

Новые подходы к диагностике болезни Ниманна-Пика типа С

Дегтярева А.В.^{1,2}, Михайлова С.В.³, Захарова Е.Ю.⁴,
Прошлякова Т.Ю.⁴, Амирханова Д.Ю.¹, Готье М.С.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. Кулакова В.И.» Минздрава РФ, Москва, Россия, annadim@yahoo.com

² ФGAOY BO Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава РФ, annadim@yahoo.com

³ ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава РФ, Москва, Россия, svetychvital@mail.ru

⁴ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия, labnbo@yandex.ru

Болезнь Ниманна-Пика типа С (НП-С) представляет собой редкое аутомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, истинная частота которого недооценивается из-за неспецифичности клинических симптомов. Для болезни НП-С характерен выраженный клинический полиморфизм с различными сроками манифестации заболевания от внутриутробного и неонатального периода до взрослого возраста. В последние годы широкое использование биомаркеров для селективного скрининга и генетического тестирования с использованием панелей генов способствовало повышению доли пациентов, выявленных на ранних этапах развития болезни. В статье описаны наиболее значимые клинические проявления и их комбинации, а также обсуждаются изменения, внесенные в существующие клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни НП-С.

Ключевые слова: болезнь Ниманна-Пика тип С, нейродегенеративное заболевание, холестаза, биомаркеры.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

New approaches for diagnosis of Niemann-Pick disease type C

Degtyareva A.V.^{1,2}, Mikhailova S.V.³, Zakharova E.Y.⁴,
Proshlyakova T.Y.⁴, Amirkhanova D.Y.¹, Gautier M.S.¹

¹ Federal State Budget Institution «V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology And Perinatology» Russian Ministry of Health, Moscow, Russia, annadim@yahoo.com

² The Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, annadim@yahoo.com

³ Federal State Budget Institution Russian Children's Clinical Hospital of Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia, svetychvital@mail.ru

⁴ Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, Russia, labnbo@yandex.ru

Niemann-pick disease type C is a rare autosomal recessive neurodegenerative disorder, the real incidence of which has been underestimated because of not specific clinical symptoms. The clinical symptoms of NP-C are highly variable with different onset terms of manifestations from fetal and neonatal period to adulthood. In recent years there has been a growing use of biomarkers as a selective screening and panel genetic tests which contributed to the earlier detection of the disease in patients. The article contains the most important clinical manifestations and their combinations, as well as an update to the existing recommendations for clinical practice.

Key words: Niemann-pick disease type C, neurodegenerative disorder, cholestasis, biomarkers.

Болезнь Ниманна-Пика типа С (НП-С) представляет собой редкое аутомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, обусловленное мутациями в генах *NPC1* или *NPC2*, которые приводят к нарушению внутриклеточного транспорта липидов и избыточному накоплению гликофинголипидов в головном мозге, печени и других органах и тканях. Заболевание выявляется среди лиц всех национальностей с частотой от 1:89 000 до 1:100 000 живых новорожденных.

Истинная частота заболевания недооценивается из-за неспецифичности симптомов, пациентам нередко устанавливается неправильный диагноз [1]. Для болезни НП-С характерен выраженный клинический полиморфизм с различными сроками манифестации заболевания от внутриутробного и неонатального периода до взрослого возраста [1–3]. Разнообразная клиническая

симптоматика, включающая неврологические, психические и висцеральные симптомы, может наблюдаться у пациента как по отдельности, так и в различных комбинациях. Как правило, требуются консультации различных специалистов, от врачей первичного звена — педиатров и терапевтов — до неврологов, гепатологов, гематологов и психиатров. В результате проходит много времени до установления диагноза [4–7]. Вместе с тем, эффективность патогенетического лечения зависит от сроков его назначения, что определяет исключительную важность ранней диагностики.

Первые международные клинические рекомендации по диагностике и ведению пациентов с болезнью НП-С были подготовлены в 2009 г. на основании данных литературы и согласованного мнения группы экспертов и обновлены в 2012 году [8, 9]. Российские федеральные

клинические рекомендации опубликованы в 2013 году [10]. Ключевым аспектом рекомендаций по диагностике явилась разработка клинической шкалы, определяющей вероятность болезни НП-С и, соответственно, показания к проведению молекулярно-генетических исследований у пациентов старше 4 лет. В дальнейшем была создана клиническая шкала для детей более раннего возраста, учитывающая спектр симптомов, выявляемых в перинатальном периоде и раннем детском возрасте [8, 9, 11]. В настоящее время данные шкалы представлены в открытом доступе на сайте www.NPC-SI.ru. Они активно используются в качестве первого этапа диагностики заболевания и при формировании показаний для лабораторных исследований.

В последнее время удалось добиться существенного прогресса в диагностике болезни НП-С. Изменения касаются как лабораторной диагностики болезни, так и алгоритмов и инструментов для клинического и биохимического скрининга пациентов групп риска [12]. Широкое использование биомаркеров для селективного скрининга и панелей таргетных генов для ДНК-диагностики способствовало повышению доли пациентов, выявленных на ранних этапах развития болезни, и явилось основанием для уточнения наиболее значимых клинических проявлений и их комбинаций, а также

внесения изменений в существующие клинические рекомендации [12, 13].

Многие симптомы являются неспецифичными и их диагностическая значимость может быть значительно повышена комбинацией с другими признаками (таблица).

Но даже такой высокоспецифичный симптом, как вертикальный надъядерный паралич зрения (ВНПВ), не всегда может быть выявлен на ранних сроках болезни, что обусловлено целым рядом технических трудностей. Замедление вертикальных саккад часто маскируется морганием, в связи с чем во время обследования веки должны быть подняты [12]. При исследовании глазодвигательной функции необходимо проводить полный набор тестов, включая: проверку самопроизвольных саккад, плавное слежение, функцию удержания зрения, оптокинетический нистагм и вергентные движения глазных яблок [14]. Важное диагностическое значение имеет видеоокулография, позволяющая зафиксировать все типы движений глаз и может использоваться для количественного анализа глазодвигательной функции и выявления минимальных изменений [14].

Необходимо помнить, что ВНПВ может быть первым симптомом и появляться до висцеральных, неврологических или психиатрических проявлений заболевания. Иногда ВНПВ является единственным симптомом

Таблица

Клинические проявления, их комбинации и сроки манифестации

Клиническая проявления	Характерные комбинации и сроки манифестации
Атаксия	Раннее начало атаксии (в возрасте до 40 лет)
	"Атаксия плюс": ВНПВ, дистония; ухудшение когнитивных функций; атипичные психические нарушения; патологические подошвенные рефлексы (вместо истинного спастического парапареза); задержка психического развития
	Атаксия без полинейропатии
	Атаксия неизвестной этиологии
Дистония	Генерализованная мышечная дистония
	Возраст <40 лет
	"Дистония плюс": ВНПВ, ухудшение когнитивных функций и психические нарушения
Когнитивные нарушения и ранее ухудшение когнитивных функций	Возраст <40 лет, неврологические признаки: атаксия, ВНПВ, мышечная дистония
Интеллектуальные нарушения и задержка психического развития	Признаки поражения висцеральных органов: (гепато)спленомегалия
	Небольшие нарушения двигательных функций (атаксия/дистония), ВНПВ
Лобно-височная деменция	Возраст <40 лет
Атипичная шизофрения/ ранний психоз	Устойчивость к терапии
	Неврологические признаки: атаксия, ВНПВ, дистония
	Признаки органического характера заболевания: зрительные галлюцинации в сочетании с прогрессирующими когнитивными нарушениями
Висцеральные симптомы	Синдром холестаза, изолированная спленомегалия или гепатоспленомегалия, острая печеночная недостаточность
	Асцит и/или гепатоспленомегалия плода, неимунная водянка
	Висцеральные симптомы предшествуют явным неврологическим признакам
	Неврологические признаки: атаксия, ВНПВ, дистония

НП-С у взрослых, представляя собой высокочувствительный и специфический признак.

Неврологические нарушения при НП-С часто развиваются постепенно, проявляясь такими неспецифическими симптомами, как снижение мышечного тонуса (центральная гипотония) или частые падения, неуклюжесть в случаях начала заболевания в старшем детском возрасте.

Мозжечковая атаксия отмечается у 85—90% пациентов с болезнью НП-С, однако в изолированном виде не является специфическим клиническим симптомом заболевания [4, 15, 16]. Среди пациентов с изолированной мозжечковой атаксией, а также среди больных со спастическими проявлениями болезней НП-С встречается редко. Пациенты с болезнью НП-С попадают в категорию «атаксии с ранним началом (АРН)», поскольку атаксия развивается у них в возрасте до 40 лет (таблица). Вместе с тем, диагностическая значимость атаксии значительно повышается при её комбинации с другими симптомами [17]. При болезни НП-С АРН, как правило, присутствует в виде «медленной атаксии», которая зачастую сопровождается мышечной дистонией, а у некоторых пациентов — и пароксизмами миоклонических судорог. У большинства пациентов с НП-С изменение походки по типу динамической атаксии наблюдается на ранних стадиях, но в некоторых случаях может наблюдаться только замедление движений, а походка изменяется по мере прогрессирования болезни.

Симптомы, которые, помимо атаксии, чаще наблюдаются у пациентов с болезнью НП-С, по сравнению с пациентами с АРН, и которые в связи с этим могут служить в качестве специфических признаков, включают: ухудшение когнитивных функций и психические расстройства, ВППВ и дистонию (особенно рук). При обследовании 133 пациентов с АРН сообщалось о необходимости направления на диагностику болезни НП-С пациентов с необъяснимой АРН, у которых присутствуют 2 из 3 дополнительных симптомов, перечисленных выше, что обеспечивает высокую чувствительность и специфичность диагностики болезни НП-С (до 90%) [16].

В клиническом исследовании скрининга на болезнь НП-С с участием 24 пациентов с мозжечковой атаксией и пресенильным снижением когнитивных функций было выявлено 4 случая болезни НП-С (частота 17%) [17]. Было установлено, что генетическими методами можно выявить пациентов с болезнью НП-С среди больных с АРН, у которых это заболевание может быть пропущено при использовании других методов диагностики [15]. В исследовании с применением секвенирования нового поколения с использованием панели генов для диагностики атаксии у 204 пациентов с АРН диагноз болезни НП-С был установлен 6 больным — в 2,9% случаев [16]. Общая частота выявления вариантов последовательности ДНК гена *NPC1* составляла 8/192 (4,17%), что было статистически значимо

выше, по сравнению с частотой (1,6%) в контрольной когорте ($p = 0,011$) [16].

В целом, опубликованные данные свидетельствуют о повышении доли больных с болезнью НП-С в клинической выборке АРН, что указывает на то, что АРН неясной этиологии является высоко значимым клиническим признаком болезни НП-С [15, 16].

Мышечная дистония представляет собой треть по частоте расстройство двигательной сферы и признается одним из основных неврологических проявлений болезни НП-С, отмечаясь в 40—50% диагностированных случаях [4, 18—20]. Она может быть либо по типу локальной формы торсионной дистонии с поражением мышц лица, верхних конечностей и кисти, либо по типу генерализованной мышечной дистонии, приводящей к нарушению походки [4, 20]. Локальные формы нередко являются лишь начальной стадией генерализованных форм. У части больных, однако, локальные формы остаются изолированными. В ходе естественного течения болезни НП-С отмечается тенденция к более позднему возникновению мышечной дистонии, по сравнению с другими неврологическими симптомами, и она чаще регистрируется при развитии неврологических симптомов в подростковом или молодом возрасте [4, 6, 12, 18]. Вместе с тем, сочетание дистонии и других симптомов («дистония плюс»), таких, как атаксия, миоклонические приступы, ВППВ, дизартрия, дисфагия, снижение когнитивных функций, психиатрические проявления, катаlepsия или спленомегалия, значительно повышает вероятность болезни НП-С. Молодой возраст на момент начала заболевания (<40 лет) помогает отграничить дистонию при болезни НП-С от дистонии при спастической кривошее среднего возраста [5]. Локальные симптомы дистонии, наблюдаемые при болезни НП-С, включают дистонию кистей рук при сгибании запястья и наличие натянутой улыбки во время речи в связи с дистонией мышц нижней челюсти (Iodice R, личное сообщение). Описаны также другие клинические симптомы, такие, как гримасничанье, нарушение саккадических движений глазных яблок при фиксации взгляда на предметах или перехода взгляда с одной точки на другую. На основании данных, полученных при обследовании пациентов, наблюдавшихся в специализированных клиниках, установлено, что среди больных с дистонией можно выявить до 2% и более случаев болезни НП-С [21]. Мышечная дистония должна считаться значимым клиническим признаком для проведения скрининга на болезнь НП-С.

Пресенильная деменция, или раннее снижение когнитивных функций (РСКФ), развивается в возрасте до 65 лет и распознается все чаще [22]. В большинстве случаев РСКФ связывают с болезнью Альцгеймера (БА), однако наследственные нейродегенеративные расстройства, включая болезнь НП-С, все чаще выявляются в качестве причины, лежащей в его основе [22—24].

Болезнь НП-С обладает рядом общих нейрпатологических признаков с БА и другими видами деменции (лобно-височная деменция, болезнь диффузных телец Леви), таких, как, например, отложение бета-амилоида, нейрофибрилярные клубки и патологические изменения тау-белка [22, 25]. РСКФ наблюдается по мере прогрессирования заболевания практически у всех пациентов с болезнью НП-С с началом в подростковом и взрослом возрасте. РСКФ при начале болезни НП-С во взрослом возрасте, как правило, сопровождается психиатрическими симптомами. В результате болезнь НП-С ошибочно принимают за эндогенное психическое заболевание, в частности шизофрению. Среди пациентов с началом болезни НП-С в детском возрасте РСКФ выявляется реже, несмотря на частое нарушение интеллектуального развития и трудности при обучении в школе [9, 12, 26–28].

У пациентов с РСКФ необходимо исследовать все когнитивные функции, оценить поведенческие симптомы, психиатрический анамнез и наличие функциональных нарушений. У взрослых с болезнью НП-С возможно выявление специфического профиля когнитивного дефицита: ранние признаки когнитивных нарушений включают снижение способности к целенаправленной деятельности, скорости обработки информации и вербальной памяти из-за фронтально-субкортикального дефицита. По мере прогрессирования заболевания наряду с выраженными нарушениями памяти и поведения отмечаются дальнейшее снижение когнитивной функции и постепенное снижение способности выполнять повседневную работу. Выявить болезнь НП-С помогают соответствующие нейропсихологические тесты с элементами, позволяющими определить ее тяжесть [29]. Тесты на зрительно-моторную координацию и беглость речи могут оказаться полезными у пациентов с легким течением заболевания. Тест MMSE (Краткая шкала оценки психического статуса), блоковый тест Корзи, тест с поиском аналогий и тест с рисованием часов подходят для пациентов с более тяжелым заболеванием [13].

На сегодняшний день опубликовано лишь несколько исследований по проведению скрининга на болезнь НП-С среди пациентов с РСКФ. Полученные данные указывают на то, что наличие у них неврологических симптомов может быть полезным для выявления новых случаев. Результаты одного исследования указывают на повышенную долю пациентов с болезнью НП-С среди 250 больных с «пресенильным снижением когнитивной функции», т.е. с РСКФ [29]. В другом исследовании, проведенном у 24 пациентов с РСКФ и дегенеративной атаксией, было выявлено 4 случая болезни НП-С (частота 17%) [17]. Эта частота увеличивалась до 31% при дополнительном наличии у больных ВППВ [17].

При расчете индекса вероятности НП-С (ИВ НП-С) учитывается наличие когнитивных расстройств. Использование этого индекса может представлять со-

бой эффективный метод скрининга для выявления случаев болезни НП-С среди пациентов с РСКФ [30,31] Несмотря на небольшое количество данных, полученных из опубликованных исследований по скринингу на болезнь НП-С, группа пациентов с РСКФ считается значимой «клинической нишей» для выявления этого заболевания.

Болезнь НП-С наряду с несколькими другими врожденными нарушениями метаболизма попадает в группу заболеваний, сопровождающихся органическими психическими расстройствами. Психиатрические симптомы чаще всего наблюдаются при развитии заболевания в подростковом и взрослом возрасте, обнаружены практически у 55% пациентов. Интересно отметить, что эти симптомы часто выявляются при первом обращении. В исследовании с участием 87 пациентов с болезнью НП-С из национальной когорты США психиатрические проблемы статистически значимо чаще возникали у пациентов в возрасте старше 18 лет (45%), по сравнению с более молодыми больными (11%; $p < 0,01$). Психиатрические симптомы и когнитивные нарушения наблюдались соответственно у 45% и 61% пациентов с болезнью НП-С с поздним началом, а в другой небольшой когорте пациентов психиатрические симптомы были отмечены в 86% случаев, однако какого-либо специфического психического профиля у них не наблюдалось. У пациентов с болезнью НП-С, особенно взрослых, может присутствовать ряд психиатрических и неврологических симптомов: чаще всего когнитивные нарушения (ухудшение памяти и скорости психомоторных реакций), шизофреноподобные симптомы (часто с атипичными особенностями) и расстройства настроения. Эти симптомы могут маскировать другие симптомы болезни НП-С [32, 33].

Как и при многих других заболеваниях, сопровождающихся органическими психиатрическими симптомами, пациенты с болезнью НП-С могут оставаться с неверно установленным диагнозом в течение многих лет в связи с наличием неоднородных клинических признаков, медленным прогрессированием заболевания и низкой осведомленностью о болезни НП-С в качестве возможной причины психических нарушений. Психиатрические симптомы могут быть единственным проявлением болезни НП-С в течение многих лет, прежде чем очевидным станет наличие и других симптомов. Следовательно, у пациентов, которые обращаются к психиатру, зачастую диагностика болезни НП-С является отсроченной.

Симптомы психоза являются наиболее частыми психиатрическими проявлениями болезни НП-С и часто выглядят, как шизофреноподобные симптомы, включая параноидный бред, слуховые галлюцинации и нарушения процесса мышления. Сообщается также о развитии депрессии, биполярного расстройства и обсессивно-компульсивных расстройств [9, 33, 34]. В ретроспективном обзоре психиатрических проявлений у взрослых

пациентов с болезнью НП-С во Франции, которым было выполнено психиатрическое обследование, симптомы психоза были обнаружены у 55%, и у половины из них был установлен психиатрический диагноз: шизофрения в 27% случаев и депрессия в 23% случаев [13]. Систематический анализ литературы, посвященной психиатрическим проявлениям у 58 пациентов с болезнью НП-С, большинство из которых были подростками или взрослыми на момент появления неврологических симптомов, показал, что психотические симптомы отмечались в 62% случаев, проявления, связанные с нарушением поведения или настроения, в 52% и 38% случаев соответственно [13]. Интересно отметить, что у 87% пациентов с болезнью НП-С из США имелись проблемы с обучением, что также часто встречается в психиатрической практике [27].

На сегодняшний день имеется лишь небольшое количество опубликованных данных о генетическом скрининге на болезнь НП-С в выборках психиатрических больных. Однако в исследовании «ZOOM», в котором проводился систематический скрининг на наличие мутаций генов *NPC1* и *NPC2* у 250 пациентов с неврологическими и психиатрическими симптомами, было выявлено 3 (1,2%) новых случая болезни НП-С, и еще 12 пациентов (4,8%), которые были расценены как пациенты с возможным диагнозом болезни НП-С [21]. У них была найдена одна мутация. Частота заболевания в этой выборке была существенно выше, чем в общей популяции, что указывает на то, что скрининг на болезнь НП-С в определенных нейропсихиатрических выборках может привести к обнаружению новых случаев болезни.

Проведенные исследования свидетельствуют о возможности развития лобно-височной деменции у пациентов молодого возраста, что также необходимо рассматривать в качестве показаний для диагностики болезни НП-С. У пациентов отмечаются симптомы прогрессирующей деменции, когнитивные нарушения и поведенческие проблемы.

Настороженность в отношении атипичных неврологических симптомов и признаков поражения внутренних органов может помочь отличить болезнь НП-С от первичных психиатрических состояний и других органических расстройств (таблица). Симптомы, которые могут помочь заподозрить органическое заболевание у пациентов с шизофреноподобными симптомами, включают: острое состояние спутанности сознания, преобладание зрительных галлюцинаций над слуховыми, кататонию, раннее и острое развитие психиатрических симптомов, колебание симптомов, резистентность к антипсихотическому лечению и чувствительность к низким дозам мощных нейролептиков (таблица). Комбинации клинических признаков позволяют выявить скрытые формы болезни НП-С среди других врожденных нарушений обмена в группе пациентов психиатрических отделений. Опубликованные данные

свидетельствуют о том, что органический психоз является важным клиническим симптомом скрытой болезни НП-С [35].

Наиболее ранними проявлениями болезни НП-С, которые могут выявляться во внутриутробном периоде, являются неиммунная водянка, асцит и/или гепатоспленомегалия плода. У детей после рождения могут регистрироваться необъяснимая неонатальная желтуха длительностью более 2 недель, синдром холестаза, изолированная спленомегалия и/или гепатоспленомегалия, а также острая печеночная недостаточность [13, 36]. Эти симптомы предшествуют явным неврологическим проявлениям болезни НП-С (таблица).

Дифференциальная диагностика синдрома холестаза у детей включает обширный перечень заболеваний [37–39] и представляет собой сложную задачу в отношении выявления болезни НП-С. Тем не менее, у подавляющего большинства, детей с болезнью НП-С синдром холестаза сочетается со спленомегалией. Болезнь НП-С занимает ведущее место в структуре метаболических причин поражения печени у детей первых месяцев жизни. В исследовании, проведенном в Великобритании, среди 37 детей с острой печеночной недостаточностью было выявлено 3 случая болезни НП-С [38]. В Северной Америке в отделениях гепатологии, случаи болезни НП-С составляли примерно 8% от всех пациентов, проходивших обследование по поводу неонатального холестаза (n = 40) [39].

Поскольку симптомы поражения внутренних органов предшествуют неврологическим симптомам, новорожденные и дети раннего возраста с синдромом холестаза, гепато- и/или спленомегалией составляют группу риска по развитию болезни НП-С. В случае одновременного наличия симптомов поражения внутренних органов и неврологических проявлений, таких, как отставание в развитии, гипотония и геластическая катаплексия, ИВ НП-С значительно повышается.

Результаты генетического скрининга показали возможное повышение частоты выявления болезни НП-С среди детей раннего возраста с синдромом холестаза. В исследовании с применением панели генов методом секвенирования нового поколения у 222 детей раннего возраста с холестазом, острой печеночной недостаточностью, гепатомегалией или спленомегалией аутосомно-рецессивные нарушения обмена веществ были выявлены у 19 пациентов (9%), и у одного из них была подтверждена болезнь НП-С (0,5%) [40]. Было обнаружено также 7 (3%) гетерозиготных пациентов с одной патогенной мутацией в гене *NPC1*. В нашем наблюдении при проведении селективного скрининга с использованием анализа уровней оксистеролов в крови у 155 детей с неонатальным холестазом выявлено два пациента с болезнью НП-С с минимальными неврологическими нарушениями, что позволило начать терапию на ранних сроках болезни и предупредить тяжелые нарушения

у одного ребенка. Второй пациент умер в связи с развитием острой печеночной недостаточности.

В целом, полученные данные указывают на то, что неонатальный холестаз, затяжная желтуха и изолированная спленомегалия или гепатоспленомегалия представляют собой значимые клинические признаки болезни НП-С.

Основным методом лабораторной диагностики болезни НП-С в предыдущие десятилетия считался цитохимический метод окрашивания фибробластов филиппином. Однако данный метод является технически сложным, занимает много времени, и, как правило, проводится только в специализированных лабораториях.

Кроме того, в качестве диагностического теста рассматривался низкий уровень сфингомиелиназы в лейкоцитах крови и повышение активности маркерного фермента лизосом — хитотриозидазы в плазме крови. Однако эти исследования показали невысокую чувствительность и специфичность и в настоящее время не используются для диагностики болезни НП-С.

Молекулярно-генетические методы, включающие прямое секвенирование всех генов, ответственных за заболевание, позволяет подтвердить диагноз в большинстве случаев. Вместе с тем, учитывая неспецифичность клинических проявлений (например, средняя частота встречаемости неонатального холстаза, составляет 1 случай на 2500 новорожденных), проведение дорогостоящих генетических тестов представляется затруднительным [41, 42].

В последние годы становятся все более доступными в специализированных лабораториях по всему миру исследования уровня биомаркеров в крови в качестве скрининг-теста при диагностике болезни НП-С. В качестве биомаркеров исследуются оксистеролы: холестан-3 β ,5 α ,6 β -триол (С-триол) и 7-кетохолестерин (7-КС), лизосфингомиелин-509 (Lyso-SM-509) и желчные кислоты [41—44]. В многочисленных исследованиях была продемонстрирована диагностическая значимость уровней оксистеролов в плазме крови [41, 42]. Оксистеролы — продукты окисления холестерина — доступные и широко используемые биомаркеры, надежность и чувствительность которых при диагностике болезни НП-С подтверждена наибольшей доказательной базой. Установлено, что у пациентов с болезнью НП-С в плазме крови повышены уровни С-триола и 7-КС [3, 42—47]. При этом С-триол обладает наиболее высокой специфичностью и чувствительностью для диагностики болезни НП-С по сравнению с 7-КС [44].

Доказано также, что лизосфингомиелин-509 (Lyso-SM-509) является эффективным биомаркером болезни НП-С, для исследования которого достаточно высушенного пятна капли крови. Концентрация данного маркера может повышаться и при других типах болезни Ниманна-Пика — тип А и В, но их можно отличить от болезни НП-С по абсолютным значениям лизосфингомиелина и лизосфингомиелина-509. Высокая диагно-

стическая значимость показана при сочетанном исследовании С-триола и Lyso-SM-509 [45—47].

Было также обнаружено, что у пациентов с болезнью НП-С повышаются уровни определенных желчных кислот: 3 β ,5 α ,6 β -тригидрокси-холаноил-глицина. Для данного исследования могут быть использованы образцы сыворотки крови, пятна крови и мочи. Предполагается, что 3 β ,5 α ,6 β -тригидрокси-холаноил-глицин является более специфичным маркером болезни НП-С по сравнению с С-триолом.

Полученные результаты явились основанием считать целесообразным исследование биомаркеров в качестве первого этапа диагностики болезни НП-С (рисунок).

Исследование биомаркеров показано всем пациентам:

- с синдромом холстаза, спленомегалией/гепатоспленомегалией;
- с неврологическими или психиатрическими симптомами;
- с высоким риском, определенным на основании клинических шкал.

Повышенный уровень биомаркеров позволяет с высокой степенью вероятности заподозрить наличие болезни НП-С, но диагноз должен быть подтвержден молекулярно-генетическими методами.

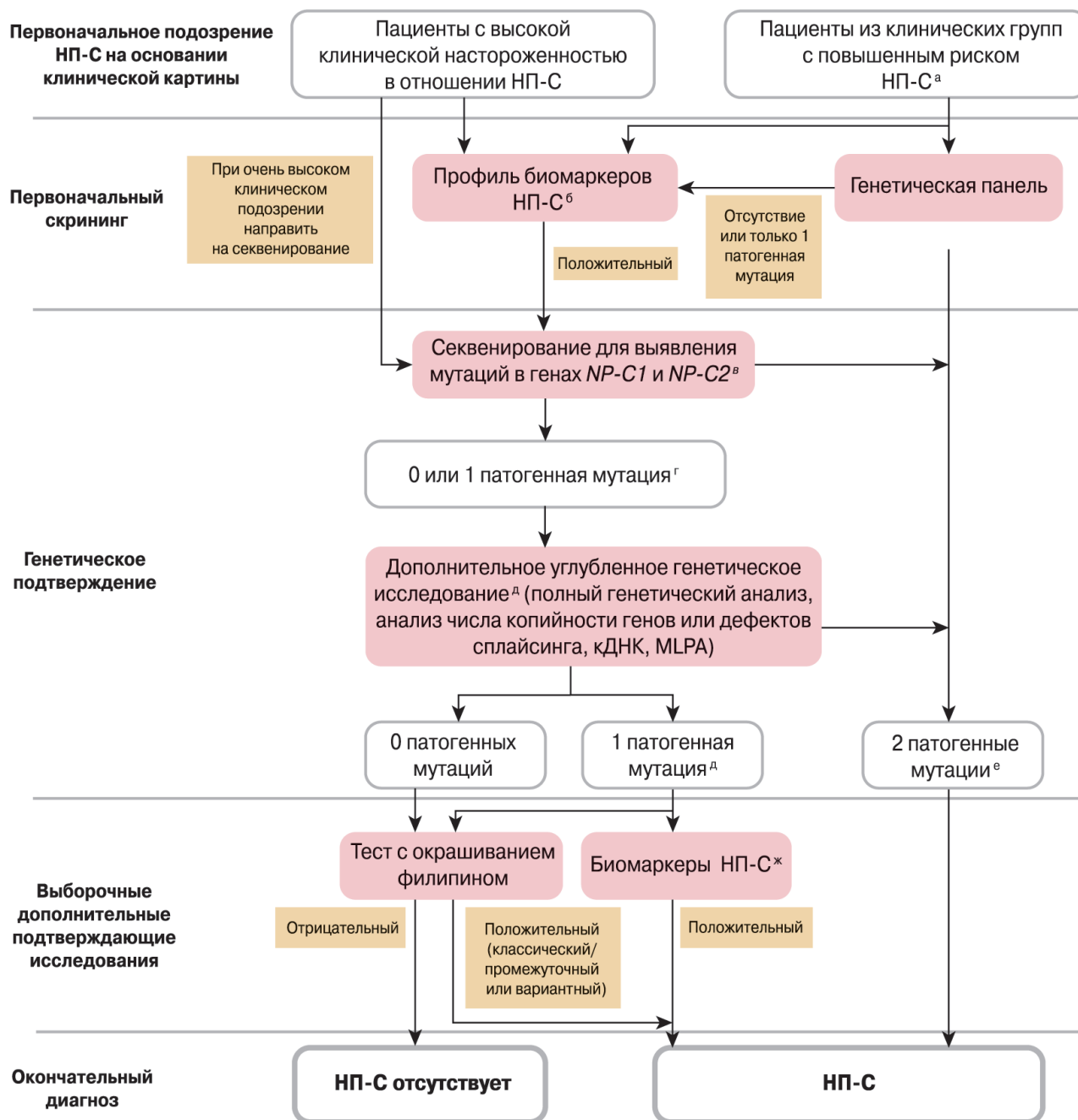
В гене *NPC1* известны почти 700 вариантов изменений, 452 из которых определяются как патогенные мутации (HGMD Professional 2017.4), и 27 вариантов описано в гене *NPC2* (HGMD Professional 2017).

Расчетная доля случаев болезни НП-С, при которых возможно выявление мутаций в обоих аллелях стандартными методами секвенирования (экзоны и прилежащие интронные области), в настоящее время превышает 90%. Следует отметить, что некоторые генетические изменения, например, крупные делеции/дупликации/инсерции или глубокие интронные изменения, этими методами достоверно выявить не удастся. Поэтому выявление таких мутаций, встречающихся примерно в 5% случаев, может потребовать других методик. Небольшой процент мутантных аллелей гена *NPC1* (ниже 5%) во всех группах остаются неидентифицированными.

В настоящее время широко используется секвенирование нового поколения таргетных панелей, гены в которых могут быть объединены по клиническим проявлениям. Так, например, гены *NPC1* и *NPC2* включены в несколько панелей генов для дифференциальной диагностики заболеваний, включающих такие проявления, как ранняя атаксия, эпилепсия, дистония, синдром холстаза, некоторые врожденные нарушения обмена веществ (например, лизосомные болезни накопления), органический психоз, раннее нарушение когнитивных функций, гепатоспленомегалия и задержка психического развития [12, 13].

Однако некоторые участки анализируемых генов могут быть не полностью прочитаны из-за особенностей метода секвенирования нового поколения, при

Обновленный алгоритм диагностики болезни Ниманна-Пика типа С (НП-С) с учетом использования анализа биомаркеров и генетического исследования



При отсутствии локальных возможностей отдельные этапы могут быть пропущены.

^а Выборка пациентов из группы риска.

^б Отрицательный результат анализа на биомаркеры может указывать на отсутствие диагноза *болезнь НП-С*.

^в Секвенирование единичных генов (экзонов или известных мутаций) или другое.

^г +1 вариант с неизвестной патогенностью.

^а В том числе «глубокое» секвенирование интронов и, по возможности, областей регуляции транскрипции генов.

^е На разных хромосомах

* Определение уровня биомаркеров (если не выполнялось при первоначальном обследовании) или расширенное определение биомаркеров (в дополнение к уже выполненному).

необходимости они должны быть проанализированы другими методами (например, секвенирования по Сэнгеру) [12].

У пациентов с высоким ИВ НП-С по клиническим данным и/или положительными результатами анализа на биомаркеры, отрицательный результат генетического тестирования или выявление мутации в гетерозиготном состоянии при первичном генетическом исследовании (например, секвенировании по Сэнгеру) должны вызывать настороженность и подтверждаться дополнительными молекулярными исследованиями, позволяющими выявить полные или частичные перестройки в генах и глубокие интронные мутации [12]. Гетерозиготные полные или частичные делеции/дупликации/инсерции в генах *NPC1* или *NPC2* требуют количественных методов анализа для оценки числа копий [12]. Для обнаружения крупных изменений ДНК может использоваться сравнительная геномная гибридизация (СГГ). Для анализа изменений ДНК ниже порога разрешения СГГ необходимо использовать количественную ПЦР в реальном времени или мультиплексную лигазозависимую амплификацию (MLPA) для подсчета числа копий генов *NPC1* или *NPC2*.

Для выявления глубоких интронных мутаций может быть выполнено полногеномное секвенирование. Наиболее предпочтительной стратегией является анализ кДНК с последующим секвенированием специфических интронных областей в пределах геномной ДНК.

Тест с окрашиванием фибробластов филиппином, исторически являющийся «золотым стандартом» в диагностике болезни НП-С, в настоящее время рассматривается в качестве инструмента для оценки функциональной значимости новых генетических вариантов генов *NPC1* или *NPC2* и может быть полезным для подтверждения диагноза у пациентов, у которых не удастся идентифицировать 2 патогенных аллеля [12] (рисунок).

Таким образом, болезнь НП-С характеризуется выраженным клиническим полиморфизмом с манифестацией в разные возрастные периоды, что обуславливает трудности её диагностики.

В последние годы широкое использование биомаркеров для селективного скрининга и исследований панелей генов способствовало повышению частоты выявления пациентов на ранних этапах развития болезни и своевременному началу патогенетического лечения. Накопленный опыт явился основанием для пересмотра алгоритма лабораторной диагностики болезни НП-С, ключевым аспектом которого явилось исследование биомаркеров в качестве первой линии обследования. В настоящее время выявление одной патогенной мутации наряду с повышением уровня биомаркеров (оксистеролов и лизосфингомиелина-509) считается достаточным для постановки диагноза болезни НП-С и начала терапии.

Список литературы

1. Wassif CA, Cross JL, Iben J. High incidence of unrecognized visceral/neurological late-onset Niemann-Pick disease, type C1, predicted by analysis of massively parallel sequencing data sets. *Genet Med.* 2016; 18: 41-48.
2. Михайлова СВ, Захарова ЕЮ, Дегтярева АВ, Печатникова НЛ, Какаулина ВС, Полякова НА. Болезнь Нимана-Пика тип С у детей. *Медицинская генетика.* 2013; 12 (9): 25-33.
3. Михайлова СВ, Захарова ЕЮ, Петрухин АС. Нейрометаболические заболевания у детей и подростков. *Диагностика и подходы к лечению, 2-е издание.* 2017.
4. Patterson MC, Mengel E, Wijburg FA. Disease and patient characteristics in NP-C patients: findings from an international disease registry. *Orphanet J Rare Dis.* 2013; 8: 12.
5. Walterfang M, Bonnot O, Mocellin R. The neuropsychiatry of inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis.* 2013; 36: 687-702.
6. Vanier MT. Niemann-Pick disease type C. *Orphanet J Rare Dis.* 2010; 5: 16.
7. Imrie J, Dasgupta S, Besley GT. The natural history of Niemann-Pick disease type C in the UK. *J Inher Metab Dis.* 2007; 30: 51-59.
8. Wraith JE, Baumgartner MR. Recommendations on the diagnosis and management of Niemann-Pick disease type C. *Mol Genet Metab.* 2009; 98 (1-2): 152-165.
9. Patterson MC, Hendriksz ChJ. Recommendations for the diagnosis and management of Niemann-Pick disease type C: an update. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2012; 106 (3): 330-344.
10. Новиков ПВ, Семьякина АН, Воинова ВЮ, Захарова ЕЮ. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Ниманна-Пика тип С. 2013.
11. Pineda M. Suspicion Index to aid screening of early-onset Niemann-Pick disease Type C (NPC), *BMC Pediatrics.* 2016; 16: 107.
12. Patterson MC, Clayton P, Gissen P. Recommendations for the detection and diagnosis of Niemann-Pick disease type C: an update. *Neurol Clin Practice.* 2017; 7 (6): 499-511.
13. Hendriksz CJ. The hidden Niemann-Pick type C patient: clinical niches for a rare inherited metabolic disease. *Current Medical Research and Opinion.* 2017; 33(5): 877-890.
14. Strupp M, Kremmyda O, Adamczyk C. Central ocular motor disorders, including gaze palsy and nystagmus. *J Neurol.* 2014; 261 (2): 542-558.
15. Stone J, Griffiths TD, Rastogi S. Non-Picks frontotemporal dementia imitating schizophrenia in a 22-year-old man. *J Neurol.* 2003; 250: 369-370.
16. Synofzik M, Fleszar Z, Schols L. Identifying Niemann-Pick type C in early-onset ataxia: two quick clinical screening tools. *J Neurol.* 2016; 263: 1911-1918.
17. Schicks J, Muller Vom Hagen J, Bauer P. Niemann-Pick type C is frequent in adult ataxia with cognitive decline and vertical gaze palsy. *Neurology.* 2013; 80: 1169-1170.
18. Anheim M, Lagha-Boukhiba O, Fleury-Lesaunier MC. Heterogeneity and frequency of movement disorders in juvenile and adult-onset Niemann-Pick C disease. *J Neurol.* 2014; 261: 174-179.
19. Koens LH, Kuiper A, Coenen MA. Ataxia, dystonia and myoclonus in adult patients with Niemann-Pick type C. *Orphanet J Rare Dis.* 2016; 11: 121.
20. Sevin M, Lesca G, Baumann N. The adult form of Niemann-Pick disease type C. *Brain.* 2007; 130: 120-133.
21. Bauer P, Balding DJ, Klunemann HH. Genetic screening for Niemann-Pick disease type C in adults with neurological and psychiatric symptoms: findings from the ZOOM study. *Hum Mol Genet.* 2013; 22: 4349-4356.

22. Mazzacuva F, Mills P, Mills K. Identification of novel bile acids as biomarkers for the early diagnosis of Niemann-Pick C disease. *FEBS Lett.* 2016; 590: 1651-1662.
23. Imrie J, Heptinstall L, Knight S, Strong K. Observational cohort study of the natural history of Niemann-Pick disease type C in the UK: a 5-year update from the UK clinical database. *BMC Neurol.* 2015; 15: 257.
24. Nunn K, Williams K, Ouvrier R. The Australian childhood dementia study. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2002; 11: 63-70.
25. Saito Y, Suzuki K, Nanba E. Niemann-Pick type C disease: accelerated neurofibrillary tangle formation and amyloid beta deposition associated with apolipoprotein E epsilon 4 homozygosity. *Ann Neurol.* 2002; 52: 351-355.
26. Jiang X, Sidhu R, Mydock-McGrane L. Development of a bile acid-based newborn screen for Niemann-Pick disease type C. *Sci Transl Med.* 2016; 8: 337-363.
27. Garver WS, Francis GA, Jelinek D. The national Niemann-Pick C1 disease database: report of clinical features and health problems. *Am J Med Genet.* 2007; 143 (A): 1204-1211.
28. Stampfer M, Theiss S, Amraoui Y. Niemann-Pick disease type C clinical database: cognitive and coordination deficits are early disease indicators. *Orphanet J Rare Dis.* 2013; 8: 35.
29. Klamer B, Klunemann HH, Lurding R. Neuropsychological profile of adult patients with Niemann-Pick C1 (NPC1) mutations. *J Inherit Metab Dis.* 2007; 30: 60-67.
30. Wijburg FA, Sedel F, Pineda M. Development of a suspicion index to aid diagnosis of Niemann-Pick disease type C. *Neurology.* 2012; 78: 1560-1567.
31. Hendriksz CJ, Pineda M, Fahey M. The Niemann-Pick disease Type C suspicion index: development of a revised tool with improved predictive ability. *J Inherit Metab Dis.* 2014; 37: 372.
32. Gourzis P, Skokou M, Polychronopoulos P. Frontotemporal dementia, manifested as schizophrenia, with decreased heterochromatin on chromosome 1. *Case Rep Psychiatry.* 2012; 2012: 1-5.
33. Cooper JJ, Ovsiew F. The relationship between schizophrenia and frontotemporal dementia. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2013; 26: 131-137.
34. Klunemann HH, Santosh PJ, Sedel F. Treatable metabolic psychoses that go undetected: what Niemann-Pick type C can teach us. *Int J Psychiatry Clin Pract.* 2012; 16: 162-169.
35. Webber D, Klunemann HH. Psychiatric manifestations of Niemann-Pick disease. *J Inherit Metab Dis.* 2011; 4: 25-31.
36. Degtyareva AV, Mikhailova SV, Zakharova EY, Tumanova EL, Puchkova AA. Visceral symptoms as a key diagnostic sign for the early infantile form of Niemann-Pick disease type C in a Russian patient: a case report. *Journal of Case Reports.* 2016; 10: 22-27.
37. Дегтярева АВ, Мухина ЮГ, Дегтярев ДН. Синдром холестаза у новорожденных детей, пособие для врачей. 2011.
38. Hegarty R, Hadzic N, Gissen P. Inherited metabolic disorders presenting as acute liver failure in newborns and young children: King's College Hospital experience. *Eur J Pediatr.* 2015; 174: 1387-1392.
39. Yerushalmi B, Sokol RJ, Narkewicz MR. Niemann-pick disease type C in neonatal cholestasis at a North American Center. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002; 35: 44-50.
40. McKay Bounford K, Ruth N, Yeung A. A gene sequencing assay to determine the frequency of genetic conditions associated with cholestasis in neonates and infants. Manuscript in preparation. 2016.
41. Vanier MT, Gissen P, Bauer P, Coll MJ, Burlina A, Hendriksz CJ, Latour P, Goizet C, Welford RW, Marquardt T, Kolb SA. Diagnostic tests for Niemann-Pick disease type C (NP-C): A critical review. *Mol Genet Metab.* 2016; 118: 244-254.
42. Каменец ЕА, Милованова НВ, Иткис ЮС, Зубович АИ, Строкова ТВ, Серебренникова ТЕ, Дегтярева АВ, Никитина НВ, Захарова ЕЮ. Применение технологии таргетного секвенирования при диагностике наследственных гепатопатий. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2016; 61 (4): 194.
43. Прошлякова ТЮ, Байдакова ГВ, Букина ТМ, Михайлова СВ, Ильина ЕС, Руденская ГЕ, Ключников СА, Малахова ВА, Захарова ЕЮ. Биохимические маркеры при болезни Ниманна-Пика тип С. *Медицинская генетика.* 2015; 8: 3-6.
44. Boenzi S, Deodato F. A new simple and rapid LC-ESI-MS/MS method for quantification of plasma oxysterols as dimethylaminobutyrate esters. Its successful use for the diagnosis of Niemann-Pick type C disease. *Clin Chim Acta.* 2014; 437: 93-100.
45. Polo G, Burlina AP, Kolamunnage TB, Zampieri M, Dionisi-Vici C, Strisciuglio P, Zaninotto M, Plebani M, Burlina AB. Diagnosis of sphingolipidoses: a new simultaneous measurement of lysosphingolipids by LC-MS/MS. *Clinical chemistry and laboratory medicine.* 2017; 55: 403-414.
46. Крылова ТД, Прошлякова ТЮ, Байдакова ГВ, Иткис ЮС, Куркина МВ, Захарова ЕЮ. Биомаркеры в диагностике и мониторинге лечения болезней клеточных органелл. *Медицинская генетика.* 2016; 15 (7): 3-10.
47. Прошлякова ТЮ, Байдакова ГВ, Каменец ЕА, Михайлова СВ, Малахова ВА, Захарова ЕЮ. Оксистеролы в дифференциальной диагностике лизосомных болезней накопления. *Медицинская генетика.* 2016; 15 (12): 37-41.