

Клинико-генетические параллели в изучении врожденных поражений головного мозга, не сопровождающихся эпилепсией

П.Л. Соколов¹, Н.В. Чебаненко², А.Г. Притыко¹, П.А. Романов¹

¹ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям им. Н.В. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы»; Россия, 119620 Москва, ул. Авиаторов, 38;

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Контакты: Павел Леонидович Соколов psok.sci@gmail.com

Введение. Проблема предупреждения развития грубых врожденных поражений головного мозга и их успешного лечения более чем актуальна сейчас и не потеряет актуальности долгое время. Известно, что в каждом 3-м случае развития церебрального паралича (ЦП) выявить основной патогенетический фактор не удается. Это определяет активность поиска генных механизмов формирования данного фенотипа. G. McMichael и соавт. одними из первых выделили актуальные направления влияния генов на формирование фенотипа ЦП.

Цель исследования – изучить влияние генных детерминант на формирование фенотипа ЦП, не сопровождающегося эпилепсией.

Материалы и методы. Мы распределили по группам детерминируемых отдельных физиологических процессов аномалии генома, выявленные у 18 пациентов с фенотипом ЦП. Генетические мутации были подтверждены методами секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) и трио по Сэнгеру. Для исследования были взяты образцы венозной крови пациентов.

Результаты и обсуждение. Гены из различных групп по детерминантам в различной степени ассоциированы с формированием фенотипа грубого врожденного поражения головного мозга. Распределение особенностей фенотипа пациентов и распределение случаев по детерминирующим группам осуществляется с признаками физиологического и морфологического соответствия. «Карта детерминант» в патогенезе грубых врожденных поражений головного мозга отличается своеобразием, заключающемся в присутствии в ней одних групп генов и отсутствием других. В патогенез вовлечены генетически детерминированные нарушения таких процессов, как деление клетки и нейроонтогенез, различные аспекты клеточного обмена, в том числе те, нарушение которых приводит к формированию болезней накопления, трансмембранный транспорт, обмен нейромедиаторов и функционирование синапсов, образование и функционирование цитоскелета. Пороки развития головного мозга ассоциированы большей частью с детерминантами регуляции образования и функционирования цитоскелета, нейроонтогенеза, а также процессов деления клетки.

Выводы. Генетически детерминированные ЦП представляют собой универсальный фенотип, реализующий разнонаправленное воздействие генома. Воздействие генома не распространяется на энергетическое обеспечение клетки, рибосомальный синтез и функционирование комплекса Гольджи. При отсутствии в картине заболевания эпилепсии не отмечается влияние генов группы каналопатий.

Ключевые слова: врожденные поражения мозга, детский церебральный паралич, генетика

Для цитирования: Соколов П.Л., Чебаненко Н.В., Притыко А.Г., Романов П.А. Клинико-генетические параллели в изучении врожденных поражений головного мозга, не сопровождающихся эпилепсией. Русский журнал детской неврологии 2021;16(3):46–54. DOI: 10.17650/2073-8803-2021-16-3-46-54.

Clinical and genetic parallels in congenital brain lesions without epilepsy

P.L. Sokolov¹, A.G. Prityko¹, N.V. Chebanenko², P.A. Romanov¹

¹Scientific and Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voyno-Yasenetsky Department of Healthcare of Moscow; 38 Aviatorov St., Moscow 119620, Russia;

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia; Build. 1, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russia

Contacts: Pavel Leonidovich Sokolov psok.sci@gmail.com

Background. The problem of preventing the development of gross congenital brain lesions and their successful treatment is more than relevant now. It is known that approximately in every third case of the development of congenital cerebral palsy (CP), it is impossible to identify the main pathogenetic factor. This determines the activity of the search for gene mechanisms for the formation of this phenotype. G. McMichael et al. were among the first to identify the most relevant directions of the influence of genes on the formation of the CP phenotype.

Objective: to study the influence of gene determinants on the formation of the phenotype of CP, which is not accompanied by epilepsy.

Materials and methods. Gene abnormalities in 18 patients with CP were divided into groups of determinable physiological processes. Genetic mutations were confirmed by next generation sequencing (NGS) and Sanger trio methods. For the study, samples of the patients' venous blood were taken.

Results and discussion. The analysis showed that genes from different groups by determinants are to varying degrees associated with the formation of the CP phenotype. The "map of determinants" in the pathogenesis of CP is specific. The pathogenesis involves genetically determined disorders of cell division and neuroontogenesis (neuronal migration, sprouting, myelination, partly apoptosis), cell metabolism, including those whose disturbance leads to the formation of storage diseases, transmembrane transport, the exchange of neurotransmitters and the functioning of synapses, the formation of and the functioning of the cytoskeleton, as well as the regulation of immunity and oncogenesis. Malformations of the brain are more often associated with determinants of the regulation of the formation and functioning of the cytoskeleton, neuroontogenesis, as well as the processes of cell division (chromatin modification, transcription, replication). The pathogenesis of congenital cerebral palsy does not involve (according to our data) the determinants of canalopathy, energy supply of the cell, intracellular synthesis with the Golgi complex, and ribosomal synthesis.

Conclusions. Genetically determined CP is a universal phenotype that implements the multidirectional effect of the genome. The influence of the genome does not apply to the energy supply of the cell, ribosomal synthesis and the functioning of the Golgi complex. In the absence of epilepsy in the phenotype, there is no influence of the genes of canalopathies.

Key words: cerebral palsy, congenital brain lesions, genetics

For citation: Sokolov P.L., Prityko A.G., Chebanenko N.V., Romanov P.A. Clinical and genetic parallels in congenital brain lesions without epilepsy. *Russkiy zhurnal detskoy nevrologii* = Russian Journal of Child Neurology 2021;16(3):46–54. (In Russ.). DOI: 10.17650/2073-8803-2021-16-3-46-54.

Введение

Проблематика тяжелых врожденных поражений головного мозга в течение многих лет не теряет актуальности. С расширением наших познаний не только в клинических, но и в базисных дисциплинах значимость этой проблемы возрастает. Парадоксальность данной проблемы в современной науке определяется сочетанием признанной бесперспективности лечения проявлений грубого неврологического дефицита традиционными методами с бурным прогрессом в изучении патогенетических механизмов и первыми результатами успешной геномной терапии.

С определенной долей осторожности можно констатировать, что около 70 % случаев развития церебрального паралича (ЦП) определяются такими вполне понятными факторами, как недоношенность и гипоксически-ишемическое поражение мозга. Однако в 30 % случаев выявить этиологический фактор развития церебрального паралича не представляется возможным, что определяет многолетний интерес к исследованию генетических аспектов генеза данной патологии [7].

До недавнего времени лишь 1–2 % случаев врожденных ЦП (в основном семейных) связывались с патогенными вариантами [18]. Сейчас же бурное развитие методик секвенирования позволило выявить

генетическую детерминированность в более широком понимании [10, 12, 13].

В настоящее время имеется большое количество доказательств, подтверждающих значительную роль генетических факторов в формировании ЦП. Все большее число исследований выявляет возможные варианты генетических нарушений в семьях с ЦП, а также в отдельных спорадических случаях. Методы массового параллельного секвенирования в настоящее время помогают клиницистам в постановке молекулярных диагнозов, предоставляя в будущем возможности для индивидуального лечения и принятия обоснованных репродуктивных решений [20]. 14 % случаев ЦП определяются геномными мутациями, до 31 % — имеют клинически значимые изменения количества копий, весомую лепту вносят исследования полиморфизмов и экспрессии генов.

Интеграция данных о вариативности генома и идущее широким фронтом описание функциональных элементов генома, а также появившиеся возможности в оценке глобальной транскрипции позволяют понять влияние генетической вариативности на экспрессию генов [8].

Несомненность участия в патогенезе врожденных ЦП генетических механизмов подтверждается широкими популяционными когортными исследованиями [19].

Растущее количество генетических исследований показывает связь развития ЦП с наследственными факторами. Последние достижения массового параллельного секвенирования позволяют получить упорядоченные знания о человеческом геноме достаточно быстро и не столь затратно, как ранее. Вполне вероятно, что будут выявлены новые гены, ассоциированные с развитием ЦП, поскольку все больше исследователей и клиницистов используют этот подход к изучению случаев заболевания с неясными причинами. С расширением наших знаний об основных патофизиологических механизмах развития ЦП растет и вероятность разработки геномно-управляемых методов лечения данной патологии [9].

Ассоциированные с фенотипом ЦП мутации могут как находиться в генах, известных своей связью с формированием фенотипа заболевания, так и формироваться *de novo*. Высокая эффективность поиска определяется технологиями секвенирования.

В числе первых была выявлена ассоциация с развитием фенотипа ЦП гена глутаматдекарбоксилазы (*GAD1*) [9]. В последующем была выявлена ассоциация генов *KANK1* [11], *AP4M1* [17], *DAAM1* [16], *SLC19A3* [11, 13, 21]. Выявлена ассоциация формирования фенотипа ЦП с нарушениями регуляции обмена ГАМК и ГАМК-рецепции [22]. Обобщение данных о 200 пациентах с этой делецией позволило выявить распределение ассоциированных нарушений: задержка развития (73 % случаев), речевые расстройства (67 %), задержка развития моторных функций (42 %), синдром дефицита внимания/дефицита внимания и гиперактивности (35 %) и расстройство аутистического спектра (27 %) [6].

А.М. Matthews и соавт. провели секвенирование экзона у 50 отобранных пациентов с атипичным ЦП из 49 семей. Основным критерием отбора пациентов было нарушение двигательной функции с ранним началом — с рождения до достижения годовалого возраста. Точный молекулярный диагноз был установлен у 65 % из 50 пациентов. По данным проведенных исследований были выделены гены, ассоциированные с каждым из критериев. Наиболее выраженные ассоциации касались ментальной недостаточности (46/49, 94 %) для генов *AKT3*, *ASXL1*, *ATPIA3*, *ATP8A2*, *CHRNA1*, *CSTB*, *DGKZ*, *EHMT1*, *EPHA4*, *GCDH*, *GNAO1*, *ITPA*, *KANK1*, *KCNJ6*, *KIDINS220*, *KMT2C*, *MECP2 ACP8*, *NAA10*, *NBAS*, *PAK3*, *PALM*, *PLP1*, *PLXNA2*, *RANBP2*, *SCN3A*, *SPAST*, *TBCK*, *TCF4*, *TMEM67*, *TUBB4A*, *WDR45 ACP7&ACP24*; патологических изменений в неврологическом статусе (мышечной гипертензии, атаксии или периодических ухудшений в неврологическом статусе) (42/48, 88 %) для генов *AKT3*, *ASXL1*, *ATPIA3*, *ATP8A2*, *CSTB*, *DGKZ*, *EHMT1*, *EPHA4*, *GCDH*, *GNAO1*, *ITPA*, *KANK1*, *KCNJ6*, *KIDINS220*, *MECP2 ACP8*, *NAA10*, *NBAS*, *PAK3*, *PALM*, *PLP1*, *PLXNA2*, *RANBP2*, *SCN3A*, *SPAST*; аномалий в биохимическом или нейротрансмиссном профилях

(37/49, 76 %) для генов *AKT3*, *ATPIA3*, *CHRNA1*, *CSTB*, *DGKZ*, *EHMT1*, *GCDH*, *GNAO1*, *ITPA*, *KANK1*, *KCNJ6*, *KIDINS220*, *KMT2C*, *MECP2 ACP8 & ACP14*, *NAA10*, *NBAS*, *PAK3*, *PALM*, *PLXNA2*, *SCN3A*, *TBCK*, *TUBB4A*, *WDR45*, *ACP7*, *ACP24* и нетипичной для ЦП нейровизуализационной картины (37/50, 74 %) для генов *AKT3*, *ASXL1*, *ATPIA3*, *CHRNA1*, *CSTB*, *DGKZ*, *EPHA4*, *GCDH*, *GNAO1*, *ITPA*, *KANK1*, *KIDINS220*, *KMT2C*, *MECP2*, *ACP8*, *ACP14*, *NBAS*, *PAK3*, *PALM*, *PLP1*, *PLXNA2*, *SCN3A*, *TCF4*, *TUBB4A*, *WDR45*, *ACP7* [14].

Число выявленных генных ассоциаций непрерывно растет, и вместе с ним растет необходимость упорядочивания этой информации и поиска закономерностей во влиянии генома на формирование фенотипа врожденного поражения центральной нервной системы. В отдельных работах проводились попытки выявления векторов детерминирования.

Так, G. McMichael и соавт. выделили такие направления воздействия ассоциированных генов, как навигация аксонов при спраутинге, участие в белковых внутрисинаптических взаимодействиях и непосредственное участие в синаптической передаче [15].

Цель исследования — изучение влияния генных детерминант на формирование фенотипа ЦП, не сопровождающегося эпилепсией.

Материалы и методы

Исследована группа детей с фенотипом ЦП, включавшая 18 пациентов в возрасте от 1 до 16 лет. Мальчиков — 8, девочек — 10. Распределение по возрасту: 1–3 года — 7 пациентов (мальчиков — 2, девочек — 5); 4–5 лет — 4 пациента (мальчиков — 2, девочек — 2); 9–14 лет — 3 пациента (мальчиков — 1, девочек — 2); 15–16 лет — 4 пациента (мальчиков — 3, девочек — 1). Спастические формы ЦП наблюдались у 5 пациентов, дискинетическая форма с дистонией — у 5 пациентов, дискинетическая форма с хореоатетозом — у 4 пациентов, атаксическая форма ЦП — у 4 пациентов.

Генетические варианты были подтверждены методами секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) и трио по Сэнгеру у пробанда и его биологических родителей. Для исследования были взяты образцы венозной крови пациентов. Выделение ДНК проводили с использованием набора реагентов QIAGEN (США) в соответствии с протоколом производителя. Массовое параллельное секвенирование проводили с использованием секвенатора Illumina NextSeq500. Обработка данных выполняли по проприетарному алгоритму, включающему выравнивание на референсную последовательность, коллинг и аннотацию вариантов. Определение клинической значимости вариантов проводили с учетом рекомендаций ACMG (Американский колледж медицинской генетики и геномики) и соответствия фенотипа пациента признакам заболевания, связанного с геном, мутация в котором была обнаружена.

Гены с выявленными аномалиями распределяли по признаку общности детерминируемых функций на 13 групп (табл. 1).

Главным критерием отнесения к той или иной группе был основной детерминируемый признак. При наличии нескольких детерминируемых признаков в качестве основного был выбран тот, который оказал определяющее влияние на фенотип в конкретном случае.

Результаты

Все дети исследованной группы имели выраженный моторный дефицит. У 10 (55,6 %) пациентов он выражался 5-м уровнем по шкале «Система классификации больших моторных функций» (Gross Motor Function Classification System, GMFCS), у 8 (44,4 %) пациентов — 4-м уровнем GMFCS.

Столь же глубок был и дефект интеллектуально-мнестических функций: тяжелая умственная отсталость была констатирована у 12 (66,7 %) пациентов, средней степени выраженности — у 6 (33,3 %). Легких форм ментального дефицита выявлено не было (табл. 2).

Как и ожидалось при планировании исследования, пороки развития головного мозга в исследованной группе встречались часто — более чем в половине случаев, а именно у 11 (61 %) пациентов.

У 11 детей была выявлена патология зрения, приведшая к его существенному снижению. При этом у детей, не имевших существенной патологии зрения, пороков развития головного мозга не было выявлено, что позволяет думать о сопряженности данных изменений в тератогенезе и органическом характере поражения зрительного анализатора.

Таблица 1. Группировка генов по принципу детерминируемых функций

Table 1. Gene grouping by determinants

| Группа генов Group of genes | Детерминанта Determinable features |
|--------------------------------|--|
| GASM | Общие аспекты регуляции обмена веществ в клетке General aspects of the regulation of cell metabolism |
| GSD | Регуляция процессов, расстройство которых приводит к формированию болезней накопления Regulation of processes, the disorder of which leads to the formation of storage diseases |
| RMF | Регуляция функции митохондрий Regulation of mitochondrial function |
| CT | Регуляция толерантности клетки к внешним воздействиям (гипоксии, ишемии, экзогенной интоксикации и т. д.) Regulation of cell tolerance to external influences (hypoxia, ischemia, exogenous intoxication, etc.) |
| CS | Регуляция образования и функционирования цитоскелета Regulation of the formation and functioning of the cytoskeleton |
| NOG | Регуляция нейроонтогенеза (нейрональной миграции, спрутинга, синаптогенеза, миелинизации и апоптоза) Regulation of neuroontogenesis (neuronal migration, sprouting, synaptogenesis, myelination and apoptosis) |
| GC | Регуляция внутриклеточного транспорта и секреции (функционирования комплекса Гольджи) Regulation of intracellular transport and secretion (functioning of the Golgi complex) |
| ECM | Регуляция транспорта через наружную мембрану клетки Regulation of transport across the external membrane of the cell |
| ENM | Регуляция возбудимости нейрональной мембраны (функции ионных каналов) Regulation of the excitability of the neuronal membrane (function of ion channels) |
| RPS | Регуляция рибосомального белкового синтеза Regulation of ribosomal protein synthesis |
| NTS | Регуляция обмена нейромедиаторов и функционирования синапсов Regulation of the exchange of neurotransmitters and the functioning of synapses |
| IOG | Регуляция иммунитета и онкогенеза Regulation of immunity and oncogenesis |
| CMTR | Управление модификациями хроматина, процессами транскрипции и репликации Control of chromatin modifications, transcription and replication processes |

Таблица 2. Особенности фенотипа пациентов с тяжелым перинатальным поражением головного мозга, не сопровождающимся эпилепсией ($n = 18$)

Table 2. Phenotypic traits of patients with severe perinatal brain lesions not accompanied by epilepsy ($n = 18$)

| Признак (патология) Pathological sign | Число пациентов Number of patients |
|---|---------------------------------------|
| Порок развития мозга Brain malformation | 11 |
| Патология зрения Vision pathology | 11 |
| Патология слуха Hearing pathology | 7 |
| Патология слуха и зрения Vision and hearing pathology | 3 |
| Умственная отсталость: Mental retardation: | 18 |
| умственная отсталость, тяжелая severe mental retardation | 12 |
| умственная отсталость, средняя moderate retardation | 6 |
| умственная отсталость, легкая mild retardation | 0 |
| нормальный интеллект normal intellect | 0 |
| GMFCS: | 18 |
| GMFCS 1–3 | 0 |
| GMFCS 4 | 8 |
| GMFCS 5 | 10 |

Примечание. GMFCS (Gross Motor Function Classification System) – Система классификации больших моторных функций.

Note. GMFCS – Gross Motor Function Classification System.

В 3 случаях патология зрения была ассоциирована с патологией слуха – разной степени выраженности нейросенсорной тугоухостью, в 4 случаях снижение слуха не ассоциировалось с патологией органа зрения.

Причины развития тугоухости при тяжелом поражении головного мозга могут быть гипоксически-ишемическими, инфекционными либо дизонтогенетическими. Данных в пользу перенесенной гипоксии, сопоставимой по тяжести с выраженностью неврологического дефицита, у участвующих в исследовании детей получено не было. Данные в пользу перенесенного внутриутробно нейроинфекционного процесса также отсутствовали, а потому в качестве причины тугоухости мы склонны рассматривать только дизонтогенез, в нашем случае – на фоне генетической патологии.

В процессе обследования у всех пациентов были выявлены аномалии генома (табл. 3).

При анализе распределения пациентов по детерминируемым группам генов (см. табл. 3) в 2 группах число пациентов было максимальным (8 пациентов, 44,4 %). Из них 4 пациента (гены *LAMB1*, *ARX*) оказались в группе, детерминирующей процессы нейроонтогенеза (миграции, спраутинга, миелинизации, отчасти апоптоза (*NOG*)), 4 пациента (гены *ARID1B*, *STAG2*, *MECP2*, *CENPJ*) – в группе, детерминирующей управление процессами деления клетки (*CMTR*).

В группе генов, регулирующих формирование цитоскелета (*CS*), было 3 пациента (ген *TUBB4A*, синоним *DYT4*).

По 2 пациента были в группах генов: регулирующих трансмембранный транспорт (*ECM*) (гены *WDR81*, *SPAST*), регулирующих различные аспекты клеточного обмена и приводящих к формированию болезней накопления (*GSD*) (гены *GLDC*, *MCOLN1*) и регулирующих обмен нейромедиаторов и функционирование синапсов (*NTS*) (гены *DDC*, *PRSS12*).

Таблица 3. Распределение по группам детерминант выявленных генных вариантов при церебральном параличе ($n = 18$)

Table 3. Distribution by groups of determinants of the identified gene disorders in congenital cerebral palsy without epilepsy ($n = 18$)

| Группа генов Group of genes | Число пациентов Number of patients | Ген Gene | Число пациентов с выявленными аномалиями Patients with anomalies | Детерминанта Determinable features |
|--------------------------------|---------------------------------------|---------------|---|--|
| GSD | 2 | <i>GLDC</i> | 1 | Глициндекарбоксилаза Glycinedecarboxylase |
| | | <i>MCOLN1</i> | 1 | Катионный канал транзитного рецепторного потенциала (TRP-каналы) Transient receptor potential cation channel (TRP channels) |
| CS | 3 | <i>TUBB4A</i> | 3 | Тубулин Tubulin |

Окончание табл. 3
End of table 3

| Группа генов Group of genes | Число пациентов Number of patients | Ген Gene | Число пациентов с выявленными аномалиями Patients with anomalies | Детерминанта Determinable features |
|--------------------------------|---------------------------------------|---------------|---|---|
| NOG | 4 | <i>LAMB1</i> | 3 | Субъединица бета-1-ламинина The beta 1 subunit of laminin |
| | | <i>ARX</i> | 1 | Регулятор транскрипции Transcription regulator |
| ECM | 2 | <i>WDR81</i> | 1 | Эндолизосомный перенос Endolysosomal transfer |
| | | <i>SPAST</i> | 1 | Спастин Spastin |
| NTS | 2 | <i>DDC</i> | 1 | Декарбоксилаза ароматических аминокислот Aromatic amino acid decarboxylase |
| | | <i>PRSS12</i> | 1 | Сериновая протеаза 12 Serine protease 12 |
| IOG | 1 | <i>UBE4B</i> | 1 | Сборка мультиубиквитиновой цепи Assembly of the multi-ubiquitin chain |
| CMTR | 4 | <i>ARID1B</i> | 1 | Ремоделирование хроматина Chromatin remodeling |
| | | <i>STAG2</i> | 1 | Разделение сестринских хроматид во время деления клетки Separation of sister chromatids during cell division |
| | | <i>MECP2</i> | 1 | Метилирование ДНК DNA methylation |
| | | <i>CENPJ</i> | 1 | Центромерный белок J Centromeric protein J |
| <i>Всего</i> <i>Total</i> | <i>18</i> | <i>14</i> | <i>18</i> | — |

И, наконец, к группе генов, имеющих отношение к регуляции онкогенеза и иммунного статуса (IOG), был отнесен лишь 1 пациент (ген *UBE4B*).

Ни одного случая не было зафиксировано в следующих группах: регулирование функций митохондриального аппарата (RMF), регуляция процессов повреждения клеток при внешних воздействиях (в том числе при гипоксии — ишемии) (СТ), регуляция процессов внутриклеточной секреции и внутриклеточного транспорта (функционирования комплекса Гольджи) (GC), регуляция возбудимости нейрональной мембраны (ENM) и регуляция процессов синтеза белка рибосомами (RPS).

Особый интерес вызывает отсутствие заинтересованности генов, регулирующих толерантность к воздействию факторов перинатального риска. При анализе материнского и перинатального анамнеза нам не удалось выявить значимой их отягощенности,

равно как и частота патологического течения родов не превышала таковую в популяции.

Пороки развития головного мозга были представлены в половине случаев (9 пациентов) и лишь у детей, у которых были выявлены гены из групп GSD, CS, NOG, ECM и CMTR (табл. 4).

Наибольшее число случаев пороков развития головного мозга ожидаемо было в группе регуляции процессов деления клетки (CMTR). Два пациента — из группы регуляции процессов нейроонтогенеза (нейрональной миграции, спраутинга, синаптогенеза, миелинизации, отчасти апоптоза), по 1 — в группах регуляции процессов образования и функционирования цитоскелета (CS), участия в процессах, приводящих к формированию болезней накопления (GSD) и регуляции транспортирующей функции наружной клеточной мембраны (ECM).

Таблица 4. Распределение пороков развития головного мозга у пациентов с церебральными параличами, не страдающих эпилепсией, по группам генных детерминант

Table 4. Distribution of cerebral malformations in patients with cerebral palsy without epilepsy by groups of gene determinants

| Группа детерминант Determinant group | Число пациентов Number of patients |
|---|---------------------------------------|
| GASM | 0 |
| GSD | 1 |
| RMF | 0 |
| CT | 0 |
| CS | 1 |
| NOG | 2 |
| GC | 0 |
| ECM | 1 |
| ENM | 0 |
| RPS | 0 |
| NTS | 0 |
| IOG | 1 |
| CMTR | 4 |

Обсуждение

Распределение генов на группы, исходя из механизмов их влияния, или детерминирования определенных признаков, было предпринято G. McMichael и соавт., выделившими такие направления воздействия ассоциированных генов, как навигация аксонов при спраутинге, участие в белковых внутрисинаптических взаимодействиях и непосредственное участие в синаптической передаче [15]. Мы сочли возможным распределить по группам большой объем данных по генам, ассоциированным с развитием фенотипа грубых перинатальных поражений мозга. Правильность методического подхода к анализу генных влияний на формирование фенотипа ЦП подтвердили полученные данные. Так, наибольшее число пороков развития центральной нервной системы было выявлено в группах управления транскрипцией, репликацией и модификациями хроматина (CMTR), регуляции процессов нейроонтогенеза (NOG) и функционирования цитоскелета (CS). Объединенные в них гены детерминируют процессы деления клетки и основные процессы нейроонтогенеза. Конечно, это вполне ожидаемый результат, тем не менее мы склонны рассматривать его как подтверждение правильности разделения детерминант на группы именно таким образом, каким оно было проведено. Более того, наши находки — концентрация пороков развития в круге детерминант деления клетки и процессов образования

и функционирования цитоскелета — говорят, в том числе, и о логичности и «биологичности» предложенной нами классификации компонентов нейротропного генома по группам детерминант. Группы детерминант избирались эмпирически, а полученные в дальнейшем данные у наших пациентов иллюстрируют биологическую обоснованность такого их выделения и возможность применения этих положений на практике.

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что дети с фенотипом ЦП, не страдающие эпилепсией, имеют определенную «карту генной заинтересованности». Среди процессов, детерминируемых генетически, мы можем назвать деление клетки и нейроонтогенез (миграция, спраутинг, миелинизация, отчасти апоптоз); различные аспекты клеточного обмена, в том числе те, нарушение которых приводит к формированию болезней накопления; трансмембранный транспорт, обмен нейромедиаторов и функционирование синапсов.

Кроме того, в патогенез данной патологии вовлечены гены, детерминирующие образование и функционирование цитоскелета.

Известно, что микротрубочки представляют собой белковые полимеры тубулина и являются действительно трубочками, т.е. протяженными и полыми внутри структурами. Они служат основным компонентом клеточного каркаса, сохраняющего форму стабильной по конфигурации фиксированной клетки. В клетках переменной конфигурации цитоскелет имеет звездчатую структуру, создающую возможности для изменения ее формы; в отростках клеток (в нашем случае — аксонах нейронов) микротрубочки конгломерируются в длинные, продольно ориентированные пелети. Интересен тот факт, что «утилизация» деградировавших микротрубочек осуществляется с прямым участием комплекса Гольджи (при этом гены, детерминирующие его функцию, в нашем исследовании выявлены не были).

Кроме того, возникает вполне понятная мотивация к объединению детерминант цитоскелета и клеточного деления. По нашему мнению, делать это сейчас нецелесообразно. Поскольку вслед за этим появится желание включить в общую детерминанту и группу GC, ведь комплекс Гольджи активно участвует в деградации микротрубочек. За этим последуют детерминанты белкового синтеза на рибосомах и т.д. Однако детерминанты комплекса Гольджи оказались незадействованными в ассоциациях с пороками развития мозга, равно как и детерминанты белкового синтеза и многие другие.

По поводу участия в формировании фенотипа ЦП детерминанты иммунитета и онкогенеза возникает множество вопросов, требующих выяснения. Почему в процессах развития и регуляции функции нервной ткани так или иначе присутствуют группы этих генов? Причем процессы регуляции онкогенеза иммунного статуса задействованы также в эпигенетических влияниях. Эти вопросы ждут анализа и более углубленного исследования,

и, возможно, иммунные детерминанты окажутся связанными патогенетическими взаимовлияниями с иммунопатологическими процессами, следы которых широко описаны К.А. Семеновой и соавт. [1–5].

При этом нам не удалось выявить заинтересованности целых групп генов, детерминирующих возбудимость нейрональной мембраны, а также и ряда других детерминант, уже упомянутых: энергетического обеспечения клетки, регуляции функционирования комплекса Гольджи со всем его функционалом и рибосомального синтеза. Иными словами, из патогенеза ЦП в данной группе во многом исключаются процессы внутриклеточного метаболизма и энергетического обеспечения, и максимальная ответственность ложится на детерминанты нейроонтогенетического ряда и процессов деления клетки, что еще более наглядно указывает на дизонтогенетическую природу данной патологии. Мы можем сделать предварительный вывод о том, что грубая патология центральной нервной системы в данном случае является практически «чистым» следствием нарушения генных влияний на нейроонтогенез и функционирование головного мозга. При этом такие процессы, как рибосомальный синтез белка, внутриклеточная секреция и внутриклеточный транспорт, а также регуляция возбудимости нейрональной мембраны практически не задействуются.

Особо хотелось бы остановиться на незадействованности генов, оказывающих влияние на возбудимость нейрональной мембраны, нарушение функции которых приводит к так называемым каналопатиям, проявляющимся эпилептическими процессами, зачастую резистентными к терапии. При отборе группы дети с текущим эпилептическим процессом были исключены осознанно именно для того, чтобы проследить взаимосвязь между наличием ЦП и каналопатией, — т.е. возможно ли участие каналопатии в патогенезе ЦП, не сопровождающегося эпилептическим процессом. Получается, что нет. На вопрос о взаимосвязи эпилептического процесса и фенотипа ЦП (и наоборот, фенотипа ЦП и эпилептического процесса), надеемся, более подробно ответят исследования того же дизайна, проводимые в настоящее время на группе детей с ЦП, страдающих различными формами эпилепсии.

Выводы

Проведенные исследования позволили (с некоторой долей осторожности) сформулировать следующие выводы:

1. В формирование фенотипа грубого врожденного поражения центральной нервной системы вовлечено множество генов.
2. Гены, вовлеченные в формирование этого фенотипа, классифицируются по группам в зависимости от общности детерминируемых ими физиологических процессов.
3. Гены из различных групп по детерминантам в различной степени ассоциированы с формированием фенотипа грубого врожденного поражения центральной нервной системы.
4. Распределение особенностей фенотипа пациентов и распределение случаев по детерминирующим группам осуществляются с признаками физиологического и морфологического соответствия.
5. «Карта детерминант» в патогенезе грубых врожденных поражений головного мозга отличается своеобразием, заключающимся в присутствии в ней одних групп генов и отсутствием других.
6. В патогенез данной патологии вовлечены генетически детерминированные нарушения таких процессов, как деление клетки и нейроонтогенез (миграция, спраутинг, миелинизация, отчасти апоптоз); различные аспекты клеточного обмена, в том числе те, нарушение которых приводит к формированию болезней накопления; трансмембранный транспорт, обмен нейромедиаторов и функционирование синапсов, образование и функционирование цитоскелета.
7. Вовлечение детерминанты регуляции иммунитета и онкогенеза, отмеченное в единичном случае, требует активной дальнейшей проработки с целью исключения или выявления ее заинтересованности.
8. Пороки развития головного мозга ассоциированы большей частью с детерминантами регуляции образования и функционирования цитоскелета, нейроонтогенеза, а также процессов деления клетки (модификации хроматина, транскрипции, репликации).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Левченкова В.Д., Борисенко О.В., Деревягин В.И. Морфологическая основа патологии двигательных функций у больных с перинатальным повреждением центральной нервной системы. Вестник практической неврологии 1997;(3):77–80. [Levchenkova V.D., Borisenko O.V., Derevyagin V.I.

Morphological basis of pathology of motor functions in patients with perinatal damage to the central nervous system. Vestnik Prakticheskoi Nevrologii = Bulletin of Practical Neurology 1997;(3):77–80. (In Russ.).
2. Левченкова В.Д., Борисенко О.В., Земцова Н.И., Деревягин В.И. Архитекто-

ника коркового отдела двигательного анализатора у больных с внутриутробным и родовым повреждением головного мозга. Пластичность нервной системы, сборник научных трудов. Выпуск 18. Москва, 1989. С. 30–31. [Levchenkova V.D., Borisenko O.V., Zemtsova N.I., Derevyagin V.I. Architectonics

- of the cortical section of the motor analyzer in patients with intrauterine and birth brain damage. Plasticity of the nervous system (collection of scientific papers). Issue 18. Moscow, 1989. Pp. 30–31. (In Russ.).
3. Семенов А.С. Исследование спектра антигенспецифических реакций у больных ДЦП и влияние на него метода динамической проприоцептивной коррекции. В кн.: Восстановительное лечение больных с резидуальной стадией детского церебрального паралича. М.: Издательство «Антидор», 1999. 236 с. [Semenov A.S. Investigation of the spectrum of antigen-specific reactions in patients with cerebral palsy and the influence of the method of dynamic proprioceptive correction on it. In: Rehabilitation treatment of patients with the residual stage of infantile cerebral palsy. Moscow: Izdatelstvo "Antidor", 1999. 236 p. (In Russ.).]
 4. Семенова К.А. Восстановительное лечение больных с резидуальной стадией детского церебрального паралича. М.: Издательство «Антидор», 1999. 71 с. [Semenova K.A. Rehabilitation treatment of patients with residual stage of infantile cerebral palsy. Moscow: Izdatelstvo "Antidor", 1999. 71 p. (In Russ.).]
 5. Семенова К.А., Потанова И.Н., Левченкова В.Д. Поражение головного мозга у детей первых 2 лет жизни с перинатальной энцефалопатией и тяжелым течением детского церебрального паралича. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова 1981;(10): 1141–6. [Semenova K.A., Potanova I.N., Levchenkova V.D. Brain damage in children of the first 2 years of life with perinatal encephalopathy and severe cerebral palsy. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = Journal of Neurology and Psychiatry S.S. Korsakov 1981;(10):1141–6. (In Russ.).]
 6. Butler M.G. Clinical and genetic aspects of the 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion disorder. J Intellect Disabil Res 2017;61(6): 568–79. DOI: 10.1111/jir.12382.
 7. Fahey M.C., MacLennan A.H., Kretschmar D. et al. The genetic basis of cerebral palsy. Dev Med Child Neurol 2017;59(5): 462–9. DOI: 10.1111/dmcn.13363.
 8. Haraksingh R.R., Snyder M.P. Impacts of variation in the human genome on gene regulation. J Mol Biol 2013;425(21):3970–7. DOI: 10.1007/s13258-018-0729-6.
 9. Hyde T.M., Lipska B.K., Ali T. et al. Expression of GABA signaling molecules KCC2, NKCC1, and GAD1 in cortical development and schizophrenia. J Neurosci 2011;31:11088–95. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1234-11.2011.
 10. Jeong H., Huh H.J., Youn J. et al. Ataxia-telangiectasia with novel splicing mutations in the ATM gene. Ann Lab Med 2014;34(1):80–4. DOI: 10.3343/alm.2014.34.1.80.
 11. Kakinuma N., Zhu Y., Wang Y. et al. Kank proteins: structure, functions and diseases. Cell Mol Life Sci 2009;66:2651–9. DOI: 10.1007/s00018-009-0038-y.
 12. Kasapkar C.S., Akar M., Ozbek M.N. et al. Mutations in BTBD9 gene causing biotinidase deficiency: a regional report. J Pediatr Endocrinol Metab 2015;28(3–4):421–4. DOI:10.1515/jpem-2014-0056.
 13. MacLennan A.H., Thompson S.C., Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. Am J Obstet Gynecol 2015;213(6):779–88. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.034.
 14. Matthews A.M., Blydt-Hansen I., Al-Jabri B. et al. Atypical cerebral palsy: genomics analysis enables precision medicine. Genet Med 2019;21(7):1621–8. DOI: 10.1038/s41436-018-0376-y.
 15. McMichael G., Bainbridge M.N., Haan E. et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy. Mol Psychiatry 2015;20(2):176–82. DOI: 10.1038/mp.2014.189.
 16. McMichael G., Girirajan S., Moreno-De-Luca A. et al. Rare copy number variation in cerebral palsy. Eur J Hum Genet 2014;22(1):40–5. DOI: 10.1038/ejhg.2013.93.
 17. Moreno-De-Luca A., Helmers S.L., Mao H. et al. Adaptor protein complex-4 (AP-4) deficiency causes a novel autosomal recessive cerebral palsy syndrome with microcephaly and intellectual disability. J Med Genet 2011;48:141–4. DOI: 10.1136/jmg.2010.082263.
 18. Moreno-De-Luca A., Ledbetter D.H., Martin C.L. Genomic insights into the etiology and classification of the cerebral palsies. Lancet Neurol 2012;11:283–92. DOI: 10.1016/S1474-4422(11)70287-3.
 19. Tollnes M.C., Wilcox A.J., Lie R.T., Moster D. Familial risk of cerebral palsy: population based cohort study. BMJ 2014;349:g4294. DOI: 10.1136/bmj.g4294.
 20. Van Eyk C.L., Corbett M.A., MacLennan A.H. The emerging genetic landscape of cerebral palsy. Handb Clin Neurol 2018;147:331–42. DOI: 10.1016/B978-0-444-63233-3.00022-1.
 21. Vernau K., Napoli E., Wong S. et al. Thiamine deficiency-mediated brain mitochondrial pathology in Alaskan Huskies with mutation in SLC19A3.1. Brain Pathol 2015;25(4):441–53. DOI: 10.1111/bpa.12188.
 22. Zhu Q., Ni Y., Wang J. et al. Identification of pathways and genes associated with cerebral palsy. Genes Genomics 2018;40(12):1339–49. DOI: 10.1007/s13258-018-0729-6.

ORCID авторов / ORCID of authors

П.Л. Соколов / P.L. Sokolov: <https://orcid.org/0000-0002-0625-1404>
Н.В. Чебаненко / N.V. Chebanenko: <https://orcid.org/0000-0002-7231-0249>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Financing. The work was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям им. Н.В. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы».
Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Scientific and Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voino-Yasensky Department of Healthcare of Moscow.

Статья поступила: 13.05.2021. **Принята к публикации:** 05.09.2021.
Article submitted: 13.05.2021. **Accepted for publication:** 05.09.2021.