

Дисферлинопатии: проблема за пределами дистальных миопатий*

J. Andoni Urtizberea

Госпиталь Марэн Андэ

Контакты: andoni.urtizberea@hnd.aphp.fr

Перевод: М.О. Ковальчук

Дисферлинопатии представляют собой фенотипически гетерогенную группу нервно-мышечных заболеваний. Впервые они были описаны японским автором Миоши как дистальная форма мышечной дистрофии. С тех пор их клинический спектр постоянно расширяется и включает как проксимальную форму (LGMD 2B), так и практически асимптомные случаи, диагностируемые лишь по гиперкреатинфосфокиназемии. Клинический осмотр, мышечная визуализация и иммуногистохимический анализ (включая Western Blot) — необходимые исследования, предваряющие молекулярную диагностику мутантного гена *DYSF*. Для дисферлинопатий не характерна корреляция генотип–фенотип, в связи с чем спектр обнаруживаемых мутаций крайне велик, а определение характера течения заболевания затруднительно, хотя в целом развитие болезни достаточно медленное. Патофизиология дисферлинопатий становится более понятной после объяснения двух феноменов: дисфункции системы репарации мембраны, в которой дисферлин играет важную роль, и чрезмерного воспалительного ответа с участием факторов комплемента и иммунокомпетентных клеток. Исследование этих двух вопросов позволит в будущем разработать соответствующие лечебные подходы.

Ключевые слова: дисферлинопатии, дисферлин, миопатия Миоши, дистальная миопатия, дистальная миопатия с первичным поражением переднего ложа голени, LGMD 2B, мышечная дистрофия, мембранная репарация, минидисферлин

Дисферлин относится к мембранным белкам, его основной функцией является участие в репарации мышечной мембраны. Он является объектом изучения как с фундаментальных, так и с терапевтических позиций. Сегодня понятие «дисферлинопатия» (ДП) объединяет как минимум 4 клинических фенотипа: дистальная миопатия Миоши, аутосомно-рецессивная мышечная дистрофия типа 2B, дистальная миопатия переднего ложа голени (DMAT) и так называемые проксимально-дистальные формы. К этой категории болезней также приближаются некоторые формы гиперкреатинфосфокиназемии (гиперКФКемии) и псевдометаболические синдромы. ДП чаще выявляются во взрослой популяции и характеризуются дефицитом дисферлина разной степени.

История вопроса

Впервые ДП была описана японским исследователем Миоши в 60-х годах XX столетия, хотя сам термин вошел в литературу значительно позже — в 1998 г. Первые публикации были на японском языке, и для широкой научной общественности они оставались неизвестными [1]. В последующем были систематизированы случаи дистальной формы мышечной дистрофии в семьях, проживающих вблизи Внутреннего Японского моря [2]. Главной клинической особенностью данной мышечной дистрофии был дистальный

характер поражения мышц ног. Европейские и североамериканские исследователи описали схожие случаи, что указывало на повсеместную распространенность данной «новой» формы миопатии. Аутосомный тип наследования, относительно поздний дебют, избирательность поражаемых мышц ног, значимое повышение креатинфосфокиназы (КФК), отчетливые дистрофические и воспалительные проявления в мышцах — все перечисленные симптомы были выбраны в качестве диагностических критериев, что позволило дифференцировать данную форму от прочих дистальных миопатий, описанных Веландером, Нонака, Маркесбери и Григгсом, а позднее и Уддом.

В 1990-е годы многие исследователи занимались поиском гена, ответственного за миопатию Миоши. Для начала совместные исследования позволили локализовать ген данной миопатии на хромосоме 2p в том же локусе, что и ген аутосомно-рецессивной мышечной дистрофии (LGMD 2B) [3].

В 1998 г. после ожесточенного соперничества между группами Роберта Брауна в Бостоне и Кейт Башби в Ньюкасле при активном участии французских исследователей независимо друг от друга обе конкурирующие группы клонировали ген *DYSF* [3, 4]. Необходимо отметить, что французский пациент — носитель гомозиготной stop-мутации гена *DYSF* наблюдался Мишелем Фардо в Институте миологии в Париже. Этот

*Печатается с разрешения автора. Оригинальная статья «Les dysferlinopathies: au-delà des myopathies distales» опубликована в журнале «Les cahiers de myologie», 2011, № 4.

случай стал поворотным моментом для доказательства участия данного гена в развитии миопатии Миоши.

Оказалось, что ген *DYSF* кодирует ранее неизвестный мышечный протеин дисферлин, который получил свое название от белка ферлина, обнаруженного у круглого червя *C. elegans* и участвующего в процессе оплодотворения и репродукции, кодируемом геном *FER-1*.

Применение Луизой Андерсон полуколичественных методик, в том числе Western Blotting, в изучении дисферлина и большая доступность просмотра гена *DYSF* позволили позже продемонстрировать расширяющийся клинический спектр ДП.

Помимо миопатии Миоши и аутосомно-рецессивной мышечной дистрофии типа 2В, мутации были также обнаружены и в «переходных» формах — так называемых проксимально-дистальных, дистальной миопатии переднего ложа (DMAT) [5] и при некоторых формах гиперКФКемии [6].

В связи с упрощением диагностики стало очевидно, что распространенность ДП значительно выше, чем предполагалось ранее. Среди них миопатия Миоши — наиболее часто встречаемая форма дистальной миопатии. Из-за отсутствия всеобщего национального регистра пока невозможно определить точное число пациентов с ДП. Тем не менее база данных по мутациям UMD-DYSF, созданная в Марселе совместно с североамериканской ассоциацией больных Jain Foundation, содержит как минимум данные о 150 пациентах во Франции и о 600 — во всем мире. ДП больше распространены в странах, для которых традиционны близкородственные браки, такие как Магриб, страны Ближнего Востока (например, Иран) и полуострова Индостан, в которых ДП могут составлять до 30 % аутосомно-рецессивных случаев мышечной дистрофии взрослых. Распределение ДП на отдельные формы в зависимости от симптоматики варьирует по данным разных исследований: тем не менее дистальная миопатия типа Миоши и аутосомно-рецессивная мышечная дистрофия типа 2В по-прежнему составляют подавляющее большинство — от 80 до 90 % случаев.

Разнообразие клинической картины

В большинстве случаев основными клиническими признаками ДП являются прогрессирующая мышечная слабость и крайне избирательная мышечная атрофия. Чаще всего заболевание отчетливо проявляется и начинает прогрессировать после 20 лет, принимая разные фенотипические формы [7].

Дистальная миопатия Миоши — наиболее типичная и распространенная форма ДП. Большинство пациентов жалуются на прогрессирующее нарушение походки, возникшее в подростковом возрасте, реже в более ранние годы. В редких случаях болезнь проявляется после 40 лет. Доминирует поражение голени и стоп. Характерные жалобы в дебюте болезни заключаются в трудности при вставании на пальцы, слабости при

ходьбе на носках. На начальной стадии симптоматика часто может касаться только одной конечности. Достаточно быстро икроножные мышцы уменьшаются в объеме и теряют привычные очертания, в конечном итоге они атрофируются (рис. 1). Нарастающие сложности при вставании на носки приводят к тому, что пациенты начинают активно стаптывать каблук, что приводит, по образному выражению Монги Бен Хамида (Институт Рабата в Тунисе), к развитию «симптома домашних туфель или тапочек».

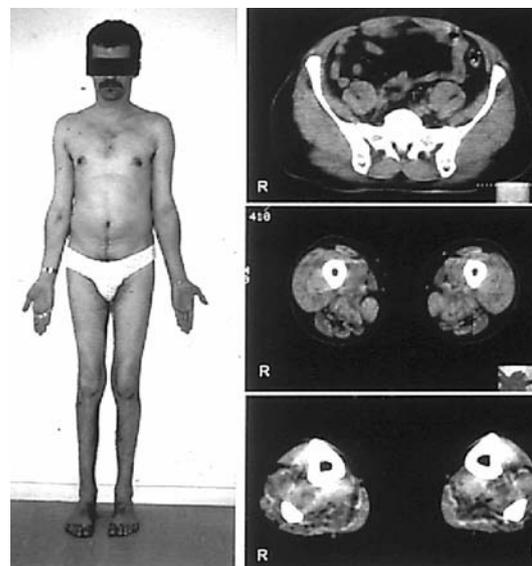


Рис. 1. Внешний вид пациента с дистальной миопатией Миоши и результаты МРТ-исследования скелетных мышц тазового пояса и бедер

Иногда пациент обеспокоен снижением объема обеих икроножных мышц, развившимся в течение нескольких дней или недель. Особенно это характерно для лиц с хорошей спортивной подготовкой, что на удивление широко распространено среди больных миопатией Миоши. В некоторых случаях обнаруживается ложная псевдофлебическая картина в виде болевого синдрома, отека в области икроножных мышц и локальных воспалительных изменений [8].

На начальных стадиях изменений со стороны других мышц, как правило, не выявляется. Сгибатели и разгибатели пальцев стоп долго остаются интактными. В ходе заболевания в патологический процесс могут вовлекаться мышцы задней поверхности бедра и в меньшей степени ягодиц, а также мышцы запястий и пальцев. При этом мышцы, фиксирующие лопатку, не страдают, что определяет отсутствие симптома «крыловидной лопатки». Несмотря на умеренный дефицит функции мышц сгибателей плеча, в области короткой головки атрофированной двуглавой мышцы плеча формируется специфический и непостоянный феномен, проявляющийся только при сгибании и названный Мишелем Фардо «симптом шарика» (рис. 2), причина развития которого до сих пор остается неизвестной [9].

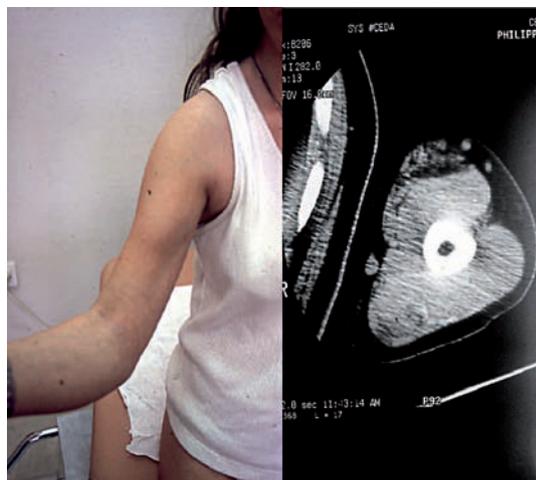


Рис. 2. Фото плеча и МРТ-снимок плечевых мышц. NB! «Шарик», образуемый бицепсом плеча, и его избирательное поражение, видимое при МРТ-исследовании

Аутосомно-рецессивная мышечная дистрофия типа 2В (LGMD 2В) гораздо более редкая форма ДП, при которой преобладают изменения мышц преимущественно тазового пояса. Возраст манифестации заболевания более вариабелен, чем при миопатии Миоши. В дебюте жалобы достаточно стереотипны: неловкость при ходьбе или подъеме по лестнице, иногда падения. Боль в мышцах встречается еще реже. Возможно сочетание дистального поражения с вовлечением мышц тазового пояса. На развернутой стадии симптоматика схожа с проксимально-дистальной формой. В некоторых больших семьях многими авторами отмечено сочетание клинической картины типа Миоши и LGMD 2В [10, 11], порой даже среди двоюродных братьев и сестер [12].

Дистальная миопатия с первичным поражением передней группы мышц голени. В 2001 г. Изабель Илла описала довольно редкий вариант ДП с первичным поражением передней группы мышц голени. Сегодня эта форма известна под названием DMAT (англ. *distal myopathy with anterior tibialis onset* — дистальная миопатия с первичным поражением передней группы мышц голени) или DACM (англ. *distal anterior compartment myopathy* — дистальная миопатия передней группы мышц голени). Моторный дефицит проявляется в первую очередь свисающей стопой и степпажем [5]. По мере развития болезни изменения мышц распространяются и на заднюю группу голени. При этой форме пациентов сначала ошибочно квалифицируют как больных с болезнью Шарко–Мари–Тута или дистальной миопатией типа Нонака. Миопатия Миоши и DMAT могут сосуществовать в одной семье. Так, одному из членов каталанской семьи первый диагноз (миопатия Миоши) был поставлен в Париже, а другому в Барселоне подтвержден РМАТ.

Проксимально-дистальные формы — это формы, при которых сочетаются 2 выше описанных фенотипа — дистальный и проксимальный. Подобная комби-

нированная анатомическая топография становится очевидной по мере прогрессирования болезни. Эта форма особенно трудна для диагностики и нередко приводит к постановке ошибочных диагнозов.

Другие клинические формы. Относительное упрощение изучения дисферлина на мышечных срезах или методом Western Blotting позволило выявить дефицит дисферлина в различных случаях (рис. 3). Так, некоторые изолированные гиперКФКемии, выявленные при рутинном биохимическом анализе крови, связаны с мутацией гена *DYSF*. Схожая ситуация наблюдается при определенных формах, называемых псевдометаболическими миопатиями, при которых ведущим симптомом является непереносимость нагрузок. Также это

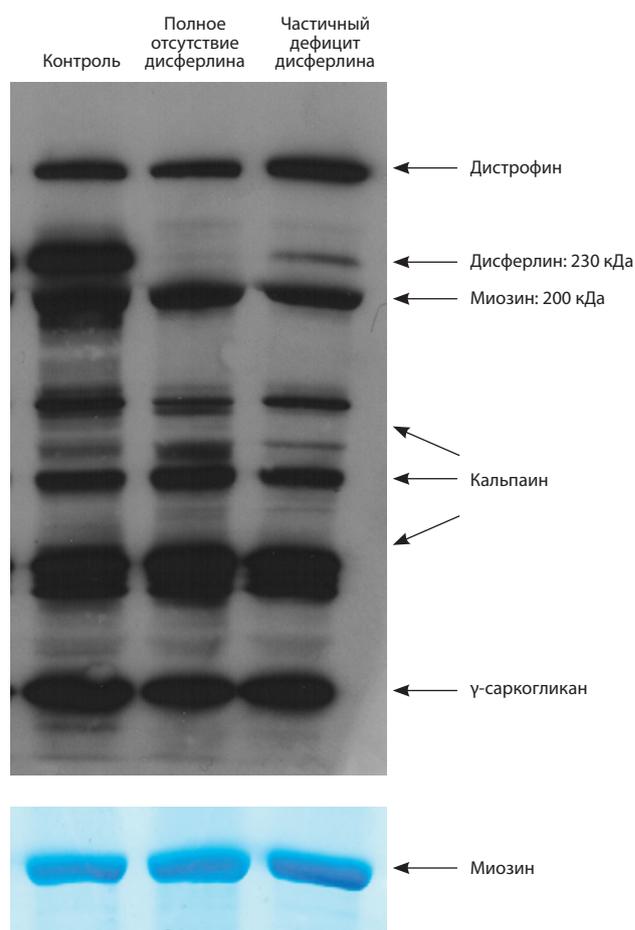


Рис. 3. Western-blot multiplex биоптата мышцы

актуально для некоторых, крайне специфических гетерозиготных случаев, при которых симптоматика развивается особенно медленно в виде крампи, миалгий и значительно реже — очевидного мышечного дефицита. Наконец, имеются 2 полярных по времени развития варианта: ДП у очень маленьких детей и ДП у людей старческого возраста. Эксклюзивным остается случай врожденной формы, описанной группой исследователей из Госпиталя Сан Пау в Барселоне [13].

Вместе с тем имеется наблюдение брата и сестры с ранней гипотонией и умеренной задержкой двигательных навыков. Дети начали ходить в среднем в возрасте 19 мес. Удивительно, что у пациентов уровень КФК оставался нормальным до 3-летнего возраста. Генетическое исследование обнаружило гомозиготную stop-мутацию.

Jain Foundation — некоммерческая ассоциация с главным офисом в штате Вашингтон, США, основана американской семьей с индейскими корнями, страдающей миопатией Миоши. Ассоциация стимулирует и финансирует фундаментальные исследования и поиски терапии в области ДП и также ежегодно проводит специализированный конгресс по ДП в США. Создан интернет-сайт www.jain-foundation.org, содержащий множество полезной информации, Jain Foundation проводит электронную международную регистрацию больных с данной патологией. Ассоциация активно участвует в протоколе по клиническому исследованию, посвященному описанию хода развития ДП.

...И множество диагностических ошибок

ДП продолжают оставаться причиной многих диагностических ошибок. С одной стороны, потому, что симптоматика может быть обманчивой, с другой — из-за недостаточной осведомленности большинства врачей в области данной патологии. Это приводит к тому, что диагностический поиск для большинства пациентов растягивается на многие годы.

Примерно в 1/3 случаев воспалительные изменения в биоптате при данной форме миопатии приводили к ошибочному диагнозу полимиозита [6, 9]. Часто пациентам назначают терапию кортикостероидами и/или иммуносупрессорами, которая, естественно, является неэффективной. Отсутствие положительной реакции на лечение чаще всего и является основанием для пересмотра диагноза.

В более редких случаях, когда речь идет о мышечном дефиците в стопе (свисающая стопа), в первую очередь предполагают боковой амиотрофический склероз или болезнь Шарко—Мари—Тута. Мышечная биопсия, данные электромиографии (ЭМГ) и повышение КФК, к счастью, помогают быстро разрешить спорный вопрос.

Другие клинические проявления

С учетом преимущественно позднего развития первых симптомов (в среднем в 20 лет) риск ортопедических деформаций при ДП в целом низкий. Однако могут обнаруживаться, особенно у больных, использующих инвалидное кресло, костно-сухожильные ретракции лодыжек, коленей и/или бедер. Такие признаки, как деформации позвоночника (кифоз, сколиоз) или грудной клетки, не характерны для ДП. В отличие от других миопатий (дистрофинопатии,

мышечной дистрофии Эмери—Дрейфуса и др.), при которых изменения со стороны сердца почти обязательны, при ДП кардиомиопатии наблюдаются в исключительно редких случаях. Симон Спулер недавно описал кардиомиопатию у менее чем 10 больных, осмотренных в Германии, что не согласуется с результатами французских и северо-американских исследований [14]. Несмотря на все вышесказанное, всегда следует оценивать состояние сердечной деятельности в динамике. Патология со стороны легких также не характерна для ДП, особенно для миопатии Миоши, при которой локализация мышечного поражения слишком удалена от органов дыхания. В случаях аутосомно-рецессивной мышечной дистрофии типа 2В, приковывающей пациента к инвалидному креслу, может наблюдаться умеренное снижение жизненной емкости легких, не требующее вспомогательной респираторной поддержки.

В литературе, отражающей изучение ДП, не описаны такие осложнения, как нарушение глотания, изменение фонации, поражения центральной нервной системы или когнитивных расстройств. Эти симптомы считаются критериями исключения данной патологии.

Ключевое исследование — мышечная биопсия

Дополнительные обследования, назначаемые при первых подозрениях на имеющуюся мышечную патологию, часто обладают ориентировочной ценностью. В рамках дистальной миопатии значительное повышение КФК (в 50 раз больше нормы) — веское основание для исключения миопатии Миоши. ЭМГ-исследования оказываются мало информативными и практически не способствуют установлению диагноза. При ЭМГ обычно ожидается наличие миопатического паттерна, который не выявляется при выраженных дистально расположенных атрофиях. В сомнительных случаях ЭМГ-исследование помогает дифференцировать уровень поражения — мышечные волокна или периферические нервы (например, при наследственной сенсомоторной нейропатии).

В последнее время новые возможности нейровизуализации мышц сделали магнитно-резонансную томографию (МРТ) практически обязательным исследованием. МРТ позволяет анализировать топографию мышечных изменений и, следовательно, избирательность вовлечения тех или иных мышечных групп. При миопатии Миоши патология икроножных мышц слишком отчетливая, хотя и неспецифичная (см. рис. 1). Поражение может обнаруживаться за счет 2 составляющих задних групп мышц нижних конечностей: икроножных мышц и 2 близнецовых мышц таза (*mm. gemelli superior et inferior*). Через несколько лет прогрессирования заболевания тот же феномен обнаруживается в заднем ложе бедер, затем и в мышцах ягодиц. При других формах топография поражения меняется за счет передних мышц

голеней. Специфическая атрофия бицепса может быть объективизирована таким же способом.

Режимы STIR/Flair MPT позволяют оценить выраженность воспаления и его распространенность в клинически интактных областях [15].

Отсутствие широко экспрессируемого в циркулирующих моноцитах дисферлина может быть определено при помощи анализа образца крови методом Western Blotting. Это исследование, обладающее высокой диагностической информативностью, должно проводиться с особой тщательностью в соответствии с четким протоколом. Полученные образцы следует направлять в генетическую лабораторию не позже 48 ч от момента забора.

В подавляющем большинстве ключевым исследованием для постановки диагноза остается мышечная биопсия. Биоптат следует брать из одной из икроножных мышц в случае их умеренного поражения либо из дельтовидной или четырехглавой мышцы.

Мышца выглядит дистрофичной, с множеством некротизированных мышечных волокон при отсутствии очерченных вакуолей. Выявляются и признаки регенерации. Часто обнаруживаются воспалительные инфильтраты, состоящие в основном из скоплений макрофагов вокруг сосудов и в эндомизии. Экспрессию дисферлина изучают в мышечном срезе с помощью специфических антител (тип *Гамлет*). В большинстве случаев обнаруживают полное отсутствие дисферлина. Реже наблюдают сниженную или мозаичную активность. Рутинно, а также в сомнительных случаях с помощью методики Western Blotting подтверждают отсутствие дисферлина в мышечном биоптате более формальным образом (см. рис. 3). Тем не менее во Франции ее использует лишь ограниченное число лабораторий (Госпиталь Кошан в Париже, лаборатории в Марселе, в Лионе и Лиле).

Наконец, могут обнаруживаться отложения компонента. В отличие от воспалительных миопатий анти-HLA I класса отрицательны. Многие исследователи из США и Германии обнаружили также отложения амилоида, патогенетическое значение которого остается неясным [16, 17].

Поиск генетических мутаций

Диагностика ДП в конечном итоге основана на подтверждении дефицита дисферлина и обнаружении патологии гена *DYSF*.

Предположение о характере заболевания, основанное на выше перечисленных признаках (клиническая картина, отчетливая MPT-визуализируемая патология мышц, дефицит дисферлина в моноцитах и мышцах), позволяет провести анализ гена *DYSF*. Единственная генетическая лаборатория во Франции, владеющая данной методикой, — это госпиталь Тимон в Марселе. Учитывая большой размер гена и чрезвычайно широкое распространение генетических аномалий, при первом анализе нередко обнаруживают лишь 1 из

2 мутаций. В такой ситуации необходимо получить РНК-мессенджеры из биоптата, чтобы дополнить исследование.

Антитела Гамлет

Биохимик из Ньюкасла (Великобритания) Луиза Андерсон предложила назвать антитела, используемые для визуализации дисферлина, именем шекспировского героя, произнесшего знаменитую фразу: «Быть или не быть». От английского *To be or not to be* был образован научный термин «2B or not 2B».

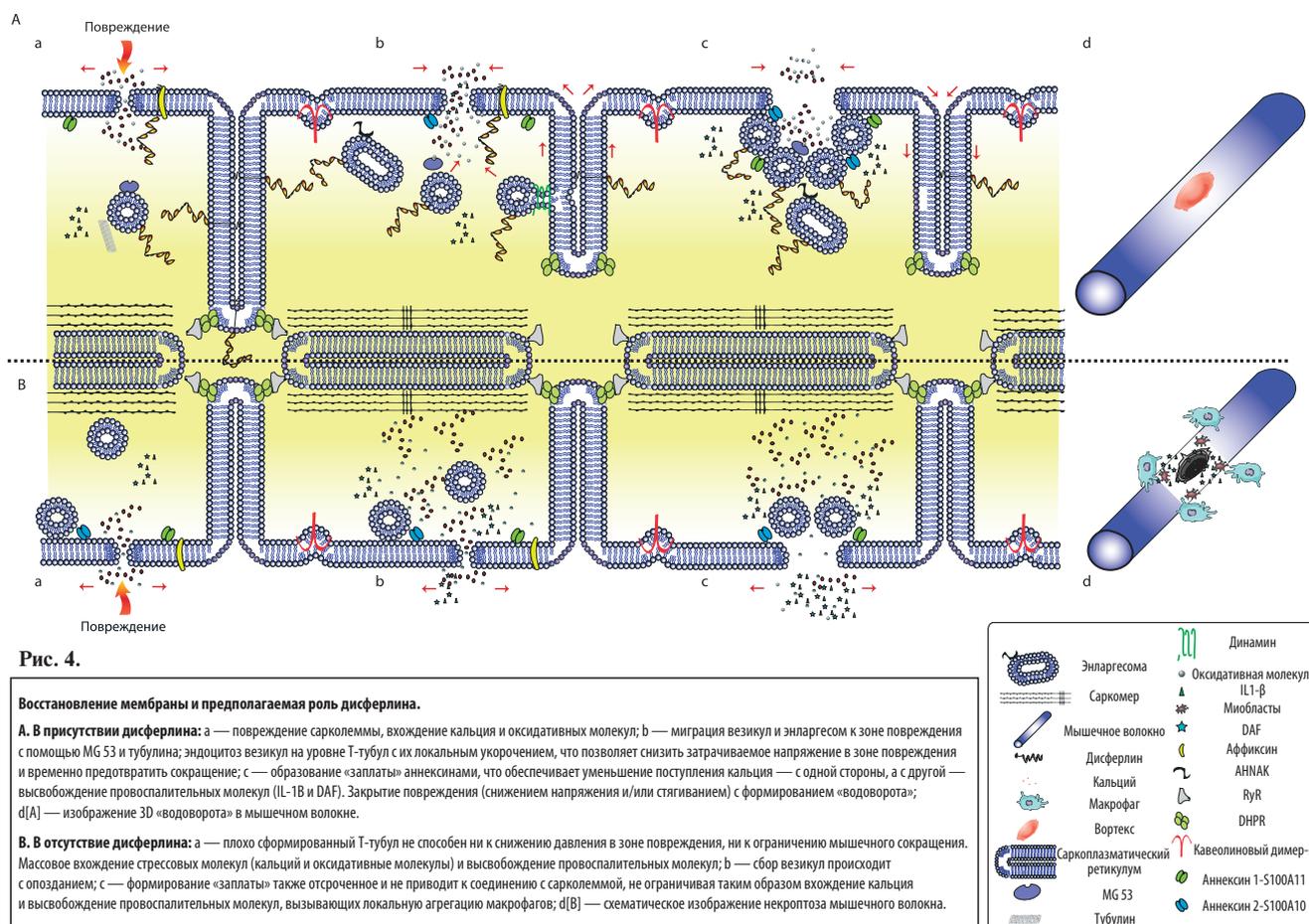
Мутации гена *DYSF* характеризуются высокой (> 200) вариабельностью [18, 19]. Преимущественно идентифицируют точечные мутации и инсерции/делеции нескольких нуклеотидов, реже — делеции части гена. Существует несколько мутаций, называемых «основоположники», которые обнаруживают в сообществах с близкородственными браками у евреев в Израиле, в нескольких семьях региона Кастильон в Испании и в небольшой группе пациентов из Японии. В этих этнических и географически изолированных группах с кровосмешением нередко наблюдают появление ДП через несколько поколений, что подтверждает феномен псевдодоминирования.

В нескольких семьях в Израиле, в основном в подгруппах родом с Кавказа, были выявлены гетерозиготные лица. В таких случаях, как правило, отсутствуют симптомы болезни. Наряду с этим группа исследователей из Барселоны описала несколько случаев с непродолжительными мышечными болями, стойким умеренным повышением КФК и минимальным дефицитом дисферлина в моноцитах.

Дифференциальная диагностика и ложноположительный результат

Подтвердить диагноз ДП часто трудно, и обычно приходится рассматривать альтернативные диагнозы. Селективность мышечного поражения клинически может отсутствовать или быть менее заметной на развернутых стадиях болезни. В случаях, когда клиническая картина описывается как поясная миопатия, могут обсуждаться все другие формы мышечной дистрофии, включая LGMD 2B, при которой отсутствует явная селективность, за исключением возможного добавления дистального компонента. Кроме того, следует всегда иметь в виду вероятность фенотипического наложения при первичном дефиците кальпаина (LGMD 2A).

При Миоши-подобной картине, особенно в спорадических случаях, следует исключать иные причины дистальной миопатии. Для большинства из них (ZASP, титин, десмин, миотилин) сегодня существуют генетические маркеры, позволяющие их дифференцировать. Тип наследования, чаще всего нормальный уровень КФК и аномалии, обнаруженные в биоптате мышц (на-



личие или отсутствие очерченных вакуолей, отсутствие признаков воспаления) являются критериями отличия. Недавнее открытие мутаций в гене аноктамина 5 способно облегчить диагностику дистальной миопатии Миоши при отсутствии мутации *DYSF*, так как при дистальных миопатиях клинические и биологические фенотипы могут почти полностью совпадать.

Дифференциация с полимиозитом сегодня больше не актуальна. Иммуногистохимический анализ маркеров воспаления и мембранных белков, также как и Western blot-анализ, сегодня наиболее используемые методики в центрах нервно-мышечной патологии.

Более сложный вопрос — достоверная диагностика ДП при наличии незначительного уменьшения активности дисферлина в мышце, что может наблюдаться как при истинной ДП (с частичным дефицитом дисферлина), так и при других мышечных дистрофиях, например кальпаинопатиях (LGMD 2A) или кавеолинопатиях (LGMD 1C). Снижение уровня дисферлина в моноцитах должно насторожить исследователя.

Генетическое исследование не всегда позволяет выявить аномалии в гене *DYSF*, т. к. анализ последнего крайне сложен. При возникновении трудностей в ходе молекулярной диагностики полный скрининг гена аноктамина, несомненно, будет исключительно информативным.

Направленность исследований

Исследования ДП значительно ускорились с момента открытия в 1998 г. ответственного большого гена, который расположен на коротком плече 2-й хромосомы и состоит из 55 экзонов для кодирующей последовательности в 6,4 килобазы [7]. Мутации этого гена приводят к снижению или полному отсутствию продукции дисферлина, а также к нарушению его структуры. В 95% семейных и спорадических случаев биологически доказанной ДП ответственность несет ген *DYSF*.

Число мутаций практически равно числу выявленных пораженных лиц, что препятствует изучению корреляций генотип—фенотип. Ген *DYSF* кодирует дисферлин — белок большого размера (2080 аминокислот), содержащий 2 домена C2, взаимодействующих с кальцием. Дисферлин также связан с другими белками — кальпаином, кавеолином, аннексинами и АННАК (человеческий нуклеопротеин, ассоциированный с нейробластной дифференцировкой; синоним *десмиокин*). Будучи расположенным в непосредственной близости к сарколемме, а также находясь в цитоплазме рядом с Т-трубочками, в случае повреждения клетки или вследствие повышенного механического воздействия дисферлин участвует в процессах репарации сарколеммы (рис. 4) [20]. Предполагается его роль в мембранном переносе при эндо- или экзоцитозе.

Вариабельное течение болезни

Скорость развития и течение ДП крайне вариабельны, но в целом достаточно медленные. Классический возраст дебюта болезни — около 20 лет. Тем не менее имеются описания более ранней манифестации, в исключительных случаях — в детстве или, напротив, в более позднем возрасте — старше 60 лет. При миопатии Миоши изменение ходьбы и затруднение при вставании на пальцы в большинстве случаев постепенно прогрессирует, но другие группы мышц, как правило, вовлекаются в патологический процесс очень медленно. Могут затрагиваться передние и латеральные (малоберцовые) отделы голени, а также мышцы бедер и таза, реже мышцы верхних конечностей. В исключительных случаях прогрессирование заболевания приводит к инвалидизации и использованию инвалидного кресла. При аутосомно-рецессивной мышечной дистрофии типа 2В (LGMD 2В) процесс распространяется на икроножные мышцы, приводя к клинической картине, называемой проксимально-дистальной миопатией. В среднем через 15 лет прогрессирования заболевания существует риск утраты самостоятельной ходьбы.

Более гипотетична теория его воздействия при растворении мембран миобластов. Данная гипотеза была выдвинута по аналогии с другими белками семейства ферлинов.

Доступно множество спонтанных или трансгенных моделей ДП, в частности у летучих мышей. Естественные модели *A/J* и *SJL/J* схожи с человеческим вариантом заболевания. Трансгенные летучие мыши были выведены для инактивации гена *DYSF*. Культуры человеческих миобластов здоровых добровольцев и больных лиц используются для изучения феноменов мембранной репарации и/или их дисфункции. Биоинформативные исследования при помощи микрочипов разработаны для определения одного или нескольких дифференциальных профилей генной экспрессии [21].

Актуальным остается предположение о существовании 2-го или 3-го гена, ответственного за ДП. Несколько очень редких семей с фенотипом Миоши и дефицитом дисферлина не связаны с хромосомой 2. В одном голландском исследовании указывается на участие 10-й хромосомы, но этот факт не был подтвержден другими исследователями [22].

Совсем недавно другой ген, кодирующий аноктамин, был назван определяющим при клинических проявлениях, близких к миопатии Миоши, а также при определенных формах поясных дистрофий [23]. Аноктамин принадлежит к семейству белков, ассоциированных с ионными каналами. Вполне возможно, что другие члены этого семейства могут предоставить гены-кандидаты для ДП без идентифицированного гена.

Остается загадкой хронология и специфическая избирательность мышечного поражения при ДП. Почему и каким образом мышца способна к нормальному функционированию до подросткового возраста? Почему

икроножные мышцы преимущественно поражаются при миопатии Миоши, а при форме LGMD 2В нет?

Еще более странным представляется сосуществование в некоторых семьях 2 клинических форм миопатии, при том, что все пациенты — носители идентичной генетической патологии. Компенсаторные феномены, такие как репозиция на другие гены, а также эпигенетические факторы, возможно экзогенные, могли бы объяснить эти удивительные различия в проявлении болезни.

Воспалительные феномены при ДП, которые порой выходят на первый план и обуславливают диагностические ошибки, по-прежнему до конца неясны [24]. Воспалительные изменения также возникают вследствие сложных патологических процессов и, часто в меньшей степени выраженности, встречаются и при других мышечных дистрофиях (дистрофинопатии, фасцио-скапуло-гумеральной мышечной дистрофии). Одной из первых стадий патологического процесса может быть локальная эозинофильная реакция, но, похоже, она не является специфичной для ДП [25].

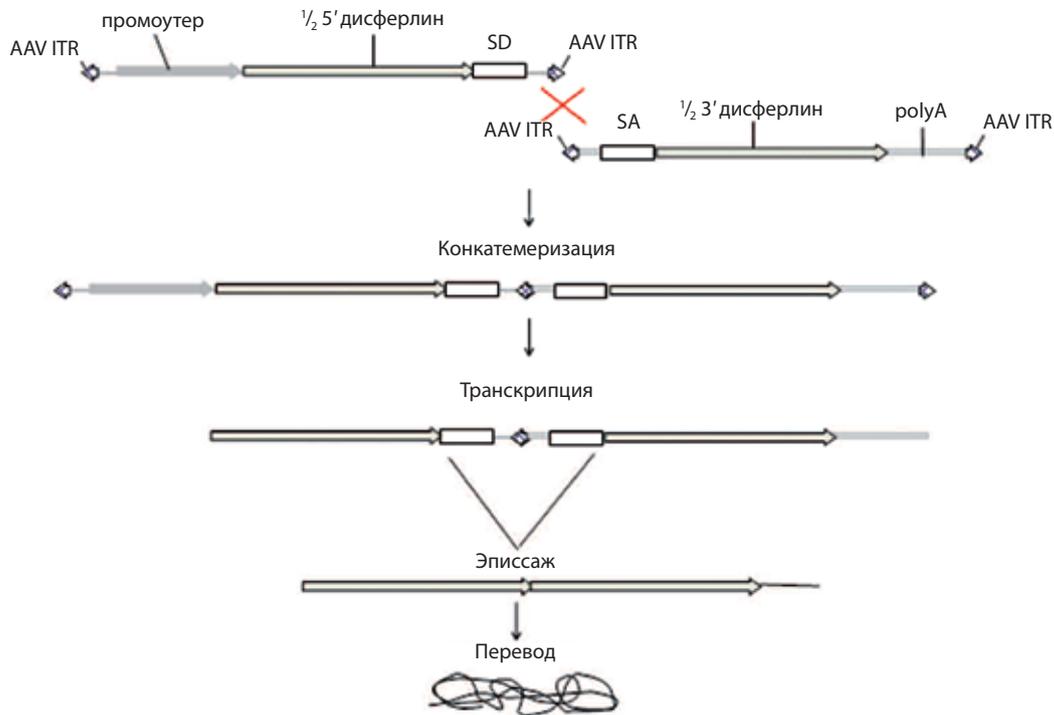
Терапевтические возможности

В настоящее время разрабатываются 2 основных терапевтических направления: возможность репарации мембраны и иммунологический подход.

Генная терапия ДП разрабатывается несмотря на исключительно большой размер гена *DYSF*, что а priori является почти неустранимым препятствием. В последние 2 года достигнут прогресс в двух направлениях. Обнаружение группой исследователей из университетского госпитального центра в Марселе у взрослой пациентки мини-дисферлина в значительной мере позволило осуществить частичное восстановление фенотипа в дисферлиндефицитной модели летучей мыши. Это исследование проводилось совместно с исследователями из группы Генетон. Независимо от этого открытия Изабель Ришар и соавт. (группа Генетон Эври) осуществили попытку повторного внутриклеточного введения гена *DYSF*. Это было сделано с помощью вторичного сцепления обеих половин гена, перенесенных в 2 независимых вирусных векторах (рис. 5).

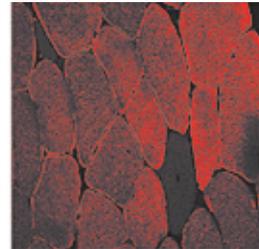
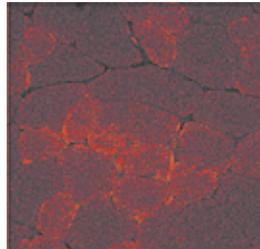
Следует отметить, что подход с использованием экзонного скачка, по крайней мере теоретически, может быть использован при некоторых мутациях гена *DYSF*. Данные экспериментальные исследования, проводимые в Марселе, вселяют определенные надежды на будущее. На подходе экспериментальные исследования, проводимые с РТС124 в рамках вынужденного транссчитывания stop-мутации гена *DYSF*.

Другая большая область исследования касается анализа воспалительного феномена, часто обнаруживаемого в мышцах при ДП. Воспаление было воспроизведено на модели заболевания у летучей мыши, так как мыши линии *SJL/J* долгое время рассматривались как лучшая экспериментальная модель аутоиммунной воспалительной миопатии.



Иммунофлуоресцентное маркирование дисферлина

Дисферлин-дефицитная мышца
мышца с отсутствием
маркировки



Дисферлин-дефицитная мышца
мышца после
перемещения гена
дисферлина
посредством AAV
демонстрирует почти
полную сохранность
волокон

Рис. 5. Успешно проведенная экспериментальная инновационная генная терапия с применением принципа конкатемеризации гена дисферлина, предварительно разделенного на 2 части

Знания об иммунологических механизмах при ДП значительно обогатились. Субпопуляция лимфоцитов, возможно, обладает особым токсическим действием на мышечное волокно при отсутствии дисферлина за счет механизмов, которые все еще требуют объяснения. Исследования на животных предполагают повышение активности некоторых типов лимфоцитов, способствующих фагоцитозу. При этом комплемент, в частности его компонент С3, мог бы играть пусковую роль в воспалительном процессе. Эта теория привела некоторых ученых к идее об использовании иммуносупрессивной терапии, нацеленной против некоторых лимфоцитарных субпопуляций, и это с учетом отсутствия стандартного ответа на кортикостероиды и классические иммуносупрессоры при этой патологии.

Недавно Кевин Кэмбел и соавт. на модели ДП у летучей мыши продемонстрировали супрессию эндогенной продукции фактора С3, осуществленную при помощи генной инженерии. В результате наблюдалось предотвращение развития дистрофической симптома-

тики [26]. Аналогичный положительный эффект не был получен у мыши *mdx*, с идентичным повреждением гена, контролирующего фактор С3.

Каким бы ни был терапевтический подход, сохраняется необходимость в организации регистра пациентов и улучшении понимания естественного течения ДП. Группа исследователей из Марсея уже составила молекулярную базу данных (UMD-DYSF), поддерживаемую десятками международных групп, куда в настоящее время вводятся и клинические данные. До настоящего момента мало изучено естественное течение заболевания и разнообразие фенотипов ДП. Остается открытым вопрос вовлечения сердца в патологический процесс. Он становится еще более актуальным при обсуждении возможности экспрессии дисферлина в сердечной мышце, а также обнаружения поражения кардиомиоцитов в моделях летучей мыши. Недавняя публикация ставит вопрос о необходимости более углубленных кардиологических исследований, например МРТ сердца, которое бы позволило с боль-

шей вероятностью выявить патологию сердца при ДП [27]. Изучается также вопрос, губительное или, наоборот, защитное действие оказывают физические нагрузки при дефиците дисферлина. Примечательно, что до дебюта миопатии многие больные были хорошими спортсменами, если не сказать профессионалами высокого уровня. В отношении семей, в которых сосуще-

ствует несколько фенотипов, крайне необходимо изучение корреляции генотип—фенотип. Все перечисленные выше проблемы привели к постановке вопроса исследователями-клиницистами о будущей организации мультицентрового протокола по естественному течению ДП в течение 3 лет под руководством исследовательской команды из Ньюкасла в Великобритании.

ЛИТЕРАТУРА

- Miyoshi K., Jap J. Hum Genet 1967;12:113
- Miyoshi K., Kawai H., Iwasa M. et al. Autosomal recessive distal muscular dystrophy as a new type of progressive muscular dystrophy. Seventeen cases in eight families including an autopsied case. Brain 1986;109:31–54.
- Bashir R., Britton S., Strachan T. et al. A gene related to *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis factor *fer-1* is mutated in limb-girdle muscular dystrophy type 2B. Nat Genet 1998;20:37–42.
- Liu J., Aoki M., Illa I. et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. Nat Genet 1998;20: 31–6.
- Illia I., Serrano-Munuera C., Gallardo E. et al. Distal anterior compartment myopathy: a dysferlin mutation causing a new muscular dystrophy phenotype. Ann Neurol 2001;49:130–4.
- Nguyen K., Bassez G., Krahn M. et al. Phenotypic study in 40 patients with dysferlin gene mutations: high frequency of atypical phenotypes. Arch Neurol 2007;64:1176–82.
- Aoki M., Liu J., Richard I. et al. Genomic organization of the dysferlin gene and novel mutations in Miyoshi myopathy. Neurology 2001;57:271–8.
- Diers A., Carl M., Stoltenburg-Didinger G. et al. Painful enlargement of the calf muscles in limb girdle muscular dystrophy type 2B (LGMD2B) with a novel compound heterozygous mutation in DYSF. Neuromuscul Disord 2007;17:157–62.
- Eymard B., Laforêt P., Tomé F.M. et al. Miyoshi distal myopathy: specific signs and incidence. Rev Neurol (Paris) 2000;156:161–8.
- Weiler T., Greenberg C.R., Nylen E. et al. Limb-girdle muscular dystrophy and Miyoshi myopathy in an aboriginal Canadian kindred map to LGMD2B and segregate with the same haplotype. Am J Hum Genet 1996;59:873–8.
- Illarioshkin S.N., Ivanova-Smolenskaya I.A., Tanaka H. et al. Clinical and molecular analysis of a large family with three distinct phenotypes of progressive muscular dystrophy. Brain 1996;119:1895–909.
- Fanin M., Nascimbeni A.C., Aurino S. et al. Frequency of LGMD gene mutations in Italian patients with distinct clinical phenotypes. Neurology 2009;72:1432–5.
- Paradas C., González-Quereda L., De Luna N. et al. A new phenotype of dysferlinopathy with congenital onset. Neuromuscul Disord 2009;19:21–5.
- Wenzel K., Geier C., Qadri F. et al. Dysfunction of dysferlin-deficient hearts. J Mol Med 2007;85:1203–14.
- Paradas C., Llauger J., Diaz-Manera J. et al. Redefining dysferlinopathy phenotypes based on clinical findings and muscle imaging studies. Neurology 2010;75:298–9.
- Spuler S., Carl M., Zabojszcza J., et al. Dysferlin-deficient muscular dystrophy features amyloidosis. Ann Neurol 2008; 63(3):323–8.
- Rosales X.Q., Gastier-Foster J.M., Lewis S. et al. Novel diagnostic features of dysferlinopathies. Muscle Nerve 2010;42:14–21.
- Kawabe K., Goto K., Nishino I. et al. Dysferlin mutation analysis in a group of Italian patients with limb-girdle muscular dystrophy and Miyoshi myopathy. Eur J Neurol 2004;11:657–61.
- Krahn M., Beroud C., Labelle V. et al. Analysis of the DYSF mutational spectrum in a large cohort of patients. Hum Mutat 2009;30:E345–75.
- Bansal D., Miyake K., Vogel S.S. et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. Nature 2003; 423:168–72.
- De Morrée A., Hensbergen P.J., van Haagen H.H. et al. Proteomic analysis of the dysferlin protein complex unveils its importance for sarcolemmal maintenance and integrity. PLoS One 2010; 5:e13854.
- Linssen W.H., Notermans N.C., Van der Graaf Y. et al. Miyoshi-type distal muscular dystrophy. Clinical spectrum in 24 Dutch patients. Brain 1997;120:1989–96.
- Hicks D., Sarkozy A., Muelas N. et al. A founder mutation in Anoctamin 5 is a major cause of limb-girdle muscular dystrophy. Brain 2011;134:171–82.
- Rawat R., Cohen T.V., Ampong B., et al. Inflammasome up-regulation and activation in dysferlin-deficient skeletal muscle. Am J Pathol 2010;176:2891–900.
- Krahn M., Wein N., Bartoli M. et al. A naturally occurring human minidysferlin protein repairs sarcolemmal lesions in a mouse model of dysferlinopathy. Sci Transl Med 2010;2:50–69.
- Han R., Frett E.M., Levy J.R. et al. Genetic ablation of complement C3 attenuates muscle pathology in dysferlin-deficient mice. J Clin Invest 2010; 120(12):4366–74.
- Choi E.R., Choi E.R., Park S.J. et al. Early detection of cardiac involvement in Miyoshi myopathy: 2D strain echocardiography and late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance. J Cardiovasc Magn Reson 2010;2:12–31.