

*На правах рукописи*

**Вялова Надежда Викторовна**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОЛЕНТИКУЛЯРНОЙ  
ДЕГЕНЕРАЦИИ, ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ  
И ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ**

**3.1.24. Неврология**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Екатеринбург – 2021**

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель**

доктор медицинских наук, доцент

**Проскокова Татьяна Николаевна**

**Официальные оппоненты**

**Федотова Екатерина Юрьевна** – доктор медицинских наук, руководитель 5 неврологического отделения ФГБНУ «Научный центр неврологии», г. Москва

**Сайфуллина Елена Владимировна** – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры неврологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

**Ведущая организация**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г. в «\_\_\_» часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 21.2.074.03, созданного на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке имени В.Н. Климова ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, на сайте университета [www.usma.ru](http://www.usma.ru), а также на сайте ВАК Минобрнауки России: [vak.minobrnauki.gov.ru](http://vak.minobrnauki.gov.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года.

**Ученый секретарь**

диссертационного совета 21.2.074.03,  
доктор медицинских наук, профессор

**Базарный Владимир Викторович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы и степень разработанности темы исследования.** Гепатолентикулярная дегенерация (ГЛД, болезнь Вильсона–Коновалова) – редкое наследственное прогрессирующее заболевание, характеризующееся избыточным накоплением в организме и токсическим воздействием меди. Болезнь сопровождается сочетанным поражением внутренних органов и структур головного мозга.

Заболевание распространено повсеместно с частотой – 0,4-6,8:100 000 населения с неравномерным географическим и этническим распространением (A. Peter, 2005; M.L. Schiisky, 1996). В России распространенность заболевания 0,3-1,8:100 000 населения (А.Ю. Асанов, 2013; С.Н. Иллариошкин с соавт., 2004; P. Ferenci et al., 2006). Заявленная частота, как правило, меньше реально существующей, так как болезнь в большинстве случаев не диагностируется (Г.В. Сухарева, 2005).

Заболевание обусловлено мутациями в гене *ATP7B*, локализованном на длинном плече 13 хромосомы (Y.H. Gu et al., 2003; P. Ferenci, 2006). В настоящее время известно более 800 мутаций в гене *ATP7B* (S.M. Kenney et al., 2007). В России наиболее распространенной мутацией гена *ATP7B* является миссенс-мутация His1069Gln (А.Р. Магжанова, 2007). Спектр мутаций в гене *ATP7B* характеризуется выраженной межпопуляционной гетерогенностью. При определении приоритетных для скрининга мутаций в конкретном регионе необходимо принимать во внимание их частоту, характерную для данной популяции, что позволит создать эффективные ДНК-системы диагностики заболевания.

Раннее выявление данного заболевания затруднено именно из-за его полиморфной клинической картины и неспецифичности выявляемых симптомов. Болезнь Вильсона–Коновалова – редкий пример наследственного нарушения, для которого разработаны высокоэффективные методы лечения, систематическое применение которых даже при тяжелой неврологической симптоматике оказы-

вает «драматический» эффект, вплоть до исчезновения всех симптомов или резкого их уменьшения.

Тем не менее, целый ряд клинических и молекулярно-генетических особенностей ГЛД изучен недостаточно. Поэтому детальное клиническое и молекулярно-генетическое изучение заболевания, его клинической трансформации на протяжении многих лет при оценке разных вариантов манифестации позволят повысить эффективность ранней диагностики (при необходимости, превентивной ДНК-диагностики). В свою очередь, ранняя и досимптоматическая идентификация болезни, своевременное терапевтическое вмешательство может предотвратить развитие непоправимого повреждения печени, головного мозга и других органов, улучшить качество жизни больных и прогноз заболевания, что определяет актуальность направления данной работы.

**Цель исследования.** Оценка распространенности, генетической структуры, вариантов клинической манифестации и клинического полиморфизма гепатолентикулярной дегенерации для оптимизации диагностики и лечебно-профилактической помощи.

#### **Задачи исследования**

1. Оценить варианты клинической манифестации ГЛД и распространенность заболевания в процессе сравнения первичной и окончательной его диагностики.
2. Оценить значимость используемых дифференциально-диагностических критериев и роль молекулярно-генетического исследования в диагностике ГЛД.
3. Определить частоту и характер мутаций гена *ATP7B* у больных ГЛД, указав на возможность использования полученных данных в диагностике заболевания.
4. Изучить особенности вызванных потенциалов (ВП) различных модальностей у больных ГЛД и их изменения на фоне медьэлиминирующей терапии в качестве возможных дополнительных диагностических и прогностических критериев.

5. На основе полученных данных разработать алгоритм диагностики ГЛД с учётом региональной специфики.

**Научная новизна исследования.** Проведено комплексное эпидемиологическое, клиническое и генетическое изучение ГЛД в отдельном регионе Российской Федерации. Проведена прямая ДНК-диагностика, изучены частота и спектр мутаций в гене *ATP7B*, определена мажорная мутация p.His1069Gln. Проведена оценка параметров комплексного мультимодального исследования ВП головного мозга на этапе диагностики заболевания и их динамики на фоне длительной патогенетической терапии. Рассмотрена возможность использования параметров акустических стволовых ВП (АСВП) с целью мониторинга эффективности проводимой терапии. Впервые доказано вовлечение в патологический процесс при ГЛД периферических образований слухового анализатора, что подтверждается снижением амплитуды I пика при регистрации АСВП. Выявлено отсутствие положительной динамики показателей зрительных ВП (ЗВП) и когнитивных (КВП) (P300) у больных ГЛД с улучшением неврологической симптоматики на фоне многолетней медьэлиминирующей терапии, что может служить дополнительным маркером сохранности нарушений зрительной афферентации в кору головного мозга и косвенным признаком сохраняющегося когнитивного дефицита.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты проведенного исследования позволяют проводить раннюю молекулярно-генетическую диагностику ГЛД, используя для молекулярно-генетического скрининга поиск мажорной мутации p.His1069Gln, что в свою очередь, сокращает экономические затраты, обеспечивает своевременную патогенетическую терапию, улучшает качество жизни больных и способствует их соматической и социальной реабилитации.

Результаты работы показали, что комплексное мультимодальное исследование ВП является важным дополнительным неинвазивным методом объективной оценки состояния нейрофизиологических процессов, выраженности поражения нервной системы у пациентов с ГЛД. Исследование ВП может быть исполь-

зовано не только на этапе диагностики ГЛД, но и с целью контроля и оптимизации терапии.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой настоящего диссертационного исследования явились научные работы отечественных и зарубежных авторов, клинические рекомендации в области изучения гепатолентикулярной дегенерации. Работа является открытым клиническим исследованием. Объектом исследования явились 74 пациента с подозрением на болезнь Вильсона–Коновалова, из них диагноз поставлен 20 больным и был подтвержден молекулярно-генетическим исследованием. Все больные являлись жителями одного географического региона Российской Федерации – Хабаровского края. Обследование пациентов включало неврологический осмотр, лабораторные и инструментальные методы исследования. Были использованы ретроспективный и проспективный подходы к изучению материала. В работе применялись общенаучные методы оценки данных (наблюдение, описание, анализ, статистическая обработка) и частно-научные (клинический и инструментальный).

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Клинические симптомы и результаты лабораторных и инструментальных методов исследования не могут служить четкими дифференциально-диагностическими критериями ГЛД, что диктует необходимость проведения молекулярно-генетического исследования в сложных дифференциально-диагностических случаях с целью своевременного назначения патогенетической терапии.

2. Наличие мажорной мутации р.His1069Gln в 14 экзоне, выявленной у 85% больных (у 65% в гомозиготном состоянии), позволяет использовать ее поиск как приоритетный для молекулярно-генетического скрининга при обследовании больных с ГЛД.

3. Поражение нервной системы при ГЛД не ограничивается структурами ЦНС, но предполагает и нарушение функционирования периферических образований нервной системы, в частности, слухового анализатора, о чем свидетельствует снижение амплитуды I пика при регистрации АСВП. Позитивные измене-

ния основных параметров АСВП на фоне патогенетической терапии, свидетельствующие об улучшении слуховой афферентации, как на внутриволовном, так и на периферическом уровнях, могут служить дополнительным критерием эффективности проводимого лечения.

4. Стойкие патологические изменения параметров зрительных и когнитивных вызванных потенциалов в процессе динамического наблюдения над пациентами свидетельствуют о грубых нарушениях функции зрительного анализатора и могут быть косвенными показателями сохраняющегося когнитивного дефицита даже на фоне длительной медэлиминирующей терапии. Результаты исследований ВП можно использовать в качестве диагностических и прогностических критериев, в том числе на фоне длительного патогенетического лечения заболевания.

**Связь работы с научными программами, планами.** Диссертационная работа выполнена в рамках комплексной научной темы кафедры неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО ДВГМУ Минздрава России «Методы диагностики, лечения и профилактики наследственных заболеваний нервной системы в Хабаровском крае».

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.24. Неврология (медицинские науки).

**Личный вклад автора в исследование.** Автор непосредственно участвовал в разработке цели и задач исследования, статистическом анализе полученных данных, организации и проведении клинического этапа исследования, обосновании выводов и практических рекомендаций. Автором лично проведен осмотр всех участников исследования, включая пациентов с ГЛД и членов их семей. Осмотр больных с ГЛД проводился в динамике на протяжении всего исследования. Автор самостоятельно проводил регистрацию мультимодальных ВП головного мозга с последующей обработкой и анализом полученных данных. Автором детально изучена и проработана отечественная и зарубежная литература по теме

исследования. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

**Апробация результатов работы.** Материалы диссертации были представлены и обсуждены на 70 итоговой научной конференции молодых ученых и студентов Дальневосточного государственного медицинского университета «Актуальные вопросы современной медицины» (г. Хабаровск, 2013); региональном этапе Всероссийского конкурса «Эстафета ВУЗовской науки – 2015» по Дальневосточному федеральному округу (научная платформа – Неврология) (г. Хабаровск, 2015); 72 итоговой научной конференции молодых ученых и студентов Дальневосточного государственного медицинского университета с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины» (г. Хабаровск, 2015); Международной научно-практической конференции «NGS в медицинской генетике» (г. Суздаль, 2017); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017» (г. Москва, 2017); региональном этапе общероссийского конкурса «Эстафета ВУЗовской науки – 2018» по Дальневосточному федеральному округу (научная платформа – Неврология) (г. Хабаровск, 2018).

**Внедрение в практику.** Результаты работы включены в учебную программу и используются в учебном процессе на кафедре неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО ДВГМУ Минздрава России; внедрены в клиническую практику неврологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина», Дальневосточного центра клинической неврологии «НевроДом», ООО «Центр семейной медицины». По результатам работы издано учебно-методическое пособие для студентов и клинических ординаторов «Неврология. Гепатолентикулярная дегенерация. Трудности дифференциальной диагностики и ведения пациентов», утвержденное центральным методическим советом ДВГМУ (Хабаровск, 2021).

**Публикации.** Материалы диссертационного исследования отражены в 14 печатных работах соискателя, из них 7 опубликованы в журналах, рецензируемых ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации, 2 из

которых входят в международную базу цитирования данных SCOPUS.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц, 16 рисунков; состоит из введения, обзора литературы, шести глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, указателя литературы (включает 230 наименований, из них 57 отечественных и 173 зарубежных источников), трех приложений.

Автор выражает благодарность за помощь в выполнении молекулярно-генетического раздела работы сотрудникам лаборатории ДНК-диагностики Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова (заведующий лабораторией – профессор А.В. Поляков). Автор выражает признательность заместителю директора по научной работе ФГБНУ НЦН, профессору, доктору медицинских наук С.Н. Иллариошкину, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО ДВГМУ профессору А.М. Хелимскому, коллективу неврологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» за помощь в выполнении настоящего исследования.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.** С целью активного выявления больных с ГЛД на начальном этапе исследования использовались данные, полученные при анализе архивов неврологических и гастроэнтерологических отделений городских и краевых стационаров. Произведен «поквартирный обход» пациентов с последующим дообследованием с целью уточнения диагноза, осуществлялись выезды в города и районы Хабаровского края. Всего обследованы 74 человека (мужчин – 29, женщин – 45), проживающих в Хабаровском крае с подозрением на ГЛД.

В работе использован ретроспективный анализ выписок из амбулаторных карт, историй болезни пациентов. Основной этап работы выполнен на базе неврологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина»».

В результате анализа анамнестических данных, клинических проявлений, результатов лабораторных, инструментальных и молекулярно-генетического методов обследования у 54 больных диагноз ГЛД был исключен.

Критерием для постановки диагноза болезни Вильсона–Коновалова, согласно Лейпцигской количественной шкалы для диагностики болезни Вильсона–Коновалова, служили: характерные неврологические симптомы, включающие экстрапирамидные расстройства; патогномоничные для ГЛД признаки нарушения обмена меди; характерные изменения при МРТ головного мозга, наличие роговичных колец Кайзера-Флейшера; результаты молекулярно-генетической диагностики (наличие мутаций в гене *ATP7B*).

В основу исследования положен анализ собственных наблюдений за 20 больными ГЛД в возрасте от 15 до 52 лет (средний возраст –  $36,35 \pm 1,72$  лет), у которых диагноз был подтвержден молекулярно-генетическим исследованием.

Больные находились под наблюдением в период с 1991 по 2018 гг. Период наблюдения за больными составил от 2 до 27 лет, показатель распространенности ГЛД рассчитывался на 100 000 населения.

Для уточнения диагноза использовались лабораторные, электрофизиологические, нейровизуализационные, молекулярно-генетические методы.

Для оценки тяжести состояния больных ГЛД использовалась шкала N.P. Goldstein, для оценки степени выраженности когнитивных расстройств – Монреальская шкала оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment, MoCa).

Исследование ВП головного мозга проводили с помощью аппаратного нейрофизиологического комплекса Нейро-МВП «Нейрософт» (г. Иваново). Проводили регистрацию коротколатентных АСВП, ЗВП на реверсивный шахматный паттерн, соматосенсорных ВП (ССВП) с верхних и нижних конечностей и КВП (P300). У 17 больных проводилось исследование ВП до лечения, у 10 пациентов ВП также исследовались в динамике повторно на протяжении 3-10 лет с интервалом 6-12 мес. на фоне медьэлиминирующей терапии.

Группу контроля составили 17 пациентов, соответствующих основной

группе по полу, возрасту, без клинических проявлений поражения нервной системы и обострений хронических соматических заболеваний.

Молекулярно-генетический анализ проводился на базе лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (г. Москва) после получения информированного согласия больных и их родственников.

В ходе работы 29 пациентам, у которых согласно Лейпцигской количественной шкалы диагноз определен как “сомнителен” либо “установлен”, проведено исследование образцов ДНК с целью поиска восьми наиболее часто встречающихся в российской популяции мутаций гена *ATP7B* (с.2532delA, с.3627-3630del4, с.3207C>A, с.3402delC, с.2304insC, с.3649-3654del6, с.1707insC, с.1340-1343del4) с помощью метода мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции с последующей амплификацией и мультипраймерной полимеразно-цепной реакцией.

Пациентам, являющимся компаунд-гетерозиготами по одной найденной мутации в гене *ATP7B* в четырёх случаях и 11 пациентам, у которых не были обнаружены мутации, входящие в протокол для обследования российской популяции, методом массового параллельного секвенирования проведено исследование всей кодирующей последовательности и областей экзон-интронных соединений гена *ATP7B*. В результате проведенной ДНК-диагностики диагноз ГЛД исключен у 9 больных.

Обработка полученного материала проводилась с использованием пакета программ MSOffice 2010. Проводилось вычисление относительных и средних величин и их ошибок. Показатели считались достоверными при  $p < 0,05$ . Для определения достоверных различий в группах в зависимости от количества наблюдений и нормальности распределения использовались критерий Стьюдента и его непараметрический аналог – критерий Уилкоксона. Корреляционный анализ данных проводился при помощи расчёта коэффициента корреляции Спирмена. Статистическая обработка результатов выполнена в соответствии современным требованиям математического анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Трудности дифференциальной диагностики ГЛД.** Количество больных с неподтверждённым в процессе детального обследования диагнозом ГЛД составило 54 (72,97%) из 74. В эту группу вошли больные, имеющие экстрапирамидные ( $n=31$ ; 57,41%), психические нарушения ( $n=4$ ; 7,41%) и страдающие хроническими патологическими процессами печени ( $n=19$ ; 35,19%). Потребовалось проведение тщательного анализа тех возможных факторов, которые, с одной стороны, могут негативно повлиять на своевременную постановку диагноза ГЛД, с другой, способствовать ошибочной диагностике данного заболевания при первичном развитии, казалось бы, характерных для него симптомов и синдромов.

Из группы наблюдения, прежде всего, исключались пациенты, страдающие экстрапирамидными расстройствами без признаков поражения печени и характерных изменений обмена меди ( $n=9$ ; 16,67%). В большинстве случаев, особенно при сочетании патологии печени и психоневрологической симптоматики, важным критерием исключения ГЛД послужили нормальные показатели меднолигандного обмена ( $n=41$ ; 75,92%), при этом оказалось необходимым учитывать возможные ложноположительные либо ложноотрицательные результаты показателей обмена меди, что было отмечено у 13 (24,07%) из 54 наблюдавшихся пациентов и потребовало дальнейшего диагностического поиска. Кольца Кайзера-Флейшера, являющиеся достаточно значимым симптомом ГЛД и обнаруженные у 5 (9,26%) из 54 пациентов этой группы, являлись проявлением хронических заболеваний печени. Патологические изменения базальных ганглиев при нейровизуализационном исследовании, дополняющие клиническую и лабораторную картину диагностики ( $n=5$ ; 9,26%), были проявлениями других неврологических заболеваний и дисметаболических нарушений при патологии печени и явились ложноположительными признаками для этой группы пациентов. У 9 (16,70%) из 54 больных при использовании балльной количественной Лейпцигской шкалы данный диагноз определен как сомнительный, и исключить ГЛД в этих случаях удалось только после проведения молекулярно-генетического исследования.

В итоге проведенных диагностических мероприятий и динамического наблюдения уточненные диагнозы наблюдавшихся 54 пациентов с изначальным подозрением на ГЛД распределились следующим образом (рисунок 1).



Рисунок 1 – Уточненные диагнозы у обследованных больных

Разнообразие клинических симптомов, сочетающееся с результатами лабораторно-инструментальных методов исследования, вполне может направить диагностическую мысль в пользу постановки диагноза ГЛД при определенной переоценке или же, наоборот, недооценке как клинических, так и лабораторно-инструментальных данных. В таких случаях дальнейшая дифференциальная диагностика должна проводиться с использованием на самых ранних этапах заболевания молекулярно-генетических методов, позволяющих с полной вероятностью подтвердить или опровергнуть диагноз ГЛД.

**Эпидемиологическая характеристика ГЛД в Хабаровском крае.** В исследуемый временной период 1990–2018 гг. в отдельном регионе Российской Федерации – Хабаровском крае зарегистрировано 20 больных ГЛД из 17 семей. Во всех случаях диагноз был подтвержден с помощью молекулярно-генетического исследования. В 15 семьях пробанды являлись единственными больными

в семье. Семейные случаи ГЛД в обследуемой популяции составили 25,00%. Распределение больных по полу было следующим: 7 (35,00%) мужчин и 13 (65,00%) женщин (рисунок 2).

Возраст больных в исследуемой группе был в пределах от 13 до 52 лет (средний возраст для обоих полов –  $36,35 \pm 1,72$  лет). Средний возраст женщин составил  $36,37 \pm 2,13$  (от 13 до 52 лет) и был несколько выше, чем возраст мужчин –  $32,14 \pm 3,67$  (от 15 до 46 лет).

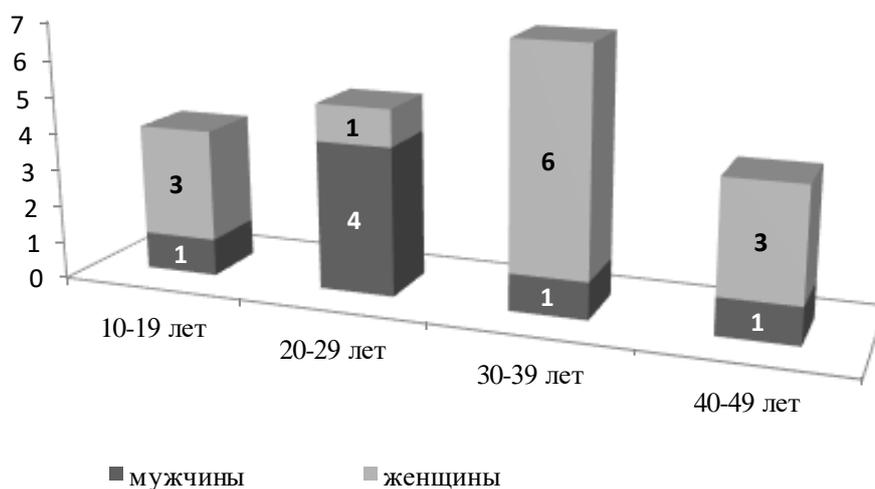


Рисунок 2 – Распределение больных ГЛД по полу и возрастным группам (при первом обследовании), n=20

Исходя из полученных данных, распространенность ГЛД в 2017 году в Хабаровском крае составила 1,50:100 000 населения, в г. Хабаровске – 2,10:100 000 населения. Эти данные вполне сопоставимы со средними показателями в мире на современном этапе, согласно которым распространенность ГЛД составляет 0,29-2,60:100 000 населения.

**Варианты дебюта ГЛД.** Средний возраст первичной манифестации ГЛД у наблюдаемых больных составил  $21,00 \pm 2,01$  лет (6-39 лет). Дебют болезни неврологической симптоматикой отмечен у 7 больных (35,00%), психоэмоциональной симптоматикой – у 3 больных (15,00%). Начало болезни с соматических расстройств наблюдалось у 10 пациентов (50,00%) (рисунок 3).

Средний возраст появления соматических проявлений болезни составил  $20,45 \pm 1,90$  лет, неврологическая симптоматика манифестировала в среднем в  $25,00 \pm 2,30$  лет, следовательно, соматические проявления опережали неврологические в среднем на 5,00 лет. Средний возраст при установлении диагноза ГЛД составил  $29,40 \pm 1,76$  лет. С момента дебюта болезни до установления диагноза ГЛД проходило в среднем  $8,21 \pm 1,49$  лет, при минимальном времени наблюдения от 3 месяцев и максимальном до 20,00 лет.

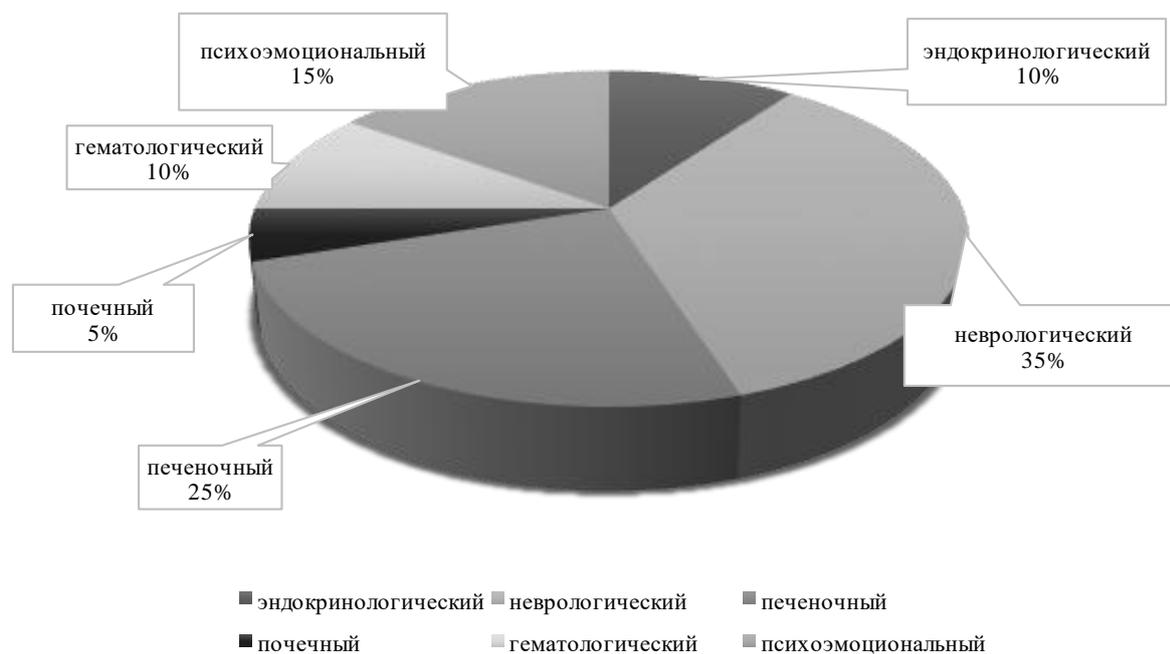


Рисунок 3 – Варианты дебюта у больных ГЛД

Наиболее короткий период наблюдения больного без верификации диагноза ГЛД наблюдался при неврологической манифестации, наиболее длительный – при соматической (эндокринные нарушения). Симптомы поражения нервной системы отмечались у 19 (95,00%) обследованных пациентов (рисунок 4) и проявлялись гетерогенной прогрессирующей экстрапирамидной симптоматикой.

МРТ головного мозга выполнено 18 больным. У 9 (50,00%) пациентов выявлены характерные для ГЛД очаговые изменения в области базальных ганглиев (в проекции головок хвостатых ядер, скорлупы, таламусов), у 6 больных

(33,33%) – неспецифические изменения в виде атрофии головного мозга, в 3 (16,67%) случаях патологии выявлено не было.

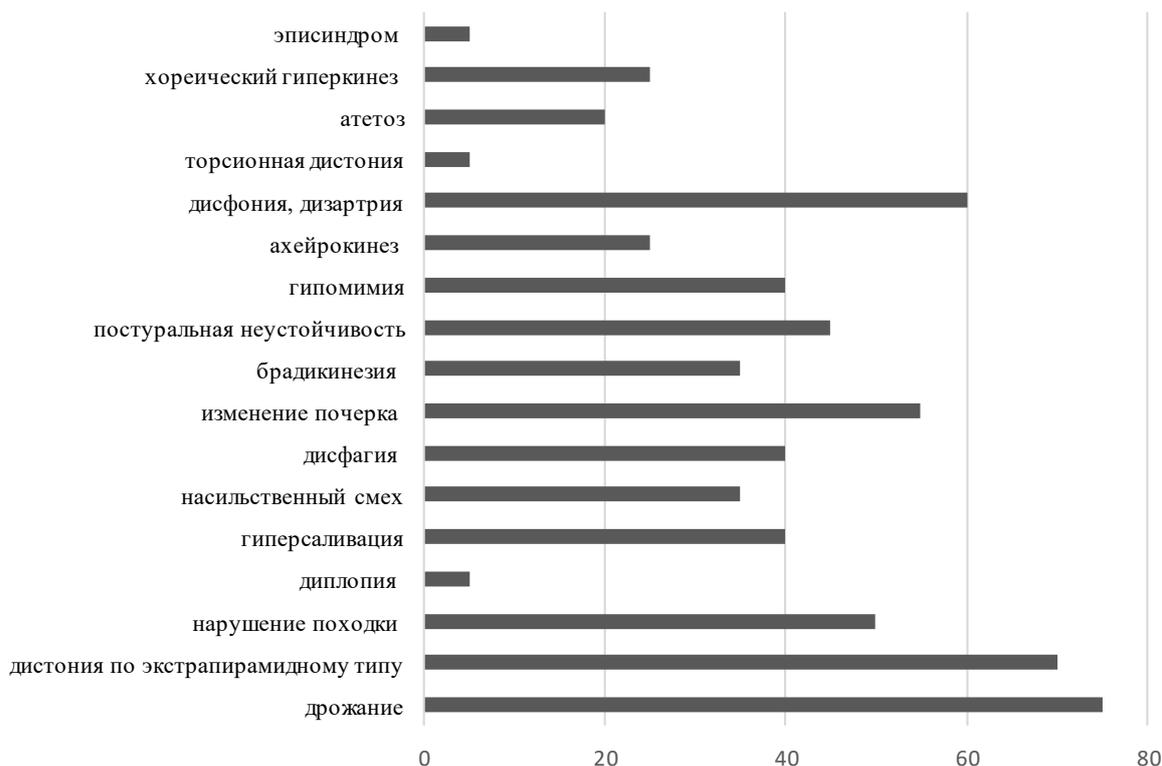


Рисунок 4 – Спектр неврологических проявлений у больных ГЛД

В соответствии с принятой в нашей стране клинической классификацией болезни, предложенной Коноваловым Н.В. (1960 г.), в зависимости от стадии и **формы заболевания** больные распределялись следующим образом: абдоминальная («брюшная») – 2 (10,00%), дрожательная – 5 (25,00%), дрожательно-ригидная – 13 (65,00%).

**Молекулярно-генетический анализ.** Впервые изучена частота и спектр мутаций в гене *ATP7B* в Хабаровском крае. В результате поиска восьми наиболее часто встречающихся мутаций гена *ATP7B* в российской популяции мутация p.His1069Gln обнаружена у 13 (65,00%) пациентов в гомозиготном состоянии и у 4 (20,00%) в компаунд-гетерозиготном состоянии (рисунок 5).

Мутация p.Ala1135GlnfsX13 обнаружена у двух пациенток (10,00%) в компаунд-гетерозиготном состоянии; в одном случае с мутацией p.His1069Gln.

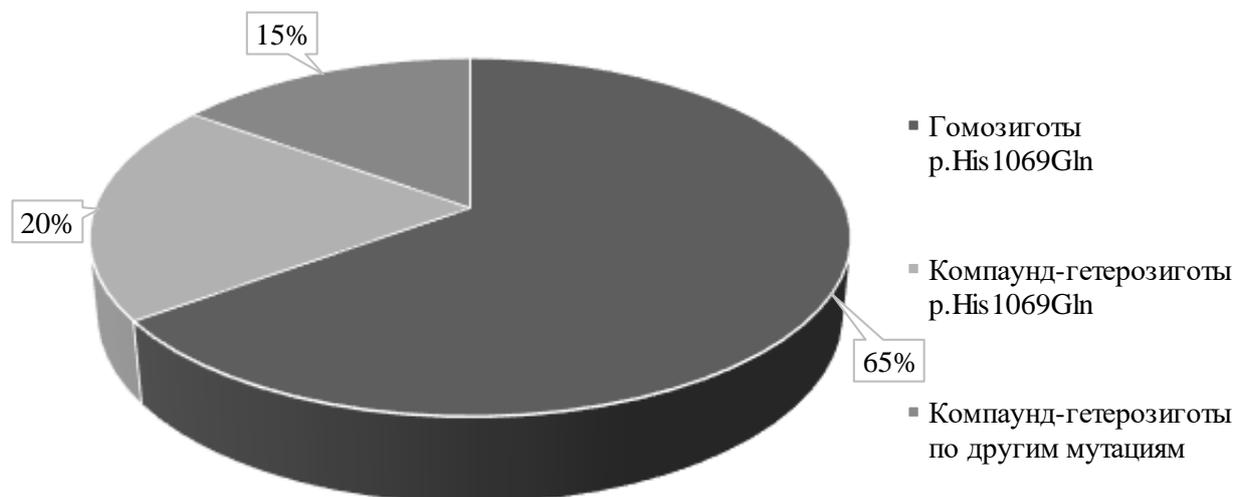


Рисунок 5 – Распределение больных на группы по наличию мутации p.His1069Gln

При обнаружении данных мутаций в гетерозиготном состоянии и их отсутствии методом массового параллельного секвенирования у шести пациентов с ГЛД проведено исследование всей кодирующей последовательности и областей экзон-интронных соединений гена *ATP7B*. Мутациями в компаунде с p.His1069Gln были: с.1707+2dupT в 4 интроне, p.Trp779Stop в 8 экзоне. В одном случае в компаунде с p.His1069Gln методом прямого секвенирования мутации не выявлено. Секвенирование гена не дает возможность оценить некоторые особые виды мутаций: протяженные делеции или дупликации, мутации в промоторной области или в такой области интрона, которая влияет на сплайсинг, но не попадает внутрь конкретной пары праймеров, амплифицирующих ближайший экзон. В этом случае обнаружение второй мутации требует использования более сложных подходов. У оставшихся трех больных – компаунд-гетерозигот выявлены другие сочетания мутаций: (p.Met769HisfsX2/p.Ala1135GlnfsX; p.Gly710Ser/p.Ala874Val; p.Glu1064Lys/ p.Arg616Trp).

Частота мутации p.His1069Gln составила 75,00% (таблица 1). Другие семь обнаруженных мутаций встречались в компаунд-гетерозиготном состоянии с частотой 2,50% и одна мутация (p.Ala1135GlnfsX13) с частотой 5,00%.

Таблица 1 – Спектр и частота мутаций в гене *ATP7B* у больных с ГЛД в Хабаровском крае

Замена нуклеотидов	Замена аминокислот	Экзон/ интрон	Число хромосом	Ча- стота, %
c.1707+2dupT	splice	Int4	1	2,50
c.1847G>A	p.Arg616Trp	5	1	2,50
c.2336G>A	p.Trp779Stop	8	1	2,50
c.2304dupC	p.Met769HisfsX26	8	1	2,50
c.3190G>A	p.Glu1064Lys	14	1	2,50
c.3207C>A	p.His1069Gln	14	30	75,00
c.3402delC	p.Ala1135GlnfsX13	15	2	5,00
c.2128G>A	p.Gly710Ser	8	1	2,50
c.2621C>T	p.Ala874Val	11	1	2,50
Неустановленные мутации	–	–	1	2,50
Всего хромосом			40	

В нашем исследовании выявлена значительно более высокая частота мутации p.His1069Gln в Хабаровском крае (85,0% больных), что позволяет использовать ее поиск в качестве основного молекулярно-генетического теста при обследовании больных с ГЛД в Хабаровском крае.

**Мультимодальные вызванные потенциалы головного мозга.** При регистрации АСВП исходно отмечалось достоверное увеличение латентностей I ( $p<0,01$ ), II ( $p<0,05$ ), III ( $p<0,05$ ), IV ( $p<0,05$ ) и V ( $p<0,01$ ) пиков. Достоверно ( $p<0,01$ ) были увеличены показатели МПИ III–V ( $2,16\pm 0,07$  мс) и I–V ( $4,49\pm 0,09$  мс), при этом увеличения интервала I–III не зарегистрировано (таблица 2).

Данные изменения свидетельствуют о нарушении внутристволового проведения на понто-мезенцефальном уровне. Степень неврологического дефицита по шкале Goldstein, который в целом по группе составил  $15,75\pm 0,71$  баллов, положительно коррелировала со значениями МПИ III–V ( $r=0,36$ ;  $p<0,05$ ) и I–V ( $r=0,38$ ;  $p<0,05$ ).

Таблица 2 – Показатели АСВП у пациентов с ГЛД

Показатель	Значения у пациентов с ГЛД (M±m), n=17	Группа контроля (M±m), n=17
Латентность I пика, мс	1,82±0,02**	1,68±0,04
Латентность II пика, мс	2,91±0,04*	2,60±0,03
Латентность III пика, мс	4,12±0,07*	3,71±0,04
Латентность IV пика, мс	5,52±0,09*	4,88±0,03
Латентность V пика, мс	6,26±0,10**	5,21±0,02
Латентность VI пика, мс	7,30±0,09	7,33±0,10
МПИ I-III, мс	2,35±0,07	2,28±0,03
МПИ III-V, мс	2,16±0,07**	1,71±0,03
МПИ I-V, мс	4,49±0,09**	3,89±0,03
Амплитуда I-I а, мкВ	0,14±0,02*	0,32±0,04
Амплитуда III-III а, мкВ	0,32±0,03	0,28±0,05
Амплитуда V-V а, мкВ	0,70±0,07	0,58±0,03

*Примечание* - Здесь и далее \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$  при сравнении между группами.

Нами впервые описано в исследуемой группе пациентов снижение амплитуды I пика: у девяти пациентов (52,94%) I пик был снижен при стимуляции с двух сторон, у пяти пациентов (29,41%) наблюдалось одностороннее выраженное изменение данного показателя. Уплотнение I пика сопровождалось удлинением его латентности у четырех пациентов (23,53%), трое из которых имели длительность заболевания более 10 лет. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении в патологический процесс при ГЛД не только центральных отделов слухового анализатора, но и его периферических отделов.

При исследовании в динамике на фоне медьэлиминирующей терапии зарегистрированы позитивные сдвиги параметров АСВП (таблица 3). Отмечалось достоверное укорочение латентностей I, II, III и V пиков, уменьшение МПИ III-V и I-V ( $p<0,05$ ), а также увеличение амплитуды I пика ( $0,26±0,05$  мкВ) в 70,00% случаев ( $p<0,05$ ).

Таким образом, на фоне лечения наблюдалось улучшение проведения слуховой афферентации, как на внутриволовном, так и на периферическом уровнях.

Таблица 3 – Изменения показателей АСВП у пациентов с ГЛД на фоне терапии

Показатель	Исходные значения (M±m), n=10	Значения на фоне терапии (M±m), n=10
Латентность I пика, мс	1,83±0,04	1,66±0,02**
Латентность II пика, мс	2,97±0,07	2,74±0,06*
Латентность III пика, мс	4,01±0,04	3,81±0,04**
Латентность IV пика, мс	5,50±0,15	5,17±0,09
Латентность V пика, мс	6,31±0,16	5,92±0,10*
Латентность VI пика, мс	7,31±0,07	7,31±0,09
МПИ I-III, мс	2,23±0,03	2,17±0,05
МПИ III-V, мс	2,20±0,10	1,92±0,04*
МПИ I-V, мс	4,53±0,13	4,04±0,15*
Амплитуда I-I а, мкВ	0,12±0,03	0,26±0,05*
Амплитуда III-III а, мкВ	0,33±0,05	0,35±0,03
Амплитуда V-V а, мкВ	0,75±0,07	0,74±0,05

При регистрации ЗВП у всех обследуемых выделены отчетливые корковые компоненты ответов. Выявлено достоверное удлинение латентностей всех основных компонентов – P50, N75, N145, P200 ( $p < 0,001$ ); P100 ( $p < 0,05$ ); амплитуда корковых компонентов N75-P100 и P100-N145 достоверно не изменялась (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели ЗВП у пациентов с ГЛД

Показатель	Значения у пациентов с ГЛД (M±m), n=17	Группа контроля (M±m), n=17
Латентность P50, мс	68,38±1,64***	57,12±0,92
Латентность N75, мс	91,24±1,26***	75,35±0,57
Латентность P100, мс	122,7±1,14*	100,87±0,60
Латентность N145, мс	159,10±2,41***	148,78±1,08
Латентность P200, мс	207,15±2,49***	192,45±1,50
Амплитуда N75-P100, мкВ	9,02±0,54	9,87±0,61
Амплитуда P100-N145, мкВ	9,60±0,70	8,68±0,58

Межполушарной асимметрии выявлено не было. Выявлена прямая корреляция латентности основного компонента P100 и выраженности неврологического дефицита ( $r=0,61$ ;  $p < 0,01$ ) по шкале Goldstain.

Таким образом, у всех пациентов выявлены отчетливые признаки ухудшения проведения зрительной афферентации в кору с обеих сторон. Данные нарушения могут быть обусловлены процессами демиелинизации дисметаболического характера.

Нами впервые показано, что нарушения зрительной афферентации в кору сохраняются на фоне длительной медьэлиминирующей терапии, даже на фоне уменьшения общего показателя степени неврологического дефицита в обследуемой группе пациентов (с  $15,75 \pm 0,71$  баллов до  $8,30 \pm 0,58$  баллов,  $p < 0,05$ ), так как анализ параметров ЗВП в динамике достоверных изменений латентных периодов пиков P50, N75, P100, N145, P200 не выявил.

При исследовании КВП исходно (таблица 5) значимые изменения показателей отмечались у всех обследуемых пациентов и выражались в достоверном снижении амплитуды P300 ( $p < 0,05$ ) и увеличении латентности когнитивного комплекса ( $p < 0,001$ ), что указывает на присутствие когнитивных нарушений у этих больных.

Таблица 5 – Показатели КВП у пациентов с ГЛД

Показатель	Значения у пациентов с ГЛД (M±m), n=17	Группа контроля (M±m), n=17
Латентность пика P300, мс	$374,53 \pm 10,12^{***}$	$312,00 \pm 4,73$
Амплитуда, мкВ	$5,36 \pm 0,76^*$	$15,1 \pm 1,85$

Увеличенные показатели латентности когнитивного комплекса коррелировали со степенью неврологического дефицита ( $r=0,62$ ;  $p < 0,01$ ), при этом оценка когнитивных функций по шкале MoCa не выявила нарушений (среднее количество баллов  $28,12 \pm 0,37$ ), что доказывает эффективность использования параметров P300 в комплексной диагностике когнитивного дефицита у больных ГЛД.

При проведении КВП на фоне медегонной терапии в нашем исследовании достоверного улучшения показателей выявлено не было. Нами доказано, что изменения показателей P300 – одного из признаков наличия когнитивных расстройств, сохраняются на фоне длительной терапии даже при уменьшении степени неврологического дефицита ( $8,30 \pm 0,58$  баллов) ( $p < 0,05$ ).

При записи ССВП с верхних конечностей зарегистрированы отчетливые ответы периферического, стволового и коркового уровней. Показатели латентностей основных пиков были в пределах нормы. Отмечалось достоверно значимое ( $p < 0,001$ ) удлинение интервалов N13–N20. Выявлено снижение амплитуды коркового компонента N20 ( $p < 0,001$ ) у 10 обследуемых (58,82%) (таблица 6). Изменения, как правило, были билатеральными при стимуляции с каждой стороны. Более значимые изменения этих параметров ответа регистрировались у пациентов, имеющих длительный анамнез заболевания и получавших медьэлиминирующую терапию.

Таблица 6 – Показатели ССВП при стимуляции срединных нервов у пациентов с ГЛД

Показатель	Значения у пациентов с ГЛД ( $M \pm m$ ), n=17	Группа контроля ( $M \pm m$ ), n=17
Латентность пика N 9, мс	9,43±0,04	9,58±0,12
Латентность пика N 13, мс	13,25±0,03	13,38±0,10
Латентность пика N 20, мс	21,47±0,03	19,5±0,15
Интервал N 9-N 13, мс	3,85±0,07	3,58±0,07
Интервал N 13-N 20, мс	8,12±0,24***	5,75±0,38
Интервал N 9-N 20, мс	12,72±0,26***	8,98±0,09
Амплитуда N 9, мкВ	4,92±0,03	5,38±0,33
Амплитуда N 13, мкВ	2,73±0,03	3,16±0,20
Амплитуда N 20, мкВ	0,79±0,07***	2,98±0,22

Эти данные свидетельствуют о нарушении проведения сенсорной афферентации на центральном уровне (участок от ствола до коры головного мозга).

При регистрации ССВП в динамике на фоне медьэлиминирующей терапии при статистическом анализе достоверных изменений выявлено не было.

Исследование ССВП при стимуляции нижних конечностей не выявило достоверно значимых отклонений латентностей основных пиков, их амплитуд и интервалов.

Метод регистрации вызванных потенциалов головного мозга хотя и не является специфичным для ГЛД, однако, позволяет объективно оценить самые

начальные стадии патологического процесса, степень выраженности поражения, вовлечение в патологический процесс структур нервной системы, а также динамику патологических изменений в ходе прогрессирования заболевания и на фоне соответствующей высокоспецифичной терапии и может быть включен в диагностический алгоритм обследования пациентов с ГЛД (рисунок 6).



Рисунок 6 – Алгоритм диагностики ГЛД

## ВЫВОДЫ

1. Распространенность гепатолентикулярной дегенерации в отдельном регионе Российской Федерации – Хабаровском крае составила 1,5:100 000 населения, что сопоставимо со средними мировыми показателями, но относительный показатель распространенности заболевания при окончательной постановке диагноза оказался в 3,7 раза ниже первично предполагаемого, что свидетельствовало об имеющихся недостатках диагностики заболевания в манифестном периоде и требовало ее совершенствования.

2. Варианты клинической манифестации гепатолентикулярной дегенерации могут быть самыми разнообразными, отражая сочетанное поражение многих органов и систем уже в самом начале заболевания. Особенно затрудняет раннюю диагностику дебют заболевания в виде соматических (50%) и/или психоэмоциональных проявлений (15%), при котором до момента установления правильного диагноза проходит в среднем на  $8,21 \pm 1,49$  лет, что приводит к запоздалому патогенетическому лечению и ухудшает прогноз.

3. Типичные для гепатолентикулярной дегенерации неврологические проявления в большинстве случаев развиваются в среднем через 5 лет в случаях манифестации заболевания соматическими симптомами и синдромами – эндокринологическими, печеночными, почечными, гематологическими, и при этом наиболее часто (65%) диагностируется дрожательно-ригидная форма заболевания.

4. В процессе молекулярно-генетического анализа у лиц, страдающих ГЛД, определена преобладающая мутация в гене *ATP7B*, которой является замена p.His1069Gln в 14 экзоне, выявляемая у 85,00% больных на 75,00% хромосом преимущественно в гомозиготном состоянии, что в 1,5-2 раза превышает известные ранее российские показатели и определяет возможность диагностического использования этого фактора.

5. При ГЛД в патологический процесс вовлечены не только центральные отделы слухового анализатора, но и его периферические образования, что проявляется снижением амплитуды I пика в процессе исследования акустических

стволовых вызванных потенциалов.

6. Позитивные сдвиги параметров АСВП на фоне медьэлиминирующей терапии в виде укорочения латентностей I, II, III и V пиков, уменьшения МПИ III–V и I–V, а также увеличения амплитуды I пика могут служить инструментом определения результативности проводимого лечения, дополняющего и уточняющего клинические характеристики. Отсутствие положительной динамики показателей ЗВП и КВП (P300) в ходе многолетней терапии могут служить дополнительными признаками сохранности нарушений зрительной афферентации в кору головного мозга и косвенными показателями сохраняющегося когнитивного дефицита даже в случаях уменьшения выраженности неврологической симптоматики.

7. На основании полученных результатов исследования разработан алгоритм диагностики ГЛД, учитывающий генетическую эпидемиологию и возможность привлечения вызванных потенциалов с целью оптимизации ведения пациентов и прогнозирования результативности терапии больных с ГЛД.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При проведении молекулярно-генетического тестирования больных с ГЛД в первую очередь необходимо производить генетический скрининг мажорной мутации p.His1069Gln в 14 экзоне. При отсутствии этой мутации может быть рекомендовано секвенирование всей кодирующей области гена.

2. Комплексное мультимодальное исследование ВП должно быть включено в диагностический алгоритм обследования пациентов с ГЛД, так как является важным дополнительным неинвазивным методом в объективной оценке состояния нейрофизиологических процессов в нервной системе:

- регистрация КВП может использоваться в качестве одного из методов раннего выявления когнитивного дефицита у больных и на этапе поддерживающей терапии – как маркера субклинических проявлений патологического процесса, требующих назначения нейротрофных лекарственных средств в рамках оптимизации фармакотерапии;

- параметры АСВП должны оцениваться не только на этапе диагностики заболевания, но и в процессе лечения с целью мониторинга эффективности проводимой терапии;
- изменения параметров I пика в процессе исследования АСВП, свидетельствующие о вовлечении в патологический процесс периферических структур слухового анализатора, должны являться показанием к консультации сурдолога пациентов с ГЛД;
- регистрация ЗВП может использоваться в качестве дополнительной инструментальной методики объективной оценки функции зрительного анализатора у больных ГЛД.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Вялова, Н.В. Гепатолентикулярная дегенерация: клиника, диагностика, лечение / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, А.М. Хелимский // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 130-134.
2. Вялова, Н.В. Психические расстройства при гепатолентикулярной дегенерации / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, А.М. Хелимский // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С. 88-91.
3. Динамика параметров когнитивных вызванных потенциалов головного мозга у больных гепатолентикулярной дегенерацией / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, Е.Г. Черных и др. // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2016. – № 5. – С. 29-32.
4. Молекулярно-генетический анализ у больных гепатолентикулярной дегенерацией в Хабаровском крае / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, Г.М. Баязутдинова и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. – № 2. – С. 72-75.
5. Мультимодальные вызванные потенциалы головного мозга у больных гепатолентикулярной дегенерацией / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, А.М. Хелимский и др. // Неврологический журнал. – 2016. – Т. 21. – № 4. – С. 219-225. DOI: 10.18821/1560-9545-2016-21-4-219-225 (SCOPUS).
6. Случай гепатолентикулярной дегенерации со скрытой патологией печени / Н.В. Вялова, Л.С. Долока, Т.Н. Проскокова и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2017. – Т. 11. – № 2. – С. 68-71.
7. Трудности ведения пациентов с гепатолентикулярной дегенерацией / Т.Н. Проскокова, Н.В. Вялова, Н.Б. Сердюк и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2018. – Т. 12. – № 1. – С. 50-53.
8. Сочетание гепатолентикулярной дегенерации и хронического вирусного

гепатита С. Сложности диагностики / Ю Хи Дя, В.Е. Симонова, Т.Н. Проскокова и др. // Актуальные вопросы современной медицины. Материалы 70 итоговой научной конференции молодых ученых и студентов. – 2013. – С. 275-277.

9. Сложности диагностики гепатолентикулярной дегенерации / А.Ю. Копоть, Ю.В. Корень, Л.Д. Ханькан и др. // Актуальные вопросы современной медицины. Материалы 72 итоговой научной конференции молодых ученых и студентов Дальневосточного государственного медицинского университета с международным участием. – 2015. – С. 295-297.

10. Поиск мутаций в гене *ATP7B* методом массового параллельного секвенирования / Г.М. Баязутдинова, А.В. Поляков, В.П. Федотов и др. // Тезисы конференции «NGS в медицинской генетике». – Суздаль. – 2017. – С. 22.

11. Создание эффективных систем детекции частых мутаций в гене *ATP7B* для диагностики болезни Вильсона – Коновалова / Г.М. Баязутдинова, А.В. Поляков, В.П. Федотов и др. // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием Молекулярная диагностика 2017. – 2017. – С. 437.

12. Спектр мутаций гена *ATP7B* у российских больных с болезнью Вильсона – Коновалова / Г.М. Баязутдинова, О.А. Щагина, А.С. Карнаус и др. // Генетика. – 2019. – Т. 55. – № 12. – С. 1431-1439. DOI: 10.1134/S0016675819120026 (SCOPUS).

13. Социальная роль наследственных заболеваний нервной системы в Хабаровском крае / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, Д.В. И и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2020. – № 3. – С. 54-57.

14. Вялова, Н.В. Гепатолентикулярная дегенерация: медико-социальные, клинико-эпидемиологические аспекты / Н.В. Вялова, Т.Н. Проскокова, А.М. Хелимский // Вестник общественного здоровья и здравоохранения России. – 2021. – № 2. – URL: <http://fesmu.ru/voz/20212/2021205.aspx>.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСВП – акустические стволовые вызванные потенциалы

ВП – вызванные потенциалы

ГЛД – гепатолентикулярная дегенерация

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗВП – зрительные вызванные потенциалы

КВП – когнитивные вызванные потенциалы

МПИ – межпиковый интервал

МРТ – магнитно-резонансная томография

ССВП – соматосенсорные вызванные потенциалы

ЦНС – центральная нервная система

*ATP7B* – ген АТФ-азы 7В Р типа

МоСа – Монреальская шкала оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment)

**Вялова Надежда Викторовна**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОЛЕНТИКУЛЯРНОЙ  
ДЕГЕНЕРАЦИИ, ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ  
И ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ**

**3.1.24. Неврология**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению диссертационного совета 21.2.074.03  
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России от 01.07.2021 г.

---

Подписано в печать 05.07.2021 г. Формат 60×90/16.  
Бумага офсетная. Гарнитура «Times New Roman». Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 1,61. Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ФГБОУ ВО ДВГМУ Минздрава России.  
680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35.