

# Новый аллельный вариант синдрома ригидного позвоночника

Е.Л. Дадали, В.А. Кадникова, И.В. Шаркова, А.В. Поляков

ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН (Москва)

*Представлено описание особенностей клинических проявлений болезни у 4-летнего мальчика с синдромом ригидного позвоночника. Молекулярно-генетический анализ выявил у пациента ранее не описанную мутацию 988delC в гене *SEPN1* (белок селенопротеин Н) в гомозиготном состоянии. В отличие от ранее описанных селенопротеин-ассоциированных случаев заболевания, у наблюдаемого пациента отмечено раннее вовлечение в патологический процесс мышц плечевого и тазового поясов.*

**Ключевые слова:** синдром ригидного позвоночника, ген *SEPN1*, мутационный анализ

**С**индром ригидного позвоночника (СРП) – один из генетических вариантов врожденных миопатий, обусловленных мутациями в гене *SEPN1* на хромосоме 1p35-36 [10, 11]. Кодированный геном белок селенопротеин Н содержит 590 аминокислот и является гликопротеином из семейства селеноцистеин-содержащих белков, локализованных в эндоплазматическом ретикулуме. Функции белка окончательно не выяснены. Считается, что он участвует в регуляции транскрипции генов системы детоксикации, обеспечении окислительно-восстановительных реакций в различных тканях. Основное количество селенопротеина Н обнаружено в поперечнополосатых мышцах, причем наибольшая экспрессия гена отмечена в их фетальных предшественниках, что говорит о важной роли белка в раннем миогенезе путем обеспечения регуляции формирования миофибрилл и миотубул [1, 12].

Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу и характеризуется вариабельностью возраста начала и тяжестью течения [2, 7]. Клинические проявления СРП в большинстве случаев возникают в возрасте до 1 года и характеризуются диффузной гипотонией мышц с вовлечением лицевой мускулатуры. У части больных отмечаются респираторный дистресс-синдром и эпизоды ночного апноэ. Несмотря на раннее возникновение клинических проявлений, большинство больных не имеют грубой задержки темпов моторного развития, а психоречевое развитие всегда соответствует возрасту. Характерной особенностью заболевания, позволившей выделить его в качестве самостоятельной нозологической единицы, является ригидность мышц шеи и спины; типичен также прогрессирующий сколиоз в шейном, грудном и поясничном отделах позвоночника, формирующийся в возрастном диапазоне от нескольких месяцев жизни до 12 лет. По мере прогрессирования заболевания могут появляться тугоподвижность в крупных суставах конечностей и деформация грудной клетки, часто приводящая к возникновению дыхательных расстройств. В ряде случаев у больных диагностируется ночная гиповентиляция с эпизодами апноэ центрального генеза. При электромиографическом обследовании выявляются умеренные признаки первично-мышечного поражения. Уровень активности креатинфосфокиназы в плазме крови в большинстве случаев не изменен.

Нами представлено описание особенностей клинических проявлений у больного с новой нонсенс-мутацией в гене *SEPN1* в гомозиготном состоянии, родившегося от кровно-родственного брака.

## Методы исследования

Для исследования использовался образец венозной крови больного. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови выполняли с помощью набора реактивов Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) по протоколу производителя.

Для поиска мутаций в гене *SEPN1* были подобраны пары праймеров, фланкирующие транскрируемые области данного гена, включающие экзоны 1–13, а также последовательности соответствующих экзон-интронных соединений. Использовалась референсная последовательность мРНК из Genebank. Амплификацию необходимых фрагментов геномной ДНК проводили методом ПЦР на программируемом термоциклере МС2 фирмы «ДНК-технология» (Россия). Фрагменты ДНК, полученные в ходе ПЦР, анализировались методом прямого секвенирования по Сэнгеру с применением набора реактивов ABI Dye Terminator, версия 1 (Applied Biosystems, США) на приборе 3130 ABI Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

## Описание случая

Нами проведено клиничко-молекулярно-генетическое обследование больного с врожденной миопатией и признаками СРП. Пробанд Б-ов – мальчик 4 лет, родившийся от кровно-родственного брака (родители ребенка являются дядей и племянницей), от второй беременности, протекавшей без патологии. В семье есть еще один здоровый sibс – мальчик 6 лет. Ребенок родился в синей асфиксии, закричал после использования реанимационных мероприятий. Вес при рождении составлял 3200 г, рост – 50 см. До 5-месячного возраста темпы раннего моторного развития соответствовали норме, однако отмечались слабость и гипотония мышц шеи, в связи с чем ребенок с трудом удерживал голову в положении на животе. Отчетливые признаки заболевания родители заметили в возрасте 5 месяцев, когда диагностировали задержку темпов моторного разви-

тия, сколиоз в грудном отделе и ограничение движения в шейном отделе позвоночника. Ребенок стал самостоятельно садиться в возрасте 10 месяцев, а ходить без поддержки — только к 2 годам. Психоречевое развитие протекало по возрасту.

При осмотре ребенка в возрасте 4 лет выявлены гипотония и гипотрофия, больше выраженные в мышцах тазового и плечевого поясов, а также жевательной и мимической мускулатуре (рис. 1). Больной самостоятельно передвигался с трудом, отмечалась «утиная походка». При подъеме из положения на корточках он использовал приемы Говерса. Сухожильные рефлексy с рук и ног вызвать не удалось. Выявлен выраженный сколиоз в грудном и поясничном отделах позвоночника, ограничение сгибания позвоночника, формирующиеся контрактуры в локтевых суставах. При осмотре уролога диагностировано наружное сужение мочеиспускательного канала. Уровень активности креатинфосфокиназы составил 105 ед/л, что соответствовало контрольным значениям. На электромиограмме больного — нерезко выраженные признаки первично-мышечного поражения.

При проведении ДНК-анализа обнаружена ранее не описанная мутация — делеция одного нуклеотида в экзоне 7 гена *SEPN1* (с.988delC) в гомозиготном состоянии, приводящая к сдвигу рамки считывания и преждевременному образованию стоп-кодона — p.Arg330GlyfsX71. К настоящему времени идентифицировано 44 мутации в гене *SEPN1*, 43 из которых локализованы в кодирующей части гена (22 из них миссенс, 6 — мутации сайта сплайсинга, 9 — малые делеции или инсерции и 6 — протяженные делеции).



рис. 1: Внешний вид обследованного пациента.

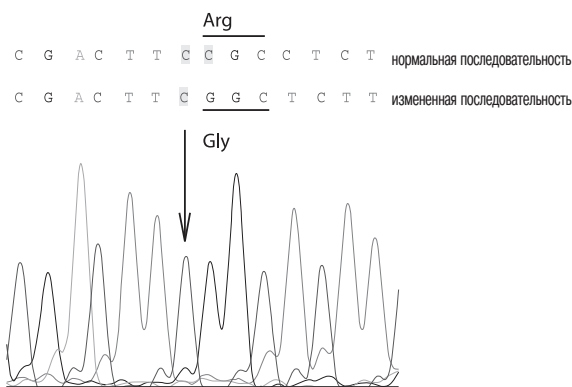


рис. 2: Мутация, выявленная в 7-м экзоне гена *SEPN1* в гомозиготном состоянии (стрелкой показана делеция с.988delC, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона p.Arg330GlyfsX71).

Лишь одна нуклеотидная замена обнаружена в регуляторной области гена. Нами впервые найдена делеция нуклеотида в 988-м положении в гомозиготном состоянии, приводящая к образованию терминирующего кодона. Результаты секвенирования гена *SEPN1* представлены на рис. 2.

## Обсуждение

Первое описание обсуждаемого заболевания было сделано V. Dubowitz в 1973 г.: автор сообщил о больном юноше, осмотренном им в возрасте 17 лет [3]. Первые симптомы, которые родители заметили в возрасте 14 мес, характеризовались появлением «утиной походки». Темпы раннего моторного развития не отличались от нормы, однако у больного всегда отмечалась слабость мышц шеи. По мере прогрессирования заболевания сформировались контрактуры в голеностопных суставах с ретракцией ахилловых сухожилий (что потребовало проведения ахиллопластики в возрасте 18 мес) и выраженный фиксированный сколиоз в шейном и пояснично-грудном отделах позвоночника.

Аутосомно-рецессивное наследование заболевания было установлено Н.Н. Goebel и соавт. [8], которые описали 5 пораженных больных, в т.ч. двух сибсов из генетического изолята в Эйшфельде, в северных районах Германии. Особенностью наблюдаемых ими случаев был ранний возраст начала: первые признаки заболевания возникали с рождения или в период новорожденности. Характерным также было развитие гипертрофии правого желудочка сердца у трех больных, которое привело к гибели двух из них в 11-летнем возрасте. Несмотря на прогрессирующее течение заболевания и повышение уровня креатинфосфокиназы до 360 ед/л (при норме до 70 ед/л), автор считал, что заболевание не относится к мышечным дистрофиям, обозначив его как врожденную миопатию.

До настоящего времени в литературе нет единого мнения относительно того, является ли СРП врожденной миопатией или мышечной дистрофией. При исследовании биоптатов мышц больных с мутациями в гене *SEPN1* обнаруживается широкий спектр морфологических находок. Так, одни авторы [2] находили лишь неспецифические изменения размеров и структуры мышечных волокон, другие регистрировали типичные дистрофические процессы различной степени выраженности [7, 8], а третьи [5, 6] — множественные мини-стержни и субсаркомерные накопления гранул десмина и диспропорцию типов мышечных волокон. При этом характер и степень выраженности морфологических дефектов варьировали у больных с различной длительностью и тяжестью клинических симптомов. Наиболее часто мутации в гене *SEPN1* обнаруживаются у больных с клиническими проявлениями СРП, имеющих мини-стержни в биоптатах мышц. Так, A. Ferreira и соавт. [5] в результате обследования 27 больных из разных стран Европы с клиническими проявлениями СРП и наличием множественных стержней при морфологическом исследовании биоптатов мышц у 17 пациентов обнаружили мутации в гене *SEPN1*. Клинические проявления у всех обследованных возникали в грудном возрасте, а у 8 из них — с рождения. Первым признаком заболевания была выраженная гипотония мышц шеи, приводящая к нарушению контроля удерживания головы в вертикальном положении. По мере прогрессирования заболевания формировался фиксированный сколиоз в шейном и пояснично-грудном отделе позвоночника и возникали различные респираторные расстройства. Темпы раннего развития детей были

несколько задержаны. Средний возраст начала самостоятельной ходьбы составлял 17,7 мес. У всех больных отмечалась задержка физического развития в виде снижения показателей веса и роста. Авторы отмечают, что, в отличие от других вариантов врожденных миопатий, у наблюдаемых ими детей функция мышц поясов конечностей была сохранена, что приводило к поздней диагностике миопатии (диагноз был поставлен в возрасте старше 10 лет). В противоположность этому, у наблюдаемого нами больного отмечалась большая генерализация процесса с вовлечением мышц плечевого и тазового поясов, что проявлялось их слабостью, гипотрофией и сухожильной арефлексией с рук и ног. Эти различия можно объяснить на основании различий в типах мутаций у наблюдаемого нами больного и больных, описанных другими исследователями. Так, у большинства пациентов в выборке A. Ferreira и соавт. обнаружены миссенс-мутации как в гомозиготном, так и гетерозиготном состояниях. Выявленная нами нонсенс-мутация в гомозиготном состоянии приводит к существенному укорочению белка или даже прекращению его экспрессии.

Обнаружение мини-стержней в биоптате мышц у больных с СРП, обусловленных мутациями в гене *SEPN1*, можно объяснить на основании сходства функций белковых продуктов этого и других генов, ответственных за возникновение различных генетических вариантов врожденных миопатий с множественными мини-стержнями. Известно, что этиологическим фактором распространенного генетического варианта этой группы заболеваний является мутация

в гене *RYR1*, продуктом которого является рианодинновый рецептор, локализованный между Т-трубочками и саркоплазматическим ретикулом мышечных волокон. Показано, что рианодинновый рецептор выполняет роль кальций-высвобождающего канала, а селенопротеин N (белковый продукт гена *SEPN1*) выступает в качестве его активатора [9].

Таким образом, СРП, обусловленный мутациями в гене *SEPN1*, является одним из частых генетических вариантов этой группы заболеваний; его принято обозначать как селенопротеин-ассоциированный (селенопротеин-зависимый) СРП. Особенности клинических проявлений этого генетического варианта являются: манифестация в грудном возрасте, слабость мышц шеи и туловища с последующим формированием фиксированного сколиоза в шейном и грудном отделах позвоночника, жизнеугрожающие респираторные расстройства, возникающие во втором-третьем десятилетиях жизни. Уровень креатинфосфокиназы остается в пределах нормы. В биоптате мышечного волокна выраженные дистрофические изменения, как правило, отсутствуют. Эти симптомы позволяют дифференцировать заболевание от других генетических вариантов мышечных дистрофий, сопровождающихся ригидностью позвоночника, основными из которых являются прогрессирующая мышечная дистрофия Эмери–Дрейфуса 1, 2 и 6 типов и склероатоническая мышечная дистрофия Ульриха.

## Список литературы

1. Arbogast S., Beuvin M., Fraysse B. Oxidative stress in SEPN-related myopathy: from pathology to treatment. *Ann. Neurol.* 2009; 65: 677–686.
2. Bertini E., D'Amico A., Gualandi F., Petrini S. Congenital muscular dystrophies: a brief review. *Semin. Pediatr. Neurol.* 2011; 18: 277–288.
3. Dubowitz V. Rigid spine syndrome: a muscle syndrome in search of a name. *Proc. Roy. Soc. Med.* 1973; 66: 219–220.
4. Echenne B., Astruc J., Brunel D. et al. Congenital muscular dystrophy and rigid spine syndrome. *Neuropediatrics* 1983; 14: 97–101.
5. Ferreira A., Quijano-Roy S., Pichereau C. et al. Mutations of the selenoprotein N gene, which is implicated in rigid spine muscular dystrophy, cause the classical phenotype of multiminicore disease: reassessing the nosology of early-onset myopathies. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71: 739–749.
6. Ferreira A., Ceuterick-de Groote C., Marks J.J. et al. Desmin-related myopathy with Mallory body-like inclusions is caused by mutations of the selenoprotein N gene. *Ann. Neurol.* 2004; 55: 676–686.
7. Flangian K.M., Kerr L., Bromberg M.B. et al. Congenital muscular dystrophy with rigid spine syndrome: a clinical, pathological, radiological and genetic study. *Ann. Neurol.* 2000; 47: 152–161.
8. Goebel H.H., Lenard H.-G., Langenbeck U., Mehl B. A form of congenital muscular dystrophy. *Brain Dev.* 1980; 2: 387–400.
9. Jurynek M.J., Xia R., Mackrill J. et al. Selenoprotein N is required for ryanodine receptor calcium release channel activity in human and zebrafish muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 12485–12490.
10. Moghadaszadeh B., Desguerre I., Topaloglu H. et al. Identification of a new locus for a peculiar form of congenital muscular dystrophy with early rigidity of the spine, on chromosome 1p35-36. *Am. J. Hum. Genet.* 1998; 62: 1439–1445.
11. Moghadaszadeh B., Petit N., Jaillard C. et al. Mutations in SEPN1 cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nat. Genet.* 2001; 29: 17–18.
12. Petit N., Lescure A., Rederstorff M. Selenoprotein N. An endoplasmic reticulum glycoprotein with an early developmental expression pattern. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 12: 1045–1053.

## A new allelic variant of rigid spine syndrome

E.L. Dadali, V.A. Kadnikova, I.V. Sharkova, A.V. Polyakov

*Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences (Moscow)*

**Key words:** rigid spine syndrome, gene *SEPN1*, mutation analysis

Description of clinical features of the disease in a 4-year-old boy with rigid spine syndrome is presented. Molecular genetic analysis revealed in this patient an unknown homozygous mutation 988delC in the *SEPN1* gene (coding for selenoprotein N). In

contrast to previously described selenoprotein-associated cases of the disease, our patient exhibited early involvement in the pathological process of muscles of the shoulder and the pelvic girdles.

**Контактный адрес:** Дадали Елена Леонидовна – докт. мед. наук, проф., вед. науч. сотр. научно-консультативного отдела ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН. 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1. Тел.: +7 (499) 324-87-72; e-mail: genclinic@yandex.ru;

Кадникова В.А. – науч. сотр. лаб. ДНК-диагностики;

Шаркова И.В. – ст. науч. сотр. лаб. генетической эпидемиологии;

Поляков А.В. – зав. лаб. ДНК-диагностики.