

## Клинико-генетическая характеристика врожденных мышечных дистрофий (часть 2)\*

П.А. Чаусова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Министерства науки и высшего образования России; Россия, 115478 Москва, ул. Москворечье, 1

**Контакты:** Полина Александровна Чаусова polinaalex85@gmail.com

*Дистрогликанопатии — одна из групп врожденных мышечных дистрофий, возникновение которых связано с нарушением гликозилирования  $\alpha$ -дистрогликана. Сегодня известно 18 генов, ответственных за развитие этого состояния. Во 2-й части данного обзора представлены классификация, фенотипические формы, клинические признаки, патогенез и этиология данной формы врожденных мышечных дистрофий. Помимо этого, рассмотрены вопросы молекулярной диагностики врожденных мышечных дистрофий и предоставлены сведения о современных разработках терапии данной патологии.*

**Ключевые слова:** врожденная мышечная дистрофия, дистрогликанопатии, молекулярная диагностика

**Для цитирования:** Чаусова П.А., Рыжкова О.П., Поляков А.В. Клинико-генетическая характеристика врожденных мышечных дистрофий (часть 2). Нервно-мышечные болезни 2020;10(2):12–21.

DOI: 10.17650/2222-8721-2020-10-2-12-21



### Clinical and genetic characteristics of congenital muscular dystrophies (part 2)\*

P.A. Chausova, O.P. Ryzhkova, A.V. Polyakov

Research Centre for Medical Genetics named after academician N.P. Bochkov, Ministry of Education and Science of Russia; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115522, Russia

*Dystroglycanopathy is one of the groups of congenital muscular dystrophies, the occurrence of which is associated with a disorder of  $\alpha$ -dystroglycan glycosylation. To date, 18 genes responsible for the development of this condition are known. The 2<sup>nd</sup> part of this review presents the classification, phenotypic forms, clinical features, pathogenesis and etiology of this type of congenital muscular dystrophies. In addition, the issues of molecular diagnosis of congenital muscular dystrophies are considered and information on modern developments in the treatment of this pathology is provided.*

**Key words:** congenital muscular dystrophy, dystroglycanopathy, molecular diagnostics

**For citation:** Chausova P.A., Ryzhkova O.P., Polyakov A.V. Clinical and genetic characteristics of congenital muscular dystrophies (part 2). Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases 2020;10(2):12–21. (In Russ.).

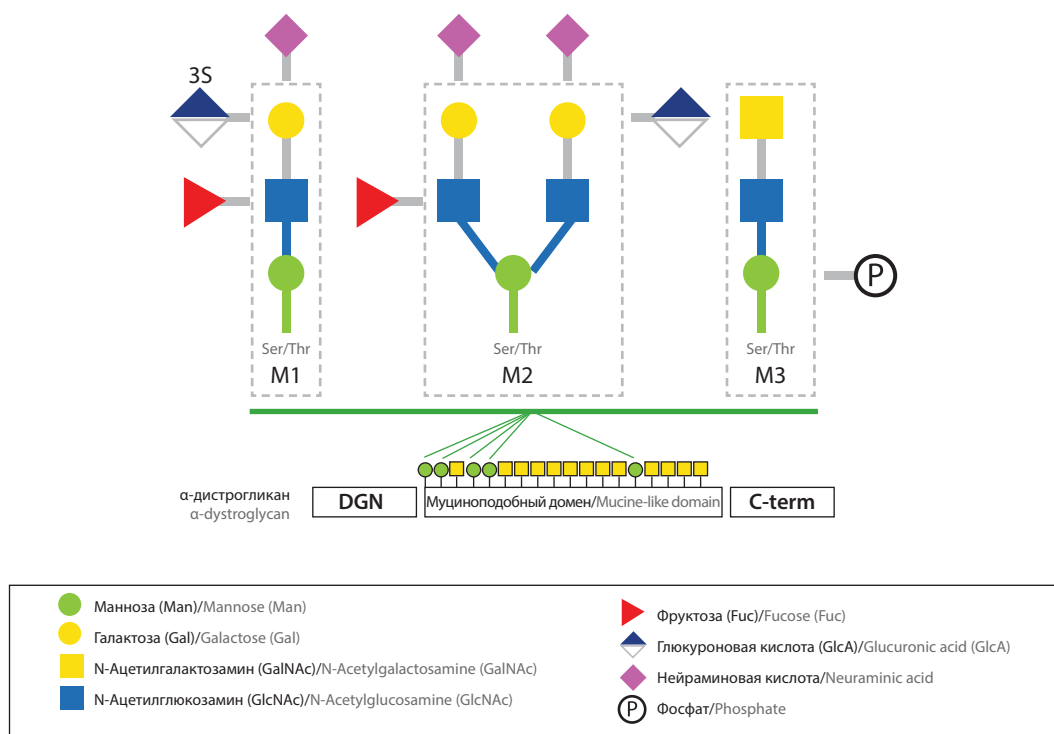
#### Введение

Врожденные мышечные дистрофии (ВМД) входят в состав большой группы наследственных нервно-мышечных болезней. Характеризуются гипотонией, мышечной слабостью, дистрофическими изменениями в мышцах, контрактурами, повышенным или нормальным уровнем креатинфосфокиназы (КФК). В некоторых случаях могут быть задержка умственного развития, респираторные осложнения, трудности с питанием. Манифестация болезней в данной группе отмечается с рождения либо в раннем детстве. Тип наследования

большинства форм ВМД — аутосомно-рецессивный, но некоторые формы могут иметь аутосомно-доминантный тип. Обсуждаемые состояния отличаются большой гетерогенностью, основная часть которых была описана в 1-й части обзора. В данной части обсуждается большая группа дистрогликанопатий — ВМД, связанных с нарушением гликозилирования  $\alpha$ -дистрогликана [1].

Гликозилирование — процесс, в результате которого белки, продуцирующиеся эукариотическими клетками, посттрансляционно модифицируются путем

\* Часть 1 см.: Чаусова П.А., Рыжкова О.П., Поляков А.В. Клинико-генетическая характеристика врожденных мышечных дистрофий (часть 1). Нервно-мышечные болезни 2020;10(1):10–21. [Part 1 see: Chausova P.A., Ryzhkova O.P., Polyakov A.V. Clinical and genetic characteristics of congenital muscular dystrophies (Part 1). Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases 2020;10(1):10–21. (In Russ.).]



**Рис. 1.** Схема структуры α-дистрогликана: O-маннозил гликаны на муциноподобном домене (количество и порядок сайтов гликозилирования не соответствуют опубликованным картографическим исследованиям). Пунктирные линии, M1, M2, M3 – core M1, core M2, core M3 соответственно, DGN – N-концевой домен, C-term – C-концевой домен α-дистрогликана, Ser – серин, Thr – треонин, 3S – 3-O-сульфатирование (адаптировано из [6] с разрешения авторов)

**Fig. 1.** Schematic structure of α-dystroglycan: O-mannosyl glycans identified on mucin-like domain (the number and order of glycosylation sites don't follow the published mapping studies precisely). Dotted lines, M1, M2, M3 – core M1, core M2, core M3 respectively. DGN – N-terminal domain, C-term – C-terminal domain of α-dystroglycan, Ser – serine, Thr – threonine, 3S – 3-O-sulfation (adapted from [6] with the authors permission)

добавления гликанов (полимеров, состоящих из моносакхаридных звеньев, соединенных O-гликозидными связями). Гликановые фрагменты гликопротеидов не только влияют на их конформацию и стабильность, но также играют важную роль в процессах молекулярного распознавания при бактериальной и вирусной инфекции, клеточной адгезии, дифференцировке и т.п. Процесс гликозилирования имеет большое значение для функции и структуры мембранных и секретируемых белков, нарушение которого приводит к синтезу гликопротеидов с измененной функцией. Существует 2 основные группы гликанов гликопротеидов в соответствии с их областями гликан-пептидной связи: N-гликаны (связанные с амидной группой аспаргина (Asn)) и O-гликаны (связанные с гидроксильной группой серина (Ser) или треонина (Thr)) [2–4]. Синтез N-гликанов происходит в 3 этапа: образование нуклеотидсвязанных сахаров, сборка (в цитозоле и эндоплазматическом ретикулуме) и обработка (в аппарате Гольджи). Синтез O-гликанов в основном происходит в аппарате Гольджи [5]. O-гликаны, расположенные на муциноподобном домене дистрогликана, разделяют на 3 группы: M1, M2, M3 (рис. 1) [6, 7].

При модификации α-дистрогликана используется сахар манноза, при этом сам процесс называется

O-маннозилирование, он играет важную роль в развитии мышц и мозга [3].

α-дистрогликан – гликопротеин внеклеточного матрикса, прикрепленный к клеточной мембране путем связывания с трансмембранным гликопротеином β-дистрогликаном. Дистрогликан кодируется геном *DAG1*, затем подвергается посттрансляционной модификации в β-дистрогликан, который связывается с дистрофином и охватывает сарколемму, и в α-дистрогликан, который связывается с β-дистрогликаном на внеклеточной стороне и функционирует как важный матричный рецептор (рис. 2). α-дистрогликан связывает такие внеклеточные лиганды, как ламинин-211 в сарколемме, нейрексин в головном мозге и агрин в нервно-мышечных соединениях, и играет важную роль в стабильности сарколеммальной и базальной мембран, миграции нейрональных клеток и сборке внеклеточного матрикса в мышцах, мозге и периферических нервах, связывая базальную пластинку с белками цитоскелета [3, 8]. Гипогликозилирование, или условная делеция, α-дистрогликана препятствует взаимодействию между α-дистрогликаном и белками внеклеточного матрикса [3]. Гликозилирование – сложный и объемный процесс, в котором участвуют разные трансферазы, дефицит которых может приводить к ВМД.

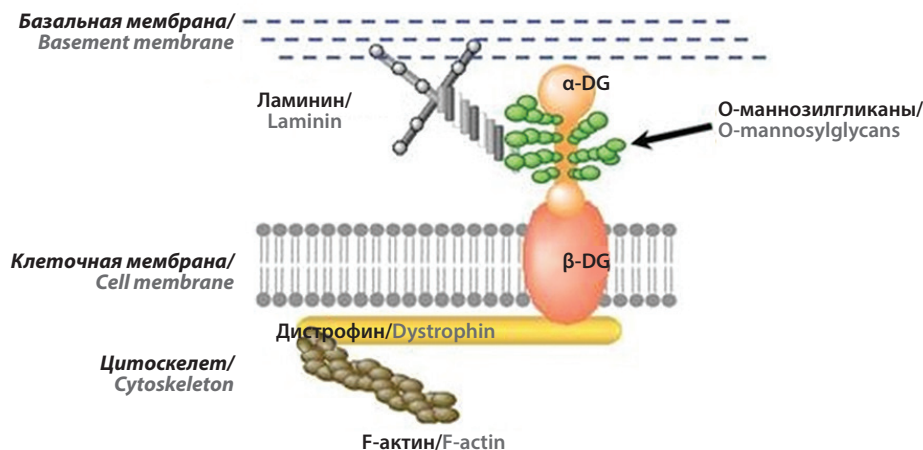


Рис. 2. Молекулярная организация дистрофин-гликопротеинового комплекса.  $\alpha$ -DG —  $\alpha$ -дистрогликан,  $\beta$ -DG —  $\beta$ -дистрогликан (адаптировано из [3] с разрешения авторов)

Fig. 2. Molecular organization of the dystrophin-glycoprotein complex.  $\alpha$ -DG —  $\alpha$ -dystroglycan,  $\beta$ -DG —  $\beta$ -dystroglycan (adapted from [3] with the authors permission)

### Классификация

Сегодня идентифицировано 18 генов, участвующих в развитии дистрогликанопатий, которые по этиологии делятся на 3 группы: первичные (мутации в гене *DAG1*), вторичные (мутации в генах, непосредственно участвующих в О-маннозилровании  $\alpha$ -дистрогликана) и третичные (мутации в генах, напрямую не участвующих в О-маннозилровании  $\alpha$ -дистрогликана) (табл. 1) [4].

По данным OMIM, дистрогликанопатии фенотипически делятся на 3 группы: ВМД-дистрогликанопатия с аномалиями мозга и глаз (тип А), ВМД с умственной отсталостью и без нее (тип В), мышечная дистрофия-дистрогликанопатия (поясно-конечностная, (тип С) (табл. 2) [8]. Фенотипическая тяжесть состояния пациента определяется тем, в какой степени выявленная мутация влияет на процесс гликозилирования  $\alpha$ -дистрогликана, а не тем, в каком именно гене она произошла.

**Врожденная мышечная дистрофия-дистрогликанопатия с аномалиями мозга и глаз (тип А)** — самый тяжелый клинический вариант  $\alpha$ -дистрогликанопатий. Сегодня описано 14 генов, мутации в которых приводят к развитию данной группы ВМД (см. табл. 2) [8]. По данным литературы, 1-е место среди причин развития  $\alpha$ -дистрогликанопатий в Китае и Финляндии занимают мутации в гене *POMGnT1*, в Японии — мутации в гене *FKTN* [9–11]. ВМД-дистрогликанопатия с аномалиями мозга и глаз характеризуется мальформациями мозга и глаз, умственной отсталостью и мышечной дистрофией. В данную группу отнесены 3 фенотипические формы с аутосомно-рецессивным типом наследования: синдром Уокера–Варбурга (Walker–Warburg syndrome, WWS), болезнь с поражением мышц, глаз и головного мозга (Muscle, Eyes, Brain, MEB) и ВМД Фукуямы (Fukuyama congenital muscular dystrophy, FCMD).

Другое название **синдрома Уокера–Варбурга** — **HARD  $\pm$  E** (H (hydrocephalus), A (agyria), RD (retinal dysplasia),  $\pm$  E (encephalocele)) [12]. Синдром является самой тяжелой формой ВМД-дистрогликанопатии с аномалиями мозга и глаз. Манифестация начинается внутриутробно или сразу после рождения, характеризуется глубокой умственной отсталостью, глазными аномалиями (врожденная катаракта, микрофтальм, буфтальм, отслойка сетчатки, экзофтальм, пороки развития сетчатки, пороки развития передней камеры, гипоплазия зрительного нерва, колобома), тяжелыми структурными аномалиями головного мозга, некоторые из них, помимо магнитно-резонансной томографии (МРТ), могут выявляться во время ультразвукового исследования плода (полная агирия или тяжелая лиссэнцефалия, выраженная гидроцефалия, тяжелое поражение мозжечка, полное или частичное отсутствие мозолистого тела, дилатация желудочков, энцефалоцеле), микротией, отсутствием слухового канала, расщелиной губы и нёба, тяжелой гипотонией, мышечной дистрофией, отсутствием моторного развития [13–19]. При проведении иммуногистохимического исследования (ИГХ) и western blot анализа в мышечной ткани выявляются гипогликозилирование  $\alpha$ -дистрогликана, вторичный дефицит мерозина [20]. Уровень КФК повышен. Пациенты с данной формой ВМД обычно погибают на 1-м году жизни.

Фенотипическая форма группы ВМД-дистрогликанопатий с аномалиями мозга и глаз **болезнь с поражением мышц, глаз и головного мозга (МЕВ)** описана Р. Santavouri в 1977 г. в финской популяции [21]. По данным С. Diesen и соавт., МЕВ встречается во всем мире, но чаще всего в Финляндии, что обусловлено эффектом основателя. Самая частая мутация при МЕВ в финской популяции — с.1539+1G>A в гене *POMGNT1*, приводящая к изменению канонического донорного

Таблица 1. Гены, ответственные за развитие  $\alpha$ -дистрогликанопатий

Table 1. Genes responsible for the development of  $\alpha$ -dystroglycanopathies

Подгруппа дистрогликанопатий Subgroup of dystroglycanopathies	Ген Gene	Локус Locus	Количество экзонов Number of exons	Функции Function
Первичные Primary	<i>DAG1</i>	3p21.31	2	Дистрогликан Dystroglycan
Вторичные Secondary	<i>POMT1</i>	9q34.13	20	Протеин О-маннозилтрансфераза Protein O-mannosyltransferase
	<i>POMT2</i>	14q24.3	21	Протеин О-маннозилтрансфераза Protein O-mannosyltransferase
	<i>POMGNT1</i>	1p34.1	25	Протеин О-манноза $\beta$ -1,2-N-ацетилглюкозаминил-трансфераза Protein O-mannose $\beta$ -1,2-N-acetylglucosaminyltransferase
	<i>FKTN</i>	9q31	10	Рибитол-5-фосфаттрансфераза Ribitol-5-phosphate transferase
	<i>FKRP</i>	19q13.3	4	Рибитол-5-фосфаттрансфераза Ribitol-5-phosphate transferase
	<i>LARGE</i>	22q12.3-q13.1	16	$\beta$ -1,3-глюкуронилтрансфераза и $\alpha$ -1,3-ксилозилтрансфераза $\beta$ -1,3-glucuronyltransferase and $\alpha$ -1,3-xylosyltransferase
	<i>POMGNT2</i>	3p22.1	1	Протеин О-манноза $\beta$ -1,4-N-ацетилглюкозаминил-трансфераза Protein-O-mannose $\beta$ -1,4-N-acetylglucosaminyltransferase
	<i>B3GALNT2</i>	1q42.3	14	$\beta$ -1,3-N-ацетилгалактозаминилтрансфераза $\beta$ -1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase
	<i>B4GAT1</i>	11q13.2	2	$\beta$ -1,4-глюкуронилтрансфераза $\beta$ -1,4-glucuronyltransferase
	<i>POMK</i>	8p11.21	5	Протеин-О-манноза киназа Protein-O-mannose kinase
	<i>TMEM5</i>	12q14.2	6	Рибитол-5-фосфат $\beta$ -1,4-ксилозилтрансфераза Ribitol-5-phosphate $\beta$ -1,4-xylosyltransferase
Третичные Tertiary	<i>GMPPB</i>	3p21.31	10/8	GDP-манноза пиррофосфорилаза GDP-mannose pyrophosphorylase
	<i>DPM1</i>	20q13.13	9	Долихол-фосфат-манноза синтаза Dolichol-phosphate-mannose synthase
	<i>DPM2</i>	9q34.11	4	Долихол-фосфат-манноза синтаза Dolichol-phosphate-mannose synthase
	<i>DPM3</i>	1q22	2	Долихол-фосфат-манноза синтаза Dolichol-phosphate-mannose synthase
	<i>DOLK</i>	9q33.1-q34.11	1	Долихол киназа Dolichol-phosphate-mannose synthase
	<i>ISPD</i>	7p21.2	10	CDP-рибитол синтетаза CDP-ribitol synthetase

сайта сплайсинга [10]. МЕВ манифестируют с рождения и характеризуются вариабельной, но обычно тяжелой умственной отсталостью, генерализованной мышечной слабостью, включая мышцы лица и шеи, судорогами, контрактурами, аномалиями развития головного мозга, но при этом они менее выражены, чем при WWS

(пахигирия с преимущественным вовлечением лобно-теменных долей, полимикрогирия, гипоплазия мозжечка, дисплазия мозжечка, гидроцефалия, уплощение моста и ствола головного мозга). Часто наблюдаются нарушения зрения, в том числе атрофия сетчатки, прогрессирующая близорукость, ювенильные катаракты.

Таблица 2. Классификация дистрогликанопатий

Table 2. Classification of dystroglycanopathies

Заболевание Disease	Тип Type	Ген Gene	Манифестация Manifestation
Врожденная мышечная дистрофия-дистрогликанопатия (с аномалиями мозга и глаз) Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies)	A1 A2 A3 A4 A5 A6 A7 A8 A9 A10 A11 A12 A13 A14	POMT1 POMT2 POMGNT1 FKTN FKR LARGE1 ISPD POMGNT2 DAG1 RXYLT1/TMEM5 B3GLNT2 POMK B4GAT1 GMPPB	С рождения/в раннем детстве From the birth/early childhood
Врожденная мышечная дистрофия дистрогликанопатия (с умственной отсталостью или без нее) Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with or without mental retardation)	B1 B2 B3 B4 B5 B6 B14	POMT1 POMT2 POMGNT1 FKTN FKRP LARGE1 GMPPB	С рождения/в раннем детстве From the birth/early childhood
Мышечная дистрофия-дистрогликанопатия (поясно-конечностная) Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle)	C1 C2 C3 C4 C5 C7 C8 C9 C12 C14	POMT1 POMT2 POMGNT1 FKTN FKRP ISPD POMGNT2 DAG1 POMK GMPPB	В детстве или во взрослом возрасте Childhood or adult

Редко больные могут с задержкой приобретать способность к самостоятельному передвижению. Больные этой формой ВМД могут научиться произносить несколько слов [13, 22]. При проведении ИГХ и westernblot-анализа в мышечной ткани выявляются гипогликозилирование  $\alpha$ -дистрогликана, вторичный дефицит ламинина [20]. Уровень КФК повышен. Продолжительность жизни при этой форме ВМД больше, чем при WWS.

**Врожденная мышечная дистрофия Фукуямы** описана в Японии в 1960 г. Y. Fukuyama и соавт. и является 2-й по частоте формой мышечных дистрофий (после мышечной дистрофии Дюшенна) у детей в Японии (частота 0,7–1,2 на 10 тыс. новорожденных) [11, 21]. Данная форма ВМД обусловлена мутациями в гене *FKTN*, кодирующем белок FKTN, который, по сообщениям Т. Endo и соавт., может быть кандидатом в фермент, синтезирующий tandemную структуру рибитол-5-фосфат [3, 4]. Ген картирован на 9q31 и состоит из 10 экзонов. Описано 60 патогенных/вероятно патогенных вариантов в данном гене. Из них 60 % приходится на долю миссенс/нонсенс-мутаций, 10 % — на мутации сайта сплайсинга, 10 % — на долю малых делеций, 8,4 % — на малые инсерции, 5 % — на протяженные инсерции, 3,3 % — на небольшие инделы,

3,3 % — протяженные делеции [23]. Наиболее частой мутацией в данном гене в японской популяции является ретротранспозонная вставка размером 3 kb в 3'UTR (нетранслируемая область) [11, 24]. Заболевание возникает в раннем детстве, характеризуется слабым криком, плохим сосанием, задержкой развития, генерализованной мышечной слабостью, мышечной дистрофией. В статусе: контрактуры бедренных, коленных, межфаланговых суставов, слабость лицевых и шейных мышц, офтальмологические нарушения (атрофия зрительного нерва, отслоение сетчатки, катаракта, косоглазие, близорукость, дальнозоркость, микрофтальм). У детей с тяжелой формой FCMD и больных старше 10 лет поражается сердце, возникают трудности с питанием и глотанием, которые могут приводить к рецидивирующей аспирационной пневмонии и смерти. Более чем у 50 % возникают судороги (генерализованные тонико-клонические приступы, сложные парциальные приступы, парциальные приступы с вторичной генерализацией, инфантильные спазмы, тонические приступы, миоклонические приступы). У всех больных присутствует умственная отсталость, коэффициент интеллекта (IQ) обычно составляет от 30 до 60. При проведении МРТ головного

мозга выявляются аномалии (лиссэнцефалия II типа, пахигирия, агирия, гидроцефалия, мозжечковые кисты, гипоплазия ствола мозга, гипоплазия мозжечка, изменения белого вещества). При проведении ИГХ и western blot-анализа в мышечной ткани выявляется гипогликозилирование  $\alpha$ -дистрогликана. Уровень КФК повышен. Мозговые и глазные аномалии, диагностируемые у большинства больных с FCMD, не отличаются от аномалий у пациентов с МЕВ за пределами Японии. Многие авторы отмечают схожесть фенотипического проявления МЕВ и FCMD, и часто в литературе используется термин МЕВ/FCMD-синдром. Также в литературе описаны мутации в гене *FKRP* у пациентов с синдромом Уокера–Варбурга [25–29].

**Врожденные мышечные дистрофии-дистрогликанопатии с умственной отсталостью или без нее (тип В)** — по фенотипу менее тяжелые ВМД, чем мышечная дистрофия-дистрогликанопатия типа А, но более тяжелые, чем тип С. Данная форма ВМД возникает в результате мутаций в тех же 7 генах, которые участвуют в развитии ВМД-дистрогликанопатий с аномалиями мозга и глаз (см. табл. 2) [8]. При этом, учитывая фенотип и ген, в котором произошла мутация, можно выделить несколько подгрупп: ВМД-дистрогликанопатии с умственной отсталостью (*POMT1*, *POMT2*, *POMGnT1*, *LARGE1*, *GMPPB*), ВМД-дистрогликанопатии без умственной отсталости (*FKTN*), ВМД-дистрогликанопатии с умственной отсталостью или без таковой (*FKRP*) [8]. Тип наследования — аутосомно-рецессивный.

**Врожденные мышечные дистрофии с умственной отсталостью (*POMT1*, *POMT2*, *POMGnT1*, *LARGE1*, *GMPPB*)** характеризуются сочетанием мышечных проявлений с умственными нарушениями и легкими структурными изменениями головного мозга (могут быть не у всех больных). Заболевание проявляется с рождения или в раннем детстве. Характерны микроцефалия, близорукость, косоглазие, контрактуры суставов, мышечные проявления, задержка психомоторного развития, связанного с умственной отсталостью. У некоторых пациентов возможны аномалии сердца. При МРТ головного мозга возможны расширения желудочков, гипоплазия мозолистого тела, умеренная гипоплазия мозжечка и атрофия коры головного мозга, аномалии белого вещества. Некоторые больные достигают только навыка сидения с поддержкой, в то время как другие учатся самостоятельно передвигаться, но в дальнейшем могут утратить эту способность. Уровень КФК повышен. Электронейромиографическое исследование выявляет первично-мышечный тип поражения. При проведении western blot-анализа и ИГХ выявляются гипогликозилирование  $\alpha$ -дистрогликана и вторичный дефицит ламинина [30–32].

**Врожденные мышечные дистрофии-дистрогликанопатии без умственной отсталости (*FKTN*)** описаны у 2 детей, характеризуются мышечной дистрофией, гипотонией в раннем детстве. Уровень КФК повышен. При проведении western blot-анализа и ИГХ — гипогликозилирование

$\alpha$ -дистрогликана. У 1 ребенка при проведении МРТ выявлены умеренные изменения белого вещества головного мозга, а у другого не было структурных нарушений [13, 32].

**Врожденные мышечные дистрофии-дистрогликанопатии с умственной отсталостью или без таковой (*FKRP*)** возникают в результате мутаций в гене *FKRP* на 19q13.3, который, по мнению Т. Endo и соавт., так же как и ген *FKTN*, кодирует белок, являющийся кандидатом в ферменты, синтезирующие тандемную структуру рибитол-5-фосфат [3, 4]. Ген *FKRP* состоит из 3 некодирующих экзонов и 1 большого, кодирующего в 3,8 тыс. пар нуклеотидов, который содержит часть 5'-нетранслируемой области (UTR), всю открытую рамку считывания и 3'-UTR. Этот подтип ВМД характеризуется ранним началом, гипотонией, слабостью лицевых мышц, мышечной дистрофией, задержкой моторного развития, мышечной псевдогипертрофией, трудностями при ходьбе, частыми падениями. Некоторые пациенты никогда не смогут ходить, другие теряют этот навык со временем. У некоторых больных возможны аномалии головного мозга при проведении МРТ (белого вещества, атрофии и кисты мозжечка). Умственная отсталость развивается не у всех больных. На МРТ-изображениях мышц определяется жировая инфильтрация. Уровень КФК повышен. При western blot анализ и ИГХ — гипогликозилирование  $\alpha$ -дистрогликана и вторичный дефицит мерозина [33–36].

**Мышечные дистрофии-дистрогликанопатии (поясно-конечностные)** представляют самый мягкий вариант фенотипического спектра дистрогликанопатий, которые возникают в результате мутаций в 10 генах, ответственных за развитие  $\alpha$ -дистрогликанопатий (см. табл. 2). Характеризуется варибельным возрастом манифестации, мышечной слабостью, псевдогипертрофией мышц, трудностями при ходьбе, частыми падениями. У некоторых пациентов могут быть умственная отсталость и различные легкие мозговые аномалии. Поражение сердца наблюдается не у всех больных. При МРТ мышц — жировая инфильтрация. Уровень КФК повышен [37–41].

### Молекулярно-генетическая диагностика врожденных мышечных дистрофий

Схожесть клинических проявлений различных форм ВМД представляет собой проблему при определении конкретной формы болезни. Диагностика включает сбор анамнеза, клинический осмотр, проведение лабораторных исследований (уровень КФК и сывороточных трансаминаз), электронейромиографию, компьютерную томографию, МРТ, биопсию мышц [20]. Несмотря на важную роль всего вышеперечисленного, молекулярно-генетическое исследование является основным способом установления точного диагноза [42]. С момента первого молекулярного подтверждения ВМД прошло около 25 лет, и за это время было идентифицировано

примерно 30 генов, принимающих участие в развитии ВМД. Сегодня используются такие методы, как MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification), MPS (massively parallel sequencing), каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки [43]. Предложены таргетные панели для секвенирования определенных групп генов.

Интерпретация полученных данных упрощается, если патогенность вариантов очевидна и мутации согласуются с характерным типом наследования. Описаны случаи затруднения интерпретации полученных результатов. Ниже представлены 2 вероятных сценария [44].

**«Исчезнувший» второй аллель:** диагностируется только 1 патогенный/вероятно патогенный вариант при аутосомно-рецессивном типе наследования заболевания. Например, при мерозиннегативной мышечной дистрофии, так как около 10 % патогенных/вероятно патогенных вариантов, ответственных за развитие MDC1A1, являются крупными делециями/инсерциями, которые при использовании таргетной панели не определяются [23]. В этих случаях необходимо исследование методом MLPA. Другие причины «отсутствующего» второго аллеля — мутации в регуляторных областях гена, а также глубокие интронные мутации, не попадающие в область анализа, которые могут влиять на сплайсинг. Рекомендуются исследование кДНК в биоптате мышц или дермальных культурах фибробластов. Также важно подтверждать варианты, выявленные в гомозиготном состоянии, так как при секвенировании они не отличаются от таковых в гетерозиготном состоянии. Для этого возможен поиск протяженных делеций у пробанда или поиск данного варианта нуклеотидной последовательности у его родителей. Если интересующий вариант выявлен только у одного из родителей, возможно, данный вариант находится в гетерозиготном состоянии.

**Распознавание доминантных вариантов.** Наследование мутаций должно коррелировать с фенотипом и не противоречить аутосомно-доминантному типу наследования в семейных случаях. В спорадических случаях должен быть подтвержден статус *de novo*. При этом всегда следует учитывать возможность герминального или соматического мозаицизма при мутациях *de novo*, так как данная информация важна для дальнейшего планирования рождения здорового ребенка. Все варианты, описанные сегодня как патогенные при врожденной ламинарии (MDCL), являются доминантными. COL6-зависимые ВМД наследуются как по доминантному, так и по рецессивному типу. Для генетического консультирования и прогноза риска рождения больного ребенка необходимо решить, является ли обнаруженная мутация доминантной или в данном случае обнаружена только 1 из 2 рецессивных мутаций («исчезнувший» аллель). Следует помнить, что протяженные делеции и инсерции, а также глубокоинтронные мутации могут быть причиной

болезней с доминантным наследованием, но не выявляться большинством рутинных методов.

### Лечение врожденных мышечных дистрофий

Сегодня нет лечения ни одной из форм ВМД, однако имеются препараты на стадии клинических испытаний. Лекарственный препарат Omigapil прошел I фазу клинических испытаний и оказался безопасным и хорошо переносимым у детей и подростков (в исследование включены дети с болезнью Ульриха и мерозиннегативной ВМД) [45]. Ведутся исследования возможностей геномного редактирования при мышечных дистрофиях. Увеличение экспрессии гена-модификатора *LAMA1* с помощью системы CRISPR-dCas9 (система, используемая для направленного редактирования генома) у модельных мышей с ВМД (MDC1A1) приводит к уменьшению клинических симптомов, а также предотвращает их развитие в досимптомном периоде [46]. Разработана новая стратегия генной терапии с использованием линкерных белков при мерозиннегативной мышечной дистрофии [47, 48]. Представлены результаты исследований гликозилирования  $\alpha$ -дистрогликана, которые дают новые возможности для экспериментальной терапии. Ведутся исследования влияния экзогенного рибитола при ВМД с дефектом гликозилирования [4, 49].

В 2010 г. опубликован стандарт лечения больных с ВМД [50], который был доработан и представлен в отчете Подкомитета по разработке рекомендаций Американской академии неврологии в 2015 г. [51]. Стандарт лечения больных с ВМД положен в основу русскоязычного «Семейного руководства по медицинскому уходу при ВМД» [52], согласно которому пациенты с ВМД должны посещать клинику, специализирующуюся на лечении неврологических, нервно-мышечных болезней (в том числе ВМД) каждые 4–6 мес; дети с ВМД до 12 мес и дети с тяжелыми или прогрессирующими проблемами здоровья — каждые 3–4 мес. Поскольку у пациентов с ВМД возможны сочетания сопутствующих сердечно-сосудистых, желудочно-кишечных, неврологических, офтальмологических, ортопедических и легочных проявлений, необходим многопрофильный комплексный подход для проведения симптоматической терапии, единый для всех форм ВМД.

### Заключение

Врожденные мышечные дистрофии представляют собой фенотипически гетерогенную группу наследственных нервно-мышечных болезней, характеризующихся широким спектром сопутствующих проявлений наряду с мышечным поражением, среди которых важное место занимают ВМД-дистрогликанопатии, связанные с нарушением гликозилирования  $\alpha$ -дистрогликана. Патологические изменения могут развиваться внутриутробно, а также проявляться непосредственно после рождения

или в период раннего развития. У большинства форм тип наследования аутосомно-рецессивный, но в ряде случаев возможен аутосомно-доминантный. Клинические и параклинические методы имеют большое значение, но для окончательной постановки диагноза необходимо проведение молекулярно-генетического исследования. Последние годы секвенирование на основе MPS становится все более доступным для диагностики ВМД с обязательным сопоставлением результатов с данными клиники. В случаях отсутствия мутации, когда клинический диагноз настоятельно рекомендует определенную форму ВМД, необходимо провести исследование непокрытых экзонов. Если мутация не обнаруживается, то проводится анализ на наличие протяженных делеций/инсерций,

глубоких интронных изменений методами MLPA и геномного секвенирования.

Для ВМД-дистрогликанопатий сегодня нет этиопатогенетической терапии, но ведутся активные исследования, направленные на коррекцию разных уровней генной регуляции обсуждаемых состояний. Разработаны стандарты ведения пациентов с мультидисциплинарным подходом к коррекции дыхательных, сердечно-сосудистых, ортопедических и других нарушений.

Повышение информированности и настороженности относительно ВМД-дистрогликанопатий способствует своевременному семейному генетическому консультированию для планирования здорового потомства.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Godfrey C., Clement E., Mein R. et al. Refining genotype – phenotype correlations in muscular dystrophies with defective glycosylation of dystroglycan. *Brain* 2007;130 (10):2725–35. DOI: 10.1093/brain/awm212. PMID: 17878207.
- Endo T. Dystroglycan glycosylation and its role in alpha-dystroglycanopathies. *Acta Myol* 2007;26 (3):165–70. DOI: 10.1016/j.nmd.2010.07.007. PMID: 18646566.
- Endo T. Glycobiology of  $\alpha$ -dystroglycan and muscular dystrophy. *J Biochem* 2014;157 (1):1–12. DOI:10.1093/jb/mvu066. PMID: 25381372.
- Endo T. Mammalian O-mannosyl glycans: Biochemistry and glycopathology. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2019;95 (1):39–51 DOI: 10.2183/pjab.95.004. PMID: 30643095.
- Ivanov D., Novikova V., Pokhlebkina A. Congenital disorders of glycosylation. *Pediatriscian (St. Petersburg)* 2018;9:5–15. DOI: 10.17816/PED935–15.
- Yoshida-Moriguchi T., Campbell K.P. Matriglycan: a novel polysaccharide that links dystroglycan to the basement membrane. *Glycobiology* 2015;25 (7):702–13. DOI:10.1093/glycob/cwv021. PMID: 25882296.
- Kuwabara N., Manya H., Yamada T. et al. Carbohydrate-binding domain of the POMGnT1 stem region modulates O-mannosylation sites of alpha-dystroglycan. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(33):9280–5 DOI: 10.1073/pnas.1525545113. PMID: 27493216.
- Online Mendelian Inheritance in Man. URL: <https://www.omim.org>
- Ge L., Zhang C., Wang Z. et al. Congenital muscular dystrophies in China. *Clin Genet* 2019;96 (3):207–15. DOI: 10.1111/cge.13560. PMID: 31066047.
- Diesen C., Saarinen A., Pihko H. et al. POMGnT1 mutation and phenotypic spectrum in muscle-eye-brain disease. *J Med Genet* 2004;41 (10):e115. DOI: 10.1136/jmg.2004.020701. PMID: 15466003.
- Kobayashi K., Nakahori Y., Miyake M. et al. An ancient retrotransposon insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998;394 (6691):388–92. DOI: 10.1038/28653. PMID: 9690476.
- Dobyns W., Pagon R., Armstrong D. et al. Diagnostic criteria for Walker-Warburg syndrome. *Am J Med Genet* 1989;32 (2):195–210. DOI: 10.1002/ajmg.1320320213. PMID: 2494887.
- Godfrey C., Clement E., Mein R. et al. Refining genotype – phenotype correlations in muscular dystrophies with defective glycosylation of dystroglycan. *Brain* 2007;130 (10):2725–35. DOI: 10.1093/brain/awm212. PMID: 17878207.
- Gershoni-Baruch R., Mandel H., Miller B. et al. Walker-Warburg syndrome with microtia and absent auditory canals. *Am J Med Genet* 1990;37 (1):87–91 DOI: 10.1002/ajmg.1320370120. PMID: 2240049.
- Cormand B., Pihko H., Bayes M. et al. Clinical and genetic distinction between Walker-Warburg syndrome and muscle-eye-brain disease. *Neurology* 2001; 56 (8):1059–69. DOI: 10.1212/wnl.56.8.1059. PMID: 11320179.
- Beltran-Valero de Bernabe D., Currier S., Steinbrecher A. et al. Mutations in the O-mannosyltransferase gene POMT1 give rise to the severe neuronal migration disorder Walker-Warburg syndrome. *Am J Hum Genet* 2002;71 (5):1033–43. DOI: 10.1086/342975. PMID: 12369018.
- Kim D.S., Hayashi Y.K., Matsumoto H. et al. POMT1 mutation results in defective glycosylation and loss of laminin-binding activity in alpha-DG. *Neurology* 2004; 62 (6):1009–11. DOI:10.1136/jmg.2005.031963. PMID: 15037715.
- van Reeuwijk J., Janssen M., van den Elzen C. et al. POMT2 mutations cause alpha-dystroglycan hypoglycosylation and Walker-Warburg syndrome. *J Med Genet* 2005;42 (12):907–12. DOI: 10.1136/jmg.2005.031963. PMID: 15894594.
- Clement E., Mercuri E., Godfrey C. et al. Brain involvement in muscular dystrophies with defective dystroglycan glycosylation. *Ann Neurol* 2008;64 (5):573–82. DOI: 10.1002/ana.21482. PMID: 19067344.
- Rivier F., Meyer P., Walther-Louvie U. и др. Врожденные мышечные дистрофии: классификация и диагностика. *Нервно-мышечные болезни* 2014;1: 6–20. DOI: 10.17650/2222-8721-2014-0-1-6-14. [Rivier F., Meyer P., Walther-Louvie U. et al. Congenital muscular dystrophies: classification and diagnostic strategy. *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases* 2014;1:6–20. (In Russ.).]
- Чайсова П.А., Рыжкова О.П., Поляков А.В. Клинико-генетическая характеристика врожденных мышечных дистрофий (часть 1). *Нервно-мышечные болезни* 2020;10 (1):10–21. DOI: 10.17650/2222-8721-2020-10-1-10-21. [Chausova P.A., Ryzhkova O.P., Polyakov A.V. Clinical and genetic characteristics of congenital muscular

- dystrophies (Part 1). *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular diseases 2020*; 10 (1):10–21. (In Russ.).]
22. Vervoort V.S., Holden K.R., Ukadike K.C. et al. POMGnT1 gene alterations in a family with neurological abnormalities. *Ann Neurol* 2004;56 (1): 143–8. DOI: 10.1002/ana. 20172. PMID: 15236414.
  23. The Human Gene Mutation Database v. 20.20.2. URL: <https://portal.biobase-international.com>
  24. Toda T., Kobayashi K., Kondo-Iida E. et al. The Fukuyama congenital muscular dystrophy story. *Neuromuscul Disord* 2000;10 (3):153–9. DOI: 10.1016/S0960–8966 (99) 00109–1. PMID: 10734260.
  25. Beltran-Valero de Bernabe D., Voit T., Longman C. et al. Mutations in the FKRP gene can cause muscle-eye-brain disease and Walker-Warburg syndrome. *J Med Genet* 2004;41 (5):e61. DOI: 10.1136/jmg. 2003.013870. PMID: 15121789.
  26. Yoshioka M., Kuroki S. Clinical spectrum and genetic studies of Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 1994;53 (3):245–50. DOI: 10.1002/ajmg. 1320530309. PMID: 7856660.
  27. Silan F., Yoshioka M., Kobayashi K. et al. A new mutation of the fukutin gene in a non-Japanese patient. *Ann Neurol* 2003;53 (3):392–6. DOI: 10.1002/ana. 10491. PMID: 12601708.
  28. Cotarello R.P., Valero M.C., Prados B. et al. Two new patients bearing mutations in the fukutin gene confirm the relevance of this gene in Walker-Warburg syndrome. *Clin Genet* 2008;73 (2):139–45. DOI: 10.1111/j. 1399–0004.2007.00936. x. PMID: 18177472.
  29. Toda T., Yoshioka M., Nakahori Y. et al. Genetic identity of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and Walker-Warburg syndrome. *Ann Neurol* 1995;37 (1):99–101. DOI: 10.1002/ana. 410370118. PMID: 7818265.
  30. Yanagisawa A., Bouchet C., Van den Bergh P.Y. et al. New POMT2 mutations causing congenital muscular dystrophy: identification of a founder mutation. *Neurology* 2007;69 (12):1254–60. DOI: 10.1212/01. wnl. 0000268489. 60809. c4. PMID: 17634419.
  31. Yanagisawa A., Bouchet C., Quijano-Roy S. et al. POMT2 intragenic deletions and splicing abnormalities causing congenital muscular dystrophy with mental retardation. *Eur J Med Genet* 2009;52 (4):201–6. DOI: 10.1016/j. ejmg. 2008.12.004. PMID: 19138766.
  32. Mercuri E., Messina S., Bruno C. et al. Congenital muscular dystrophies with defective glycosylation of dystroglycan: a population study. *Neurology* 2009; 72 (21):1802–9. DOI: 10.1212/01. wnl. 0000346518.68110.60. PMID: 19299310.
  33. Louhichi N., Triki C., Quijano-Roy S. et al. New FKRP mutations causing congenital muscular dystrophy associated with mental retardation and central nervous system abnormalities. Identification of a founder mutation in Tunisian families. *Neurogenetics* 2004; 5 (1):27–34. DOI: 10.1007/s10048-003-0165-9. PMID: 14652796.
  34. MacLeod H., Pytel P., Wölmann R. et al. A novel FKRP mutation in congenital muscular dystrophy disrupts the dystrophin glycoprotein complex. *Neuromuscul Disord* 2007;17 (4):285–9. DOI: 10.1016/j. nmd. 2007.01.005. PMID: 17336067.
  35. Brockington M., Blake D.J., Prandini P. et al. Mutations in the fukutin-related protein gene (FKRP) cause a form of congenital muscular dystrophy with secondary laminin alpha2 deficiency and abnormal glycosylation of alpha-dystroglycan. *Am J Hum Genet* 2001; 69 (6):1198–209. DOI: 10.1086/324412. PMID: 11592034.
  36. Mercuri E., Brockington M., Straub V. et al. Phenotypic spectrum associated with mutations in the fukutin-related protein gene. *Ann Neurol* 2003;53 (4):537–42. DOI: 10.1002/ana. 10559. PMID: 12666124.
  37. Driss A., Amouri R., Ben Hamida C. et al. A new locus for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in a large consanguineous Tunisian family maps to chromosome 19q13.3. *Neuromuscul Disord* 2000;10 (4–5):240–6. DOI: 10.1016/S0960–8966 (00) 00099–7. PMID: 11592034.
  38. Svein M.L., Schwartz M., Vissing J. High prevalence and phenotype-genotype correlations of limb girdle muscular dystrophy type 2I in Denmark. *Ann Neurol* 2006;59 (5):808–15. DOI: 10.1002/ana. 20824. PMID: 16634037.
  39. Lommel M., Cirak S., Willer T. et al. Correlation of enzyme activity and clinical phenotype in POMT1-associated dystroglycanopathies. *Neurology* 2010; 74 (2):157–64. DOI: 10.1212/WNL. 0b013e3181c919d6. PMID: 20065251.
  40. Bello L., Melacini P., Pezzani R. et al. Cardiomyopathy in patients with POMT1-related congenital and limb-girdle muscular dystrophy. *Eur J Hum Genet* 2012;20 (12):1234–9. DOI: 10.1038/ejhg. 2012.71. PMID: PMC3499746.
  41. Biancheri R., Falace A., Tessa A. et al. POMT2 gene mutation in limb-girdle muscular dystrophy with inflammatory changes. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;363 (4):1033–7. DOI: 10.1016/j. bbr. 2007.09.066. PMID: 17923109.
  42. Gaina G., Manole E., Ionica E., Budisteanu M. Clinical and molecular diagnosis in muscular dystrophies. In book: *Muscular Dystrophies*, 2019. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen. 85339. URL: <https://www.intechopen.com/books/muscular-dystrophies/clinical-and-molecular-diagnosis-in-muscular-dystrophies>.
  43. Behjati S., Tarpey P.S. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2013;98 (6):236–8. DOI: 10.1136/archdischild-2013–304340. PMID: 23986538.
  44. Bonnemann C.G., Wang C.H., Quijano-Roy S. et al. Diagnostic approach to the congenital muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2014;24 (4):289–311. DOI: 10.1016/j. nmd. 2013.12.011. PMID: 24581957.
  45. Pinto D. Santhera's omigapil found safe and well-tolerated in young CMD patients in phase 1 trial. *Muscular Dystrophy News Today*, 2018. URL: <https://musculardystrophynews.com/2018/04/05/santhera-omigapil-safe-well-tolerated-cmd-children-phase-1-trial>.
  46. Kemaladewi D.U., Bassi P.S., Erwood S. et al. A mutation-independent approach for muscular dystrophy via upregulation of a modifier gene. *Nature* 2019;572(7767):125–30. DOI: 10.1038/s41586-019-1430-x. PMID: 31341277.
  47. Reinhard J.R., Lin S., McKee K.K. et al. Linker proteins restore basement membrane and correct LAMA2-related muscular dystrophy in mice. *Sci Transl Med* 2017;9(396):4649 DOI: 10.1126/scitranslmed.aal4649. PMID: 28659438
  48. Yurchenco P.D., McKee K.K. Linker protein repair of LAMA2 dystrophic neuromuscular basement membranes. *Front Mol Neurosci* 2019;12(305):1–10. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00305. PMID: 31920536.
  49. Cataldi M.P., Lu P., Blaaser A., Lu Q.L. Ribitol restores functionally glycosylated  $\alpha$ -dystroglycan and improves muscle function in dystrophic FKRP-mutant mice. *Nature Communications* 2018;9(1):3448. DOI: 10.1038/s41467-018-05990-z. PMID: 30150693.
  50. Wang C.H., Bonnemann C.G., Rutkowski A. et al. Consensus statement on standard of care for congenital muscular dystrophies. *J Child Neurol* 2010;25(12):1559–81. DOI: 10.1177/0883073810381924. PMID: 21078917.
  51. Kang P.B., Morrison L., Iannaccone S.T. et al. Evidence-based guideline summary: evaluation, diagnosis, and management of congenital muscular dystrophy: report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology and the practice issues review panel of the American association of neuromuscular & Electro-diagnostic medicine. *Neurology* 2015;84(13):1369–78. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001416. PMID: 25825463.
  52. Wang C.H., Bonnemann C.G., Rutkowski A. et al. Семейное руководство по медицинскому уходу при врожденной мышечной дистрофии, 2010. [Wang C.H., Bonnemann C.G., Rutkowski A. et al. Family care guide for congenital muscular dystrophy, 2010. (In Russ.)]. URL: <https://f-sma.ru/biblioteka/316>.

**Вклад авторов:**

П.А. Чаусова: сбор данных, анализ литературы, написание текста, представление рисунков и таблиц;

О.П. Рыжкова: структурирование, обсуждение, редактирование, правка;

А.В. Поляков: планирование структуры рукописи, обсуждение текста.

**Authors' contributions**

P.A. Chausova: data collection, analysis of literature, writing, presentation of figures and tables;

O.P. Ryzhova: structuring, discussion, editing, revision;

A.V. Poliacov: manuscript structure planning, discussion of text.

**ORCID авторов/ORCID authors'**

П.А. Чаусова/P.A. Chausova: <https://orcid.org/0000-0002-0431-1477>

А.В. Поляков/A.V. Polyakov: <https://orcid.org/0000-0002-0105-1833>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Financing.** The article was written without sponsorship.