

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.57=008

Назаров В.Д.¹, Лапин С.В.¹, Мельник Е.А.², Руденко Д.И.², Макшаков Г.С.¹, Довыденко К.С.¹, Киселев В.Н.³, Хальчицкий С.Е.⁴, Ларионова В.И.⁴, Виссарионов С.В.⁴, Баиндурашвили А.Г.⁴, Эмануэль В.Л.¹, Скоромец А.А.¹

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ ГЕНА *PMP22* У ПАЦИЕНТОВ С МОТОРНО-СЕНСОРНОЙ ПОЛИНЕВРОПАТИЕЙ

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, улица Льва Толстого 6-8, 197022 Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2», Учебный пер., 5, 194354, Санкт-Петербург, Россия

³ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, улица академика Лебедева, 4/2, 194044, Санкт-Петербург, Россия

⁴Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский детский ортопедический институт имени Г.И. Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, улица Парковая, 64, 197022, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Изменение количества копий гена *PMP22* является самой распространенной генетической абберацией, встречающейся при наследственных полиневропатиях. Дупликация гена *PMP22* ведет к развитию болезни Шарко-Мари-Тута 1А типа, а его делеция – к невропатии со склонностью к параличу от сдавления. Целью данной работы явилось исследование количества копий гена *PMP22* у пациентов с симптомами моторно-сенсорной полиневропатии с помощью алгоритма относительного подсчета экспрессии генов (*ddCt*).

Материалы и методы. Для исследования количества копий гена *PMP22* у пациентов с подозрением на болезнь Шарко-Мари-Тута были сформированы две группы: первая группа включала в себя 70 пациентов с симптомами моторно-сенсорной или сенсорной полиневропатии, вторая группа – 50 доноров крови без неврологических заболеваний. В группе пациентов – доноров крови были определены референтные значения уровня *ddCt*, соответствующие нормальному количеству копий гена *PMP22*.

Результаты. Из 70 обследованных пациентов у 18 была выявлена дупликация гена *PMP22* (25,7%) и у одного пациента была выявлена делеция гена *PMP22* (1,5%). У 12 пациентов с дупликацией гена *PMP22* и 1 пациента с делецией гена *PMP22* был проведен подробный анализ клинических и инструментальных данных.

Обсуждение. У пациентов с дупликацией гена *PMP22* болезнь Шарко-Мари-Тута 1А типа была представлена классической формой, хотя симптомы манифестации болезни были неспецифичны и возраст дебюта болезни сильно варьировал. Основными симптомами манифестации были частые спотыкания и деформация стопы. У 34% пациентов мутация возникла *de novo*. У больного с делецией гена *PMP22* болезнь проявлялась стертыми симптомами сенсорной полиневропатии.

Вывод. Исследование копиюности гена *PMP22* с помощью алгоритма *ddCt* должно быть одним из первых лабораторных тестов, выполняемых у больных с симптомами моторно-сенсорной полиневропатии, а также деформацией стопы и неясными формами сенсорной неметаболической полиневропатии.

Ключевые слова: дупликация, делеция, моторно-сенсорная полиневропатия, болезнь Шарко-Мари-Тута

Для цитирования: Назаров В.Д., Лапин С.В., Мельник Е.А., Руденко Д.И., Макшаков Г.С., Довыденко К.С., Киселев В.Н., Хальчицкий С.Е., Ларионова В.И., Виссарионов С.В., Баиндурашвили А.Г., Эмануэль В.Л., Скоромец А.А. Клиническая значимость исследования количества копий гена *PMP22* у пациентов с моторно-сенсорной полиневропатией. *Неврологический журнал* 2018; 23 (3): 113–120 (Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9545-2018-23-3-113-120>.

Для корреспонденции: Назаров Владимир Дмитриевич, младший научный сотрудник лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний, НМЦ по Молекулярной Медицине МЗ РФ ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Льва Толстого 6–8, корпус 28; nazarov19932@mail.ru

Nazarov V.D.¹, Lapin S.V.¹, Melnik E.A.², Rudenko D.I.², Makshakov G.S.¹, Dovydenko K.S.¹, Kiselev V.N.³, Khalchitsky S.E.⁴, Larionova V.I.⁴, Vissarionov S.V.⁴, Baindurashvili A.G.⁴, Emanuel V.L.¹, Skoromets A.A.¹

COPY NUMBER VARIATION OF *PMP22* GENE IN PATIENTS WITH MOTOR AND SENSORY POLYNEUROPATHY

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, 6/8, Lva Tolstogo street, Saint-Petersburg, Russia

²Saint-Petersburg's State Budgetary Hospital «City Hospital № 2», Uchebnyi alley, Saint-Petersburg, Russia

³The Federal State Budgetary Institute «The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine» The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, 4/2, Academic Lebedeva str, St. Petersburg, Russia

⁴Federal State Budgetary Institution the Turner scientific research institute for children's orthopedics under the Ministry of Health of the Russian Federation, 64, Parkovaya str., St. Petersburg, Russia

Introduction. Copy number variation of PMP22 gene is the most common genetic aberration in hereditary polyneuropathies. Patients with duplication of PMP22 gene develop Charcot-Marie-Tooth disease 1A type and deletion of PMP22 gene leads to hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. In case of clinical suspicion of hereditary polyneuropathy investigation of PMP22 copy number should be among the first performed laboratory studies. Real-time quantitative PCR with comparative threshold cycle method (ddCt method) had high sensitivity and accuracy and allowed simultaneous detection of duplication and deletion of target genes. We have implemented ddCt method for detection of PMP22 copy number in patients with neuropathies.

Materials and methods. Copy number of PMP22 gene were determined in two group of patients: first group consisted of 70 patients with symptoms of motor and sensory polyneuropathy and sensory polyneuropathy, second group consisted of 50 blood donors without neurological diseases. Reference values of ddCt level were determined in the group of blood donors.

Results. Duplications of PMP22 gene were confirmed in 18 patients (25,7%) of the first group, PMP22 deletion was found in one patient (1,5%). Clinical and instrumental data were available in 12 patients with PMP22 duplication and in one patient with PMP22 deletion. **Discussion.** Patients with duplication of PMP22 gene was characterized by classic phenotype of Charcot-Marie-Tooth disease 1A type, although first symptoms were unspecific and age of disease manifestation varied greatly. Patient with deletion of PMP22 gene manifested with symptoms of sensory polyneuropathy.

Conclusion. Determination of PMP22 copy number with ddCt algorithm should be included in the laboratory assessment in patients with symptoms of motor and sensory polyneuropathies.

Key words: duplication, deletion, motor and sensory polyneuropathy, Charcot-Marie-Tooth disease.

For citation: Nazarov V.D., Lapin S.V., Melnik E.A., Rudenko D.I., Makshakov G.S., Dovydenko K.S., Kiselev V.N., Khalchitsky S.E., Larionova V.I., Vissarionov S.V., Baindurashvili A.G., Emanuel V.L., Skoromets A.A. Copy number variation of PMP22 gene in patients with motor and sensory polyneuropathy. *Neurologicheskii Zhurnal (Neurological Journal)* 2018; 23 (3): 113–120 (Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9545-2018-23-3-113-120>.

For correspondence: Nazarov V.D., Laboratory of Autoimmune Diagnostics, Center for Molecular Medicine of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Leo Tolstoy street 6-8, building 28, Russia, e-mail: nazarov19932@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The grant of the Russian Science Foundation (№16-15-10203).

Information about authors:

Lapin S.V. – <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>,
Melnik E.A. – <https://orcid.org/0000-0001-5436-836>,
Rudenko D.I. – <https://orcid.org/0000-0001-5101-1007>,
Makshakov G.S. – <https://orcid.org/0000-0001-6831-0441>,
Dovydenko K.S. – <https://orcid.org/0000-0002-8190-7223>,
Kiselev V.N. – <https://orcid.org/0000-0002-6752-3311>,
Khalchitsky S.E. – <https://orcid.org/0000-0003-1467-8739>,
Larionova V.I. – <https://orcid.org/0000-0002-3128-8102>,
Vissarionov S.V. – <https://orcid.org/0000-0003-4235-5048>,
Baindurashvili A.G. – <https://orcid.org/0000-0001-8123-6944>,
Emanuel V.L. – <https://orcid.org/0000-0002-2079-0439>,
Skoromets A.A. – <https://orcid.org/0000-0002-5884-3110>

Received 29.01.18
Accepted 05.04.18

Причинами развития моторно-сенсорной полиневропатии (МСП) может быть ряд заболеваний, характеризующихся тем или иным механизмом повреждения миелиновой оболочки аксона или тела нейрона. Некоторые МСП развиваются в результате мутаций генов, отвечающих за нормальное функционирование нервов. Болезнь Шарко-Мари-Тута (БШМТ) представляет собой генетически и клинически гетерогенную группу наследственных моторно-сенсорных полиневропатий (НМСП), чаще всего проявляющихся прогрессирующей слабостью и атрофией мышц дистальных отделов конечностей, сенсорными расстройствами, снижением сухожильных рефлексов и ортопедическими нарушениями. Распространенность БШМТ в популяции составляет приблизительно 1 на 2500 человек, что делает ее од-

ним из самых частых генетических синдромов. На данный момент обнаружено более 45 генов, мутации в которых приводят к развитию БШМТ [1].

Более чем в половине случаев причиной БШМТ является реципрокная гетерозиготная дупликация региона ДНК на хромосоме 17p11.2, в который входит ген *PMP22*, кодирующий периферический миелиновый белок 22 (ПМБ22). Данный вид мутации характерен для 95% больных с БШМТ 1А типа [2]. В основе данной геномной aberrации лежит рекуррентная неаллельная гомологичная рекомбинация (НГР), возникающая во время мейоза, которая происходит между двумя практически идентичными (90-95%) сегментарными дупликационными участками (СДУ), лежащими дистально (теломерно) и проксимально (центромерно) от гена *PMP22*. Размер

дубликации интервала при данном механизме мутагенеза на хромосоме 17p11.2 составляет 1.5 Мб [3].

Аллельным вариантом БШМТ 1А типа является невропатия со склонностью к параличу от сдавления (НСПС), причиной которой у 85-90% пациентов является гетерозиготная делеция региона ДНК на хромосоме 17p11.2, в который входит ген *PMP22* [4]. Типичным клиническим проявлением НППС является повторяющийся временный безболевого паралич с фокальным нарушением моторной и чувствительной функции зоны, иннервируемой одним нервом, а также локальные нарушения проведения по данным электронейромиографии (ЭНМГ). Нужно отметить, что 56% пациентов с НСПС имеет атипичные клинические проявления, такие как генерализованная слабость и мышечные крампи, хроническая невропатия локтевого нерва, синдром запястного канала, хроническая сенсорная полиневропатия, фенотип БШМТ, хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия и синдром Гийена-Барре. Распространенность НППС составляет от 7.3:100000 до 16:100000, хотя в связи с гетерогенностью проявлений некоторые исследователи считают, что данное заболевание имеет большую распространенность. В связи с реципрокностью дубликации/делеции гена *PMP22*, механизмы генетической абберации, лежащие в основе делеции, идентичны описанным ранее механизмам дубликации [5].

В соответствии с международными рекомендациями, при скорости распространения электрического импульса моторных нейронов верхних конечностей менее 38 м/с, а также при наличии клинических симптомов, характерных для БШМТ, первичным генетическим лабораторным тестом должно быть определение дубликации гена *PMP22* [9].

Метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием алгоритма относительного подсчета экспрессии генов (сравнительный ddCt анализ) показал 100% сходимость результатов детекции дубликации гена *PMP22* при ее сравнении с другими генетическими методами [10]. ПЦР-РВ является сравнительно простым и быстрым методом определения количества копий гена и позволяет одновременно детектировать делецию и дубликацию гена *PMP22*. Учитывая гетерогенность проявлений НППС, возможность одновременного детектирования делеции гена *PMP22* является значимым преимуществом ПЦР-РВ.

Целью работы является клиническая значимость исследования количества копий гена *PMP22* у пациентов с симптомами МСП с помощью метода ПЦР-РВ с использованием алгоритма ddCt.

Материалы и методы

В исследовании участвовало 70 пациентов в возрасте от 6 до 70 лет с симптомами моторно-сенсорной и сенсорной полиневропатии (группа МСП), такими как прогрессирующая симметричная слабость в дистальных отделах конечностей, атрофия мышц предплечья и кисти, перонеальной группы мышц, симметричное нарушение чувствительности дистальных отделов конечностей, деформации стоп.

Критерием исключения служило наличие у пациента эндокринных заболеваний, выявляемых по данным анамнеза, клинических и лабораторных исследований. Всем пациентам был проведен стандартный неврологический осмотр, выполнена ЭНМГ. Группа контроля включала 50 доноров крови в возрасте от 18 до 40 лет, которые никогда ранее не госпитализировались с неврологической симптоматикой и не имеют родственников, страдающих неврологическими заболеваниями. Все пациенты подписали информированное согласие.

Геномная ДНК, использовавшаяся для генетического анализа, была выделена из лейкоцитов периферической крови с помощью стандартного протокола [11].

Для определения копийности гена *PMP22* использовалась методика ddCt ПЦР-РВ. В основе данного подхода лежит сравнение скорости накопления продукта ПЦР реакции гена *PMP22* и референтного гена *RNaseP*. Нуклеотидные последовательности праймеров, концентрации компонентов ПЦР смеси, а также условия проведения реакции соответствовали стандартным международным протоколам [12]. В каждую постановку помимо исследуемых образцов вносились калибровочный образец с нормальным количеством копий гена *PMP22* и положительный контроль, в котором дубликация гена *PMP22* была подтверждена методом FISH. Для каждого исследуемого образца, а также калибратора и положительно-го контроля ПЦР проводилась в 3 повторах.

Для расчета количества копий гена *PMP22* пациента использовалась арифметическая формула, в которой сравнивалась разница величины порогового цикла Ct референтного гена (*RNaseP*) и гена *PMP22* калибровочного и исследуемого образца: $ddCt = [dCt_{RNaseP}(\text{калибратор}) - dCt_{PMP22}(\text{калибратор})] - [dCt_{RNaseP}(\text{исследуемый образец}) - dCt_{PMP22}(\text{исследуемый образец})]$. Относительное количество исследуемого гена рассчитывалось с помощью формулы 2^{-ddCt} . Примеры амплификационной кривой у положительных пациентов на дубликацию гена *PMP22* и пациентов с нормальным количеством целевого гена приведены на рис. 1.

Результаты

Для определения порога нормы значения ddCt при нормальном количестве гена *PMP22* был проведен анализ копийности у 50 доноров крови. Среднее значение и стандартное отклонение ddCt в данной группе составило $1,01 \pm 0,12$. Таким образом, дубликация гена *PMP22* подтверждалась при значениях ddCt более 1,36, делеция гена подтверждалась при значениях ddCt менее 0,64 (± 3 SD).

Нами было проведено исследование количества копий гена *PMP22* в выборке пациентов с МСП. Из 70 обследованных пациентов у 18 пациентов (25,7 %) из данной группы была обнаружена дубликация гена *PMP22* и у 1 пациента – делеция гена *PMP22* (1,5%). Среднее значение ddCt в группе МСП у пациентов без дубликации и делеции гена *PMP22* ($n=51$) составило 1,05 с максимальным и минимальным уровнем значений 1,1/0,9. У пациентов с дубликацией гена *PMP22*

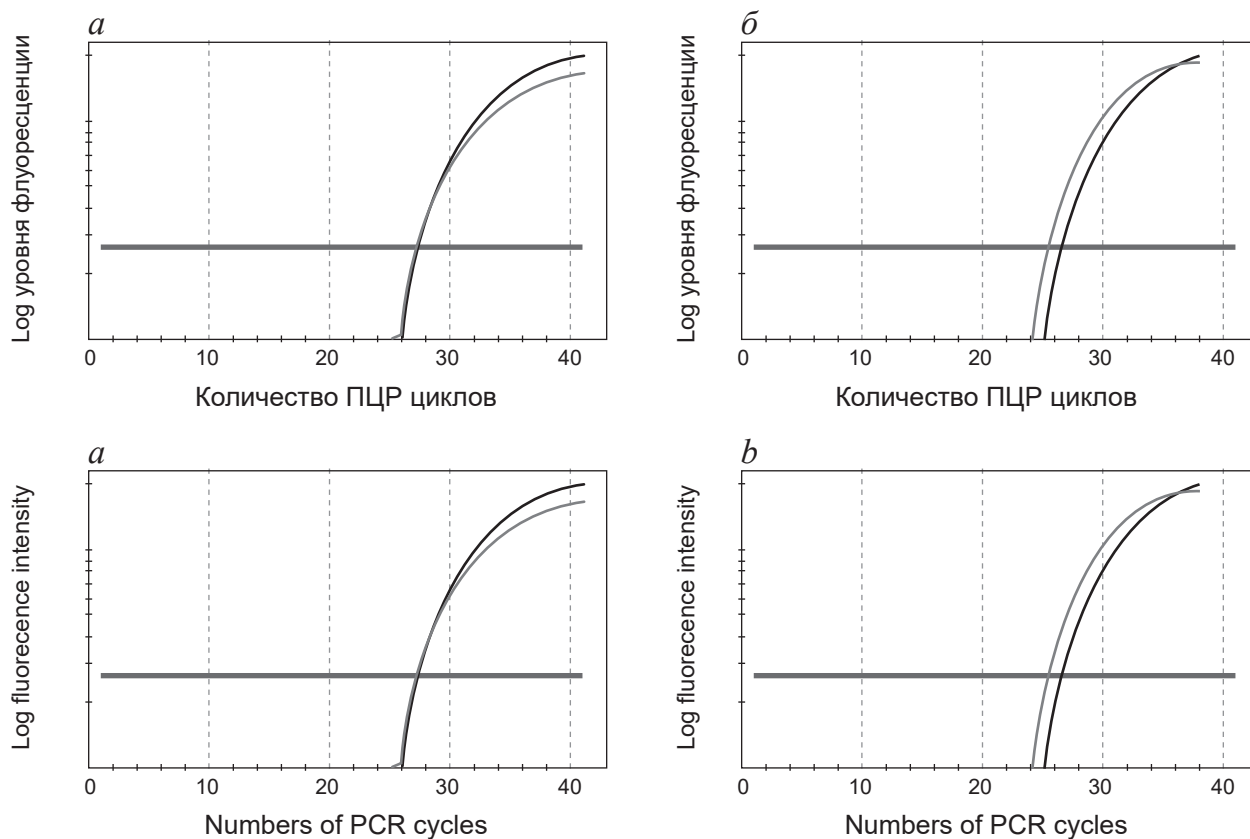


Рис. 1. Результаты теста ddCt при нормальном количестве гена *PMP22* (а) и при гетерозиготной дупликации гена *PMP22* (б).
Fig. 1. Results of *PMP22* gene copy number evaluation using ddCt method in case of 2 copy of gene (a) and heterozygous duplication (b).

средний уровень ddCt составил 1,54 с максимальным и минимальным уровнем ddCt 1,95/1,45. У пациента с делецией гена *PMP22* значение ddCt было 0,51. Для 12 пациентов с дупликацией гена *PMP22* и 1 пациента с делецией гена *PMP22* были собраны клинические и инструментальные данные обследования. Для пациентов с дупликацией гена *PMP22* (группа РМР22дуп.) все данные приведены в табл. 1. Для пациента с делецией гена *PMP22* – в табл. 2.

У 75% пациентов группы РМР22дуп. БШМТ манифестировала в возрасте до 14 лет, хотя возраст постановки окончательного диагноза сильно варьировал в зависимости от тяжести симптомов и скорости прогрессии. У 16% пациентов наблюдалось позднее начало БШМТ (после 40 лет). У всех пациентов первичные проявления БШМТ были связаны с нарушением функции нижних конечностей. Основными симптомами манифестации заболевания были частые спотыкания и деформация стопы. У всех пациентов данной группы наблюдалось преобладание парезов дистальных групп мышц нижних конечностей со средним баллом MRC 2, а также симметрично отсутствовали рефлексы с ахилловых сухожилий. Только у одного пациента было выявлено легкое снижение силы проксимальных мышц нижних конечностей, в то время как атрофия мышц голени обнаруживалась у 66% пациентов. У всех пациентов исследуемой группы наблюдались парезы дистальных мышц верхних конечностей (средний балл MRC 3)

и у 50% имела место атрофия мышц предплечья. Только у 16% пациентов полностью отсутствовали глубокие рефлексы дистального отдела верхних конечностей. Нарушение поверхностной чувствительности было у каждого участника группы, в то время как глубокой – только у 83%.

В группе РМР22дуп. средняя скорость проведения электрического импульса, измеренная в срединном нерве, составила 20,25 м/с и варьировала в пределах 6–27 м/с. У 66% пациентов из данной группы прослеживался наследственный анамнез, в то время как у 34% мутация возникла *de novo*.

В группе РМР22дуп. у 75% пациентов наблюдались ортопедические осложнения. Наиболее часто встречался высокий свод стопы или плоскостопие, которые обнаруживались у всех пациентов с ортопедическими нарушениями. У 25% пациентов обнаруживалась деформация скелета позвоночника, чаще всего проявляющаяся сколиозом различной степени выраженности.

В группе РМР22дуп. распространенность болевого синдрома составила 33%, с наиболее частой жалобой у пациентов на симметричную болезненность мышц дистального отдела нижних конечностей.

Обсуждение

Наиболее частым вариантом наследственной моторно-сенсорной полиневропатии является БШМТ. Данное заболевание характеризуется симптомами

Таблица 1.

Клиническая характеристика пациентов с дупликацией гена *PMP22*

№	Пол/ возраст	Наследственный анамнез (предыдущее поколение/ следующее поколение)	Дебют заболевания (возраст/отдел)	Первичные симптомы	Моторная функция проксимального/ дистального отдела верхних конечностей	Моторная функция проксимального/ дистального отдела нижних конечностей	Атрофия мышц	Нарушение поверхностной/ глубокой чувствительности	Ортопедические нарушения (в том числе высокий свод стопы)	Сухожильные рефлексы на верхних/ нижних конечностях	Наличие мышечного болевого синдрома	Скорость проведения импульса по волокнам срединного нерва
1	М/54	+/+	<14/ нижние конечности	затруднение при беге	5/3,5	5/2	межкостные мышцы кистей; мышцы голени	+/+	-	-/-	боли ноющего характера в мышцах голени, периодические боли в мышцах бедер и плеч; периодические судороги в мышцах ног	24 м/с
2	Ж/26	+/n.a	4 года/ нижние конечности	частые спотыкания, падения	5/3,5	5/2	межкостные мышцы кистей; мышцы голени	+/+	-	-/-	постоянные боли ноющего характера в мышцах голени; периодические боли в мышцах бедер и плеч; периодические судороги в мышцах ног	23 м/с
3	Ж/40	+/+	<4 лет/ нижние конечности	деформация стоп, кифосколиоз; частые падения	5/3,5	5/2,5	мелкие мышцы кистей	+/+	высокий свод стопы; деформация позвоночника; «впалая» грудная клетка	+/-	судороги в икроножных мышцах	24 м/с
4	Ж/51	+/+	<6 лет/ нижние конечности	деформация стоп; частые падения	5/2,5	4/2	-	+/+	высокий свод стопы	+/-	-	24 м/с
5	Ж/24	+/ n.a	<6 лет/ нижние конечности	частые падения	5/2,5	5/0-1	мышцы голени; мышцы предплечья	+/+	-	+/-	боли ноющего характера в мышцах голени, периодические боли в мышцах бедер и плеч	13 м/с
6	Ж/62	-/+	47 лет/ нижние конечности	частые падения	5/3	5/1	межкостные мышцы кистей; мышцы голени	+/+	высокий свод стопы	+/-	-	23 м/с
7	Ж/37	+/ n.a	1 год/ нижние конечности	хождение на носочках; деформация стоп	5/3	5/2	мышцы голени	+/+	высокий свод стопы	+/-	-	23 м/с
8	Ж/47	+/-	<6 лет/ нижние конечности	деформация стоп; частые падения	5/3	5/1	мышцы голени	+/+	высокий свод стопы; деформация позвоночника	+/-	-	24 м/с
9	Ж/26	+/-	<6 лет/ нижние конечности	деформация стоп; частые падения	5/3	5/3	-	+/-	высокий свод стопы	+/-	-	27 м/с
10	Ж/14	-/-	1 год 4 месяца/ нижние конечности	частые спотыкания, падения	5/3	5/3	-	+/-	Х-образная форма ног; плосковальгусная форма стоп	+/-	-	6 м/с
11	Ж/52	-/-	48 лет/ нижние конечности	слабость в дистальных отделах ног; нарушение чувствительности	5/3,5	5/3,5	мышцы голени; мышцы предплечья	+/+	высокий свод стопы	+/-	-	20 м/с
12	Ж/6	-/-	1 год/ нижние конечности	деформация стоп; частые падения	5/4	5/2	мышцы голени	+/+	высокий свод стопы деформация позвоночника	+/-	-	12 м/с

Table 1.

Clinical features of patients with *PMP22* gene duplication

№	Sex/age	Family history (predecessor / antecessor)	Manifestation of disease (age/ extremities)	First symptoms	Motor function of proximal/ distal muscles of upper extremities	Motor function of proximal/ distal muscles of lower extremities	Muscle atrophy	Deep/ superficial sensory loss	Orthopedic changes (including high-arched foot)	Deep tendon reflexes of upper/ lower extremities	Muscle pain	Mean medial nerve conduction velocity
1	M/54	+/+	<14/lower extremities	problems with running	5/3,5	5/2	interosseous hand muscle; calf muscles	+/+	-	-/-	pain in peroneal muscles, recurrent pain in muscle of hips and shoulders; recurrent cramps in legs muscles	24 m/s
2	F/26	+/n.a	4 года/ lower extremities	frequent stumbling, falling	5/3,5	5/2	interosseous hand muscle; calf muscles	+/+	-	-/-	pain in peroneal muscles; recurrent pain in muscle of hips and shoulders; recurrent cramps in legs muscles	23 m/s
3	F/40	+/+	4 года/ lower extremities	feet deformation, kyphoscoliosis; frequent falling	5/3,5	5/2,5	small muscles of hands	+/+	high-arched foot; high-arched foot; deformation of chest	+/-	cramps in calf muscles	24 m/s
4	F/51	+/+	<6/lower extremities	feet deformation, kyphoscoliosis; frequent falling	5/2,5	4/2	-	+/+	high-arched foot	+/-	-	24 m/s
5	F/24	+/ n.a	<6/lower extremities	frequent falling	5/2,5	5/0-1	calf muscles; forearm muscles	+/+	-	+/-	pain in peroneal muscles; recurrent pain in muscle of hips and shoulders;	13 m/s
6	F/62	-/+	47/lower extremities	frequent falling	5/3	5/1	interosseous hand muscle; calf muscles	+/+	high-arched foot	+/-	-	23 m/s
7	F/37	+/ n.a	1/lower extremities	tiptoeing feet deformation	5/3	5/2	calf muscles	+/+	high-arched foot	+/-	-	23 m/s
8	F/47	+/-	<6/lower extremities	feet deformation; frequent falling	5/3	5/1	calf muscles	+/+	high-arched foot high-arched foot	+/-	-	24 m/s
9	F/26	+/-	<6/lower extremities	feet deformation; frequent falling	5/3	5/3	-	+/-	high-arched foot	+/-	-	27 m/s
10	F/14	-/-	1 year 4 months / lower extremities	frequent stumbling, falling	5/3	5/3	-	+/-	X-shaped legs flat feet	+/-	-	6 m/s
11	Ж/52	-/-	48/lower extremities	distal muscles weakness of lower extremities; sensory loss	5/3,5	5/3,5	calf muscles; forearm muscles	+/+	high-arched foot	+/-	-	20 m/s
12	F/6	-/-	1/lower extremities	frequent stumbling, falling	5/4	5/2	calf muscles	+/+	high-arched foot	+/-	-	12 m/s

Таблица 2.

Клиническая характеристика пациентов с делецией гена *PMP22*

Возраст манифестации	50 лет
Наследственный анамнез	Отсутствует
Первичные симптомы	Периодическое чувство онемения III–V пальцев стопы справа
Сухожильные рефлексы на верхних/нижних конечностях	+/+
Нарушение поверхностной/глубокой чувствительности	-/-
Ортопедические нарушения	Деформация стоп
Моторная функция	Сохранены
Атрофия мышц	Отсутствует
Преходящие параличи	Отсутствуют
Скорость проведения импульса по чувствительным волокнам срединного нерва	21 м/с
Скорость проведения импульса по моторным волокнам срединного нерва	38 м/с
Блоки проведения импульса	Отсутствуют

Table 2.

Clinical features of patient with *PMP22* gene deletion

Age of disease manifestation	50 years
Family history	Negative
Symptoms of manifestation	Periodical numbness of III–V right foot digits
Deep tendon reflexes of upper/lower extremities	+/+
Deep/superficial sensory changes	-/-
Orthopedic changes	Feet deformation
Motor function	Preserved
Muscle atrophy	Absence
Periodic paralysis	Absence
Mean medial nerve sensory conduction velocity	21 m/s
Mean medial nerve motor conduction velocity	38 m/s
Conduction block	Absence

дисфункции периферических нервов, такими как слабость и атрофия мышц, нарушения чувствительности и деформация конечностей [1]. Увеличение копий гена *PMP22* является наиболее часто встречающейся генетической абберацией при БШМТ. Реципрокное уменьшение количества копий гена *PMP22* в свою очередь приводит к НСПС. Данное заболевание в классической форме проявляется преходящими безболевыми параличами мышечных групп, иннервируемых одним нервом [2]. Нужно отметить, что описанный фенотип НСПС встречается только у половины

пациентов, в остальных случаях НСПС способна имитировать как БШМТ, так и болезнь Гийена-Барре и другие демиелинизирующие полиневропатии.

Около 2–5% компактного миелина миелиновой оболочки периферической нервной системы составляет белок ПМБ22, который синтезируется клетками Шванна. [6]. Изменение количества копий гена *PMP22* приводит к феномену «дозы гена». При дупликацией гена *PMP22* наблюдается повышение концентрации синтезируемого ПМБ22, что приводит к дестабилизации комплекса ПМБ22 и других компонентов миелина, играющих важную роль в адгезии клеток Шванна друг с другом. Сменяющиеся эпизоды демиелинизации, нарушенной ремиелинизации и ремоделирования оболочки периферических нервов, в конечном счете, приводят к гипертрофии нерва по типу «луковичной головки» и вторичной гибели аксонов [7].

Уменьшение количества копий гена *PMP22*, наблюдаемое при НППС, приводит к снижению концентрации ПМБ22 в оболочке периферических нервов, нарушению архитектоники компактного миелина и адгезии его ламеллы, а также структурным дефектами перехвата Ранвье [8].

В соответствии с международными рекомендациями, у пациентов с подозрением на БШМТ определение количества копий гена *PMP22* должно быть первым этапом лабораторного обследования [13]. Учитывая возможность наличия сходной симптоматики у пациентов с дупликацией и делецией гена *PMP22*, предпочтительно одновременное определение обеих аббераций в одном тесте.

Нами было проведено исследование количества копий гена *PMP22* в группе МСП. В соответствии с данными зарубежных исследований распространенность абберации количества гена *PMP22* в группе с БШМТ может варьировать в пределах 20–80% в разных популяциях [14]. В группе МСП распространенность аббераций количества копий гена *PMP22* была ниже (25,7%), но следует отметить, что критериями отбора в исследуемую группу были только клинические проявления МСП, которые не являются специфическими для БШМТ, и могут также присутствовать у пациентов с полиневропатиями различной этиологии. Учитывая это, можно сделать вывод об относительно высокой распространенности изменения количества копий гена *PMP22* у пациентов с симптомами МСП.

У 12 пациентов из группы *PMP22*дуп. были собраны анамнестические, клинические и инструментальные данные. Клинические и инструментальные проявления заболевания в группе *PMP22*дуп. соответствовали классическому фенотипу поздних стадий БШМТ и сопоставимы с наблюдениями других авторов [1, 13, 16]. Нужно отметить, что у ряда пациентов (16%) наблюдалось позднее начало БШМТ (после 40 лет), что подчеркивает важность внесения в дифференциальный диагноз БШМТ взрослым пациентам с симптомами МСП. У большинства пациентов анамнез БШМТ 1А типа составил более 10 лет. В то же время первичные проявления БШМТ в исследуемой группе были неспецифичны и сильно варьировали даже в семейных случаях заболевания.

Данный факт подчеркивает важность исследования копийности гена *PMP22* у пациентов с симптомами МСП и деформацией стоп.

У 66% пациентов в группе РМР22дуп. имелись родственники с симптоматикой БШМТ, а у 34% пациентов мутация возникла *de novo*. По данным исследователей, распространенность *de novo* дупликации гена *PMP22* составляет 10–24% [15]. Вероятнее всего высокая распространенность впервые выявленной дупликации в группе РМР22дуп. связана с возможностью гетерогенности проявлений и стертой симптоматики заболевания даже в одной семье.

Ортопедические нарушения при БШМТ являются частым симптомом дебюта заболевания. В группе РМР22дуп. различные нарушения скелета наблюдались у 75% пациентов, самими частыми из которых являлись изменения формы стопы. Подиатрические изменения при БШМТ объясняются началом денервации мышц голени в фазу их активного роста и связаны с нарушением баланса действия мышц агонистов и антагонистов голени. Учитывая, что у многих пациентов в данной группе изменение нормальной формы стопы являлось первым симптомом, у пациентов с данным ортопедическим нарушением требуется исключение БШМТ. У четверти пациентов также обнаруживались деформационные изменения скелета позвоночника, которые проявлялись сколиозом различной степени выраженности. По данным зарубежных авторов, распространенность сколиоза в группе пациентов БШМТ варьирует в пределах 10–25%, что соответствует полученным нами результатам [13]. Чаще всего сколиоз при БШМТ имеет легкую степень выраженности и не требует хирургического лечения [17].

Важным клиническим проявлением БШМТ 1А типа, которое часто остается без внимания клиницистов, является выраженный болевой синдром, вызванный демиелинизацией Аδ-нервных волокон. Полученные результаты распространенности (33%) болевого синдрома сопоставимы с данными ряда исследователей [13, 18]. Интересным является факт отсутствия явной связи между болью и деформацией стопы в группе РМР22дуп., которая была четко показано в исследовании С. Ribiere и соавт. в 2012 году [19].

В группе МСП нами был обнаружен пациент с делецией гена *PMP22*. Классически данный вид генетической аберрации приводит к развитию НСПС, но в данном клиническом случае наблюдался фенотип хронической сенсорной полиневропатии со стертым течением заболевания и поздней манифестацией. У пациента не были снижены глубокие рефлекссы, но имел место высокий свод стопы, и при ЭНМГ выявлялись умеренные признаки нарушения проведения по моторным и сенсорным волокнам (скорость проведения импульса 38 м/с и 21 м/с соответственно). По данным зарубежных исследователей НСПС может клинически имитировать большой спектр различных форм полиневропатий [5]. В описанном нами клиническом случае проявления заболевания не давали возможности заподозрить НППС. Только скрининговое обследование на определение количества копий гена *PMP22* позволили подтвердить диагноз.

Причиной МСП может быть широкий спектр заболеваний, из которых многие имеют наследственный характер. В соответствии с изложенными данными, исследование копийности гена *PMP22* с помощью алгоритма ddCt представляется одним из первичных этапов лабораторного обследования больных с симптомами МСП, а также деформацией стопы и неясными формами сенсорной неметаболической полиневропатии.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (соглашение № 16-15-10203).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pareyson D., Marchesi C. Diagnosis, natural history, and management of Charcot-Marie-Tooth disease. *Lancet Neurol* 2009 Jul; 8 (7): 654–67.
2. Inoue K., Dewar K., Katsanis N., et al. The 1.4-Mb CMT1A Duplication/HNPP Deletion Genomic Region Reveals Unique Genome Architectural Features and Provides Insights into the Recent Evolution of New Genes. *Genome Res* 2001 Jun; 11(6): 1018–1033.
3. Zhang F., Seeman P. et al. Mechanisms for Nonrecurrent Genomic Rearrangements Associated with CMT1A or HNPP: Rare CNVs as a Cause for Missing Heritability. *Am J Hum Genet* 2010 Jun 11; 86 (6): 892–903.
4. van Paassen B.W., van der Kooi A.J., van Spaendonck-Zwarts K.Y., et al. PMP22 related neuropathies: Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies. *Orphanet J Rare Dis*. 2014 Mar 19; 9: 38.
5. Luigetti M., Del Grande A., Conte A., et al. Clinical, neurophysiological and pathological findings of HNPP patients with 17p12 deletion: a single-centre experience. *J Neurol Sci* 2014; 341: 46–50.
6. Li J., Parker B., Martyn C., et al. The PMP22 gene and its related diseases. *Mol Neurobiol* 2013 Apr; 47 (2): 673–98.
7. Azzedine H., Senderek J., Rivolta C., Chrast R. Molecular genetics of Charcot-Marie-Tooth disease: from genes to genomes. *Mol Syndromol* 2012 Nov; 3 (5): 204–14.
8. Andreadou E., Yapijakis C., Paraskevas G.P., et al. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: the same molecular defect can result in diverse clinical presentation. *J Neurol* 1996; 243: 225–30.
9. Saporta A.S., Sottile S.L., Miller L.J., et al. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011 Jan; 69 (1): 22–33.
10. Choi J.R., Lee W.H., Sunwoo I.N., et al. Effectiveness of real-time quantitative PCR compare to repeat PCR for the diagnosis of Charcot-Marie-Tooth Type 1A and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Yonsei Med J* 2005 Jun 30; 46 (3): 347–52.
11. Jawdat N., Adnan F. Gaaib, et al. Simple salting-out method for genomic DNA extraction from whole Blood. *Tikrit Journal of Pure Science* 2011; 16: 1813–662.
12. Thiel C.T., Kraus C., Rauch A., et al. A new quantitative PCR multiplex assay for rapid analysis of chromosome 17p11.2-12 duplications and deletions leading to HMSN/HNPP. *Eur J Hum Genet* 2003; 11: 170–8.
13. Colomban C., Micallef J., Lefebvre M.N., Dubourg O. et al. Clinical spectrum and gender differences in a large cohort of Charcot-Marie-Tooth type 1A patients. *J Neurol Sci* 2014 Jan 15; 336 (1-2): 155–60.
14. Braathen G.J. Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 2012; (193): iv-22.
15. Braathen G.J., Sand J.C., Lobato A., et al. Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth in the general population. *Eur J Neurol* 2011 Jan; 18 (1): 39–48.
16. Carvalho A.A., Vital A., Ferrer X., et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: clinicopathological correlations in 24 patients. *J Peripher Nerv Syst* Mar 2005; 10 (1): 85–92.
17. Karol L.A., Elerson E. Scoliosis in patients with Charcot-Marie-Tooth disease. *J Bone Joint Surg Am* 2007 Jul; 89 (7): 1504–10.
18. Pazzaglia C., Vollono C., Ferraro D., et al. Mechanisms of neuropathic pain in patients with Charcot-Marie-Tooth 1 A: a laser-evoked potential study. *Pain* 2010 May; 149 (2): 379–85.
19. Ribiere C., Bernardin M., Sacconi S., et al. Pain assessment in Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease. *Ann Phys Rehabil Med* 2012 Apr; 55 (3): 160–73.