

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 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 серотином.

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).

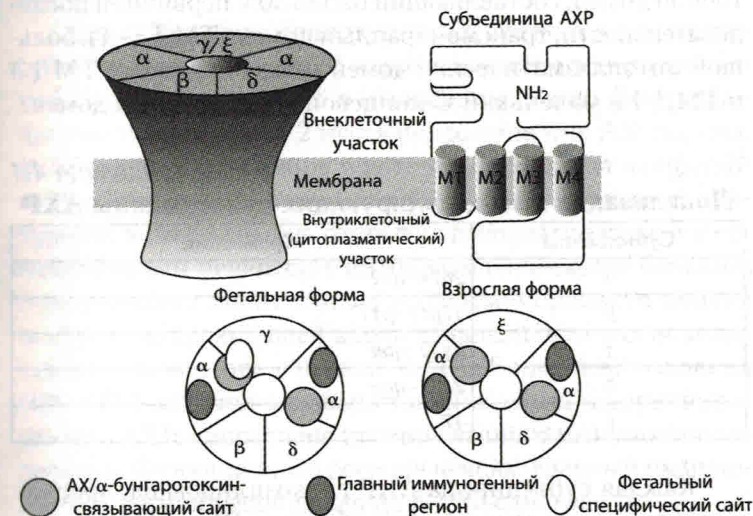


Рис. 1.1. Ацетилхолиновый рецептор (Vincent A. et al., 2000, с изменениями)

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 высокоомологичны, они имеют одинаковую вторичную структуру, одинаковые складки и расположены вокруг центрального катионотбирающего канала. Каждая субъединица имеет N-концевой внекле-

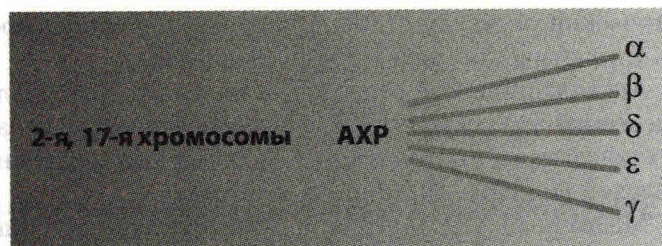


Рис. 1.2. Локализация генов, кодирующих синтез субъединиц АХР

точной домен, составляющий около 50% первичной последовательности, трансмембранный домен (ТМД 1–4), большой цитоплазматический домен между доменами ТМД 3 и ТМД 4 и маленький С-концевой внеклеточный домен.

Таблица 1.1

Локализация генов, кодирующих субъединицы АХР

Субъединица	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). α1 и β1 локализованы в мышцах, α2–9 и β2–4 в нейрональных АХР. Нейрональные АХР располагаются пери-, пост-, эстра- и пресинаптически. Существует несколько стадий развития АХР: в эмбриональном АХР содержится γ-субъединица, 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-концевого домена, за которым следуют 3 первые пронизывающие мембрану последовательности M1, M2 и M3. Между M3 и M4 находится 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, присоединяющих 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 рецептора 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, активирует 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.,

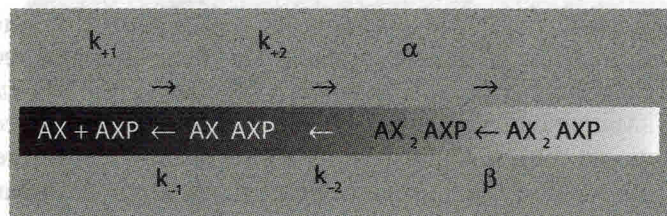


Рис. 1.3. Активация АХР в нервно-мышечном окончании (Engel A. et al., 2003)

2003), где k_{+1} , k_{-1} — константы скорости ассоциации и диссоциации АХ соответственно; α и β — константы скорости открытия и закрытия каналов соответственно.

Ацетилхолинэстераза — 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 течение нескольких часов ЭР в области концевой пластины расширяется, и Z-диски дегенерируют.

В отсутствие АХЭ избыток АХ активирует АХР. Ионные каналы открываются в ответ на избыток АХ и через них проходят не только ионы Na и K, но также и ионы Ca из внеклеточной жидкости (рис. 1.4). Поступление избытка кальция, вызванное повышенной стимуляцией АХР, приводит к активации кальцийзависимых протеазных систем, которые разрушают преимущественно Z-диски. Избыток Ca также приводит к поражению ЭР. В результате возникает дистрофия мышц.

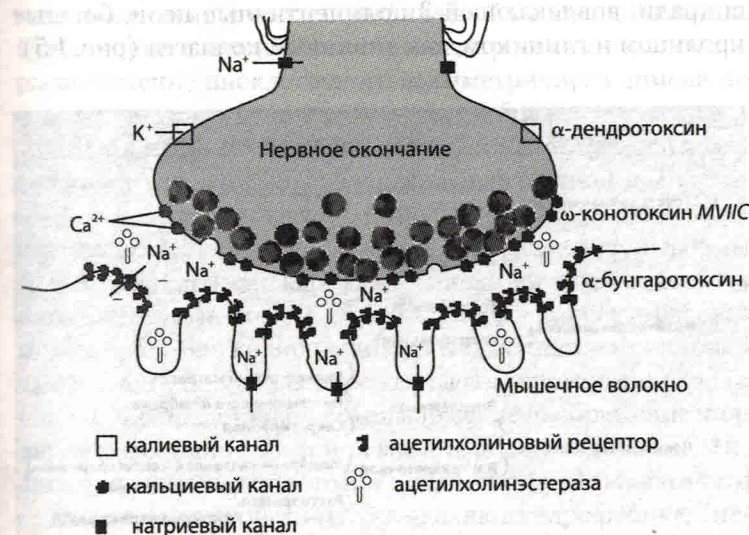


Рис. 1.4. Нервно-мышечное соединение и ионные каналы (Vincent A. et al., 2000)

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.

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 единичный 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 (см. табл. 3.1). Эпизоды ухудшения состояния возможны, как правило, при повышении температуры тела и возбуждении, которые могут приводить к нарушению дыхания и апноэ. 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 так же, 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 АХР. 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 АХР. Улучшение при плазмаферезе и иммуносупрессивной терапии.

ВМС типа Ic (дефицит АХЭ)

Клинические критерии

- 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.

Дополнительные симптомы: снижение сухожильных рефлексов.

Лабораторные критерии

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

Исключающие критерии

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

ВМС типа Id (дефицит АХР)

Клинические критерии

- 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.

Лабораторные критерии: окрашенная АХЭ удлинена, уменьшено число АХР.

Исключающие критерии

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

ВМС типа II (синдром медленного канала)

Клинические критерии

- Тип наследования аутосомно-доминантный с полной пенетрантностью и различной экспрессивностью гена болезни. Редко наблюдают 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. Неодинаковое вовлечение лицевых, глазных и бульбарных мышц.

Дополнительные симптомы: слабость и утомляемость избирательно пораженных мышц; снижение сухожильных рефлексов.

Лабораторные критерии

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

Исключающие критерии

- Отсутствие второго СМАП на ЭМГ.
- Наличие антител к АХР.
- Улучшение при плазмаферезе или иммуносупрессивной терапии.

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: 1) аутосомно-доминантный; 2) аутосомно-рецессивный; 3) X-сцепленный рецессивный; 4) X-сцепленный доминантный. При аутосомно-доминантном наследовании для проявления заболевания достаточно мутации в одном из парных генов. 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 могут служить хорей Гентингтона, некоторые формы наследственных моторно-сенсорных нейропатий, доминантные наследственные атаксии.

При аутосомно-рецессивном наследовании для развития 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.

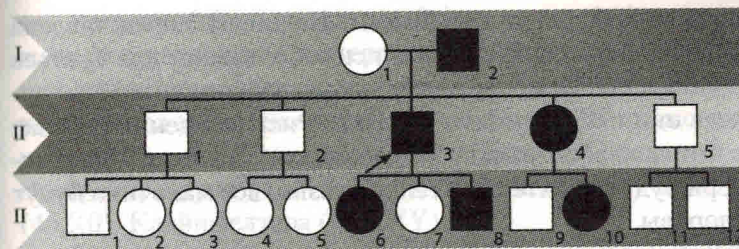


Рис. П.1. Родословная семьи с аутосомно-доминантным типом наследования заболевания:

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

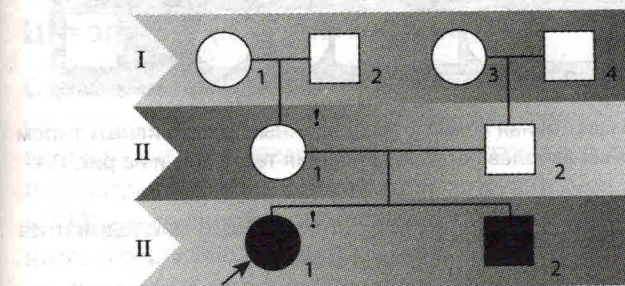


Рис. П.2. Родословная семьи с аутосомно-рецессивным типом наследования. Обозначения те же, что и на рис. П.1

На рис. П.2 представлена родословная семьи с аутосомно-рецессивным наследственным заболеванием. Родители больного могут быть кровными родственниками, поскольку в таком случае риск встречи одинаковых аутосомно-рецессивных генов выше, чем в популяции.

Примером аутосомно-рецессивного наследования являются 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) остаются гетерозиготными носите-