

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
(ФГБНУ «МГНЦ»)

адрес: 115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел. +74951110303, факс: +74993240702, e-mail: mgnc@med-gen.ru

Институт высшего и дополнительного профессионального образования
(ИВиДПО)

Кафедра генетики неврологических болезней

А.Ф. Муртазина, А.С. Кучина, Д.В. Шерстюкова,
М.Ю. Скоблов, И.В. Шаркова, С.С. Никитин

Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина

Учебно-методическое пособие

Москва
2025

УДК 616.74-009.54

ББК 53.2

DOI 10.29039/978-5-94472-258-4-4-2025

M91

Авторы:

А.Ф. Муртазина, к.м.н. – заведующая лабораторией нейрогенетики, доцент кафедры генетики неврологических болезней ИВиДПО ФГБНУ «МГНЦ»;

А.С. Кучина – научный сотрудник лаборатории нейрогенетики, ассистент кафедры генетики неврологических болезней ИВиДПО ФГБНУ «МГНЦ»;

Д.В. Шерстюкова – младший научный сотрудник лаборатории нейрогенетики, младший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики ФГБНУ «МГНЦ»;

М.Ю. Скоблов, к.б.н. – заведующий отделом функциональной геномики, доцент кафедры молекулярной генетики и биоинформатики ИВиДПО ФГБНУ «МГНЦ»;

И.В. Шаркова, д.м.н. – ведущий научный сотрудник лаборатории нейрогенетики, профессор кафедры генетики неврологических болезней ИВиДПО ФГБНУ «МГНЦ»;

С.С. Никитин, д.м.н., проф. – заведующий кафедрой генетики неврологических болезней ИВиДПО ФГБНУ «МГНЦ».

Рецензенты:

Сайфуллина Елена Владимировна – д.м.н., профессор кафедры неврологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ахмеджанова Луиза Талгатовна – к.м.н., доцент кафедры нервных болезней и нейрохирургии института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина: учебно-методическое пособие / А.Ф. Муртазина [и др.]; под ред. С.С. Никитина. – М.: «Изд-во Триумф», 2025. – 60 с. – ISBN 978-5-94472-258-4

Настоящее учебно-методическое пособие посвящено практическим аспектам диагностики и лечения пациентов с мышечной дистрофией Ландузи–Дежерина и составлено в соответствии с ФГОС ВО по специальностям 31.08.30 «генетика», 31.08.06 «лабораторная генетика», 31.08.42 «неврология», 31.08.05 «клиническая лабораторная диагностика» и рабочими программами кафедры генетики неврологических болезней ИВиДПО ФГБНУ «МГНЦ».

Пособие предназначено для ординаторов по указанным выше специальностям, аспирантов по научным специальностям 1.5.7. «генетика», 3.1.24. «неврология» и 3.3.8. «клиническая лабораторная диагностика», а также для врачей-генетиков, врачей-неврологов, врачей – лабораторных генетиков и специалистов в области клинической лабораторной диагностики при обучении их по программам повышения квалификации.

Печатается по решению учебно-методической комиссии Института высшего и дополнительного профессионального образования ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» от 28 декабря 2024 г.

© Коллектив авторов, 2025

© ФГБНУ «МГНЦ», 2025

Содержание

Список сокращений	5
Введение	6
Раздел 1. Общие сведения о мышечной дистрофии	
Ландузи–Дежерина (МДЛД)	8
1.1. Эпидемиология МДЛД	9
1.2. Классификация МДЛД	9
1.3. Этиология и патогенез МДЛД	11
Раздел 2. Клиническая картина МДЛД	13
2.1. Типичная клиническая картина МДЛД	13
2.2. Ранняя форма МДЛД 1 типа	17
2.3. Клинически атипичные формы МДЛД	18
2.4. Клинические шкалы для оценки пациентов с МДЛД	19
Раздел 3. Лабораторная и инструментальная	
диагностика МДЛД	22
3.1. Основные биохимические показатели	22
3.2. Электронейромиография	22
3.3. Магнитно-резонансная томография мышц	23
3.4. Ультразвуковое исследование мышц	25
Раздел 4. Молекулярно-генетическая диагностика МДЛД	26
4.1. Общая схема молекулярно-генетической диагностики МДЛД 1 и 2 типов	26
4.2. Методы определения длин аллелей D4Z4 и их гаплотипов	28
4.3. Оценка статуса метилирования массива повторов D4Z4	34
Раздел 5. Дифференциальная диагностика МДЛД	37
Раздел 6. Медико-генетическое консультирование	
пациентов с МДЛД	40
Раздел 7. Динамическое наблюдение за пациентами с МДЛД	43

Раздел 8. Терапевтические подходы при МДЛД	45
8.1. Кинезиотерапия при лечении МДЛД.....	45
8.2. Симптоматическая терапия МДЛД.....	46
8.3. Клинические испытания препаратов этиопатогенетической терапии МДЛД	47
Ситуационные задачи	50
Заключение	55
Ответы к задачам	56
Рекомендуемая литература	57
Словарь терминов	58

Список сокращений

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КФК – креатинфосфокиназа

ЛФК – лечебная физическая культура

МДЛД – мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина

НМБ – нервно-мышечные болезни

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

МРТ – магнитно-резонансная томография

ПГТ – преимплантационное генетическое тестирование

ПД – пренатальная диагностика

ПДЕ – потенциал двигательной единицы

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ЭНМГ – электронейромиография

DUX4 – double homeobox 4

PAS – polyadenylation signal (сигнал полиаденилирования)

qPCR – quantitative polymerase chain reaction (количественная полимеразная цепная реакция)

Введение

Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина (МДЛД) – одна из самых распространенных форм мышечной дистрофии, наследуемой, как правило, по аутосомно-доминантному типу. Возраст манифестации болезни имеет очень широкий диапазон, от младенчества до поздней зрелости, хотя у большинства пациентов первые признаки болезни проявляются на втором и третьем десятилетиях жизни. Избирательное вовлечение мышц лица, плечевого пояса, аксиальной мускулатуры, чаще по нисходящему типу при отсутствии поражения жевательных, бульбарных, экстраокулярных и дельтовидных мышц делают узнаваемой клиническую картину. Однако варьирующая экспрессивность и разнообразие симптомов не всегда позволяют однозначно установить клинический диагноз. Уникальный этиопатогенез болезни осложняет молекулярно-генетическую диагностику МДЛД, но не прекращающиеся разработки патогенетической терапии и клинические испытания препаратов внушают надежду на создание и скорое внедрение эффективного лечения. Настоящее учебно-методическое пособие предназначено для освоения обучающимися этапов клинической и молекулярно-генетической диагностики, а также методов ведения пациентов с мышечной дистрофией Ландузи–Дежерина.

Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с требованиями ФГОС ВО по специальностям 31.08.30 «генетика», 31.08.06 «лабораторная генетика», 31.08.42 «неврология», 31.08.05 «клиническая лабораторная диагностика», а также с учетом профессиональных стандартов врачей указанных выше специальностей; научными специальностями 1.5.7. «генетика», 3.1.24. «неврология» и 3.3.8. «клиническая лабораторная диагностика» при подготовке научно-педагогических кадров в аспирантуре.

Пособие состоит из введения, восьми разделов, которые содержат теоретические сведения и описание практических работ с ситуационными задачами, заключения, словаря терминов, ответов к задачам, списка рекомендуемой литературы.

Основной целью настоящего пособия является совершенствование компетенций в области профилактической, диагностической, лечебной и реабилитационной деятельности врача-генетика, врача-невролога, врача – лабораторного генетика и специалиста в области клинической

лабораторной диагностики при установлении диагноза мышечной дистрофии Ландузи–Дежерина. Кроме того, данное учебно-методическое пособие может быть использовано в практике врачей других медицинских специальностей, занимающихся диагностикой наследственных болезней нервно-мышечного аппарата.

Раздел 1.

Общие сведения о мышечной дистрофии Ландузи–Дежерина (МДЛД)

Впервые о мышечной дистрофии с преимущественным поражением мышц лица и плечевого пояса было сообщено еще в середине XIX века Г. Дюшенном (в 1853–1855 гг.), а позже в 1885 г. Л. Ландузи и Дж. Дежерин описали лице-лопаточно-плечевой тип миопатии, чьи имена служат эпонимами для данной формы мышечной дистрофии. В России изучение скапуло-перонеальной миопатии началось с работ С.Н. Давиденкова в 30-е годы XX века. Следует отметить, что в начале наш соотечественник предполагал, что болезнь является не первично-мышечным поражением, а невральной амиотрофией со скапуло-перонеальным распределением мышечной слабости. Однако позже С.Н. Давиденков тоже стал рассматривать данную патологию как вариант наследственной миопатии и указывал, что заболевание может протекать как в очень легкой форме с минимальной слабостью отдельных мышц лица, так и в тяжелой форме с выраженной инвалидизацией.

Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина (МДЛД) (OMIM 158900) – одна из самых распространенных наследственных болезней из группы прогрессирующих мышечных дистрофий, характеризующаяся преимущественным и часто ассиметричным поражением лицевой мускулатуры, мышц плечевого пояса, включая стабилизаторы лопатки, а также перонеальной группы мышц ног. Дебют МДЛД имеет широкий возрастной диапазон – от раннего детского до позднего взрослого возраста, но пик манифестации чаще приходится на вторую-третью декаду жизни. Данная форма мышечной дистрофии характеризуется варьирующей экспрессивностью и неполной пенетрантностью. Так, в одной семье с одним и тем же вариантом генетического дефекта возраст манифестации и степень клинических проявлений может сильно различаться.

На основании молекулярно-генетических механизмов выделяют два типа МДЛД. В то время как МДЛД 1 типа имеет аутосомно-доминантный тип наследования, МДЛД 2 типа считается болезнью с дигенным типом наследования в связи со сложным этиопатогенезом и необходимостью сочетания ряда условий для возникновения клинических признаков.

1.1. Эпидемиология МДЛД

Распространенность болезни в разных популяциях составляет 1 на 8 000–20 000 населения, что ставит МДЛД в ряд самых распространенных наследственных болезней мышц. Так, МДЛД занимает третье место по частоте встречаемости после мышечной дистрофии Дюшенна–Беккера и миотонической дистрофии 1 типа. Мужчины и женщины страдают МДЛД в равной степени. С 2021 г. на базе ФГБНУ «МГНЦ» ведется реестр пациентов с МДЛД. Точная частота МДЛД на территории РФ и за рубежом может быть недооценена в связи с высокой вариабельностью клинической картины и большим числом пациентов с легкими проявлениями, не ограничивающими жизнедеятельность и не требующих от пациента обращения к специалисту.

1.2. Классификация МДЛД

В основу классификации МДЛД положена молекулярно-генетическая причина развития болезни (Рис. 1). МДЛД 1 типа составляет около 95–97% всех случаев МДЛД и обусловлена сокращением числа повторов D4Z4 менее 11 на одном из аллелей хромосомы 4. Как было сказано выше, заболевание развивается при наличии у пациента не только сокращения числа повторов D4Z4, но и гаплотипа 4qA на том же аллеле.

МДЛД 2 типа, составляющая по литературным данным около 3–5% от всех случаев МДЛД, имеет дигенный тип наследования. Развитие МДЛД 2 типа обусловлено сочетанием у пациента наличия патогенного варианта в одном из генов-модификаторов хроматина (гетерозиготного варианта в гене *SMCHD1* или *DNMT3B*, или биаллельных вариантов в гене *LRIF1*), числом повторов D4Z4 от 7 до 20–30 и наличием гаплотипа 4qA. Только сочетание этих условий приводит к развитию МДЛД 2 типа. Абсолютное большинство описанных случаев МДЛД 2 типа обусловлено гетерозиготными патогенными вариантами в гене *SMCHD1*, приводящими к потере его функции. Белок SMCHD1 (structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain containing 1), являясь модификатором хроматина, обеспечивает метилирование повторов D4Z4 и репрессировывает таким образом *DUX4* в норме. Патогенные варианты в гене *SMCHD1* у пациентов с МДЛД 2 типа приводят к гипометилированию данной

области. Пациенты с МДЛД 2 типа, как правило, имеют умеренную или легкую степень тяжести болезни, но по клиническим проявлениям МДЛД 1 и 2 типа не отличаются.

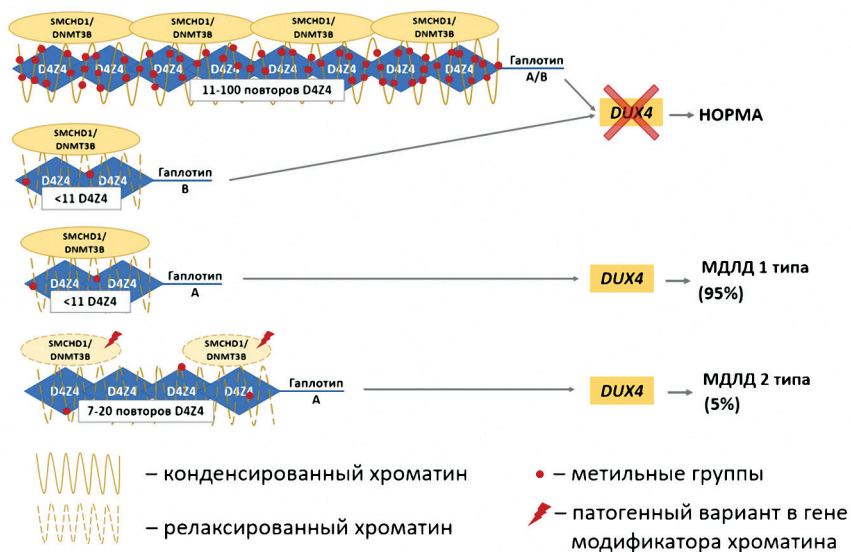


Рисунок 1. Схема этиопатогенеза МДЛД 1 и 2 типа.

По возрасту начала болезни условно выделяют МДЛД с ранним началом и с поздним началом. Однако четкие клинические критерии такой классификации болезни на сегодняшний день не установлены. Следует отметить, что МДЛД имеет очень вариабельную как внутри-, так и межсемейную экспрессивность. Дадали Е.Л. с соавт. в 2017 г. описаны три фенотипических варианта МДЛД 1 типа, различающихся возрастом начала, распространенностью патологического процесса и тяжестью течения заболевания. Первый вариант встречается довольно редко, манифестирует с периода новорожденности до 5 лет и характеризуется тяжелым течением. Второй, классический, вариант дебютирует в большинстве случаев в возрасте от 10 до 20 лет. Первые симптомы третьего варианта возникают на 3–4-м десятилетии жизни. Он отличается медленным течением и отсутствием характерного для классического варианта МДЛД 1 типа вовлечения в патологический процесс лицевой мускулатуры.

1.3. Этиология и патогенез МДЛД

Этиология и патогенез МДЛД сложны и значительно отличаются от молекулярных механизмов развития других наследственных болезней нервной мышечной системы. Развитие МДЛД обусловлено аберрантной экспрессией в мышечных клетках транскрипционного фактора DUX4 (double homeobox 4), который в норме активен только в зародышевых и стволовых клетках, но не функционирует у здорового взрослого человека.

В субтеломерной области длинного плеча хромосомы 4 расположен массив макросателлитных повторов D4Z4, каждый из которых имеет размер 3,3 тысячи пар нуклеотидов (т.п.н.) (Рис. 1). У здоровых людей число повторов D4Z4 на хромосоме 4 составляет от 11 до 100–150, что обеспечивает гиперметилирование данной области. Каждый повтор D4Z4 содержит ретроген, включающий полную открытую рамку считывания гена *DUX4*. Дистальнее массива повторов D4Z4 с равной распространенностью присутствует одна из нуклеотидных последовательностей, обозначаемых как 4qA или 4qB. Первая называется пермиссивным или разрешающим гаплотипом и содержит сигнал полиаденилирования (PAS). PAS необходим для полиаденилирования и, соответственно, стабилизации мРНК *DUX4*, в случае ее образования. Следует отметить, что длинное плечо хромосомы 10 так же содержит массив повторов D4Z4, высоко гомологичный массиву повторов на хромосоме 4. Однако эти повторы, как правило, не связаны с развитием болезни, так как не имеют связи с пермиссивным гаплотипом.

Макросателлитные повторы D4Z4 эпигенетически подавляются в большинстве соматических тканей здоровых людей. Эти повторы являются CG-богатыми последовательностями и имеют большое число CpG-динуклеотидов, что приводит к подавлению транскрипции генов в этой области в связи с гиперметилированием ДНК. При сокращении числа повторов и/или в случае наличия патогенного варианта в одном из генов, связанных с метилированием данной области, возникают условия для транскрипции генов, расположенных в данном локусе, в том числе гена *DUX4*. Однако одной лишь транскрипции гена *DUX4* недостаточно для развития болезни, необходимо наличие разрешающего гаплотипа 4qA, содержащим сигнал полиаденилирования, необходимый для защиты от деградации мРНК *DUX4*. Образовавшийся транскрипционный

фактор DUX4 в клетке запускает каскад патологических реакций путем экспрессии ряда генов-мишеней фактора DUX4, в том числе генов стволовых клеток и клеток зародышевой линии в скелетных мышцах. Данный процесс приводит к клеточной дисфункции, ингибирует дифференцировку мышц и запускает p53-зависимый апоптоз клеток.

Раздел 2. Клиническая картина МДЛД

2.1. Типичная клиническая картина МДЛД

Типичная клиническая картина МДЛД характеризуется медленно прогрессирующей и часто асимметричной слабостью лицевой мускулатуры, мышц стабилизаторов лопаток и плечевого пояса, а также мышц ног, чаще перонеальной группы. Следует отметить, что молекулярно-генетические типы МДЛД 1 и МДЛД 2 клинически неотличимы. Случаи МДЛД 2 типа чаще являются изолированными, то есть без семейной отягощенности, что обусловлено сложным дигенным наследованием. В целом степень тяжести болезни при МДЛД 2 типа легкая или умеренная, в отличие от случаев МДЛД 1 типа с малым числом повторов D4Z4.

Возраст дебюта болезни при обоих типах МДЛД очень вариабельный. Однако, как правило, болезнь манифестирует в подростковом возрасте: более чем у 50% пациентов первые симптомы формируются к 20 годам жизни. У пациентов с тяжелой детской формой МДЛД мышечные симптомы могут отмечаться с рождения. При этом у некоторых пациентов болезнь протекает бессимптомно на протяжении всей жизни. МДЛД характеризуется медленным прогрессированием, однако многие пациенты описывают периоды резкого ухудшения, перемежающиеся с периодами относительно стабильного состояния. К 50 годам 20% больных нуждаются в инвалидном кресле.

Известно, что у пациентов с выраженным сокращением числа повторов D4Z4 (1-3 повтора) больше вероятность раннего начала и быстрого прогрессирования болезни, чем у людей с меньшим сокращением числа повторов.

Слабость мышц лица включает часто асимметричное снижение силы круговых мышц глаза, круговой мышцы рта и щечных мышц (Рис. 2). Лицевая слабость может варьировать от минимальной, выявляемой только при осмотре и активном расспросе пациента, до пареза разной степени выраженности (например, до появления лагофтальма). В связи со слабостью круговых мышц глаз у пациентов во сне часто приоткрыты глаза, при осмотре можно выявить симптом ресниц или неполное смыкание век при зажмуривании глаз. Слабость щечных мышц и круговой мышцы рта приводит к невозможности надуть щеки, вытянуть губы

трубочкой, посвистеть. У пациентов часто отмечается асимметричная улыбка, а также симптом поперечной улыбки. Могут быть жалобы на трудности при жевании из-за невозможности удержать рот закрытым. Птоза и бульбарных нарушений при типичной клинической картине, как правило, не наблюдается.



Рисунок 2. Оценка силы мимической мускулатуры у пациентов с МДЛД.

Отмечается избирательность поражения мышц лица: снижение силы круговых мышц глаз, рта и щечных мышц при сохранной функции других: симптом ресниц при зажмуривании глаз в связи со слабостью круговых мышц глаз (А), неизменная сила лобной мышцы (пациентка может поднять брови) (Б), симптом поперечной улыбки (В), слабость удержания вытянутых губ (Г) и надутых щек (Д).

Слабость и атрофия мышц, удерживающих лопатки, приводят к формированию характерного симптома «крыловидных» лопаток, часто асимметричных, или вовсе односторонней (Рис.3). Также у пациентов наблюдается ограничение движения рук выше горизонтального уровня при отведении в стороны и при подъеме над головой. При этом ограничение движения рук может быть связано не только со слабостью мышц, участвующих в движениях, но и с механическим ограничением движения руки в плечевом суставе вследствие смещения лопатки. Смещение лопаток вверх также приводит к феномену полноты надключичной области при отведении рук до горизонтального уровня (Рис. 3).



Рисунок 3. Признак полноты надключичной области при отведении рук в стороны (вид спереди) (А); признак «многохолмия» при отведении рук в стороны (вид сзади) (Б); симптом «крыловидных» лопаток, более выраженный при подъеме рук вперед (В, Г).

Избирательность вовлечения мышц плечевого пояса характеризуется асимметричной слабостью и атрофией трапецевидной, двуглавой и трехглавой мышц и сохранностью дельтовидных и подостных мышц, что приводит к формированию признака «многохолмия» (*от англ. poly-hill sign*): при отведении рук в стороны у пациентов часто отмечаются бугры, сформированные поднятыми лопатками, выступающими акромиально-ключичными суставами, сохранными дельтовидными мышцами (Рис. 3). Также у пациентов с МДЛД выделяют признак моряка Полая, персонажа известного комикса XX века, у которого на фоне выраженной худобы мышц плеч отмечалась сохранность мышц предплечий. Дистальные отделы рук могут поражаться на поздних стадиях болезни и чаще в процесс вовлекаются разгибатели кистей и пальцев.

В связи с часто развивающейся атрофией и слабостью грудных мышц отмечается сглаженность и покатость надплечий, а грудная клетка уплощается или приобретает воронкообразную форму. Слабость параспинальных мышц нередко приводит к формированию поясничного гиперлордоза, сколиотической деформации или сглаженности физиологических изгибов позвоночника, а слабость мышц передней стенки

живота – к выпячиванию живота в положении стоя и к затруднениям при попытке сесть из положения лежа на спине. При неврологическом осмотре пациента можно выявить признак Бивора – смещение пупка вверх (реже вниз) при подъеме головы в положении лежа из-за неравномерной слабости мышц передней брюшной стенки (Рис. 4). Смещение пупка вверх или вниз зависит от того, слабость каких мышц живота преобладает, верхних или нижних. Важно отметить, что слабость мышц передней брюшной стенки часто проявляется уже в подростковом возрасте в школе на уроках физкультуры при упражнениях на укрепление пресса. При сборе анамнеза необходимо уточнять у пациентов об успехах выполнения нормативов физподготовки. У пациентов со слабостью сгибателей шеи симптом Бивора не оценивается.

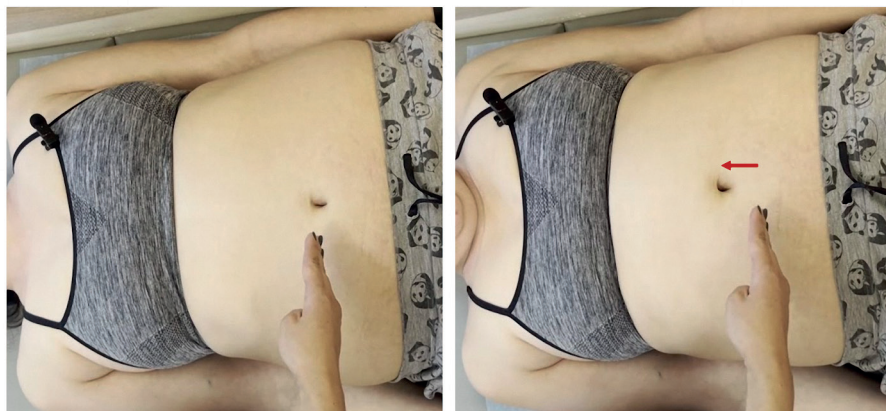


Рисунок 4. Демонстрация оценки признака Бивора: отклонение пупка вверх при подъеме головы в положении лежа на спине.

Поражение мышц нижних конечностей включает преимущественную слабость и атрофию передних большеберцовых мышц, что приводит к признаку «свисания» стопы и нарушению походки по типу стейпажа. Задняя группа мышц голени, мышцы бедер и тазового пояса также нередко вовлекаются в патологический процесс, при этом больше всего страдают подвздошно-поясничные, большие ягодичные мышцы и мышцы задней группы бедер. Сухожильная гипо/арефлексия наблюдается, если задействованы мышцы, участвующие в рефлексорной дуге. Координаторных и чувствительных нарушений у пациентов, как правило, не наблюдается. В редких случаях, как правило, у пациентов с ранним

началом и тяжелым течением болезни могут развиваться контрактуры крупных суставов – локтевых и голеностопных.

Дыхательные нарушения для пациентов с МДЛД не характерны. Дыхательная недостаточность по рестриктивному типу с потребностью респираторной поддержки в виде неинвазивной вентиляции легких развивается в 1-2% случаев.

Одним из важных и зачастую недооцениваемых симптомов у пациентов с МДЛД является миалгия. Боль носит хронический или острый характер, может усиливаться при или после физической нагрузки и затрагивать любые группы мышц. Недавние исследования показали, что боль беспокоит от 76% до более чем 80% пациентов с МДЛД, при этом 19% пациентов сообщают о выраженном болевом синдроме.

К экстраневральным проявлениям МДЛД относится ретинальная ангиопатия, которая развивается у 40-60% пациентов и не приводит к нарушению зрения. Данное состояние характеризуется нарушением васкуляризации, телеангиэктазией и микроаневризмами периферической сетчатки. У пациентов со значительным сокращением повторов D4Z4 (до 1-3) описаны экссудативная ретинопатия, приводящая к потере зрения, и сенсоневральная тугоухость. При этом аудиометрия может выявить нарушения слуха у пациентов и с большим числом повторов, однако такое нарушение слуха для пациентов не является клинически значимым и не приводит к активным жалобам. Изменения со стороны сердечно-сосудистой системы включают нарушение сердечной проводимости, у 5-10% пациентов описаны предсердные тахикардии.

2.2. Ранняя форма МДЛД 1 типа

Под ранней формой МДЛД понимают случаи болезни с началом в раннем детском возрасте с быстро прогрессирующим течением. При этом общепринятых критериев выделения этой формы МДЛД не существует. Исторически под инфантильной формой МДЛД считали случаи с манифестацией болезни до 2 лет. Однако следует учитывать, что в отягощенных семьях значительное внимание со стороны родителей за развитием ребенка позволяет заметить минимальные признаки в раннем детском возрасте при любой форме болезни и разной скорости прогрессирования. Для ранней формы болезни рядом авторов выдвинуты следующие критерии: развитие слабости мимической мускулатуры до 5 лет и развитие слабости плечевого пояса до 10 лет. Слабость мимиче-

ской мускулатуры включает невозможность полностью сомкнуть веки при зажмуривании глаз, неполное смыкание век во время сна, невозможность улыбаться, невозможность удержания пищи во рту во время еды, что может приводить к закидыванию головы назад при глотании. Необходимость установки назогастрального зонда возникает крайне редко. В связи со слабостью лицевой мускулатуры у пациентов также может отмечаться дизартрия. Наличие данных симптомов в сочетании с нормальным моторным развитием часто приводят к ошибочному диагнозу синдрома Мебиуса. Задержка моторного развития при МДЛД встречается крайне редко. Прогрессирование болезни при ранней форме МДЛД, как правило, быстрее, чем при классической форме. В отличие от классической формы у детей с ранним началом МДЛД наряду со снижением силы мышц туловища и конечностей часто отмечается слабость мышц шеи. Асимметрии поражения в большинстве случаев не наблюдается. Часто развивается диффузная мышечная атрофия, формируется поясничный гиперлордоз. Часть этой группы пациентов становятся зависимыми от инвалидного кресла в подростковом возрасте, средний возраст инвалидизации при ранней форме МДЛД составляет $12,3 \pm 3,9$ года. Летальный исход вследствие дыхательных осложнений описан в единичных случаях. При ранней форме у пациентов с 1-2 повторами D4Z чаще встречаются тяжелая сенсоневральная тугоухость, эпилепсия, нарушение интеллектуального развития, расстройство аутистического спектра, более тяжелые по сравнению с классической формой изменения со стороны органов зрения.

2.3. Клинически атипичные формы МДЛД

Выделяют следующие атипичные формы заболевания:

- МДЛД без вовлечения лицевой мускулатуры (скапулоперонеальный, скапулярный, перонеальный фенотипы);
- поясно-конечностный фенотип МДЛД;
- фенотип дистальной миопатии с минимальным вовлечением мышц лица;
- фенотип дистальной миопатии с преимущественным вовлечением задней группы мышц голени;
- изолированное одностороннее поражение мышц плечевого пояса;
- изолированная камптокормия;

- дебют болезни с миоглобинурией;
- МДЛД с птозом и глазодвигательными нарушениями;
- тяжелая инфантильная форма, сочетающаяся с нарушением интеллектуального развития и/или эпилепсией и рядом экстраневральных проявлений;
- инфантильная лицевая диплегия.

К атипичной клинической картине относится МДЛД с сохранной лицевой мускулатурой, у таких пациентов может наблюдаться только поражение плечевого пояса в виде слабости мышц-стабилизаторов лопаток (скапулярный фенотип) или только передней группы голени (перонеальный фенотип), а также их сочетание (скапуло-перонеальный фенотип). Важно отметить, что у большинства таких пациентов болезнь дебютирует в молодом или зрелом возрасте. В редких случаях у пациентов с МДЛД отмечается поясно-конечностный паттерн вовлечения мышц без слабости лицевой мускулатуры или дистальный паттерн с минимальным вовлечением мышц лица. Описаны пациенты с изолированным односторонним поражением мышц плечевого пояса, длительное время наблюдавшихся с диагнозом идиопатической плексопатии, а также пациенты с изолированным односторонним поражением задней группы мышц голени. Крайне редко первым и ведущим признаком болезни может быть камптокормия у пациента во взрослом возрасте. Причина подобной манифестации связана со слабостью мышц, выпрямляющих позвоночник в сочетании со слабостью мышц-разгибателей таза. Имеется единичное описание одного пациента с острым рабдомиолизом в подростковом возрасте после физической нагрузки и последующем появлением типичных признаков МДЛД в 30 лет. В редких случаях МДЛД наряду с типичной клинической картиной могут отмечаться птоз и глазодвигательные нарушения.

2.4. Клинические шкалы для оценки пациентов с МДЛД

В настоящее время для оценки состояния пациентов с неврологическими болезнями, помимо описания неврологического статуса, активно применяются разные клинические шкалы, которые разрабатываются с учетом особенностей течения конкретного заболевания. Такие шкалы позволяют получить более полную и точную информацию о состоянии

пациента и сформировать грамотную тактику ведения. Ниже представлены наиболее известные и широко применяемые шкалы для оценки тяжести клинического состояния пациентов с МДЛД.

Шкала клинической оценки пациентов с лице-плече-лопаточной дистрофией (The facioscapulohumeral muscular dystrophy Clinical Score, FSHD-CS) состоит из шести разделов, включающих оценку силы или функции разных групп мышц: мышц лица, плечевого пояса, верхних конечностей, дистальных мышц ног, мышц тазового пояса и мышц живота. Диапазон баллов по шкале от 0 до 15, где 0 означает отсутствие мышечной слабости, а максимальный балл соответствует наиболее тяжелому течению болезни с поражением всех групп мышц.

Балльная оценка тяжести клинических проявлений (Clinical Severity Score (CSS) или шкала Ricci) учитывает степень снижения силы мышц разных частей тела по нисходящему типу. Более высокие баллы присваиваются пациентам с поражением мышц таза и проксимальных отделов нижних конечностей. Более высокий балл соответствует более тяжелому течению. Максимальный балл равняется 10, когда у пациента отмечается потребность в инвалидном кресле. Результаты корректируются с учетом возраста пациента. Данная шкала не подходит пациентам с атипичным течением МДЛД.

Шкала результатов комплексной оценки пациентов с лице-плече-лопаточной дистрофией (The facioscapulohumeral muscular dystrophy – functional composite outcome measure, FSHD-COM) включает пять основных блоков, по которым проводится оценка клинического статуса:

- 1) оценка мышц нижних конечностей (включает в себя несколько тестов, в том числе тест 6-минутной ходьбы);
- 2) оценка мышц плечевого пояса и проксимальных отделов рук (проводится с добавлением небольшого веса);
- 3) оценка аксиальной мускулатуры с помощью функциональных тестов;
- 4) оценка мышц кистей с применением динамометра;
- 5) оценка способности удерживать равновесие при выполнении определенных действий.

Все задания, которые выполняют пациенты, оцениваются в баллах от 0 до 4. Преимуществом данной шкалы является то, что выполняемые задания максимально приближены к действиям, которые являются привычными для повседневной жизни и при этом отражают объективные

изменения при количественной оценке, что позволяет оценивать естественное течение болезни, а также использовать шкалу для мониторинга результатов применения терапевтических разработок.

Доступное рабочее пространство (Reachable workspace, RWS) – данный метод основан на использовании специального сенсорного датчика Kinect, который позволяет получать трехмерное изображение движения руки пациента и, таким образом, создавать модель достижимого рабочего пространства у конкретного пациента. Метод сегодня активно применяется в клинических исследованиях естественного течения болезни и при испытаниях новых препаратов.

Шкалы FSHD-CS и CSS отличаются простотой применения, не требуют специального оборудования и дополнительного персонала, что объясняет их широкое использование в практике врача-невролога и генетика. Шкалы также могут быть рекомендованы для отслеживания динамики прогрессирования болезни у пациентов с МДЛД как 1-го, так и 2-го типа.

Раздел 3. Лабораторная и инструментальная диагностика МДЛД

3.1. Основные биохимические показатели

Основным биохимическим маркером, определяемым при МДЛД, является изменение уровня креатинфосфокиназы (КФК) в сыворотке крови. У пациентов с МДЛД уровень КФК может варьировать от нормальных значений до увеличения в 7-10 раз от верхней границы нормы; повышение >2000 Ед/л предполагает альтернативный диагноз. Уровни трансаминаз, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, как и других биохимических показателей при МДЛД, остаются в пределах референсных значений.

3.2. Электронейромиография

Всем пациентам с нервно-мышечной патологией рекомендовано нейрофизиологическое обследование с проведением стимуляционной и игольчатой электромиографии (ЭМГ).

Стимуляционная ЭМГ является неинвазивным методом исследования и позволяет оценить проведение возбуждения по моторным и сенсорным нервам. При обследовании пациента с подозрением на МДЛД метод применяется лишь для исключения других состояний, с которыми проводится дифференциальная диагностика. Снижение амплитуды моторных ответов дистальных мышц стоп при МДЛД, особенно на развернутых стадиях болезни, является допустимым отклонением, однако скорость проведения возбуждения по нервам и параметры сенсорных ответов должны оставаться в пределах нормальных значений.

Игольчатая ЭМГ, малоинвазивный метод дифференцировки нейрогенной и миогенной перестройки потенциалов двигательных единиц, позволяющий установить уровень поражения периферического нейромоторного аппарата (мотонейронов спинного мозга, аксонов периферических нервов и мышечных волокон). Важным условием получения достоверного результата является выбор мышц, подлежащих исследованию. При определении мышц для введения игольчатого электрода,

помимо клинических данных, можно использовать результаты визуализации при МРТ-исследовании мышц. Кроме определения типа перестройки потенциалов двигательных единиц, метод позволяет оценивать наличие и выраженность спонтанной активности мышечных волокон. Спонтанная активность относится к нозологически неспецифическим признакам и при МДЛД представлена потенциалами фибрилляций и/или положительными острыми волнами разной степени выраженности (обычно не выше средней). В редких случаях регистрируются комплексные повторяющиеся разряды.

Регистрацию ПДЕ производят при минимальном или умеренном произвольном усилии исследуемой мышцы. Получив оптимальное число усредненных ПДЕ (не меньше 20 потенциалов), оценивают среднюю длительность и среднюю амплитуду ПДЕ. Нормы средней длительности зависят от конкретной мышцы и возраста пациента. Нормальной считается средняя длительность, если она отклоняется в пределах $\pm 12\%$ от референсного значения. При МДЛД, как при других миопатиях, средняя длительность ПДЕ снижается, что и отражает первично-мышечный паттерн поражения мышцы. Средняя амплитуда ПДЕ может снижаться, оставаться в пределах нормативных значений или даже быть повышенной, что часто вводит в заблуждение исследователя при вынесении окончательного заключения. Повышение амплитуды ПДЕ всегда следует сопоставлять с длительностью потенциала, которая будет уменьшенной или нормальной в случаях МДЛД и других миопатиях. Парадоксальное увеличение амплитуды ПДЕ при доказанном первично-мышечном заболевании обычно связано с гипертрофией отдельных мышечных волокон, входящих в состав двигательной единицы.

3.3. Магнитно-резонансная томография мышц

МРТ мышц является неинвазивным методом инструментальной диагностики, который позволяет выявить дегенеративные изменения, жировое замещение мышечной ткани и/или наличие отека. Метод применяется как в диагностических целях, так и для динамической оценки естественного течения болезни. Преимущество МРТ мышц состоит в возможности оценки отдельных мышц и выявлении изменений в клинически интактных мышцах на ранних стадиях болезни. Для получения адекватных результатов используют аксиальные срезы мышц пле-

чевого пояса, рук и ног с захватом мышц тазового пояса в режиме T1 для обнаружения жирового замещения мышечной ткани, и в режиме T2 STIR для выявления отека мышц. В режиме T1 оценивают следующие параметры: (1) наличие или отсутствие жирового замещения отдельных мышц и степень их поражения, (2) избирательность или диффузность поражения; (3) симметричность поражения; (4) наличие специфического паттерна поражения, характерного для отдельных наследственных или приобретенных миопатий. Жировое замещение мышечной ткани оценивается по общепризнанной шкале E. Mercuri, где 0 – отсутствие изменений, а 4 – полное замещение мышечной ткани.

По данным МРТ, для пациентов с МДЛД характерно асимметричное поражение следующих мышц:

1. Мышцы плечевого пояса и спины: изменения в 90–100% случаев обнаруживаются в трапециевидной мышце, 85% – передней зубчатой мышце, 77% – в широчайшей мышце спины и в 75% – в большой грудной мышце. Изменения в подлопаточных, надостных и подостных мышцах выявляется очень редко, перечисленные мышцы в большинстве случаев остаются сохранными даже на поздних стадиях болезни.
2. Параспинальные и абдоминальные мышцы страдают в 90–100% случаев страдают косые и поперечные мышцы живота. Также изменения выявляются в 70–80% случаев в параспинальных мышцах и прямой мышце живота.
3. Мышцы тазового пояса и бедер: в 90% случаев поражаются малая ягодичная мышца и полуперепончатая мышца; на развернутых стадиях изменения обнаруживаются в полусухожильной мышце и двуглавой мышце бедра. Изменения в латеральной, медиальной и промежуточной головках четырехглавой мышцы и подвздошно-поясничной мышцах выявляются редко.
4. Мышцы голеней: характерно раннее вовлечение камбаловидной мышцы и медиальной головки икроножной мышцы. Латеральная головка икроножной мышцы, как правило, остается долгое время сохранной. Передняя большеберцовая мышца, по данным МРТ, замещается жировой тканью в меньшей степени.

Ряд авторов выделяют паттерн, характерный для МДЛД, включающий сочетание поражения трапециевидной мышцы, одной мышцы живота (косой, поперечной или прямой мышцы) и одной мышцы зад-

ней группы бедра (полуперепончатой, полусухожильной или двуглавой мышцы) при сохранности подвздошно-поясничных и подлопаточных мышц.

3.4. Ультразвуковое исследование мышц

Ультразвуковое исследование мышц используется для визуальной оценки тяжести поражения исследуемых мышц по эхогенности и толщине. Наиболее доступными и показательными для ультразвукового исследования при МДЛД являются трапециевидная мышца и прямая мышца бедра. Изменения редко обнаруживаются в передней большеберцовой мышце, двуглавой мышце плеча, латеральной головке четырехглавой мышцы, медиальной головке икроножной мышцы и прямой мышце живота. Преимуществом метода является низкая стоимость, доступность, неинвазивность и простота выполнения процедуры, позволяющие провести исследование у постели больного. Ограничением метода является возможный объем исследования и необходимость большого практического опыта.

Раздел 4.

Молекулярно-генетическая диагностика МДЛД

4.1. Общая схема молекулярно-генетической диагностики МДЛД 1 и 2 типов

Уникальность и сложность этиопатогенеза как МДЛД 1 типа, так и МДЛД 2 типа определяет трудоемкость, комплексность и многоступенчатость молекулярно-генетической диагностики данной болезни. Это связано прежде всего со структурными особенностями области макросателлитных повторов D4Z4, которые определяют ограничения в применении рутинных методов ДНК-диагностики, а также необходимость получения высокомолекулярной ДНК для анализа. Наличие высоко гомологичной области на 10-й хромосоме, изменения которой не ассоциированы с развитием болезни, затрудняет ход диагностики и подразумевает возможность хромосомных перестроек и образование гибридных аллелей, патогенность которых часто сложно установить доступными методами.

Различия в механизмах патогенеза МДЛД 1 и 2 типа определяют применение и комбинацию разных диагностических подходов. Для удобства и понимания этапов молекулярно-генетической диагностики обоих типов МДЛД предложена схема этапов диагностики, применяемой в ФГБНУ «МГНЦ» (Рис. 5).

МДЛД 1 типа составляет 95% всех случаев болезни, поэтому первый этап молекулярно-генетической диагностики направлен на определение длин аллелей (числа повторов) D4Z4 и их гаплотипов. В случае обнаружения сокращения числа повторов D4Z4 (10 и меньше) диагноз МДЛД 1 типа считается подтвержденным молекулярно-генетическими методами.

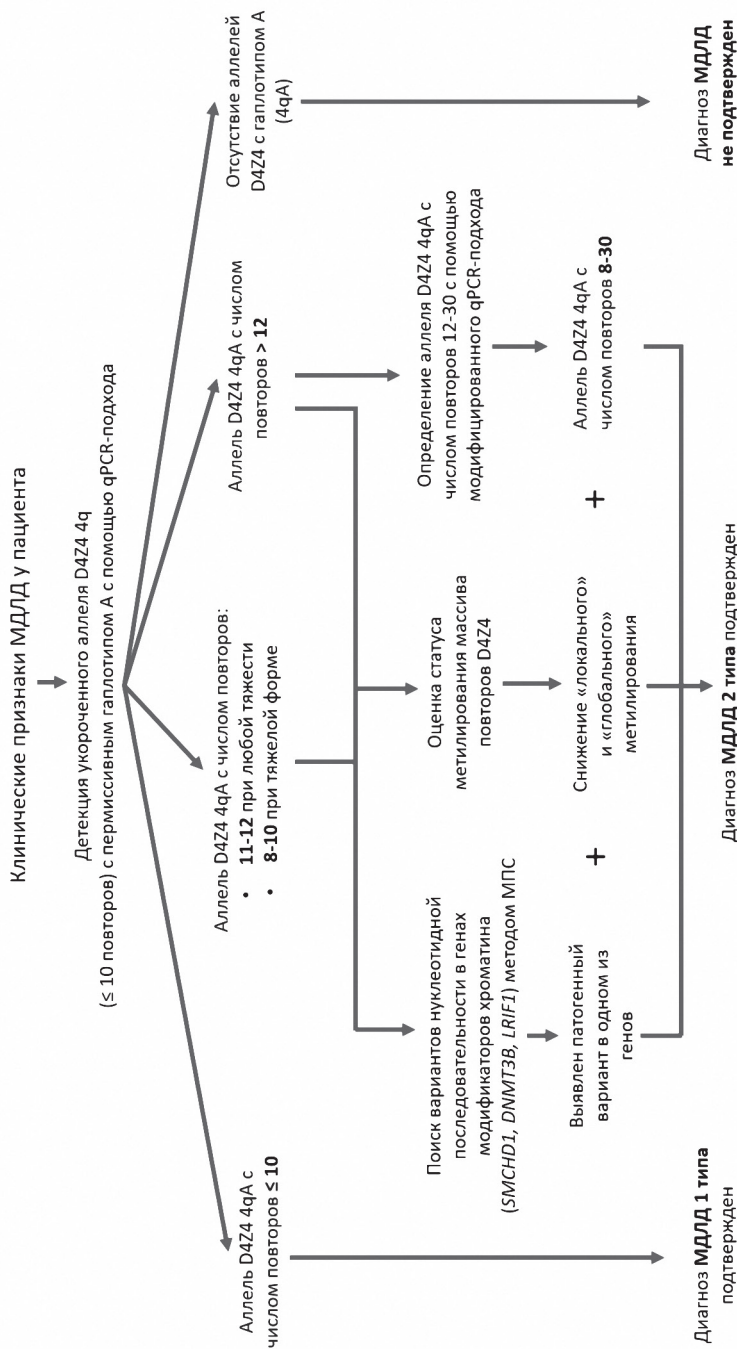


Рисунок 5. Схема этапов молекулярно-генетической диагностики МДЛД 1 и 2 типа.

В случае отсутствия сокращения повторов D4Z4 у пациента с типичной картиной МДЛД или при наличии пограничного числа повторов (9–10) при умеренной или тяжелой клинической картине рекомендовано провести поиск патогенных вариантов в генах-модификаторах хроматина (*SMCHD1*, *DNMT3B*, *LRIF1*) с помощью методов массового параллельного секвенирования. С этой целью пациенту может быть проведено секвенирование панели генов, в которую включены перечисленные гены, секвенирование экзона или генома. Патогенными вариантами в гене *SMCHD1* являются варианты с потерей функции. Следует помнить, что обнаружение варианта или вариантов в одном из перечисленных генов не является достаточным для молекулярно-генетического подтверждения болезни. Третьим этапом в таких случаях является оценка статуса метилирования массива повторов D4Z4 и определение числа повторов D4Z4, если не известно. Только при наличии не только патогенного варианта в гене модификатора хроматина, но и числа повторов D4Z4 на хромосоме 4 меньше 30 и сниженном статусе метилирования, можно подтвердить МДЛД 2 типа у пациента.

4.2. Методы определения длин аллелей D4Z4 и их гаплотипов

Первым этапом молекулярно-генетической диагностики является определение длин аллелей D4Z4 (определение числа повторов D4Z4) и их гаплотипов. Сегодня в мире существует несколько таргетных методов, позволяющих выявить сокращение числа повторов: метод гибридизации по Саузерну, детекция укороченного аллеля с пермиссивным гаплотипом с помощью qPCR-подхода с модификациями, молекулярный комбинг и нанопоровое секвенирование. В России доступен один из них – детекция укороченного аллеля с пермиссивным гаплотипом с помощью qPCR-подхода с модификациями.

Метод гибридизации по Саузерну

«Золотым стандартом» молекулярно-генетической диагностики, позволяющим определять длины и гаплотипы аллелей D4Z4 на хромосомах 4 и 10, является гибридизация по Саузерну. Для этого геномную ДНК исследуемого образца выделяют из крови или из лимфоцитарной фракции в агарозных блоках, что обеспечивает получение высокомолекулярной и наиболее целостной ДНК. После этого с образцом проводят

несколько отдельных реакций: обработка эндонуклеазой рестрикции EcoRI, парами эндонуклеаз EcoRI и BlnI, EcoRI и XapI, эндонуклеазой HindIII (Рис. 6). Рестриктаза EcoRI вырезает массив макросателлитных повторов D4Z4 как на 4-й, так и на 10-й хромосоме, а применение рестриктаз BlnI и XapI позволяет определять хромосомную принадлежность массивов, так как данные рестриктазы имеют свои специфические сайты к последовательностям повторов только на одной из хромосом, 10-й или 4-й, соответственно. Обработка эндонуклеазой HindIII необходима для получения фрагментов ДНК, которые будут гибридизоваться с пробой на определение гаплотипа массива D4Z4.

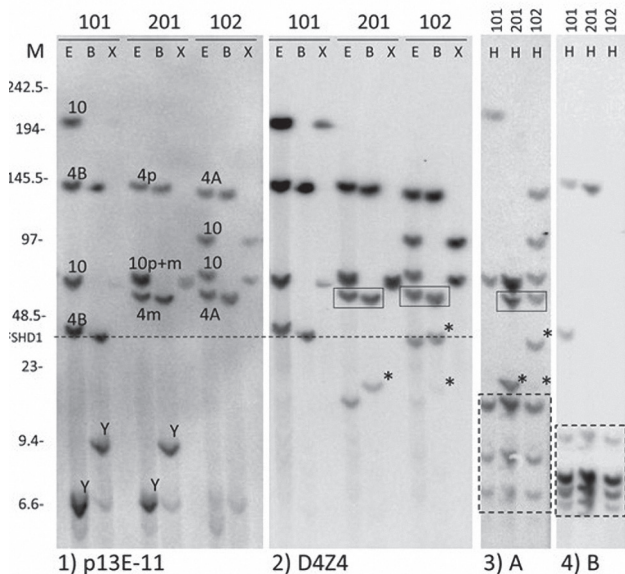


Рисунок 6. Визуальное представление результата исследования образца с МДЛД 1 типа методом гибридизации по Саузерну (источник: <https://doi.org/10.1093/brain/awad312>).

Полученные после рестрикции фрагменты ДНК образца разделяют пульс-электрофорезом и затем переносят на нейлоновую мембрану для последующей гибридизации с мечеными ДНК-пробами. Для определения длин и хромосомной принадлежности массивов D4Z4 используется проба p13E-11, а для определения гаплотипов отдельно пробы А и В. Длина каждого массива устанавливается в соответствии с длиной мар-

кера молекулярного веса. По полученной длине с учетом расстояния соответствующих сайтов рестрикции до массива D4Z4 можно судить о числе повторов D4Z4.

Гибридизация по Саузерну используется в диагностике МДЛД больше десяти лет, но, несмотря на неоспоримые преимущества, имеет ряд недостатков, что ограничивает ее использования во многих лабораториях. В первую очередь это связано с высокой стоимостью специального оборудования и применения радиоизотопных соединений; необходимостью взятия у пациента 15-20 мл свежей незамороженной крови; ограниченной чувствительностью метода для случаев с мозаицизмом при низкой представленности патогенного аллеля и трудностью в детекции и подтверждения патогенности гибридных аллелей, имеющих повторы как хромосомы 4, так и хромосомы 10.

Детекция укороченного аллеля с пермиссивным гаплотипом с помощью qPCR-подхода

Ограничения в применении «золотого стандарта» выявления МДЛД привели к необходимости разработки и применения других подходов молекулярно-генетической диагностики. Так, в лаборатории функциональной геномики ФГБНУ «МГНЦ» был предложен и внедрен в рутинную практику метод диагностики МДЛД 1 типа, позволяющий обнаруживать аллели с пермиссивным гаплотипом с числом повторов до 12.

Данная методика включает первые этапы аналогичные Саузерн-блоттингу: консервирование ДНК в агарозных блоках, специфическую рестрикцию и разделение фрагментов с помощью пульс-электрофореза. Однако в качестве способа детекции ДНК вместо гибридизации используется аллель-специфичная полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени, позволяющая в двух отдельных реакциях определять наличие гаплотипа А и длины последовательностей D4Z4, специфичных для хромосомы 4.

В качестве матрицы для ПЦР в реальном времени используются фрагменты геля, полученные после пульс-электрофоретического разделения, когда дорожка с образцом ДНК фрагментируется по определенной схеме на 14 частей, в зависимости от длины бэндов используемого маркера. Схема фрагментации геля составлена таким образом, чтобы в каждом из кусочков геля мог находиться массив D4Z4 только с определенным числом повторов D4Z4 (Рис. 7). Анализ данных ПЦР осуществляется методом 2- $\Delta\Delta C_t$. При расчетах определяется разница

между двумя типами фрагментов геля: вне зоны дорожек и фрагменты дорожки геля с ДНК образца.

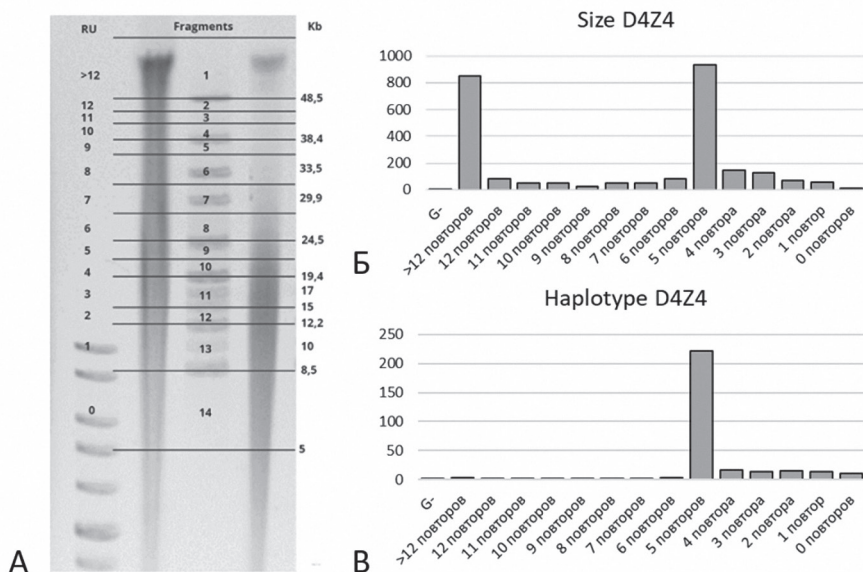


Рисунок 7. Метод диагностики МДЛД 1 типа для обнаружения аллеля с числом повторов до 12 и пермиссивным гаплотипом. (А) Схема фрагментации геля с дорожкой образца ДНК на 14 частей в зависимости от длины бэндов используемого маркера: в каждом из кусочков геля предусмотрен массив D4Z4 с определенным числом повторов D4Z4. (Б) Представление результатов количественной ПЦР в виде столбчатых диаграмм после анализа данных методом 2-ΔΔCt. На диаграмме определяются два пика, соответствующие наличию в образце ДНК двух аллелей D4Z4 хромосомы 4 (1 аллель – >12 повторов, 2 аллель – 5 повторов). (В) Наличие пермиссивного гаплотипа А на аллеле D4Z4 с 5 повторами определяется по наличию на диаграмме одного.

Полученные данные на фрагментах геля с максимальными значениями относительной концентрации D4Z4 указывают на наличие в них таргетных аллелей. Сопоставляя результаты двух отдельных ПЦР и положения данных фрагментов геля относительно маркера молекулярного веса, можно судить о длинах и гаплотипах аллелей повторов D4Z4 исследуемого образца.

В настоящее время в России описанный способ молекулярно-генетической диагностики является исследованием первой линии у пациентов с клиническими признаками МДЛД. По сравнению с методом гибридизации по Саузерну для проведения данного метода достаточно 4 мл свежей незамороженной крови. Тем не менее метод также является трудоемким и времязатратным, имеет ограничение видимого диапазона повторов D4Z4 до 12. Также следует отметить, что не определена чувствительность метода для случаев с мозаицизмом с низкой представленностью патогенного аллеля.

Метод также имеет ограничения в определении патогенности гибридных аллелей, имеющих повторы как хромосомы 4, так и хромосомы 10, а для определения наличия цис-дупликации D4Z4 необходимо применение в анализе другой рестриктазы и схемы фрагментации геля.

Детекция аллеля с числом повторов D4Z4 больше 12 и перmissивным гаплотипом с помощью qPCR-подхода

Для молекулярно-генетического подтверждения МДЛД 2 типа необходимо установление числа повторов D4Z4 даже в тех случаях, когда их число превышает 12, так как болезнь развивается в случае сочетания наличия патогенного варианта в одном из генов-модификаторов хроматина и числе повторов D4Z4 меньше 20-30. В связи с отсутствием методов для установления точной длины массива повторов D4Z4 >50Kb (>13RU) в лаборатории функциональной геномики ФГБНУ «МГНЦ» модифицирован вышеописанный метод для детекции перmissивных аллелей 4q с числом повторов D4Z4 от 12 до 30. Подобраны условия пульс-электрофоретического разделения, использование более длинного маркера молекулярной массы, а также создание соответствующей схемы фрагментации с последующей количественной ПЦР позволили в отдельном эксперименте анализировать более длинные молекулы ДНК, полностью покрывая исследуемый для МДЛД 2 типа диапазон в 30 повторов. Данный метод также успешно применяется в диагностике пациентов с МДЛД 2 типа в России.

Молекулярный комбинг

Не так давно в мире появились более современные методы определения числа макросателлитных повторов, например, метод молекулярного комбинга. Несмотря на сокращение шагов в детекции макросателлитных массивов и преимуществ в мозаичных случаях и некоторых структурных перестройках между повторами D4Z4 4-й и 10-й хромосомы,

данный метод не всегда позволяет определить хромосомную принадлежность в случае гибридного состава массива повторов D4Z4, и сам он требует использования довольно дорогостоящих реагентов и оборудования, что является главным ограничением его применения.

Имеющаяся коммерческая платформа (Genomic Vision, France) для проведения диагностики МДЛД предполагает четырехстадийный процесс:

- выделение геномной ДНК в агарозных блоках;
- молекулярный комбинг – получение растянутых на покровном стекле нитей хроматина (обработанные специальным образом молекулы ДНК фиксируются на покровном стекле, после фиксации ДНК стекла поднимаются вертикально с постоянной скоростью 300 мкм/сек, способствуя растяжению единичных молекул вдоль вертикальной оси);
- гибридизация молекул ДНК на покровных стеклах с интересующими FISH-пробами;
- детекция флуоресцентного сигнала и его компьютерная обработка.

В ходе такой диагностики удастся получить цветковые изображения отдельных молекул ДНК, гибридизованных с пробам, специфичными для последовательностей хромосомы 4 либо 10, к тандемам повторов D4Z4 и гаплотипам. Имеющаяся коммерческая платформа для молекулярного комбинга позволяет одновременно проводить диагностику МДЛД для четырех образцов за 3-4 дня. В результатах анализа присутствуют данные о длине всех аллелей массива повторов D4Z4 хромосом 4 и 10, гаплотипах данных аллелей, уровне мозаицизма и перестройках массивов.

Нанопоровое секвенирование

Сложность структурной организации D4Z4 и уникальность механизма патогенеза МДЛД исключает применение рутинных методов для диагностики. В том числе, использование массового параллельного секвенирования для анализа длин массивов D4Z4 не представляется возможным. Однако с появлением нанопорового секвенирования можно за одно прочтение проанализировать всю длину массива повторов. Сегодня коммерческая платформа (Oxford Nanopore, UK) позволяет получать ультрадлинные прочтения с показателем N50 > 100 т.п.н. Нанопоровое

секвенирование является достаточно информативным методом и позволяет идентифицировать сразу четыре аллеля D4Z4, как на 4-й, так и на 10-й хромосомах, детектировать мозаицизм, а также гибридный состав аллелей. Однако оно еще не приобрело широкого применения в диагностике МДЛД, вероятно, из-за сложности подготовки ДНК, анализа данных, высокой стоимости и малой доступности коммерческой платформы в России.

4.3. Оценка статуса метилирования массива повторов D4Z4

Молекулярно-генетическая диагностика МДЛД 2 типа представляет собой более сложную задачу по сравнению с МДЛД 1 типа в связи с дигенным типом наследования и часто требует проведения дополнительных исследований. Сегодня существует анализ уровня метилирования, являющийся важным диагностическим критерием, позволяющим разрешить вопрос молекулярно-генетического подтверждения диагноза.

Пациенты с МДЛД 2 типа имеют особый паттерн гипометилирования области D4Z4, который позволяет отличать их от пациентов с МДЛД 1 типа и здоровых индивидуумов. Как было показано, патогенные варианты в генах-модификаторах хроматина (в основном, в гене *SMCHD1*) приводят к снижению метилирования на обоих аллелях D4Z4, как на хромосоме 4, так и на хромосоме 10, в то время как у пациентов с МДЛД 1 типа наблюдается только локальное снижение метилирования – на пермиссивном аллеле 4q35 (при наличии от 1 до 10 повторов D4Z4 и пермиссивного гаплотипа 4qA), а у здоровых индивидуумов эта область остается гиперметилированной.

Существует несколько основных диагностических подходов к оценке метилирования области макросателлитных повторов D4Z4:

- анализ метилирования с помощью метил-чувствительных эндонуклеаз на основе Саузерн-блоттинга с оценкой интенсивности сигнала от фрагментов разной длины;
- бисульфитное секвенирование различных локусов, лежащих в области D4Z4;
- нанопоровое секвенирование с использованием CRISPR/Cas9 gRNA.

Более распространенными являются первые два подхода.

Анализ метилирования с помощью метил-чувствительных эндонуклеаз на основе Саузерн-блоттинга с оценкой интенсивности сигнала от фрагментов разной длины

Этот метод используется для определения метилирования в сайте рестриктазы FseI в наиболее проксимальном блоке D4Z4. Образец жидкой геномной ДНК подвергается двойной рестрикции с помощью BglII/ EcoRI для получения фрагментов размером менее 50 кб, после чего проходит этап очистки и обрабатывается метил-чувствительной эндонуклеазой рестрикции FseI.

Далее образец ДНК разгоняется с помощью пульс-электрофореза и гибридизуется с зондом P13E-11. При последующей детекции определяются бэнды разной длины, соответствующие метилированным и неметилированным фрагментам. Уровень метилирования рассчитывается по соотношению между этими двумя полосами. Этот анализ одновременно измеряет уровень метилирования D4Z4 на обеих хромосомах 4q и 10q. Общепринятым критерием, позволяющим исключить диагнозы МДЛД 1 и 2 типа, является уровень метилирования исследуемых участков больше 25%.

Бисульфитное секвенирование различных локусов, лежащих в области D4Z4

Как уже было сказано, пациентов с МДЛД 2 типа отличает глобальное гипометилирование областей D4Z4. Группой ученых была разработана система двухраундовой амплификации трех целевых локусов D4Z4 после бисульфитной конверсии геномной ДНК. Далее эти локусы были клонированы в плазмиды, а оценка уровня метилирования проводилась при анализе последовательности небольшого количества клонов. В лаборатории функциональной геномики ФГБНУ «МГНЦ» данная методика была модифицирована, и анализ статуса метилирования CpG пар проводится при последующем массовом параллельном секвенировании целевых локусов с глубоким покрытием.

Метод основан на анализе трех локусов, позволяющих оценивать статус локального и глобального метилирования. Локусы 4qAs и/или 4qAL располагаются дистальнее относительно последнего повтора D4Z4, и их амплификация будет происходить только при наличии у исследуемого образца последовательности данных пермиссивных гаплотипов. Так, в исследуемом образце могут присутствовать оба аллеля,

и 4qAs, и 4qAL; может быть только один аллель с пермиссивным гаплотипом, либо 4qAs, либо 4qAL; но также может не быть ни одного аллеля с гаплотипом А. Анализ метилирования этих двух локусов позволяет судить о метилировании на данном конкретном аллеле с этим гаплотипом, то есть о локальном статусе метилирования. Третий локус, DUX4, расположен в каждом из повторов D4Z4 хромосомы 4 и позволяет оценивать глобальный уровень метилирования на обоих аллелях D4Z4 4q35.

Для данного анализа распределение по значениям метилирования в группах пациентов с МДЛД 2 типа, МДЛД 1 типа и у контрольных здоровых имеет свои референсные значения. Так, локальное метилирование у группы МДЛД 2 типа не превышает значения в 35%, а уровень глобального метилирования не выходит за рамки 45%.

Однако необходимо помнить, что результаты анализа метилирования не могут быть правильно интерпретированы отдельно от клинической картины и результатов исследований, определяющих число и длину аллелей 4q с пермиссивным гаплотипом.

Раздел 5. Дифференциальная диагностика МДЛД

Дифференциальная диагностика МДЛД должна проводиться с НМБ, характеризующимися поражением лицевой мускулатуры и/или скапулоперонеальным фенотипом. К этой группе НМБ относятся:

- доминантная скапулоперонеальная *MYH7*-ассоциированная миопатия (ОМIM 608358) с дебютом в детском или взрослом возрасте, с широко вариабельным фенотипом даже в пределах одной семьи. Для этой миопатии характерно наличие лицевой слабости, формирование контрактур суставов со временем и развитие дыхательной недостаточности у части пациентов;
- X-сцепленная доминантная *FHL1*-ассоциированная миопатия (ОМIM 300695);
- X-сцепленная и доминантная мышечная дистрофия Эмери–Дрейфуса (ОМIM 310300, 181350), которая характеризуется наличием лопаточно-перонеальной слабости, формированием ранних контрактур локтевых и голеностопных суставов, ригидностью позвоночника и сердечной патологией в виде нарушения сердечного ритма и проводимости или кардиомиопатии;
- скапулоперонеальный синдром, тип Кайзера, ассоциированный с патогенными гетерозиготными вариантами в гене *DES* (ОМIM 181400), характеризующийся дебютом во взрослом возрасте, а также часто слабостью мимической мускулатуры, бульбарными нарушениями и гинекомастией;
- *ACTA1*-ассоциированная миопатия (ОМIM 616852) с дебютом на первом десятилетии жизни. Помимо скапуло-перонеальной слабости, у пациентов отмечается слабость лицевой мускулатуры, шеи, разгибателей запястья и пальцев, постепенное вовлечение мышц тазового пояса и ног, контрактуры локтевых суставов;
- *TRPV4*-ассоциированная доминантная скапулоперонеальная спинальная амиотрофия (ОМIM 616852), которая характеризуется дебютом в первом десятилетии жизни, отсутствием слабости мимической мускулатуры, нейрогенным паттерном поражения при игольчатой ЭМГ, часто развитием пареза голосовых связок.

В редких случаях МДЛД дифференцируют с врожденным одно-сторонней или двусторонней гипоплазией трапецевидной, ромбовидной и других мышц плечевого пояса (болезнь Шпренгеля или высокое стояние лопаток). Данное состояние относится к врожденным порокам развития.

Некоторые ненаследственные состояния, могут иметь сходную клиническую картину с МДЛД, например, анти-SRP-ассоциированная некротизирующая миопатия. Болезнь имеет средний возраст дебюта в 40–50 лет и характеризуется быстро прогрессирующей слабостью проксимальной мускулатуры конечностей, часто с вовлечением мимических мышц, сгибателей шеи, а также аксиальной мускулатуры. В некоторых случаях отмечается асимметричное и более выраженное поражение дистальных мышц ног. Таким образом, анти-SRP-ассоциированная некротизирующая миопатия, часто протекающая со слабостью мимической мускулатуры, ограничением отведения рук вследствие слабости мышц плечевого пояса, слабостью аксиальной мускулатуры, асимметричным поражением мышц голени может имитировать МДЛД. Дифференцировать эти состояния помогают отсутствие данных о семейной отягощенности, подостром начале болезни, повышенный титр анти-SRP антител при выполнении иммунологического обследования и характерный для анти-SRP-ассоциированной некротизирующей миопатии паттерн поражения мышц при МРТ.

У детей первого года жизни при наличии слабости мимической мускулатуры и с нормальными темпами моторного развития проводят дифференциальную диагностику МДЛД с синдромом Мебиуса (OMIM: 157900) и наследственным врожденным парезом лицевого нерва (OMIM: 601471, 604185, 614744). При синдроме Мебиуса и врожденном парезе лица помимо амимии наблюдаются глазодвигательные нарушения (при синдроме Мебиуса) и нарушения слуха (при врожденном парезе), обусловленные вовлечением VI и VIII пар черепных нервов соответственно. При этом необходимо помнить, что ранняя форма МДЛД также часто сопровождается двусторонней сенсоневральной тугоухостью. Это затрудняет дифференциальную диагностику МДЛД с наследственными врожденными парезами лица. Однако сохраняемая сила мышц конечностей и аксиальной мускулатуры, отсутствие крыловидных лопаток и изменений при проведении игольчатой ЭМГ мышц конечностей при врожденном парезе лица позволяют дифференцировать состояния на клиническом этапе. При синдроме Мебиуса

и врожденном парезе лица проведение нейрофизиологического теста блинк-рефлекса выявляет изменения, характерные для поражения ядер лицевого нерва.

Раздел 6. Медико-генетическое консультирование пациентов с МДЛД

Медико-генетическое консультирование – это вид специализированной медицинской помощи семье или отдельным лицам, основной целью которого является профилактика рождения в семье детей с наследственной патологией. При проведении консультации пациентов врач-генетик устанавливает диагноз, который стал поводом обращения к специалисту, и информирует пациента о природе возникновения и типе наследования заболевания, а также о наиболее эффективных способах профилактики рождения ребенка с наследственной патологией в семье.

Врач-генетик в процессе общения проводит сбор жалоб и анамнеза, в том числе семейного, а также знакомится с результатами биохимических и инструментальных обследований. По результатам клинического осмотра врач-генетик формирует свое заключение. В случае подозрения на МДЛД может быть рекомендована следующая схема молекулярно-генетического обследования: (1) определение числа повторов D4Z4 на хромосоме 4 и пермиссивного гаплотипа, (2) в случае нормального числа повторов D4Z4 вторым этапом проводится поиск патогенных вариантов в генах модификаторов хроматина (гетерозиготных в генах *SMCHD1* или *DNMT3B*, или биаллельных вариантов в гене *LRIF1*) с помощью методов массового параллельного секвенирования, (3) в случае обнаружения вариантов в генах-кандидатах обычно рекомендуется проведение анализа сегрегации выявленного варианта в семье. В качестве подтверждающей диагностики при МДЛД 2 типа применяется анализ метилирования области повторов D4Z4 на хромосоме 4, а также определение числа повторов D4Z4 в диапазоне от 12 до 30 модифицированным методом с помощью qPCR. Некоторые варианты нуклеотидной последовательности могут требовать проведения функционального анализа.

После молекулярно-генетического подтверждения диагноза проводится расчет генетического риска. МДЛД 1 типа наследуется аутосомно-доминантно, и риск передачи заболевания потомству составляет 50%, что относится к категории высокого генетического риска. Учитывая, что большинство случаев МДЛД 1 типа являются семейными (70–80% всех случаев МДЛД), рекомендуется клинический осмотр не только пробан-

да, но и его родителей. После осмотра принимается решение о проведении ДНК-анализа родителям.

При консультировании семей с МДЛД по репродуктивным вопросам обязательно следует учитывать следующее: (1) в семьях с большим числом повторов D4Z4 (7–10 единиц) отмечается неполная пенетрантность и значительная вариабельная экспрессивность болезни, вплоть до полного отсутствия симптомов болезни у таких пациентов. Родители должны быть полностью осведомлены об этом и этических проблемах, которые могут возникнуть при прерывании беременности; (2) дети пациента с соматическим мозаицизмом могут иметь гораздо более тяжелое проявление болезни, чем у самого пациента. Оценка риска передачи болезни потомству в таких случаях затруднена, однако тем не менее риск остается высоким.

Пренатальная диагностика (ПД) при МДЛД 1 типа имеет ограничения в связи с уникальным и сложным молекулярно-генетическим механизмом развития болезни. При ПД проводится биопсия ворсин хориона или амниоцентез для получения ДНК плода, которая затем тестируется методом Саузерн-блоттинга для определения сокращения числа повторов D4Z4. Сегодня этот метод в России не доступен. Биопсия ворсин хориона обычно проводится примерно на 11-й неделе беременности, а пункция околоплодных вод при амниоцентезе – во время или после 16-й недели беременности. Риск выкидыша при проведении этих тестов низкий и составляет менее 0,5%. При других наследственных заболеваниях генетическое тестирование на наличие известных патогенных вариантов обычно занимает около двух недель. Однако ПД на МДЛД 1 типа с использованием Саузерн-блоттинга занимает не меньше четырех недель, в связи с чем результаты ПД обычно пациенты получают только на 16–17-й неделе или 20-й недели беременности после биопсии ворсин хориона или амниоцентеза соответственно. В связи с такими сроками диагностические лаборатории предпочитают проводить именно биопсию ворсин хориона, чтобы получить своевременные результаты. Вопрос о прерывании беременности может быть рассмотрен, если ПД выявит сокращение числа повторов D4Z4. Для проведения ПД не может быть использован метод определения числа повторов D4Z4, основанный на qPCR, в связи с тем, что для этого метода необходимо получение большого количества ДНК из материала.

Преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ) позволяет провести тестирование до наступления беременности. Для проведения ПГТ необходимо провести цикл экстракорпорального оплодотворения, в ходе которого получают яйцеклетки и проводят микроинъекцию одним сперматозоидом. В результате получаются эмбрионы *in vitro*, одна или несколько клеток которых тестируются на наличие патогенного варианта. В матку переносятся только эмбрионы без патогенного варианта. Принцип ПГТ при моногенных заболеваниях (ПГТ-М) включает в себя, кроме исследования патогенного варианта, также исследование дополнительных маркеров, сцепленных с исследуемым вариантом. Саузерн-блоттинг и метод, основанный на qPCR, не могут быть использованы при ПГТ-М, поскольку для проведения исследований необходимое большое количество ДНК. Косвенная диагностика, основанная на гаплотипировании маркеров МДЛД 1, осложняется особенностями геномного региона с массивом повторов D4Z4 на хромосоме 4. При разработке системы для косвенной диагностики в рамках протокола ПГТ-М МДЛД 1 типа могут применяться только микросателлитные маркеры, расположенные вблизи локуса D4Z4, и в связи с высокой вероятностью рекомбинации ошибка определения наличия сокращения повторов у эмбриона может составлять более 5%, что значительно выше, чем при других моногенных заболеваниях. В рамках протокола ПГТ-М всегда рекомендуется проведение ПД.

В связи с дигенным характером наследования МДЛД 2 типа возможны разные сценарии наследования этой болезни. МДЛД 2 типа развивается в том случае, если от одного или обоих родителей переданся и аллель с числом повторов D4Z4 на хромосоме 4 от 8 до 30, и патогенный вариант в гене модификатора хроматина. Следовательно, необходимо учитывать генотип обоих будущих родителей, что усложняет консультирование семей с МДЛД 2 типа по репродуктивным вопросам. Несмотря на возможность выявления известного патогенного варианта в гене модификатора хроматина в тестируемом материале, определение гаплотипа 4q и числа повторов D4Z4 более 10 остается невозможным. Это существенно осложняет прогноз вероятности наличия у плода генетической предрасположенности к МДЛД 2 типа и препятствует точному консультированию будущих родителей.

Раздел 7. Динамическое наблюдение за пациентами с МДЛД

Пациентам с МДЛД необходимо рекомендовать мультидисциплинарное наблюдение у ряда специалистов:

- 1) наблюдение невролога (ежегодно или чаще при необходимости) с целью оценки неврологического статуса, а также по возможности оценки тяжести и прогрессирования состояния с использованием клинических шкал (Clinical Severity Score и FSHD Clinical Score), подбора противоболевой терапии при необходимости;
- 2) наблюдение ортопеда (ежегодно или чаще при необходимости) с целью оценки опорно-двигательных нарушений и решения вопроса коррекции нарушения осанки, подбора ортезов на голеностопные суставы при необходимости;
- 3) консультация врача лечебной физкультуры, кинезиотерапевта для подбора оптимального комплекса физических упражнений;
- 4) наблюдение логопеда, логопеда-дефектолога пациентов с ранним началом МДЛД;
- 5) наблюдение офтальмолога (ежегодно или чаще при необходимости) всем пациентам с ранней формой МДЛД, а также взрослым пациентам при возникновении жалоб на зрение, возможна ранняя хирургическая коррекция экссудативной ретинопатии;
- 6) консультация сурдолога и аудиометрия, ежегодное наблюдение сурдолога (или чаще при необходимости) пациентам с ранней формой МДЛД, детям с установленным диагнозом в дошкольном возрасте, а также взрослым при возникновении жалоб на снижение слуха;
- 7) ежегодный или чаще при необходимости скрининг на наличие симптомов гиповентиляции. Измерение форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) проводится пациентам при наличии жалоб на одышку, дневную сонливость, а также пациентам с сопутствующей патологией легких, выраженными ортопедическими нарушениями (кифосколиоз средней и тяжелой степени, деформации грудной клетки), зависимым от инвалидной коля-

ски и перед планированием любого хирургического вмешательства. Измерение ФЖЕЛ рекомендуется как в положении сидя, так и в положении лежа с использованием полной лицевой маски, а не мундштука, чтобы избежать получения заниженных показателей вследствие утечки воздуха из-за слабого смыкания губ. Детям возможно проведение ночной пульсоксиметрии. Консультация пульмонолога показана при ФЖЕЛ менее 60% от должного значения, чрезмерной дневной сонливости или длительном нарушении режима сна. Признаки ночной гиповентиляции или снижение ФЖЕЛ больше чем на 50% от должного значения являются показанием к применению неинвазивных аппаратов искусственной вентиляции легких;

- 8) наблюдение кардиолога при наличии соответствующих жалоб или при наличии сопутствующей сердечно-сосудистой патологии, с частотой, определяемой специалистом;
- 9) для объективной оценки динамики состояния мышц возможно проведение МРТ мышц всего тела в режимах T1 и T2 STIR с частотой 1 раз в 3 года.

Раздел 8. Терапевтические подходы при МДЛД

8.1. Кинезиотерапия при МДЛД

В программу реабилитации пациентов с МДЛД должны быть включены упражнения на растяжку, аэробные и статические упражнения, дыхательная гимнастика, гимнастика для лица, занятия с логопедом, а также плавание и массаж. Кинезиотерапия представляет собой коррекцию опорно-двигательного аппарата комплексом правильно подобранных упражнений и широко применяется у пациентов с МДЛД. Комплекс подбирается индивидуально в зависимости от жалоб пациента, неврологического статуса, наличия ортопедических дыхательных и кардиологических нарушений, физических возможностей пациента. Суммарная длительность тренировок в неделю должна составлять не менее 2,5 часа при средней интенсивности упражнений. Упражнения желательно разделить на 5 дней в неделю по 30 минут в день. Очень важна регулярность тренировок, а упражнения по укреплению мышц всего тела следует выполнять не менее 2-3 дней в неделю.

В первую очередь показаны аэробные физические нагрузки, так как доказано, что они способны повышать физическую силу и укреплять сердечно-сосудистую систему. Данные упражнения включают быструю ходьбу, езду на велосипеде по ровной поверхности, занятия на велотренажере и т. п. Пациентам, которые не могут заниматься аэробными упражнениями, например, в силу выраженной мышечной слабости, отсутствия возможности самостоятельного передвижения, рекомендуется программа умеренных силовых тренировок в качестве альтернативного метода.

Комплекс укрепляющих и силовых упражнений включает физические нагрузки на основные группы мышц с сопротивлением. Для этого можно использовать эластичные ленты, гантели с небольшим весом или плавание. Положительный эффект от силовых тренировок был показан в 2019 году для пациентов с разными формами мышечных дистрофий. Через 12 недель после внедрения комплекса силовых упражнений наблюдались положительные результаты в виде уменьшения времени спуска и подъема по лестнице, затрачиваемого пациентами, и увеличения силы мышц ног. Упражнения на гибкость и растяжку необходимы для

поддержания функционального состояния суставов и уменьшения болевого синдрома, связанного с напряжением отдельных мышц. Комплекс упражнений должен выполняться на разогретых мышцах для избежания травматизации, ежедневно или не менее трех раз в неделю.

8.2. Симптоматическая терапия МДЛД

Одним из недооцениваемых симптомов у пациентов с МДЛД является болевой синдром. Так из 398 пациентов, состоящих в британском регистре, 88,6% сообщили о наличии болевого синдрома, при этом у 30,4% отмечалась хроническая боль сильной выраженности. При этом о применении лекарственных препаратов для снятия болевого синдрома сообщили 367 пациентов. Боль имеет разный характер, интенсивность и локализацию, однако чаще всего затрагивает плечевой пояс и поясничный отдел спины, а также тазовый пояс и бедра. Помимо упражнений на растяжку, для уменьшения болевого синдрома могут применяться массаж, электростимуляция. Из лекарственных препаратов обычно рекомендуется применение нестероидных противовоспалительных препаратов.

Эффективность применения биологически активных веществ, таких, как витамины С и Е, глюконат цинка, селенометионин, у пациентов с МДЛД была исследована в двойном слепом рандомизированном контролируемом клиническом исследовании, результаты которого были опубликованы в 2015 г. Предполагалось, что эти пищевые добавки влияют на антиоксидантные механизмы, уменьшая окислительный стресс, который играет решающую роль в развитии мышечной дистрофии. Это исследование показало статистически значимое улучшение по показателям максимального произвольного сокращения и времени выносливости обеих четырехглавых мышц (доминантной и недоминантной) по сравнению с исходным уровнем и между исследуемыми группами. Кроме того, это исследование показало, что биомаркеры окислительного стресса значительно снизились в группе, получавшей лечение. Однако существенные изменения по первичным результатам (по тесту двухминутной ходьбы) были достигнуты только по сравнению с исходным уровнем, но при сравнении показателя между исследуемыми группами различий не обнаружено. Авторы предположили, что такие результаты могли быть обусловлены неоднородностью исследуемой группы и большим числом пациентов со степажем в группе лечения. О каких-либо

побочных эффектах исследуемых веществ не сообщалось. Для пациентов со слабостью круговых мышц глаз, случаев сна с неполностью закрытыми глазами рекомендовано использование глазного геля из группы протекторов роговицы в ночное время с целью профилактики экспозиционного кератита.

8.3. Клинические испытания препаратов этиопатогенетической терапии МДЛД

В настоящее время несколько препаратов проходят разные фазы клинических испытаний, среди которых как новые генноинженерные препараты, разработанные специально для лечения МДЛД (малые молекулы, олигонуклеотиды), так и ранее известные препараты (моноклональные антитела).

Losmapimod – пероральный препарат для постоянного применения. Механизм действия заключается в избирательном ингибировании митогенактивируемых протеинкиназ p38 α / β (MAPK), которые являются ферментативными модуляторами экспрессии DUX4 и медиаторами воспаления. Ингибируя экспрессию DUX4, лосмапимод уменьшает апоптоз в клеточных линиях у пациентов с МДЛД. В настоящее время препарат проходит 3-ю фазу клинических испытаний. Первые две фазы испытаний показали многообещающие результаты при хорошей переносимости и безопасности препарата. Побочные эффекты были минимальными и несерьезными, такими как головная боль, головокружение, сонливость и расстройство желудочно-кишечного тракта. Завершившаяся вторая фаза (ReDUX4) продемонстрировала потенциальное улучшение определенных структурных показателей (степень инфильтрации мышц по МРТ), функциональных показателей (достижимое рабочее пространство для рук) и улучшения качества жизни пациентов по сравнению с группой плацебо. Эти данные послужили основой для разработки и выбора конечных показателей эффективности лосмапимода в третьей фазе исследования у взрослых с МДЛД. Тем не менее не было продемонстрировано существенного изменения показателей экспрессии генов, зависящих от DUX4, что не говорит прямо об эффективности препарата или ее отсутствии, но может быть связано с тем, что применяемые методы не могут детектировать изменения данных параметров.

АОС 1020 (Del-brax) – антитело-олигонуклеотидный комплекс для подавления экспрессии DUX4 путем механизма РНК-интерференции. Препарат вводится внутривенно. На сегодняшний день АОС 1020 проходит 1 и 2 фазы клинических испытаний у взрослых пациентов с МДЛД 1 и 2 типов. Согласно предварительным данным, у пациентов, получавших АОС 1020, отмечается тенденция к функциональному улучшению, включая увеличение силы мышц верхних и нижних конечностей, что было продемонстрировано при сравнении данных с группой плацебо и с результатами ранее проведенного исследования естественного течения болезни ReSolve. С точки зрения безопасности препарат признан хорошо переносимым, без серьезных нежелательных явлений.

ARO-DUX4 – относится к классу препаратов малых интерферирующих РНК и ингибирует экспрессию DUX4 через механизм РНК-интерференции. В настоящее время проводятся 1 и 2-я фазы клинических испытаний для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики и фармакодинамики препарата у взрослых пациентов с МДЛД 1 типа.

RO7204239 – препарат из класса моноклональных антител и является экспериментальным препаратом, блокирующим активность миостатина, белка, контролирующего в организме рост мышечной ткани. В настоящее время проходит вторая фаза клинических испытаний. В исследовании участвуют взрослые пациенты с МДЛД 1 и 2 типа. Препарат вводится подкожно. Предполагается, что ингибирование миостатина позволит увеличивать мышечную массу у пациентов с МДЛД.

Сатрализумаб – относится к классу моноклональных антител, подклассу иммуноглобулинов G2, связывается как с растворимым, так и с мембранным человеческим рецептором интерлейкина-6. Интерлейкин-6 является многофункциональным цитокином, который продуцируется различными типами клеток и участвует в различных воспалительных процессах. Ранее проведенное исследование роли воспаления в развитии МДЛД, в котором оценивались сывороточные цитокины у 100 взрослых пациентов с МДЛД 1 типа, показало повышение уровня воспалительных и снижение уровня противовоспалительных цитокинов, сигнализирующих о хроническом воспалении. Примечательно, что интерлейкин-6 стал многообещающим биомаркером активности болезни, демонстрирующим устойчивую корреляцию с установленной клинической тяжестью и функциональными показателями. Учитывая значимость воспаления в развитии болезни и корреляцию уровня ин-

терлейкина-6 с тяжестью заболевания, запланировано исследование эффективности сатрализумаба при МДЛД (REINFORCE). Ожидается, что подавление сатрализумабом передачи сигналов по нисходящему пути через рецепторы интерлейкина-6 приведет к уменьшению воспаления и фиброзно-жировой дегенерации мышц при МДЛД.

Ситуационные задачи

Задача 1

Пациент, 14 лет, впервые обратился к врачу с мамой в возрасте 6 лет в связи с выраженной слабостью лицевых мышц. Родители заметили в раннем детском возрасте, что у мальчика во сне всегда полуоткрыты глаза, а также сглажена мимика лица, особенно при улыбке. В подростковом возрасте присоединилась слабость в плечевом поясе, что затрудняло подъем рук над головой. Со временем возникли трудности при поднятии с положения сидя и ходьбе по лестнице. Отмечается утрата способности бегать. Сестра пациента, которой 18 лет, имеет схожие симптомы. Родители жалоб не предъявляют, но при осмотре матери проба выявлены асимметричная улыбка и односторонняя крыловидная лопатка. При осмотре проба выявлены слабость лицевой мускулатуры, амимия, лагофтальм, слабость сгибателей шеи, крыловидные лопатки с двух сторон, слабость мышц плечевого пояса, тазового пояса и ног, специфический паттерн ходьбы (степпаж в сочетании с переваливающейся походкой), гиперлордоз поясничного отдела позвоночника, кифосколиоз грудного отдела позвоночника, приемы Говерса при вставании с кушетки, арефлексия рук и ног. Биохимический анализ крови показал умеренное повышение КФК до 600 Ед/л. По данным игольчатой ЭМГ, признаки первично-мышечного паттерна поражения с патологической спонтанной активностью умеренной выраженности.

В результате молекулярно-генетической диагностики выдано следующее заключение пробанду:

432	Пермиссивный аллель четвертой хромосомы: 3 повтора D4Z4, гаплотип 4qA
-----	---

Установлено наличие пермиссивного аллеля четвертой хромосомы (3 повтора D4Z4, гаплотип 4qA).

Вопросы к задаче.

1) *Можно ли считать диагноз МДЛД в этом случае подтвержденным?*

- а) Да, это МДЛД 1 типа
- б) Да, это МДЛД 2 типа

- с) Нет, нужны дополнительные исследования
- 2) *Что не объясняет наличие минимальных клинических проявлений у матери пробанда при ранней тяжелой форме МДЛД у ее сына?*
- а) У матери возможен соматический мозаицизм
- б) Мать не страдает МДЛД
- с) Возможное наличие у пробанда патогенного варианта в гене SMCHD1, как модифицирующего фактора тяжести клинической картины
- 3) *Какой тип наследования наиболее вероятен в данном случае?*
- а) Аутосомно-доминантный
- б) Аутосомно-рецессивный
- с) Сцепленный с X-хромосомой
- д) Митохондриальный
- 4) *Какое из следующих осложнений наиболее вероятно у пациента с ранней формой мышечной дистрофии Ландузи–Дежерина?*
- а) Сердечная недостаточность
- б) Респираторная недостаточность
- с) Нарушение функции почек
- д) Артериальная гипертензия
- 5) *Какой прогноз в отношении продолжительности жизни пациента с тяжелой формой мышечной дистрофии Ландузи–Дежерина?*
- а) Обычная продолжительность жизни, если избежать осложнений
- б) Продолжительность жизни сокращена на 10–20 лет
- с) Значительное сокращение продолжительности жизни (на 20–30 лет)
- д) Жизнь ограничена детским или подростковым возрастом

Задача 2

Пациент, 45 лет, обратился к неврологу с жалобами на ограничение подъема правой руки в течение нескольких месяцев. Ранее считал себя абсолютно здоровым, в детстве занимался спортом. У его брата 48 лет отмечается нарушение походки в виде шлепания левой стопы, диагностирована нейропатия малоберцового нерва. В семье ранее не было известных случаев нервно-мышечных болезней. При осмотре

обратившегося выявлено затрудненное надувание щек, односторонняя крыловидная лопатка, ограничение подъема правой руки выше горизонтального уровня, признак Бивора 1 см. В остальном неврологический статус без особенностей. Уровень КФК в пределах нормы.

В результате молекулярно-генетической диагностики выдано следующее заключение пробанду:

402	<i>Обнаружен аллель четвертой хромосомы, содержащий 12 повторов D4Z4, гаплотип 4qA.</i>
-----	---

Установлено наличие аллеля четвертой хромосомы с 12 повторами D4Z4, гаплотип 4qA.

Вопросы к задаче.

1) *Какое из перечисленных заболеваний является наиболее вероятным диагнозом по клиническим данным?*

- a) Миастения гравис
- b) Боковой амиотрофический склероз
- c) Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина
- d) Дерматомиозит

2) *Можно ли считать диагноз МДЛД подтвержденным молекулярно-генетическими методами?*

- a) Да, это МДЛД 1 типа
- b) Да, это МДЛД 2 типа
- c) Нет, нужны дополнительные исследования

3) *Какие дополнительные исследования необходимо провести следующим этапом?*

- a) Дополнительные исследования не нужны
- b) Поиск патогенных вариантов в генах модификаторов хроматина с помощью методов МПС
- c) Определение статуса метилирования массива повторов D4Z4
- d) Определение кариотипа
- e) Хромосомный микроматричный анализ
- f) Поиск делеций и дупликаций в гене *DMD*

Дополнительные данные к ситуационной задаче 2

В результате второго этапа молекулярно-генетической диагностики (секвенирование клинического экзона) выдано следующее заключение пробанду:

1. Патогенные варианты нуклеотидной последовательности, являющиеся вероятной причиной заболевания

Ген	Положение (hg19)	Генотип	Экзон/интрон	Положение в кДНК	Эффект	Частота аллеля*	Референсная последовательность	Глубина прочтения
Не выявлено								

2. Вероятно патогенные варианты нуклеотидной последовательности, являющиеся возможной причиной заболевания

Ген	Положение (hg19)	Генотип	Интрон	Положение в кДНК	Эффект	Частота аллеля*	Референсная последовательность	Глубина прочтения
SMCHD1	chr18:2666232G>A	G/A	2	c.262+1G>A	р.?	н/д	NM_015295.2	x50

*Частоты аллелей приведены по базе The Genome Aggregation Database (v.2.1.1) (выборка до 150 000 человек). н/д = нет данных (не описан)

А также определен статус метилирования массива повторов D4Z4:

		Уровень метилирования локусов D4Z4		
Образцы	ФИО	4qAs	4qAL	DUX 4
402	Пробанд	12 %	-	20 %

Результаты проведенного анализа метилирования локусов района D4Z4 хромосомы 4 у пробанда не исключают диагноз МД Ландузи-Дежерина 2-го типа.

Результаты анализа метилирования локусов района D4Z4 хромосомы 4 могут быть правильно интерпретированы только в совокупности с клиническими данными и результатами анализа, определяющим количество и длины аллелей 4q с пермиссивным гаплотипом.

4) Какой диагноз можно установить пациенту с учетом дополнительных данных молекулярно-генетических исследований?

- МДЛД 1 типа
- МДЛД 2 типа
- Установление диагноза по полученным данным не представляется возможным
- Скапуло-перонеальная СМА

5) *Какие рекомендации наиболее важны для пробанда?*

- a) Назначение глюкокортикостероидов для снижения воспаления
- b) Трансплантация стволовых клеток
- c) Назначение иммуносупрессивной терапии
- d) Консультация кинезиотерапевта и регулярное выполнение поддерживающих упражнений.

Заключение

Настоящее учебно-методическое пособие содержит необходимый теоретический минимум по клиническому статусу, методам диагностики и терапии МДЛД. Обучающиеся смогут диагностировать МДЛД на клиническом этапе и обосновывать клиническую интерпретацию результатов молекулярно-генетических анализов. Уникальность этиопатогенетических механизмов представленной болезни обуславливают комплексные подходы молекулярно-генетической диагностики как МДЛД 1 типа, так и МДЛД 2 типа. Несмотря на сложность этиопатогенеза болезни, уже несколько препаратов для таргетной терапии МДЛД проходят клинические испытания и показывают обнадеживающие результаты. Методические рекомендации по ведению пациентов с МДЛД, безусловно, будут постоянно обновляться и дополняться профессиональными сообществами с учетом успехов молекулярной биологии в создании препаратов для этиопатогенетической терапии и современных возможностей компьютеризации и робототехники.

Ответы к ситуационным задачам

Задача 1

Вопрос 1: а) Да, это МДЛД 1 типа

Вопрос 2: б) Мать не страдает МДЛД

Вопрос 3: а) Аутосомно-доминантный

Вопрос 4: б) Респираторная недостаточность

Вопрос 5: а) Обычная продолжительность жизни, если избежать осложнений

Задача 2

Вопрос 1: с) Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина.

Вопрос 2: с) Нет, нужны дополнительные исследования

Вопрос 3: б) Поиск патогенных вариантов в генах модификаторов хроматина с помощью методов МПС; с) Определение статуса метилирования массива повторов D4Z4

Вопрос 4: б) МДЛД 2 типа

Вопрос 5: d) Консультация кинезиотерапевта и регулярное выполнение поддерживающих упражнений

Рекомендуемая литература

1. Дадали Е. Л., Шаркова И. В., Зернов Н. В., Руденская Г. Е., Скоблов М. Ю. Клинико-генетические характеристики лице-плече-лопаточной миодистрофии Ландузи–Дежерина типа 1. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2017;117(11):122-128.
2. Зернов Н. В., Вяхирева Ю. В. Гуськова А. А., Дадали Е. Л., Скоблов М. Ю. Клинико-генетические характеристики и особенности диагностики лице-плече-лопаточной миодистрофии Ландузи–Дежерина. Генетика. 2017; 53(6): 651-62.
3. Zernov N., Skoblov M. Genotype-phenotype correlations in FSHD. BMC Med Genomics. 2019 Mar 13;12(Suppl 2):43.
4. Zernov N. V., Guskova A. A., Skoblov M. Y. FSHD1 Diagnosis in a Russian Population Using a qPCR-Based Approach. Diagnostics (Basel). 2021; 28;11(6):982
5. Lamperti C., Fabbri G., Vercelli L., et al. A standardized clinical evaluation of patients affected by facioscapulohumeral muscular dystrophy: The FSHD clinical score. Muscle Nerve. 2010;42(2):213-7.
6. Tihaya M. S., Mul K., Balog J., et al. Facioscapulohumeral muscular dystrophy: the road to targeted therapies. Nat Rev Neurol. 2023;19(2):91-108.
7. Goselink R. J. M., Voermans N. C., Okkersen K., et al. Early onset facioscapulohumeral dystrophy – a systematic review using individual patient data. Neuromuscul Disord. 2017;27(12):1077-1083.
8. Voet N. B., van der Kooi E. L., van Engelen B. G., Geurts A. C. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. Cochrane Database Syst Rev. 2019; 6;12(12).
9. Huang M., Magni N., Rice D. The Prevalence, Characteristics and Impact of Chronic Pain in People With Muscular Dystrophies: A Systematic Review and Meta-Analysis. JPain. 2021;22(11):1343-59.

Словарь терминов

ДНК-диагностика – последовательность действий с использованием методов молекулярной генетики, выполняемая для диагностики заболевания

Вариант нуклеотидной последовательности – изменение последовательности ДНК в геноме

Пермиссивный аллель 4qA – последовательность субтеломерной области хромосомы 4, которая расположена дистальнее последнего повтора D4Z4 и содержит сигнал полиаденилирования

Полиаденилирование мРНК – процесс присоединения большого количества остатков аденозинмонофосфата к 3'-концу пре-мРНК и формирования поли(А)-хвоста, который важен для экспорта, трансляции и стабильности мРНК

Муртазина Айсылу Фанзировна, Кучина Анна Сергеевна,
Шерстюкова Дарья Владимировна, Скоблов Михаил Юрьевич,
Шаркова Инна Валентиновна, Никитин Сергей Сергеевич

Мышечная дистрофия Ландузи–Дежерина

под редакцией
доктора медицинских наук, профессора С. С. Никитина

Учебно-методическое пособие

Подписано в печать 03.04.2025 г.
Бумага офсетная. Печать цифровая.
Формат 60х90/16 Усл. печ. л. 3,8
Тираж 50 экз.

Отпечатано в типографии «Издательство Триумф»
<https://www.triumph.ru>, e-mail: books@triumph.ru