Л)/2		

Приложение 2

Международная объединённая шкала оценки атаксии (ICARS)

I. НАРУШЕНИЕ РАВНОВЕСИЯ И ХОДЬБЫ		БАЛЛ:
1: ВОЗМОЖНОСТЬ ХОДЬБЫ	<p>0: Норма</p> <p>1: Почти нормальная обычная ходьба, но <u>невозможна</u> <u>тандемная ходьба</u></p> <p>2: Передвигается <u>без поддержки</u>, но явно заметны нарушения ходьбы</p> <p>3: Передвигается <u>без поддержки</u>, но со значительной шаткостью, трудностями при поворотах</p> <p>4: Полностью самостоятельная ходьба невозможна, эпизодически <u>придерживается за стену</u> при ходьбе на расстоянии 10 метров</p> <p>5: Ходьба возможна только <u>с односторонней опорой</u></p> <p>6: Ходьба возможна только <u>с двусторонней опорой или с опорой на ходунки</u></p> <p>7: Ходьба возможна только <u>с посторонней помощью</u></p> <p>8: <u>Не может ходить</u> даже с посторонней помощью (передвигается в коляске)</p>	
2: СКОРОСТЬ ХОДЬБЫ	<p>0: Норма</p> <p>1: <u>Слегка</u> снижена</p> <p>2: <u>Значительно</u> снижена</p> <p>3: <u>Крайне</u> снижена</p> <p>4: Не может ходить без опоры</p>	
3: ПОЛОЖЕНИЕ СТОЯ С ОТКРЫТЫМИ ГЛАЗАМИ	<p>0: Норма, может стоять <u>на одной ноге</u> более 10 секунд</p> <p>1: Может стоять, <u>поставив ноги вместе</u>, но <u>не может</u> стоять <u>на одной ноге</u> более 10 секунд</p> <p>2: Может стоять, <u>поставив ноги вместе</u>, но <u>не может</u> стоять, <u>поставив пятку одной ноги перед носком другой ноги</u></p> <p>3: <u>Не может</u> стоять, <u>поставив ноги вместе</u>, но может стоять в естественной позиции без поддержки, уверенно, или слегка пошатываясь</p> <p>4: Может стоять <u>в естественной позиции без поддержки</u>, значительно пошатываясь и удерживая баланс</p> <p>5: <u>Не может</u> стоять в естественной позиции, не придерживаясь руками</p> <p>6: <u>Не может</u> стоять, даже с опорой на руки</p>	
4: ШИРИНА ПОСТАНОВКИ НОГ В ЕСТЕСТВЕННОЙ ПОЗИЦИИ БЕЗ ОПОРЫ С ОТКРЫТЫМИ ГЛАЗАМИ	<p>0: Норма ≤ 10 см</p> <p>1: Слегка увеличена ≥ 10 см</p> <p>2: Явно увеличена $25 \text{ см} < \text{ширина} < 35 \text{ см}$</p> <p>3: Значительно увеличена $> 35 \text{ см}$</p> <p>4: Не может стоять в естественной позиции</p>	
5: ПОШАТЫВАНИЕ В ПОЛОЖЕНИИ ПОСТАВИВ НОГИ ВМЕСТЕ С ОТКРЫТЫМИ ГЛАЗАМИ	<p>0: Норма</p> <p>1: <u>Слегка пошатывается</u></p> <p>2: <u>Умеренно пошатывается</u> (амплитуда < 10 см на уровне головы)</p> <p>3: <u>Значительно пошатывается</u> (амплитуда > 10 см на уровне головы), высокий риск падения</p> <p>4: Сразу <u>падает</u></p>	

6: ПОШАТЫВАНИЕ В ПОЛОЖЕНИИ ПОСТАВИВ НОГИ ВМЕСТЕ С ЗАКРЫТЫМИ ГЛАЗАМИ	0: Норма 1: <u>Слегка пошатывается</u> 2: <u>Умеренно пошатывается</u> (амплитуда <10 см на уровне головы) 3: <u>Значительно пошатывается</u> (амплитуда >10 см на уровне головы), высокий риск падения 4: Сразу падает	
7: ОЦЕНКА В ПОЛОЖЕНИИ СИДЯ	0: Норма 1: Туловище <u>слегка покачивается</u> 2: Туловище <u>умеренно покачивается</u> 3: <u>Значительное нарушение равновесия</u> 4: <u>Не может сидеть</u>	
<u>БАЛЛ ОЦЕНКИ РАВНОВЕСИЯ И ХОДЬБЫ (СТАТИКА)</u>		<u> </u> /34

<u>II. ОЦЕНКА ДВИЖЕНИЯ</u>		БАЛЛ:
8: ПЯТОЧНО—КОЛЕННАЯ ПРОБА Нарушение координации движений и интенционный тремор.	0: Норма 1: Опускает пятку по прямой линии, движение несколько прерывистое, но без рывков, или выполняет медленно 2: Опускает пятку с рывками <u>по линии движения</u> 3: Опускает пятку с рывками <u>в стороны от линии движения</u> 4: Опускает пятку с <u>очень резкими рывками в стороны от линии движения</u> или выполнение задания невозможно	П: Л:
9: ТРЕМОР ДЕЙСТВИЯ В ПЯТОЧНО-КОЛЕННОЙ ПРОБЕ	0: Норма 1: Тремор прекращается, как только пятка касается колена 2: Тремор прекращается менее чем через 10 секунд после того, как пятка касается колена 3: Тремор прекращается более чем через 10 секунд после того, как пятка касается колена 4: Тремор не прекращается или выполнение задания невозможно	П: Л:
10: ПАЛЬЦЕ-НОСОВАЯ ПРОБА Нарушение координации движений и дисметрия	0: Норма 1: Волнообразная траектория без нарушения целостности движения 2: Движение разделено более чем на 2 фазы и/или умеренная дисметрия при касании носа 3: Движение разделено более чем на 2 фазы и/или выраженная дисметрия при касании носа 4: Пациент не может коснуться носа из-за дисметрии	П: Л:
11: ПАЛЬЦЕ-НОСОВАЯ ПРОБА Интенционный тремор	0: Норма 1: Небольшое отклонение во время движения 2: Умеренный тремор с амплитудой <10 см 3: Тремор с амплитудой от 10 до 40 см 4: Выраженный тремор с амплитудой >40 см	П: Л:

12: ПАЛЬЦЕ-ПАЛЬЦЕВАЯ ПРОБА Тремор действия и/или нестабильность	0: Норма 1: Небольшая нестабильность 2: Умеренные отклонения с амплитудой <10 см 3: Значительные отклонения с амплитудой от 10 до 40 см 4: Прерывистые движения с амплитудой >40 см	П: Л:
13: ПРОНАЦИЯ-СУПИНАЦИЯ Чередование движений	0: Норма 1: Небольшая нерегулярность и замедленность движений 2: Явная нерегулярность и замедленность движений, но без смещения локтя 3: Выраженная нерегулярность и замедленность движений со смещением локтя 4: Движения хаотичны или невозможны	П: Л:
14: РИСОВАНИЕ спирали Архимедова по предварительно нарисованному шаблону	0: Норма 1: Нарушение координации, линия незначительно выходит за границы шаблона, без гиперметрии 2: Линия полностью за границами шаблона, но без повторного пересечения и/или гиперметрии 3: Выраженные нарушения из-за гиперметрии и нарушения координации 4: Рисование крайне нарушено или невозможно	П: Л:
<u>БАЛЛ ОЦЕНКИ ДВИЖЕНИЙ (координации движений):</u>		 _____/52

<u>III: НАРУШЕНИЕ РЕЧИ</u>		БАЛЛ:
15: ДИЗАРТРИЯ: Беглость речи	0: Норма 1: Незначительное снижение беглости речи 2: Умеренное снижение беглости речи 3: Значительно замедленная речь, дизартрия 4: Речь отсутствует	
16: ДИЗАРТРИЯ: Четкость речи	0: Норма 1: Незначительная нечеткость произношения 2: Явная нечеткость произношения, большая часть слов разборчивы 3: Значительная нечеткость произношения, речь неразборчива 4: Речь отсутствует	
<u>БАЛЛ ОЦЕНКИ ДИЗАРТРИИ:</u>		_____/8
<u>IV: ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ</u>		БАЛЛ:

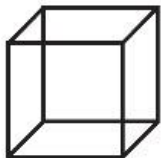
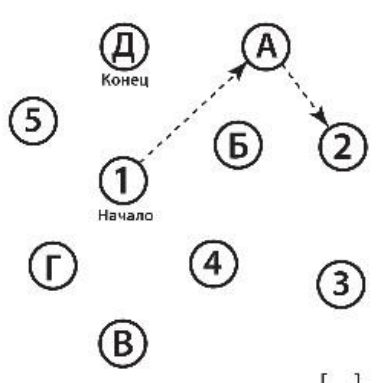

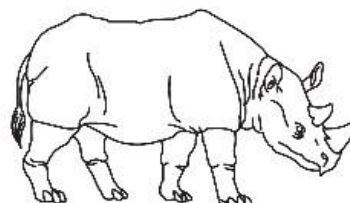
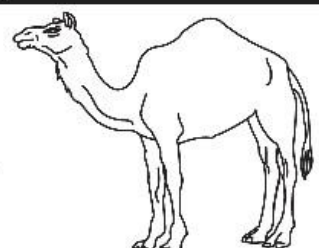
17: ВЗОР-ИНДУЦИРОВАННЫЙ НИСТАГМ	0: Норма 1: Затухающий 2: Постоянный, но умеренный 3: Постоянный, выраженный	
18: НАРУШЕНИЯ СЛЕДЯЩИХ ДВИЖЕНИЙ ГЛАЗ	0: Норма 1: Слегка прерывистое движение 2: Значительно прерывистое движение	
19: ДИСМЕТРИЯ САККАД	0: Норма 1: явная двусторонняя гипометрия или гиперметрия саккад	
<u>БАЛЛ ОЦЕНКИ ДВИЖЕНИЙ ГЛАЗ:</u>		<u> </u> /8
<u>СУММАРНЫЙ БАЛЛ ОЦЕНКИ АТАКСИИ:</u>		<u> </u> /100

Приложение 3

Монреальская шкала оценки когнитивных функций (МоСА)

Монреальская шкала оценки когнитивных функций

ИМЯ: _____
 Образование: _____ Дата рождения: _____
 Пол: _____ ДАТА: _____

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

Приложение 4

Список генов оригинальной MPS-панели

Атаксия (135):

ABCB7, ABHD12, ADCK3, AFG3L2, AHI1, ALAS2, ALG6, ANO10, APTX, ARL13B, ARSA, ATCAY, ATM, ATP1A2, BFPP (BPPR; GPR56; TM7LN4; TM7XN1; ADGRG1), BTBD, C10orf2, CA8, CACNB4, CAMTA1, CC2D2A, CCDC88C, CEP290, CERS1, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CLN9, COX9, CP, CRAT, CSTB, CTSD, CTSF, CYP27A1, DARS2, DDB2, DLAT, DNAJC19, DNAJC5, DNMT1, EEF2, EIF2B1, EIF2B2, EIF2B4, EIF2B5, ELOVL4, ELOVL5, EPM2A (MELF), ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FGF14, FLVCR1, FXN, GALC, GCDH, GCLC, GLB1, GOSR2, GPR56, HEXA, HEXB, HPRT1, INPP5E, ITPR1, KCNC1, KCNC3, KCND3, KCNJ10, KCTD7, KIAA0226, L2HGDH, MARS2, MFSD8, MRE11A, MT-CO2, MTPAP, MTPP, NEU1, NHLRC1, NOL3, NOP56, NPC1, NPC2, NPHP1, OPA1, OPA3, PAX6, PDHX, PDSS1, PDSS2, PDYN, PEX10, PEX7, PHYH, PLEKHG4, PMM2, POLG1, POLH, PPT1, PRICKLE1, PRICKLE2, PRKCG, RARS2, RELN, RPGRIP1L, SACS, SCARB2, SETX, SIL1, SLC17A5, SLC1A3, SLC5A2, SPTBN2, SYNE1, TDP1, TGM6, TMEM216, TMEM240, TMEM67, TPP1, TSEN2, TSEN34, TSEN54, TTBK2, TTPA, VLDLR, VRK1, WFS1, XPA, XPC, ZNF592

Болезнь Альцгеймера (10):

APP, BLMH, HFE, MPO, NOS3, PACIP1, PLA2, PSEN1, PSEN2, SORL1

Болезнь Вильсона (1):

ATP7B

Болезнь мотонейрона (20):

ALS2 (ALSIN), ANG, DAD, ERBB4, FIG4, FUS, HNRNPA1, MATR3, OPTN, PFN1, PRPH, RBM45, SMN1, SOD1, TAF15, TRPM7, TUBA4A, UBQLN2, VAPB, VRK1

Болезнь Фара (3):

PDGFB, PDGFRB, SLC20A2

Дистония (16):

ANO3, ATP1A3, CIZ1, GCH1, GNAL, MR1, PRKRA, PRRT2, SGCE, SLC2A1, SPR, TAF1, TH, THAP1, TOR1A, TUBB4A

Лейкоэнцефалопатии (22):

ABCD1, ADAR, AIMP1, ASPA, CLCN2, CSF1R, FAM126A, GFAP, IFIH1, LMNB1, NOTCH3, POLR3A, POLR3B, PSAP, RARS, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, SAMHD1, SLC16A2, SUMF1, TREX1

Лобно-височная деменция (12):

APOE, CHCHD10, CHMP2B, DCTN1, GRN, NEFH, SIGMAR1, SQSTM1, TARDBP, TMEM106B, TREM2, VCP

Нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге (6):

C19ORF12, COASY, FTL, PANK2, PLA2G6, WDR45

Параплегия (44):

ACP33, AMPD2, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, AP5Z1, ARL6IP, ATLI, B4FALNT1, BSCL2, C12ORG65, C19ORF12, CPT1C, CYP2U1, CYP7B1, DDHD1, DDHD2, ENTPD1, ERLIN2, FA2H, GBA2, GJC2, HSPD1, KIAA0196, KIF1A, KIF5A, LICAM, NIPA1, NT5C2 (GMP; NT5B; PNT5), SPG45 (SPG65), PGN (CAR; CMAR; SPG5C; SPG7), PLP1, PNPLA6, REEP1, REEP2, RTN2, SLC33A1, SPAST, SPG11, TECPR2, TFG, VPS37A, ZFYVE26, ZFYVE27

Паркинсонизм (21):

ADH1C, ATP13A2, CHCHD2, DJ1, DNAJC6, EIF2B3, EIF4G1, FBXO7, GBA, GIGYF2, HTRA2, LRRK2, MAPT, NPC, PINK1, PARK2, RAB39B, SNCA, SYNJ1, UCHL1, VPS35

Прионное заболевание (1):

PRNP

Тремор (4):

DRD3, LINGO1, LINGO2, SLC1A2

Хорея (5):

ATN1, JPH3, NKX2-1, VPS13A, XK (NA; NAC; X1k; XKR1; KX)

Приложение 5

Использованные праймеры для верификации мутаций

Ген	Мутация	Прямой праймер 5'→3' Обратный праймер 5'→3'
<i>SETX</i>	p.R326fs	TGCTGTTCAATGAGAAGGGCT GTTGGGTTGCTACTCACCAGA
<i>SETX</i>	p.N2010S	TCACAAGCCACAGATTCAAGT AAGTGGATGATAAAGTAAGGCTCAG
<i>SETX</i>	p.S1613fs	CACCAAATGGAACCTTTGCAACC GGAGGTGATCCAACAGCACG
<i>SETX</i>	p.R2414L	TCTCTGGCATTAAGCTGGGC CTGTGTCTCGGGCTCACTG
<i>POLG</i>	p.W748S	CCTTGCCACCCGACTTTCAT CCCAGCTGATGACGACAGTT
<i>POLG</i>	p.A143V	CCCACCAGAAAGTGAGTCCC AAATGCAACTGAAGCGCCTG
<i>POLG</i>	p.L311P	AGCCAGTCCCAGGATGAGAT GTGTTGAAGGCTGTGTGCTG
<i>POLG</i>	p.R579W	ACCCAGACTCTTGAACCCAA GGTCCTGGCTAAAGCATCCC
<i>SPG11</i>	p.M245fs	AAAGGTAGCCAGTGGTCAGTTA TATAATGGGGGCTTGCCTCAG
<i>SPG11</i>	p.Q811X	TCTCCAAGGAGAATGCAGGC TTCCCAGCACTACCTTATTTGAT
<i>SPG11</i>	p.P2390fs	CAGCAACCTGTCTGAGGGTC CTCCAGCACCTCTCCTCTA
<i>PNPLA6</i>	c.3397+1G>A	TACGTTAACAACGTCCCAGGT CTTGGGCATGTGTCCCGTC
<i>PNPLA6</i>	p.G964S	TTGTTCCCTTAGCAGTGCGGG CGGACAGCTGGGGATCATAG
<i>PNPLA6</i>	p.D616fs	AGAACCCCATCCCTCAACCT GCATTCACCACTCCCTGGAT
<i>PNPLA6</i>	p.R1020C	TGCTTGCTCACCCCTATTGA GTGTTAACAACGTCCCAGAAGC
<i>PLA2G6</i>	p.G340R	GGTGGAAAAGGTACCACAGC ATGGGATGGGAGGCAGTCTA
<i>PLA2G6</i>	p.Y790X	ATGGACTCAGAGGTGCCTGG GGTCTGCTCTGTTCCCCAAG

БЛАГОДАРНОСТЬ

Автор выражает особую благодарность и признательность:
научному руководителю чл.-корр. РАН С.Н. Иллариошкину,

сотрудникам ФГБНУ НЦН: к.б.н. Н.Ю. Абрамычевой, к.б.н. А.С. Ветчиновой,
к.б.н. Т.В. Погоде, к.м.н. С.А. Ключникову, д.м.н. Е.Ю. Федотовой, к.м.н. Ю.А.
Селивёрстову, д.м.н. М.Н. Захаровой, к.м.н. М.В. Ершовой, к.м.н. Р.Н. Коновалову,
к.м.н. Д.А. Гришиной, врачам-неврологам М.Ю. Краснову и Э.В. Павлову,

сотрудникам других организаций: д.м.н. Е.Ю. Захаровой, к.б.н. П.Г. Цыганковой,
Т.Д. Крыловой (ФГБНУ МГНЦ), к.б.н. Я.И. Алексею, В.В. Устиновой (компания
«Синтол»).