

Б.В. Агафонов, С.В. Котов, О.П. Сидорова

МИАСТЕНИЯ И ВРОЖДЕННЫЕ МИАСТЕНИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ



МЕДИЦИНСКОЕ ИНФОРМАЦИОННОЕ АГЕНТСТВО

МОСКВА
2012

УДК
ББК

А

Коллектив авторов

Агафонов Борис Валентинович — декан факультета усовершенствования врачей МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, профессор.

Котов Сергей Викторович — руководитель неврологического отделения, заведующий кафедрой неврологии факультета усовершенствования врачей МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, профессор, доктор медицинских наук.

Сидорова Ольга Петровна — ведущий научный сотрудник неврологического отделения МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, профессор, доктор медицинских наук.

Агафонов Б.В., Котов С.В., Сидорова О.П.

Миастения и врожденные миастенические синдромы. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2012. — 336 с.

ISBN

Книга посвящена актуальной проблеме практической медицины — аутоиммунному заболеванию нервной системы — миастении и врожденным миастеническим синдромам. Авторы рассматривают популяционные данные, влияние экзогенных факторов на распространенность миастении, показана роль генетических факторов в развитии этого заболевания. Описаны нарушения иммунной системы при миастении; освещены вопросы лечения данной патологии, в том числе экстракорпоральные методы.

Для неврологов, хирургов и трансфузиологов.

УДК
ББК

ISBN

© Агафонов Б.В., Котов С.В.,
Сидорова О.П., 2012
© Оформление. ООО «Медицинское
информационное агентство», 2012

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой-либо форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	5
Список сокращений	8
Глава 1. Нервно-мышечное окончание (<i>Б.В. Агафонов, С.В. Котов, О.П. Сидорова</i>)	10
Глава 2. Миастения (<i>С.В. Котов, Б.В. Агафонов, О.П. Сидорова</i>)	25
2.1. Анатомо-физиологический очерк.....	25
2.1.1. Физиология и патология нервно-мышечной передачи	25
2.1.2. Функция вилочковой железы в норме и при патологии	27
2.2. Миастения	31
2.2.1. Роль вилочковой железы в патогенезе миастении	33
2.2.2. Популяционные аспекты миастении	37
2.2.3. Иммунопатология миастении	38
2.2.4. Иммуногенетические аспекты миастении	42
2.2.5. Классификация миастении	46
2.2.6. Клиническая картина миастении.....	47
2.2.7. Диагностика миастении	58
2.2.8. Лечение миастении.....	67

Глава 3. Врожденные миастенические синдромы (<i>Б.В. Агафонов, С.В. Котов, О.П. Сидорова</i>).....	88
3.1. Классификация врожденных миастенических синдромов.....	90
3.2. Клиническая характеристика врожденных миастенических синдромов.....	97
3.2.1. Пресинаптические ВМС.....	99
3.2.2. Врожденные миастенические синдромы, связанные с патологией синаптической базальной пластины.....	106
3.2.3. Постсинаптические врожденные миастенические синдромы.....	108
3.3. Диагностика врожденного миастенического синдрома.....	131
3.3.1. Молекулярная диагностика ВМС.....	142
3.4. Лечение врожденных миастенических синдромов.....	163
Приложение. Основы медицинской генетики (<i>О.П. Сидорова, Б.В. Агафонов, С.В. Котов</i>).....	177
Литература.....	222

ПРЕДИСЛОВИЕ

Миастения является тяжелым инвалидизирующим заболеванием, нередко приводящим к летальному исходу вследствие развития миастенического криза. Разработанное в настоящее время лечение заболевания не всегда эффективно. В связи с этим проблема изучения миастении до сих пор актуальна.

Для разработки успешных методов лечения необходимо знать этиологию и патогенез заболевания. Также важно изучение популяционных аспектов болезни, поскольку распространенность миастении и заболеваемость ею неодинаковы в разных странах. Имеющиеся на сегодняшний день многочисленные исследования посвящены изучению ассоциации миастении и антигенов главного комплекса гистосовместимости. Предполагают, что именно он играет важную роль в развитии миастении. В различных популяциях обнаруживают ассоциацию миастении с разными лейкоцитарными антигенами. Известно, что в патогенезе миастении ведущая роль принадлежит антителам к рецепторам ацетилхолина (АХ). Однако у больных выявляют и другие аутоантитела.

Несмотря на большой выбор средств для лечения миастении (антихолинэстеразные, кортикостероидные пре-

параты, тимэктомия, плазмаферез), желаемый результат достигается не всегда. Кортикостероиды обладают побочными действиями (развитие артериальной гипертензии, сахарного диабета, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки). Плазмаферез дает кратковременный эффект, после его проведения необходимо назначать кортикостероидные препараты для предотвращения повторной значительной выработки антител к рецепторам АХ. Таким образом, разработка и внедрение новых методов лечения миастении, оказывающих быстрое и эффективное действие без побочных эффектов, сохраняют свою актуальность.

Врожденные миастенические синдромы (ВМС) — заболевания, клинические проявления которых напоминают миастению. При обоих видах патологии нарушается нервно-мышечная передача, что выражается слабостью и патологической утомляемостью. Однако причины нарушения нервно-мышечной передачи при миастении и миастенических синдромах различны. При миастении происходит блокада ацетилхолиновых рецепторов антителами, в то время как ВМС развиваются в результате генетически обусловленных дефектов пресинаптической, синаптической базальных пластин и постсинаптических белков. Пресинаптические ВМС связаны с дефектами, которые уменьшают высвобождение АХ при стимуляции нерва или снижают ресинтез АХ. Известно, что дефект ресинтеза АХ обусловлен мутацией в гене, кодирующем ацетилхолинэстеразу (АХЭ). Врожденные миастенические синдромы, при которых отмечается дефект базальной пластины, развиваются в результате мутаций в гене, кодирующем субъединицу коллагенового хвоста АХЭ на концевых пластинках нервно-мышечного окончания, что препятствует связыванию хвостовой субъединицы с каталитическими субъединицами или встраиванию в синаптическую базальную мембрану. Большая часть постсинаптических ВМС вызвана мутациями генов, кодирующих субъединицы ацетилхолинового рецептора, вследствие чего изменяются кинетические свойства или уменьшается экспрессия

ацетилхолинового рецептора. Кинетические мутации усиливают или ослабляют ответ на АХ, в результате чего возникают соответственно медленно- или быстроканальные синдромы. Большинство низко экспрессивных мутаций происходит в ϵ -субъединице ацетилхолинового рецептора (она функционирует у взрослых) и частично компенсируется остаточной экспрессией γ -субъединицы, которая функционирует у плода.

Врожденные миастенические синдромы могут быть вызваны дефицитом ацетилхолинового рецептора концевой пластины нервно-мышечного окончания вследствие мутаций гена, кодирующего рапсин — молекулы, которая играет главную роль в концентрации ацетилхолинового рецептора на постсинаптической мембране.

Различные формы ВМС имеют клинические особенности. Их лечение отличается от лечения миастении. Не требуется применения иммуносупрессивной терапии и проведения тимэктомии (ТЭ). В последние годы достигнуты большие успехи в молекулярной диагностике данных синдромов.

В представленной вниманию читателей книге приводятся современные сведения об этиологии, клинических особенностях, диагностике и лечении миастении и ВМС. Эта информация будет безусловно полезна неврологам, генетикам, научным работникам, преподавателям и студентам высших медицинских учебных заведений.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

А	— аденин
АМСТК	— антитела к мышечноспецифической тирозинкиназе
АТОБМ	— антитела к основному белку миелину
АХ	— ацетилхолин
АХТ	— ацетилхолинтрансфераза
АХЭ	— ацетилхолинэстераза
АХЭП	— антихолинэстеразные препараты
ВМС	— врожденный миастенический синдром
Г	— гуанин
ГАМК	— гамма-аминомасляная кислота
ВТАХ	— везикулярный транспортер ацетилхолина
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ИВЛ	— искусственная вентиляция легких
ИЛ	— интерлейкин
ИФН- α	— интерферон α
кб	— килобаза
кДНК	— кодирующая часть гена
КоА	— (ацетил)коэнзим А
ЛТ	— лимфотоксин
мтДНК	— митохондриальная ДНК
мРНК	— матричная РНК

МСТК	— мышечноспецифическая тирозинкиназа
МТКП	— миниатюрный ток концевой пластины
мяРНК	— ядерная РНК
ПАИ	— период постактивационного истощения
ПАО	— постактивационное облегчение
ПДЕ	— потенциал двигательных единиц
ПКП	— потенциал концевой пластины
ПФЦ	— потенциал фасцикуляций
РНК	— рибонуклеиновая кислота
СМАП	— сложный мышечный активный потенциал
СТГ	— соматотропный гормон
Т	— тимин
ТМД	— трансмембранный домен
ТПП	— тетратрико-пептидные повторы
ТЭ	— тимэктомия
У	— урацил
ФНО- α	— фактор некроза опухоли альфа
Ц	— цитазин
ЭМГ	— электромиография
ЭНМГ	— электронейромиография
ЭПК	— эмбриональные почечные клетки
ЭР	— эндоплазматический ретикулум
ColQ	— коллаген хвостовой части ацетилхолинэстеразы
Gly	— глицин
НЕК	— эмбриональные почки человека
HSPBD	— домен, присоединяющий гепаран-сульфат-протеогликан
IgG	— иммуноглобулин G
Leu	— лейцин
PRAD	— домен, присоединенный к богатой пролином области
Pro	— пролин

ГЛАВА 1

НЕРВНО-МЫШЕЧНОЕ ОКОНЧАНИЕ

Б.В. Агафонов, С.В. Котов, О.П. Сидорова

Нервно-мышечное окончание — это синапс, в котором осуществляется передача сигнала с окончания двигательного нейрона на мышечное волокно.

В нервно-мышечном окончании выделяют 5 основных компонентов: 1) шванновскую клетку, которая отсутствует в постсинаптической области; 2) нервное окончание, которое содержит медиатор нервного возбуждения — АХ; 3) синаптическую щель; 4) постсинаптическую мембрану, на которой расположен рецептор для нервно-мышечной передачи (никотиновый ацетилхолиновый рецептор — АХР); 5) нервно-мышечную саркоплазму, которая обеспечивает структурную и метаболическую поддержку для постсинаптической области. Синаптическая щель содержит АХЭ.

На мышечном волокне располагается небольшое количество (от 2 до 5) нервно-мышечных окончаний. Нервные окончания имеют различную форму: круглую (тарелкообразную), кистевидную и др. В нервном окончании имеется 50–70 синаптических везикул, митохондрии, эндоплазматический ретикулум (ЭР), гранулы гликогена, лизосомы. Синаптические везикулы содержат АХ.

Ацетилхолиновый рецептор является представителем суперсемейства постсинаптических рецепторов, включающих рецепторы, открываемые АХ, гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК), глицином и серотонином.

Мышечный АХР — это мембранный белок, состоящий из 5 гомологичных субъединиц: две α , по одной β и δ , одна ϵ в АХР у взрослых или одна γ , вместо ϵ , в зародышевом АХР (рис. 1.1).

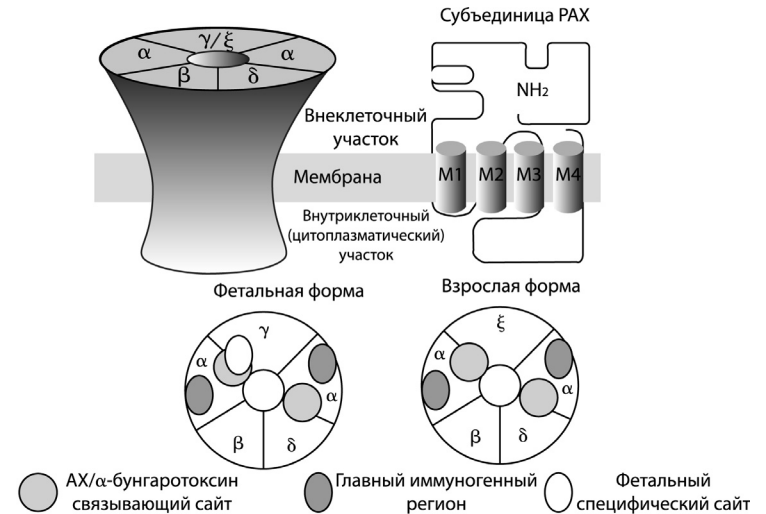


Рис. 1.1. Ацетилхолиновый рецептор (Vincent A. et al., 2000, с изменениями)

Гены, кодирующие α , β и γ , находятся в разных локусах на 2-й хромосоме ($2q$), а гены, кодирующие β и ϵ — в разных локусах на 17-й хромосоме ($17p$) (рис. 1.2, табл. 1.1).

Субъединицы АХР высоко гомологичны, они имеют одинаковую вторичную структуру, одинаковые складки и расположены вокруг центрального катионотбирающего канала. Каждая субъединица имеет N-концевой внеклеточной домен, составляющий около 50% первичной последовательности, и трансмембранный домен (ТМД 1–4),

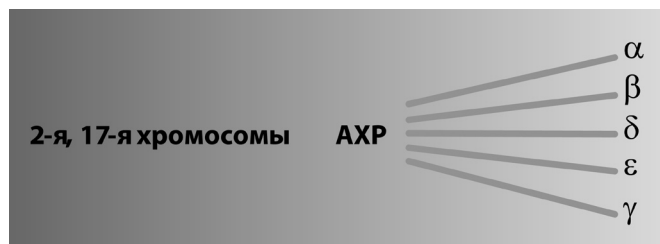


Рис. 1.2. Локализация генов, кодирующих синтез субъединиц АХР

большой цитоплазматический домен между доменами ТМД 3 и ТМД 4, и маленький С-концевой внеклеточный домен.

Таблица 1.1

Локализация генов, кодирующих субъединицы АХР

Субъединицы	Хромосома
α	2q24–q32
β	17p12–p11
γ	2q32–qter
δ	2q33–qter
ϵ	17

Каждая субъединица АХР гликозилирована, преимущественно на внеклеточной области. Все субъединицы АХР содержат фосфосерин. В настоящее время известно 9 α - (1–9) и 4 (1–4) β -субъединицы (Сепп Е.К., Ланцова В.Б., 2002). α 1 и β 1 локализованы в мышцах, α 2–9 и β 2–4 в нейрональных АХР. Нейрональные АХР располагаются пери-, пост-, эстра-, и пресинаптически. Существует несколько стадий развития АХР: в эмбриональном АХР содержится γ -субъединицы, у взрослых она заменяется на δ -субъединицу.

Каждая субъединица АХР имеет 4 гидрофобных сегмента, пронизывающих мембрану в виде α -спиралей. α -субъединица состоит из экстрацеллюлярного N-конце-

вого домена, за которым следуют 3 первые пронизывающие мембрану последовательности М1, М2 и М3. Между М3 и М4 находятся длинная (109–142 аминокислоты) соединяющая петля. Она вступает в цитоплазму и включает все участки фосфорилирования рецепторов (Сепп Е.К., Ланцова В.Б., 2002). N-концевая последовательность α -субъединицы до остатка α -207 выступает с экстрацеллюлярной стороны мембраны. Субъединицы расположены как барьерные планки и включены в постсинаптическую мембрану.

Два сайта, присоединяющие АХ, расположены между субъединицами α - γ и α - δ в зародышевой и денервированной мышце, и α - ϵ и α - δ в мышцах взрослых. Выступающая часть АХР имеет 2 места присоединения АХ: порция, включающая мембрану, в которой находится закрытый канал, а цитоплазматическая часть представлена структурами, влияющими на открытие и закрытие канала и соединяющими рецептор с цитоплазматическими белками. Закручивание ворот канала и трансмембранного домена вокруг оси, проходящей вдоль канала, лежит в основе активации с помощью АХ. Более чем половина (60–80%) антител в сыворотке животных, иммунизированных АХР, направлена против главного иммуногенного региона. Функция этого региона неясна. Главный иммуногенный регион расположен на β -субъединице.

Антитела к АХР передают внеклеточные сигналы внутрь клетки; их относят к суперсемейству лигандуправляемых ионных каналов. В нормальном нервно-мышечном соединении активация АХР воздействует на потенциал концевой пластины (ПКП), который в свою очередь активировывает зависящие от напряжения натриевые каналы, что повышает потенциал действия. На гребнях синаптических складок имеется высокая концентрация АХР, а натриевые каналы концентрируются в глубине складок.

Активацию АХР в двигательной пластине можно представить по следующей схеме (рис. 1.3; Engel A. et al., 2003), где k^+ , k^- — константы скорости ассоциации и дис-

Рис. 1.3. Активация АХР в нервно-мышечном окончании (Engel A. et al., 2003)

социации АХ соответственно; α и β — константы скорости открытия и закрытия каналов соответственно.

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) — фермент, регулирующий нервно-мышечную передачу, его относят к семейству сывороточных эстераз; это фермент, ответственный за быстрый гидролиз АХ, высвобождаемого в холинергических синапсах. Антихолинэстеразные препараты (АХЭП) увеличивают продолжительность жизни АХ в синаптической щели. В результате увеличивается активация АХР, что имеет большое значение в лечении миастении и ВМС. Ацетилхолинэстераза повышает концентрацию АХ в синаптической щели, в результате чего концентрация становится достаточной для возникновения потенциала, необходимого для нервно-мышечной передачи в условиях дефицита АХР. Кроме того, АХЭ регулирует нормальное количество АХ, необходимое для нервно-мышечной проводимости, так как избыточное его количество токсично, а низкое количество не приводит к нервно-мышечной проводимости.

Избыток АХ, возникающий в результате блокады АХЭ в здоровых мышцах, приводит к развитию миопатических изменений мышечных волокон в области нервно-мышечного окончания. Возникает некроз мышц, в течении нескольких часов ЭР в области концевой пластины расширяется и Z-диски дегенерируют.

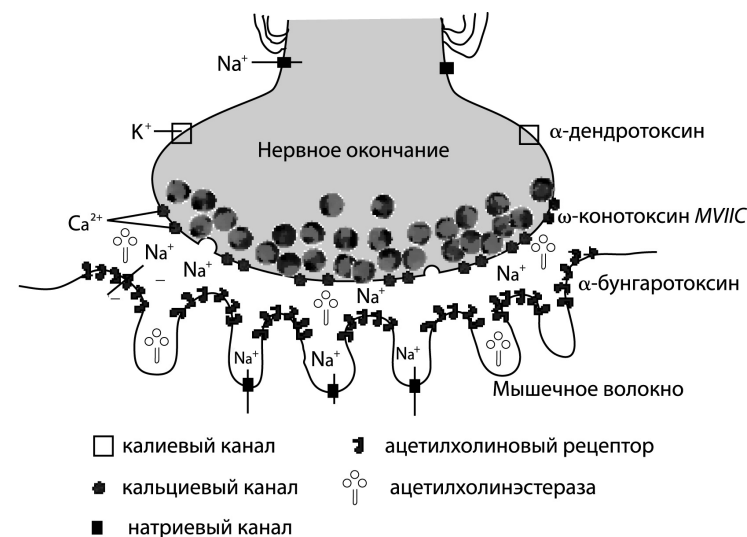


Рис. 1.4. Нервно-мышечное соединение и ионные каналы (Vincent A et al., 2000)

Классификацию молекул АХЭ проводят в зависимости от: 1) структуры субъединиц; 2) физических свойств; 3) локализации в клетке. С точки зрения структуры выделяют глобулярную (шаровидную) и асимметричную формы АХЭ. Глобулярные формы существуют в виде мономера, димера и тетрамера соответственно. Каждая субъединица имеет единичный каталитический участок.

Ацетилхолинэстераза концевых пластин — это асимметричный фермент, состоящий из гомотетрамеров шаровидных каталитических субъединиц, прикрепленных к коллагеновому хвосту. Каталитическая субъединица имеет 2 карбокситерминальных варианта соединения — АХЭ_т и АХЭ_н, которые экспрессируются в мышцах и эритроцитах соответственно.

Асимметричная форма АХЭ — комплексная структура, которая состоит из 1-го, 2 или 3 тетрамеров (G₄-единиц). Коллагеноподобный хвост АХЭ имеет форму тройной спирали, вовлекающей 3 полипептидные цепи, богатые пролином и глицином, как типичный коллаген (рис. 1.5).



Рис. 1.5. Классификация молекулярных форм ацетилхолинэстеразы (Rutundoet R. et al., 1986)

Коллагеноподобный хвост образован тройной спиральной ассоциацией трех коллагеноподобных нитей (ColQ). Каждая нить может присоединить один гомотетрамер АХЭ_т с образованием отдельных частей (А₄, А₈ и А₁₂), а центральный коллагеновый домен состоит из триплетов G₁ – X – Y (где X и Y — это любые аминокислоты) и карбокситерминальной области, обогащенной заряжен-

ными остатками и цистеином, необходимыми для сбора нитей ColQ в триплетные спирали. Закрепление асимметричного энзима в синаптическом пространстве возможно с помощью двух доменов внутри коллагенового домена, соединяющихся с двумя катионами гепаринсульфатпротеогликана, а также с помощью остатков на карбокситерминальном домене. Хвостовая субъединица, как якорь, закрепляется на синаптической базальной пластине. Этому способствует протеогликангепаринсульфатперлекан (который, в свою очередь, соединяется с дистрогликаном) и внеклеточный домен специфической мышечной киназы. Соединение с ними обеспечивает строгое определенное расположение внеклеточного асимметричного домена по отношению к постсинаптической мембране.

Асимметричные формы АХЭ обозначают А₄, А₈ и А₁₂ в зависимости от числа каталитических субъединиц. В большинстве случаев находят А₁₂-разновидность АХЭ и небольшое число А₈- и А₄-форм. Неизвестно являются ли формы А₈ и А₄ стабильными и функционально значимыми или это промежуточные формы, образующиеся в процессе распада молекул А₁₂. Ген, кодирующий синтез коллагена хвостовой части АХЭ (ColQ), расположен на 3-й хромосоме (3p25). На рис. 1.6 представлено схематическое изображение коллагенового хвоста и всей асимметричной АХЭ с идентифицированными мутациями коллагена Q. В зависимости от физических свойств АХЭ выделяют гидрофобную (нерастворимую) и гидрофильную (растворимую) формы. Растворимыми формами являются димерные и тетрамерные шаровидные формы АХЭ. Все асимметричные формы АХЭ относятся к гидрофобным.

В гладких мышцах и миокарде нет асимметричной формы. Во всех скелетных мышцах содержится асимметричная и глобулярная форма АХЭ.

В зависимости от локализации в клетке АХЭ выделяют внеклеточную и внутриклеточную формы. Внутриклеточные формы АХЭ находятся в ЭР, аппарате Гольджи, везикулярных структурах и в мембране клетки. Внутрикле-

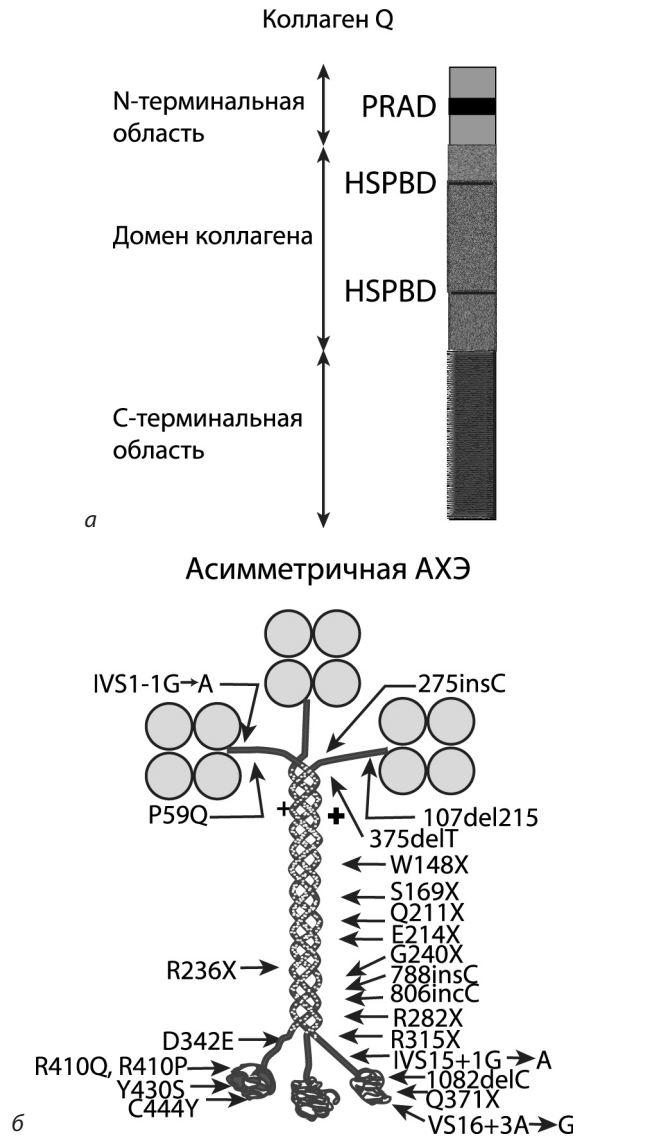


Рис. 1.6. Схематическое изображение коллагенового хвоста (а) и всей асимметричной АХЭ с идентифицированными мутациями коллагена Q (б) (Engel A. et al., 2003)

точно содержатся преимущественно глобулярные формы АХЭ. Небольшое количество асимметричных форм АХЭ также находится внутри клетки. Мономерные формы АХЭ расположены только внеклеточно. В нервно-мышечных окончаниях концентрация АХЭ очень высокая. Часть этой АХЭ находится внутри синаптической базальной пластины. Ацетилхолинэстераза встречается в пресинаптических, постсинаптических клетках и в синаптической щели.

В нервных клетках основными формами АХЭ являются димеры и тетрамеры с меньшим количеством мономерных и асимметричных форм. В мозге преобладают G_4 -тетрамер. Мономерные и димерные формы АХЭ перемещаются в клетках периферических нервов с медленными компонентами транспорта. Большая часть стационарна. Значительная часть тетрамерной и асимметричной АХЭ перемещается в клетке с быстрыми компонентами транспорта. Небольшая часть фермента — шаровидная АХЭ — находится в пресинаптической мембране.

В крови димерная гидрофобная форма АХЭ находится в мембране эритроцитов. Различные шаровидные формы АХЭ растворены в плазме.

Все формы АХЭ синтезируются в ЭР клетки. Сборка шаровидных форм происходит в течении нескольких минут после синтеза, в результате которого образуются каталитически активные димеры и тетрамеры. Они транспортируются на поверхность мышечных волокон. Синтез и сборка асимметричных форм АХЭ более сложны. В отличие от шаровидных форм асимметричная АХЭ возникает только примерно через 1,5–2 ч после появления димеров и тетрамеров. Из ЭР асимметричная АХЭ поступает в аппарат Гольджи. Хвостовая ее часть выводится на поверхность мышечного волокна, где она прикрепляется к экстрацеллюлярному матриксу.

Ацетилхолинэстераза экспрессируется очень рано в миогенезе. Она имеется уже в миобластах. При слиянии миобластов увеличивается активность АХЭ. Первоначально экспрессируют шаровидные формы АХЭ, затем становятся

активными ее асимметричные формы. В культуре мышечной ткани все формы фермента синтезируются и собираются в отсутствие нервов. Тем не менее иннервация оказывает влияние на количество синтезируемой АХЭ и на накопление ее на поверхности мышечной клетки. Денервация мышцы приводит к утрате активности АХЭ в нервно-мышечном соединении и исчезновении асимметричных форм. При восстановлении иннервации они вновь появляются через 1 нед. Медиатором нервно-мышечной передачи является АХ.

После освобождения из нервного окончания некоторые молекулы АХ гидролизуются с помощью АХЭ (перед присоединением к ней). Оставшиеся молекулы АХ подвергаются гидролизу под воздействием АХЭ после отсоединения от АХР. Холин, образующийся при гидролизе АХ, транспортируется на нервное окончание с помощью транспортера, обладающего высоким сродством к холину. АХ вновь синтезируется из холина и ацетилкоэнзима А (КоА) при участии ацетилхолинтрансферазы (АХТ) и затем транспортируется в синаптический пузырьчок с помощью везикулярного транспортера АХ в обмен на протоны, высвобождаемые из пузырьчков с помощью протонного насоса.

После того, как АХЭ гидролизует АХ в синаптическом пространстве, АХ транспортируется в нервное окончание транспортером холина. АХ ресинтезируется из холина и ацетил-КоА с помощью АХТ и затем транспортируется в синаптические везикулы с помощью везикулярного транспортера АХ (ВАХТ) в обмен на протоны, доставляемые в синаптические везикулы протонным насосом (рис. 1.7).

АХ оказывает 2 вида действия:

- 1) мускариноподобное, которое воспроизводит эффект раздражения парасимпатических нервов на гладкой мускулатуре, мышце сердца и железах;
- 2) никотиноподобное, которое проявляется возбуждением вегетативных ганглиев и мозгового вещества надпочечников, скелетной мускулатуры.

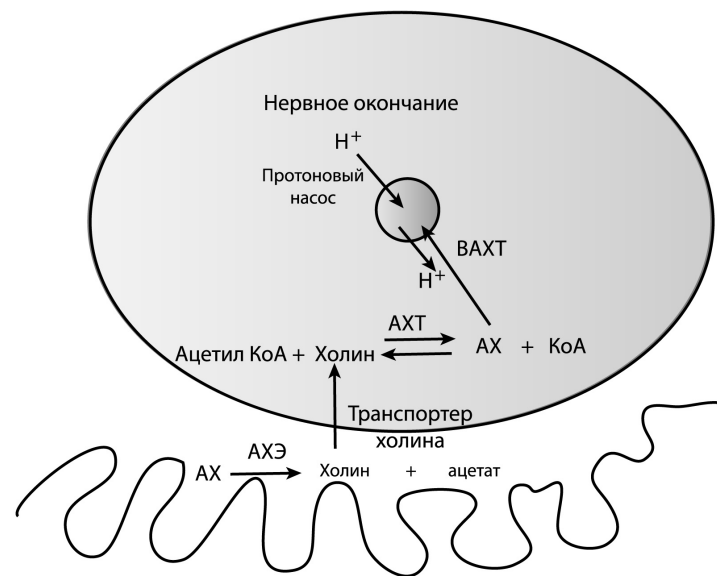


Рис. 1.7. Ресинтез ацетилхолина в концевой пластине нервно-мышечного окончания (Eangel A., 2003)

В соответствии с этим выделяют мускариночувствительные и никотиночувствительные холинореактивные системы в различных органах. В обычных условиях преобладает мускариноподобное действие АХ. При попадании АХ в общий кровоток снижается артериальное давление, обусловленное расширением сосудов и в меньшей степени замедлением сердечной деятельности. Под воздействием АХ сужаются сосуды сердца, отмечается усиление двигательной активности желудочно-кишечного тракта, спазм гладкой мускулатуры бронхов, сокращение мышц других органов, имеющих парасимпатическую иннервацию, в особенности слюнных и потовых желез.

Никотиноподобное действие АХ на вегетативные ганглии и надпочечники проявляется после атропиниза-

ции и при действии более высоких доз АХ. Стимуляция никотиночувствительных систем каротидных клубочков рефлекторно возбуждает дыхание, при этом повышается артериальное давление. Слабое никотиноподобное действие АХ на скелетные мышцы проявляется только при наличии мышечной слабости у больных миастенией.

При ВМС возможно нарушение функции АХТ. Ген, кодирующий синтез этого фермента, расположен в 10-й хромосоме (10q11.2).

Рапсин — белок нервно-мышечного окончания. Рапсин играет ключевую роль в процессе концентрации АХ на постсинаптической мембране. В этом процессе участвуют агрин и специфическая мышечная киназа, а также, возможно, другие факторы, регулируют агрегацию рапсина. Рапсин присоединяется к длинной цитоплазматической петле каждой субъединицы АХР. На концевой пластине рапсин соединяет АХР с субсинаптическим цитоскелетом посредством дистрогликана. Первичная структура рапсина представлена четкими структурными доменами (рис. 1.8):

- 1) домен на аминоконце, необходимый для ассоциации мембраны;
- 2) 7 пептидных повторов, которые способствуют ассоциации рапсина;
- 3) домен в виде скрученной катушки (гидрофобная структура), которая может присоединяться к длинной цитоплазматической петле каждой субъединицы АХР;
- 4) насыщенный цистеинами кольцевой домен с кодонами 363–402, который присоединяется к цитоплазматическому домену β -дистрогликана и является медиатором индуцированного мышечной специфической тирозинкиназой (МСТК) фосфорилирования АХР;
- 5) сайт фосфорилирования серина на кодоне 406.

Рапсин — белок, регулирующий экспрессию и концентрацию АХР на кольцевой пластине. К таким белкам так-

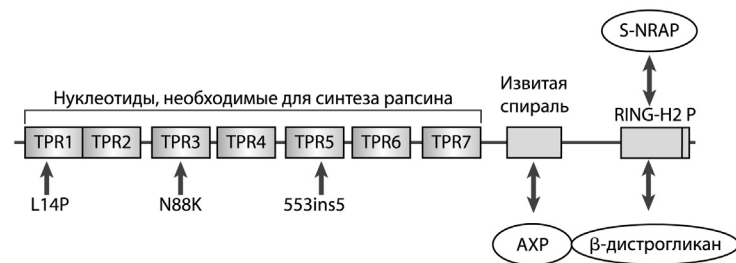


Рис. 1.8. Схематическое изображение рапсина (Eagel A. et al., 2003)

же относят агрин и его сигнальные молекулы, специфическую мышечную киназу, нейрегулин и его сигнальные молекулы, а также β -дистробревин, атрофин и β -синтрофин. Однако только мутации рапсина вызывают дефицит АХР на концевой пластине при ВМС.

Рапсин под влиянием агрина играет важную роль в концентрации АХР на постсинаптической мембране двигательной концевой пластины. Рапсин присоединяется к длинной цитоплазматической петле каждой субъединицы АХР и соединяет рецептор с субсинаптическим скелетом с помощью дистрогликана и синаптического фиксирующего протеина, родственного небулину и присоединяющего актин. Самоассоциация рапсина является критическим фактором для присоединения АХР к цитоскелету.

Плектин — высокосохраненный и широко экспрессируемый промежуточный белок, концентрирующийся в местах механического стресса, таких как постсинаптическая мембрана концевой пластины, саркоlemma, Z-диски в скелетной мышце, гемидесмосомы и диски с прослойками в сердечной мышце. Нарушение синтеза плектина приводит к развитию ВМС.

Существует несколько причин, приводящих к затруднению нервно-мышечной проводимости при ВМС:

- 1) изменение количества молекул АХР на концевой пластине;

- 2) нарушение локализации в синапсе АХР и АХЭ;
- 3) дефекты в структуре концевой пластины;
- 4) снижение амплитуды потенциала концевой пластины;
- 5) уменьшения числа квантов энергии, освобождающейся при одном нервном импульсе;
- 6) изменения числа легкоосвобождаемых квантов;
- 7) снижение вероятности освобождения квантов;
- 8) изменения кинетических свойств АХР.

ГЛАВА 2

МИАСТЕНИЯ

С.В. Котов, Б.В. Агафонов, О.П. Сидорова

2.1. Анатомио-физиологический очерк

2.1.1. Физиология и патология нервно-мышечной передачи

Ацетилхолин синтезируется при помощи фермента холинацетилтрансферазы и разрушается в синаптической щели ферментом АХЭ. Ацетилхолин синтезируется в теле нейрона и с помощью механизма аксонального транспорта переправляется к синаптическим терминалям; он выполняет роль транмиттера в нервно-мышечном соединении, активируя постсинаптические никотиновые АХР.

Нервно-мышечное соединение — это синапс, в котором электрический импульс передается химическим путем на волокно скелетной мышцы. Аксоны мотонейронов передних рогов спинного мозга или двигательных ядер черепных нервов в составе периферических нервов подходят к мышцам и в непосредственной близости от мышечных волокон разделяются на тонкие терминали, каждая из которых образует соединение в области концевых пластинок. Поступление электрического импульса приводит к высвобождению из везикул АХ в синаптическую щель.

Каждая везикула содержит несколько тысяч молекул АХ. На поверхности постсинаптической мембраны располагаются никотиновые АХР с плотностью 104 на квадратный микрон поверхности. Соединение двух молекул АХ с рецептором приводит к раскрытию Na^+ -канала и проникновению ионов натрия внутрь клеток, в результате чего возникает ПКП, приводящий к сокращению мышечного волокна. После окончания действия АХ мгновенно разрушается ферментом АХЭ, которая синтезируется в постсинаптической мембране.

В настоящее время механизм передачи сигнала с двигательного нервного волокна на мышцу представляется следующим образом.

1. Потенциал действия передается от тела мотонейрона по аксону к терминалям — тонким разветвлениям, подходящим к отдельным мышечным волокнам и образующим на их поверхности пресинаптические нервные окончания.

2. В результате изменения заряда мембраны открываются вольтажзависимые кальциевые каналы, и ионы кальция входят в пресинаптические окончания. Это вызывает миграцию везикул (пузырьков) с АХ к пресинаптической мембране и высвобождению АХ в синаптическую щель.

3. АХ диффундирует через синаптическую щель и активирует никотиновые ацетилхолиновые рецепторы на постсинаптической мембране нервно-мышечного соединения. Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы контролируют Na^+ -ионные каналы мембраны мышечной клетки. При активации рецепторов каналы открываются, и ионы натрия устремляются внутрь мышечной клетки. Некоторые белки (агрин, рапсин, МСТК) участвуют в этом процессе.

4. Вхождение ионов натрия в сочетании с выходом во внеклеточное пространство ионов калия приводит к деполяризации мембраны мышечной клетки. Если уровень деполяризации достаточен, то возникает потенциал действия мышечной клетки, в результате чего ионы кальция

высвобождаются из саркоплазматического ретикулума, что и инициирует мышечное сокращение.

5. Когда молекулы АХ освобождаются от связи с ацетилхолиновым рецептором, они разрушаются ферментом АХЭ на ацетат и холин. В результате обратного захвата молекулы холина попадают в пресинаптические окончания, где соединяются с ацетатом, в результате чего воссоздаются молекулы АХ, которые упаковываются в везикулы пресинаптического окончания.

Патология АХ-нейротрансмиссии лежит в основе двигательных нарушений при миастении: при этом заболевании происходит выработка аутоантител к рецепторам АХ на постсинаптических мембранах, снижается их число и уменьшается возможность генерации ПКП. В результате возникает нарастающая при повторных движениях мышечная слабость. Применение ингибиторов АХЭ ведет к увеличению количества АХ в синаптической щели, большему стимулированию АХР и уменьшению патологической мышечной слабости.

При наследственных и приобретенных (синдром Ламберта—Итона, ботулизм и др.) миастеноподобных синдромах нарушается синтез, транспорт или высвобождение АХ в синаптическую щель, поэтому ингибиторы АХЭ неэффективны.

Миорелаксант тубокурарин блокирует места присоединения АХ к постсинаптическим рецепторам, что приводит к временному параличу мышц. Этот препарат используют при оперативных вмешательствах.

2.1.2. Функция вилочковой железы в норме и при патологии

Вилочковая железа — это парный лимфоэпителиальный дольчатый орган, расположенный в верхнем отделе переднего средостенья над сердцем. Наибольших размеров по отношению к весу тела вилочковая железа достигает к моменту рождения. Затем она продолжает расти, но гораздо медленнее и в период полового созревания дости-

гает максимальной величины, в дальнейшем происходит инволюция тимуса. Вилочковая железа состоит из двух основных долей, которые разделяются на мелкие дольки, чья основа образована переплетением эпителиальных клеток. Вилочковая железа и ее отдельные дольки заключены в соединительнотканную капсулу, внутренняя полость которой включает эпителиальную сеть, заполненную лимфоцитами (другое название лимфоцитов в вилочковой железе — тимоциты). В каждой дольке имеется 2 слоя:

- 1) кора с плотной упаковкой малых тимоцитов (кортекс);
- 2) мозговое вещество (медулла), в котором количество лимфоцитов ниже. Тимоциты, расположенные в медулярном слое, относятся в основном к бластным клеткам.

В вилочковой железе выделяют от 6 до 8 типов эпителиальных клеток. Большая часть эпителиальных элементов вилочковой железы, в том числе формирующих тельца Гассалья, имеют признаки секреторных клеток и синтезируют ряд пептидных гормонов (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Основные гормоны тимуса (Зайратьянц О.В., 1992)

Гормон	Химическая характеристика и масса	Биологическое действие
Тимопоэтин	Полипептид, 5562 Да	Влияет на пре-Т-лимфоциты, блокирует нервно-мышечную передачу
Тимический гуморальный фактор	Полипептид, 3200 Да	Активирует Т-лимфоциты
Тимический фактор Х	Полипептид, 4200 Да	Восстанавливает число Т-лимфоцитов крови, усиливает реакцию гиперчувствительности замедленного типа
Тимический сывороточный фактор (тимулин)	Нанопептид, 857 Да	Влияет на различные этапы дифференцировки Т-лимфоцитов крови, на дифференцировку цитотоксических Т-лимфоцитов

Гормон	Химическая характеристика и масса	Биологическое действие
α_1 -тимозин	Полипептид, 3108 Да	Влияет на ранние этапы дифференцировки Т-лимфоцитов, на дифференцировку Т-хелперов
α_7 -тимозин	Полипептид, 2500 Да	Влияет на дифференцировку Т-супрессоров, на поздние этапы дифференцировки Т-лимфоцитов
β_4 -тимозин	Полипептид, 4982 Да	Влияет на ранние этапы дифференцировки Т-лимфоцитов
Протимозин	Полипептид, выделен из эпителиальных клеток вилочковой железы	Предшественник других тимозинов

Эпителиальные клетки вилочковой железы синтезируют более 40 биологически активных веществ, оказывающих влияние на рост и развитие Т-лимфоцитов. Помимо этого, здесь синтезируются нейропептиды: вазопрессин, окситоцин, нейрофизин и др. В процессе возрастной инволюции железы синтез гормонов и нейропептидов постепенно снижается.

В ткани железы представлены и клетки диффузной нейроэндокринной системы (APUD-системы), синтезирующие адrenокортикотропный гормон (АКТГ), соматотропный гормон (СТГ), кальцитонин, паратгормон и др.

В вилочковой железе выделяют 2 элементарные структурно-гистологические единицы: 1) фолликулы Кларка; 2) тельца Гассалья. Фолликулы Кларка в корковом слое вилочковой железы представляют собой отдельные «кирпичики», из которых построен этот слой. Эпителиальные клетки окружают плотно упакованные лимфоциты и расположенные среди них макрофаги, что вместе создает элементарную структурно-гистологическую единицу вилочковой железы. Лимфоциты проходят из коркового вещества в мозговое вещество через барьер, образованный макрофагами.

Тельца Гассалья — это свободные от лимфоцитов округлые скопления эпителиальных клеток в медуллярной зоне вилочковой железы. Тельца Гассалья включают несколько типов секреторирующих клеток: эпителиальные, миодные и бокаловидные. В наружной части телец Гассалья клетки, формирующие железистые структуры с микроворсинками, имеют большое число собранных в пучки тонофиламентов и десмосомные контакты. В клетках развиты везикулярный и вакуолярный компоненты, ядра имеют неровные контуры. Функциональное значение телец Гассалья неясно. Предполагают, что они образуются в результате активной деструкции тимоцитов, что приводит к «обнажению» эпителиальных элементов. Возможно также, что тельца Гассалья являются активными структурами, функция которых заключается в продукции регуляторных факторов, поступающих в кровотоки.

Круглые эпителиальные специализированные клетки наружного коркового слоя называются «клетками-кормилицами», так как каждая из них ассоциирована с множеством лимфоцитов. В корковом слое, преимущественно на переходе его в мозговую зону, выявлены интердигитатные дендритные клетки. Все эпителиальные, интердигитатные клетки и макрофаги экспрессируют на поверхности молекулы главного комплекса гистосовместимости, играют важную роль в развитии и селекции Т-клеток.

В паренхиме вилочковой железы имеются и миоидные клетки, в протоплазме которых определяют исчерченность, также как и в поперечнополосатых мышечных волокнах.

С кровью в вилочковую железу поступают незрелые стволовые клетки костного мозга (лимфобласты), они вступают в контакт с эпителиальными клетками («воспитателями» или «няньками») поверхностного коркового слоя долек и под влиянием гормонов тимуса (таких, как тимозин) трансформируются в лимфоциты. По мере созревания этих лимфоцитов (timoцитов) они переходят из

коркового слоя в мозговую слой долек. Здесь происходит процесс селекции, в результате которого одни лимфоциты погибают, а другие продолжают развиваться и на различных стадиях, вплоть до зрелых лимфоцитов, выходят из тимуса в кровь и лимфатическую систему. В лимфоцитах мозгового слоя образуется 20- α -гидроксилстероиддегидрогеназа, поэтому они гораздо менее чувствительны к цитолитическому эффекту кортизола, по сравнению с лимфоцитами коркового вещества.

В вилочковой железе осуществляется дифференцировка Т-лимфоцитов на различные популяции. Происходит отбор клеток, экспрессирующих Т-клеточный антигенный рецептор, который распознает собственные антигены гистосовместимости. Поскольку именно в вилочковой железе определяется будущая судьба лимфоцитов как функционально активной популяции, то тимус наравне с костным мозгом считают первичным (центральным) органом иммунитета.

В паренхиме вилочковой железы представлен только лимфопоэз и полностью отсутствуют миелоидные ростки дифференцировки. Эта особенность позволяет оценивать тимус как истинно лимфоидное образование.

2.2. Миастения

Для возникновения мышечного сокращения необходимо, чтобы электрический импульс по терминали аксона мотонейрона, расположенного в передних рогах спинного мозга, достиг так называемого нервно-мышечного окончания — синаптического контакта нерва и поперечнополосатой мышцы. В результате деполяризации пресинаптической мембраны кванты ацетилхолина высвобождаются в синаптическую щель и взаимодействуют с рецепторами постсинаптической мембраны (рис. 2.1). Соединение лиганда с рецептором приводит к высвобождению ионов кальция, активации АТФазы и мышечному сокращению.

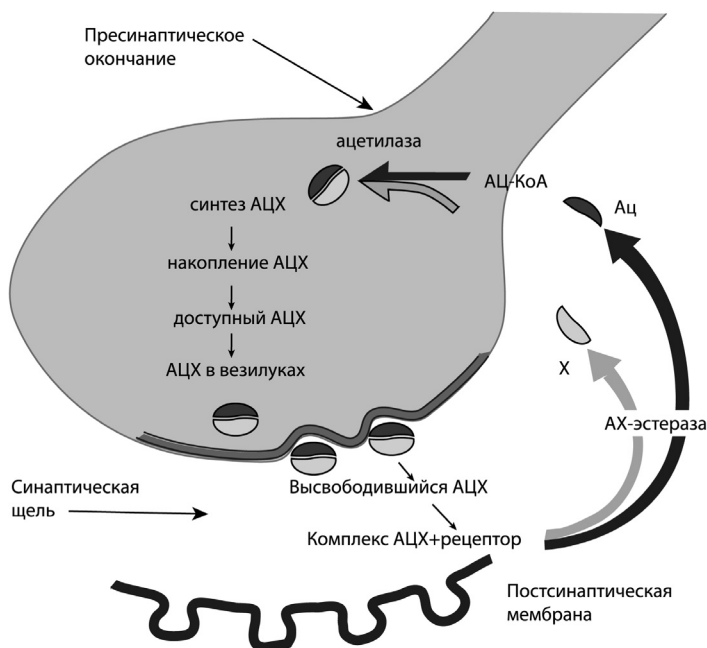


Рис. 2.1. Схема синтеза ацетилхолина в нервно-мышечном соединении. Ацетилхолин (АЦХ) высвобождается в синаптическую щель под воздействием деполяризующего импульса, поступающего в пресинаптическое окончание. Там АЦХ взаимодействует с рецепторами постсинаптической мембраны и стимулирует мышечное сокращение. Далее АЦХ ферментом ацетилхолинэстеразой (АХ-эстераза) разрушается на ацетил (Ац) и холин (Х). Большая часть Х подвергается обратному захвату и возвращается в пресинаптическое окончание, Ац превращается в биологически активную форму ацетил-коэнзим-А (АЦ-КоА). В пресинаптическом окончании из Х и АЦ-КоА при помощи фермента ацетилазы происходит синтез АЦХ, который затем накапливается в везикулах

Миастения является аутоиммунным заболеванием, характеризующимся мышечной слабостью и патологической утомляемостью, обусловленными нарушением нервно-мышечной проводимости в результате образования антител к рецепторам АХ.

2.2.1. Роль вилочковой железы в патогенезе миастении

Вилочковая железа несомненно играет важную роль в патогенезе миастении. Свыше 50% телец Гассалья при миастении подвергаются кистозной трансформации, которая затрагивает крупные, средние и мелкие тельца. Они имеют признаки секреторной активности с выделением секрета через прилежащие лимфатические капилляры. Появляются внутриклеточные вакуоли, кисты, переполненные секретом, который можно выявить с помощью ШИК-реакции. ШИК-положительное вещество также обнаруживается в миоидных элементах и гипертрофированных клетках эпителиальных тяжей.

При миастении в вилочковой железе происходит секреция муцина, имеющего вид электронноплотного аморфного материала. Это явление характерно для эмбрионального тимуса, встречается при ревматическом процессе, но не определяется у взрослых в норме. Иммунолюминисцентным методом в центральной части медуллярного слоя долек обнаружены крупные или средней величины, комковатые или гранулярные внутриклеточные отложения IgG. Количество IgG в них, как правило, коррелирует с числом герминативных центров в дольке. Отмечено свечение цитоплазмы миоидных клеток после обработки срезов вилочковой железы сыворотками больных миастенией. IgM выявляют в виде островков в кортико-медуллярной зоне. В культуре тимусной ткани при миастении выявлены миоидные клетки с АХР. У больных миастенией имеется высокая концентрация антител к эпителиальным и лимфоидным клеткам, клеткам телец Гассалья вилочковой железы. Часто число телец Гассалья снижено. По-видимому, при миастении вилочковая железа является одной из мишеней аутоиммунного процесса. При миастении обнаружены нарушения распределения популяций и субпопуляций лимфоцитов в вилочковой железе. Отмечено увеличение количества В-лимфоцитов в разной стадии трансформации.

У больных миастенией снижено количество супрессорных Т-лимфоцитов периферической крови, что может способствовать формированию аутоантител. Уменьшено суммарное число периферических Т-клеток. Соотношение CD4+/CD8+-клеток, выделенных из вилочковой железы больных миастенией, значительно увеличено. В гиперплазированном тимусе повышено количество CD44+ и CD23+. Уровень CD23+ в сыворотке у больных выше до ТЭ, чем после ТЭ и выше, чем у здоровых индивидуумов. Клетки вилочковой железы вырабатывают АХР. Тимоциты больных, не получивших кортикостероидные препараты, секретируют больше этих антител, чем у больных, получавших иммуносупрессивную терапию.

Тимус обладает эндокринной активностью. Его гормоны поддерживают на необходимом уровне функциональную активность Т-клеток. Основные гормоны тимуса — это тималин, α_1 -тимозин и тимопоэтин. Тималин представляет собой цинксодержащий гормон. После ТЭ концентрации тималина и цинка снижаются. Иммуносупрессивная терапия не влияет на уровень этого гормона в сыворотке крови. Тималин синтезируется только в вилочковой железе, а α_1 -тимозин и тимопоэтин образуется также вне тимуса. Титр α_1 -тимозина не уменьшается после ТЭ, однако снижается при злокачественной тимоме. Содержание сывороточного α_1 -тимозина при миастении с тимомой обратно пропорционально уровню аутоантител к антигенам цитоплазмы клеток эндотелиального ретикулума тимуса.

Одним из гормонов, имеющим непосредственное отношение к миастении, считают тимопоэтин. Он эффективно связывается с АХР, принимает участие в нервно-мышечной передаче и в ранней дифференцировке Т-лимфоцитов.

После ТЭ улучшение состояния отмечают в 50–80% случаев, причем у больных миастенией с тимомой примерно в 30%, у больных без тимомы — в 70% случаев. При гистологическом исследовании тимуса у половины больных выявляют гиперплазию, тимому — в 20% случаев, инволю-

тивные изменения — в 5% случаев, кисты — в 1% случаев, отсутствие изменений — 20% случаев, в 4% случаев — другие нарушения.

Неопухолевые изменения — гиперплазия тимуса, или тимит, наблюдается у 60% больных, в основном до 40 лет. У детей гиперплазию вилочковой железы отмечают в половине случаев, у остальных больных выявляют нормальные размеры железистых долек или их инволюцию. В 50% случаев гиперплазию тимуса наблюдают при нормальных размерах вилочковой железы в тех случаях, когда исследование проводят с помощью рентгеновской КТ. Более информативна МРТ. Неопухолевые изменения вилочковой железы представляют собой гиперпластическую иммунную реакцию в виде появления лимфоидных фолликулов с зародышевыми центрами, увеличения числа лимфоидных элементов в мозговом слое, мелкоочаговой плазмодитарной инфильтрации на периферии дольки. Плазматические клетки в гиперплазированном тимусе секретируют АХР. Уровень этих антител снижается после ТЭ. В зависимости от степени выраженности иммунной реакции выделяют 3 степени поражения вилочковой железы:

- I степень характеризуется единичными лимфоидными фолликулами или их отсутствием;
- II степень — развитием лимфоидных фолликулов в каждой дольке вилочковой железы;
- III степень — резким поражением вилочковой железы, в каждой дольке содержится 3–20 лимфоидных фолликулов.

Взрослые больные миастенией имеют выраженную гиперпластическую реакцию III степени примерно в 25% случаев, дети — в подавляющем большинстве случаев. Миоидные клетки в мозговом слое тимуса экспрессируют АХР, но эти клетки находят и у здоровых людей, а не только у больных миастенией. Тем не менее предполагают, что имеется первичная сенсбилизация тимуса к АХР.

Тимомы при миастении гистологически представляют собой лимфоэпителиомы, реже выявляют другие опухоли

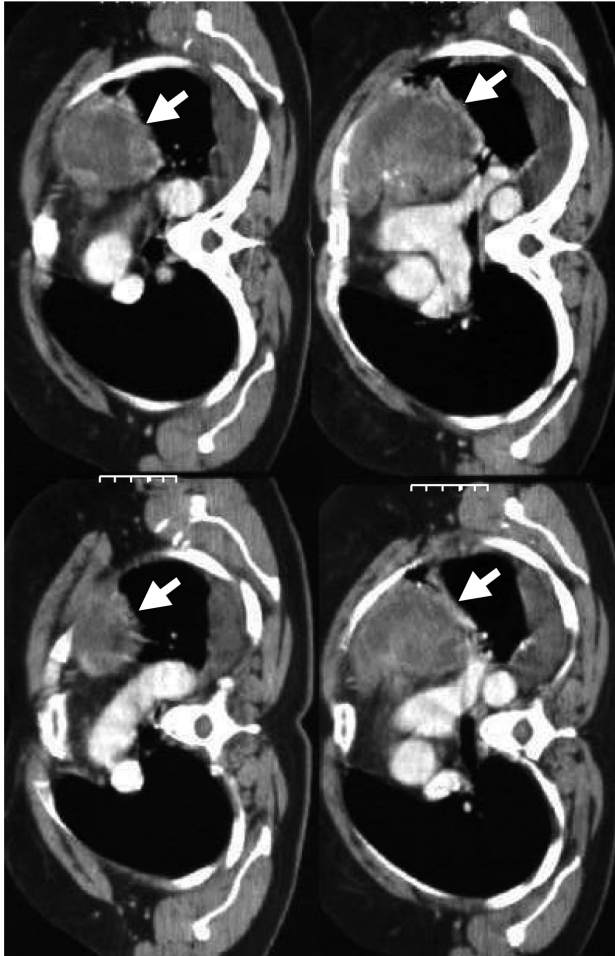


Рис. 2.2. МРТ органов грудной клетки. В переднем средостении определяется крупное образование — тимомы (стрелка)

(рис. 2.2). Некоторые виды тимом содержат также зародышевые фолликулы. Лимфоэпителиальные тимомы могут стать локально инвазивными, они могут рецидивировать и озлокачествляться. У таких больных тимические лимфоциты обычно не секретируют АХР, их определяют только в 10% случаев. У пожилых больных в тимусе могут быть выявлены только возрастные изменения. Эти больные хорошо реагируют на иммуносупрессивную терапию.

Таким образом, вилочковая железа играет несомненную роль в патогенезе миастении. Участие тимуса в аутоиммунном процессе при миастении подтверждают следующие данные:

- высокая частота гистопатологии тимуса при миастении, включая увеличение числа лимфоидных фолликулов в мозговом слое, часто с зародышевыми центрами, увеличение числа В-лимфоцитов;
- наличие в нормальном тимусе, по крайней мере, двух маркеров элементов скелетных мышц: никотиновых холинорецепторов и миоидных антигенов, реагирующих с антителами к скелетной мускулатуре;
- клиническое улучшение после ТЭ у многих больных.

2.2.2. Популяционные аспекты миастении

Основными показателями в популяционных исследованиях, проводимых на определенной территории в определенный период времени являются: распространенность — общее количество случаев заболевания в популяции из расчета на 100 тыс. человек, и частота, или заболеваемость, — число новых случаев болезни, возникших в течение года из расчета на 100 тыс. человек. Популяционные показатели миастении отличаются в различных регионах (табл. 2.2). Как видно из таблицы наиболее часто миастения встречается в Англии и Италии. Наиболее редко заболевание диагностируется в США и Норвегии.

Нами была изучена заболеваемость (частота) и распространенность миастении в Московской области, начиная с 1980 г. В гетерогенной группе больных миастенией

в Московской области с 1980 по 2002 г. существенной динамики заболеваемости не отмечено. Показатель варьировал от 0,42 в 1980 г. до 0,03 на 100 тыс. населения в 1995 и 1998 г. В последующем отмечено снижение числа новых случаев миастении и уменьшение показателя заболеваемости. Распространенность миастении в Московской области увеличилась с 4,57 на 100 тыс. в 1980 г. до 8,45 случаев на 100 тыс. населения в 2000 г.

Таблица 2.2

Показатели распространенности и заболеваемости миастении в различных популяциях

Страна	Заболеваемость на 100 тыс. населения	Распространенность на 100 тыс. населения
Норвегия	0,4	9,0
США	0,4	5,1
Италия	0,78	11,7
Англия	1,1	15,0
Хорватия	0,7	9,9
Греция	0,74	7,6
Тропические острова Куракао и Аруба	0,47	7,0

Нами было изучено влияние экологически неблагоприятных факторов (загрязнение атмосферного воздуха) на распространенность миастении у взрослых. Выявлена умеренно выраженная корреляционная связь, но статистически не значимая.

2.2.3. Иммунопатология миастении

Аутоантитела при миастении. Клинические проявления миастении (мышечная слабость, утомляемость) обусловлены нарушением нервно-мышечной проводимости вследствие образования антител к постсинаптическим рецепторам ацетилхолина и их блокадой. Наряду с антителами к АХР у больных миастенией нередко обнаруживают другие аутоантитела: к основному белку миелина и ци-

токинам — интерферону-альфа (ИФН- α) и интерлейкину-12 (ИЛ-12), мышечной специфической тирозинкиназе (АМСТК), компонентам скелетных мышц (титину, риадиноновым рецепторам), гравину.

Антитела к рецепторам ацетилхолина. АХР представляет собой иммуноглобулин G (IgG), имеющий высокое сродство к различным регионам АХР. Антитела к рецепторам ацетилхолина определяются в сыворотке у 80–90% больных генерализованной и у 20–40% больных глазной формой миастении с уровнем 0,2–1549,0 нмоль/л (Fabien N. et al., 2001).

Ацетилхолиновый рецептор — многоцепочечный молекулярный комплекс, состоящий из 2 альфа (α), одной бета (β), одной дельта (δ) и/или гамма (γ) (или эпсилон [ϵ]) субъединицы. Имеется 2 варианта мышечного холинового рецептора: эмбриональный, содержащий γ -субъединицу, и взрослый, в котором γ -субъединица замещается на ϵ -субъединицу. Многочисленные антигенные детерминанты находятся на каждой субъединице, некоторые из них иммунодоминантные, другие — скрытые. Большинство детерминант, узнаваемых В- и Т-лимфоцитами, находятся на α -субъединице, на внеклеточных сегментах 67–76 (главный иммуногенный регион). Антитела к главному иммуногенному региону выявляют у больных миастенией в 80% случаев. При миастении с тимомой основные регионы связывания аутоантител расположены на цитоплазматическом участке 371–378 α -субъединицы (иммуногенный цитоплазматический эпителий). У больных с глазной миастенией АХР направлены к γ -субъединице ХР, который у взрослых людей сохраняется только в наружных глазных мышцах.

Нами впервые в России проведено определение уровня АХР у больных миастенией (Сидорова О.П. и соавт., 2001). Для регистрации АХР использовался радиоиммунный метод. Серопозитивная миастения была выявлена в 68% случаев, серонегативная — в 32%. У половины больных с серонегативной формой миастении была ремис-

сии. Не выявлено статистически достоверной корреляции между уровнем АХР, тяжестью заболевания и продолжительностью болезни.

А.Г. Санадзе и соавт. (2003) исследовали АХР у 24 больных миастенией в возрасте от 11 лет до 71 года. Уровень антител у больных варьировал от 0,131 до 0,440 нмоль/л. Корреляции между тяжестью состояния больных и уровнем АХР не было выявлено.

Антитела к основному белку миелина. Наряду с АХР у больных миастенией выявляют и другие аутоантитела. Впервые нами были исследованы антитела к основному белку миелина (АТОБМ). У всех больных отмечалась генерализованная форма миастении. Выявлена статистически достоверная корреляция между активностью патологического процесса при миастении и уровнем АТОБМ (рис. 2.3).

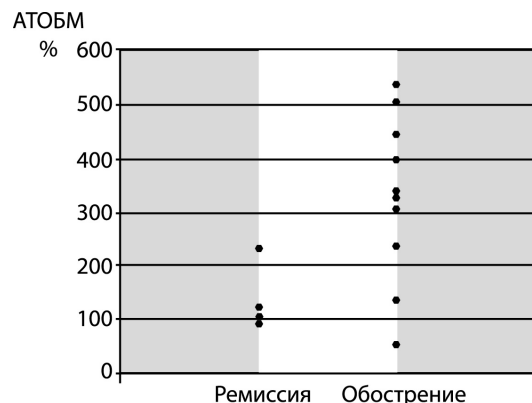


Рис. 2.3. Уровень АТОБМ у больных миастенией в зависимости от клинической активности иммунопатологического процесса

Прочие аутоантитела, встречающиеся при миастении. При миастении обнаруживают аутоантитела к поперечно-полосатой мускулатуре, антинуклеарные, митохондриальные, к гладкой мускулатуре, клеткам щитовидной железы,

париетальным клеткам желудка, антитромбоцитарные, антилимфоцитарные, к ядрам нейронов, к сквамозному эпителию. Выявлены антитела к титину и цитокинам (ИФН- α , ИЛ-12) (Buckley C. et al., 2001; Chen X. et al., 2001; Romi F. et al., 2000, 2002); к риаодиновым рецепторам скелетных мышц (Skeie G. et al., 2001). Очень высокий уровень антител к ИЛ-12 выявлен у больных миастенией с тимомой. Изолированное увеличение антител к ИЛ-12 и ИФН- α или к обоим цитокинам наблюдают при рецидиве тимомы. Найдены антитела к гравину (Sasaki H. et al., 2001). Эти антитела высокоспецифичны для миастении, наиболее часто они встречаются в молодом возрасте у больных миастенией без тимомы. Эти данные могут быть использованы для прогнозирования течения миастении. У больных миастенией обнаруживают антитела к тиреоглобулину, лимфоцитам, выявляют ревматоидный фактор. У 97% больных миастенией с тимомой определяют антитела к мышечному белку титину. А.Г. Санадзе и соавт. (2003), Д.В. Сиднев и соавт. (2003) показали, что антитела к титину выявляются у 94% больных миастенией в возрасте старше 60 лет и у 79% больных миастенией с тимомой в возрасте до 60 лет. Тяжесть проявлений миастении коррелировала с уровнем антител. В обеих группах больных отмечено преимущественное поражение жевательной, бульбарной мускулатуры, мышц шеи и дельтовидной мышцы. Полученные данные свидетельствуют о тропизме титиновых антител к определенным группам мышц. У больных с тимомой без миастении уровень антител к титину был в пределах нормы. J. McConville и соавт. в 2001 г. обнаружили антитела к МСТК у больных миастенией. Эти антитела, являющиеся IgG, выявлены у 70% больных с генерализованной формой миастении, серонегативных в отношении АХР. Они не определяются у больных с глазной формой миастении, у больных генерализованной формой миастении, серопозитивных в отношении АХР, у здоровых обследуемых и у больных другими неврологическими заболеваниями. При миастении выявлены

антитела к рецепторам кальцийвысвобождающих каналов саркоплазматического ретикулума — риаинодиновым рецепторам. У 60% больных миастенией в сыворотке крови определены антитела к ганглиозидам.

Другие иммунные нарушения при миастении. Наряду с изменением гуморального иммунитета (наличием аутоантител) в иммунологическом статусе больных миастенией находят и другие изменения, в частности, соотношении субпопуляций лимфоцитов, и в продукции ИЛ, участвующих в формировании иммунного ответа. N. Moulian и соавт. в 1997 г. сообщили об увеличении соотношения CD4+/CD8+-клеток у больных миастенией. Е.М. Климова и соавт. из Украины в 2001 г. исследовали субпопуляции Т-лимфоцитов у 253 больных миастенией и выявили 2 различных типа иммунного ответа: гиперергический тип — высокий уровень CD4+ Т-лимфоцитов и гипоергический — нормальное содержание Т-лимфоцитов и снижение CD8+ Т-лимфоцитов. Исследователи из США G. Semrowski и соавт. в 2001 г. сообщили о снижении количества CD4+ и CD8+-клеток после ТЭ.

Продукция АХР регулируется Т-клетками за счет иммунорегуляторных цитокинов. D. Matusevicius и соавт. в 1996 г. определяли концентрацию ФНО-α, лимфотоксина (ЛТ), ИЛ-6, -10 и -12 при миастении. ЛТ принадлежит к Th1-клеточным цитокинам, а ИЛ-12 — к Th2-клеточным цитокинам. Уровень ФНО-α, ЛТ, ИЛ-6, -10, -12 оказался выше у больных миастенией по сравнению с контрольной группой. Эти данные позволяют предположить, что указанные цитокины вовлекаются в патологический иммунный процесс при миастении.

2.2.4. Иммуногенетические аспекты миастении

Антигены гистосовместимости (HLA) и миастения. Миастения является HLA-ассоциированным заболеванием. В различных популяциях обнаружена ассоциация миастении с различными аллелями главного комплекса гистосовместимости (табл. 2.3). В европейских странах

миастения ассоциирует с HLA-A1, A8, DR3. В Японии и Китае — с DR9. В Индии фактором, определяющим предрасположенность к миастении, является HLA-B8, так же как в европейских странах.

Таблица 2.3

HLA-ассоциации при миастении

Страна	HLA, ассоциированные с миастенией
Англия	A1, A3, B5, B7, B8, DR2, DR3, DR52(DRB3*0101), A1-B8-DR3
Венесуэла	A*31, B*08, B*39, B*40, C*15, C*17, DRB1*09
Германия	A1, B8, DRB1*0301, DRB3*0101, DQA1*0501, A3, A24 B8
Италия	DRB1*03 A1-B8-DR3, DR1
Китай	B27, B46, DR9 DRB1*1202, DRB3*0301, DQA1*0601, DQB1*0503, DQB1*0302 A11 A2 A4 Cw1, Cw7, Cw10(3), DRB1*1202, DRB1*1401, DRB1*1401, DRB1*1404, DRB3*0301, DQA1*0101, DQA1*0601, DQB1*0503, DQB1*0302
Польша	A1, B8, DR3
Россия (Башкортостан)	DRB1*16, DRB1*17
Украина	DR1, DR2, DR5, DR7
Финляндия	A1, A8
Франция	DR3, DR7 B8, DRB1*03, DRB3*0101, DRB1*0201, DRA1*0501, DR1 снижен DQA1*01- DQB1*0201; DQA1*01- DQB1*0301 DQA1*0501, DQB1*0201, DQB1*0301

Продолжение ↪

Окончание табл. 2.3

Страна	HLA, ассоциированные с миастенией
Япония	B5, B12
	DR9, DR13, DQ1, DQ3
	DPB1*0201, DQB1*0301, DQB1*0302, DQB1*0303
	DR53
	DR9 (DRB1*0901) DRB51 (DRB1*0101)
	DR6
	DQB1*0604, DQB1*0402

Выявлены ассоциации аллелей HLA с различными формами миастении, высоким и низким титром антител к АХР. HLA-B8 и DR3 ассоциируются с ранним началом миастении у женщин без тимомы и с высоким титром АХР. Повышение частоты гаплотипа HLA-A3, B7 и/или DR2 наблюдается у больных более старшего возраста с низким титром антител к АХР.

С. Чан (S. Chan) и соавт. в 1993 г. сообщили об ассоциации HLA-B46 со всеми формами миастении, но особенно с ранним дебютом болезни, низким титром АХР, только с глазными поражениями и с неизменным тимусом у больных миастенией в Китае. Также ими было показано, что HLA-DRB1*14 ассоциируется у них с гиперплазией тимуса, ранним началом болезни с высоким титром АХР при генерализованной миастении. HLA-DRB1*1202 ассоциируется в Китае у больных миастенией с тимомой, поздним началом, глазными поражениями и со средними и высокими титрами АХР. Д. Франциотта (D. Franciotta) и соавт. в 2001 г. сообщили о результатах обследования 81 больного миастенией из Италии, у которых отмечалась повышенная частота HLA-DRB1*03, наиболее часто у женщин с ранним началом заболевания. У этих больных не выявлено ни значительного повышения частоты гиперплазии тимуса, ни высокого уровня АХР. HLA-DRB1*03 отсутствовал у больных с тимомой. М. Гираунд (M. Gira-

und) и соавт. в 2001 г. исследовали HLA-DRB1 у 65 больных генерализованной формой миастении во Франции. У больных с гиперплазией тимуса выявлена положительная ассоциация с HLA-DR3 и отрицательная с HLA-DR7. Не было обнаружено ассоциации HLA-DRB1*03 с тимомой. У больных без патологии тимуса, но с наличием антител к титину была повышена частота HLA-DR7 и снижена частота HLA-DR3.

В России исследование HLA-антигенов было проведено нами в институте геронтологии Минздравсоцразвития РФ (директор — академик РАМН, профессор В.Н. Шабалин). Выявлена положительная ассоциация заболевания с HLA-A1, B8, DR3 и DQ2. У родственников больных миастенией первой степени родства (родители, дети, братья, сестры) статистически достоверно повышена частота HLA-A1 B8.

Генетическая детерминация миастении. Миастения — заболевание, встречающееся в большинстве случаев sporadически. Однако в литературе описано более 40 семей с двумя и более больными, причем в $\frac{2}{3}$ случаев они являются sibсами (братьями и сестрами) и лишь в $\frac{1}{3}$ случаев поражены пробанд и один из его родителей, чаще мать. Описаны также семьи, в которых болеют миастенией двоюродные братья и сестры. Для определения модели наследования миастении нами был проведен сегрегационный анализ. Не было выявлено соответствия заболевания простой моногенной модели наследования. В связи с этим была проведена проверка соответствия миастении критериям мультифакториального наследования. Было выявлено соответствие данному типу наследования миастении. Определен коэффициент наследуемости при миастении по методу Менделла–Элстона–Райха, который составил 91,6%. При исследовании близнецовых пар 4 монозиготные пары были конкордантны по миастении. Все дизиготные близнецы дискордантны по миастении. Коэффициент наследуемости был равен 44,4%. Составлена таблица рекуррентного риска миастении (табл. 2.4).

Как видно, чем больше родственников с миастенией, тем выше риск заболеть этой патологией.

Таблица 2.4

Рекуррентный риск при миастении взрослых (в %)

Родители	Количество больных sibсов	Количество здоровых sibсов		
		0	1	2
Оба здоровы	0	0,0	0,0	0,0
	1	0,9	0,8	0,8
	2	4,5	4,3	4,1
Один болен	0	0,8	0,7	0,7
	1	4,5	4,2	4,0
	2	9,7	9,1	8,6
Оба больны	0	15,2	13,4	11,7
	1	25,2	24,1	22,9
	2	28,7	27,6	26,6

Мутагенные факторы (порядок рождения, возраст родителей и профессиональные вредности у родителей до рождения больного) не влияют на заболевание миастенией. Выявлена ассоциация миастении с резусотрицательным фенотипом. У больных мужчин статистически достоверно преобладает В(III) группа крови. При исследовании дерматоглифики у больных миастенией выявлено дистальное смещение осевого ладонного трирадиуса, повышение частота встречаемости ладонных узоров, снижение ладонного и пальцевого гребневого счета.

2.2.5. Классификация миастении

Существует несколько классификаций миастении. Наиболее известной и широко используемой за рубежом является **классификация К. Оссермана** (K. Osserman), предложенная в 1958 г.

Формы заболевания у взрослых

Группа I — глазная форма.

Группа II — генерализованная миастения; характеризуется мягким течением.

Группа III — острая, молниеносная миастения; характеризуется ранним расстройством дыхания.

Группа IV — поздняя тяжелая миастения; обострение у больных I и II групп.

Группа V — с мышечными атрофиями.

Формы заболевания у детей

Группа I — неонатальная (проявляется с рождения у детей, чьи матери болеют миастенией).

Группа II — ювенильная.

В России в 1965 г. **Б.М. Гехтом** была предложена следующая классификация миастении.

По характеру течения

1. Миастенические эпизоды.
2. Миастенические состояния.
3. Прогрессирующая форма.
4. Злокачественная форма.

По степени генерализации

1. Локальные процессы — глазные, бульбарные, лицевые, краниальные, туловищные.
2. Генерализованные процессы.

По степени тяжести двигательных расстройств

1. Легкая.
2. Средняя.
3. Тяжелая.

По степени компенсации двигательных расстройств при приеме АХЭП

1. Полная.
2. Достаточная (для самообслуживания).
3. Плохая (нуждается в обслуживании).

2.2.6. Клиническая картина миастении

Миастения может развиваться в любом возрасте, но чаще возникает у взрослых. В 83% случаев заболевание начинается после 15 лет, в 17% случаев — у детей. Женщины болеют миастенией чаще, чем мужчины.

Основными клинические проявления миастении — *мышечная слабость* в сочетании с *патологической утомля-*

емостью мышц, что выражается нарастающим снижением силы при физической нагрузке. Следует подчеркнуть, что слабость мышц наблюдается при различных заболеваниях как центральной, так и периферической нервной системы (инсульт, энцефалит, невриты, полиневриты и др.). Особенностью миастенического нарушения является быстрое нарастание слабости при повторных движениях или тоническом напряжении мышцы. Поэтому для определения слабости бульбарных мышц мы просим больного громко посчитать, при этом возникает гнусавость или глухость голоса. Для обнаружения слабости наружных мышц глаза мы просим больного фиксировать взгляд на потолке, при этом видим постепенное опускание верхнего века. Чтобы обнаружить слабость мышц конечностей пациенту предлагают совершать ритмичные движения: сжимать кисти в кулаки, имитировать ногами движения велосипедиста и пр.

Первые симптомы миастении разнообразны. Могут поражаться различные группы мышц, но чаще всего вначале наблюдаются глазные симптомы (75% случаев): непостоянное двоение в глазах, птоз век, усиливающийся к концу дня. Указанные симптомы могут быть проявлением глазной миастении, но чаще это начальные признаки генерализованной миастении, к которым в дальнейшем присоединяются симптомы поражения других мышц. Несколько реже первыми симптомами могут быть бульбарные (66% случаев) — нарушение глотания, назолалия, перхивание и пр.

Миастения может начинаться со слабости в руках или ногах, затруднения жевания, гипомимии, общей слабости. Наиболее часто встречается генерализованная форма заболевания. Мышечные атрофии не характерны для миастении. Сухожильные рефлексы у больных сохранены даже при выраженной мышечной слабости вплоть до отсутствия активных движений.

Дебют миастении со слабости мускулатуры туловища редок, но возможен. Так, у одной пациентки мы наблюдали

начало заболевания со слабости дыхательной мускулатуры, которая постепенно выросла до полной невозможности самостоятельного дыхания, что потребовало подключения искусственной вентиляции легких (ИВЛ). При этом слабость и патологическая утомляемость в других мышцах отсутствовали.

Характерно мерцание симптомов в течение дня и день ото дня, например, утром, после ночного отдыха птоз и двоение в глазах отсутствуют, а к вечеру появляются. В дни с пониженной физической активностью пациенты чувствуют себя лучше. Часто они отмечают, что во время пребывания в стационаре «сила возвращается», поскольку имеется искусственное ограничение двигательной активности, АХ расходуется экономно.

Грозным осложнением течения миастении является *миастенический криз*. Как правило, развитию криза предшествуют психотравмы, интеркуррентные заболевания (особенно часто — ОРВИ, пневмония, бронхит), прием транквилизаторов, других лекарственных средств, ухудшающих нервно-мышечную передачу. Достаточно часто миастенический криз возникает в первые сутки после ТЭ в случае отсутствия профилактических мер — активного плазмафереза в предоперационный период. Не следует думать, что миастенический криз редкость, по мнению V.C. Juel (2004) и D. Lacomis (2005), это осложнение возникает у 20–30% больных миастенией, причем у некоторых пациентов криз может быть одним из первых проявлений болезни, а у части пациентов присоединяется в пожилом возрасте, когда груз сопутствующих заболеваний возрастает. В зависимости от возраста дебюта миастении кризы имеют некоторые особенности (табл. 2.5).

В патогенезе миастенического криза основную роль играет выход большого числа АХР в кровоток, блокада АХР и внезапное нарастание мышечной слабости, резистентное к АХЭП. Основными, угрожающими жизни пациента, симптомами являются бульбарные и дыхательные нарушения, достигающие такой степени, когда самостоя-

тельное дыхание невозможно. Такие больные нуждаются в дыхательной реанимации. Слабость в других группах мышц также нарастает: наблюдаются двусторонний птоз, амимия, неподвижность глазных яблок, парезы верхних и нижних конечностей. Однако выраженность дыхательных и бульбарных расстройств превалирует.

Таблица 2.5

Особенности миастенического криза у пациентов с ранним и поздним дебютом миастении (по данным литературы и собственным наблюдениям)

Признак	Дебют до 50 лет	Дебют после 50 лет
Половой состав	М:Ж = 1:2	М:Ж = 1:1
Частота миастенических кризов	15–20%	До 50%
Частые провоцирующие факторы	Инфекции, интоксикации, психоэмоциональная и физическая перегрузка	Декомпенсация сопутствующего соматического заболевания (сахарный диабет, ИБС и др.). Плохой лекарственный контроль болезни
Ответ на терапию	Обычно хороший — у 75% восстановление спустя 4 нед.	Заметно хуже — не более чем у 50% восстановление спустя 4 нед.
Частота повторного криза	Низкая, менее 10%	Высокая, до 33%

Другое тяжелое осложнение миастении — *холинергический криз*. Это состояние чаще всего является ятрогенным и возникает вследствие передозировки АХЭП. Обычно либо врач рекомендует увеличить дозировку, либо сам пациент принимает большую, чем рекомендовано, дозу препарата с целью минимизировать миастенический дефект на период какой-либо жизненной ситуации (предстоящие сдача экзамена, свидание, публичное выступление и пр.). Блокада АХЭ приводит к накоплению избыточного количества АХ в синаптической щели, чрезмерной активации мускариновых и никотиновых холинорецепторов (табл. 2.6). В настоящее время, когда методы иммуносу-

прессии в лечении миастении заняли основное место, частота холинергического криза не велика. Однако он может возникнуть при отравлении фосфорорганическими ядохимикатами.

Таблица 2.6

Дифференциальная диагностика холинергического и миастенического кризов

Холинергический криз	Миастенический криз
<i>Общие симптомы</i>	
Генерализованная мышечная слабость	
Выраженные бульбарные нарушения	
Расстройство дыхания	
<i>Отличие</i>	
Сужение зрачков	Зрачки обычного размера
Брадикардия	Тахикардия
Слюнотечение	Густая слюна
<i>Дополнительные симптомы</i>	
Боль в животе, тошнота, рвота, диарея. Усиление перистальтики кишечника. Повышение трахеобронхиальной секреции	
Частые позывы на мочеиспускание. Снижение артериального давления, фасцикуляции, судороги мышц	

Симптоматика холинергического криза складывается из симптомов, свойственных активации холинорецепторов на периферии, а также в ЦНС:

- мускариновые эффекты: гиперсаливация, гиперпродукция слизи в бронхиальном дереве, тошнота, рвота, усиление перистальтики, брадикардия, гипергидроз, тенезмы;
- никотиновые эффекты: мышечная слабость, фасцикуляции, болезненные длительные судороги мышц туловища и конечностей, дизартрия, дисфагия;
- центральные эффекты: нарушение сознания — спутанность, переходящая в сопор или кому, аффективные расстройства — страх, психомоторное возбуж-

дение, иногда — делирий, очаговые симптомы — головокружение, атаксия. Возможны эпилептические припадки.

Наиболее тяжелым течением отличается *смешанный криз*, имеющий патогенетические и клинические черты как миастенического, так и холинергического кризов. Чаще всего причиной развития смешанного криза служит попытка врача компенсировать нарастание симптомов мышечной слабости при развивающейся декомпенсации миастении увеличением дозы АХЭП.

Подчеркнем, что нарастание мышечной слабости при миастении происходит вследствие увеличения числа АХР и снижения числа активных холинорецепторов вследствие блокады их антителами. Поэтому увеличение дозы АХЭП не только не приносит желаемого результата, но ухудшает состояние больного: число холинорецепторов на постсинаптической мембране нервно-мышечного синапса снижено, все места соединения заняты АХ, а освободить их для повторной активации невозможно, поскольку холинэстераза полностью заблокирована АХЭП. Избыток АХ выходит из синаптической щели, попадает в кровоток, оказывает системное действие, активизируя холинорецепторы в других органах и тканях, вызывает сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные, дизурические, психоневрологические нарушения. Таким образом, попытка улучшить состояние пациента путем увеличения дозы АХЭП приводит к прямо противоположному результату — дальнейшему нарастанию мышечной слабости в сочетании с полиорганный патологией.

Внезапное появление дыхательных и бульбарных нарушений может возникнуть при многих заболеваниях, поражающих нейроны, двигательные нервные волокна, нервно-мышечное соединение и мышцы, поэтому дифференциальный диагноз миастенического криза весьма сложен. Так, поражение неспецифических структур продолговатого мозга (дыхательный центр), верхнешейных сегментов спинного мозга (C_1-C_4) или действие наркоти-

ческих и лекарственных веществ сопровождается параличом дыхания.

Сочетание птоза, наружной офтальмоплегии (частичной или полной) и бульбарного паралича (дисфония, дисфагия, дизартрия) наиболее характерно для миастении, обусловленной АХР, в то время как атрофия языка является признаком, скорее указывающим на миастению, вызванную АМСТК. Наличие фибрилляций в мышцах языка не характерно для миастении, но служит типичным признаком болезни мотонейрона (боковой амиотрофический склероз, прогрессирующий бульбарный паралич), может встречаться также при спинальной амиотрофии Кеннеди, сирингомиелии, патологии основания черепа и процессах в задней черепной ямке.

Сочетание бульбарного паралича и слабости дыхательных мышц нередко наблюдается при острой воспалительной демиелинизирующей полиневропатии (синдром Гийена–Барре), редко к этим симптомам может присоединяться и двусторонний птоз. Выпадение сухожильных рефлексов типично для этого заболевания, однако иногда в дебюте они сохраняются. Возможно сочетание дыхательного и бульбарного паралича и при полиомиелите, дифтерийной полиневропатии.

Сочетание выпадения зрачковых реакций, отсутствия аккомодации, расширения зрачков в сочетании с выпадением сухожильных рефлексов весьма характерно для ботулизма.

Двусторонняя слабость мимической мускулатуры лица может обнаруживаться при миастении, синдроме Гийена–Барре, при полимиозите.

Слабость мышц-сгибателей и разгибателей шеи характерна для миастении, но также может обнаруживаться при синдроме Гийена–Барре, причем слабость сгибателей часто сопровождается дыхательными нарушениями.

Слабость мышц проксимальных отделов конечностей в сочетании с дыхательными нарушениями выявляется при миастении, полимиозите, синдроме Гийена–Барре,

однако наличие атрофий мышц конечностей для этих заболеваний нехарактерно. Чаще сочетание дыхательных нарушений с атрофиями и слабостью мышц плечевого пояса наблюдается при болезни мотонейрона. В табл. 2.7 приведены основные дифференциально-диагностические признаки острых состояний, проявляющихся дыхательным и бульбарным параличом.

В прошлые годы, когда дыхательная реанимация и экстракорпоральная детоксикация были недоступны большинству больных миастенией, именно смешанный криз и являлся причиной смерти при миастении. Эффективный метод лечения кризов при миастении — полное прекращение введения АХЭП, подключение ИВЛ и проведение адекватного плазмафереза.

Нами был проведен анализ исходов при миастеническом кризе у больных миастенией в Московской области по данным госпитализации в отделение нейрореанимации Московского областного научно-исследовательского института (МОНКИ) им. М.Ф. Владимирского за 12 лет (с 1997 по 2009 г.). За это время с диагнозом «миастенический криз» были госпитализированы 18 пациентов. Летальный исход зарегистрирован у 7 пациентов, 5 женщин и 2 мужчин. Трое больных были старше 70 лет (двое — 70 лет и один — 71 года), одна пациентка — в возрасте 41 года, трое — от 50 до 65 лет.

У всех больных были сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь, изменение миокарда (ИБС, в одном случае — липофусциноз миокардиоцитов), гипергликемия. Отмечалось нарушение свертывающей системы крови (повышение фибриногена в крови и увеличение тромбинового времени). В двух случаях выявилась железодефицитная анемия, в одном — язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки. У самой молодой из пациентов при патологоанатомическом исследовании обнаружен сосочковый рак щитовидной железы (при обследовании до криза — нормальный гормональный статус, киста левой доли щитовидной железы при УЗИ). У нее же были

Таблица 2.7
Основные клинические критерии дифференциальной диагностики миастенического криза

Признак	Миастенический криз	Холнергический криз	Синдром Гийена—Барре + (при синдроме Миллера—Фिशера)	Полимиозит	Ботулизм
Слабость наружных мышц глаза	+++	-	+	-	++
Зрачки	Обычных размеров, реакция сохранена	Узкие, реакция сохранена	Обычных размеров, реакция может отсутствовать	Обычных размеров, реакция сохранена	Расширенные, реакции вялые
Птоз	+++	-	±	-	±
Слабость мышц лица	++	±	+++	++	+
Слабость мышц конечностей	++	++	+++	+++	+++
Фасцикуляции	-	+++	±	-	-
Сухожильные рефлексы	++	++	-	+	-
Кожные рефлексы	+	+	-	+	-
Чувствительность	Не нарушена	Не нарушена	Не всегда нарушена, по полиневритическому типу	Не нарушена	Нарушение зрения, дизестезия
Контроль сфинктеров	Норма	Норма	Иногда нарушен	Норма	Нарушен
Вегетативные расстройства	±	+++	+	-	+++

обнаружены лимфоплазматические инфильтраты мозгового слоя надпочечников, внезапно развился геморрагический отек легких. В двух случаях — жировой гепатоз. В одном случае — спаечная болезнь. Пневмония развилась у 3 больных. Тромбоэмболия легочной артерии явилась причиной смерти в одном случае. Инфаркт миокарда был установлен в 2 случаях (в одном — повторный), в одном — на ЭКГ определяли эндокардиальную ишемию с развитием фибрилляции желудочков, в одном случае развилась ишемия миокарда. У всех больных отмечалась избыточная масса тела. Во всех случаях наблюдалось нарушение углеводного обмена (сахарный диабет 2-го типа). В двух случаях — хронический бронхит, развилось его обострение и пневмония. У всех пациентов выявлялось нарушение функции печени — увеличение уровня трансаминаз и креатинина крови. Всем больным проводилось лечение глюкокортикоидами, четверем — плазмаферез. При этом, хотя все пациенты получали препараты калия, существенные колебания его уровня отмечены именно у получавших плазмаферез: в 3 случаях — гипокалиемия, в одном — гиперкалиемия.

Среди всех 15 неблагоприятных сопутствующих факторов у 4 больных их было 8 и более (8, 9, 10, 11). У больной 41-го года определено 6 неблагоприятных факторов, среди которых — рак щитовидной железы.

Таким образом, на исход миастенического криза влияет сопутствующая патология. На первом месте стоят ИБС, сахарный диабет, ожирение. Существенное значение имеет повышение свертывания крови, железodefицитная анемия. С учетом того, что для лечения миастенического криза используют глюкокортикоиды, наличие этих факторов крайне нежелательно. Применение плазмафереза по дискретной методике с забором крови у больного порциями является нагрузочной процедурой при сопутствующей ИБС, сердечной недостаточности, гипертонической болезни. Такая дополнительная нагрузка может привести к декомпенсации сердечно-сосудистого заболевания, раз-

витию инфаркта миокарда. Снижение уровня калия в крови также служит фактором, влияющим на исход миастенического криза.

Следует разрабатывать новые методы лечения миастении и миастенического криза у этой категории больных (иммуноадсорбция, введение иммуноглобулина, новые иммуносупрессивные препараты).

Неонатальная транзиторная миастения возникает у новорожденных, чьи матери больны миастенией. Симптоматика развивается обычно в течение трех дней после родов и сохраняется в течение 5–49 дней (до 15 нед.), в среднем — 3 нед., после чего наступает спонтанная ремиссия. Неонатальная миастения не является истинной миастенией. Клиническая симптоматика обусловлена прохождением АХР матери через гематоплацентарный барьер во время родов, а не выработкой у ребенка собственных антител. Симптомы сохраняются до тех пор, пока в крови ребенка циркулируют материнские АХР. Лечение таких состояний у новорожденных включает обязательное назначение АХЭП и при необходимости ИВЛ. В дальнейшем дети остаются здоровыми, симптомы миастении у них не возобновляются.

При изучении психологического профиля у больных миастенией был выявлен ряд особенностей (Антипова Л.Н. и соавт., 2003). Наиболее часто встречались черты истероидной личности. Эти больные миастенией имели наиболее продолжительный стаж болезни. Почти в 2 раза реже наблюдалось ипохондрическое состояние, в 3 раза реже встречалось депрессивное расстройство, преимущественно у больных с тяжелой формой заболевания, длительно получавших глюкокортикоидные препараты наряду с АХЭП. Реже отмечались гипоманиакальное состояние, психопатологические черты возбудимого типа (импульсивность, неконформизм). У больных генерализованной миастенией с бульбарными нарушениями выявлен психастенический профиль. У 87% больных отмечен респираторный дискомфорт в виде неудовлетворенно-

сти дыханием, одышки при физических и эмоциональных нагрузках.

Заболевания, сочетающиеся с миастенией. С миастенией нередко сочетается разные заболевания: патология щитовидной железы (7,3%), ревматоидный артрит, системная красная волчанка, аутоиммунная гемолитическая анемия, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, витилиго, рассеянный склероз, саркоидоз, неспецифический язвенный колит, полимиозит, синдром Сьегрена, эпилепсия, пернициозная анемия. Гипотиреоз отмечают у больных миастенией в 8–17% случаев. Среди больных диффузным токсическим зобом больные миастенией составляют от 0,025 до 0,35%. Описано сочетание миастении с первичным антифосфолипидным синдромом (Калашникова Л.А. и соавт., 2003). Среди больных с антифосфолипидным синдромом больные миастенией составляют 2%.

2.2.7. Диагностика миастении

Обследование включает тщательный сбор анамнеза заболевания, клинический осмотр с определением мышечной силы, обследование после физической нагрузки, проведение фармакологического теста с АХЭП, электромиографическое (ЭМГ) и иммунологическое исследования (рис. 2.4).

Наиболее характерным признаком миастении служит патологическая мышечная утомляемость. Поэтому при сборе *анамнеза болезни* необходимо обратить внимание на



Рис. 2.4. Алгоритм диагностики миастении

ее выявление, на то, при каких обстоятельствах у больного возникает слабость, птоз век, двоение в глазах и другие симптомы. При миастении они возникают или усиливаются в конце рабочего дня, в вечернее время. Имеется колебание степени выраженности симптомов: в одно время они могут быть более выраженными, в другое — или менее выраженными или исчезать вообще. После физической нагрузки (например, 20 приседаний) симптомы миастении усиливаются. Характерно изменение выраженности симптомов миастении в течение года. Они могут появляться, исчезать, усиливаться или ослабевать.

Весьма специфичным для миастении является тест с кратковременным отдыхом. Мы обращаемся к пациенту с вопросом: «После нескольких минут отдыха отмечаете ли вы временное увеличение мышечной силы?», и многие пациенты отвечают утвердительно в отличие от лиц, страдающих другими неврологическими расстройствами.

Физикальное обследование также направлено на обнаружении патологического мышечного утомления. Для этого пациента просят выполнять повторные однообразные движения или удерживать конечности в фиксированном положении.

Птоз верхнего века — одно из наиболее часто встречающихся признаков миастении. Существует множество приемов, позволяющих тестировать состояние нервно-мышечной передачи по появлению птоза. *Тест Симпсона* прост в исполнении: пациента просят длительно фиксировать взгляд на неподвижной точке несколько выше линии горизонта. При этом при миастении наблюдается появление или нарастание ранее существовавшего птоза века.

Тест подергивания век Когана: пациента просят посмотреть вниз, а затем быстро перевести взгляд вверх. При этом у больного миастенией одно или даже оба века могут не достичь нужной позиции, далее они поднимаются и вновь немного опускаются в положение птоза.

Тест Тойка: если исходно пациент не имеет птоза, то провоцируют его также как в тесте Симпсона. Далее про-

сят пациента максимально сильно зажмурить глаза на 10–30 с и затем открыть их. Сразу после открывания глаз птоз исчезает, а затем вновь появляется спустя 10–30 с.

Если перечисленные выше тесты направлены на выявление недостаточности нервно-мышечной передачи, то тест с нарастающим птозом основан на вовлечении ЦНС. Этим тестом может обследоваться пациент, имеющий лишь односторонний птоз: врач поднимает веко на стороне птоза, при этом птоз может появиться с другой стороны. Причина появления симптома заключается в том, что центральные механизмы регуляции наружных мышц глаз стремятся компенсировать опускание век, и, согласно закону Геринга, эти усилия имеют двустороннее приложение. Когда исследователь поднимает веко на стороне птоза, то ЦНС получает сигнал для снижения компенсаторных усилий, что и приводит к возникновению птоза на противоположной стороне.

Тест с АХЭП в США и странах Евросоюза проводят с использованием внутривенного введения тензилон (*edrophonium chloridum*), однако в России этот препарат не зарегистрирован, следует отметить также, что эта фармакологическая проба не безопасна. Отечественные неврологи традиционно проводят пробу с прозерин (неостигмин). В последние годы некоторые врачи стали применять калимин (пиридостигмина бромид) или нейромидин (ипидакрин). Классически прозериновая проба проводится следующим образом: после исследования мышечной силы различных групп мышц пациенту подкожно вводят 1–3 мл 0,05% раствора прозерина в сочетании с 0,5 мл 0,1% раствора атропина. Результат оценивается через 30 мин: проводятся те же двигательные пробы, что и вначале, при этом подсчитывается число повторений, величина глазной щели, четкость артикуляции и др.

В некоторых случаях наибольший эффект возникает только через 1 ч даже при парентеральном введении АХЭП. При увеличении мышечной силы после назначения АХЭП пробу считают положительной. При этом сила

может увеличиться до нормальных значений (5 баллов) или увеличивается, но не достигает нормальных значений. Пробу считают отрицательной, если не произошло прироста мышечной силы. Отрицательная проба с АХЭП не исключает диагноза миастении, так как в некоторых случаях, особенно при тяжелой форме миастении, холинорецепторы заблокированы АХР, и повышение концентрации ацетилхолина при назначении АХЭП, ингибирующих АХЭ, не влияет на нервно-мышечную проводимость.

Нецелесообразно проводить прозериновую пробу у пациентов с тяжелыми проявлениями миастении, получающих АХЭП экстренно или в плановом порядке. Даже небольшая дополнительная доза препарата при этом может спровоцировать развитие смешанного миастенического криза. Нами наблюдалась такая пациентка, у которой на фоне декомпенсации миастении с появлением грубой бульбарной симптоматики на фоне недостаточной компенсации АХЭП в другом медицинском учреждении были введены 2 мл 0,05% раствор прозерина. Нарастания мышечной силы у пациентки отмечено не было, в то же время в течение получаса возникли выраженное нарушение дыхательной функции, гиперсаливация, брадикардия и другие признаки смешанного криза. Она была экстренно доставлена в нейрореанимационное отделение МОНКИ, но, несмотря на подключение ИВЛ, произошло присоединение синдрома полиорганной недостаточности, что привело к летальному исходу.

Возможно проведение пробы с АХЭП с пероральными препаратами (прозерин, нейромидин, калимин), однако достоверность пробы снижается. Желательно, чтобы пациент принимал АХЭП не натошак, иначе возможно появление болей, другие побочные действия препарата. Следующее измерение мышечной силы проводят через 1 ч после приема АХЭП внутрь.

Тест со льдом бывает положителен у большинства пациентов с миастенией, но наиболее показателен при наличии птоза при глазной миастении (Letchavanaku A.

et al., 2001). Тест основан на улучшении нервно-мышечной передачи при снижении температуры мышц. В течение 2 мин на веки прикладывают лед. При миастении глазная щель увеличивается на 2 мм и более в отличие от других неврологических заболеваний, при которых также наблюдается птоз век.

Электронейромиографическое исследование (ЭНМГ) занимает важное место в диагностике миастении. Методика позволяет выявить нарушение нервно-мышечной передачи и исключить неврологические синдромы, мимикрирующие под миастению. Проводят исследование только тех мышц, в которых обнаруживается патологическая утомляемость, поскольку в клинически непораженных мышцах изменения, специфические для миастении, могут отсутствовать.

Основным методом диагностики является ритмическая электронейростимуляция с регистрацией последовательных мышечных ответов (М-ответов). Проводят стимуляционную ЭНМГ электрическими импульсами с частотой 3–5 имп./с. В нормальных условиях в ответ на супрамаксимальный стимул происходит сокращение всех мышечных волокон обследуемой мышцы. При нарушении нервно-мышечной передачи на каждый последующий стимул отвечает все меньшее число мышечных волокон, вследствие чего и возникает феномен декремента — снижения амплитуды и уменьшение площади под кривой последующих М-ответов (рис. 2.5). Декремент может составить 20–30% и более, причем декремент М-ответа можно зарегистрировать только в пораженных мышцах. Поэтому при глазной миастении информативным будет обследование лишь круговой мышцы глаза (*m. orbicularis oculi*), иннервируемой лицевым нервом. Иногда, когда у больного имеется только двоение в глазах, обусловленное поражением наружных глазных мышц, декремент М-ответа может не выявляться. В некоторых случаях у больных с птозом век также не удастся выявить декремент, так как поднятие века обеспечивает мышца, поднимающая верх-

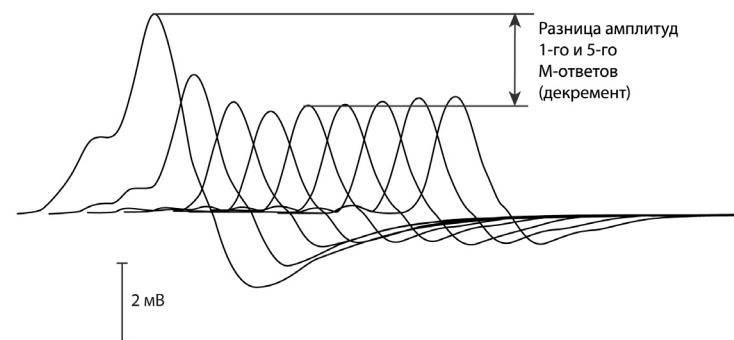


Рис. 2.5. Миастеническая проба. При стимуляции с частотой 3 Гц измеряется амплитуда 1-го и 5-го М-ответов. Разница амплитуд в процентах является отражением степени миастенического блока (декремент)

нее веко (*m. levator palpebrae superior*), иннервируемая глазодвигательным нервом. Провести исследование ЭНМГ этой мышцы технически очень сложно. Однако у больных миастенией вне периода ремиссии декремент М-ответа, как правило, выявляют, что важно для подтверждения диагноза. Во время ремиссии декремент М-ответа может не выявляться, но это не исключает диагноза миастении.

Выраженность декремента возрастает при увеличении частоты стимулов до 10 имп./с, но при больших частотах стимуляции возможно увеличение амплитуд последующих М-ответов — феномен потенциации, при этом в здоровых мышцах инкремент М-ответа может достигать 50% при частотах стимуляции 10–50 имп./с. Феномен потенциации может быть обусловлен увеличением числа стимулируемых волокон нерва, увеличением амплитуды ПД отдельных мышечных волокон или временной суммацией отдельных ПД.

Для регистрации используются накожные электроды, поскольку игольчатый электрод не может быть зафиксирован в одной точке ритмически сокращающейся мышцы, а также может ее травмировать. Желательно фиксировать

конечность для предупреждения движения в суставах. При минимально выраженных нарушениях нагревание мышцы до 34–36 °С повышает чувствительность исследования.

В здоровой мышце декремент М-ответа при частоте стимуляции 3–5 имп./с может достигать 8%, поэтому декремент 10% и более следует считать патологическим.

Наиболее частыми техническими ошибками при выполнении исследования ЭНМГ являются:

- неправильное крепление регистрирующих электродов, вследствие чего меняется форма М-ответа;
- подача не супрамаксимального раздражения. Супрамаксимальный стимул на 15–25% превышает по мощности максимальный, т.е. тот, при котором достигается самый большой по амплитуде М-ответ. Это позволяет вовлечь в процесс проведения электрического стимула все двигательные волокна нерва;
- изменение температуры мышц в процессе обследования: согревание увеличивает декремент, охлаждение его уменьшает.

Для исключения технических ошибок при выполнении стимуляционных тестов следует выполнять простые правила контроля:

- после проведения первой стимуляции и определения уровня декремента следует сделать перерыв на несколько минут, а затем вновь выполнить стимуляцию, при этом декремент должен быть таким же;
- все мышечные ответы в серии должны быть одинаковой формы, не должно быть внезапного или нерегулярного изменения размеров (амплитуды, длительности, площади под кривой).

Для уточнения диагноза возможно исследование феноменов посттетанического облегчения и истощения. После первичного исследования декремента осуществляется стимуляция с частотой 30–50 имп./с в течение 10–30 с. В первые секунды после этого амплитуда М-ответов возрастает, а декремент уменьшается, вследствие того, что

каждый импульс вызывает высвобождение большего количества АХ (феномен посттетанического облегчения). Спустя 2–5 мин возникает феномен посттетанического истощения — амплитуда М-ответов снижается, а величина декремента возрастает. Отметим, что высокочастотная стимуляция нерва вызывает выраженную боль, поэтому некоторые авторы предлагают заменять ее произвольным максимальным по силе мышечным сокращением длительностью 30 с.

Фармакологическая проба с подкожным введением 1–2 мл 0,05% раствора прозерина также повышает диагностическую ценность исследования ЭНМГ. После первичного обследования пациенту вводят лекарственный препарат и вновь повторяют исследование спустя 30–45 мин. При миастении наблюдается уменьшение выраженности декремента. Однако и парадоксальный ответ в виде увеличения декремента свидетельствует о нарушении нервно-мышечной передачи.

Среди *иммунологических методов* исследования наибольшую диагностическую значимость имеет выявление АХР. Этот тест имеет высокую специфичность и высокую чувствительность, которая, впрочем, зависит от формы заболевания. Так, при генерализованной форме чувствительность достигает 85–90%, в то время как при глазной форме только 50–60%. Несмотря на высокую специфичность метода, при синдроме Ламберта–Итона возможны ложноположительные результаты.

При негативном результате исследования крови на АХР возможно исследовать наличие антител к мышечно-специфической тирозинкиназе (АМСТК). Положительный результат обнаруживается у 40–50% пациентов, негативных по АХР. Большинство таких пациентов — молодые женщины, причем (по мнению некоторых авторов) у них часто обнаруживаются слабость лицевой и бульбарной мускулатуры, дыхательные нарушения, в то время как слабость мышц конечностей не выражена. Эффективность АХЭП у таких пациентов ниже, а применение глю-

кортикостероидных препаратов часто оказывается недостаточно эффективным. HLA-гаплотипы у пациентов с АХР и АМСТК различны, как, вероятно, патогенез. В частности, предполагается, что миастения с АМСТК не связана с патологией вилочковой железы (табл. 2.8).

Таблица 2.8

Сравнительная характеристика миастении, ассоциированной с АХР и АМСТК (A. Chaudhuri, P.O. Behan/Essex Centre for Neurological Sciences, Division of Clinical Neurosciences, University of Glasgow, Scotland, UK, 2009)

Клинические признаки	Миастения с АХР	Миастения с АМСТК
Паттерн мышечной слабости	Мышцы конечностей > бульбарная мускулатура Разгибатели шеи > сгибатели шеи Заметные птоз и слабость наружных мышц глаза	Бульбарная мускулатура > мышцы конечностей Сгибатели шеи > разгибатели шеи Птоз и слабость наружных мышц глаза могут отсутствовать
Мышечные атрофии	Атрофия мышц проксимальных отделов конечностей и наружных мышц глаза только в поздних стадиях болезни («миастеническая миопатия»)	Часто атрофия мышц лица и языка на ранних стадиях болезни
Патология вилочковой железы	Гиперплазия вилочковой железы – 65%. Тимома – 15%	Гиперплазия вилочковой железы – 10%
Риск повторных миастенических кризов	Низкий	Высокий

Визуализацию вилочковой железы методом МРТ или рентгеновской КТ средостения необходимо проводить всем больным миастенией после уточнения диагноза заболевания, поскольку даже при глазной форме миастении может выявляться тимома, при которой показана тимэктомия. Диффузная гиперплазия вилочковой железы также является показанием кТЭ.

2.2.8. Лечение миастении

Лечение миастении включает симптоматическое воздействие, направленное на купирование дефекта нервно-мышечной передачи (АХЭП, соли калия), патогенетическое действие – иммуносупрессия, хирургическое лечение и физические методы. Перечислим их.

Препараты для симптоматического лечения

1. Антихолинэстеразные препараты (прозерин, калимин, нейромидин, убретид, оксазил).
2. Соли калия (хлористый калий, калий-нормин, калипоз).

Патогенетическое лечение

1. Глюкокортикоидные препараты (преднизолон, метилпреднизолон).
2. Цитостатические препараты (азатиоприн, циклофосфан, циклоспорин).
3. Нормальный внутривенный иммуноглобулин человека.
4. Ритуксимаб.
5. Тимэктомия.
6. Плазмаферез.
7. Экстракорпоральная фотохимиотерапия.

Метод лечения и дозу препарата подбирают индивидуально в зависимости от формы миастении (глазная, генерализованная) и тяжести состояния. При лечении сопутствующих заболеваний следует учитывать влияние лекарственных средств различных фармакологических групп на течение миастении (табл. 2.9).

Антихолинэстеразные препараты. Во всех случаях, при установлении диагноза миастении и наличии у больного на момент осмотра мышечной слабости, нарушающей самообслуживание и снижающей качество жизни, назначают АХЭП. В зависимости от химической структуры и физико-химических свойств АХЭП разделяют на 2 группы:

- 1) АХЭП, способные проникать через биологические мембраны, в том числе через гематоэнцефалический

- барьер, а также оказывающие выраженное влияние на ЦНС — галантамин, физостигмин, нейромидин;
- 2) АХЭП, с трудом проникающие через гематоэнцефалический барьер — прозерин, калимин.

Таблица 2.9

Лекарственные препараты, усиливающие мышечную слабость при миастении

Класс препаратов	Пример
Антибиотики	Аминогликозиды (амикацин, гентамицин, стрептомицин). Макролиды (доксциклин, эритромицин, тетрациклин, окситетрациклин, азитромицин и др.). Фторхинолоны (ципрофлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин)
Противомалярийные средства	Хинин, хлорохин, гидроксихлорохин
Уроантисептики	Налидоксовая кислота
Противоэпилептические препараты	Фенитоин, карбамазепин
Нейролептики	Фенотиазин, сульпирид, атипичные нейролептики
β-блокаторы	Все, включая препараты местного назначения (глазные капли) и комбинированные α- и β-блокаторы (лабетолол)
Блокаторы кальциевых каналов	Верапамил, нифедипин
Антиаритмические препараты	Хинидин, прокаинамид
Мочегонные препараты — салуретики	Фуросемид, гипотиазид
Местные анестетики	Лидокаин
Миорелаксанты	Центральные миорелаксанты (баклофен, мидокалм, бензодиазепины длительного действия). Курареподобные миорелаксанты. Препараты ботулотоксина
Препараты магния	Магния сульфат, панангин (аспаркам)
D-пеницилламин	Купренил
Йодсодержащие рентгеноконтрастные препараты	Все

АХЭП противопоказаны при:

- эпилепсии;
- гиперкинезах;
- бронхиальной астме;
- ИБС, стенокардии напряжения;
- выраженном атеросклерозе.

Если назначение АХЭП необходимо по жизненным показаниям, то для предотвращения нежелательных побочных явлений усиливают терапию тех заболеваний, на течение которых неблагоприятно влияют АХЭП.

Прозерин действует 2–3 ч (до 4 ч). Эффект одной таблетки препарата соответствует действию 1 ампулы (1 мл).

Калимин. АХЭП обратимого действия. По химическому строению и действию близок к прозерину, но несколько активнее. Калимин применяют в более высоких дозах, его действие более продолжительно (6–8 ч).

Нейромидин (ипидакрин). Антихолинэстеразное действие нейромидина очень кратковременное (20–30 мин). Эффект препарата в течение 2 ч обусловлен блокадой калиевых каналов. Продолжительность действия как у прозерина.

Убретид в основном используют при атонии кишечника и мочевых путей, при миастении, как правило, не эффективен. При приеме внутрь действие начинается не ранее 2–4 ч после приема, максимальный эффект — через 6–8 ч, продолжительность действия — 24 ч. При внутримышечном введении препарат начинает действовать через 1 ч, повторную инъекцию назначают не ранее, чем через 24 ч. Действие препарата может длиться до 72 ч, поэтому убретид можно назначать 1 раз в 3 дня.

В табл. 2.10 представлена продолжительность действия АХЭП, которую надо учитывать для предотвращения развития холинергического криза.

Подчеркнем, что назначение АХЭП, как бы ни было оно эффективно в отношении клинических симптомов миастении, никакого воздействия на патогенез заболева-

Таблица 2.10

Антихолинэстеразные препараты

Препарат	Форма выпуска		Продолжительность действия, ч	Способ введения			
	таблетки	ампулы		внутри	п/к	в/м	в/в
Прозерин	0,015	0,05% 1,0	2-3	+	+	+	+
Калимин (пиридостигмина бромид, местинон)	0,06	0,5% 1,0	6-8	+	+	+	+
Нейромидин (ипидакрин)	0,02	1,5% 1,0 0,5% 1,0	2-3	+	+	+	+
Аксамон (ипидакрин)	0,02	1,5% 1,0 0,5% 1,0	2-3	+			
Убретид (дистипгин)	0,005	0,05% 1,0	24-72	+		+	

Примечание: п/к – подкожно, в/м – внутримышечно, в/в – внутривенно.

ния не оказывает. Цели у врача и пациента при назначении АХЭП различны.

Пациент стремится достичь полной компенсации двигательного дефекта и поэтому иногда самостоятельно увеличивает дозу назначенного препарата, что может вызвать ухудшение течения заболевания (это необходимо ему настойчиво разъяснить!).

Врач, назначая АХЭП, пытается достичь такого уровня компенсации миастенического дефекта у пациента, который позволил бы пациенту выполнять процедуры самообслуживания, питаться, передвигаться в тот период, когда патогенетические методы лечения еще не оказали своего действия на двигательную систему или оказывают недостаточное действие.

Попытки достичь полной компенсации миастенического дефекта лишь применением АХЭП оказываются эффективными только при относительно легком неосложненном течении заболевания в первые годы его развития, в других же случаях они несостоятельны.

Мы неоднократно наблюдали пациентов, которые в преддверии важного события (публичное выступление, длительная поездка и др.) самостоятельно увеличивали дозу АХЭП. В ряде случаев это приводило к снижению эффективности последующей терапии АХЭП, декомпенсации миастений.

Соли калия. Учитывая нарушение функции калиевых каналов при миастении, роль ионов калия в синаптической передаче и генерации мышечного сокращения, больным миастенией показано назначение препаратов калия. *Хлористый калий* назначают в виде порошка по 1 г 3 раза в день (до 6–9 г/сут). Недостатком препарата является его раздражающее действие на слизистую оболочку полости рта и желудка. Поэтому рекомендуют прием порошка во время еды, запивая молоком. При миастеническом кризе хлорид калия вводят внутривенно 50–70 мл 4% раствора в 400 мл 5% раствора глюкозы со скоростью 20–30 кап./мин. Введение чистого раствора сопровожда-

ется болевыми ощущениями и чревато флебитом. *Калипоз* принимают в внутрь. Одна таблетка содержит 0,75 г калия, покрыта кишечнорастворимой оболочкой. *Калий-нормин* назначают по 1 таб. (1 г хлористого калия) 3 раза в сутки (до 6–8 таб.).

Рекомендуется осуществлять регулярный контроль уровня калия в плазме крови, особенно при усилении миастенического дефекта, причиной которого может быть гипокалиемия. Отметим, что минеральные соли калия усваиваются в кишечнике значительно хуже, чем органические, поэтому следует рекомендовать пациенту продукты питания, обогащенные органическими солями калия: мясо, мясные бульоны, абрикосы, курага, виноград, изюм и пр. Мы неоднократно наблюдали, как больные миастенией, начавшие принимать такие продукты, значительно увеличивали повседневную двигательную активность без наращивания дозы АХЭП.

Нецелесообразно с целью коррекции гипокалиемии назначать больным миастенией препараты, содержащие наряду с ионами калия и ионы магния, которые усиливают миастенический дефект: панангин (аспаркам) и пр.

Для повышения уровня калия в крови пациентам иногда назначается верошпирон 25–75 мг/сут. Добавление приема верошпилона к лечению АХЭП существенно повышает эффективность терапии. Следует помнить, что у мужчин при длительном применении препарат может вызвать гинекомастию и эректильную дисфункцию, у женщин — нарушения менструального цикла.

Глюкокортикоидные препараты. При назначении глюкокортикоидных препаратов учитывается их активность по отношению к преднизолону (табл. 2.11), а также соотношение активности препарата, принимаемого внутрь и парентерально (примерно 5:1). Самым активным препаратом глюкокортикоидов является дексаметазон, он в 7–10 раз активнее преднизолона. Преднизолон и метилпреднизолон (метипред, солумедрол, медрол и др.) близки по своей активности. Гидрокортизон, препарат природно-

го происхождения, в 3–4 раза, а кортизон — в 4–5 раз менее активен, чем преднизолон. При этом следует помнить: 1 таб. преднизолона (5 мг) обладает такой же биологической активностью, как 1 таб. метилпреднизолона (4 мг) или 1 таб. кортизона (25 мг). Преднизолон и метилпреднизолон — глюкокортикоиды со средней длительностью действия, период их полувыведения в плазме составляет 18–36 ч. Дексаметазон и его аналоги (триамцинолон) — длительно действующие глюкокортикоиды с периодом полувыведения в плазме от 48 до 72 ч. Эти препараты непригодны для проведения циркадной (альтернирующей) терапии, и у больных миастенией могут вызвать ухудшение состояния.

Таблица 2.11

Глюкокортикоидные препараты

Препарат	Форма выпуска		Путь введения препарата	Соотношение активности по отношению к преднизолону
	таблетки, г	раствор в ампулах, г		
Преднизолон	0,005		внутри	—
	—	0,030 0,025	в/в в/м	—
Метилпреднизолон	0,004		внутри	—
	—	0,250 0,08 0,04	в/в в/м	0,8:1
Гидрокортизон	—	0,5	в/в в/м	3–4:1

Для парентерального введения в большинстве случаев используют раствор метилпреднизолона, поскольку активность и длительность действия парентеральных форм других препаратов несравненно ниже таблетированных.

Соотношение доз кортикостероидных препаратов в таблетированной и ампулированной формах важно учитывать при переходе от перорального приема препарата к его парентеральному введению при развитии миастенического криза и переводе больного на ИВЛ.

Преднизолон перорально (5 мг в таблетках) назначают в дозе 1–1,5–2,0 мг/кг через день в утренние часы (до 10 ч утра). При достижении максимального эффекта препарат принимают еще 2 нед. и затем каждые 3 дня уменьшают дозу на $1/2$ таб. до минимально эффективной. При назначении метилпреднизолона (4 мг в таблетках) дозировка составляет такое же количество таблеток препарата, как и преднизолона.

Осложнениями кортикостероидной терапии являются язва желудка или двенадцатиперстной кишки, артериальная гипертензия, сахарный диабет, остеопороз, ятрогенный синдром Кушинга, атрофия коры надпочечников и надпочечниковая недостаточность после прекращения терапии глюкокортикоидами.

При назначении глюкокортикоидов внутрь обязательно следует назначать ощелачивающие препараты (фосфалюгель), прием которых предшествует приему преднизолона, а также блокаторы ионной помпы (ранитидин). Использование альмагеля нежелательно, так как в его состав входит магний, усиливающий мышечную слабость у больных миастенией. Подчеркнем, что ulcerогенное действие глюкокортикоидов оказывается как на местном, так и на системном уровне, поэтому тщательный сбор анамнеза, осмотр гастроэнтеролога, гастроскопия должны предшествовать старту глюкокортикоидной терапии у любого пациента.

Для предупреждения развития сахарного диабета при длительной глюкокортикоидной терапии рекомендуется назначить пациенту диету с ограниченной калорийностью, исключить легкоусваиваемые углеводы (сахар, рис, мучные изделия). Также необходим регулярный контроль уровня глюкозы крови.

Предупредить развитие артериальной гипертонии может отчасти диета, включающая продукты, богатые калием, с ограничением поваренной соли и жидкости.

Назначение глюкокортикоидов по циркадной (т.е. в утренние часы) альтернирующей (через день) схеме

уменьшает риск развития побочных действий препаратов, развития синдрома Кушинга и атрофии коры надпочечников.

Отмечено, что иногда развитие кризов при миастении совпадает с проведением пульс-терапии или началом приема высоких доз преднизолона. Вероятно, это связано с прямым действием глюкокортикоидов на процессы нервно-мышечной передачи, что и вызывает ухудшение состояния больных.

Цитостатические препараты в настоящее время (за исключением азатиоприна) не имеют зафиксированных в инструкциях по применению показаний к назначению при миастении. Поэтому их использование off-label может осуществляться только после ознакомления пациента со всеми нюансами терапии и при подписании им информированного согласия на проведение лечения. Целесообразно также получение одобрения локальной этической структуры. Срок наступления эффекта от назначения препаратов циклоспорина и азатиоприна достаточно велик — не менее 4–8 нед., поэтому чаще в качестве стартовой терапии выбирают глюкокортикоиды, а после получения стойкого лечебного эффекта осуществляется переход на прием цитостатиков.

Циклофосфан назначают внутрь по 0,2 г через день или по 0,1 г ежедневно, внутримышечно — по 0,2–0,4 г ежедневно (или по 0,4 г через день) до курсовой дозы 6–8 г — 12–14 г на курс. Затем — 1 раз в 1–2 нед. по 0,2–0,4 г. Учитывая побочные действия препарата, необходимо не реже, чем 2–4 раза в месяц проводить исследование числа лейкоцитов и тромбоцитов крови, уровни АЛТ и АСТ, общий анализ мочи.

Циклоспорин (сандиммун) назначают в начальной дозе 3 мг/кг, далее она увеличивается до 5–6 мг/кг при отсутствии токсических реакций. Обычно препарат назначают по 200 мг/сут в 2 приема в течение 6 мес. (3–5 мг/кг). Улучшение отмечается через 1–2 мес. от начала лечения и достигает максимума к 3–4 мес. Осуществляют контроль

за уровнями мочевины, креатинина и калия в сыворотке крови, АЛТ, АСТ, билирубина. При гиперкалиемии дозу хлористого калия снижают или его отменяют вообще. Возможно повышение артериального давления. Может появиться гиперплазия десен.

Азатиоприн (имуран) достаточно часто используют как альтернативу глюкокортикоидной терапии, назначают в дозе 1,5–2,0 мг/кг. Обычно начинают терапию с дозы 50 мг/сут, затем ее повышают на 50 мг в неделю до 100–200 мг/сут. После достижения клинического эффекта преднизолон отменяют. Осложнениями лечения азатиоприном являются лейкопения и тромбоцитопения, поэтому один раз в неделю исследуют общий анализ крови. Отменяют азатиоприн при возникновении или обострении интеркуррентных и инфекционных заболеваний.

Нормальный внутривенный иммуноглобулин человека применяют в высоких дозах при миастеническом кризе и в период обострения заболевания. Доза препарата составляет 400 мг/кг в течение 3–5 дней подряд. Приводим пример применения препарата нормального человеческого иммуноглобулина при недостаточной эффективности глюкокортикоидной терапии.

Больная В., 37 лет, поступила в неврологическое отделение МОНИКИ с жалобами на затруднение речи, гнусавость голоса, перхивание при еде. Заболела 17 лет назад, когда появилось двоение перед глазами. Лечение не получала. Через 7 лет был установлен диагноз миастения. Спустя 6 лет был отмечен эпизод ухудшения — затруднение дыхания, не могла говорить, речь была неразборчивой. В текущем году вновь отмечалось ухудшение, находилась в реанимационном отделении. Были проведены 5 сеансов плазмафереза с положительным эффектом, однако гнусавость и затруднение речи сохранялись. В связи с отсутствием полного восстановления поступила в неврологическое отделение МОНИКИ для проведения лечения нормальным внутривенным иммуноглобулином человека. Получала 30 мг преднизолона через день, калимин по 1 таб. 4 раза в сутки через 6 ч, калий-нормин по 1 таб. 4 раза в сутки.

При осмотре в отделении отмечалась гнусавость голоса. Сила мышц конечностей — 5 баллов. Могла присесть и встать 20 раз.

Сухожильные рефлексы живые, равномерные. Чувствительность не нарушена. В позе Ромберга устойчива. Пальце-носовую и пяточно-коленную пробы выполняла точно. Был установлен диагноз: генерализованная миастения с бульбарными нарушениями.

В условиях реанимационного отделения внутривенно капельно вводили нормальный внутривенный иммуноглобулин человека в дозе 400 мг сухого вещества на 1 кг массы тела в сутки, всего 3 введения на курс. Перед введением раствор довели до комнатной температуры. Инфузию проводили через отдельную систему для внутривенного введения, не смешивая иммуноглобулин с другими препаратами. Начальная скорость введения в течение 15 мин составила 15 капель (1 мл/мин). Затем в течение 15 мин 25 капель в минуту (1,5 мл/мин). В последующем скорость введения оставшейся части препарата была увеличена до 54 кап./мин (3 мл/мин). Осложнений и побочных явлений во время и после переливания не отмечено. В неврологическом статусе зарегистрирован регресс миастенического дефекта в виде восстановления звучности голоса. Больная выписана в удовлетворительном состоянии с рекомендациями приема преднизолона 30 мг ч/д, калимина по 1 таб. 4 раза в день, хлористого калия в порошках, суточная доза — 4,0.

Таким образом, у пациентки с генерализованной миастенией не был достигнут регресс неврологической симптоматики на фоне приема преднизолона. Присоединение терапии нормальным человеческим иммуноглобулином позволило улучшить результат терапии без наращивания дозы глюкокортикоидов. Следует подчеркнуть, что назначение препаратов нормального человеческого иммуноглобулина является не альтернативой, а дополнением базовой терапии миастении.

Ритуксимаб (Мабтера) представляет собой синтетические (генно-инженерные) химерные моноклональные антитела мыши/человека, обладающие специфичностью к CD20-антигену, обнаруживаемому на поверхности В-лимфоцитов. Ритуксимаб связывается с лимфоидными клетками тимуса, белой пульпы селезенки и большинством В-лимфоцитов периферической крови и лимфатических узлов. Препарат инициирует иммунологические процессы, вызывающие лизис В-лимфоцитов. Имеется опыт применения ритуксимаба у больных миастенией в дозе 375 мг на 1 м² площади тела еженедельно в течение месяца, при

этом отмечено улучшение как у пациентов с миастенией, обусловленной наличием АХР, так и АМСТК, которое длилось до 22 мес. (Kosmidis M.L., Dalakas M.C., 2010). Существует большое число описаний случаев применения препарата у отдельных больных с резистентностью к общепринятой терапии. Однако достаточно крупных исследований по этой проблеме не проводилось.

Тимэктомия проводится при генерализованной миастении при длительности заболевания до 5 лет и у больных с тимомой независимо от формы миастении.

Показания к операции при отсутствии опухоли вилочковой железы:

- 1) наличие генерализованной миастении средней тяжести или тяжелого течения;
- 2) прогрессирующее течение заболевания, требующее увеличения суточной дозы АХЭП;
- 3) развитие побочных эффектов АХЭП;
- 4) миастенические кризы в анамнезе.

Показания при опухоли вилочковой железы — абсолютные.

Результаты тимэктомии, выполненной в ранние сроки после установления диагноза миастении значительно лучше, а риск — меньше, чем при операции в отдаленном периоде.

Противопоказаниями к тимэктомии являются:

- 1) тяжелое состояние пациента, обусловленное миастеническим дефектом, когда все возможности консервативной терапии еще не исчерпаны (неадекватная предоперационная подготовка);
- 2) миастенический криз;
- 3) наличие тяжелых сопутствующих и конкурирующих заболеваний жизненно важных органов, если не удастся добиться их достаточной компенсации;
- 4) невозможность радикального удаления инвазивной опухоли;
- 5) воспалительные изменения в области предстоящего операционного поля;

- б) возраст больного 60 лет и старше при миастении без опухоли (Ветшев П.С. и соавт., 2004).

Плазмаферез — один из наиболее эффективных методов коррекции миастенических нарушений. Основан на механическом удалении плазмы крови вместе с иммуноглобулинами, в том числе и аутоантителами. Быстрое снижение титра АХР в крови приводит к восстановлению активности ХР, скорее не вследствие их отмывания от аутоантител, а в результате образования новых ХР. Плазмаферез, оказывая быстрый лечебный эффект (некоторые пациенты ощущают увеличение мышечной силы через 6–12 ч после первой процедуры), в то же время не обладает пролонгированным действием. В том случае, если другие методы иммуносупрессии (глюкокортикоиды, цитостатики) не подключаются во время курса плазмафереза или сразу после его окончания, эффект быстро исчерпывается — в течение 1–3 мес. Некоторые исследователи предполагают, что механическое удаление аутоантител даже способствует их более активной выработке в последующий период. Поэтому обменный плазмаферез следует проводить параллельно с глюкокортикоидной терапией. Обычно принято чередовать введение пульсовых доз метилпреднизолона и сеансы плазмафереза через день, а после окончания этого курса осуществлять переход на длительный пероральный прием глюкокортикоида.

Лечебный плазмаферез проводят при:

- тяжелом течении миастении, когда назначение глюкокортикоидов (цитостатиков) и АХЭП не приводит к необходимому уровню компенсации миастенического дефекта,
- подготовке к тимэктомии для снижения риска интра- и послеоперационных осложнений;
- миастеническом кризе, холинергическом кризе, смешанном кризе.

Существуют 2 метода проведения плазмафереза: дискретный, когда кровь у пациента извлекается порциями, а затем разделяется на клеточную взвесь (возвращаемую)

и плазму, и аппаратный, когда процессы извлечения крови и возврата клеточной массы происходят одновременно и непрерывно в течение процедуры. Многолетний опыт проведения плазмафереза в клиниках МОНКИ им. М.Ф. Владимирского подтвердил безопасность и хорошую переносимость как одного, так и другого способов проведения процедуры.

Условием результативности процедуры плазмафереза является единовременное удаление достаточного количества плазмы — 1,5–2 л за 1 сеанс, 4,5–6 л плазмы на курс. При такой тактике происходит достаточно массивное удаление иммуноглобулинов, в том числе и АХР, что сопровождается заметным нарастанием мышечной силы и уменьшением миастенического дефекта уже через несколько часов после первого сеанса. Но одновременно происходит удаление и важных для жизнедеятельности организма веществ — альбумина крови, электролитов и пр. Поэтому необходимо предварительное исследование уровня общего белка плазмы и альбумина у пациента до начала курса плазмафереза и мониторингирование этих показателей в течение курса лечения. Замена извлекаемой плазмы из расчета 1:1 осуществляется раствором альбумина, оксиэтилированного крахмала, кристаллоидов. Введение донорской плазмы с целью замещения недопустимо. Использование популярной в прошлом тактики удаления малых доз плазмы (300–500 мл за сеанс) не только не эффективно, но может привести к ухудшению течения заболевания.

Отмечено, что ежедневная и альтернативная схемы проведения обменного плазмафереза имеют одинаковую эффективность (Trikha I. et al., 2007).

После каждого сеанса необходимо парентеральное введение или прием внутрь препаратов калия. В тяжелых случаях после процедуры вводят около 30% от дозы глюкокортикоидного препарата, принимаемого в день проведения плазмафереза. Для предупреждения обострения заболевания после окончания курса плазмафереза пациен-

там, ранее не получавшим иммуносупрессивной терапии, назначают глюкокортикоиды.

Противопоказаниями к проведению плазмафереза являются сердечная недостаточность, септическое состояние, гипотензия. Не проводят плазмаферез при беременности, в странах Западной Европы не используют этот метод в педиатрической практике.

Приводим пример эффективного применения обменного плазмафереза при миастеническом кризе.

Больной М., 53 лет поступил в неврологическое отделение МОНКИ с жалобами на общую слабость, одышку, нарушение глотания, быструю утомляемость.

Заболел 3 года назад, когда появилась общая слабость. При проведении МРТ органов грудной клетки выявлено объемное образование в средостении, была проведена тимэктомия. При гистологическом исследовании определена инкапсулированная, преимущественно кортикальная тимома типа В. После оперативного вмешательства слабость сохранялась.

В связи с недостаточной эффективностью тимэктомии начата терапия глюкокортикоидами — назначен метипред в дозе 32 мг/сут через день в течение полугода. Спустя 4 месяца после отмены метипреда отмечено ухудшение состояния, нарастание слабости, появилась бульбарная симптоматика. Вновь назначен метипред по 16 мг через день внутрь, однако регресса бульбарного синдрома добиться не удалось. В сыворотке крови выявлена повышенная концентрация антител к рецепторам ацетилхолина (13,29 нмоль/л при норме не более 0,5 нмоль/л). Назначен прозерин, увеличена доза метипреда до 40 мг через день.

Через год уровень антител в сыворотке крови увеличился до 28,65 нмоль/л, при этом клинически отмечена ремиссия. Через месяц больной самостоятельно прекратил прием антихолинэстеразных препаратов и начал снижать дозу глюкокортикоидов. При снижении дозы метипреда до 8 мг/сут через день появились бульбарные нарушения, причем увеличение дозы метипреда до 24 мг/сут через день не дали улучшения. В связи с этим был госпитализирован в неврологическое отделение МОНКИ.

При поступлении отмечались дисфония, дисфагия, дизартрия, затруднение дыхания. Сила мышц конечностей — 4 балла. На 2-е сутки после поступления переведен в реанимационное отделение, где проводилась ИВЛ. Назначена пульс-терапия метипредом по

1000 мг через день (5 сеансов), хлористым калием 4% — 60,0 внутривенно. Проведен курс обменного плазмафереза (3 сеанса через день, в дни между введениями метипреда) с заменой по 1500 мл плазмы на 500 мл раствора 10% альбумина и 1000 мл растворов кристаллоидов на каждом сеансе. Доза АХЭП (калимин 1 таб. трижды в день) не менялась.

На фоне лечения состояние улучшилось: выросла мышечная сила в конечностях, улучшилось глотание, восстановилось самостоятельное дыхание через назотрахеальную трубку, которая позднее была удалена. После окончания курса плазмафереза и пульс-терапии метипредом была возобновлена пероральная терапия метилпреднизолоном в дозе 40 мг/сут через день, препаратами калия (хлористый калий 1,0 × 4 раза в день). На 10-й день был переведен в ЛПУ по месту жительства для продолжения лечения. Пациенту были даны рекомендации не изменять самостоятельно дозировку глюкокортикоида, постоянно принимать препараты калия, употреблять в пищу продукты, обогащенные солями калия, при нарастании мышечной слабости не увеличивать дозу АХЭП, а немедленно обращаться к врачу.

В данном примере представлено типичное поведение российского пациента с хроническим заболеванием: наступление ремиссии воспринимается им как выздоровление, после чего пациент без совета с врачом самостоятельно снижает дозу препарата, а при ухудшении состояния также самостоятельно дозу увеличивает. Это описание не только подтверждает низкую медицинскую грамотность пациента, но и указывает на необходимость тщательного разъяснения ему тактики лечения. В данном наблюдении продемонстрирована высокая эффективность обменного плазмафереза в лечении миастенического криза при своевременном начале терапии. Это наблюдение иллюстрирует также тот факт, что пульс-терапия и плазмаферез являются не альтернативными, а дополняющими друг друга методами лечения пациентов с миастеническим кризом.

Экстракорпоральная фотохимиотерапия (экстракорпоральное облучение ультрафиолетовыми лучами лимфоцитов крови) проводится при обострении миастении, неэффективности проводимого лечения. Улучшение длит-

ся в течение 4–8 мес. Не требуется введение донорской плазмы, поэтому не высок риск заражения передающимися через кровь вирусными инфекциями. Не требуется назначение глюкокортикоидов.

Лечение при миастеническом и холинергическом кризах. Ранее мы уже описали клинические особенности миастенического и холинергического кризов. В табл. 2.12 приводятся схемы их лечения.

Таблица 2.12

Лечение миастенического и холинергического кризов

Холинергический криз	Миастенический криз
Полная отмена АХЭП	Введение АХЭП в сниженной дозе или полная отмена. Не увеличивать дозу!
Атропин 0,1% раствор 0,5–1,0 мл подкожно до появления сухости во рту	Глюкокортикоидные препараты: метилпреднизолон — 500–1000 мг внутривенно капельно или преднизолон 1 мг/кг/сут через зонд
ИВЛ	
Плазмаферез	

Наибольшее влияние на результативность лечения миастенического криза имеет раннее распознавание слабости дыхательных мышц. Развитие дыхательных нарушений при миастении, вызванной АХР, начинается со слабости межреберных мышц, далее присоединяется паралич вспомогательной мускулатуры, последней слабость захватывает диафрагму. При миастении, обусловленной АМСТК, слабость дыхательных мышц присоединяется к бульбарному параличу. При этой форме миастении назначение глюкокортикоидов может усилить дыхательные нарушения, прогностическими признаками, указывающими на такой эффект стероидов являются пожилой возраст и наличие бульбарной симптоматики (Вае J.S. et al., 2006).

Поскольку наибольшую угрозу жизни больного миастенией представляет дыхательная недостаточность, то появление ее клинических признаков служит показанием

к вспомогательной дыхательной терапии. Признак, указывающий на необходимость подключения ИВЛ, — снижение жизненной емкости легких ниже 20 мл/кг (Mehta S., 2006). Клиническими признаками, указывающими на приближение дыхательного паралича, служат неспособность удерживать голову вследствие слабости мышц шеи и парадоксальное дыхание.

Во время миастенического криза проводят внутривенную пульс-терапию глюкокортикоидами из расчета 15–25 мг преднизолона (метилпреднизолона) на 1 кг массы тела. Обычно вводят метилпреднизолон внутривенно капельно три дня подряд по 1000 мг. После каждого введения следует внутривенно назначать хлористый калий, поскольку преднизолон способствует снижению уровня калия в крови. При плохой переносимости метилпреднизолона, следует назначить его вливания через день:

- 1-й день лечения — в/в вводят 500 мг метилпреднизолона;
- 2-й день — преднизолон (метилпреднизолон) внутрь в дозе 1–1,2–1,5 мг/кг;
- 3-й день — в/в 1000 мг метипреда;
- 4-й день — преднизолон (метилпреднизолон) внутрь;
- 5-й день — в/в 1000 мг метипреда;
- 6-й день лечения и далее по четным дням — преднизолон (метилпреднизолон) внутрь.

Возможно назначение преднизолона внутрь ежедневно: каждый 1-й день в дозе 1–1,2–1,5 мг/кг, каждый 2-й день — $\frac{1}{2}$ дозы. Снижение дозы преднизолона проводят по 5 мг в день приема меньшей дозы (постепенный переход на прием препарата через день), и затем оставшуюся дозу преднизолона снижают на 5 мг в каждый прием (т.е. через день) до 60 мг, далее — на 2,5 мг в 2 нед. С 30 мг дозу преднизолона снижают на 2,5 мг в 2 нед. или 1 мес. Если больной находится на ИВЛ, дозу преднизолона не снижают, так как это может ухудшить его состояние.

Во время миастенического криза преднизолон можно давать внутрь в дозе до 5 мг/кг детям, лицам среднего возраста — в меньшей дозе (1–3 мг/кг), пожилым — 1–1,5 мг/кг. При отсутствии спонтанного глотания в условиях реанимационного отделения используют зонд. Таблетки вводят в 2 приема равными порциями — в 6.00 и в 10.00 с пищей и антацидами.

Основными методами лечения при миастеническом кризе являются обменное переливание плазмы (плазмаферез) и внутривенное введение человеческого иммуноглобулина. A. Mandawat и соавт. (2010) проанализировали результаты лечения более 1500 больных с миастенией и миастеническим кризом в США в 2000–2005 гг. Авторы отметили, что число осложнений у пациентов с кризами было вдвое, а летальность — в 10 раз выше, чем вне криза. У пациентов, получавших лечение обменным переливанием плазмы осложнения отмечались в 30,06% случаев, в то время как у получавших лечение внутривенным введением человеческого иммуноглобулина — 14,79%. Основными осложнениями, приводящими к летальному исходу, были острая дыхательная недостаточность, нарушения сердечной деятельности и острая почечная недостаточность. Обнаружена отчетливая связь между возрастом пациентов и частотой возникновения осложнений. Авторы отметили, что кардиологические осложнения у пациентов, получающих лечение обменным переливанием плазмы, наблюдались чаще в 2 раза, острая почечная недостаточность — в 4 раза, системные инфекции — в 8, а тромботические осложнения — в 6 раз чаще, чем у лиц, получавших лечение внутривенным введением иммуноглобулина. Отмечено, что сроки пребывания в стационаре у получавших лечение обменным переливанием плазмы были больше, а стоимость лечения была в 1,6 раза выше. Это позволило авторам высказаться за предпочтение внутривенного введения иммуноглобулина, особенно у пожилых пациентов с сопутствующей соматической патологией. В нескольких

других сообщениях отмечен лучший результат восстановления функций после лечения обменом плазмы, однако число наблюдений было незначительным, а результаты недостоверными.

Рекомендуемая доза иммуноглобулина при лечении миастенического криза составляет 2 г/кг, однако рандомизированное двойное слепое исследование не показало преимущества дозы 2 г/кг над 1 г/кг (Gajdos P., 2005). Учитывая высокую эффективность, хорошую переносимость, простоту выполнения и доступность (в сравнении с плазмаферезом), внутривенное введение иммуноглобулина может быть рекомендовано как метод первой линии в лечении миастенического криза.

Вопрос применения АХЭП при миастеническом кризе невозможно решить однозначно. Следует подчеркнуть, что повышение дозы АХЭП при этом состоянии категорически противопоказано — это еще больше увеличивает риск кардиологических осложнений (сердечной аритмии и инфаркта миокарда). Известно, что повышение дозы АХЭП провоцирует коронарный вазоспазм и может привести к инфаркту миокарда (Comerci G. et al., 2005). Большие дозы АХЭП провоцируют гиперсаливацию и избыточную секрецию желудочного сока, что увеличивает риск аспирационной пневмонии.

Приведем протокол ведения пациентов с миастеническим кризом, который используют A. Chaudhuri и P.O. Ve-han (2010).

Общие методы

- Вспомогательная дыхательная терапия или ИВЛ.
- Отмена АХЭП и препаратов, влияющих на нервно-мышечную передачу (антибиотики, β-блокаторы и пр.).
- Мониторирование сердечной деятельности.
- Выявление и проведение лечения инфекционных осложнений.
- Профилактика тромбозов глубоких вен конечностей.

Специфическая терапия

- Обменное переливание плазмы (1–1,5 объема циркулирующей плазмы за каждый сеанс — 5 сеансов на курс).
- Альтернативный метод — внутривенное введение человеческого иммуноглобулина (0,4 г/кг/сут — 5 сеансов).
- Высокие дозы глюкокортикоидов (преднизолон 1 мг/кг/сут).

Авторы не обнаружили существенного отличия в эффективности пульс-терапии метилпреднизолоном и регулярного перорального приема преднизолона. Терапию глюкокортикоидами рекомендуется продолжить в течение нескольких месяцев после купирования криза, затем перевести на альтернативную иммуносупрессивную терапию (азатиоприн или циклоспорин).

Завершая раздел, посвященный лечению больных миастенией и миастеническим кризом, подчеркнем некоторые положения. Терапия АХЭП является только симптоматической, никак не влияет на течение заболевания, а безосновательное увеличение дозы АХЭП грозит развитием множества осложнений. Гипокалиемия снижает эффективность АХЭП, поэтому назначение препаратов калия является обязательным в комплексной терапии. Основным методом лечения миастении служит глюкокортикоидная терапия, препаратами второй очереди выбора — азатиоприн и циклоспорин. Для купирования миастенического криза показано применение обменного плазмафереза или внутривенное введение человеческого иммуноглобулина. Неэффективность данных методов лечения диктует поиск альтернативных подходов, в частности — использование ритуксимаба или циклофосфана. Всем больным миастенией необходимо исследование вилочковой железы, при показаниях — тимэктомия.

ГЛАВА 3

ВРОЖДЕННЫЕ МИАСТЕНИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Б.В. Агафонов, С.В. Котов, О.П. Сидорова

Врожденные миастенические синдромы (ВМС) — наследственные заболевания, характеризующиеся слабостью и патологической мышечной утомляемостью в результате нарушения нервно-мышечной проводимости, обусловленного дефектом нервно-мышечного окончания. ВМС — это фенокопии миастении, в основе которой лежит нарушение нервно-мышечной проводимости вследствие блокады АХР антителами к АХР.

Врожденные миастенические синдромы развиваются в результате дефектов пресинаптической, синаптической базальных пластин и постсинаптических белков. Пресинаптические ВМС связаны с дефектами, которые уменьшают высвобождение или ресинтез АХ. Показано, что дефекты ресинтеза АХ обусловлены мутациями гена, кодирующего белок АХЭ. Врожденные миастенические синдромы, связанные с дефектом базальной пластины, вызываются мутациями субъединицы коллагенового хвоста (CoIQ) АХЭ, которые не дают ей связываться с каталитическими субъединицами или встраиваться в синаптическую базальную пластину. Большая часть постсинаптических ВМС определена мутациями субъединиц АХР,

что приводит к изменению кинетических свойств или уменьшению экспрессии АХР. Кинетические мутации усиливают или ослабляют синаптический ответ на АХ, в результате чего возникают соответственно медленно- и быстроканальные синдромы.

За последнее десятилетие произошел значительный прогресс в диагностике ВМС, в раскрытии их патогенеза на молекулярном уровне и в использовании систем экспрессии АХР млекопитающих для расшифровки того, как найденные мутации белков, связанные с концевой пластиной, дезорганизуют нервно-мышечную передачу. Изучение всех идентифицированных ВМС сопровождалось тщательными клиническими исследованиями. Эти наблюдения часто проводились вместе с наблюдениями *in vitro*: электрофизиологическим анализом нервно-мышечной передачи, записями электрического тока через единственный канал АХР и детальными исследованиями ультраструктуры и цитохимии концевой пластины. Во многих случаях предшествующие исследования указывали на генных или белковых кандидатов, ответственных за развитие болезни. Например, кинетическая аномалия АХР, обнаруженная на уровне его единичного канала, предполагает кинетические мутации субъединицы АХР; дефицит АХР на концевой пластине предполагает наличие мутаций в субъединицах АХР или рапсине; отсутствие АХЭ на концевой пластине свидетельствует о мутациях каталитической субъединицы или субъединицы коллагенового хвоста АХЭ; а наличие в анамнезе кратких эпизодов удушья, находящихся в зависимости от стимуляции пониженных электрических потенциалов и электрического тока на концевой пластине, связано с белками, участвующими в ресинтезе АХ или наполнении везикул. Исследование экспрессии АХР сразу за мутационным анализом не только предоставило доказательство патогенности, но и обеспечило подход к рациональной терапии, привело к точным структурно-функциональным корреляциям и выявило функционально значимые молекулярные домены, которые не смогли

обнаружить предыдущие систематические исследования мутаций.

3.1. Классификация врожденных миастенических синдромов

В 1995 г. на рабочем совещании Европейского нервно-мышечного центра была принята следующая классификация ВМС:

Тип I — аутосомно-рецессивный:

- a) семейная ранняя детская миастения;
- b) поясная конечностная миастения;
- c) дефицит АХЭ;
- d) дефицит рецептора АХ,

Тип II — аутосомно-доминантный:

- a) синдром медленного канала.

Тип III — спорадические случаи без семейного анамнеза, исключая миастению гравис.

Разработаны диагностические критерии врожденных миастенических синдромов (табл. 3.1).

ВМС типа I. Аутосомно-рецессивные *ВМС типа Ia (семейный ранний ВМС)*

Клинические критерии:

- Тип наследования аутосомно-рецессивный.
- Начало с непостоянного птоза и вовлечения бульбарной мускулатуры (слабый крик и нарушения сосания); возможно нарушение дыхания.
- Течение: в детстве симптомы заболевания от легкой степени тяжести до умеренно выраженной слабости, птоза и/или офтальмопареза (табл. 3.1). Возможны эпизоды ухудшения состояния обычно при повышении температуры тела и возбуждении, которые могут приводить к нарушению дыхания и аппоэ. В последующем миастенические симптомы становятся менее выраженными от легкой до средней степени тяжести утомляемости и слабости глазных, лицевых, бульбарных мышц и мышц конечностей.

- АХЭП обычно уменьшают клинические симптомы.
- Дополнительные симптомы: сухожильные рефлексы не изменены. Нет атрофий и симптомов миопатии.

Лабораторные критерии. Декремент при стимуляции мышцы с частотой 2–3 Гц. Феномен истощения при длительной или повторной стимуляции с частотой 2–3 Гц в течение 3 мин. ЭМГ единичного мышечного волокна изменена также, как и при аутоиммунной миастении, за исключением того, что «истощение» может быть в период пролонгированной активации или аксональной стимуляции.

Исключающие критерии.

1. Изменение сухожильных рефлексов или симптомы миопатии, атрофии.
2. Прогрессирование болезни.
3. Наличие антител к рецепторам АХ. Улучшение при плазмаферезе и иммуносупрессивной терапии.
4. Двойной сложный мышечный активный потенциал (СМАП) при стимуляции единичного мышечного волокна.

ВМС типа Ib (поясной конечностный ВМС)

Клинические критерии:

- Тип наследования аутосомно-рецессивный/спорадический.
- Начало: обычно в подростковом возрасте.
- Главный симптом — симметричная слабость и утомляемость мышц плечевого и тазового пояса.

Лабораторные критерии:

- Декремент при повторной стимуляции с частотой 2–3 Гц.
- Наличие тубулярной агрегации в мышцах при гистохимическом исследовании.

Исключающие критерии:

- Вовлечение глазных мышц.
- Двойной СМАП при стимуляции единичного мышечного волокна.

- Наличие антител к рецепторам АХ. Улучшение при плазмаферезе и иммуносупрессивной терапии.

ВМС типа Ic (дефицит АХЭ)

К л и н и ч е с к и е к р и т е р и и:

- Тип наследования аутосомно-рецессивный.
- Главные симптомы:
 - а) начало с рождения до 2 лет со слабости и утомляемости глазных, бульбарных и лицевых мышц;
 - б) избирательное вовлечение мышц туловища, приводящее к фиксированному сколиозу в более позднем возрасте;
 - в) медленная реакция зрачков на свет;
 - г) нечувствительность или ухудшение при назначении АХЭП.

Д о п о л н и т е л ь н ы е с и м п т о м ы: снижение сухожильных рефлексов.

Л а б о р а т о р н ы е к р и т е р и и:

- Декремент при повторной стимуляции нерва с частотой 2–3 Гц, не корректируемый прозеринном.
- Двойной СМАП при стимуляции единичного нерва.
- Дефицит АХЭ при гистохимическом и/или иммуноцитохимическом исследовании мышцы.

И с к л ю ч а ю щ и е к р и т е р и и:

- Уменьшение слабости и утомляемости при назначении АХЭП.
- Наличие антител к рецепторам АХ.
- Улучшение после плазмафереза и иммуносупрессивной терапии.

ВМС типа Id (дефицит АХР)

К л и н и ч е с к и е к р и т е р и и:

- Тип наследования, по-видимому, аутосомно-рецессивный, но более часто встречается у мужчин.
- Начало: с рождения до 2 лет с птоза, вовлечения бульбарной мускулатуры и от легкой до умеренной слабости и утомляемости. Нет явных периодов обострения.

- Течение: обычно доброкачественное, но устойчивое у взрослых. АХЭП, как правило, улучшают состояние. Нет атрофий и симптомов миопатии.

Л а б о р а т о р н ы е к р и т е р и и: окрашенная АХЭ удлинена, уменьшено число АХР.

И с к л ю ч а ю щ и е к р и т е р и и:

- Наличие антител к рецепторам АХ.
- Улучшение при плазмаферезе или иммуносупрессивной терапии.
- Второй СМАП на ЭМГ.

ВМС типа II (синдром медленного канала)

К л и н и ч е с к и е к р и т е р и и:

- Тип наследования аутосомно-доминантный с полной пенетрантностью и различной экспрессивностью гена болезни. Редко бывают спорадические случаи.
- Основные симптомы: возраст начала — разный со слабости и утомляемости тех или иных мышц различной степени тяжести. Прогрессирование постепенное или интермиттирующее (ступенчатое) с избирательным вовлечением краниальных и лопаточных мышц, разгибателей кисти и пальцев. Различное вовлечение лицевых, глазных и бульбарных мышц.

Д о п о л н и т е л ь н ы е с и м п т о м ы: слабость и утомляемость избирательно пораженных мышц; снижение сухожильных рефлексов.

Л а б о р а т о р н ы е к р и т е р и и:

- Двойной СМАП при стимуляции единичного нервного волокна.
- Декремент при стимуляции нерва в пораженной мышце с частотой 2–3 Гц.

И с к л ю ч а ю щ и е к р и т е р и и:

- Отсутствие 2-го СМАП на ЭМГ.
- Наличие антител к рецепторам АХ.
- Улучшение при плазмаферезе или иммуносупрессивной терапии.

Таблица 3.1

Дифференциально-диагностические признаки врожденных миастенических синдромов

Заболевание	Тип наследования	Возраст начала болезни	Симптомы	Течение	АХЭП	Сухожильные рефлексы	Двойной СМАП на ЭМГ	Тубулярная агрегация (световая микроскопия)	Дефицит АХЭ (ферментный, гистохимический и/или иммунохимический метод)	АХР
Ia	а-р.	До 1-го года	Птоз век, бульбарные нарушения (слабый крик, нарушения сания, дыхания)	Эпизоды ухудшения и улучшения	+	Живые	-	-	Нет	Нормальные
Ib	а-р.	От 6 до 10 лет	Поражение плечевого и тазового пояса. Отсутствует офтальмоплегия	Ухудшение на жаре	Частично	Живые или снижены	-	+	Нет	Нормальные
Ic	а-р.	До 2 лет	Снижен зрачковый рефлекс на свет. Глазодвигательные, бульбарные нарушения. Поражение мышц туловища. Сколиоз	Ухудшение. Развитие сколиоза на поздней стадии болезни	Ухудшение	Снижены	+	-	Есть	Нормальные

Заболевание	Тип наследования	Возраст начала болезни	Симптомы	Течение	АХЭП	Сухожильные рефлексы	Двойной СМАП на ЭМГ	Тубулярная агрегация (световая микроскопия)	Дефицит АХЭ (ферментный, гистохимический и/или иммунохимический метод)	АХР
Id	а-р.	До 2 лет	Птоз век, бульбарные нарушения, мышечная слабость	Без ухудшения	+	Живые	-	-	Аномально удлиненной АХЭ АХР	Уменьшено число
IIa	а-д.	В любом возрасте	Поражаются различные мышцы: краниальные, лопаточные, мышцы конечностей, разгибателей пальцев рук, глазные, бульбарные	Прогрессирование болезни	- (+ иногда)	Снижены	+	-	Нет	Нормальные

Примечание: а-р. — аутосомно-рецессивный; а-д. — аутосомно-доминантный.

ВМС типа III

В данную группу включаются все больные с мышечной слабостью и утомляемостью (локальной или генерализованной) с началом до 12 лет и нарушением нервно-мышечной передачи.

И с к л ю ч а ю щ и е к р и т е р и и:

- Наличие антител к рецепторам АХ.
- Явные другие формы ВМС.
- Улучшение при плазмаферезе или иммуносупрессивной терапии или другие признаки аутоиммунной этиологии.

В 1999 г. на рабочем совещании Европейского нервно-мышечного центра была принята новая классификация ВМС.

I. Пресинаптический дефект.

1. Дефект ресинтеза/упаковки АХ (ВМС с эпизодами апноэ).
2. Недостаточно (малое количество) синаптических везикул.
3. Ламберта—Итона-подобный синдром.

II. Синаптический дефект.

Дефицит АХЭ концевой пластины.

III. Постсинаптический дефект.

1. Первичная кинетическая аномалия с/без дефицита АХР.
2. Первичный дефицит АХР с/без минимальной кинетической аномалии.
3. Миастенический синдром с дефицитом плектина.

IV. Неидентифицированные дефекты.

Эта классификация полезна, но является предварительной, так как вполне могут быть обнаружены дополнительные типы ВМС. Кроме того, при не полностью исследованных нарушениях, таких как конечностная поясная форма ВМС и ВМС, связанных с недоразвитием лицевого скелета у иранских евреев, локализация дефектов не была определена. Исключая медленно-канальный синдром, который наследуется по аутосомно-доминантному типу, все

остальные ВМС наследуются по аутосомно-рецессивному типу.

Обычно ВМС возникают вследствие дефектов пресинаптической и синаптической базальной пластины и постсинаптических белков, и существует несколько различных пресинаптических и постсинаптических ВМС. В табл. 3.2 представлено распределение больных ВМС в зависимости от локализации дефекта нервно-мышечного окончания (Engel A. et al., 2003).

Таблица 3.2

Частота различных форм ВМС, классифицированных на основе локализации дефектов нервно-мышечного окончания (Engel A. et al., 2003)

Локализация дефекта	Число случаев (n)
<i>Пресинаптические дефекты (8%)</i>	
Дефицит АХТ*	6
Недостаточность синаптических везикул и уменьшение выделения квантов	1
Дефекты, подобные таковым при синдроме Ламберта—Итона	1
Другие пресинаптические дефекты	4
<i>Синаптические дефекты, связанные с базальной пластиной (16%)</i>	
Дефицит АХЭ на концевой пластине*	26
<i>Постсинаптические дефекты (76%)</i>	
Кинетическая аномалия АХР с/без дефицита АХР*	45
(медленноканальные и быстроканальные синдромы)	
Дефицит АХР с/без малой кинетической аномалии*	83
Дефицит рапсина*	17
Дефицит плектина	1

* Генетические дефекты идентифицированы.

3.2. Клиническая характеристика врожденных миастенических синдромов

Для ВМС характерны следующие общие клинические симптомы (табл. 3.3).

Таблица 3.3

Клинические симптомы ВМС

Начало	В младенческом возрасте и раннем детстве.
	Позднее при синдроме медленного канала и при конечностно-поясной форме ВМС
Слабость	Глазных мышц, бульбарных, дыхательных, генерализованная.
	Разгибателей кисти, пальцев у больных с дефицитом АХЭ и синдромом медленного канала.
	Легкие глазные нарушения — при дефиците АХЭ, синдроме медленного канала.
	Замедление реакции зрачков на свет при дефиците АХЭ
Утомляемость	Флюктуация симптомов, особенно при миастении с апноэ
Эпизоды апноэ в детстве	При миастении с эпизодами апноэ, синдромах быстрого канала
Артрогрипоз	При быстросканиальных ВМС
Прогрессирование	Медленное с возрастом или у взрослых
Антитела к АХР	Нет
Прозеринровый тест	Часто положительный, отрицательный при дефиците АХЭ.
ЭМГ	Декремент М-ответа при стимуляции 2 Гц. Нет декремента при ВМС с эпизодами апноэ, когда отсутствуют симптомы болезни. Повторный СМАП при стимуляции единичного мышечного волокна у больных с дефицитом АХЭ, синдромом медленного канала и у больных миастенией с передозировкой (АХЭП). Декремент не корректируется АХЭП при дефиците АХЭ
Морфология	Нервно-мышечное соединение: 1) нет IgG или комплемента на нервно-мышечном окончании; 2) небольшая площадь концевой пластины (при дефиците АХЭ, синдроме медленного канала); 3) отсутствует окрашенная АХЭ (при дефиците АХЭ)
	Мышцы: 1) преобладают волокна I типа; 2) волокна II типа атрофичны

Лечение	АХЭП (нет эффекта при дефиците АХЭ). 3,4-Diaminopyridine — наибольший эффект при синдроме медленного канала. Хинидин (наиболее эффективен при синдроме медленного канала)
---------	---

3.2.1. Пресинаптические ВМС

В настоящее время описано 4 пресинаптических ВМС: 1) ВМС, связанные с эпизодическими апноэ, причиной которых являются дефекты АХТ; 2) ВМС с недостаточностью синаптических везикул и уменьшенным выделением квантов АХ; 3) ВМС, напоминающий синдром Ламберта—Итона; 4) ВМС с уменьшенным выделением АХ, вызванным неизвестным механизмом.

Врожденные миастенические синдромы с эпизодическим апноэ (ВМС, обусловленные дефектами АХТ, дефект ресинтеза или упаковки АХ, семейная младенческая миастения). Тип наследования аутосомно-рецессивный. Нарушается синтез белка АХТ в пресинаптическом нервном окончании, участвующего в образовании АХ. Продукция белка снижена или он вообще отсутствует. Страдает функция АХТ.

Клинические особенности этого заболевания были впервые описаны в 1960 г. М. Греер (M. Greer) и М. Скотланд (M. Schotland), а в 1975 г. Ж. Кономи (J. Conomy) и др. назвали его «семейной младенческой миастенией». Но поскольку все ВМС могут быть семейными и возникают чаще всего в младенчестве, этот термин неудачен и в настоящее время, учитывая неожиданные и внезапные эпизоды тяжелой одышки и бульбарной слабости с кульминацией в апноэ у больных, данный синдром называют ВМС с эпизодическим апноэ.

Заболевание начинается с рождения или в раннем детстве с респираторных нарушений или удушья, которые постепенно ослабевают, но сопровождается приступами удушья в более взрослом возрасте. У других пациентов, здоровых при рождении, развиваются приступы удушья и миастенические симптомы в период младенчества или

детства. Приступы удушья можно предотвратить или смягчить назначением АХЭП.

Клиническая картина заболевания характеризуется внезапными эпизодами тяжелых респираторных нарушений и бульбарной слабости, приводящих к удушью, усиливающемуся при инфекции, лихорадке, волнении, или же по неустановленной причине на фоне различных миастенических симптомов, проявляющихся между приступами удушья. У некоторых пациентов при рождении возникает мышечная гипотония и выраженная слабость бульбарных и дыхательных мышц, приводящая к необходимости ИВЛ. Постепенно состояние больных улучшается, но со временем опять возникают эпизоды апноэ и бульбарный паралич, усиливающиеся инфекцией, лихорадкой или возбуждением, или возникающие без видимой причины. После каждого эпизода ухудшения наступает частичное или полное восстановление. Между этими эпизодами у одних больных могут наблюдаться умеренно тяжелые или слабо выраженные симптомы заболевания, или же не наблюдаться вовсе. У других больных приступы апноэ появляются после рождения в период младенчества или детства. У некоторых детей после острых эпизодов апноэ возникает длительная дыхательная недостаточность, иногда в течении нескольких недель. Клинические симптомы variabelны. Отмечаются эпизоды слабости, быстрое обострение болезни. Сухожильные рефлексы не изменены. Фенотипическая гетерогенность может наблюдаться даже у родственников. Например, в одной семье 2 sibса внезапно умерли в возрасте 2 и 11 мес. во время приступа лихорадки; у одного не было симптомов заболевания, а у другого — слабые проявления птоза перед смертью. У третьего sibса начались острые приступы одышки и цианоза, нараставшие под влиянием лихорадки или вакцинации, или без видимой причины в возрасте 14 мес.; в возрасте 32 мес. у больного развился птоз и патологическая утомляемость при напряжении, что позволило диагностировать миастенический синдром. Обычно с возрастом наблюдается

улучшение симптоматики, однако в некоторых случаях может наступить внезапная смерть.

При электрофизиологическом исследовании выявляется декремент М-ответа при стимуляции с частотой 2 Гц и отклонения при ЭМГ единичного мышечного волокна. Эти изменения определяли только в случае слабости исследуемых мышц. Слабость и декремент М-ответа на стимуляцию с частотой 2 Гц можно вызвать в некоторых (но не всех) мышцах либо упражнениями, либо стимуляцией с частотой 10 Гц в течение 5–10 мин. Однако это не специфично для ВМС с эпизодами апноэ, поскольку может также возникать у некоторых больных ВМС с дефицитом АХЭ или АХР на концевой пластине.

Исследование концевой пластины. Число АХР в одной пластине и постсинаптическая ультраструктура не изменены, но размер синаптических пузырьков меньше нормы в отдохнувшей мышце и либо увеличивается, либо остается в норме после стимуляции.

Между приступами удушья декремент М-ответа при ЭМГ на стимуляцию в 2 Гц обычно отсутствует в отдохнувшей мышце, но появляется после стимуляции с частотой в 10 Гц в течение 5 мин. Синаптический ответ на АХ (измеряемый как амплитуда миниатюрного потенциала концевой пластины и потенциала концевой пластины) в расслабленной мышце не изменен, но уменьшается при 5-минутной стимуляции с частотой в 10 Гц и медленно восстанавливается в течение последующих 10–15 мин (рис. 3.1). В противоположность этому квантовое количество потенциалов концевой пластины существенно не меняется. 3,4-диаминопиридин, увеличивающий выделение АХ, усиливает дефект, в то время как раствор, содержащий Ca^{2+} в малой концентрации и Mg^{2+} в высокой концентрации и уменьшающий выделение АХ, предотвращает аномальное снижение ПКП. Уменьшение амплитуды во время стимуляции с частотой 10 Гц может наблюдаться и при других ВМС, но в этих случаях она возвращается к исходному уровню менее чем за 2 мин.

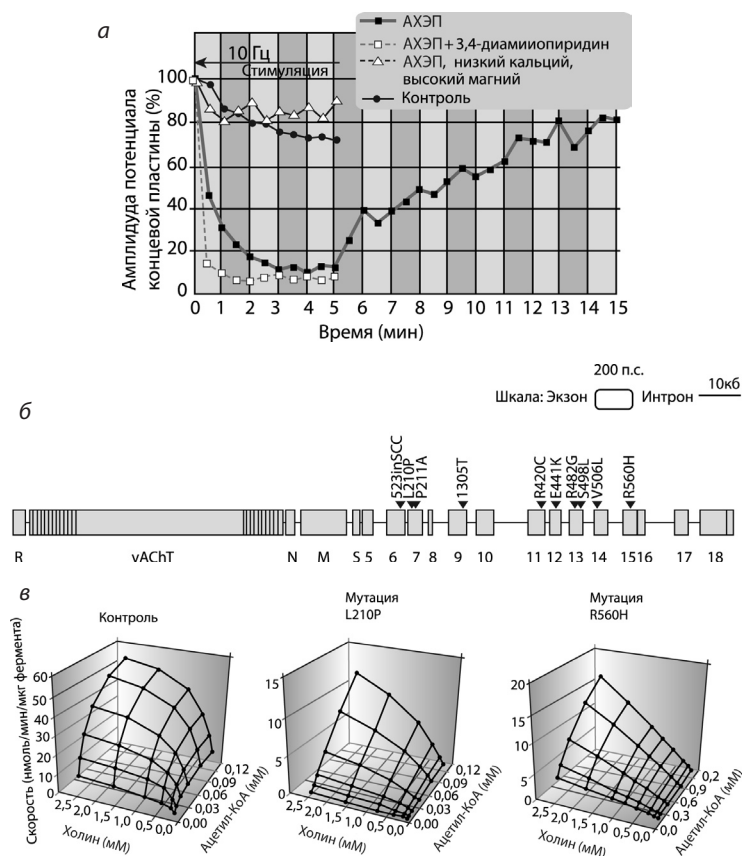


Рис. 3.1. Врожденный миастенический синдром с эпизодами апноэ (Engel A. et al., 2003):

a — амплитуда потенциала концевой пластины при стимуляции с частотой 10 Гц; *б* — структура гена АХТ и идентифицированных мутаций в нем; *в* — индивидуальные кинетические графики мутаций АХТ контрольной группы и у больных (L210P и R560H)

Тот факт, что амплитуды миниатюрного потенциала концевой пластины (МПКП) и ПКП уменьшаются с возрастанием воздействующей частоты, а затем медленно восстанавливаются, свидетельствует о нарушении процессов ресинтеза или везикулярной упаковки АХ, что указывает

на 4 молекулы, изменения в которых могут привести к развитию болезни: 1) пресинаптический высокоаффинный транспортер холина; 2) фермент АХТ, синтезирующий ацетилхолин; 3) везикулярный транспортер АХ (ВТАХ) и 4) везикулярный протонный насос.

Дефицит синаптических везикул и уменьшение выделения ацетилхолина. До настоящего времени был описан только один случай данной патологии. Заболевание началось с рождения, отмечалась слабость мимических, бульбарных мышц и мышц конечностей, птоз век, ограничение движений глазных яблок, утомляемость. На ЭМГ выявлен декремент М-ответа. Этот больной имел такие же ЭМГ- и клинические данные, как и больные миастенией, но были и отличия. Болезнь в первом случае выявлялась с рождения, отсутствовали АТАХР, не было дефицита АХР в концевой пластине и при электронной микроскопии не выявлено постсинаптических аномалий. На пресинаптический дефект указывало уменьшение количества АХ (m), высвобождаемого при нервном импульсе, до 20% от нормы. Уменьшение величины m было связано с уменьшением числа квантов, готовых к выделению (n), что, в свою очередь, было связано с уменьшением численной плотности синаптических пузырьков до 20% от нормального уровня на нестимулированных нервных окончаниях. Клиническая симптоматика уменьшалась после приема калимина.

Заболевание развивается из-за недостатка синаптических пузырьков в нервных окончаниях. Предшественники синаптических везикул, связанные с различным набором протеинов в везикулах, продуцируются в клетках передних рогов спинного мозга и транспортируются вдоль двигательного аксона к нервным окончаниям. Зрелые везикулы, содержащие полный комплект везикулярных протеинов, собираются в нервных окончаниях и затем наполняются АХ. После выделения АХ везикулярные мембраны повторяют цикл и снова наполняются АХ. При этом синдроме уменьшение плотности синаптических пузырьков может

возникать вследствие нарушения: 1) образования предшественников синаптических везикул в клетках передних рогов спинного мозга; 2) транспорта одного или более видов предшественников везикул вдоль аксона; 3) сбора зрелых синаптических пузырьков из их предшественников; 4) повторения цикла синаптических везикул на нервных окончаниях. Тот факт, что плотность синаптических везикул уменьшается даже в нестимулированных нервных окончаниях, свидетельствует об отсутствии нарушений в повторении везикулярного цикла.

Точный диагноз устанавливается на основании электронно-микроскопического изучения концевой пластины и электрофизиологического исследования параметров высвобождения АХ.

Врожденный миастенический синдром, напоминающий миастенический синдром Ламберта—Итона. Заболевание начинается в детском возрасте. Отмечают нарушение двигательного развития, мышечную гипотонию, бульбарные нарушения, умственную отсталость. При ЭМГ-исследовании выявляют декремент М-ответа при медленной стимуляции нерва и инкремент при быстрой стимуляции, небольшой первоначальный СМАП.

У одного ребенка с этим синдромом (Engel A. et al., 1987) амплитуда СМАП была уменьшена, но она в несколько раз возросла при тетанической стимуляции, и клинические симптомы заболевания уменьшались после приема гуанидина. У другой больной — 6-месячной девочки с тяжелой слабостью бульбарной мускулатуры и конечностей, гипотонией, арефлексией и нарушением дыхания с рождения — на ЭМГ была выявлена низкая амплитуда СМАП, которая возрастала на 500% при высокочастотной стимуляции и убывала на 40% при низкочастотной стимуляции. Исследования образца локтевой мышцы выявили отсутствие дефицита АХР на концевой пластине. При электронной микроскопии концевых пластин определены структурно интактные пресинаптические и постсинаптические участки и большое количество

синаптических везикул в нервных окончаниях. Миниатюрный потенциал на концевой пластине (МПКП) был нормальным для размера мышечного волокна. Квантовое содержание ПКП, m , было менее 10% от нормы при стимуляции с частотой 1 Гц, а при стимуляции с частотой 40 Гц величина m увеличилась на 300%. Так, полученные *in vitro* электрофизиологические данные очень напоминали миастенический синдром Ламберта—Итона. Улучшения на ЭМГ наблюдались при лечении 3,4-диаминопиридином, увеличивающим количество АХ, выделяемого при нервном импульсе, но у больной осталась слабость и нарушение дыхания.

Причиной этого ВМС может служить аномалия пресинаптического калиевого канала или компонентов комплекса высвобождения синаптических везикул.

Другие пресинаптические врожденные миастенические синдромы с уменьшенным выделением ацетилхолина при нервном импульсе. Р. Масели (R. Maselli) и соавт. (2001) опубликовали данные о трех спорадических случаях с симптомами миастении с началом заболевания у двух больных с младенческого возраста и у одного после 5 лет, без поражения наружных глазных мышц. У всех трех больных были другие неврологические симптомы, включающие атаксию туловища или конечностей и в одном случае горизонтальный нистагм. В отличие от больных с синдромом Ламберта—Итона, ни у одного из них не было уменьшения первоначального СМАП, и уменьшенный ответ на стимуляцию с частотой 2 Гц увеличивался при высокочастотной стимуляции. Также не было дефицита АХР на концевой пластине. При электронной микроскопии обнаружены нервные окончания нормального размера с нормальным числом синаптических везикул. Исследования *in vitro* с использованием микроэлектродов показали значительное уменьшение числа квантов АХ (m), высвобождаемых при стимуляции с частотой 1 Гц. У одного больного это было связано со значительно уменьшенной вероятностью выделения квантов АХ (p); у другого больного

наблюдалось < 50%, но все же значительное уменьшение величины *n*. Один из трех больных хорошо реагировал на комбинированное лечение с помощью калимина и 3,4-диаминопиридина, у одного наблюдалось лишь слабое улучшение под влиянием комбинированной терапии калимина и эфедрина, а у одного больного отсутствовала адекватная реакция на калимин.

3.2.2. Врожденные миастенические синдромы, связанные с патологией синаптической базальной пластины

Дефицит ацетилхолинэстеразы на концевой пластине. Эта форма ВМС развивается из-за дефицита АХЭ в синаптическом пространстве. Нарушается синтез белка коллагена хвостовой части АХЭ (ColQ).

Дефицит АХЭ на концевой пластине человека был впервые обнаружен в 1977 г. у 16-летнего юноши, у которого миастенические симптомы наблюдались в течение всей жизни и были устойчивы к АХЭП (Engel A. et al., 1982). У этого больного на концевой пластине отсутствовала АХЭ, о чем свидетельствовали данные цитохимии, иммуноцитохимии и электронной микроскопии.

Тип наследования — аутосомно-рецессивный. Заболевание начинается к 2 годам. У большинства пациентов болезнь проявляется в неонатальном периоде, вызывая выраженную слабость; у других она проявляется в детстве, приводя к инвалидности только на втором десятилетии жизни или позже. Отмечается диффузная слабость, нарушение дыхания, поражаются мимические, наружные глазные мышцы, проксимальные мышцы туловища и конечностей. Поражение симметричное. Сухожильные рефлексы снижены или нормальные. Отмечается замедленная реакция зрачков на свет. У более старших больных — сколиоз. При миссенс-мутации (*P59Q; D34E*) заболевание протекает достаточно легко, в то время как точковая мутация сопровождается тяжелым течением. Терапия неэффективна, так как нет ответа на АХЭП.

На ЭМГ выявляется декремент М-ответа, некорригуемый АХЭП. Определяется повторный СМАП на единичную стимуляцию нерва. В отсутствие АХЭ синаптический потенциал становится более продолжительным и вызывает повторный СМАП. СМАП возникает как следствие повторных присоединений АХ к АХР, что пролонгирует синаптический ответ. Стимуляция единичного нерва вызывает повторяющийся и затухающий СМАП.

Диагностика заболевания основывается на следующих показателях: 1) декремент М-ответа на ЭМГ; 2) повторный СМАП, имеющий меньшую амплитуду и снижающийся быстрее, чем первичный СМАП; 3) отсутствие влияния АХЭП на декремент М-ответа или клиническое состояние больного; и 4) слабая реакция зрачков на свет некоторых (но не всех) больных. Диагноз подтверждается отсутствием АХЭ на концевой пластине или выявлением мутаций в гене, кодирующем субъединицу коллагенового хвоста АХЭ концевой пластины.

При гистологическом исследовании концевой пластины определяется дефицит АХЭ в нервно-мышечном окончании, уменьшение пресинаптического окончания двигательного нерва, снижение числа АХР. Отсутствие АХЭ на концевых пластинках выявлено на основании гистохимических, иммунохимических и электронно-цитохимических исследований. При электронной микроскопии концевых пластин выявлено уменьшение пресинаптических окончаний, они часто окружены шванновскими клетками, уменьшающими количество АХ, высвобождаемого при нервном импульсе, возможно, для защиты постсинаптической области от чрезмерной стимуляции не гидролизированным АХ и перегрузки катионами. Несмотря на уменьшение количества АХ, складки нервно-мышечного соединения дегенерируют на некоторых концевых пластинках, приводя к потере АХР, а саркоплазма содержит ядра апоптоза и дегенерирующие органеллы мембран. Нервно-мышечная передача нарушается при уменьшении высвобождения АХ, при длительном контакте с АХ, при блоке деполяризации

в физиологических условиях стимуляции и миопатии концевых пластин, вызываемой катионной перегрузкой в постсинаптической области.

3.2.3. Постсинаптические врожденные миастенические синдромы

Медленноканальные синдромы. Этот синдром стал известен лишь 20 лет назад. У 5 больных выявлена избирательная слабость шейных и лопаточных мышц и разгибателей пальцев с умеренным офтальмопарезом и слабостью других мышц.

Медленноканальные синдромы наследуются по ауто-сомно-доминантному типу. Некоторые из них развиваются в раннем детстве и приводят к инвалидности уже в 10-летнем возрасте; другие возникают позже и медленно прогрессируют, приводя к небольшому снижению работоспособности к 60–70 годам. У большинства больных наблюдается поражение мышц шеи и разгибателей пальцев и кисти. Верхние конечности поражаются сильнее, чем нижние. В патологический процесс могут вовлекаться ???????. Могут поражаться также над- и подлопаточные, бульбарные, глазные и дыхательные мышцы. В большинстве случаев, кроме наиболее тяжелых, мышцы, иннервируемые черепно-мозговыми нервами, чаще всего интактны. Прогрессирующее искривление позвоночника и затрудненное дыхание являются нередким осложнением болезни. Отмечается медленное прогрессирование заболевания. Мышечная сила после приема АХЭП не увеличивается.

В основе заболевания лежит увеличение по времени периода открытия каналов АХР в присутствии АХ. АХ, всегда имеющийся в небольшом количестве в плазме крови, также открывает каналы и переводит их в спокойное, расслабленное состояние. Продленные эпизоды активности каналов вызывают более продолжительный ПКП, что вызывает появление повторных СМАП при нанесении одиночного стимула во время проведения ЭМГ. Ритмическая стимуляция единичного нерва приводит к ослабле-

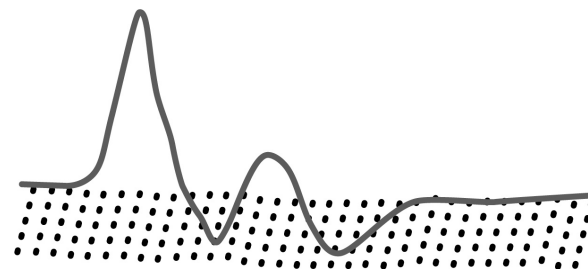


Рис. 3.2. Повторная стимуляция единичного нерва приводит к ослаблению М-ответа при медленноканальных синдромах. Повторные сложные мышечные активные потенциалы (СМАП) имеют меньшую амплитуду М-ответа

нию М-ответа. Повторные СМАП имеют меньшую амплитуду М-ответа (рис. 3.2).

Морфологические изменения в концевой пластине возникают из-за длительной активации канала АХР, приводящей к катионовой перегрузке в постсинаптической области. Избыточное накопление ионов Ca^{++} можно увидеть на некоторых концевых пластинах. Изменение концевой пластины (миопатия концевых пластин) сходно с таковым при дефиците АХЭ, но более выраженное, иногда с массивной дегенерацией постсинаптических складок, апоптозом ядер и дегенерацией вакуолей у концевых пластин. Уменьшается число АХР, расширяется синаптическое пространство.

При проведении микроэлектродных исследований *in vitro* выявлено значительное пролонгирование потенциалов на концевых пластинах. Одноканальные записи выявляют каналы двух видов на АХР, одни с нормальными, а другие с удлинненными периодами их открытия. Измененные каналы АХР открываются даже в отсутствие АХ. При этом возникает угроза утраты АХР в дегенерирующих складках синапса и блок деполяризации в процессе физиологической активности.

Быстроканальные синдромы. Название этих синдромов происходит от замедления синаптического ответа,

причиной которого является уменьшение времени открытия канала АХР. Это заболевание было впервые описано в 1993 г. О. Учайтел (O. Uchitel) и соавт. у больного с симптомами миастении средней степени тяжести, выявленными с рождения, которые частично реагировали на АХЭП. При исследовании концевых пластин нервно-мышечного окончания была выявлена нормальная его структура, отсутствие дефицита АХЭ и АХР, нормальное высвобождение АХ при нервном импульсе, но уменьшенные МПКП. Была выявлена нормальная проводимость канала АХР, но укорочение времени его открытия. Уменьшенный синаптический ответ при нормально наполненных АХ АХР указывал на уменьшение содержания АХ в синаптических пузырьках, повышенную активность АХЭ или аномалии в АХР. Морфометрический анализ показал, что синаптические пузырьки были нормального размера, что не подтверждало предположения об уменьшении содержания в них АХ, а повышенная активность АХЭ казалась маловероятной, так как синаптический ответ был скорее коротким, чем продолжительным, и АХЭП не полностью восстанавливали синаптический ответ. Следовательно, эти данные указывали на кинетический дефект АХЭ, когда открытие каналов было нарушено, а закрытие ускорено. Через 2 года, когда был обследован второй такой больной, исследование АХР концевых пластин нервно-мышечного окончания показало наличие аномально короткого времени открытия канала АХР.

Таким образом, при быстроканальных синдромах определяется постсинаптический дефект АХР; каналы открываются патологически быстро. В основе данного синдрома лежат 3 типа дефекта:

- 1) уменьшение сродства к АХР;
- 2) уменьшение по времени скорости открытия каналов плюс увеличение скорости их закрытия;
- 3) флюктуирующий способ переключения кинетических свойств канала между нормой и патологией.

Тип наследования аутосомно-рецессивный.

Заболевание начинается до 2-летнего возраста, отмечается генерализованная мышечная слабость. Возможны нарушения дыхания. Клиническая картина напоминает таковую при миастении, но симптомы болезни более мягкие, если пострадал только механизм «заслонки» каналов АХР, умеренно тяжелые, если кинетика каналов нестабильна, и тяжелые, если ослаблено сродство к АХ или же нарушено как сродство к АХ, так и эффективность работы заслонки каналов АХР. Мутация $\delta E59K$ во внеклеточном домене δ -субъединицы, уменьшающая сродство к АХ, является наиболее актуальной, так как приводит к врожденным контрактурам суставов из-за недостаточной подвижности зародыша в матке и развитию синдрома быстрого канала с артрогриппозом. Течение болезни доброкачественное.

Выделяют следующие формы быстроканальных синдромов:

- дефицит АХР и короткое время открытия канала: изменение кинетики способа переключения;
- нарушение взаимодействия «АХ – АХР»: низкий электрический потенциал, синдром быстрого канала;
- нарушение взаимодействия «АХ – АХР» быстрого канала из-за аномалии входа;
- синдром быстрого канала со снижением вероятности открытия канала АХР;
- синдром высокой проводимости и быстрого закрытия АХР;
- синдром быстрого канала с артрогриппозом.

При быстроканальных синдромах с низким сродством к АХ, вызванных мутацией $\epsilon P121L$ во внеклеточном домене ϵ -субъединицы, морфология концевой пластины и экспрессия АХР не изменены. При ВМС с ослабленной эффективностью механизма заслонки, вызванной мутацией $\alpha V285I$ в ТМД3-доменах α -субъединицы, а также при ВМС с нестабильной кинетикой каналов, вызванной внедрением 18 пар оснований ($\epsilon 1254ins18$) в длинную цитоплазматическую петлю ϵ -субъединицы, экспрессия АХР уменьшена. При этих ВМС некоторые постсинаптические

участки упрощены и экспрессия АХР на складках синапса обрывочна и ослаблена. Однако структурная целостность постсинаптического региона сохраняется.

К электрофизиологическим особенностям быстро-канальных синдромов относятся аномально короткие эпизоды активации каналов и быстро убывающий низко-амплитудный электрический ток на концевой пластине. Уменьшение амплитуды синаптического ответа связано с уменьшением вероятности открытия канала и, в случае мутаций $\epsilon 1254ins18$ и $\alpha V285I$, с уменьшением экспрессии мутантного рецептора.

Дефицит рецепторов ацетилхолина, вызванный мутацией генов его субъединиц. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Первые признаки болезни появляются с рождения. Клинические симптомы варьируют от легких до очень тяжелых. У больных синдромом сниженного числа АХР в нервно-мышечном окончании, обусловленном мутациями в субъединицах АХР, выделяют 3 формы заболевания — тяжелую, промежуточную и легкую. При тяжелой форме течения болезни заболевание начинается с рождения, отмечается диффузная мышечная слабость, поражение глазных, бульбарных, дыхательных мышц, мышц конечностей, туловища, нарушается двигательное развитие. Часто возникают дыхательные расстройства. При промежуточной форме заболевание начинается с раннего детства, отмечается парез глазных мышц с 1-го года жизни, общая слабость и утомляемость. При легкой форме двигательное развитие ребенка не страдает, часто наблюдаются легкий птоз и затруднение при беге.

При других формах, в частности при ВМС со снижением экспрессии АХР и выраженной слабостью, обусловленной мутацией в β - или δ -субъединице АХР со снижением экспрессии АХР с рождения, отмечается тяжелая миастения — выраженная общая слабость, дыхательные нарушения, трудности сосания. ВМС, вызванный гетероаллельными мутациями α -субъединицы АХР, описан

у 26-летней пациентки, у которой с рождения отмечалась генерализованная миастения с улучшением к 5-й неделе после рождения (Milon M. et al., 1999). До 20 лет больная не отличалась от других сверстников. В 20 лет развилась прогрессирующая слабость и утомляемость, более выраженные в проксимальных мышцах, чем в дистальных, со значительным поражением локтевых сгибателей. На ЭМГ у нее был выявлен декремент 35–50%, отсутствовали антитела к рецепторам АХ, отмечалась частичная реакция на АХЭП.

Течение ВМС с дефицитом АХР, вызванный мутацией генов субъединиц АХР, стационарное, больные выживают.

У больных с низкоэкспрессирующими мутациями генов АХР или являющимися гомозиготными носителями незначительных (нулевых) мутаций в ϵ -субъединице, может наблюдаться мягкая симптоматика. Наоборот, больные с низкоэкспрессивными мутациями не в ϵ -субъединице АХР имеют тяжелую симптоматику. К настоящему времени не наблюдали еще ни одного больного с незначительными мутациями в обоих аллелях не ϵ -субъединицы.

На ЭМГ выявляется декремент М-ответа. Имеется частичная положительная реакция на АХЭП.

Морфологические исследования концевой пластины показали, что над увеличенной массой мышечного волокна расположено увеличенное количество участков с концевыми пластинами нервно-мышечного окончания. Целостность соединительных складок (мест соединения нервного окончания и мышцы) сохраняется, но некоторые участки концевых пластин упрощены и уменьшены. Распределение АХР на складках соединения неоднородно, носит пятнистый характер и плотность АХР уменьшена. Иммуноцитохимическая реакция с участием рапсина, молекулы, связывающейся перекрестно с молекулами АХР, уменьшена пропорционально уменьшению экспрессии АХР.

Амплитуда МПКП нервно-мышечного окончания при стимуляции нерва и электрический ток на концевой пластине у больных уменьшены, но в целом ответ нервного

импульса часто выше, чем в норме. У больных с низкоэкспрессивными или незначительными мутациями в ϵ -субъединице при одноканальных измерениях на ЭМГ и иммуноцитохимических исследованиях выявлено присутствие зародышевого γ -АХР на концевой пластине.

Приводим наши клинические наблюдения двух семей с ВМС. Молекулярно-генетические исследования выполнены в Генетическом центре Мюнхенского университета профессором Х. Лохмюллером (H. Lochmuller) (Varisic N. et al., 2002; Щербакова Н.И. и соавт., 2004).

Под наблюдением находилось четверо больных ВМС, относящихся к двум неродственным семьям русского происхождения. У двух больных дефект нервно-мышечной передачи был вызван новой мутацией в сайте сплайсинга IVS7-2A/G гена АХР- ϵ и мутацией $\epsilon 1293insG$ со сдвигом рамки считывания генетической информации, описанной ранее (Sieb J. et al., 2000). У двух больных из второй семьи была определена уже известная гомозиготная точковая мутация в промоторном регионе гена PAX- ϵ (Nichols P. et al., 1998; Ohno K. et al., 1999).

Врожденный миастенический синдром, обусловленный новой сплайсинговой мутацией (IVS7-2A/G) в гене ϵ -субъединицы рецептора ацетилхолина. Заболевание выявлено у двух больных русской национальности, являющихся братом и сестрой (рис. 3.3). Их родители не состоят в кровном родстве.

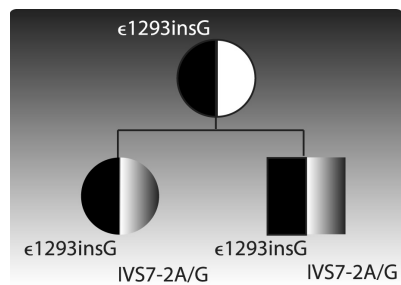


Рис. 3.3. Родословная семьи П.

Больная П.А. 18 лет обратилась с жалобами на непостоянную слабость в руках и ногах, птоз век. Считает себя больной с рождения, когда уже был птоз век, с 11 лет появилась слабость в руках и ногах. После приема прозерина отмечает улучшение. Заболевание медленно прогрессирует. Объективно в неврологическом статусе на фоне отмены калимина в течение 6 ч отмечается выраженное ограничение движений глазных яблок, двоения нет, птоз век, легкая гипомимия. Сила мышц шеи — 5 баллов, туловища (*m. rectus abdominis*, *m. obliquus abdominis externus*, *m. obliquus internus abdominis*) — 3 балла, двуглавой и трехглавой мышц плеча — 4–5 баллов, дельтовидной мышцы — 3–4 балла, сгибателей пальцев кисти — 5 баллов, разгибателей кисти — 4 балла, подвздошно-поясничной мышцы — 4 балла. Сила остальных мышц 5 баллов. После физических упражнений птоз несколько увеличился, на 0,5 баллов уменьшилась сила мышц шеи, двуглавой мышцы плеча. Сила трехглавой мышцы плеча, дельтовидной мышцы, подвздошно-поясничной мышцы уменьшилась на 1 балл. После приема калимина птоз век значительно уменьшился, отсутствовала гипомимия, восстановилась сила мышц конечностей. Реакция зрачков на свет живая. Сухожильные и периостальные рефлексы средней живости. В табл. 3.4 представлена балльная оценка мышечной силы в динамике за 3 года.

Таблица 3.4

Балльная клиническая оценка миастении у больной П.А.

Исследуемые симптомы	Возраст больной на момент обследования			
	18 лет		21 год	
	до калимина	после калимина	до калимина	после калимина
Диплопия	5	5	5	5
Ограничение движений глазных яблок	3	3	3	3
Тест для определения птоза при взгляде вверх и фиксированных мышцах лба	3	4	4	4
Птоз при длительной фиксации взора (30–40 с)	4	5	4	3
Слабость смыкания век	5	5	5	5
Гипомимия	4	5	4	4
Гнусавость	5	5	5	5

Продолжение ↗

Продолжение табл. 3.4

Исследуемые симптомы	Возраст больной на момент обследования			
	18 лет		21 год	
	до калимина	после калимина	до калимина	после калимина
Затруднение глотания	5	5	5	5
Дизартрия	5	5	5	5
Сила мышц шеи (длинной мышцы головы и шеи, прямой передней мышцы головы, выпрямляющей мышцы спины)	5	5	5	5
Сила мышц туловища (широкой грудной мышцы, остистой грудной мышцы, подвздошно-реберной грудной мышцы, полуостистой грудной мышцы)	3	3	3	3
Сила двуглавой мышцы плеча справа	4–5	5	4–5	3–4
Сила двуглавой мышцы плеча слева	4–5	5	4–5	3–4
Сила трехглавой мышцы плеча справа	4–5	5	5	4
Сила трехглавой мышцы плеча слева	4–5	5	5	4
Сила дельтовидной мышцы справа	3–4	5	5	4
Сила дельтовидной мышцы слева	3–4	5	5	4
Сила мышц-сгибателей пальцев кисти справа	5	5	5	5
Сила мышц-сгибателей пальцев кисти слева	5	5	5	5
Сила мышц-разгибателей кисти справа	4	4	4	4
Сила мышц-разгибателей кисти слева	4	4	4	4
Сила подвздошно-поясничной мышцы справа	5	5	4	3

Исследуемые симптомы	Возраст больной на момент обследования			
	18 лет		21 год	
	до калимина	после калимина	до калимина	после калимина
Сила подвздошно-поясничной мышцы слева	5	5	5	4
Сила четырехглавой мышцы бедра справа	5	5	5	5
Сила четырехглавой мышцы бедра слева	5	5	5	5
Сила передней большеберцовой мышцы справа	5	5	5	5
Сила передней большеберцовой мышцы слева	5	5	5	5
Сила икроножной мышцы справа	5	5	5	5
Сила икроножной мышцы слева	5	5	5	5

При исследовании состояния нервно-мышечной передачи отмечались нормальные значения М-ответа. При стимуляции с частотой 3 Гц выявлен декремент амплитуды М-ответа, двойной СМАП не обнаружен. КФК — 114 ЕД/л (в норме — до 170 ЕД/л). Больная серонегативна, уровень антител к АХР ниже 0,2 нмоль/л. Родители больной русские. Мать родилась в Приморском крае, отец — в Орле. У брата больной такое же заболевание (см. рис. 3.3).

Больной П.М. 15 лет. Брат больной П.А. обратился с жалобами на птоз век, слабость мышц верхних и нижних конечностей. С рождения определялся птоз век. В возрасте 3 лет у него было затруднено дыхание при беге. С 4 лет появилась слабость в руках и ногах. Заболевание прогрессирует.

Объективно отмечается поперечная ладонная складка слева. В неврологическом статусе на фоне отмены калимина в течение 6 ч зрачки симметричны, равномерны, фотореакция на свет сохранена. Двусторонний симметричный птоз век. Выраженное ограничение движения глазных яблок, легкая гипомимия, снижение силы мышц шеи и туловища до 3 баллов, сила двуглавой мышцы плеча и дельтовидной мышцы — 3 балла, сгибателей и разгибателей пальцев кисти — 4 балла, подвздошно-поясничной мышцы — 3 балла. Самостоятельно может присесть и встать только 7 раз. После физиче-

ской нагрузки увеличилось ограничение движения глазных яблок, птоз век, уменьшилась сила мышц шеи, сгибателей пальцев рук, подвздошно-поясничной мышцы на 0,5 балла. Сила четырехглавой мышцы бедра уменьшилась на 2 балла (с 5 до 3 баллов) (табл. 3.5). После приема калимина гипомимии не было, восстановилась сила двуглавой мышцы плеча, дельтовидной мышцы, сгибателей пальцев рук, подвздошно-поясничной мышцы.

Таблица 3.5

Балльная клиническая оценка миастении у больного П.М.

Исследуемые симптомы	Возраст больной на момент обследования			
	15 лет		18 лет	
	до калимина	после калимина	до калимина	после калимина
Диплопия	5	5	5	5
Ограничение движений глазных яблок	3	3	3	2–3
Тест для определения птоза при взгляде вверх и фиксированных мышцах лба	3	3	3	3
Птоз при длительной фиксации взора (30–40 с)	3	3	4	4
Слабость смыкания век	5	5	5	5
Гипомимия	4	5	4	4
Гнусавость	5	5	5	5
Затруднение глотания	5	5	5	5
Дизартрия	5	5	5	5
Сила мышц шеи (длинной мышцы головы и шеи, прямой передней мышцы головы, выпрямляющей мышцы спины)	4–5	4–5	3–4	3
Сила мышц туловища (широкой грудной мышцы, остистой грудной мышцы, подвздошно-реберной грудной мышцы, полуостистой грудной мышцы)	3	3	3	3
Сила двуглавой мышцы плеча справа	3–4	5	3	3

Исследуемые симптомы	Возраст больной на момент обследования			
	15 лет		18 лет	
	до калимина	после калимина	до калимина	после калимина
Сила двуглавой мышцы плеча слева	3–4	5	3	3
Сила трехглавой мышцы плеча справа	5	5	4	4
Сила трехглавой мышцы плеча слева	5	5	4	4
Сила дельтовидной мышцы справа	3–4	3–4	3	3
Сила дельтовидной мышцы слева	3–4	3–4	3	3
Сила мышц-сгибателей пальцев кисти справа	4–5	5	4	3–4
Сила мышц-сгибателей пальцев кисти слева	4–5	5	4	3–4
Сила мышц-разгибателей кисти справа	4	4	4	4
Сила мышц-разгибателей кисти слева	3–4	4	3–4	3
Сила подвздошно-поясничной мышцы справа	4	5	3	2–3
Сила подвздошно-поясничной мышцы слева	4	5	3	2–3
Сила четырехглавой мышцы бедра справа	5	5	5	3
Сила четырехглавой мышцы бедра слева	5	5	5	3
Сила передней большеберцовой мышцы справа	4	5	3	2–3
Сила передней большеберцовой мышцы слева	4	5	3	2–3
Сила икроножной мышцы справа	5	5	5	5
Сила икроножной мышцы слева	5	5	5	5

Сухожильные и периостальные рефлексы средней живости. При исследовании состояния нервно-мышечной передачи отмечались нормальные значения М-ответа. При стимуляции с частотой 3 Гц выявлен декремент амплитуды М-ответа *m. deltoideus* – 23%; 2-й СМАП не обнаружен. Уровень антител к АХР в крови ниже 0,2 нмоль/л.

У обоих больных было проведено молекулярно-генетическое исследование. Анализ гена АХР-ε позволил выявить, что больные были сложными гетерозиготами в отношении мутации в сайте сплайсинга интрона 7 (IVS7-ε 2A/G) и другой мутации, которая привела к сдвигу рамки считывания в экзоне 12 (ε1293insG) (рис. 3.4). Мутация *1293insG*, приводящая к сдвигу рамки считывания, была выявлена у здоровой матери по гетерозиготному типу. Эта мутация уже описана в литературе (Abicht A. et al., 1999; Abicht A. et al., 2000; Sieb J. et al., 2000). ДНК клинически здорового отца было недоступно для генетического анализа.

Следовательно, мутация сайта сплайсинга гена АХР-ε была обнаружена у двух sibсов с ВМС. Эти больные были сложными гетерозиготами в отношении мутации сайта сплайсинга (IVS7-2A/G) и включения пары оснований

в положении 1293 гена АХР-ε. Клинические особенности наших больных в общем соответствовали недавно опубликованным случаям с мутациями гена АХР-ε с низкой экспрессией (Abicht A. et al., 1999, 2000; Engel A. et al., 1996, 2001; Ohno K. et al., 1999). У всех больных наблюдалось раннее появление генерализованной слабости мышц, преимущественно проксимальных, птоз век и офтальмопарез разной степени тяжести. Гетерозиготные (реже гомозиготные) рецессивные мутации в ε-субъединице АХР часто приводят к снижению экспрессии АХР в синапсе (Crohen R. et al., 2001; Engel A. et al., 1996). Недавно были опубликованы материалы о мутации со сдвигом рамки считывания (ε1293insG), которая была определена у двух больных. По-видимому, эта мутация может привести к образованию незавершенных продуктов трансляции (Abicht A. et al., 2000; Sieb J. et al., 2000]. Функциональные особенности мутации ε1293insG исследовали на клетках почек человеческого эмбриона, при этом обнаружили отсутствие активности канала. Наличие мутации сайта сплайсинга (IVS7-2A/G) ε-субъединицы АХР теоретически предсказывалось, но ранее не выявлялось. Однако некоторые полученные данные свидетельствуют в пользу патогенной роли этой мутации при ВМС:

- 1) мутация IVS7-2A/G поражает высокосохраненный предпоследний нуклеотид 3 конца интрона 7 и разрывает акцептор сайта сплайсинга согласованной последовательности по правилу GT-AG (Burset M. et al., 2001);
- 2) мутация не была найдена в 100 контрольных хромосомах.
- 3) мутация обнаружена у двух больных.
- 4) мутация сочеталась с клиническим фенотипом.

В литературе есть сообщения, что мутация, поражающая нормальный сайт сплайсинга IVS9+1G/T, может привести к дефициту АХР) (Crohen R. et al., 2001).

Врожденный миастенический синдром, обусловленный точковой мутацией в промоторном регионе

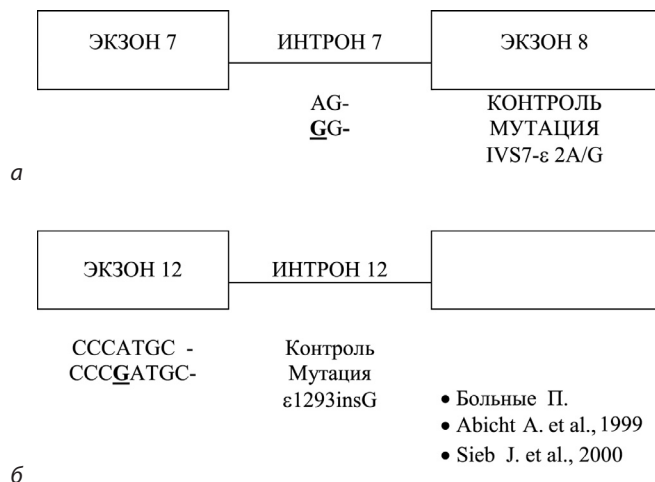


Рис. 3.4. Секвенирование 7-го интрона гена ε-субъединицы АХР (а) и 12-го экзона гена ε-субъединицы АХР (б) у больных П.

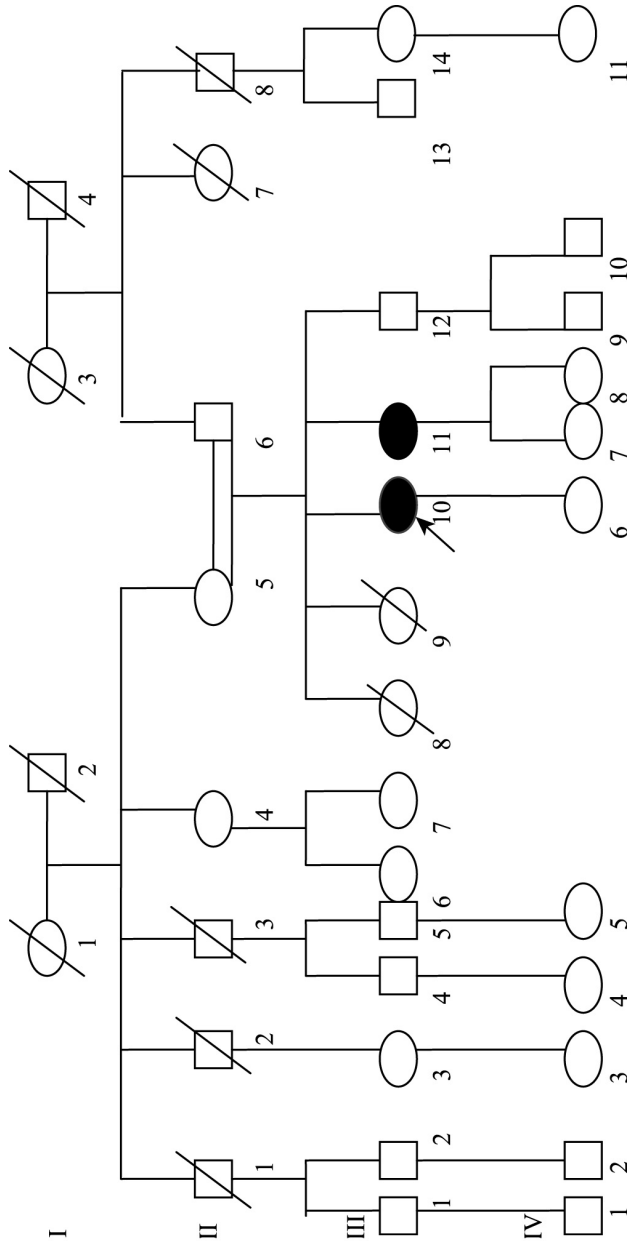


Рис. 3.5. Родословная семьи Т.

гена ε -субъединицы рецептора ацетилхолина. Под нашим наблюдением находилось также двое больных, родители которых являются кровными родственниками — троюродными братом и сестрой (рис. 3.5).

Больная Т. (41 год), обратилась с жалобами на опущение век, затруднение при глотании твердой пищи, слабость и утомляемость мышц шеи и проксимальных отделов конечностей. Считает себя больной с раннего детства — всегда была вялым ребенком, плохо ходила, быстро уставала. В возрасте 11 лет появилось опущение век, некоторое затруднение при глотании и жевании твердой пищи, увеличилась слабость в проксимальных отделах рук и ног. Течение заболевания стационарное, непрогрессирующее. Первоначально прозериновая проба была положительная, со временем на введение прозерина стала отмечаться более избирательная реакция в отдельных мышечных группах. Больная имеет дочь 12 лет, которая клинически здорова.

Из семейного анамнеза известно, что родители больной являются кровными родственниками (троюродные брат и сестра) (см. рис. 3.5). Больная от 4-й беременности. Две ее сестры умерли в раннем детстве от интеркуррентных инфекций в возрасте 1,5 мес. (ребенок от первой беременности) и 2 лет (ребенок от 3-й беременности), отмечались кожные аллергические реакции) соответственно. Ее брат (ребенок от 5-й беременности), в настоящее время 39 лет, здоров. Ее сестра (ребенок от 2-й беременности; в настоящее время ей 47 лет) с детства имеет аналогичное заболевание.

Объективно в неврологическом статусе при осмотре через 6 ч после отмены калимина: зрачки симметричные, равномерные, фото-реакция на свет сохранена. Отмечался двухсторонний симметричный птоз до верхнего края зрачка, не нарастающий при фиксации взора, слабость конвергенции, офтальмопарез с симметричным ограничением движений обоих глазных яблок кнаружи и вверх на 2 мм без диплопии. Снижение силы в мимической мускулатуре до 2 баллов. Голос глухой, тихий, без признаков утомления речи при разговоре. Мягкое небо подвижно. Отмечалась умеренная слабость жевательных мышц. Сила передней группы мышц шеи снижена до 3 баллов. При исследовании силы мышц конечностей выявлена выраженная слабость в проксимальных мышцах: дельтовидной (1 балл), трехглавой и двуглавой мышц плеча (2 балла), в сгибателях кистей (3 балла), позвоночно-поясничной мышцы (2 балла). Сила мышц-разгибателей пальцев рук была 4 балла, остальных

мышечных групп — 5 баллов. Не было выявлено слабости дыхательных мышц. Синдрома патологической мышечной утомляемости нет (после 10 приседаний объективного снижения мышечной силы не отмечается). Прозериновая проба положительная, с частичной компенсацией отдельных мышц (в *m. deltoideus* сила с 1 балла увеличивается до 4, а в *m. triceps* — с 2 до 3 баллов).



Рис. 3.6. Дерматоглифика больной М.

Была проведена дерматоглифика — изучение кожного рельефа ладоней (табл. 3.6; рис. 3.6). У больной выявлено снижение общего ладонного гребневого счета (80 — у больной; $83,85 \pm 0,88$ — у здоровых). Общий пальцевый гребневый счет значительно увеличен (174 — у больной; $130,09 \pm 3,78$ — в контрольной группе).

При ЭМГ-исследовании состояния нервно-мышечной передачи во всех обследованных мышцах регистрировалась правильная двухфазная форма М-ответа, дополнительных повторных ответов не выявлялось. Отмечались нормальные значения амплитуды негативной фазы М-ответа в ответ на одиночный супрамаксимальный стимул, которые составили 1,5 мВ в *m. orbicularis oculi*, 4,9 мВ в *m. deltoideus*, 12,5 мВ в *m. triceps brachii* и 15,8 мВ *m. abd. dig. minimi*. Во всех иссле-

дованных мышцах обнаруживались примерно одинаковые значения декремента амплитуды М-ответа при стимуляции частотой 3 Гц: в *m. orbicularis oculi* — 22%, в *m. deltoideus* до 25%, *m. triceps brachii* и *m. abd. dig. minimi* — до 20%. При проведении тетатической стимуляции (200 импульсов частотой 40 Гц) в дистальной мышце руки (*m. abd. dig. minimi*) отмечалось прогрессирующее снижение величины амплитуды и площади М-ответа примерно на 70% от исходной величины. Величина постактивационного облегчения (ПАО) в разных мышцах колебалась от 103 до 115%. В период ПАО декремент амплитуды М-ответа отсутствовал. При стимуляции в период постактивационного истощения (ПАИ) увеличения степени нарушений нервно-мышечной передачи по сравнению с исследованием до нагрузки не отмечалось. Введение прозерина в разной степени изменяло мышечную силу в исследуемых мышцах, так в 2 из 4 мышц (*m. orbicularis oculi* и *m. deltoideus*) сила увеличилась на 1 балл, тогда как в *m. abd. dig. minimi* прирост силы составил 2 балла. Амплитуда М-ответа увеличилась главным образом в мышце, имеющей исходно более низкое значение этого показателя по сравнению с другими мышцами, — в *m. deltoideus* (124%), в остальных мышцах величина амплитуды либо не менялась (*m. triceps brachii*, *m. orbicularis oculi*), либо увеличилась незначительно (*m. abd. dig. minimi* — 102%). Выявленное неравномерное изменение силы на фоне введения прозерина отчетливо коррелировало с динамикой декремента при разных частотах стимуляции.

Таблица 3.6

Дерматоглифика у больных врожденным миастеническим синдромом М. и Т.

Показатели дерматоглифики	Больная			
	М.		Т.	
	Правая рука	Левая рука	Правая рука	Левая рука
Окончание главных ладонных линий: D	11	11	10	7
C	10	9	0	5"
B	8	7	6	5"
A	4	5	3	9
Положение осевого ладонного трирадиуса	tt'	t	t	t

Продолжение ↪

Окончание табл. 3.6

Показатели дерматоглифики	Большая			
	М.		Т.	
	Правая рука	Левая рука	Правая рука	Левая рука
Ладонные узоры: тенар/І	0/0	V/0	0/0	0/0
II	0	0	0	0
III	L	L	0	0
IV	0	0	0	V
гипотенар	W/0	L/0	0	0
Пальцевые узоры: I	W	U	W	U
II	U	U	W	U
III	U	U	U	U
IV	U	U	W	W
V	U	U	U	U
Гребневый счет:				
ладонный	36	34	40	40
пальцевой: I	20	16	13	10
II	12	5	4	12
III	4	7	7	13
IV	4	2	7	12
V	10	6	5	11

При исследовании параметров двигательных единиц отмечалось неравномерное снижение средней длительности потенциала двигательных единиц (ПДЕ), так в клинически пораженной *m. deltoideus dex.* отмечалось снижение на 40%, в *m. tibialis anterior dex.* — на 25%, а в клинически интактной *m. vastus lateralis dex.* средняя длительность ПДЕ находилась в пределах нормы. При этом величины средней амплитуды ПДЕ были повышены во всех мышцах, но более выражено в *m. vastus lateralis dex.* Единичная спонтанная активность в виде потенциалов фасцикуляций (ПФЦ) выявлялась только в мышцах ног (до 8 ПФЦ). Выраженная полифазия (до 45%) отмечалась во всех обследованных мышцах. Двойной СМАП не обнаружен.

В сыворотке крови не выявлены антитела к рецепторам ацетилхолина. У больной было проведено молекулярно-генетическое

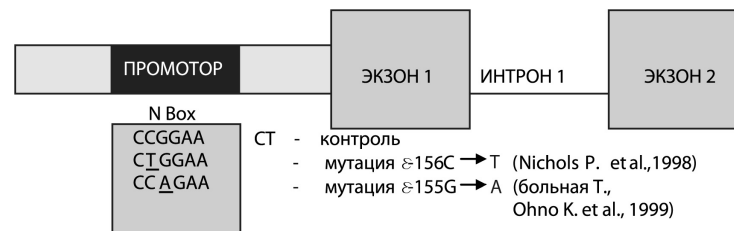


Рис. 3.7. Секвенирование промоторного региона гена ε-субъединицы АХР у больной Т.

исследование. Анализ гена PAX-ε позволил выявить, что больная является гомозиготной в отношении точечной мутации в промоторном регионе гена ε-субъединицы PAX – ε – 155G A (рис. 3.7). В положении 155 произошла замена гуанина (G) на аденин (A).

Больная М. 46 лет. Сестра больной Т. обратилась с жалобами на птоз век, нарушение глотания, слабость мышц конечностей. С детства отмечала повышенную утомляемость. В 24 года после родов почувствовала выраженную слабость в ногах. После приема калимина отмечает уменьшение слабости. Больная принимает по 8–9 таб. калимина в сутки.

Объективно при осмотре через 6 ч после приема калимина зрачки равномерны, реакция их на свет живая. Отмечался птоз век, выраженное ограничение движений глазных яблок, поперхивание, гнусавость. Снижение силы мышц туловища, сила двуглавой мышцы плеча составляла 4 балла, снижены силы в сгибателях пальцев рук и подвздошно-поясничной мышце до 3 баллов. Могла присесть и встать самостоятельно один раз. После приема калимина сила повздошно-поясничной мышцы выросла до 4 баллов, птоз век уменьшился. Могла присесть и встать 20 раз. Сухожильные и периостальные рефлексы живые. При исследовании дерматоглифики у больной выявлен редкий вариант расположения осевого ладонного трирадиуса — tt' (в здоровой популяции встречается только в 8% случаев). У больной выявлены узоры на гипотенаре с двух сторон (в группе здоровых людей они встречаются в 31% случаев). Имеющийся у больной узор на гипотенаре в виде завитка является редким и встречается у здоровых женщин только в 1,3% случаев. У больной выявлены следы узора на тенаре левой ладони. У здоровых людей узоры на тенаре встречаются нечасто (в 11% случаев). На третьей ладонной подушечке узоры определены у больной

с двух сторон, в контрольной группе они встречаются в 33%. Ладонный гребневый счет у больной снижен (36 справа, 34 слева, 70 на обеих руках у больной; $42,85 \pm 0,8$ справа, $41,02 \pm 0,49$ слева, $83,85 \pm 0,88$ на обеих руках у здоровых). Общий пальцевый гребневый счет у больной составил 156, что превышает популяционные данные (в норме $130,09 \pm 3,78$). Таким образом, у больной имеется редкая дерматоглифика, характеризующаяся наличием двух осевых ладонных трирадиусов, один из которых — дистальный, имеются редкие узоры на гипотенаре, тенаре, низкий ладонный и высокий пальцевый гребневый счет.

При исследовании состояния нервно-мышечной передачи выявлен декремент амплитуды М-ответа.

Таким образом, в представленной семье диагностирован ВМС с нарушением нервно-мышечной передачи на постсинаптическом уровне. Выявлена мутация в промоторном регионе гена АХР-ε, которая была описана в 1999 г. К. Охно (K. Ohno) и соавт. (ε-155G→A). Мутация в этой области описана также П. Николсоном (P. Nichols) и соавт. в 1998 г. В этом наблюдении характер мутации несколько иной — в положение 156Nbox промоторного региона выявлена замена цитозина (С) на тимин (Т), которая привела к нарушению функции АХР-ε. Мутации в данном регионе встречаются редко в силу высокой сохранности этого участка в отличие от мутаций в других регионах гена АХР-ε.

Таким образом, нами были обследованы четверо больных с ВМС из двух семей, в одной из которых родители являлись кровным родственниками. Предположение о ВМС у больных было основано на раннем дебюте болезни, отсутствии антител к рецепторам АХ в плазме крови. Проведенное молекулярно-генетическое исследование позволило подтвердить диагноз ВМС. При этом была выявлена новая, не описанная ранее, мутация в гене АХР-ε — мутация сайта сплайсинга (IVS7-2A/G). Двое sibсов, родители которых не состояли в кровном родстве, являлись гетерозиготами в отношении мутации в сайте сплайсинга интрона 7 (IVS7-2A/G) и другой мутации, которая привела к сдвигу

рамки считывания в экзоне 12 (ε1293insG). Вторая мутация (ε1293insG) была описана и у матери больных. Во второй обследованной нами семье была выявлена известная ранее и описанная в 1999 г. мутация в промоторном регионе гена РАХ-ε ε-155G→A. Следовательно, впервые в России была проведена ДНК-диагностика больным ВМС. При этом выявлена новая мутация в гене ε-субъединицы АХР.

Дефицит АХР, вызванный мутацией рапсина.

Дефицит АХР на концевой пластине может возникнуть из-за дефекта протеинов, регулирующих экспрессию или концентрацию АХР на концевой пластине. Эти протеины включают агрин и его сигнальные молекулы, специфичную для мышц киназу (MuSK) и рапсин АХР, нейрегулин и его сигнальные молекулы, а также α-дистробревин, атрофин и α-синтрофин. Однако было показано, что только мутации рапсина вызывают связанный с ВМС дефицит АХР на концевой пластине.

Под влиянием неврального агрина рапсин влияет на концентрацию АХР на постсинаптической мембране двигательной концевой пластины. Рапсин присоединяется к длинной цитоплазматической петле каждой субъединицы АХР и соединяет рецептор с субсинаптическим скелетом посредством дистрогликана и синаптического фиксирующего протеина (S-NRAP), родственному небулину и присоединяющего актин. Первичная структура рапсина предопределяет разные структурные домены: сигнал на N-конце, необходимый для мембранной ассоциации; 7 повторов тетрапептида (TPRs: кодоны 6–279), который помогает самоассоциации рапсина; домен в виде катушки (кодоны 298–331), гидрофобная поверхность которых может присоединяться к внутренней части длинной цитоплазматической петли каждой субъединицы АХР; домен RING-H2, богатый цистеином (кодоны 363–402), который соединяется с S-NRAP цитоплазматическим доменом β-дистрогликана; и сайт на кодоне 406, где происходит фосфорилирование серина (см. рис. 1.3).

Самоассоциация рапсина является критическим фактором для присоединения АХР к цитоскелету. Рапсин, экспрессия которого происходит на эмбриональных почечных клетках ЭПК человека или других не мышечных клетках, самоассоциируется в кластеры на поверхности клеток. Когда АХР, β -дистрогликан и S-NRAP экспрессированы индивидуально на эмбриональных клетках почек человека, ни один из этих белков не агрегируется в кластеры, но если АХР либо дистрогликан, либо S-NRAP экспрессированы вместе с рапсином, каждый белок вовлекается в кластеры, образованные рапсином.

У больных с мутациями в гене рапсина, возникает легкая или тяжелая симптоматика ВМС. Более того, у двух больных, гомозиготных в отношении одной и той же N88K мутации рапсина, возникли разные симптомы: тяжелые симптомы у 2-летнего ребенка и легкие у 27-летнего больного. Наконец, один больной, страдающий с рождения множественными контрактурами суставов, в возрасте 11 лет имел слабовыраженные симптомы ВМС. Декремент М-ответа при ЭМГ был получен у двух тяжелых больных. У двух больных с легким течением ВМС дефект нейромышечной передачи был выявлен только после физической нагрузки или с помощью одноволоконной ЭМГ.

Морфологические и электрофизиологические данные, полученные при исследовании концевой пластины *in vitro*, соответствуют данным, наблюдавшимся у больных, у которых дефицит АХР на концевой пластине возникает из-за низкоэкспрессивной мутации в генах субъединиц АХР. Экспрессия и рапсина, и АХР уменьшается, так же как у больных с первичным дефицитом АХР, поэтому нет различий в локализации дефектов АХР и рапсина на концевой пластине.

ВМС, ассоциированные с дефицитом плектина.

Плектин — это высокосохраненный и повсеместно экспрессированный промежуточный протеин, связывающийся с филаментами (тонкими волокнами) мышцы, концен-

трирующийся в местах механического стресса, таких как постсинаптическая мембрана концевой пластины, саркоlemma, Z-диски в скелетной мышце, гемидесмосомы в коже и диски с прослойками в сердечной мышце. Патогенные мутации плектина приводят к возникновению сочетания буллезного эпидермолиза, прогрессирующей миопатии и миастенического синдрома.

Б. Банвел (B. Vanwell) и соавт. в 1999 г. подробно описали одну больную с миопатией, миастеническим синдромом, буллезным эпидермолизом, обусловленными дефицитом плектина.

Заболевание наблюдалось у 20-летней афроамериканской женщины. У нее были отмечены буллезные изменения кожи в местах минимального механического повреждения, проявляющиеся с рождения. С 9-летнего возраста появился прогрессирующий птоз и ограничение движений глазных яблок. После 18 лет развилась прогрессирующая слабость мышц лица, конечностей, туловища, нарушение походки, дисфония. Слабость нарастала и изменялась в течение дня. К 20 годам у больной появились множественные буллезные изменения кожи, рубцы, дистрофические изменения ногтей. Уровень креатинкиназы сыворотки крови был повышен. Выявлялась легкая анемия. При ЭМГ-исследовании обнаружены миопатические единичные двигательные потенциалы. При стимуляции с частотой 2 Гц выявлен декремент М-ответа до 11–25%. Антитела к АХР в крови не выявлены. После приема АХЭП слабость не уменьшалась. Лечение 3,4-диаминопиридином в дозе 1 мг/кг/сут в несколько приемов увеличивало мышечную силу у больной. При биопсии мышцы и кожи выявлен дефицит плектина.

3.3. Диагностика врожденного миастенического синдрома

Диагностика ВМС основывается на наличии симптомов миастении, проявляющихся с самого рождения или раннего детства, типичной картины мышечной слабости с вовлечением мышц, иннервируемых черепно-мозговыми нервами, высокого нёба, наличия в анамнезе больных род-

стенников с теми же симптомами, декремента М-ответа на ЭМГ, повторного СМАП при низкочастотной стимуляции (2–3 Гц) двигательного нерва, а также отсутствия антител к АХР и кальциевому каналу. Некоторые ВМС являются спорадическими или выявляющимися позже. Декремент М-ответа на ЭМГ может определяться не во всех мышцах и не всегда. Проявления слабости могут быть ограничены, не распространяясь на мышцы, иннервируемые черепно-мозговыми нервами. При двух формах ВМС (дефиците АХЭ и синдроме медленного канала) во время проведения ЭНМГ-исследования определяется повторный СМАП. Повторный СМАП может быть нейрональным и синаптическим. Нейрональный повторный СМАП наблюдается при повторном возбуждении единичного нерва в результате эктопической активации нерва при нейромиотонии (*болезнь Исаакса*). Синаптический повторный СМАП выявляется при миастении в случае передозировки АХЭП из-за избытка АХ в нервно-мышечном окончании, а также при ВМС. Синаптический повторный СМАП состоит из двух повторяющихся СМАП. Повторный потенциал уменьшен и возникает через 3,5–4 мс после первого.

Для диагностики некоторых ВМС достаточно простых гистологических и ЭМГ исследований, а для точной специфической диагностики других необходимы электрофизиологические, структурно-функциональные и иммунохимические исследования *in vitro* (табл. 3.7).

Таблица 3.7

Исследование врожденных миастенических синдромов*
(Engel A. et al., 2003)

Методы исследования	Особенности обследования больных ВМС
Клинические данные	Анамнез (возраст начала, наличие эпизодов апноэ), родословная (тип наследования: аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный, спорадический случай), клиническое обследование (сила мышц, в том числе мышц шеи, туловища, разгибателей кистей и пальцев рук), ответ на АХЭП

Методы исследования	Особенности обследования больных ВМС
ЭМГ	Обычная игольчатая ЭМГ, выявление декремента М-ответа при стимуляции нерва с частотой 2–3 Гц двух дистальных и двух проксимальных (лицевых) мышц, с частотой 10 Гц при отсутствии декремента на стимуляцию 2–3 Гц, определение удвоенного СМАП при повторной стимуляции нерва, ЭМГ единичного мышечного волокна
Серологические тесты	Антитела к АХР, антитела к кальциевым каналам, тесты на ботулизм
Морфологические исследования	Рутинные гистохимические исследования. Цитохимическое и иммуноцитохимическое определение локализации АХЭ, АХР, агрина, β_2 -ламиниана, утхрофина и рапсина на концевой пластине. Определение размера, формы и конфигурации концевых пластин нервно-мышечных окончаний или участков концевых пластин на препарированных мышечных волокнах. Количественная электронная микроскопия (определение числа АХР). Электронная цитохимия (наличие синаптических везикул)
Электрофизиологические исследования <i>in vitro</i> специфичных для концевой пластины сайтов присоединения ^{125}I - α -бунгаротоксина	Обычные микроэлектродные исследования: МПКП, миниатюрного тока концевой пластины (МТКП) и вызванного высвобождения квантов (m , n , p), где m — число квантов, выделенное при нервном импульсе, n — число квантов, доступных для выделения, и p — вероятность выделения квантов. Одноканальные записи: типы каналов и кинетика
Молекулярно-генетические исследования	Анализ мутаций (если идентифицированы генные и белковые кандидаты). Исследование экспрессии АХР (если выявлены мутации)

* Не все исследования необходимо проводить для всех форм ВМС.

Мышечная слабость оценивается по балльной системе (табл. 3.8):

- 5 баллов — отсутствие мышечной слабости;
- 0 баллов — невозможность активных движений.

Таблица 3.8

Критерии оценки степени тяжести мышечных расстройств

Исследуемый признак	Критерии оценки в баллах
Диплопия	5. Отсутствие. 4. При крайних отведениях глазных яблок. 3. При взгляде в сторону. 2. Усиливается при взгляде в сторону. 1. Одинаково выражена при взгляде прямо и в сторону. 0. Резко выраженная при взгляде прямо и в сторону
Ограничение движений глазных яблок	5. Отсутствие. 4. При крайних отведениях глазных яблок. 3. Умеренно выраженное при взгляде в сторону. 2. Выраженное ограничение движений в одном и более направлениях. 1. Наружная офтальмоплегия с минимальными движениями глазных яблок. 0. Тотальная наружная офтальмоплегия
Слабость смыкания век	5. Отсутствие. 4. Легкое снижение сопротивления при попытке обследующего раскрыть зажмуренные глаза больного. 3. Умеренное снижение сопротивления, открывание глаз в виде узкой щели. 2. Выраженное снижение сопротивления, открывание глаз наполовину. 1. Отсутствие сопротивления, полное открывание глаз. 0. Невозможность закрыть глаза
Тест для определения птоза	5. Увеличение глазной щели на 2 мм и более при фиксированных мышцах лба и взгляде вверх. 4. Увеличение глазной щели на 1 мм. 3. Отсутствие увеличения глазной щели. 2. Уменьшение глазной щели до половины исходной величины. 1. Уменьшение глазной щели более чем наполовину или полное опускание век. 0. Невыполнение теста из-за невозможности открыть глаза
Длительная фиксация взора	5. Отсутствие уменьшения глазной щели при фиксации взора в течение 30 с. 4. Уменьшение глазной щели на 1 мм. 3. Уменьшение глазной щели менее чем наполовину, но более чем на 1 мм. 2. Уменьшение глазной щели наполовину.

Исследуемый признак	Критерии оценки в баллах
	1. Уменьшение глазной щели более чем наполовину или полное опускание век. 0. Невозможность выполнения теста
Гипо- и амимия	5. Отсутствие. 4. Легкая гипомимия. 3. Умеренная гипомимия при наморщивании лба или оскале зубов. 2. Выраженная гипомимия при наморщивании лба и оскале зубов. 1. Амимия. 0. Амимия, неполное смыкание век
Проба со шпателем	5. Отсутствие снижения сопротивления при надавливании на шпатель, зажатый между зубами больного. 4. Незначительное снижение сопротивления. 3. Умеренное снижение сопротивления, способность преодолеть надавливание на шпатель достаточной силы со стороны обследующего 2. Отсутствие сопротивления, но сохранена способность удерживать шпатель. 1. Невозможность удержать шпатель. 0. Невозможность закрыть рот
Гнусавость голоса	5. Отсутствие. 4. Носовой оттенок голоса, утомляемость при разговоре. 3. Низкий голос с носовым оттенком. 2. Тихая речь с носовым оттенком. 1. Шепотная невнятная речь. 0. Афония
Глотание	5. Нормальное. 4. Легкое непостоянное поперхивание. 3. Легкое постоянное поперхивание. 2. Постоянное поперхивание, периодическое выливание пищи через нос. 1. Постоянное выливание пищи через нос, поперхивание. 0. Афагия, кормление через зонд
Дизартрия	5. Отсутствие. 4. Выявляется только при произнесении трудных для произношения слов («триста тридцать три»). 3. Выявляется при произнесении нетрудных для произношения слов. 2. Выраженная дизартрия. 1. Минимальные движения языка. 0. Анартрия

Продолжение ↗

Продолжение табл. 3.8

Исследуемый признак	Критерии оценки в баллах
Сила длинной мышцы головы и шеи, прямой передней мышцы головы, выпрямляющей мышцы спины	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы при оказании сопротивления наклону головы вперед. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление обследуемого. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление обследуемого. 1. Удержание головы, но невозможность наклонить голову вперед. 0. Свисание головы
Сила ременной мышцы головы и шеи, полустистой мышцы головы и шеи, выпрямляющей мышцы спины	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы при оказании сопротивления наклону головы назад. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление обследуемого. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление обследуемого. 1. Удержание головы, но невозможность наклонить голову назад. 0. Свисание головы
Сила широкой грудной мышцы, остистой грудной мышцы, подвздошно-реберной грудной мышцы, полустистой грудной мышцы	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное затруднение при поднимании головы и туловища, лежа на животе, и фиксированных ногах. 3. Умеренное затруднение при выполнении теста. 2. Выполнение теста с помощью рук. 1. Невозможность выполнить тест даже при использовании рук. 0. Отсутствие активных движений
Сила прямой мышцы живота, косой наружной и внутренней мышц живота	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное затруднение при попытке сесть, лежа на спине и фиксированных ногах. 3. Умеренное затруднение при выполнении теста. 2. Выполнение теста с помощью рук. 1. Невозможность выполнения теста даже с помощью рук. 0. Отсутствие активных движений
Сила двуглавой мышцы плеча справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого при попытке разогнуть руку больного, согнутую в локтевом суставе.

Исследуемый признак	Критерии оценки в баллах
	2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности. 0. Отсутствие активных движений
Сила трехглавой мышцы плеча справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение мышечной силы. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого при попытке согнуть руку больного, разогнутую в локтевом суставе. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности. 0. Полное отсутствие активных движений
Сила дельтовидной мышцы справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение мышечной силы. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого при попытке его привести руку больного, отведенную от туловища под углом 45°. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности. 0. Полное отсутствие активных движений
Сила в сгибателях пальцев кистей (динамометрия)	5. Отсутствие нарушений. 4. Снижение силы до 25%. 3. Снижение силы на 25–50%. 2. Снижение силы более чем на 50%. 1. Невозможность выполнить тест при сохранении движений в пальцах рук. 0. Отсутствие активных движений
Сила в разгибателях кистей (длинный лучевой разгибатель кисти, короткий лучевой разгибатель кисти)	5. Отсутствие нарушений. 4. Легкое снижение силы при разгибании кисти в лучезапястном суставе. 3. Умеренное снижение силы при разгибании кисти в лучезапястном суставе. 2. Враженное снижение силы при разгибании кисти в лучезапястном суставе. 1. Свисание кистей при вытягивании рук вперед при сохранении движений в лучезапястном суставе. 0. Невозможность движений в лучезапястном суставе и свисание кистей при вытягивании рук вперед

Продолжение ↗

Продолжение табл. 3.8

Исследуемый признак	Критерии оценки в баллах
Сила в разгибателях пальцев рук (общий разгибатель пальцев, разгибатель мизинца)	5. Отсутствие нарушений. 4. Легкое снижение силы при разгибании пальцев кистей. 3. Умеренное снижение силы при разгибании пальцев кистей. 2. Выраженное снижение силы при разгибании пальцев кистей. 1. Свисание пальцев кистей при вытягивании рук вперед при сохранении движений в пальцах. 0. Невозможность движений в пальцах кистей и свисании пальцев при вытягивании рук вперед
Сила четырехглавой мышцы бедра справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы при сгибании разогнутой ноги больного в коленном суставе. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности. 0. Полное отсутствие активных движений
Сила подвздошно-поясничной мышцы справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы при оказании сопротивления попытке больного согнуть в тазобедренном суставе ногу, согнутую в коленном и тазобедренном суставах под прямым углом. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности. 0. Полное отсутствие активных движений
Приседание	5. Выполнение теста 20 раз. 4. Выполнение 15–19 раз. 3. Выполнение теста 10–14 раз. 2. Выполнение теста 5–9 раз. 1. Выполнение теста 1–4 раза. 0. Невыполнение теста
Сила передней большеберцовой мышцы справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы при оказании сопротивления тыльному сгибанию стопы. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого.

Исследуемый признак	Критерии оценки в баллах
	2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности 0. Отсутствие активных движений
Сила икроножной мышцы справа и слева	5. Отсутствие нарушений. 4. Незначительное снижение силы при оказании сопротивления подошвенному сгибанию стопы. 3. Способность преодолеть достаточное сопротивление исследуемого. 2. Способность преодолеть легкое сопротивление исследуемого. 1. Невозможность преодолеть силу тяжести конечности. 0. Отсутствие активных движений

Примечание: 5 баллов – отсутствие нарушений; 4 балла – незначительные нарушения; 3 балла – умеренные нарушения; 2 балла – выраженные нарушения; 1 балл – значительные нарушения; 0 баллов – резко выраженные нарушения, отсутствие активных движений, невыполнение теста.

В табл. 3.9 представлены возрастные параметры силы в кистях у детей и взрослых.

Таблица 3.9

Возрастные изменения силы в правой и левой кистях (M ± m)

Возраст, лет	Сила, правая кисть, кг		Сила, левая кисть, кг	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины
4–5	6,2 ± 0,55	4,54 ± 0,99	5,3 ± 0,65	3,9 ± 1,2
6–8	12,93 ± 0,77	14,93 ± 1,03	11,71 ± 1,02	14,14 ± 1,38
9–12	19,5 ± 2,18	22,08 ± 2,43	16,6 ± 1,06	20,58 ± 2,89
13–15	35,5 ± 5,05	26,6 ± 1,85	31,25 ± 5,31	24,4 ± 3,03
16–30	56,4 ± 5,98	31,6 ± 2,31	52,4 ± 6,42	29 ± 1,9
31–50	51 ± 2,32	30,14 ± 1,77	49,73 ± 3,37	27,29 ± 1,59
51–60	43,22 ± 4,09	25,6 ± 2,86	40,44 ± 4,49	25,92 ± 1,57
61–75	32,57 ± 2,39	20,8 ± 0,96	31,6 ± 2,39	20,0 ± 1,5

А. Энгель (A. Engel) в 2001 г. предложил следующий алгоритм для диагностики различных типов ВМС.

1. Клинические и лабораторные исследования:

- а) слабость и утомляемость с младенческого или раннего детского возраста, поражение глазных, возможно бульбарных, мышц, мышц туловища, конечностей;
- б) слабость и утомляемость с избирательным тяжелым поражением мышц шеи, разгибателей кисти и пальцев рук;
- в) непостоянные эпизоды апноэ с рождения или в раннем возрасте, но не всегда, в детстве отсутствуют или маловыражены миастенические симптомы между приступами и обычно, но не всегда, сохранены движения глазных яблок.

2. Родословная (семейный анамнез):

- а) аутосомно-доминантный тип наследования;
- б) аутосомно-рецессивный тип наследования.
- в) спорадический случай.

3. Отрицательный тест на антитела к АХР.

4. ЭМГ-данные:

- а) декремент М-ответа при стимуляции с частотой 2–3 Гц по крайней мере в одной мышце, тест включает 2 дистальные и 2 проксимальные (лицевые) мышцы;
- б) декремент М-ответа только после стимуляции двигательного нерва с частотой 10 Гц в течение 10 мин.
- в) то же, что в пункте 4а плюс СМАП в расслабленной мышце; первичный и повторный СМАП с интервалом 5–10 с; декремент повторных СМАП возникает быстрее единичного СМАП, после упражнений декременты исчезают.

5. Ответ на АХЭП:

- а) хороший (но обычно только частичный);
- б) нет ответа;
- в) сомнительный ответ.

6. Биопсия мышцы — окрашивание концевой пластины для АХЭ и АХР:

- а) нормальная реакция для АХЭ и АХР;

- б) нет реакции для АХЭ, сохранена реакция для АХР;
- в) нормальная реакция для АХЭ, нарушение — для АХР.

7. Последующие исследования:

- а) подсчет АХР концевой пластины с α -[¹²⁵I]-бунгаротоксином;
- б) количественная электронная микроскопия концевой пластины;
- в) микроэлектродная запись;
- г) одноканальные записи концевой пластины;
- д) определение мутации генов, ответственных за развитие ВМС, и исследование экспрессии АХР.
- е) ??????????????????????????????????????

Постановка диагноза. *Нарушение ресинтеза и упаковки АХ (ВМС с эпизодами апноэ)*

Предварительный диагноз: 1в, 2 б/в, 3, 4б, 5а (при наличии слабости), 6а.

Точный диагноз: 7в.

Недостаток синаптических везикул

Точный диагноз: 1а, 2 б/в, 3, 4а, 5а, 6а, 7в (смотреть нормальный МПКП и низкое высвобождение АХ при нервном импульсе).

Ламберта—Итона подобный синдром

Предварительный диагноз: 1а плюс гипорефлексия, 2 б/в, 3, 4а + низкая амплитуда СМАП, которая возрастает выше 100% при стимуляции с частотой более 10 Гц, 5а/в, 6а.

Точный диагноз: 7в (можно выявить нормальный миниатюрный ПКП и снижение высвобождаемого при низкочастотной стимуляции количества АХ, в сравнении с высокочастотной стимуляцией более 10 Гц).

Дефицит АХЭ концевой пластины

Точный диагноз: 1 а/б, 2 б/в, 3, 4в, 5б, 6б.

Возможные исследования: 7 (исследование коллагена Q).

Синдромы медленного канала

Точный диагноз: 1б, 2 а/в, 3, 4в, 5 б/в, 6а.

Возможные исследования: 7а (для определения вторичной утраты АХР), 7в (смотреть замедленные потоки концевой пластины), 7д (смотреть и анализировать замедленные эпизоды активации), 7е.

Быстроканальные синдромы

Точный диагноз: 1а, 2б/в, 3, 4а, 5а, 6а или 6в (при некоторых быстроканальных синдромах экспрессия АХР также снижена), 7а (для количественного определения уровня экспрессии АХР), 7в (смотреть сниженный МПКП и короткие МТКП), 7д (смотреть и анализировать короткие эпизоды активации канала).

Возможные исследования: 7е.

Первичный дефицит АХР концевой пластины

Предварительный диагноз: 1а, 2 б/в, 3, 4а, 5а, 6в.

Точный диагноз: 7в или 7д (для исключения синдрома быстрого канала со сниженной экспрессией АХР).

Возможные исследования: 7а (для количественного определения уровня экспрессии АХР), 7в (для определения постсинаптического ответа на АХ), 7д (для исключения небольшой кинетической аномалии и выявления фетальной активности канала АХР в концевой пластике), 7е.

3.3.1. Молекулярная диагностика ВМС

Молекулярно-генетические исследования ВМС выявили целый ряд различных молекулярных мишеней на двигательной концевой пластине нервно-мышечного окончания и определили их роль в функционировании синапса. Клинические, морфологические и электрофизиологические исследования позволили определить роль таких белков, как АХТ, АХЭ, АХР рапсина, мутация в которых приводит к развитию ВМС.

Молекулярно-генетические исследования ВМС, вызванных дефектами АХТ. При ВМС, вызванных дефектом АХТ, синаптический ответ на стимуляцию нерва ослабляется, когда поток импульсов по нейронам возрастает, а затем медленно восстанавливается, что указывает на дефект в ресинтезе или наполнении везикул АХ. Предпо-

лагается, что существует 4 гена-кандидата, ответственных за развитие данной формы ВМС: 1) ген пресинаптического транспортера АХ с высокой степенью сродства к нему (высокоафинный); 2) АХТ; 3) ВТАХ; 4) везикулярный протонный насос (см. рис. 3.2).

При анализе гена ВТАХ у 5 больных с данной формой ВМС не было обнаружено мутаций, но выявлено 10 рецессивных мутаций АХТ (Engel A. et al., 2003). Одна из них была нулевой мутацией; 3 другие (*I305T*, *R420C*, *E441K*) значительно уменьшали экспрессию АХТ в *COS*-клетках. Кинетические исследования экспрессии 9 миссенс-мутаций (приводящие к замене аминокислот в молекуле белка) показали, что одна мутация (*E441K*) имела недостаточную каталитическую активность, а другие 8 мутаций (*L210P*, *P211A*, *I305T*, *R420C*, *S498L*, *V506L*, *R560H*) обладали каталитической активностью в отношении коэнзима А (CoA), колебавшейся от 1 до 39% по отношению к нормальным значениям. Суммарная каталитическая активность как для CoA, так и для АХ колебалась от 1% до 69% по отношению к нормальным значениям. Поскольку у каждого больного было по 2 разных мутации с различными биохимическими свойствами, четкой корреляции между генотипом и фенотипом не выявлено, кроме того, что у большинства тяжело больных пациентов обе мутации (*I305T* и *R420C*) значительно уменьшали как экспрессию АХТ, так и ее каталитическую активность. Дополнительные 4 мутации АХТ (*I336T*, *V194L*, *S694S*, *R548X^o*) были описаны недавно, но не были охарактеризованы с функциональной стороны у больных ВМС с эпизодами нарушения дыхания, при которых возникают приступы удушья во время стресса. Тот факт, что ни у одного из наблюдавшихся пациентов с мутациями АХТ не было симптомов поражения центральной или вегетативной нервной системы, позволяет предположить, что имеется избирательная уязвимость нервно-мышечного синапса к мутации АХТ. Отсутствуют данные, свидетельствующие о том, что эта избирательная уязвимость вызвана наличием специфических к определенным

тканям изоформ АХТ. У человека существует пять различных вариантов АХТ, образующихся при транскрипции по крайней мере с тремя различными промоторами. Однако выявленные мутации расположены в общем для всех изоформ АХТ кодирующем участке. Наиболее вероятным объяснением избирательного поражения нервно-мышечных окончаний при данной форме ВМС является различие в пресинаптическом уровне АХТ, АХ или ацетил-СоА; в скорости поглощения или высвобождения АХ в условиях усиленного нейронного потока импульсов.

Хотя точная причина избирательной уязвимости различных тканей в настоящее время еще неизвестна, важно знать, что мутации гена АХТ вызывают потенциально летальную форму ВМС, которая не имеет клинических симптомов со стороны центральной или вегетативной нервной системы, и искать такие мутации при соответствующей клинической картине заболевания.

Следует отметить, что дефекты, обнаруживаемые в пресинаптическом транспортере АХ с высокой степенью сродства к АХ, ВТАХ или везикулярном протонном насосе, могут иметь одинаковые фенотипические проявления, но у человека до настоящего времени не обнаружено мутаций в этих белках.

Молекулярная диагностика ВМС, вызываемых дефектами АХЭ. АХЭ концевых пластин — это гетеромерный асимметрический фермент, состоящий из одного, двух или трех гомотетрамеров Т-изоформы глобулярных каталитических субъединиц (АХЭ_т), присоединенных к втрое скрученному коллагеновому хвосту (ColQ) (см. рис. 1.4). Субъединица коллагенового хвоста имеет на N-конце домен, присоединенный в богатой пролином области (PRAD), коллагеновый центральный домен и C-конец, обогащенный заряженными остатками и цистеинами. Каждый виток ColQ может присоединить АХЭ_т-тетрамер к своему PRAD, давая в результате типы А₄, А₈ и А₁₂ асимметрической АХЭ. Две группы заряженных остатков коллагенового домена (домены, присоединяющие гепаран-

сульфат-протеогликан, или HSPBD) плюс другие остатки в области C-конца указывают на то, что асимметрический фермент вошел в синаптическую базальную пластину. Область C-конца также должна участвовать в инициации сборки ColQ в виде тройной спирали, которая осуществляется от C-конца в направлении N-конца по типу замка-молнии.

Показано, что активность и степень сродства (афинность) эритроцитарной АХЭ у больных ВМС, вызываемых дефектами АХЭ, не изменена, за исключением дефекта АХЭ_т, что может помешать присоединению ее к ColQ. Дефицит АХЭ на концевой пластине может, таким образом, возникать из-за дефекта ColQ или ее белков, соединяющих ее с базальной пластиной, а также вследствие нарушения транспорта собранной асимметричной формы АХЭ. В 1998 г. был клонирован ColQ человека, определена структура генома ColQ и выявлены молекулярные причины дефицита АХЭ на концевой пластине вплоть до рецессивных мутаций ColQ. В настоящее время опубликованы данные о 24 мутациях ColQ в 25 родословных. Показано, что существует 4 главных типа мутаций:

- 1) мутации, включающие домен PRAD, предотвращают присоединение АХЭ_т к ColQ и образуют седиментационный профиль, идентичный профилю, получаемому после трансфекции одной АХЭ_т. Иными словами никаких частей асимметричной АХЭ нет, и если происходит экспрессия мутанта ColQ, то он не может соединиться с каталитическими субъединицами (Engel A. et al., 2003);
- 2) мутации, которые уменьшают коллагеновый домен, препятствуют объединению нитей ColQ в триплетную спираль; вместо этого образуется соединение одной урезанной нити ColQ с тетрамером АХЭ_т. Мутантная АХЭ не может войти в базальную пластину (см. рис. 1.3);
- 3) карбокситерминальная мутация (1082delC) приводит к синтезу однонитчатой АХЭ, в которой на-

рушена последовательность аминокислот (имеется вставка дополнительной аминокислоты) за счет 64 гидрофобных остатков, которые следуют за точечной мутацией со сдвигом рамки считывания генетической информации;

- 4) другие карбокситерминальные мутации вызывают либо уменьшенное количество R315X, либо в основном нормальные количества D342E, Q371X, R410Q, R410P и Y430S асимметричной формы АХЭ в виде тройной спирали.

Эти мутации предотвращают или сильно мешают проникновению АХЭ в синаптическое пространство. У больных с мутациями D342E, R410Q и R410P экспрессии АХЭ на концевых пластинках межреберных мышц не происходит (Engel A. et al., 2003). У больного, гомозиготного по Y430S, выявлены лишь следы АХЭ на концевой пластине. Показано, что мутации D342E и Q371X нарушают способность АХЭ проникать в синаптическую базальную мембрану.

Молекулярная диагностика ВМС, напоминающего синдром Ламберта—Итона. В основе заболевания может быть аномалия пресинаптического кальциевого канала или компонентов комплекса высвобождения синаптических везикул. Мутационный анализ гена *CACNA1A*, кодирующего порообразующую α_1 -субъединицу $Ca_v2,1$, или кальциевый канал P/Q-типа, экспрессированного на пресинаптической мембране, не выявил никаких мутаций.

Молекулярная диагностика медленноканальных ВМС. Начиная с 1995 г. различными исследователями было открыто, по крайней мере, 16 медленноканальных мутаций (Engel A. et al., 2003) (рис. 3.8). Первый медленноканальный ВМС, описанный на молекулярном уровне, представлял собой мутацию участка Thr-Pro во 2-м трансмембранном домене (TMD2) ϵ -субъединицы АХР. Известно, что TMD2 образует α -спираль, составляющую часть канала АХР, а мутация пролина (Pro), как предполагается, разрывает α -спираль и изменяет функционирование канала

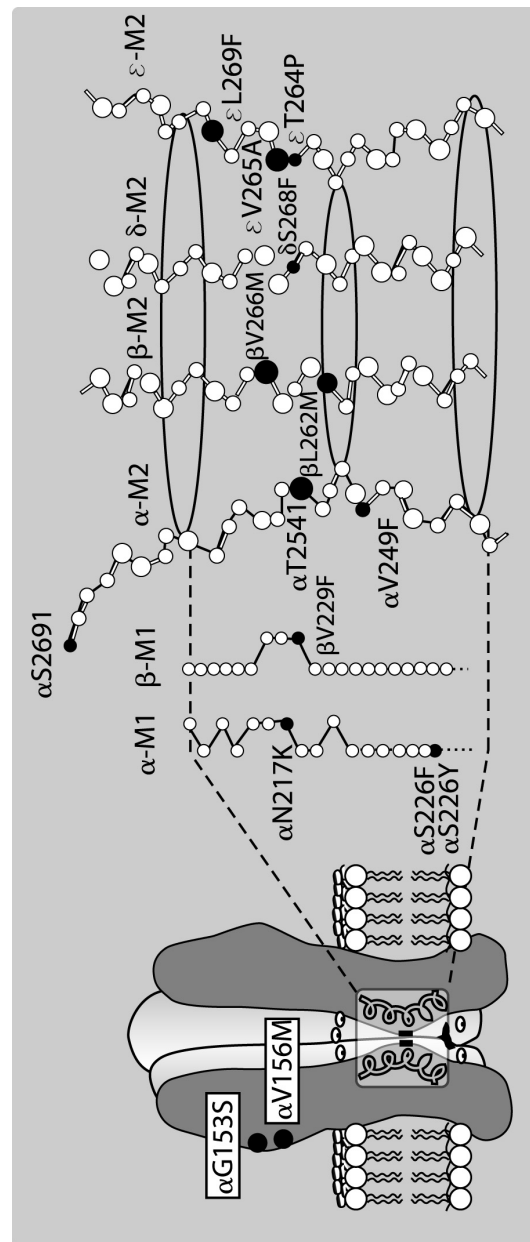


Рис. 3.8. Схематичное изображение мутаций при синдроме медленного канала (Engel A. et al., 2003)

ла. Доказательство этой гипотезы было получено методами встраивания этой мутации в ϵ -субъединицу, объединения ее с нормальными α -, β - и δ -субъединицами в *HEK*-клетках и записи одноканальных токов, вызванных АХ. Важно то, что одноканальные токи, записанные с рекомбинантных рецепторов, имитировали токи, записанные с концевых пластин больных, подтверждая тот факт, что Про-мутация является причиной болезни. Было показано, что открытие канала с мутацией происходит даже в отсутствие АХ, вызывая дополнительный, нежелательный выброс катионов. В целом эти исследования показали, что одна-единственная мутация в АХР вызывает длительный синаптический ответ и перегрузку концевой пластины катионами.

Когда впервые были открыты медленноканальные ВМС, молекулярный механизм, лежащий в основе активации мышечных АХР, был уже понятен во многих деталях. Было известно, что АХР функционируют как химически активированные переключатели по типу «все-или-ничего», структура которых отшлифована таким образом, что они не проявляют себя в отсутствие АХ, но бурно активируются в его присутствии. Одинаково важно то, что скорость переключения высока в обе стороны, как активации, так и дезактивации. Обе эти функции осуществлялись благодаря тонко сбалансированным константам скорости, которые управляют изменениями рецептора в различных функциональных состояниях.

Мутации в TMD-доменах имеют более тяжелые клинические последствия, чем мутации внеклеточных доменов. Мутации в домене канала, являющиеся наиболее частой причиной медленно-канальных ВМС, значительно замедляют константу скорости, которая управляет закрытием активного рецепторного канала. Эти мутации также сильно ускоряют редкие эпизоды спонтанного открытия канала нормального рецептора, обеспечивая стабильный поток активности канала в отсутствие АХ. Было обнаружено, что второй тип медленно-канальных ВМС связан с мутацией $\alpha G153S$ в сайте присоединения АХ, что соз-

давало патологически высокое сродство АХ к АХР. После активации рецептор высвобождает связанный АХ, чтобы быстро завершить ответ и приготовиться к следующему импульсу, но возросшее сродство мутировавшего рецептора к АХ приводит к медленному высвобождению связанного АХ, мешая восстановлению активности того же самого канала. В результате каждый эпизод активации состоит из 10–20 нормальных эпизодов, быстро сменяющих друг друга. Мутации в домене канала имели более тяжелые фенотипические проявления, чем мутации в сайте присоединения АХ. Наблюдалась вариабельность тяжести клинических проявлений у родственников, относящихся к одной родословной и у больных, относящихся к разным родословным. Таким образом, тяжесть фенотипических проявлений ВМС полностью не определяется локализацией мутации.

Усиление сродства АХР к АХ отмечено также для медленно-канальных мутаций в домене канала. Мутация V249F в TMD2 α -субъединицы усиливала сродство АХ в одном из 3 сайтов присоединения его к АХР. Мутация N217K в TMD1 α -субъединицы замедляет константу диссоциации АХ к k_{-2} более чем в 10 раз, чтобы увеличить число «открытий» за один эпизод активации. Последствия этой мутации такие же, как при мутации $\alpha G153S$. Эти мутации в TMD расположены далеко от сайта присоединения АХ и оказывают, возможно, свое действие через структуры, соединяющие сайт присоединения с воротами канала и, таким образом, вносят свой вклад в структуру, соединяющую АХР и АХ.

С точки зрения постсинаптического ответа на АХ, медленноканальные мутации значительно продлевают замедленную фазу потенциала концевой пластины. После синхронной активации выделенного под влиянием нервных импульсов АХ мутировавшие рецепторы остаются активными в течение времени t , описываемого уравнением $t = 1/\alpha (1 + \beta/k_{-2})$. Для мутаций в TMD2 время t увеличено, что обусловлено замедлением константы ско-

рости закрытия канала α . Для мутаций, нарушающих сайт присоединения АХ к АХР или структуру связи, время t увеличивается, благодаря замедлению константы скорости диссоциации АХ (k_{-2}). При медленноканальном ВМС ПКП увеличивается настолько, что оказывается длиннее рефрактерного периода мышечных волокон. Более того, суммирование пролонгированных потенциалов концевой пластины при физиологической стимуляции деполяризует постсинаптическую мембрану, инактивирует натриевые каналы нервно-мышечного соединения, вызывая увеличение слабости.

Оценка механизма, лежащего в основе медленноканальных ВМС, позволяет разработать рациональную терапию. Сверхактивированные рецепторы каналов должны быть супрессированы, для чего можно применить для лечения блокаторы АХР. В идеале, эти блокаторы должны избирательно присоединяться к каналу в открытом состоянии и достаточно долго удерживать его в заблокированном состоянии, чтобы закрыть и выделить связанный АХ. Хинидин был признан долгоживущим открытоканальным блокатором АХР. В концентрациях, используемых в клинической практике, хинидин, как было показано, уменьшает время открытого состояния канала медленных АХР, экспрессия которых наблюдается на НЕК-клетках. Лечение хинидином больных с медленноканальными ВМС улучшало их мышечную выносливость и частично корректировало их остаточные и повторные СМАП. Состояние двух больных с медленноканальными ВМС улучшилось под действием флуоксетина (fluoxetine), другого долгоживущего открытоканального блокатора АХР. Эффективное и безопасное применение обоих названных блокаторов требует мониторинга их уровней в сыворотке крови и тщательного наблюдения за пациентами, во избежание возможных побочных эффектов. Лечение больных долгоживущими открытоканальными блокаторами АХР показывает, как результаты исследований в фундаментальной науке могут быть перенесены в медицинскую практику.

Мутации, обнаруженные при медленноканальных ВМС, обеспечили новый взгляд на связь между структурой и функцией АХР. В частности, сам канальный домен оказался регулятором стабильности открытого состояния рецептора; его структура важна для поддержания рецептора в неактивном состоянии в отсутствие АХ и для обеспечения быстрого закрытия канала после переноса АХ. Мутация α N217K в *TMD1* влияет на соединение ворот канала с сайтом присоединения АХ. Сайт присоединения жизненно важен для регулирования продолжительности синаптического ответа, так как его структура нацелена на достаточно быстрое высвобождение связанного АХ, чтобы предотвратить чрезмерное стимулирование. Вероятно мутация α G153S локализована в центре присоединяющего домена, как было вычислено из недавно открытой атомарной структуры белка, соединяющегося с АХ, и последующих гомологических моделей последовательностей АХР. Таким образом, изучение медленноканальных мутаций позволило расшифровать функцию АХР, которая оставалась неизученной при стандартных подходах к ее исследованию.

Молекулярная диагностика быстроканальных ВМС. Быстроканальные ВМС впервые обнаружены в 1993 г. у одного больного. Через 2 года после выявления второго такого больного было проведено молекулярно-генетическое исследование мутаций гена АХР. У обоих больных наблюдалась однаковая мутация участка Pro-Leu в одном аллеле ϵ -субъединицы (ϵ P121L), при отсутствии мутаций во втором ее аллеле, так что кинетическая мутация определяла фенотип. Мутировавший остаток ϵ P121 локализовался в одном из сайтов присоединения АХ, которые находятся внутри большого синаптического выступа рецептора, сформированного на границе между α - и ϵ -субъединицами. Анализ импульсов, подаваемых АХ, показал, что мутация ϵ P121L нарушает средство АХ к сайту присоединения к АХР. Эта мутация, вместо того, чтобы воздействовать на средство АХ ко всем функциональным

состояниям АХР, избирательно уменьшает сродство АХ к открытому состоянию рецептора. Следовательно, слабое присоединение АХ к рецептору не может стабилизировать его открытие, и преобладает фаза закрытия рецептора. Мутация $\epsilon P121L$ значительно изменяет также скорость, при которой АХ активирует канал рецептора, замедляя его открытие в 500 раз и ускоряя закрытие в 2 раза.

Быстроканальные мутации наблюдались в α -, δ - и ϵ -субъединицах АХР (рис. 3.9). Мутации во внеклеточных доменах субъединиц уменьшают сродство к АХ, мутации в TMD-доменах уменьшают эффективность механизма «заслонки», а мутации в длинных цитоплазматических петлях ϵ -субъединицы дестабилизируют кинетику каналов. В большинстве случаев мутантный аллель, вызывающий кинетические аномалии, сопровождается ничтожной мутацией во втором аллеле, но гомозиготные быстроканальные мутации также присутствуют.

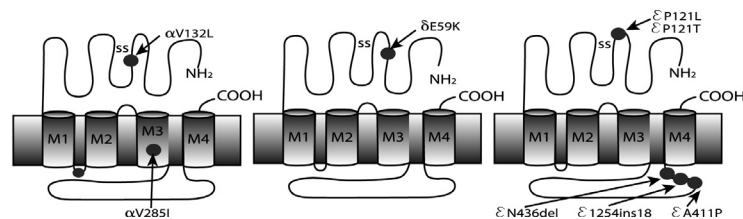


Рис. 3.9. Схематическое изображение мутаций в α , δ и ϵ -субъединицах АХР при быстроканальных синдромах (Engel A. et al., 2003)

Д. Беесон (D. Beeson) и соавт. в 2001 г. выявили у ребенка с артрогриппозом и быстроканальным ВМС гетероаллельную мутацию в гене δ -субъединицы гена АХР: делецию, $\delta 756del12$, и миссенс-мутацию, $\delta E59K$. Мутация $\delta 756del12$ оказалась нулевой мутацией, т.е. не приводила к каким-либо нарушениям. Мутация $\delta E59K$ приводила к значительному снижению продолжительности открытия АХР у детей и взрослых. Было показано, что эти мутации поражают фетальный АХР, приводя к развитию

врожденного артрогриппоза, и АХР после рождения, вызывая ВМС. Это первое сообщение о синдроме быстрого канала с мутацией ϵ -субъединицы гена АХР и сочетании мутаций гена АХР с врожденным множественным артрогриппозом.

После открытия феномена быстроканальных ВМС было опубликовано 7 других мутаций (Engel A. et al., 2003) и были выявлены новые локусы, ставшие причиной заболевания. Они включают дополнительные сайты в связывающем с лигандом домене ($\epsilon N182Y$, $\epsilon D175N$ и $\delta E59K$), сайты Cys-петля ($\alpha V132L$), в TMD3 ($\alpha V285I$) и в большом цитоплазматическом домене между TMD3 и TMD4 ($\epsilon 1254ins18$ и $\epsilon A411P$); в каждом случае мутантный аллель, вызывающий кинетическую аномалию, сочетается с нулевой мутацией в другом аллеле. В дополнение к своим кинетическим эффектам мутации $\alpha V285I$, $\epsilon 1254ins18$, $\epsilon N182Y$ и $\epsilon D175N$ уменьшают экспрессию АХР на концевой пластине. Однако мутации $\alpha V285I$, $\epsilon N182Y$ и $\epsilon D175N$ обнаруживают нормальную экспрессию на поверхности HEK-клеток, что свидетельствует о том, что кинетический дефект служит первичной причиной болезни.

Находясь на периферии сайта присоединения АХ, мутация $\epsilon D175N$ нейтрализует отрицательно заряженную аспарагиновую кислоту, влияя на вход и выход положительно заряженного АХ. Кинетический анализ импульсов, проходящих через единичные рекомбинантные рецепторы-мутанты, показывает, что АХ внедряется в связывающий сайт в 10 раз медленнее, чем в норме, а диссоциирует с этого сайта в 2 раза быстрее. Такие изменения в кинетике диссоциации АХ, вместе с концентрацией и временем высвобождения с нерва, заставляют ожидать 80% уменьшения пика амплитуды ПКП. Подобные же дефекты в кинетике присоединения АХ к сайту были недавно выявлены для мутации $\alpha V132L$, найденной в Cys-петле у всех членов суперсемейства рецепторов, и расположены они были в месте сочленения домена, присоединяющего лиганд, со всеми представителями TMD. Хотя все субъединицы АХР

содержат Cys-петлю, влияние на присоединение АХ было специфично для петли α -субъединицы. Мутация эквивалентного остатка в петле δ -субъединицы нарушает открытие и закрытие ворот канала, но мутации в петлях β - и ϵ -субъединиц не приводили к каким-либо изменениям. Возможное объяснение такой избирательности состоит в том, что в α -субъединице Cys-петли соединяется β -нитью с $\alpha W149$ в центре сайта присоединения — ключевым остатком, управляющим сродством рецептора к АХ. Другая мутация, которая, как ожидалось, должна была мешать присоединению АХ к $\delta E57K$, локализована в α/δ -сайте, но о его кинетическом анализе публикации нет.

Быстроканальная мутация $\alpha V285I$, найденная в *TMD3*, локализована в области третьего пути проникновения через мембрану со стороны наружных клеток. Ее эффект необычен, так как *TMD3* не тянется вдоль канала, а упакована вместе с тремя другими *TMD*, формируя механизм открытия и закрытия канала. Механизм текущих импульсов через рекомбинантные мутантные рецепторы нарушен в значительной степени, причем открытие замедленно, а закрытие ускоренно. Эффект мутации $\alpha V285I$ значителен, так как он увеличивает размер рецептора на 2 метиловые группы. Стратегическое расположение этих дополнительных метиловых групп, возможно, разрывает взаимное сплетение всех *TMD*, нарушая этим открытие и закрытие канала.

Две дополнительные быстроканальные мутации локализованы в длинной цитоплазматической петле, соединяющей *TMD3* и *TMD4*. Одна из них является последовательной дубликацией 6 остатков Ser-Thr-Arg-Asp-Gln-Glu, а другая мутация точечная — $\epsilon A411P$. Эти мутации локализованы у амфипатической спирали рядом с *TMD4*. Необычное расположение этих мутаций соответствует их столь же необычным функциональным следствиям. Обе мутации нарушают точность открытия и закрытия канала рецептора, приводя к изменению кинетики этих процессов. Последовательные дубликации вызывают резкие

переключения этих процессов от эффективного к неэффективному внутри отдельных эпизодов активации, что очень редко случается в норме. В противоположность этому, мутация $\epsilon A411P$ не вызывает таких переключений внутри отдельных эпизодов активации, но, вместо этого, проявляет себя в эпизодах активации, которые охватывают сверхширокий диапазон возможностей открытия канала. Неточность работы механизма ворот канала под влиянием этих рецепторов-мутантов наряду с уменьшением их экспрессии, нарушает естественную границу нервно-мышечной передачи.

Истощенный в значительной степени постсинаптический ответ на АХ обычен для всех быстроканальных мутаций. Поэтому вполне логичной целью терапии в этом случае является усиление постсинаптического ответа. Действительно, больные быстро-канальными ВМС хорошо реагируют на комбинированное применение 3,4-диаминопиридина (который увеличивает количество АХ, выделяемого при нервном импульсе) и АХЭП, увеличивающих доступность АХ в синаптической щели. Больные с нормальной плотностью АХР на складках нервно-мышечного соединения реагируют лучше других, так как уменьшение плотности рецепторов на складках влечет за собой пропорциональное уменьшение числа рецепторов, которые могут быть активированы АХ.

Исследование быстроканальных мутаций позволило обнаружить новые функции АХР. Проведено сравнение локализации некоторых быстроканальных мутаций со структурной моделью сайта соединения АХР с АХ, формируемую α - и ϵ -субъединицами. Периферия сайта соединения с АХ является ключевой для эффективного присоединения АХ к сайту и его своевременного выхода из соединительной полости. С другой стороны, более глубоко расположенные структуры сайта вносят свой вклад в силу связывания АХ, которая является избирательной для открытого состояния канала. Структура Cys-петли α -субъединицы влияет на присоединение и выход АХ из соеди-

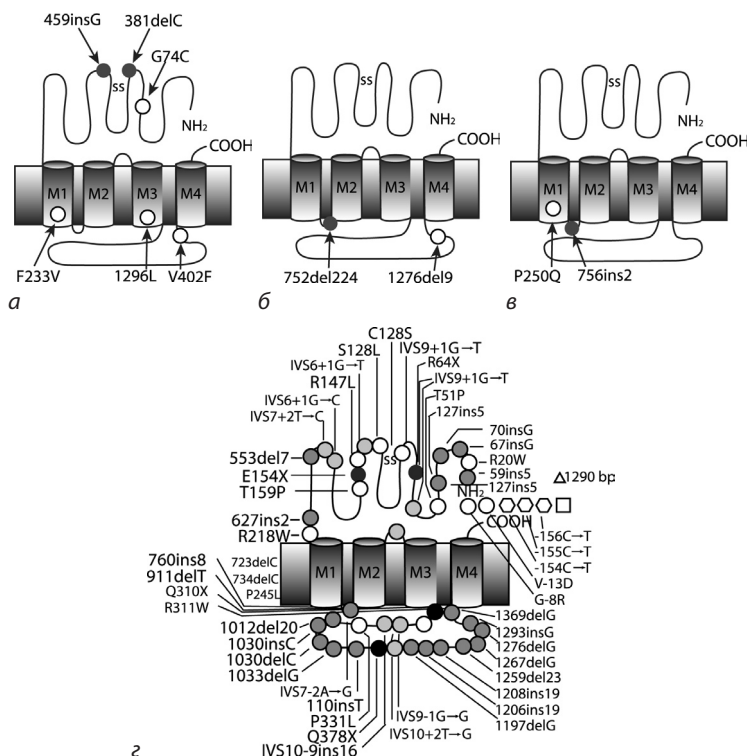


Рис. 3.10. Схематическая диаграмма низкоэкспрессивной и значительной мутаций в α- (а), β- (б), δ- (в) и ε-субъединицах АХР (z) (Engel A. et al., 2003):

Квадраты — хромосомные микроделеции, шестиугольники — промоторные мутации, белые кружки — миссенс-мутации, черные кружки — нонсенс-мутации, заштрихованные кружки — мутации со сдвигом рамки считывания, кружки с точками или пунктиром — сплайс-сайт мутации, наиболее вероятным следствием которых является пропуск бокового экзона (в табл. 3.10 даны ссылки на каждую мутацию)

нительной полости сайта, действуя так благодаря своему сцеплению с β-нитью, соединяющей 2 домена — связывающий лиганд- и трансмембранный домены. TMD3, функциональная важность которого оставалась неоцененной в течение многих лет, необходим для сплетения всех TMD, которые синхронно двигаются при открытии и закрытии

канала. И последнее, длинный цитоплазматический домен, хотя и не входит в структуру механизма ворот канала, является ключевым в качестве регулятора точности его открытия и закрытия. Обнаружение мутаций, вызывающих быстросеканальные ВМС, проливает свет на вариабельность структуры АХР, что очень важно для функции рецептора, работающего как химический переключатель.

Молекулярно-генетические исследования ВМС с дефицитом АХР, вызванным мутацией генов субъединиц АХР. ВМС с тяжелым дефицитом АХР на концевой пластине являются результатом различных типов гомозиготных или, более часто, гетерозиготных аутосомно-рецессивных мутаций генов субъединиц АХР (табл. 3.10, рис. 3.10). При ВМС выявлены мутации во всех субъединицах, кроме γ. Большинство мутации находятся в ε-субъединице. Возможная причина этого состоит в том, что постоянная экспрессия γ-субъединицы, хотя и в небольшом количестве, может компенсировать отсутствие ε-субъединицы, в то время как больные с незначительными мутациями в других субъединицах могут не выжить при отсутствии заменяющей субъединицы. Кроме того, ген, кодирующий ε-субъединицу, и особенно экзоны, кодирующие длинную цитоплазматическую петлю, имеют высокое содержание ГЦ, которое может предрасполагать к перестройкам ДНК.

Таблица 3.10

Мутации в генах субъединиц рецепторов ацетилхолина

Субъединица	Действие мутации	Мутация
α-субъединица	Сдвиг рамки считывания (фреймшифт)	α381delC α459insG
	Замена аминокислоты (миссенс)	αG74C αF233V αI296L αV402F
β-субъединица	Сдвиг рамки считывания (фреймшифт)	β1276del9 βdel E×8

Продолжение ↗

Окончание табл. 3.10

Субъединица	Действие мутации	Мутация	
δ-субъединица	Сдвиг рамки считывания (фреймшифт) Замена аминокислоты (миссенс)	δ756ins2 δP250Q	
ε-субъединица	Хромосомная микроделеция	εΔ1290dp	
	Промоторная точечная мутация	ε-156C→T ε-155G→A ε-154G→A	
	Изменение сигнального пептида, замена аминокислоты (миссенс)	εV-13D εG-8R	
	Сдвиг рамки считывания (фреймшифт)	ε59ins5 ε67insG ε70insG ε127ins5 ε553del7 ε627 ins2 ε723delC ε734delC ε760 ins8 ε911delT ε1012del20 ε1030insC	ε1030delC ε1033delG ε1101insT ε1197delG ε1206ins19 ε1208 ins19 ε1259del23 ε1267delG ε1276delG ε1293insG ε1369delG
	Преждевременное прекращение трансляции (нонсенс)	εR64X εE154X εQ310X εQ378X	
	Изменение сайта сплайсинга	εIVS41G→A εIVS6-1G→C εIVS61G→T εIVS7-2A→G εIVS72T→C	εIVS91G→T εIVS9-1G→C εIVS102T→G εIVS10-9ins16
	Замена аминокислоты (миссенс)	εR20W εT51P εC128S εS143L εR147L	εT159P εP245L εR311W εP331L

Дефицит АХР возникает в результате мутаций, которые вызывают преждевременное окончание трансляции

цепи вследствие сдвига рамки считывания, нахождения в сплайс-сайте стоп-кодона; точечных мутаций в промотерном регионе; хромосомной микроделеции; миссенс-мутаций. Некоторые миссенс-мутации возникают в сигнальном пептидном участке (εG-8R и εV-13D). Другие миссенс-мутации включают пептидные участки, важные для сборки пентамерного рецептора. Мутации этого типа наблюдались в ε-субъединице в сайте N-гликозилирования (εS143L), в цистеине 128 (εC128S), аргинине 147 (εR147L) внеклеточного домена, лежащем между изолейцином 145 и треонином 150, которые являются остатками, участвующими в сборке субъединиц АХР, и в треонине 51 (εT51P); а также одновременно с делецией 3 кодонов в длинной цитоплазматической петле β-субъединицы. Другие миссенс-мутации влияют как на экспрессию АХР, так и на его кинетику. Например, εR311W на длинной цитоплазматической петле, между M3 и M4, уменьшает, а εP245L в M1 увеличивает продолжительность открытия канала. В случае с εR311W и εP245L, кинетические последствия скромные и, похоже, перекрываются уменьшением экспрессии мутантного гена. P. Soltanzaden и соавт. (2005) впервые описали ВМС у трех больных в Иране, выявив новую гомозиготную нонсенс-мутацию в ε-субъединице АХР — K171X (511A→T). Мутация вызвала остановку трансляции в 6-м экзоне гена ε-субъединицы АХР. 171-я позиция аминокислоты в белковой молекуле ε-субъединицы АХР находится в N-концевом внеклеточном домене. Мутация привела к дефициту АХР в концевой пластине. Клиническая картина у больных не отличалась от таковой у больных ВМС, вызванными мутациями гена, кодирующего ε-субъединицу АХР за исключением сгибательной контрактуры в коленном суставе у одного из трех больных.

Гомозиготная мутация сдвига рамки считывания ε1267delG характерна для цыганских семей и семей юго-восточно-европейского происхождения, причем исходит она от цыган.

Молекулярно-генетические исследования ВМС, связанных с дефектами рапсина. Рапсин играет ключевую роль в процессе концентрации АХР на постсинаптической мембране. В мышечных трубочках агрин и мышечная специфическая киназа, а также, возможно, другие механизмы регулируют агрегацию рапсина. Рапсин присоединяется к длинной цитоплазматической петле каждой субъединицы АХР.

На концевой пластине рапсин соединяет АХР с субсинаптическим цитоскелетом через дистрогликан. Первичная структура рапсина определяет четкие структурные домены: 1) сигнальная структура на аминоконце, необходимого для ассоциации мембраны; 2) семь тетрапептидных повторов (ТПП) (TPRs, кодоны 6–279), которые содействуют самоассоциации рапсина; 3) домен в виде скрученной катушки (домены 298–331), гидрофобная структура которых может присоединяться к длинной цитоплазматической петле каждой субъединицы АХР; 4) цистеин-насыщенный RING-H2 домен с кодонами 363–402, который присоединяется к цитоплазматическому домену β -дистрогликана и является медиатором фосфорилирования АХР, индуцированного мышечной специфической киназой; 5) сайт фосфорилирования серина на кодоне 406. Транскрипция рапсина в мышцах контролируется определяющими миогенез факторами спираль-петля-спираль, которые соединяются с CIS-ACTING (регуляторном генетическом элементе, локализованном в той же молекуле ДНК, что и ген, который он регулирует) последовательностью E-блока в промотере рапсина.

Среди больных ВМС с дефицитом АХР, но с отсутствием в нем мутаций, обнаружено 3 аутосомно-рецессивные мутации рапсина. У одного больного найден L14P в ТПП1 и N88K в ТПП3; 2 больных оказались гомозиготными по N88K и 1 больной имел N88K и 553ins5 в ТПП5 (см. рис. 3.8). Также была обнаружена мутация N88K. Анализ гаплотипов показал, что 20% мутантных аллелей имели один и тот же гаплотип. Таким образом, либо мута-

ция N88K возникала повторно и независимо в различных популяциях, либо N88K является древней мутацией.

Исследование концевых пластин у больных с дефицитом рапсина позволило обнаружить упрощенные постсинаптической области, что указывало на нарушения в постсинаптическом развитии. Исследование экспрессии на НЕК-клетках показало, что ни одна из мутаций не мешала самоассоциации рапсина, но все 3 мутации уменьшали образование кластеров между рапсином и АХР. Тот факт, что миссенс-мутации в ТПП-доменах уменьшают образование кластеров между АХР и рапсином, подразумевает, что эффекты этих мутаций распространяются прямо к домену в виде скрученной катушки. Кроме того, мутации могли обладать аллостерическим действием на конформацию доменов в виде скрученной катушки или кольцевых-H2, или же мутации в ТПП могли нарушать совместный транспорт АХР и рапсина к поверхности клеток.

А Энгель (A. Engel) и соавт. в 2003 г. идентифицировали 2 мутации элементов E-блока в промотере рапсина (-38A→G и -27C→G) у больных ВМС. Мутация -38A→G оказалась гомозиготной в 7 восточно-еврейских родословных с характерными лицевыми мальформациями и была прослежена до общего предка — источника болезни. Патогенность мутаций в E-блоке была подтверждена в последующем.

У других больных с дефицитом АХР, но с отсутствием мутаций в АХР или рапсине, дефект мог находиться в других специфичных к концевой пластине белках, участвующих в регуляции экспрессии или агрегации АХР на концевой пластине. К этим белкам относятся: 1) агрин нервов; 2) MuSk; 3) белок MASC, способствующий соединению агрина с мышечной специфической киназой; 4) белок RATL, функция которого заключается в соединении мышечной специфической киназы с рапсином; 5) киназы *Src*, *Fyn* и *Yes*, которые подают сигнал в прямом направлении от мышечной специфической киназы; 6) β -дистрогликан; 7) нейрегулин и его сигнальные молекулы; 8) нейротро-

фин-4 и его рецептор *TrkB*⁰; 9) α -дистробревин; 10) атрофин; 11) α -синтрофин. Но до настоящего времени у человека в этих молекулах не обнаружено никаких мутаций.

Таким образом, исследование ВМС выявило несколько ключевых моментов, которые имеют отношение к будущему изучению неврологических болезней.

1. Природа выбирает генетические мишени наугад, так что любой молекулярный компонент биологического процесса может подвергнуться патологическому воздействию. Молекулярные мишени ВМС охватывают пространство от пресинаптической до постсинаптической мембраны, поражая все ключевые участники нервно-мышечной передачи.

2. Механизмы, лежащие в основе нормального функционирования нервно-мышечного окончания, были выявлены при молекулярно-генетическом исследовании. Так, например, предполагали, что дефект АХТ вряд ли может вызывать болезнь, ограниченную нервно-мышечным соединением, но эти мутации оказались причиной тяжелых форм ВМС без дисфункций центральной или вегетативной нервной системы. Первоначально предполагали, внедрение АХЭ в синаптическую базальную мембрану зависит только от наличия заряженных остатков в коллагеновом домене ColQ, но несколько мутаций при ВМС в ColQ показали, что карбокси-терминальная область также является ключевой для подобного внедрения. Кроме того, существовал вопрос, на который долго не было ответа, оказывает ли влияние открытие и закрытие канала АХР, а также связывание АХ на замедление синаптического ответа. Мутации, вызывающие ВМС показали, что оба названных фактора управляют этим процессом.

3. Выявление за последние 10 лет причин и механизмов, лежащих в основе ВМС, пролило свет на эффективность подхода, связанного с генами-кандидатами, когда на основе клинических, физиологических и морфологических данных осуществляется переход к мутационному анализу, и идентифицированные мутации тщательно про-

веряются с помощью соответственно разработанных исследований экспрессии генов.

3.4. Лечение врожденных миастенических синдромов

Для коррекции двигательных нарушений у больных ВМС используют АХЭП, кроме ВМС с дефицитом АХЭ. Используют также 3,4-диаминопиридин, хинидин, эфедрин.

3,4-диаминопиридин увеличивает освобождение АХ из нервно-мышечного окончания путем повышенного поступления ионов Ca^{2+} в нервное окончание или блокируя калиевые каналы в мышечной мембране. Препарат действует пресинаптически. При сочетанном применении с АХЭП может отмечаться синергизм влияния. 3,4-диаминопиридин назначают в таблетках по 20 мг. У больных ВМС ежедневная доза варьирует от 10 до 80 мг в зависимости от возраста и ответа на прием препарата. Начинают лечение с дозы 5–10 мг, постепенно увеличивая ее до максимально оптимальной (30 мг в возрасте 5–8 лет, 60 мг для больных 8–10 лет и 80 мг у больных старше 15 лет). По данным В. Anlar и соавт. (1996), у 5 из 11 больных ВМС отмечалось клиническое улучшение при лечении 3,4-диаминопиридином. У больных уменьшались глазодвигательные нарушения. Улучшение также наблюдалось у пациентов с легким течением болезни. Побочные эффекты отмечались у 6 больных в виде головной боли (у 2 больных), онемения вокруг рта и пальцев (у 5), тошноты (у 4) и светобоязни (у 1 больного).

АХЭП дают различные результаты при лечении ВМС. Альтернативным методом лечения является 3,4-диаминопиридин. Вероятно, пресинаптические и постсинаптические дефекты по-разному реагируют на 3,4-диаминопиридин.

Хинидин — алколоид, содержащийся в коре хинного дерева, является правовращательным изомером хинина. Хинидин блокирует быстрые натриевые каналы, умень-

шает скорость прохождения ионов натрия и кальция через клеточную мембрану. Препарат принимают внутрь за 30 мин до еды в виде таблеток по 0,1 и 0,2 г. Максимальная концентрация в крови наступает через 2–3 ч. Продолжительность действия составляет 6–8 ч. Неизменный хинидин и продукты его превращения выводятся почками. Кинидин-дурулес — это препарат хинидина с замедленным его высвобождением. 1 таблетка препарата содержит 0,2 хинидина сульфата. Выпускается также препарат хинидина глюконат в виде таблеток с медленным высвобождением хинидина. При передозировке возможно угнетение сердечной деятельности, брадикардия, снижение артериального давления, тошнота, рвота, понос, двоение в глазах, аллергические кожные реакции. Возможны осложнения в виде тромбоэмболии. Противопоказаниями к назначению являются атриовентрикулярная блокада, блокада ветвей пучка Гиса, нарушение внутрижелудочковой проводимости, тромбоцитопеническая пурпура. Ограничением к применению препарата служит неполная предсердно-желудочковая блокада, синдром врожденного удлинения интервала $Q-T$, интоксикация препаратами дигиталиса, миокардит, бронхиальная астма, эмфизема легких, глаукома, инфекционные заболевания с лихорадкой, гипертиреоз, нарушение функции почек и печени, детский возраст для пролонгированных форм. Побочными действиями хинидина являются желудочковая тахикардия, фибрилляция желудочков, волчаночноподобный синдром, артериальная гипотензия, обморок, головокружение, горький привкус во рту, гастралгия, гепатит, анемия, тромбоцитопения, аллергические реакции (повышение температуры тела, кожные высыпания, крапивница, кожный зуд, покраснение кожных покровов, одышка или затруднение дыхания). При назначении хинидина необходимо регулярно проводить ЭКГ для выявления удлинения интервал QRS , исследовать общий анализ крови, определять уровень калия в крови, функциональное состояние почек и печени, измерять артериальное давление.

Эфедрин гидрохлорид — адреномиметик непрямого действия (симпатомиметик), стимулирует α - и β -адренорецепторы.

Эфедрин, как непрямодействующий адреномиметик, оказывает влияние на пресинаптическое окончание, стимулируя освобождение норадреналина, но также оказывает стимулирующее воздействие непосредственно на адренорецепторы. В механизме действия основную роль играет способность эфедрина блокировать фермент моноаминоксидазу, что приводит к нарушению процесса инактивации адреналина и норадреналина. В результате этого эффекты, связанные с адренергической иннервацией, становятся более выраженными и стойкими. Воздействие эфедрина на организм аналогично действию адреналина. Адреналин, наряду с воздействием на сердечно-сосудистую, дыхательную системы, оказывает влияние и на поперечно-полосатую мускулатуру — повышает тонус скелетных мышц, уменьшает утомляемость и изменяет электровозбудимость мышц. При повторном введении эфедрина с небольшим интервалом (10–30 мин) его прессорное действие быстро снижается, возникает тахифилаксия. Тфхифилаксия связана с прогрессирующим уменьшением запасов норадреналина в пресинаптическом окончании, так как эфедрин усиливает выделение из них норадреналина. Эфедрин гидрохлорид назначают внутрь в таблетках по 0,025 г. Высшая разовая доза для взрослых — 0,05 г; суточная — 0,15 г.

Антихолинэстеразные препараты. Медиатором нервно-мышечных окончаний является АХ. Инактивация его избытка осуществляется ферментом АХЭ. Она локализуется в постсинаптической мембране (у окончаний двигательных нервов, в вегетативных ганглиях, у окончаний постганглионарных холинэргических волокон и др.). Это способствует быстрому ферментному гидролизу АХ с превращением его в холин и уксусную кислоту. Холинэргическая передача в значительной степени зависит от активности АХЭ. Одна из возможностей облегчения передачи возбуждения, осуществляемой с участием АХ,

заключается в ингибировании АХЭ. С этой целью применяют АХЭП. Основные эффекты их связаны с тем, что они блокируют АХЭ, и, следовательно, стабилизируют АХ, действие которого становится более выраженным и продолжительным.

Припятуя гидролизу АХ, АХЭП усиливают и пролонгируют его мускарино- и никотиноподобные эффекты. М-холиномиметическое действие проявляется в повышении тонуса и сократительной активности ряда гладких мышц (круговой мышцы радужной оболочки и ресничной мышцы глаза, мышц желудочно-кишечного тракта, мочеточников, желчных путей и др.). АХЭП влияют на сердце, в терапевтических дозах они обычно вызывают брадикардию, уменьшение ударного объема, замедляют скорость распространения возбуждения по проводящим путям сердца. Снижается артериальное давление. При введении АХЭП в больших дозах может возникать тахикардия. Влияние на частоту сердечных сокращений связано не только с возбуждением его М-холинорецепторов, но также со стимуляцией холинорецепторов вегетативных ганглиев, мозгового слоя надпочечников и центров продолговатого мозга.

АХЭП усиливают секрецию бронхиальных, пищеварительных, потовых и других желез, имеющих холинергическую иннервацию.

Никотиноподобные эффекты проявляются в отношении нервно-мышечной передачи, вегетативных ганглиев. В малых дозах АХЭП облегчают передачу возбуждения на скелетные мышцы и в вегетативных ганглиях, а в больших — оказывают угнетающее действие.

АХЭП в малых дозах оказывают стимулирующее действие на центральную нервную систему (возникает десинхронизация ЭЭГ, укорачивается время некоторых рефлекторных реакций). В больших и особенно в токсических дозах эти вещества угнетают центральную нервную систему.

Наибольший практический интерес представляет влияние АХЭП на функцию глаз, тонус и моторику желудоч-

но-кишечного тракта и мочевого пузыря, нервно-мышечную передачу и центральную нервную систему.

АХЭП влияют на органы зрения следующим образом:

- вызывают сужение зрачка (миоз), что связано с возбуждением М-холинорецепторов круговой мышцы радужной оболочки и сокращением этой мышцы;
- снижают внутриглазное давление в результате миоза. Радужная оболочка при этом становится тоньше, в большей степени раскрываются углы передней камеры глаза, в связи с этим улучшается отток внутриглазной жидкости через фонтановы пространства в шлеммов канал. Способность АХЭП снижать внутриглазное давление широко используют при лечении глаукомы;
- вызывают спазм аккомодации. В данном случае АХЭП стимулируют М-холинорецепторы ресничной мышцы (*m. ciliare*). Ее сокращение расслабляет циннову связку и хрусталик увеличивает свою кривизну. Глаз устанавливается на ближнюю точку видения.

На моторику желудочно-кишечного тракта АХЭП оказывают стимулирующее влияние. АХЭП действуют на М- и Н-холинорецепторы холинергической иннервации и на ауэрбахово сплетение. Тонус и сократительная способность мочевого пузыря также повышаются. Эти эффекты используют при атонии кишечника или мочевого пузыря.

В зависимости от химической структуры и физико-химических свойств АХЭП разделяют на:

1. АХЭП (галантамин, физостигмин, амиридин, нейромидин), способные проникать через биологические мембраны, в том числе через гематоэнцефалический барьер, а также оказывающие выраженное влияние на центральную нервную систему;
2. АХЭП (прозерин, калимин, оксазил), с трудом проникающие через гематоэнцефалический барьер.

Область применения разных АХЭП различна. Для резорбтивного действия — при миастении, атонии кишечника и мочевого пузыря, двигательных нарушениях после параличей, травм, в восстановительном периоде после перенесенного полиомиелита, энцефалита, при невритах, при органическом поражении ЦНС, сопровождающихся двигательными нарушениями, применяют относительно малотоксичные средства — прозерин, галантамин, а также калимин (рис. 3.11) и оксазил, действующие более продолжительно, чем прозерин.

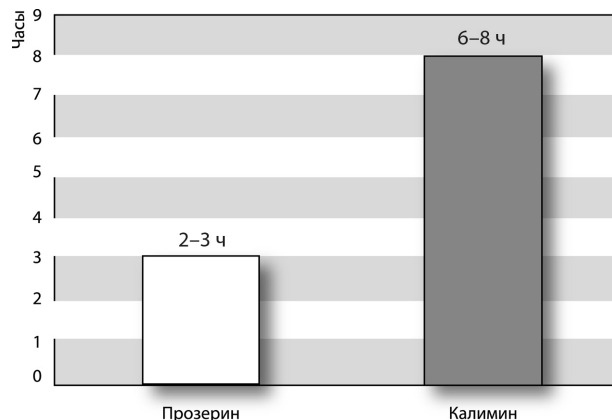


Рис. 3.11. Продолжительность действия АХЭП

Через гематоэнцефалический барьер лучше проникает галантамин, чем прозерин. В связи с этим для лечения остаточных явлений после перенесенного полиомиелита галантамин более эффективен. Он действует продолжительнее, чем прозерин, но эффект развивается медленнее, чем у последнего.

Амиридин наряду с антихолинэстеразным действием избирательно ингибирует быстрые калиевые каналы, облегчает вход ионов кальция и увеличивает высвобождение медиатора из пресинаптической терминали.

Следует избегать передозировки препаратов, так как в этом случае значительно усиливаются побочные эффекты (табл. 3.11). При появлении побочных эффектов АХЭП назначают 0,5 мл 0,1% раствора атропина подкожно.

Таблица 3.11

Побочные действия АХЭП

Мускариноподобные	Никотиноподобные	Поражение ЦНС
Миоз	Повышенная утомляемость	Общее возбуждение
Гиперсаливация	Общая мышечная слабость	Головокружение
Повышение трахеобронхиальной секреции	Дизартрия	Страх
Потливость	Дисфагия	Бессонница
Слезотечение	Слабость дыхательной мускулатуры	Головная боль
Тошнота	Мышечные фасцикуляции (веки, лицо, шея, конечности)	Аффективная лабильность или сонливость
Отрыжка	Тризм	Судороги
Боли в животе	Длительные мышечные судороги	Затемнение сознания
Диарея	Тремор	Кома
Рвота	Мышечные сокращения	
Анорексия	Синдром сухого языка	
Полиурия	Диспноэ – шок – апноэ	
Недержание мочи и кала		
Полипноэ – диспноэ		
Отек легких		
Брадикардия		
Артериальная гипотония		
Тенезмы		

АХЭП противопоказаны при:

- эпилепсии;
- гиперкинезах;
- бронхиальной астме;

- при ИБС, стенокардии напряжения, выраженном атеросклерозе.

Лечение АХЭП проводят и во время беременности женщинам, больным миастенией. Обычно со стороны плода никаких осложнений не наблюдается, хотя есть сообщение о микроцефалии, вызванной калимином (Al-Sherlee A. et al., 2001).

Прозерин (неостигмин, стигмазан). Препарат применяют в таблетках по 0,015 г внутрь или в ампулах подкожно, внутримышечно, внутривенно 0,05% раствор по 1,0–2,0 мл (в зависимости от массы тела). Препарат действует 2–3 ч (до 4 ч) (табл. 3.12). Действие 1 таблетки препарата соответствует действию 1 ампулы (1 мл).

Таблица 3.12

Антихолинэстеразные препараты

Препарат	Форма выпуска		Продолжительность действия	Прием препарата			
	таб.	амп.		внутри	п/к	в/м	в/в
Нейромидин (амиридин)	0,02	0,5% 1,0; 1,5% 1,0	2–3 ч	+	+	+	+
Прозерин	0,015	0,05 1,0	2–3 ч	+	+	+	+
Калимин (местинон, пиродостигмин)	0,06	0,5% 1,0	6–8 ч	+	+	+	+

Примечание: п/к — подкожно; в/м — внутримышечно; в/в — внутривенно.

Калимин (пиродостигмина бромид, местинон) — АХЭП обратимого действия. По химическому строению и действию близок к прозерину, но несколько активнее. Калимин применяют в более высоких дозах и действует он более продолжительно (6–8 ч). Калимин выпускают в виде таблеток по 60 мг и в ампулах (калимин форте) по 1,0 мл 0,5% раствора (5 мг). Калимин выводится из организма почками. Пероральный прием калимина осуществляют через 6–8 ч в максимальной суточной дозе 360 мг

(6 таб.), а однократно — до 120 мг (2 таб.). При приеме калимина следует соблюдать определенный временной режим: применение каждой последующей дозы не чаще, чем через 5–6 ч в связи с опасностью возникновения холинергической интоксикации.

Калимин форте вводят подкожно, внутримышечно или внутривенно медленно в дозе 1,5 мл 0,5% раствора при весе больного 50–60 кг, в дозе 2,0 мл при весе 60–80 кг и 2,5 мл при весе от 80 до 100 кг. Максимальная разовая доза составляет 12,5 мг (2,5 мл) (Гехт Б.М. и соавт., 2003). Период полувыведения калимина составляет 1,5 ч при внутривенном введении. Для уменьшения нежелательных мускариновых эффектов калимина (также других АХЭП) его вводят с 0,1% раствором атропина в количестве 0,2–0,5 мл. 1 мл прозерина или калимина примерно соответствует 1 таблетке прозерина, калимина и оксазила.

Для определения времени приема последующих доз пероральных препаратов следует ориентироваться на длительность действия препарата и его дозу, после прекращения действия препарата состояние больного возвращается к исходному уровню. Калимин вызывает нерезко выраженный холинергический эффект (рис. 3.12).

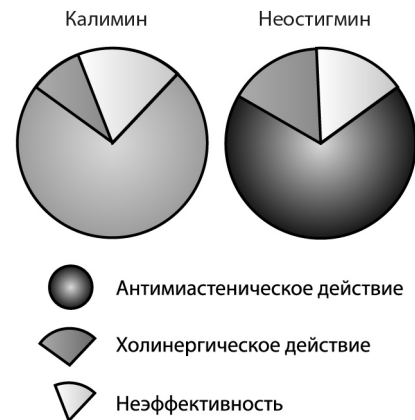


Рис. 3.12. Соотношение основного и побочного действий АХЭП

Нейромидин — АХЭП, обратимо ингибирующий АХЭ. Препарат блокирует медленные выходящие калиевые потоки пресинаптических мембран и способствует их деполяризации. Нейромидин блокирует также натриевые каналы, но существенно слабее, чем калиевые. С этим эффектом частично связаны его нерезко выраженные седативные и анальгетические свойства. Нейромидин восстанавливает нервно-мышечную передачу в скелетных мышцах. Препарат усиливает действие АХ и других медиаторов (адреналина, серотонина, гистамина, окситоцина) на гладкие мышцы. Нейромидин:

- обладает антихолинэстеразным действием;
- блокирует медленные входящие калиевые потоки пресинаптических мембран;
- также блокирует калиевые каналы постсинаптических мембран.

Антихолинэстеразное действие нейромидина очень кратковременное (20–30 мин). Эффект препарата в течение 2 ч обусловлен блокадой калиевых каналов. Нейромидин проникает через гематоэнцефалический барьер, стимулирует центральную холинергическую передачу, оказывает активизирующее действие на центральную нервную систему в сочетании с некоторыми седативными проявлениями, улучшает когнитивные функции, в том числе обучаемость и память.

Таким образом, нейромидин обладает следующими эффектами;

- 1) восстанавливает и стимулирует нервно-мышечную передачу;
- 2) увеличивает сократимость гладкой мускулатуры;
- 3) умеренно стимулирует центральную нервную систему, одновременно оказывая некоторый седативный эффект;
- 4) улучшает память и способность к обучению;
- 5) оказывает анальгетический эффект;
- 6) обладает антиаритмическим действием.

Препарат быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, преимущественно в двенадцатиперстной кишке, в меньшей степени — в тонкой и повздошной кишках и лишь 3% нейромидина всасывается в желудке. После приема внутрь максимальная концентрация препарата в крови достигается через 1 ч. Нейромидин хорошо распределяется в организме, метаболизируется в печени, выделяется почками путем канальцевой секреции, период полувыведения — 40 мин. Нейромидин не кумулируется в организме. Для сравнения: период полувыведения калимина составляет 2,5 ч при приеме внутрь и 1,5 ч при внутривенном введении. Продолжительность действия нейромидина — 2–3 ч, как у прозерина. Нейромидин уступает по силе и длительности действия калимину и действует слабее прозерина. Нейромидин увеличивает сократительную активность мышц, оказывая прямое воздействие на миофибриллы, в то время как прозерин таким свойством не обладает.

Препарат также не обладает тератогенным, эмбриотоксическим, мутагенным, канцерогенным, алергизирующим или иммуномодулирующим действием, не оказывает отрицательного влияния на эндокринную систему.

С осторожностью назначают нейромидин при тиреотоксикозе, при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Учитывая седативный эффект нейромидина следует соблюдать осторожность при назначении его водителям транспортных средств, а также лицам, профессиональная деятельность которых требует быстроты психомоторных реакций. Во время лечения нельзя употреблять алкоголь.

Нейромидин назначают внутрь по 40 мг (2 таб.) до 3 раз в сутки, обычно вместе с калимином, так как нейромидин усиливает его действие. В отличие от калимина, для нейромидина не характерны холинергические эффекты. Другая схема назначения препарата — по 1–2 таб. через каждые 2–3 ч до 5–6 раз в сутки, при тяжелой форме миастении чередуя нейромидин с калимином и другими

АХЭП. При развитии побочных эффектов, таких как гиперсаливация, брадикардия, головокружение, тошнота, рвота, кожные аллергические реакции (зуд, сыпь), дозу препарата уменьшают или отменяют его на 1–2 дня. Выраженность гиперсаливации и брадикардии можно уменьшить назначением атропина. Применение нейромидина во время беременности приводит к повышению тонуса матки и может вызвать преждевременные роды, в связи с чем во время беременности препарат не назначают. В период кормления грудью препарат противопоказан.

Нейромидин выпускают в таблетках по 20 мг. Препарат принимают независимо от приема пищи.

С целью предотвращения развития холинергического криза, необходимо учитывать продолжительность действия АХЭП (см. табл. 3.12, рис. 3.10) и действие АХЭП на различные группы мышц. Как видно прозерин действует быстро, но кратковременно. Калимин действует более продолжительно, чем прозерин.

Больные обладают разной чувствительностью к различным АХЭП, поэтому препарат необходимо подбирать индивидуально. Клинический эффект АХЭП проявляется увеличением силы и уменьшением мышечной утомляемости.

Лечение различных форм ВМС. Так как в основе отдельных ВМС лежат различные патогенетические механизмы, лечение их имеет ряд особенностей. Так, для лечения *ВМС с эпизодическим апноэ* применяют АХЭП, которые уменьшают слабость у больных в периоды между респираторными кризами, а также предотвращают или смягчают кризы (табл. 3.13). По этой причине профилактическое лечение АХЭП показано даже тем больным, у которых нет мышечной слабости между кризами. Во время респираторных кризов больному назначают парентеральное введение АХЭП. Каждый больной также должен иметь при себе спасательную надувную сумку и подогнанную маску для использования во время криза и в период доставки в больницу. Каждому больному с подозрением

на ВМС с эпизодами апноэ необходим длительный мониторинг ночных апноэ.

Таблица 3.13

Лечение различных форм врожденных миастенических синдромов

Врожденные миастенические синдромы	Лечение
Врожденный миастенический синдром с эпизодами апноэ	Антихолинэстеразные препараты
Пресинаптические врожденные миастенические синдромы с уменьшенным выделением квантов при нервном импульсе	Антихолинэстеразные препараты, 3,4-диаминопиридин, эфедрин
Дефицит ацетилхолинэстеразы концевой пластины	Избегать назначения антихолинэстеразных препаратов
Синдромы медленного канала	Хинидин-сульфат Флуоксетин
Быстроканальные врожденные миастенические синдромы	3,4-диаминопиридин
Врожденные миастенические синдромы с дефицитом ацетилхолиновых рецепторов, вызванным мутацией генов субъединиц ацетилхолиновых рецепторов	Антихолинэстеразные препараты 3,4-диаминопиридин

При исследовании больных с *пресинаптическими ВМС с уменьшенным выделением квантов при нервном импульсе* было показано, что один из 3 больных хорошо реагировал на комбинированное лечение пиридостигмином и 3,4-диаминопиридином, у одного наблюдалось лишь слабое улучшение под влиянием комбинированной терапии пиридостигмином и эфедрином, а у одного больного отсутствовала адекватная реакция на пиридостигмин.

При ВМС, обусловленном *дефицитом АХЭ на концевой пластине*, в настоящее время нет удовлетворительной лекарственной терапии. АХЭП следует избегать, поскольку они неэффективны, а больные с дефицитом АХЭ имеют усиленную чувствительность к их побочному токсическому действию. Если нет подозрения на дефицит АХЭ

у больного при наличии у него резистентности к АХЭ врач может увеличить дозу препарата, а это, в свою очередь, приведет к избыточной бронхиальной секреции и ухудшению клинического состояния больного.

Для лечения *медленноканальных синдромов* применяют хинидин, который является долгоживущим блокатором открытия канала АХР, и его клинически достижимая концентрация нормализует длительные эпизоды открытия канала. С учетом этих данных С. Harper и А. Engel (1998) проводили лечение больных с синдромом медленного канала хинидин-сульфатом (по 200 мг 3–4 раза в день). Состояние больных постепенно улучшалось по клиническим и ЭМГ-показателям. Другой долгоживущий блокатор открытия канала АХР, флуоксетин (fluoxetine), тоже терапевтически эффективен, но для проявления эффекта необходима относительно высокая доза приема (80 мг/сут для взрослых).

Для лечения *быстроканальных ВМС* применяют комбинированную терапию 3,4-диаминопиридином, увеличивающим величину импульсов при возбуждении нерва, и АХЭП, которые способствуют росту числа рецепторов, активированных при каждом возбуждении нерва. Больные с нормальной плотностью АХР на синаптических складках реагируют лучше других, так как уменьшение плотности рецепторов на складках влечет за собой пропорциональное снижение числа рецепторов, на которые воздействует каждое возбуждение нерва.

Для лечения ВМС с *дефицитом АХР, вызванным мутацией генов субъединиц АХР*, применяют АХЭП, на которые большинство больных хорошо реагируют. У некоторых больных значительное улучшение отмечается при приеме 3,4-диаминопиридина.

При ВМС, обусловленном *дефицитом АХР, вызванный мутацией рапсина*, все исследованные до настоящего дня больные хорошо реагировали на АХЭП, а у некоторых больных было улучшение при дополнительном приеме 3,4-диаминопиридина.

ПРИЛОЖЕНИЕ. ОСНОВЫ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

О.П. Сидорова, Б.В. Агафонов, С.В. Котов

Общая характеристика наследственных болезней

На основании этиопатологических характеристик выделяют наследственные и средовые заболевания. В зависимости от значимости этих двух главных компонентов все заболевания могут быть разделены на 4 группы:

- 1) наследственные болезни, при которых проявление патологического гена как этиологического фактора не зависит от средовых факторов, которые могут менять только выраженность симптомов болезни;
- 2) болезни, при которых наследственность служит этиологическим фактором, но для проявления аллелей на клиническом уровне необходимо воздействие средовых факторов;
- 3) болезни, причиной которых являются средовые факторы, но частота возникновения и тяжесть течения заболевания существенно зависит от наследственной предрасположенности;
- 4) экзогенные болезни: инфекционные заболевания, травмы, ожоги и т.д., в происхождении которых наследственность не играет роли, а генетические фак-

торы могут влиять только на течение и исход патологического процесса.

Вторая и третья группы болезней могут быть отнесены в единую группу заболеваний с наследственной предрасположенностью.

Э.А. Мерфи и Г.А. Чейз (1979) разделили наследственные болезни на 3 группы: 1) монолокусные (менделирующие или моногенные); 2) мультилокусные (мультифакториальные); 3) хромосомные синдромы. В последние годы выделяют и митохондриальные болезни.

Моногенные болезни обусловлены поражением одного гена. Эти заболевания имеют определенное, так называемое, менделирующее наследование. Выделяют 4 типа наследования моногенных болезней: а) аутосомно-доминантный; б) аутосомно-рецессивный; в) X-сцепленный рецессивный; г) X-сцепленный доминантный. При аутосомно-доминантном наследовании достаточно мутации в одном из парных генов, чтобы заболевание проявилось. На рис. П.1 представлена родословная семьи с аутосомно-доминантным наследованием заболевания. При таком наследовании риск для детей пробанда иметь больных детей составляет 50%. Заболевание передается из поколения в поколение. Но могут быть и спорадические случаи. Тогда это свидетельствует о новой мутации, которая произошла в половой клетке одного из родителей. Примером аутосомно-доминантного наследования является хорея Гентингтона, некоторые формы наследственных моторно-сенсорных нейропатий, доминантные наследственные атаксии.

При аутосомно-рецессивном наследовании для проявления болезни необходима мутация в двух парных генах. Родители больного являются гетерозиготами по патологическому гену, т.е. несут один нормальный ген и один патологический парный ген. Риск для sibсов (братьев и сестер) больного высокий — 25%. Для детей больного риск заболеть тем же заболеванием практически отсутствует, так как носители аутосомно-рецессивного гена одного заболевания встречаются с низкой частотой.

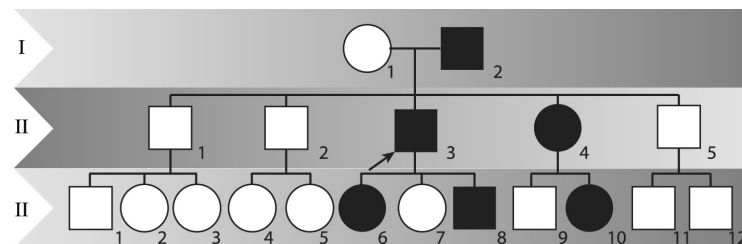


Рис. П.1. Родословная семьи с аутосомно-доминантным типом наследования заболевания:

Квадраты — мужчины (светлые — здоровые, темные — больные); кружки — женщины (светлые — здоровые, темные — больные); стрелка — пробанд. Римские цифры — поколение, арабские — номер в родословной в каждом поколении

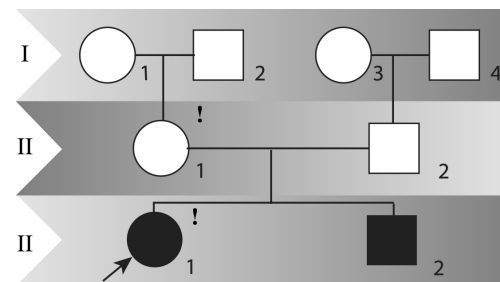


Рис. П.2. Родословная семьи с аутосомно-рецессивным типом наследования. Обозначения те же, что и на рис. П.1

На рис. П.2 представлена родословная семьи с аутосомно-рецессивным наследственным заболеванием. Родители больного могут быть кровными родственниками, так как в этом случае риск иметь одинаковые аутосомно-рецессивные гены выше, чем в популяции.

Примером аутосомно-рецессивного наследования является фенилкетонурия, болезнь Фридрейха, некоторые формы наследственных моторно-сенсорных нейропатий.

При X-сцепленном рецессивном наследовании болезнь проявляется только у лиц мужского пола, а женщины (матери, их сестры) являются гетерозиготными носителями

гена болезни и не болеют. На рис. П.3 представлена родословная такой семьи. Риск заболевания для братьев пробанда — 50%, для сестер — отсутствует, но в 50% они носители гена болезни. Риск рождения ребенка с данным заболеванием у пробанда отсутствует, но все дочери будут носителями гена болезни, все мальчики будут здоровы.

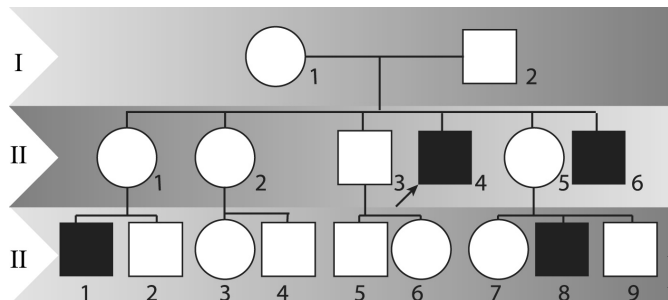


Рис. П.3. Родословная семьи с X-сцепленным рецессивным типом наследования заболевания. Обозначения те же, что и на рис. П.1

Примером X-сцепленного рецессивного наследования является миопатия Дюшена и Беккера.

При X-сцепленном доминантном наследовании болеют мужчины и женщины, но у больных мужчин не может быть больных сыновей, поскольку ген болезни расположен в X-хромосоме, а сыновья получают X-хромосому от матери. Все дочери у больных мужчин также больны, так как X-хромосома отца имеет ген болезни. Такой тип наследования наблюдается при витамин D-резистентном рахите.

Мультифакториальные заболевания (с наследственным предрасположением) — это болезни, в формировании которых принимают участие генетические и средовые факторы.

Заболевания не имеют определенного наследования, как при моногенных болезнях. Примером мультифакториальных болезней может служить ишемическая болезнь сердца, шизофрения, эпилепсия.

Хромосомные синдромы обусловлены грубым поражением генетического материала: количество работающих генов увеличено или уменьшено. Эти изменения можно увидеть под микроскопом. Известно более 100 хромосомных синдромов. Примером хромосомных заболеваний является синдром Дауна (47, XX, 21+), синдром Шерешевского—Тернера (45, X0), синдром Клайнфелтера (47, XXY).

Митохондриальные болезни обусловлены поражением мтДНК. Заболевания наследуются по материнской линии, так как достаточное количество митохондрий ребенок получает только от матери. Примером митохондриального наследования является синдром Лебера, Melas, MERRF, Лея, NARP.

Цитология (В.Г. Антоненко)

Строение клетки. *Клетка* — элементарная биологическая система, способная к самообновлению, самовоспроизведению и развитию. Представление о клетке как о структурной и функциональной единице живых организмов сложилось в XIX в. в связи с изобретением микроскопа и использованием его для биологических исследований. Клетку можно рассматривать и как самовоспроизводящуюся химическую систему. Роль барьера между данной системой и ее окружением играет *плазматическая мембрана*, она помогает регулировать обмен между внутренней и внешней средой. Клеточные мембраны обладают избирательной проницаемостью: через них медленно диффундируют глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты, глицерол и ионы, причем сами мембраны активно регулируют этот процесс — одни вещества пропускают, а другие нет. Существуют 4 основных механизма для поступления веществ в клетку и выхода их из клетки: диффузия, осмос, активный транспорт и экзо- или эндоцитоз. По структуре плазматическая мембрана представляет собой 2 слоя липидов, заключенных между двумя слоями белка. На рис. П.4 продемонстрирована ультраструктура

обобщенной животной клетки, выявляемая при помощи электронного микроскопа.

Внутри клетки находится *цитоплазма* (водянистое основное вещество) и четко очерченные структуры, называемые *органеллами*. Самая крупная органелла — *ядро* клетки. Ядро регулирует активность клетки, так как именно в нем находятся хромосомы, содержащие наследственное вещество — дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК). Ядро заключено в оболочку, состоящую из двух мембран и пронизанную ядерными порами. Через ядерные поры происходит обмен различных веществ между ядром и цитоплазмой: выход в цитоплазму мтРНК и субчастиц рибосом, поступление в ядро рибосомных белков и нуклеотидов и т.п. В интерфазном ядре хромосомы в значительной мере деконденсированы и представляют собой тонкие нити (эухроматин), не видимые в световой микроскоп. Конденсированный хромосомный материал обнаруживается в виде глыбок гетерохроматина. В ядре находится также ядрышко, в котором происходит синтез рибосомной рибонуклеиновой кислоты (РНК). Деление ядра лежит в основе размножения клеток. Около ядра располагается *клеточный центр*, состоящий из *центриолей* и лучистой сферы. При клеточном делении центриоли, расходясь в разные стороны, образуют полюсы делящейся клетки.

Эндоплазматическая сеть (ретикулум) организует внутреннее пространство клетки, разделяя и соединяя его области. Она представляет собой систему мембран, формирующую сеть канальцев и уплощенных мембранных мешочков (цистерн), пронизывающих цитоплазму, и составляет единое целое, как с наружной мембраной ядерной оболочки, так и с плазматической мембраной клетки. На поверхностях эндоплазматической сети осуществляются различные процессы клеточного обмена.

Синтез белка происходит на *рибосомах* — мелких органеллах, присутствующих во всех клетках и состоящих из двух субъединиц: большой и малой. В химическом отношении рибосомы состоят из примерно равных количеств

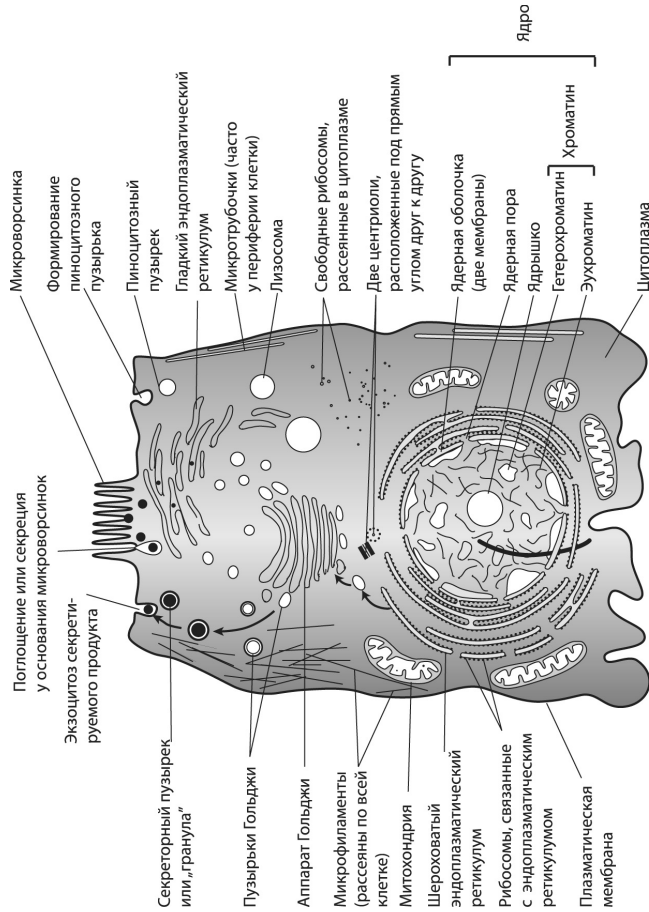


Рис. П.4. Ультраструктура животной клетки, выявляемая при помощи электронного микроскопа. Показано лишь часть эндоплазматической сети и некоторое количество свободных рибосом (Грин Н. и др., 1993)

белка и РНК. Рибосомы могут быть связаны с эндоплазматическим ретикулумом или свободно лежать в цитоплазме.

В *митохондриях* происходят энергетические процессы клетки. Оболочка митохондрии состоит из двух мембран, внутренняя из которых образует складки (кристы). Внутри митохондрии находится матрикс, содержащий небольшое количество рибосом, одну кольцевую молекулу ДНК и фосфатные гранулы. Главная функция митохондрий — аэробное дыхание. В кристах митохондрий происходят процессы окислительного фосфорилирования, а в матриксе — этапы цикла Кребса и окисления жирных кислот. Митохондриям присуща некоторая автономия внутри клетки: они размножаются путем перешнуровки; при делении клетки митохондрии равномерно распределяются между дочерними клетками.

Аппарат Гольджи представляет собой стопку уплощенных мембранных мешочков — цистерн. На одном конце стопки мешочки образуются, а с другого отшнуровываются в виде пузырьков. В этих пузырьках претерпевают модификацию и транспортируются многие ферменты клетки. В аппарате Гольджи также образуются лизосомы, он участвует в процессах секреции.

Лизосомы представляют собой сферические мешочки, окруженные плотной одинарной мембраной, в них находятся гидролитические ферменты (протеазы, нуклеазы, липазы, кислые фосфатазы). С помощью этих ферментов сложные вещества, попадающие в клетку, расщепляются на простые части, которые могут быть использованы в синтезе белков, нуклеиновых кислот и т.п. Функция лизосом состоит в разрушении различных структур и молекул (аутофагии, автолизе, эндоцитозе и экзоцитозе). В лизосомах разрушаются также микроорганизмы и вирусы.

Пероксисомы (микротельца) представляют собой мешочки сферической формы, содержащие каталазу — фермент, катализирующий расщепление пероксида водорода. Пероксисомы участвуют в окислительных реакциях.

Хромосомная теория наследственности. Митоз и мейоз

Хромосомы — структуры, содержащиеся в клеточном ядре. Входящая в состав хромосом ДНК является носителем наследственной информации. Существующие механизмы воспроизводства хромосом при делении клетки (митоз) и образовании половых клеток (мейоз) обеспечивают такие важные свойства живых организмов, как наследственность и изменчивость.

Митоз представляет собой механизм, обеспечивающий идентичность генетического материала материнской и дочерних клеток при делении. Деления клетки могут следовать одно за другим или быть значительно отделены во времени. Период жизни клетки, начинающийся после завершения деления и заканчивающийся делением клетки, носит название клеточного цикла. Период клеточного цикла между концом одного деления и началом следующего называется интерфазой. Во время интерфазы в клетке происходят биохимические процессы, представляющие собой подготовку к последующему делению. В соответствии с этими процессами выделяют 3 стадии интерфазы: G1 — пресинтетическую, S — синтетическую, G2 — постсинтетическую. На стадии G1 в клетке происходит синтез белков и РНК, на стадии S — происходит синтез (репликация) ДНК, в результате которого количество наследственного материала в клетке удваивается, на стадии G2 происходит подготовка клетки к митозу, в этот период осуществляется «внеплановый» репаративный синтез ДНК, связанный с исправлением ошибок, произошедших при репликации. Продолжительность клеточного цикла может быть различной, главным образом за счет стадии G1. В среднем длительность фаз составляет: G1 — 10 ч, S — 9 ч, G2 — 4 ч, митоз — 1 ч.

В ходе митоза выделяют 4 стадии: профазу, метафазу, анафазу и телофазу, в соответствии с морфологическими изменениями в клетке, которые можно наблюдать

в световой микроскоп. В профазе происходит усиление конденсации хромосом, благодаря чему они становятся видимыми. В этот период исчезают ядерная мембрана и ядрышко, центриоли мигрируют к противоположным полюсам клетки и формируется веретено деления, состоящее из микротрубочек, содержащих белок тубулин. Часть нитей веретена проходит непрерывно от одного полюса до другого, другие соединяют центриоли с центромерными районами хромосом. В метафазе процесс конденсации хромосом продолжается. На этой стадии центромеры всех хромосом располагаются в экваториальной плоскости между двумя полюсами, хроматиды каждой хромосомы начинают расходиться, оставаясь соединенными только в центромерной области. В анафазе происходит разделение хроматид и в центромерной области, после чего они расходятся к противоположным полюсам клетки. В результате каждая хромосома разделяется на 2 идентичные части, которые попадают в разные дочерние клетки. Таким образом наследственная информация в дочерних клетках идентична информации материнской клетки. В телофазе происходит деконденсация хромосом, они становятся невидимыми, разрушается веретено деления, между двумя дочерними клетками формируется клеточная мембрана, этим завершается цикл клеточного деления. Клетка может сразу вступить в следующий цикл деления или какое-то время находиться в неделящемся состоянии, в некоторых случаях клетки прекращают деление и находятся в стадии покоя G₀. Схема последовательных стадий митоза представлена на рис. П.5.

Благодаря механизму митоза, обеспечивающему идентичность наследственной информации в материнской и дочерних клетках при делении, наследственная информация сохраняется неизменной во всех клетках организма на протяжении всей его жизни. На рис. П.6 приведена схема передачи генов дочерним клеткам при митозе.

Мейоз — процесс формирования половых клеток, при которых происходит редукция наследственного матери-

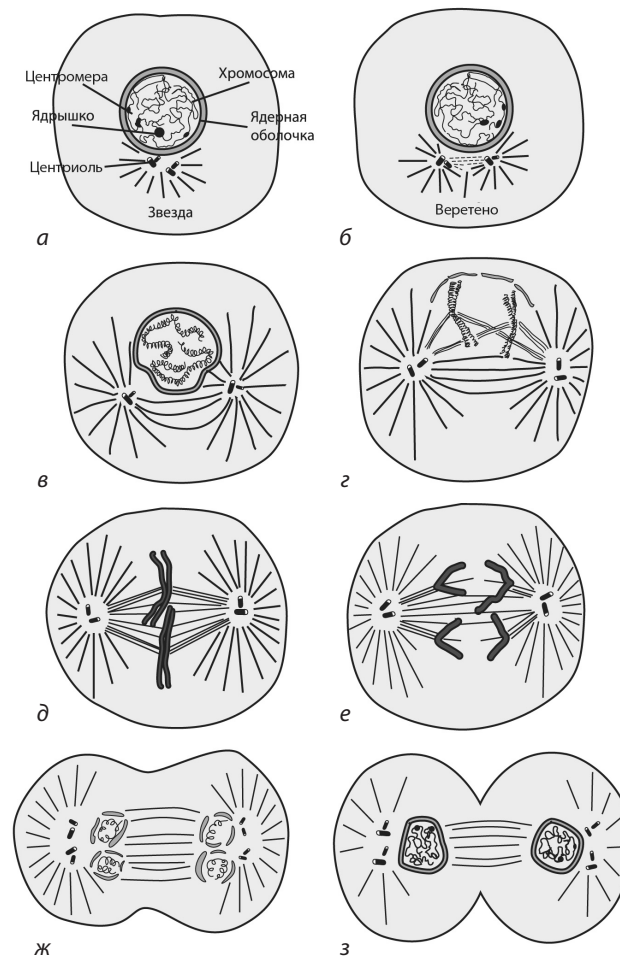


Рис. П.5. Схема последовательных стадий митоза:

а, б — интерфаза: каждая из двух родительских центриолей находится в паре с маленькой дочерней центриолью; в определенный период интерфазы хромосомы удваиваются, центриоли начинают расходиться; *в, г* — профазы; хромосомы спирализуются и уплотняются, ядерная оболочка и ядрышко разрушаются, центриоли расходятся и образуют полюсы, формируется веретено; *д* — метафаза: хромосомы располагаются по экватору; *е* — анафаза: после расщепления сестринские хроматиды направляются к полюсам; *ж, з* — телофаза; хромосомы раскручиваются, образуются ядерные оболочки и ядрышки сестринских клеток (Прокофьева-Бельговская А.А., 1969)

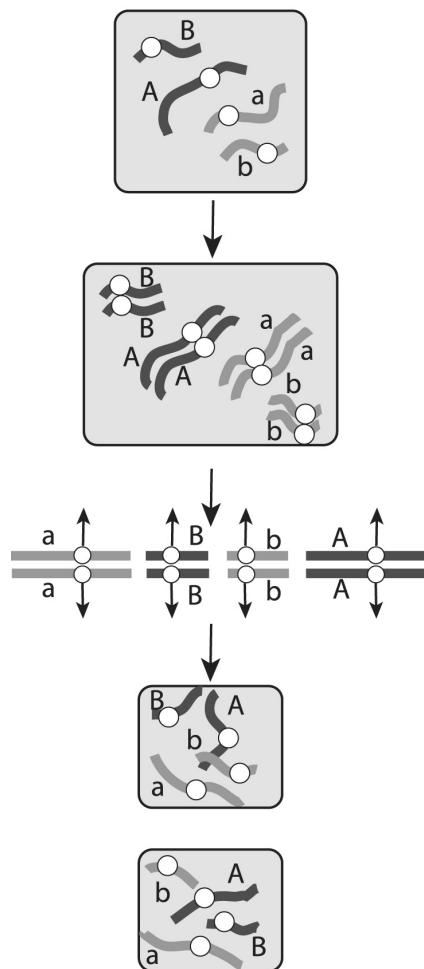


Рис. П.6. Схема передачи генов дочерним клеткам при митозе

ала, т.е. уменьшение числа хромосом и количества ДНК наполовину. Механизм мейоза способствует изменчивости организмов за счет случайной комбинации родительских хромосом при расхождении, а также за счет кроссинговера. Мейоз представляет собой два следующих друг за

другом клеточных деления, между которыми не происходит синтеза ДНК.

Цикл клеточного деления, предшествующий мейозу, происходит аналогично обычному митотическому циклу. В фазе S реплицируется ДНК, в результате клетка, вступающая в мейоз, содержит удвоенное количество ДНК ($4n$). Профаза мейоза отличается от профазы митоза. В ней различают 5 стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена, диакинез. На стадии лептотены усиливается конденсация хромосом, они становятся видимыми. Важной особенностью мейоза является стадия зиготены, во время которой происходит конъюгация (спаривание) гомологичных хромосом. Две конъюгированные гомологичные хромосомы носят название бивалента. Процесс конденсации хромосом в это время продолжается, и в стадии пахитены они выглядят значительно более короткими и толстыми. На стадии диплотены становятся видны расположенные бок о бок 4 хроматиды, при этом сестринские (т.е. принадлежащие одной хромосоме) хроматиды остаются спаренными, а несестринские начинают разделяться. На стадии диакинеза несестринские хроматиды остаются соединенными в нескольких точках, получивших название хиазм. В этих точках происходит обмен участками между гомологичными хромосомами, носящий название *кроссинговера*. Хроматиды участвуют в обмене случайно. На этой стадии разрушается оболочка ядра, формируется веретено деления, центромеры гомологичных хромосом начинают расходиться к противоположным полюсам клетки. На стадии метафазы I биваленты располагаются в экваториальной плоскости, центромеры оттянуты к полюсам клетки, но гомологичные хромосомы еще удерживаются вместе за счет хиазм в дистальных районах. На стадии анафазы I происходит полное разделение гомологичных хромосом и расхождение их к противоположным полюсам клетки. Таким образом, в ходе первого деления мейоза происходит редукция генетического материала. Каждая дочерняя клетка содержит только одну из гомологичных хромосом, при этом

попадание в клетку хромосомы, имеющей отцовское или материнское происхождение, возникает случайно. Каждая хромосома дочерней клетки имеет удвоенное количество ДНК ($2n$), при этом генный состав сестринских хроматид может быть различным за счет кроссинговера, произошедшего в период первого деления митоза.

Фаза между первым и вторым делением митоза носит название интеркинеза. Эта фаза может иметь разную длительность. При значительной длительности хромосомы могут деконденсироваться, но синтез ДНК на этой стадии никогда не происходит.

Второе (эквационное) деление мейоза по своему механизму происходит аналогично митотическому делению. В нем также выделяют профазу, метафазу, анафазу и телофазу, соответствующим данным стадиям митоза. Важным отличием является то, что число хромосом клетки, вступающей в митоз II уже редуцировано и составляет половинное число от диплоидного (гаплоидный набор). После расхождения сестринских хроматид в дочерние клетки, в стадии телофазы, происходит разделение клеток и завершается процесс мейоза. Каждая из дочерних клеток содержит гаплоидный набор хромосом (n). Схема мейоза представлена на рис. П.7.

Таким образом, в процессе митоза из одной диплоидной клетки, содержащей после репликации удвоенное количество ДНК ($4n$), образуются 4 гаплоидные половые клетки (гаметы). Этот процесс обеспечивает возможность восстановления диплоидного набора хромосом в клетке при оплодотворении — слиянии мужской и женской гамет. Важно отметить, что каждая из четырех гамет, образовавшаяся в результате мейоза, уникальна по своему генному составу. Это связано с независимым расхождением отцовской и материнской гомологичных хромосом в дочерние клетки в процессе первого деления мейоза, а также с неидентичностью сестринских хроматид в дочерних клетках при втором делении мейоза, связанной с кроссинговером (рис. П.8).

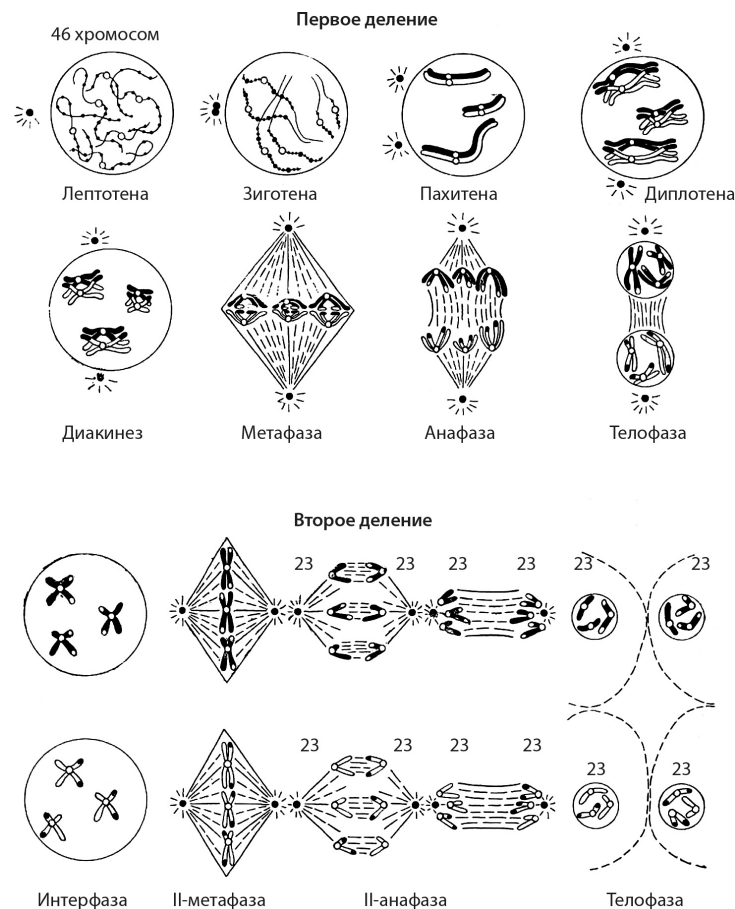


Рис. П.7. Схема мейоза. В результате мейоза возникают четыре гаметы с различающимися между собой гаплоидными наборами хромосом (Прокофьева-Бельговская А.А., 1969)

Процесс мейоза является важным фактором, обеспечивающим изменчивость организмов. При наличии у человека 23 пар хромосом число возможных комбинаций в одной гамете составляет $2^{23} = 8\,388\,608$. Число возможных комбинаций хромосом в потомстве данной пары родителей составляет $2^{23} \times 2^{23}$, а в действительности еще

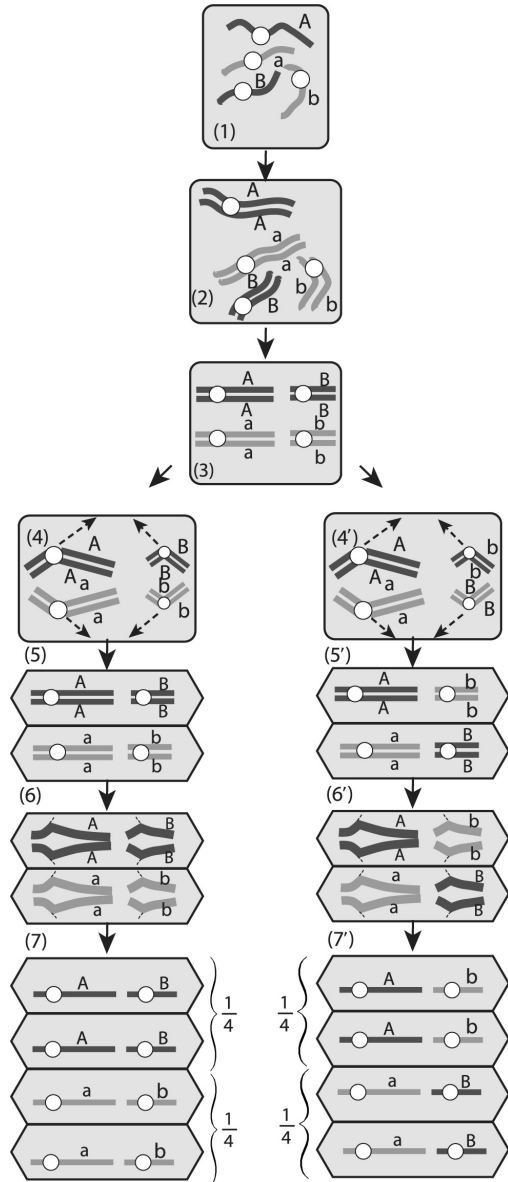


Рис. П.8. Схема

больше за счет кроссинговера, происходящего во время конъюгации гомологичных хромосом.

Химический состав и строение хромосом. Хромосомы состоят из ДНК (40–50%), гистоновых и негистоновых белков. ДНК представляет собой двойную спираль, полинуклеотид, каждая из двух нитей которого состоит из последовательности мономеров. Мономеры, в свою очередь, состоят из остатка фосфорной кислоты и одного из четырех нуклеотидных оснований: аденина, гуанина, цитозина или тимина, соединенного с остатком сахара дезоксирибозы. Нуклеотидные основания двух цепей, составляющих ДНК, соединены между собой водородными связями. Существует строгое соответствие состава двух цепей ДНК (комплементарность): аденин всегда соединен с тиминем, а гуанин с цитозином. Это свойство лежит в основе процесса воспроизводства точной копии исходной ДНК при репликации. В ходе этого процесса водородные связи между нуклеотидами разрываются, и каждая из нитей ДНК может служить матрицей для синтеза новой двойной спирали. При этом последовательность нуклеотидных оснований на вновь синтезируемой нити ДНК однозначно определяется последовательностью нуклеотидов на матрице. Аденину на комплементарной цепи соответствует тимин, тимину — аденин, гуанину — цитозин и цитозину — гуанин. Комплементарность цепей ДНК обеспечивает сохранение наследственной информации в процессе синтеза ДНК при клеточном делении.

Последовательность нуклеотидных оснований представляет собой генетический код, определяющий синтез белка в организме. Основу генетического кода составляет триплет — последовательность из 3 нуклеотидов, определяющая при синтезе белка прикрепление к полипептидной цепи одной из 20 аминокислот. Таким образом, уникальные свойства белков различных организмов являются следствием различия в последовательности нуклеотидов ДНК.

В составе хромосом ДНК спирализована и связана с гистоновыми белками. Этот комплекс получил название

хроматина. Гистоновые белки составляют около 80% от всех белков, входящих в состав хромосом эукариот. Выделяют 5 основных классов гистоновых белков: Н1, Н2А, Н2В, Н3, Н4. Диаметр двойной нити ДНК составляет 2 нм. В интерфазном ядре ДНК находится в значительно более компактном состоянии, в метафазной же хромосоме диаметр одной нити составляет 1400 нм. Компактизация хромосом обеспечивается специальными механизмами, причем можно выделить несколько уровней этого процесса. Тонкое изучение строения хроматина показало наличие в его составе субъединиц — нуклеосом, представляющих собой структуры, образованные гистоновыми белками, на которые «намотана» спирализованная ДНК. Гистоновая часть нуклеосомы носит название «кор» (стержень) и состоит из восьми молекул гистонов Н2А, Н2В, Н3, Н4 (по 2 молекулы каждого вида). Гистон Н1 обеспечивает тесный контакт между нуклеосомами. Диаметр нуклеосомы составляет 11 нм, на этом уровне компактизации хроматин имеет вид бусин, нанизанных на нить. Последующие этапы компактизации хроматина представляют собой последовательные уровни «упаковки», в результате которой длина хромосомы значительно уменьшается. В этих процессах принимают участие негистоновые белки, содержащиеся в составе хромосомы.

Современные методы изучения хромосом позволили установить, что локализация хромосомы в ядре не является случайной. Показано, что генетически активные части хромосом, на которых происходит синтез РНК, располагаются ближе к ядерной мембране. На участках синтеза РНК происходит «выпетливание», т.е. уменьшение конденсации хромосомы.

Кариотип человека. Совокупность всех хромосом организма носит название кариотипа. Изучение кариотипа проводится на стадии метафазы, когда хромосомы значительно спирализованы и могут быть проанализированы как отдельные структуры, состоящие из двух плеч (длинного и короткого) и расположенной между ними



Рис. П.9. Хромосомы человека на стадии метафазы (ув. ×1000)

перетяжки (центромеры). Конец плеча носит название теломеры. На рис. П.9 представлены хромосомы человека на стадии метафазы.

Цитогенетика человека, как самостоятельная дисциплина возникла в 1956 г., когда шведский исследователь А. Леван (A. Levan) и американский Дж. Тио (D. Thio) установили, что число хромосом в соматических клетках человека составляет 46. Через несколько лет появились первые сообщения о синдромах, связанных с изменением числа хромосом (синдромы Дауна, Клайнфельтера, Шерешевского—Тернера и др.). В последующие годы методы изучения хромосом были значительно усовершенствованы. Большую роль в этом сыграло обнаружение линейной исчерченности хромосом, что позволило идентифицировать при хромосомном анализе каждую хромосому. Были разработаны цитогенетические карты, на которых хромосомы представлены в виде линейной структуры с чередованием темных и светлых полос — сегментов (*bands*). Эти карты были представлены в Международной номенклатуре хромосом человека (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature), опубликованной в 1981 г. (ISCN, 1981). Наличие определенной исчерченности является отличительным признаком каждой хромосомы. При ис-

следовании хромосом на стадии ранней метафазы и прометафазы можно видеть, что существующие сегменты распадаются на более мелкие субсегменты. В последней редакции Международной номенклатуры (ISCN, 2005) представлены цитогенетические карты всех хромосом человека для различных уровней разрешения. На рис. П.10 представлены цитогенетические карты хромосом 12 и 13. В ISCN содержатся правила записи результатов цито-

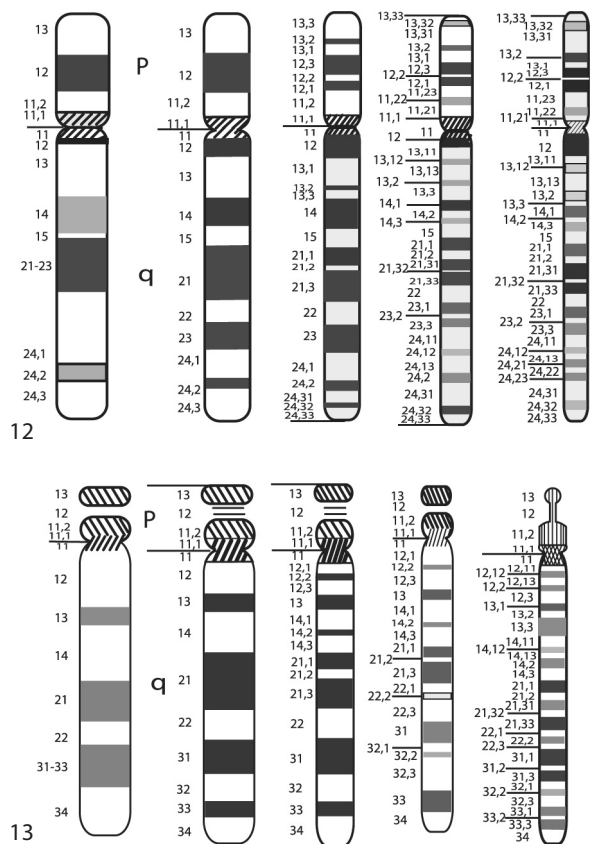


Рис. П.10. Цитогенетические карты (идиограммы) хромосом 12 и 13 для пяти различных уровней разрешения (300, 400, 550, 700 и 850 сегментов на гаплотип) (ISCN, 2005)

генетического исследования, которых придерживаются цитогенетики всего мира. В последние редакции Международной номенклатуры (ISCN, 1995; ISCN, 2005) были внесены изменения, связанные с использованием новых методов в изучении хромосом.

Знание цитогенетической номенклатуры важно не только для цитогенетиков и специалистов, занимающихся собственно хромосомными заболеваниями. В настоящее время гены все большего числа моногенных заболеваний удается картировать в определенном локусе хромосомы, и цитогенетические карты позволяют визуально представить локализацию таких генов. Кроме того для многих заболеваний, генетическая природа которых ранее не была известна, при использовании молекулярных технологий удается выявить связь с микроделециями или микродупликациями хромосом (синдромы Миллера–Дикера, Смит–Магенис, велокардиофациальный синдром и т.п.).

Карิโอтип человека состоит из 46 хромосом, включая 22 пары аутомом и половые хромосомы. Номер присвоен хромосоме в соответствии с ее длиной, таким образом, что самая большая хромосома имеет номер 1, а самая маленькая номер 22. Половые хромосомы обозначаются символами X и Y. Нормальный набор хромосом для женщины обозначается формулой 46,XX, для мужчины — 46,XY. Набор хромосом человека, расположенных попарно, в соответствии с их порядковыми номерами, носит название *кардиограммы* (рис. П.11).

В зависимости от длины хромосомы и расположения центромеры выделяют 7 групп хромосом. Для характеристики расположения центромеры используется центромерный индекс, показатель, представляющий собой отношение длины короткого плеча хромосомы к длине всей хромосомы. Хромосомы, имеющие центромерный индекс более 40% относятся к метацентрическим, около 30–40% — к субметацентрическим, 30 и менее — к аacroцентрическим.

Группа А (хромосомы 1–3): большие метацентрические хромосомы, группа В (хромосомы 4–5): большие субмета-

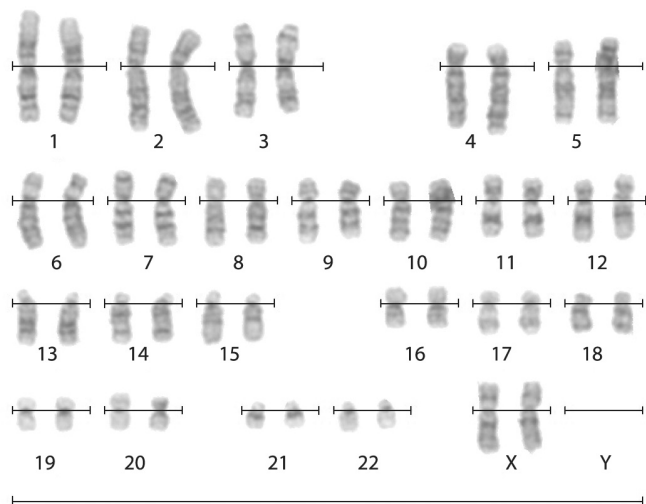


Рис. П.11. Кариограмма человека

центрические хромосомы, группа С (хромосомы 6–12, X): средние метацентрические и субметацентрические хромосомы, группа D (хромосомы 13–15): средние акроцентрические хромосомы, имеющие спутники, группа E (хромосомы 16–18) относительно маленькие метацентрические и субметацентрические хромосомы, группа F (хромосомы 19–20) — маленькие метацентрические хромосомы, группа G (хромосомы 21–22, Y) — маленькие акроцентрические хромосомы со спутниками. Размер Y-хромосомы обычно соответствует этой группе, хотя может быть больше или меньше, Y-хромосома не имеет спутников.

Подсчет числа хромосом и идентификация групповой принадлежности хромосомы возможны при сплошной окраске. Для выделения и анализа каждой хромосомы используются технологии дифференциального окрашивания, позволяющие выявлять линейную исчерченность (сегменты) хромосомы. Термин «сегмент» (band) обозначает участок хромосомы, отличающийся от прилегающих к нему участков по яркости (темный/светлый). Существуют

различные методы обработки хромосом для выявления линейной исчерченности. Наиболее распространен метод окрашивания красителем Гимза с предварительной обработкой трипсином (GTG-метод). Существуют также специальные окраски, позволяющие выявлять некоторые элементы хромосом: гетерохроматин (C-bands), теломерные районы (T-bands), ядрышкоорганизующие районы (NORs). Количество сегментов, которое можно различить на хромосоме, зависит от степени ее конденсации и качества окраски. Существуют цитогенетические карты для 300, 400, 550, 700 и 850 сегментов в гаплоидном наборе.

Короткое плечо хромосомы обозначается символом «р», длинное — символом «q». В пределах каждого плеча выделяют районы, имеющие специфическую исчерченность, позволяющую отличить одну хромосому от другой. Нумерация районов идет от центромеры к теломере, при этом центромера имеет обозначение 10 (p10, если сохранено короткое плечо и q10, если длинное). Районы, прилегающие к центромере обозначают символами p1 и q1 на коротком и длинном плечах соответственно. Примыкающие к ним дистально районы обозначают символами p2 и q2, более дистальные районы — p3 и q3. Для обозначения сегмента хромосомы используют следующий порядок: сначала записывается номер хромосомы, затем символ плеча (p или q), потом номер района и, наконец, номер сегмента. Таким образом, запись 1p31 обозначает, что речь идет о сегменте 1 района 3 короткого плеча хромосомы 1. В случае, когда в сегменте можно выделить несколько субсегментов, они обозначаются по тому же правилу, т.е. проксимально расположенные субсегменты имеют меньший порядковый номер, чем расположенные дистально, при этом после номера сегмента ставится точка. Например, запись 1p31.2 обозначает, что речь идет о субсегменте 2 сегмента 1 в районе 3 короткого плеча хромосомы 1. В некоторых случаях субсегменты также могут подразделяться, при этом номера субсубсегментов указывают непосредственно после номера субсегмента, например 1p31.21.

Результат исследования кариотипа записывают в виде формулы. Вначале записывают общее число хромосом, затем через запятую указывают присутствующие половые хромосомы. В случае хромосомных аномалий после указания половых хромосом ставится запятая, после чего записывают характер аномалии. При этом номер хромосомы заключают в круглые скобки (). Если в перестройке участвует более одной хромосомы, их номера разделяют точкой с запятой.

Для записи хромосомных перестроек можно использовать краткую или детальную систему обозначений. В большинстве случаев в практической работе цитогенетики используют краткую систему, прибегая к детальной в тех случаях, когда формула краткой системы не позволяет охарактеризовать имеющуюся перестройку. При записи с помощью детальной системы, перестроенная хромосома описывается от р- к q-плечу с указанием всех отсутствующих, встроенных, инвертированных районов и т.д. При использовании краткой системы обозначаются только точки разрывов хромосом. Так, например, реципрокная транслокация между хромосомами 3 и 11 может быть записана следующим образом: 46,XX,t(3;11)(3pter-3q21::11q23-11qter;11pter-11q23::3q21-3qter) (детальная система обозначений) 46,XX,t(3;11)(q21;q23) (краткая система обозначений). В приводимых далее примерах мы будем использовать краткую систему обозначений.

Если известно родительское происхождение перестройки, то после записи кариотипа указывают символ mat в случае материнского или pat в случае отцовского происхождения.

Ниже приведены некоторые символы, используемые для записи кариотипа.

- add — дополнительный хромосомный материал неизвестного происхождения;
- del — делеция, утрата части хромосомы;
- de novo — перестройка, не унаследованная от родителей;

- der — производная хромосома, т.е. хромосома, состоящая из двух и более хромосом или хромосома, имеющая более одной перестройки;
- dup — дупликация, удвоение части хромосомы;
- fra — ломкий сайт хромосомы;
- h — конститутивный гетерохроматин;
- i — изохромосома, т.е. хромосома, состоящая из двух коротких или двух длинных плеч какой-либо хромосомы;
- ins — инсерция, вставка части одной хромосомы в другую;
- inv — инверсия, изменение расположения сегментов хромосомы относительно друг друга в пределах хромосомы. Различают инверсии парацентрические, происходящие в пределах одного плеча хромосомы и перичцентрические, захватывающие область центромеры;
- mar — маркерная хромосома, — хромосома, установить происхождение которой не представляется возможным;
- mat — перестройка материнского происхождения;
- mos — мозаицизм, т.е. наличие более одного клона клеток в организме;
- or — символ альтернативной интерпретации, используется, например, при невозможности однозначно определить точки поломки;
- p — короткое плечо хромосомы;
- pat — отцовское происхождение перестройки
- q — длинное плечо хромосомы;
- r — кольцевая хромосома;
- rec — рекомбинантная хромосома;
- s — спутники, структуры, располагающиеся на коротких плечах акроцентрических хромосом;
- stk — спутничные нити, структуры, располагающиеся между спутниками и короткими плечами акроцентрических хромосом;

- t — транслокация, перенос части одной хромосомы на другую;
- upd — однородительская дисомия, состояние, когда обе гомологичные хромосомы получены от одного родителя.

Некоторые примеры записи кариотипа при наиболее часто встречающихся перестройках представлены ниже.

Численные аномалии хромосом

45,X. Число хромосом 45, представлена единственная половая хромосома X.

Кариотип соответствует синдрому Шерешевского—Тернера.

47,XXY. Число хромосом 47, имеется лишняя хромосома X, кариотип соответствует синдрому Клайнфелтера.

47,XX,+21. Число хромосом 47, имеется лишняя хромосома 21, кариотип соответствует синдрому Дауна.

46,XY,upd(15)mat. Обе хромосомы 15 получены от матери.

mos 45,X[11]/46,XX[19]. В организме присутствуют два клеточных клона, в одном из них утеряна хромосома X, кариотип другого нормальный. В квадратных скобках указано абсолютное число клеток каждого клона, обнаруженное при анализе.

Структурные аномалии хромосом

46,XY,add(19)(p13). В районе сегмента p13 хромосомы 19 имеется дополнительный хромосомный материал неизвестного происхождения.

46,XX,del(5)(q13). Делеция длинного плеча хромосомы 5 дистальнее сегмента q13.

46,XY,der(1)t(1;3)(p36;q28). В данном кариотипе перестроенной является хромосома 1. В результате разрыва в сегменте p36 на нее перенесена часть длинного плеча хромосомы 3, расположенная дистальнее сегмента q28. В связи с этим у данного индивида утеряна часть хромосомы 1 (моносомия 1 по району p36-pter), часть хромосомы 3 присутствует дополнительно (трисомия 3 q28-qter). В случае транслокации первой всегда указывается аутосома с меньшим порядковым номером.

46,XX,dup(1)(q22q25). Удвоение части хромосомы 1, расположенной между сегментами q22 и q25. Если перестройка происходит в пределах одной хромосомы, обозначения сегментов не разделяются знаками.

46,Y,fra(X)(q27.3). Ломкий сайт в сегменте Xq27.3, характерен для синдрома Мартина—Белла.

46,XX,ins(5;2)(p14;q22q32). Вставка части хромосомы 2, расположенной между сегментами q22 и q32, в сегмент p14 хромосомы 5. В результате у индивида наблюдается трисомия по району 2q22–q32. В случае инсерции хромосома-реципиент всегда указывается первой.

46,XX,inv(3)(q21q26). Парацентрическая инверсия в длинном плече хромосомы 3.

46,XX,inv(3)(p13q21). Перицентрическая инверсия хромосомы 3.

47,XY,+mar. В кариотипе присутствует дополнительная хромосома неизвестного происхождения.

46,XX,r(13)(p11.2q34). Хромосома 13 представляет собой кольцевую структуру, терминальные отделы короткого и длинного плеч соединены между собой.

46,XY,t(2;5)(q21;q31). Сбалансированная (реципрокная) транслокация, при которой произошел обмен между частями хромосом 2 и 5 вследствие разрывов с последующим воссоединением.

45,XX,der(13;21)(q10;q10). Сбалансированная перестройка, представляющая собой транслокацию между длинными плечами акроцентрических хромосом 13 и 21. За счет соединения двух хромосом количество хромосом в кариотипе равно 45, однако весь наследственный материал присутствует. Подобные перестройки встречаются у здоровых людей.

46,XX,der(13;21)(q10;q10),+21. Транслокация соответствует указанной в предыдущем примере, однако в кариотипе присутствует дополнительная хромосома 21, что соответствует транслокационной форме синдрома Дауна.

Варианты гетерохроматина, спутников и спутничных нитей. В некоторых случаях при исследовании кариотипа выявляют необычное расположение или размер

вариабельных районов, таких как гетерохроматин, спутники и спутничные нити. Подобные варианты встречаются у здоровых людей и не связаны с патологией, однако иногда их отмечают в формуле кариотипа, как семейный вариант. Как правило, врач-цитогенетик в подобных случаях отмечает, что речь идет о нормальном варианте.

46,XX,16qh+. Увеличен размер гетерохроматинового участка в длинном плече хромосомы 16.

46,XYqh-. Уменьшен размер гетерохроматинового участка в длинном плече Y-хромосомы.

46,XX,21ps+. Увеличен размер спутников на коротком плече хромосомы 21.

46,XY,22pstk+. Увеличен размер спутничных нитей на коротком плече хромосомы 22.

46,XY,13cenh+. Увеличен размер гетерохроматина на коротком плече хромосомы 13.

46,XYqs. Необычная локализация спутников на длинном плече хромосомы Y.

46,XX,9ph. Необычная локализация гетерохроматина в коротком плече хромосомы 9.

46,XX,21pss. Двойные спутники на коротком плече хромосомы 21.

Следует еще раз отметить, что размеры гетерохроматиновых участков, спутников и спутничных нитей являются вариабельными в популяции человека. Поэтому даже экстремальные проявления данных структур не должны рассматриваться как причина патологии, они могут быть внесены в формулу кариотипа только в качестве характеристики семейных особенностей данного индивида. Это может иметь значение, например, при проведении пренатальной диагностики.

Молекулярная генетика

Вся генетическая информация записана на молекуле дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), расположенной в ядре клетки. Участок ДНК, на котором записана струк-

тура белковой цепочки, называется геном. *Ген* — это единица наследственности. Неправильная структура белка, возникающая при поражении гена, вызывает нарушения обмена веществ. Молекула ДНК состоит из множества мономеров-нуклеотидов. *Нуклеотид* — это химическое вещество, состоящее из одной молекулы сахара (дезоксирибозы), остатка молекулы фосфорной кислоты и азотистого основания (аденин — А, гуанин — Г, тимин — Т или цитозин — Ц). Порядок, в котором чередуются азотистые основания в цепочки, называются последовательностью ДНК. В этой последовательности закодирована генетическая информация. Молекула ДНК состоит из двух цепочек. Азотистые основания этих цепочек взаимодействуют друг с другом водородными связями и образуют пары оснований. Каждое из четырех оснований способно образовать пару только с одним из них. Аденин может образовать пару только с тимином, а гуанин — с цитозином (Ц комплементарен Г). Каждый ген имеет пару, локализованную в парной хромосоме.

Наряду с ядерной ДНК существует и митохондриальная ДНК (мтДНК). Изменения в генах мтДНК также приводят к развитию наследственных болезней.

ДНК состоит из экзонов (кодирующие участки) и интронов (некодирующие участки). Последовательность ДНК записывается слева направо (5' - 3') первыми заглавными буквами соответствующих нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов определяет аминокислотную последовательность белков. 5' и 3' — концевые нуклеотиды кодируют первые (N-) и последние (C-) аминокислоты белка, соответственно; к-ДНК — это кодирующая часть гена.

Генетическая информация, которая закодирована в молекуле ДНК, расшифровывается (экспрессируется) в соответствии с центральной молекулярно-генетической догмой, согласно которой один ген кодирует одну полипептидную цепь (рис. П.12).

Вначале осуществляется транскрипция, при которой избирательно синтезируется молекула рибонуклеиновой

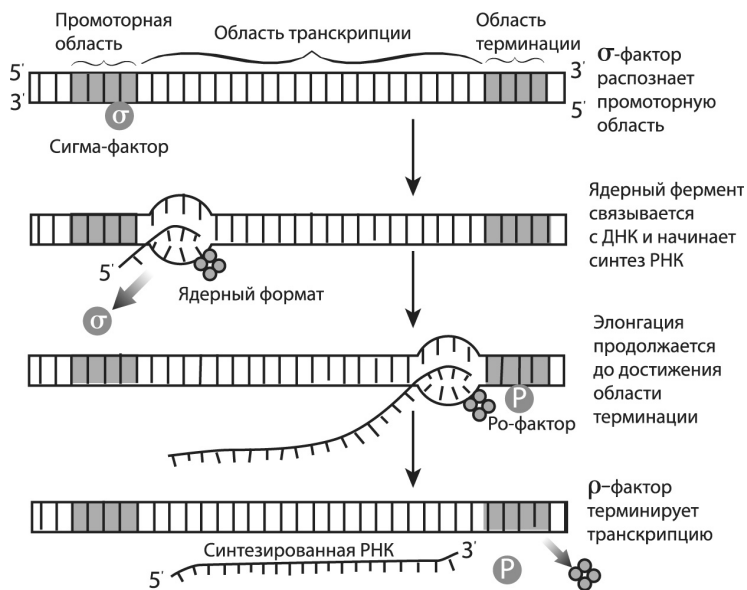


Рис. П.12. Процесс транскрипции (Горбунова В.Н., 1999)

кислоты (РНК), комплементарная определенным участкам ДНК (рис. П.13). Напротив определенного нуклеотида выстраивается только соответствующий нуклеотид в молекуле РНК (А — У, вместо тимина; Г — Ц). В молекуле РНК нет Т, вместо него содержится урацил (У). Транскрибируемый участок ДНК, последовательность которого заключает в себе информацию для синтеза полипептидной цепи, называется геном. Фермент РНК-полимераза осуществляет комплементарный синтез РНК по матрице ДНК. На этом этапе синтеза полипептидной цепи, кодируемой геном, образуется молекула первичного РНК-транскрипта (пре-РНК). Завершение транскрипции происходит в области терминатора 3'-кодирующей части гена. Основным регулятором работы гена является промотор, который находится в 5'-нетранслируемой области. В этом месте происходит взаимодействие ДНК с РНК-полимеразой.

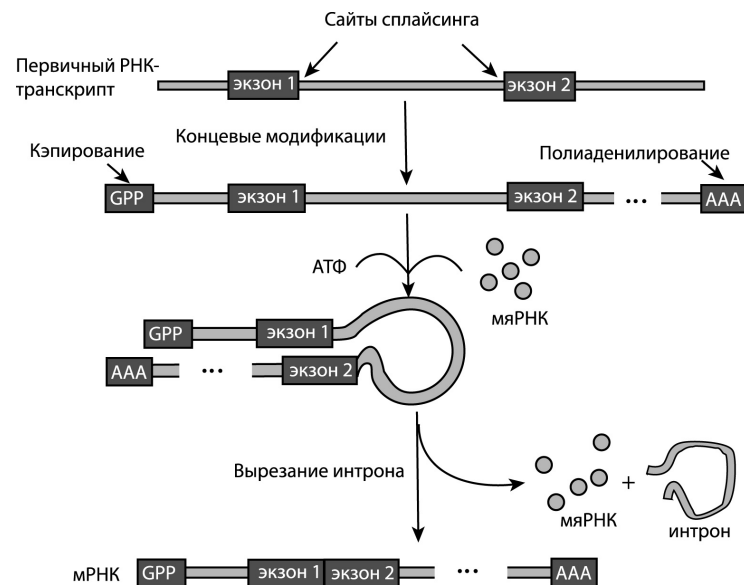


Рис. П.13. Процессинг первичного РНК-транскрипта (Горбунова В.Н., 1999)

В клетке находится 4 основных типа РНК: 1) рибосомальная РНК (рРНК); 2) транспортные РНК; 3) РНК-транскрипты (преРНК, мРНК); 4) ядерные РНК (мяРНК).

После синтеза молекулы первичного РНК-транскрипта происходит процессинг — «созревание» РНК, в процессе которого первичный РНК-транскрипт претерпевает ряд модификаций (удаление интронов, полиаденилирование и др.) и превращается в молекулу зрелой РНК (рис. П.14). Изменяются концевые участки РНК, присоединяется метилированный гуанин с тремя фосфатными группами к 5'-концу молекулы (процесс «кэпирования»). Кроме того присоединяется поли-А последовательность к 3'-концу молекулы РНК (полиаденилирование). На этом этапе осуществляется также сплайсинг — вырезание областей, комплементарных интронам, из молекулы первич-

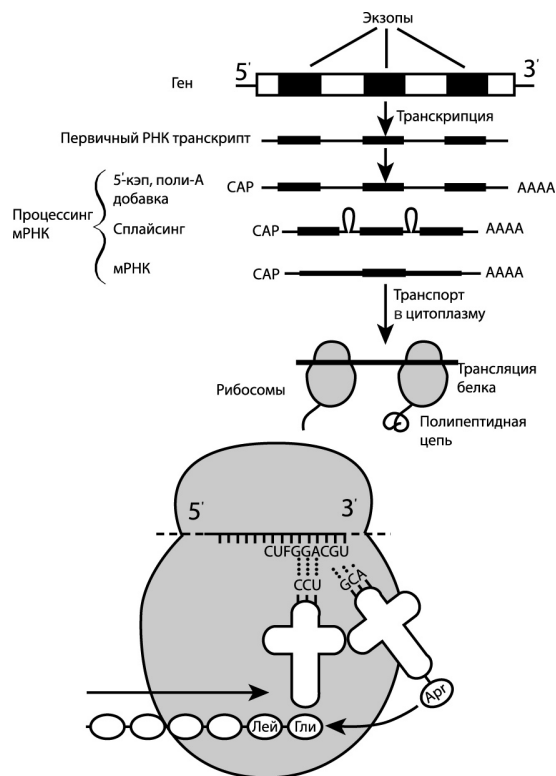


Рис. П.14. Процесс трансляции (Горбунова В.Н., 1999)

ного РНК-транскрипта. В конце процессинга возникает информационная, или матричная, РНК (мРНК). мРНК является молекулой РНК, последовательность которой комплементарна экзонам (кодирующим частям) гена и служит матрицей для синтеза белка.

После завершения процессинга, который происходит в ядре клетки, мРНК выходит в цитоплазму, она соединяется с рибосомами и начинается трансляция. *Трансляция* — это синтез на рибосомах полипептидной цепи, в которой порядок аминокислот соответствует порядку кодирующих триплетов м-РНК матрицы (рис. П.15). Во время трансляции

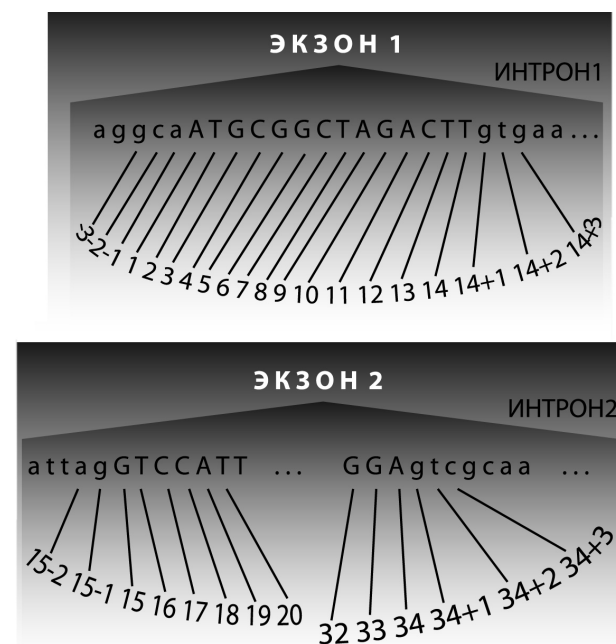


Рис. П.15. Принципы обозначения нуклеотидов в гене (Иллариошкин С.Н. и др., 2002)

соблюдается генетический код, согласно которому кодону (каждой последовательности из трех нуклеотидов РНК) соответствует определенная аминокислота или сигнал об окончании синтеза полипептидной цепи (табл. П.1).

Первый кодон мРНК — AUG — является иницирующим. С него начинается считывание информации с мРНК. Триплет AUG кодирует метионин, который включается первым при трансляции белка. В последующем, еще до завершения процесса трансляции, метионин отщепляется от полипептидной цепи. Следовательно, иницирующий AUG-кодон не содержит информации, а представляет собой сигнал к началу трансляции. Сигналы к завершению трансляции представлена одним из трех нонсенс или стоп-кодонов: ochre (UAA), amber (UAG) или opal (UGA). По-

Таблица П.1
Генетический код (на уровне молекул РНК) (Иллариошкин С.Н. и др., 2002)

Первое основание	Второе основание																
	U			C			A			G							
U	UUU	фенилаланин	UCU	серин	UAU	тирозин	UGU	цистеин	C	CUU	лейцин	UCA	стоп-кодон	UGA	стоп-кодон		
	UUC	фенилаланин	UCC	серин	UAC	тирозин	UGC	цистеин		CUU	лейцин	CCU	пролин	UAG	стоп-кодон	UGG	триптофан
	UUA	лейцин	UCA	серин	UAA	стоп-кодон	UGA	стоп-кодон		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин
C	UUG	лейцин	UCG	серин	UAG	стоп-кодон	UGG	триптофан	A	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAC	гистидин	CGC	аргинин
	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
	CUC	лейцин	CCC	пролин	CAC	гистидин	CGC	аргинин		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
A	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин	G	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
G	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин	G	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин
	CUU	лейцин	CCU	пролин	CAU	гистидин	CGU	аргинин		CUU	лейцин	CCU	пролин	CAA	глутамин	CGA	аргинин

явление нонсенс кодона на рибосоме прерывает трансляцию.

Генетический код обладает следующими свойствами:

- 1) он триплетный (3 нуклеотида образуют один кодон);
- 2) линейный (кодоны прочитываются последовательно один за другим, что связано с линейностью молекулы РНК);
- 3) кодоны не перекрываются (каждый нуклеотид может входить в состав только одного кодона);
- 4) вырожденность (все аминокислоты, кроме одной кодируются несколькими вариантами триплетов).

Двадцать аминокислот кодируются 61 вариантом комбинации нуклеотидных пар. Три варианта из возможных 64 соответствуют сигналам прекращения трансляции. Таким образом, можно прогнозировать аминокислотную последовательность полипептида, если известна нуклеотидную последовательность кодирующего участка РНК, а одна и та же аминокислота может кодироваться различным образом.

Информацию с молекулы РНК можно обратно транскрибировать в молекулу ДНК. При обратной транскрипции мРНК образуется молекула комплементарной ДНК (кДНК), в которой представлены смысловые кодирующие последовательности гена. При открытии гена изолируют и расшифровывают нуклеотидную последовательность.

Мутации – любое изменение структуры ДНК. Мутации в генах могут быть точковыми, структурными или могут выражаться в увеличении числа тринуклеотидных повторов. Структурные мутации – это мутации, приводящие к протяженному (мульти-нуклеотидному) дефекту гена. Возможны большие внутригенные делеции (утрата сегмента ДНК), инсерции (вставки сегмента ДНК), инверсии (переворот на 180° сегмента ДНК), затрагивающие один или несколько экзонов и более. Точковые (точечные) мутации – это однонуклеотидные замены, делеции, инсерции, затрагивающие 1–2 или несколько нуклеотидов.

Существуют нейтральные (молчащие) мутации, не влияющие на функцию и структуру белка.

При ВМС выявляют следующие типы мутаций генов рецепторов АХ:

1. Преждевременное окончание трансляции в результате:
 - нарушения рамки считывания;
 - сплайс-сайт-мутации;
 - нонсенс-мутации.
2. Мутация в промоторной области или региона сигнального пептида.
3. Миссенс-мутация в химических группах, существенных для связывания субъединиц, т.е. глюкозилированных сайтах, цистеиновых петлях и других химических групп, необходимых для связывания.
4. Некоторые миссенс-мутации, поражающие экспрессию и кинетику АХР, но вызывающие легкий кинетический эффект

Миссенс-мутация — это замена нуклеотида в кодирующей части гена, приводящая к замене аминокислоты в соответствующем белковом продукте. *Инсерция* — вставка сегмента ДНК. *Нонсенс-мутация* — замена нуклеотида в кодирующей части гена, сопровождающаяся образованием стоп-кодона и прекращением трансляции. Мутация со *сдвигом рамки считывания (фреймшифт)* — мутация, приводящая к нарушению нормального отсчета кодирующих триплетов в процессе трансляции полипептидной цепи. *Сплайсинговая мутация* — мутация, затрагивающая сайты сплайсинга и приводящая к неправильному вырезанию интрона либо к удалению из молекулы РНК информационно значимой экзонной последовательности. *Сайт* — определенное место в молекуле ДНК и РНК, или белка, обладающее специфической функцией. *Сплайсинг* — процесс вырезания интронов из молекулы первичного РНК-транскрипта. *Сайт сплайсинга* — специфическая нуклеотидная на границе между экзоном и интроном,

выполняющая важную сигнальную роль для правильного протекания сплайсинга.

Самое большое повреждающее действие оказывают мутации, приводящие к преждевременному окончанию синтеза белка, — нонсенс-мутации (замены нуклеотидов, при которых образуются терминирующие стоп-кодоны), а также делеции или инсерции, не кратные трем нуклеотидам и вследствие этого вызывающие сдвиг рамки считывания, что также приводит к формированию стоп-кодона. Укороченные белки, образующиеся при преждевременной остановке трансляции, часто быстро деградируют, так как не защищены от протеолитических ферментов. У больных с нонсенс-мутацией и фреймшифт-мутациями отмечается очень тяжелое течение болезни, так как белок становится неактивным. Такой же эффект оказывают мутации в сайтах сплайсинга, в результате чего не вырезается соответствующая интронная область и формируется стоп-кодон. При сплайсинговых мутациях также может наблюдаться ошибочное вырезание экзона и образование белка с протяженной делецией, что сопровождается тяжелой клинической картиной болезни.

Клинические проявления миссенс-мутаций, сопровождающихся заменой нуклеотидов в кодирующей части гена с изменениями кодонов и заменой аминокислоты в белке, зависят от особенностей такой замены и функциональной значимости домена в котором это произошло. Полная потеря функциональной активности белка возникает при замене аминокислот в активных центрах белка, а замены, даже существенные, в других белках могут оказывать меньшие клинические проявления. К количественным изменениям соответствующего продукта, не затрагивая структуры и функциональной активности белка приводят нарушения в регуляторных областях генов — генов основного регуляторного белка, расположенных в 5'-нетранслируемой области; месте взаимодействия ДНК с РНК-полимеразой. Эти мутации проявляются пороговым уровнем концен-

ции белка, его функция еще сохраняется. Регуляторные мутации менее тяжелые, чем мутации в кодирующих областях гена.

В 1992 г. американскими учеными Артуром Боде и Лап-Чи Тсуи была предложена универсальная стандартная система обозначения мутаций. Записываются аминокислотные замены в белках, нуклеотидные замены и перестановки в ДНК (табл. П.2). Каждую аминокислоту обозначает однобуквенный символ (табл. П.3).

Таблица П.2

Примеры единой номенклатуры записи генных мутаций
(Горбунова В.Н., 1999)

Тип мутации	Номенклатура записи
Миссенс-мутации	D44G A655E
Стоп-кодон	Q39X W1282X
Отсутствие одной или нескольких аминокислот: отсутствие фенилаланина в 508-м положении	Δ ΔF508
Полиморфизмы, связанные с равноценной по функциональной значимости заменой аминокислот:	/ M/V470
Делеция/вставка: – одного нуклеотида – двух нуклеотидов – трех и более нуклеотидов – большие делеции	del, ins del A, insA del AT, insAT 852del22, 3320ins7 2115del13kb, 2115ins13kb или 2115 insAlu
Сплайсинговые мутации	711+5G-T

Слева записывают нормальный вариант аминокислоты, а справа — мутантный, расположенный в центре номер соответствует месту замены в цепочке первичного продукта трансляции. В табл П.2 D44G обозначает замену аспарагина на глицин в 44-м положении полипептидной цепи. Запись A655E означает замену аланина на глутамин

в 655-м положении белка. Таким образом, записывают замены аминокислот при миссенс мутации. «X» означает остановку синтеза полипептидной цепи при нонсенс мутациях. Q39X показывает, что произошла замена глицина на стоп сигнал в 39-м кодоне, W1282X — замену триптофанового триплета на стоп-кодон в 1282-м положении. Δ — отсутствие одной или нескольких аминокислот. Δ F508 показывает отсутствие фенилаланина в 508-м положении трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза. Полиморфизм, который связан с равноценной по функциональной значимости заменой аминокислот, записывают через черточку: M/V470 — метионин или валин в положении 470.

Таблица П.3

Обозначения аминокислот (Горбунова В.Н., 1999)

Аминокислоты	Трехбуквенный символ	Однобуквенный символ
Аланин	Ala	A
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспарагиновая к-та	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамин	Gln	G
Глутаминовая к-та	Glu	E
Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L
Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

Нуклеотиды отсчитываются в молекуле ДНК с первого смыслового кодона. Нуклеотид номер +1 соответствует первому нуклеотиду в молекуле кДНК. Справа налево (от 3' к 5') от первого кодона нуклеотиды записываются со знаком «-»; слева направо (от 5' к 3') — со знаком «+» (см. рис. П.15). Нуклеотиды экзонов обозначают заглавными буквами, интронов — прописными. Делеция записывается как del. Например, 441delA. Инсерция — ins. Например, 485insTA. При делеции или инсерции 3 и более нуклеотидов указывается только их число. Например, 852del22 означает делецию 22 нуклеотидов, начиная с 852-го нуклеотида. Запись 3320ins7 означает вставку 7 пар оснований после нуклеотида 3320. При больших вставках или делециях их размеры указывают в килобазах (например, 2115 ins13кб) или обозначают соответствующие инсертированные или deletированные структурные элементы генома. Например, 2115insAlu означает инсерцию Alu-повтора после нуклеотида 2115. При обозначении сплайсинговых мутаций записывают номер крайнего нуклеотида в ближайшем к мутации экзоне, число нуклеотидов (со знаком «+» в случае 3' конца экзона и со знаком «-» — в случае 5'-го конца) и характер нуклеотидных замен. Запись 711+5G-T означает то, что произошла замена G на T в 5-м основании интрона, следующего за экзоном, который заканчивается 711 нуклеотидом.

Методы анализа ДНК

Для анализа ДНК используют следующие методы:

- выделение ДНК;
- электрофорез;
- рестрикция.
- секвенирование;
- гибридизации.

Выделение ДНК. ДНК выделяют из лейкоцитов венозной крови (5,0–10,0 мл), собранной в присутствии антикоагулянта (ЭДТА). Отбирают слой плазмы, обогащенный лейкоцитами, проводят лизис клеток детергентами. Цен-

трифугированием осаждают ядра клеток, сливают надосадочную жидкость. Протеиназой К высвобождают ДНК из хромосом. Фенольной, затем хлороформной очисткой экстрагируют и удаляют из раствора фрагменты белков, углеводов, липидов. Молекулы ДНК концентрируют с помощью преципитации в этаноле. ДНК выпадает в осадок и может долго храниться при минусовой температуре.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для работы с ДНК используют ПЦР. В специальный буфер добавляется:

- 1) образец ДНК больного;
- 2) 2 типа олигонуклеотидных праймеров, которые обеспечивают специфичность синтеза необходимого участка ДНК. Эти праймеры искусственно синтезируются, они представляют собой олигонуклеотидные последовательности ДНК — 15–30 пар оснований, комплементарны 3'-концам амплифицируемого участка на нитях ДНК. Длину синтезируемых молекул определяет расстояние между праймерами;
- 3) фермент комплементарного синтеза ДНК — ДНК-полимераза;
- 4) 4 типа дезокситрифосфатов (dNTP).

Для получения достаточного количества генетического материала для исследования используют метод амплификации. **Амплификация** — искусственный специфический синтез большого числа копий небольшого фрагмента ДНК на базе ПЦР. Выделяют следующие циклы амплификации:

- 1) денатурация при температуре 90–95 °С.
- 2) гибридизация (отжиг) праймеров при температуре 50–65 °С.
- 3) синтез ДНК при температуре 72 °С.

Вначале двухнитчатая ДНК переходит в однонитчатую при нагревании до 95 °С. Затем чередуются циклы: 1) отжига, или гибридизации, ДНК с праймерами; 2) синтеза последовательности, комплементарной ДНК; 3) денатурации образующихся двухнитчатых структур.

Таким образом, при каждом цикле число копий увеличивается в 2 раза. ПЦР проводят в автоматическом режиме. При ПЦР не требуется большого количества ДНК.

Электрофорез. Электрофорез проводят в полиакриламидном или агарозном гелях, помещенных в камеру с буферным раствором, в котором суммарный заряд ДНК отрицательный и при подключении электрического тока фрагменты двигаются от катода к аноду. Скорость движения фрагментов ДНК зависит от величины, конфигурации молекул, что определяет их разделение. Идентификация ДНК осуществляется окрашиванием серебром или бромидом этидия. Просмотр проводят в ультрафиолете.

Рестрикция. *Рестрикция* — это вырезание специфических нуклеотидных последовательностей длиной от 4 до 10 нуклеотидов в составе двунитчатой последовательности ДНК. Выделенная ДНК обрабатывается одной из рестрикционных эндонуклеаз, расщепляющей ДНК в строго определенных сайтах. Рестрикционные эндонуклеазы (рестриктазы) — это клеточные ферменты, которые выделяются из различных штаммов бактерий.

Секвенирование. *Секвенирование* — определение нуклеотидной последовательности определенного фрагмента ДНК. Чаще применяют метод Сэнгера, при котором *in vitro* синтезируют необходимую цепь ДНК, останавливая синтез на заданном основании.

По методу Сэнгера ДНК денатурируется, получают однонитцевую молекулу. Добавляют секвенирующий праймер — искусственно синтезированную олигонуклеотидную последовательность, которая комплементарна участку исходной молекулы ДНК. Создаются условия для гибридизации праймера (процесс образования двунитцевой структуры в молекулах ДНК за счет комплементарных связей по правилу А–Т, Г–Ц). Иницируется синтез ДНК. Проводится одновременное электрофоретическое разделение этих фрагментов, после чего возможно определить их размер. На секвенирующем геле могут быть определены последовательности не более 500 пар оснований. Суще-

ствует автоматическое ДНК-секвенирование. Результаты ДНК-секвенирования сравнивают с данными библиотеки генов, которую получают путем обратной транскрипции из тотальной мРНК, выделенной из специфических культивируемых клеток. Все расшифрованные последовательности кДНК вносят в компьютерную базу данных, позволяющую проводить сравнительный анализ, выявляя области гомологии с другими генами, присутствующими в геноме человека.

Методы гибридизации. Для идентификации фрагментов ДНК, полученных после рестрикции и электрофоретического разделения образующихся фрагментов ДНК их идентификацию осуществляют с помощью гибридизации. Для этого используют ДНК-зонды — однонитцевую ДНК ограниченного размера, которая применяется для поиска комплементарных последовательностей в молекуле большого размера. Эта технология называется *блот-гибридизацией по Саузерну* (предложена в 1975 г.). Идентификация нужных фрагментов ДНК в геле возможна только путем гибридизации с меченым ДНК-зондом. После рестрикции одной или несколькими эндонуклеазами ДНК разделяется по молекулярному весу в агарозном геле. С геля ДНК переносится и фиксируется на нитроцеллюлезном фильтре или нейлоновой мембране и подвергается денатурации. Перенос (*блоттинг*) происходит за счет капиллярных сил, электрического поля или вакуума. Фиксированная на фильтре и денатурированная ДНК подвергается гибридизации с радиоактивным меченым ДНК-зондом. После отмывки и высушивания на фильтр кладут рентгеновскую пленку и проводят радиоавтографию. Места засвечивания пленки соответствуют положению искомого фрагмента геномной ДНК, содержащего последовательность, комплементарную зонду. Блот-гибридизация является высокочувствительным методом идентификации специфической последовательности ДНК.

Гибридизация с меченым ДНК-зондом препаратов ДНК, нанесенных капельно на твердый матрикс без пред-

варительной рестрикции и электрофореза, называется *dot-* или *слот-гибридизацией* в зависимости от конфигурации пятна ДНК на фильтре (округлой или продолговатой соответственно).

Метод гибридизации *in situ* между молекулами РНК-и кДНК-зондами, которая проводится на гистологических препаратах, представляет собой один из эффективных методов молекулярного анализа тканеспецифической экспрессии генов.

Методы ДНК-диагностики наследственных болезней. При проведении ДНК-диагностики наследственных болезней используют 2 метода:

- 1) прямую ДНК-диагностику;
- 2) непрямую ДНК-диагностику.

В случае *прямой* ДНК-диагностики объектом исследования служит мутация определенного гена. Основной задачей является его идентификация. Этот метод диагностики наиболее точный. Однако для его применения необходима информация о локализации и характере наиболее частых мутаций гена. Преимущество прямого метода ДНК-диагностики — его точность и отсутствие необходимости обследования родственников больного. Метод применяется для подтверждения диагноза наследственного заболевания.

Непрямая (косвенная) ДНК-диагностика наследственных болезней наиболее универсальна, так как может применяться в случаях, когда неизвестна природа мутаций или когда неизвестна точная локализация гена на хромосоме. ДНК-диагностика при этом возможна, если известно, в какой хромосоме локализован ген. Исследуют генетические маркеры, расположенные в изучаемой хромосоме, сцепленные с геном болезни. В результате этого анализа можно определить унаследовал ли родственник больного хромосому, несущую патологический ген заболевания. С помощью этого метода нельзя подтвердить диагноз наследственного заболевания, но можно выявить носителей гена болезни при наличии нескольких больных в семье.

Картирование генов. Актуальным является картирование генов наследственных болезней (локализация в хромосоме и определение последовательности нуклеотидов). При картировании генов выделяют 2 этапа:

- 1) формирование групп сцепления и исследование их взаимного расположения. Техника соматической гибридизации является одной из наиболее мощных методов нахождения связей между группами сцепления и цитогенетически идентифицированными хромосомами;
- 2) идентификация гена, определение последовательностей нуклеотидов в нем.

ЛИТЕРАТУРА

- Ветшев П.С., Зайратьянц О.В., Животнов В.А.* Вилочковая железа // В кн.: Хирургическая эндокринология / Под ред. А.П. Калинина и др. — СПб.: Питер, 2004. — С. 347–462.
- Генетика: Учебник для вузов / Под ред. акад. РАМН В.И. Иванова. — М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. — 638 с.
- Гехт Б.М., Ильина И.А.* Нервно-мышечные болезни. — М., 1982. — 352 с.
- Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология: В 3 т. / Пер. с англ. — М.: Мир, 1993. — Т. 1. — 368 с.
- Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д.* ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. — М.: Медицинское информационное агентство, 2002. — 590 с.
- Калашикова Л.А., Савицкая Н.Г., Добрынина Л.А.* Миастения и первичный антифосфолипидный синдром // Нейроиммунология. — 2003. — Т. 1. — № 2. — С. 63.
- Основы цитогенетики человека / Под ред. А.А. Прокофьевой-Бельгоской. — М.: Медицина, 1969. — 544 с.
- Санадзе А.Г., Гехт Б.М., Сиднев Д.В. и др.* Антитела к ацетилхолиновому рецептору в диагностике миастении и других форм, связанных с патологией нервно-мышечной передачи // Неврологический журнал. — 2003. — Т. 8 (Приложение 1). — С. 19–20.
- Санадзе А.Г., Сиднев Д.В., Давыдова Т.В. и др.* Антитела к мышцам (антититиновые антитела) у больных с поздним началом миастении: клинические и электрофизиологические корреляции

// Неврологический журнал. — 2003. — Т. 8 (Приложение 1). — С. 23–26.

- Септ Е.К., Ланцова В.Б.* Миастения. — М.: Телер, 2002. — 65 с.
- Сиднев Д.В. и др.* Антитела к мышцам (антититиновые антитела) в диагностике миастении, сочетающейся с тимомой // Неврологический журнал. — 2003. — Т. 8 (Приложение 1). — С. 21–23.
- Сидорова О.П. и др.* Антитела к рецепторам ацетилхолина у больных миастенией: Тез. докл. VIII Рос. съезда неврологов. — Казань, 2001. — С. 343–344.
- Слюсарев А.А., Жукова С.В.* Биология. — Киев: Вища шк. Головное изд-во, 1987. — 415 с.
- Фогель Ф., Мотульски А.* Генетика человека: В 3 т. Т. 1 / Пер. с англ. — М.: Мир, 1989.
- Щербакова Н.И., Сидорова О.П., Мененкова Е.Ю. и др.* Врожденный миастенический синдром, связанный с гомозиготной точковой мутацией в промоторном регионе гена ϵ -субъединицы рецептора ацетилхолина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2004. — Т. 104. — № 4. — С. 55–57.
- Abicht A., Stucka R., Karcagi V. et al.* A common mutation (ϵ 1267delG) in congenital myasthenic patients of Gypsy Ahnic origin // Neurology. — 1999. — Vol. 53. — P. 1564–1569.
- Abicht A., Stucka R., Sony I.-H. et al.* Genetic analysis of the entire AchR ϵ -subunit gene in 52 congenital myasthenic families // Acta Myologica. — 2000. — Vol. 19. — P. 23–281.
- An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISHCN) (2005) / Ed. L.G. Shaffer, N. Tommerup. — Basel: Karger, 2005.
- Bae J.S., Go S.M., Kim B.J.* Clinical predictors of steroid-induced exacerbation in myasthenia gravis // J. Clin. Neurosci. — 2006. — Vol. 13. — P. 1006–1010.
- Barisic N., Schmidt C., Sidorova O.P et al.* Congenital myasthenic syndrome (CMS) in three European kinships due to a novel splice mutation (IVS7-2A/G) in the epsilon acetylcholine receptor (AChR) subunit gene // Neuropediatrics. — 2002. — Vol. 33. — P. 249–254.
- Beeson D., Brownlow S., Webster R.* Arthrogriposis multiplex congenital and fast channel congenital myasthenic syndromes in a child with heteroallelic AChR δ -subunit mutation // J. Neurosciences. — 2001. — Vol. 187 (Supple). — P. 123.
- Brownlow S., Webster R., Croxen R. et al.* Acetylcholine receptor δ -subunit mutations underline a fast-channel myasthenic syndrome and arthrogriposis multiplex congenita // J. Clin. Invest. — 2001. — Vol. 108. — № 1. — P. 125–130.

- Buckley C., Newsom-Davis J., Willcox N., Vincent A.* Do titin and cytokine antibodies in MG patients predict thymoma or recurrence // *Neurology*. — 2001. — Vol. 57. — № 9. — P. 1575–1589.
- Burset M., Seledtsov I.A., Solovyev V.V., Slice D.* Database of canonical and non-canonical mammalian splice sites // *Nucleic Acids Res.* — 2001. — Vol. 1. — № 29. — P. 255–259.
- Chan S., Tan S., Wee G. et al.* HLA and Singaporean Chinese myasthenia gravis // *Int. Arch. Allergy Immunol.* — 1993. — Vol. 101. — № 2. — P. 119–125.
- Chaudhuri A., Behanq P.O.* Myasthenic crisis // *Q.J. Med.* — 2009. — Vol. 102. — P. 97–107.
- Chen X., Lu C., Qio J.* The significance of titin antibody is diagnosing myasthenia gravis with thymoma // *Zhonghua. Yi. Zhi.* — 2001. — Vol. 81. — № 18. — P. 1118–1120.
- Comerci G., Buffon A., Biondi-Zoccai G.G. et al.* Coronary vasospasm secondary to hypercholinergic crisis: an iatrogenic cause of acute myocardial infarction in myasthenia gravis // *Int. J. Cardiol.* — 2005. — Vol. 103. — P. 335–337.
- Croxen R., Young C., Slater C. et al.* End-plate gamma- and epsilon-subunit mRNA levels in AChR deficiency due to epsilon-subunit null mutation // *Brain.* — 2001. — Vol. 124. — P. 1362–1372.
- Engel A.* 73rd ENMC International Workshop: Congenital myasthenic syndromes 22–23 October 1999, Narden, The Netherlands. Workshop report // *Neuromuscular disorders.* — 2001. — Vol. 11. — P. 315–321.
- Engel A., Ohno K., Bouzat C. et al.* End plate acetylcholine receptor deficiency due to nonsense mutations in the epsilon subunit // *Ann. Neural.* — 1996. — Vol. 40. — P. 810–817.
- Engel A., Ohno K., Milone M. et al.* Nerve mutation in acetylcholine receptor subunit genes reveal heterogeneity in the slow channel congenital myasthenic syndrome // *Human Molecular Genetics.* — 1996. — V. 5. — N. 9. — P. 1217–1227.
- Engel A., Ohno K., Sine S.M.* Congenital myasthenic syndromes: progress over the past decade // *Muscle Nerve.* 2003, Vol. 27, P. 4–25.
- Engel A., Ohno K., Sine S.M.* Sleuthing molecular targets for neurological diseases at the neuromuscular junction // *Neuroscience.* — 2003. — Vol. 4. — P. 339–350.
- Engel A., Ohno K., Sini S.* Congenital myasthenia syndromes // *Arch. Neurol.* — 1999. — Vol. 56. — P. 163–167.
- Fabien N., Hachet F.X., Sanmarco M. et al.* Auto-antibodies against acetylcholine receptors in myasthenia gravis // *Presse. Med.* — 2001. — Vol. 30. — № 28. — P. 1414–1418.

- Franciotta D., Cuccia M., Dondi E. et al.* Polymorph markers in MHC class II/III region: a study on Italian patients with myasthenia gravis // *J. Neurol. Sci.* — 2001. — Vol. 190. — № 1–2. — P. 11–16.
- Gajdos P., Tranchant C., Clair B. et al.* Treatment of myasthenia gravis exacerbation with intravenous immunoglobulin: a randomized double-blind clinical trial // *Arch. Neurol.* — 2005. — Vol. 62. — P. 1689–1693.
- Giraund M., Beaurain G., Yamamoto A.M. et al.* Linkage of HLA to myasthenia gravis and genetic heterogeneity depending on antititin antibodies // *Neurology.* — 2001. — Vol. 57. — № 9. — P. 1555–1560.
- Juel V.C.* Myasthenia gravis: management of myasthenic crisis and perioperative care // *Semin. Neurol.* — 2004. — Vol. 24. — P. 75–81.
- Kosmidis M.L., Dalakas M.C.* Practical considerations on the use of rituximab in autoimmune neurological disorders // *Ther. Adv. Neurol. Disord.* — 2010. — Vol. 3. — № 2. — P. 93–105.
- Lacomis D.* Myasthenic crisis // *Neurocrit. Care.* — 2005. — Vol. 3. — P. 189–194.
- Lertchavanaku L.A., Gannedsiri P., Hirunwiwakul P.* Ice test for ocular myasthenia gravis // *J. Med. Assoc. Thai.* — 2001. — Suppl. 1. — S. 131–136.
- Mandawat A., Kaminski H.J., Cutter G. et al.* Comparative analysis of therapeutic options used for myasthenia gravis // *Ann. Neurol.* — 2010. — Vol. 68. — P. 797–805.
- McConville J., Hoch W., Newsom-Davis J., Vincat A.* Antibodies to the Muscle specific Kinase (MuSK) in generalized and ocular myasthenia gravis seronegative for acetylcholine receptor antibodies // *J. Neurol. Sci.* — 2001. — Vol. 187 (Supl.). — P. 122–123.
- Mehra S.* Neuromuscular disease causing acute respiratory failure // *Respir. Care.* — 2006. — Vol. 51. — P. 1016–1021.
- Moulian N., Bidault J., Truffaut F. et al.* Thymocyte F as expression is dysregulated in myasthenia gravis patients with anti-acetylcholine receptor antibody // *Blood.* — 1997. — Vol. 89. — № 9. — P. 3287–3295.
- Nichols P., Croxen R., Vincent A. et al.* Congenital myasthenia associated with muscle AChR subunit gene promoter mutations // *J. Neurol.* — 1998. — Vol. 245. — P. 381.
- Ohno K., Anlar B., Engel A.* Congenital myasthenic syndrome caused by a mutation in the Ets-binding site of promoter region of the acetylcholine receptor epsilon-subunit gene // *Neuromuscular Disorders.* — 1999. — № 9. — P. 131–135.
- Ohno K., Saden M., Blatt I., Brengman J., Engel A.* E-box mutation in the RAPSIN promoter region in eight cases with congenital myasthe-

- nia syndrom // Human Molecular Genetics. — 2003. — Vol. 12. — № 7. — P. 739–748.
- Ohno K., Tsujino A., Brengman J.M. et al.* Choline acetyltransferase mutations cause myasthenic syndrome associated with episodic apnea in humans // PNAS. — 2001. — Vol 13. — № 4. — P. 2017–2022.
- Romi F., Gilhus N.E., Varhaug J. et al.* Thymectomy and antimuscle autoantibodies in late-onset myasthenia gravis // Eur. J. Neurol. — 2002. — Vol. 9. — № 1. — P. 55–61.
- Romi F., Skeie G., Aarli J., Gilhus N.* The severity of myasthenia gravis correlation with the serum concentration of titin and ryanodine receptor antibodies // Arch. Neurol. — 2000. — Vol. 57. — № 11. — P. 1596–1600.
- Santos M., Marta M., Schmidt C., Abicht A., Lochmuller H.* Congenital myasthenia: four Portugal patients with tow compaund heterozygous mutation of the AchR epsilon subunit // Eur. J. Neurology. — 2002. — Vol. 9 (Suppl. 2). — P. 14.
- Sasaki H., Kunimatsu M., Fujii Y. et al.* Autoantibody to gravin is expressed more strongly in younger and nonthymoma patients with myasthenia gravis // Surg. Today. — 2001. — Vol. 31. — № 11. — P. 1031–1037.
- Sempowski G., Thomash J., Gooding M. et al.* Effect of thymectomy on human peripheral blood T-cell pools in myasthenia gravis // J. Immunol. — 2001. — Vol.166. — № 4. — P. 2808–2817.
- Skeie G.O., Lunde P.K., Sejster O.M. et al.* Autoimmunity against the ryanodine receptor in myasthenia gravis // Acta Physiol. Scand. — 2001. — Vol. 171. — № 3. — P. 379–384.
- Sieb J.P., Knaner M.S., Schrank B. et al.* Severe congenital myasthenia syndrome due to homozygosity of the 1293 ins G epsilon acetylcholine receptor subunit mutation // Ann. Neurol. — 2000. — Vol. 48. — P. 379–383.
- Soltanzaneh P., Muller J., Chorbani A et al.* An Iranian family with congenital myasthenia syndrome caused by a novel acetylcholine receptor mutation (CHRNE K171) // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. — 2005. — Vol. 76. — P. 1039–1040.
- Trikha I., Singh S., Goyal V. et al.* Comparative efficacy of low dose daily, versus alternate day plasma exchange in severe myasthenia gravis: a randomized trial // J. Neurol. Sci. — 2007. — Vol. 254. — P. 989–995.
- Workshop report 73rd ENMC International Workshop: Congenital myasthenic syndromes, 22–23 October 1999, Naarden, the Netherlands // Neuromuscular Disorders. — 2001. — Vol. 11. — P. 315–321.

Научное издание

Агафонов Борис Валентинович,
Котов Сергей Викторович,
Сидорова Ольга Петровна

МИАСТЕНИЯ И ВРОЖДЕННЫЕ МИАСТЕНИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Руководитель научно-информационного отдела
д-р мед. наук *А.С. Макарян*
Главный редактор *А.С. Петров*

Санитарно-эпидемиологическое заключение
№ 77.99.60.953.Д.008014.07.09 от 08.07.2009 г.

Подписано в печать 28.07.12. Формат 84 × 108/₃₂.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Petersburg».
Объем 25,5 печ. л. Тираж экз. Заказ № .

ООО «Медицинское информационное агентство»
119048, Москва, ул. Усачева, д. 62, стр. 1, оф. 6
Тел./факс: (499)245-45-55

e-mail: miapubl@mail.ru; http://www.medagency.ru
Интернет-магазин: www.medkniga.ru
Книга почтой на Украине: а/я 4539, г. Винница, 21037
E-mail: maxbooks@svitonline.com
Телефоны: +380688347389, 8(0432)660510

Отпечатано в