

Клинический случай спорадической спастической параплегии при новой мутации в гене *SPAST*

Ахметгалева А.Ф.¹, Хидиятова И.М.^{1,3}, Сайфуллина Е.В.²,
Идрисова Р.Ф.⁴, Магжанов Р.В.², Хуснутдинова Э.К.^{1,3}

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, e-mail: aliya.akhmetgaleeva@mail.ru

² — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Башкирский государственный медицинский университет, e-mail: mcjanoff@yandex.ru

³ — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Башкирский государственный университет, e-mail: imkhid@mail.ru

⁴ — ГБУЗ Республиканская клиническая больница им. Г.Г.Куватова, e-mail: rima773@mail.ru

Актуальность. Наследственные спастические параплегии (НСП) — группа клинически и генетически гетерогенных нейродегенеративных заболеваний, характеризующихся прогрессирующей спастичностью нижних конечностей. **Цель.** Клиническое и генетическое исследование пациента со спорадической формой спастической параплегии. **Материал и методы.** Образец ДНК пациента со спорадической формой спастической параплегии и образцы ДНК 150 здоровых индивидов. Поиск мутаций проведен методом прямого секвенирования. **Результаты.** У пациента была идентифицирована ранее неописанная мутация с.1114А>G (р.Arg372Gly) в восьмом экзоне гена *SPAST*. Клиническая картина НСП соответствует неосложненной форме заболевания. **Выводы.** Полученные данные пополняют информацию о клинико-молекулярно-генетической характеристике НСП и вносят вклад в разработку алгоритма ДНК-диагностики заболевания, оптимального для исследуемого региона.

Ключевые слова: наследственная спастическая параплегия, ген *SPAST*, мутация

Введение

Наследственные спастические параплегии (НСП) — группа клинически и генетически гетерогенных нейродегенеративных заболеваний, характеризующихся прогрессирующей спастичностью и гиперрефлексией нижних конечностей. Существуют две формы НСП: неосложненная («чистая») и осложненная добавочными неврологическими и экстракраниальными симптомами, такими, как атрофия зрительного нерва, атаксия, эпилепсия, нарушение когнитивных функций [1]. В настоящее время известно более 70 генетических локусов (52 идентифицированных гена), связанных с аутосомно-доминантными, аутосомно-рецессивными и X-сцепленными вариантами НСП [2]. Генетические формы НСП обозначаются аббревиатурой SPG с номером, соответствующим порядку открытия генного локуса [1, 3]. Распространенность НСП, как в целом, так и ее отдельных генетических форм значительно варьирует в различных популяциях, но как считает большинство экспертов, ее реальная оценка затруднена вследствие длительного субклинического течения и неполной пенетрантности болезни. По данным австралийского исследовательского фонда НСП (HSP Research Foundation) эти заболевания встречаются повсеместно с частотой, варьирующей в разных популяциях от 0,5 до 12 случаев на 100 000 населения (<http://www.hspersunite.org.au>), в Республике Башкортостан (РБ) она составляет 3,5 на 100 000 чел. [4].

Наиболее частой формой заболевания является НСП, связанная с мутациями в гене спастина (*SPAST*). Мутации в этом гене ответственны за 45% аутосомно-доминантной НСП, 12—18% спорадических случаев заболевания. Белок спастин является представителем семейства AAA-белков, АТФаз особого класса с множественными видами клеточной активности. Эти белки вовлечены в целый ряд клеточных процессов, таких, как клеточный цикл, внутриклеточный транспорт [5]. Главной функцией спастина является обеспечение динамики микротрубочек цитоскелета. Нарушение этого процесса приводит к развитию формы заболевания SPG4.

На настоящий момент в гене *SPAST* идентифицировано более 500 мутаций, большая часть из которых обнаружена в экзонах, кодирующих АТФазный домен (www.hgmd.org).

В данной статье представлена информация о пациенте с НСП из РБ с ранее неописанной мутацией в гене *SPAST*.

Материал и методы

Образец крови пациента с диагнозом *спастическая параплегия* был получен с его информированного согласия на проведение ДНК-анализа. Контрольную выборку составляли здоровые лица башкирской, русской, татарской этнической принадлежности, по 50 чел. в каждой группе.

Проведение ДНК-анализа было начато с поиска мутаций в гене *SPAST*, в котором, по данным литературы, встречается наибольшее количество ответственных за заболевание мутаций. Анализ нуклеотидной последовательности гена *SPAST* проведен методом прямого секвенирования на автоматическом анализаторе ABI PRISM 310 (Applied Biosystems). Амплификация экзонов проводилась с использованием олигонуклеотидных праймеров, описанных Lindsey et al. [6].

Для анализа функциональной значимости выявленного нуклеотидного изменения использовали программы Mutationtaster (www.mutationtaster.org) и базу данных Ensemble (www.ensembl.org). С этой же целью был проведен скрининг на наличие нуклеотидной замены в контрольных выборках здоровых индивидов.

Результаты

Пробанд марийской этнической принадлежности в 51 год впервые обратился за медицинской помощью с жалобами на нарушение походки, скованность в ногах, хотя на затруднение ходьбы обратил внимание уже после 43 лет.

В неврологическом статусе: нижний умеренный спастический парапарез с положительными стопными патологическими знаками. Был поставлен диагноз спастическая параплегия. По словам пациента, подобных случаев заболевания в семье ранее не наблюдалось, что, по всей вероятности, указывает на спорадическую форму. К сожалению, не было возможности провести полный анализ всей семьи из-за недоступности ДНК родственников.

В результате исследования в 8-м экзоне гена *SPAST* у обследуемого пациента была идентифицирована в гетерозиготном состоянии ранее неописанная нуклеотидная замена с.1114 А>G (р. Arg372Gly) (рисунок). Мутация не была обнаружена в контрольной выборке. По

данным предсказательной компьютерной программы Mutationtaster, данная нуклеотидная замена является патогенной миссенс-мутацией.

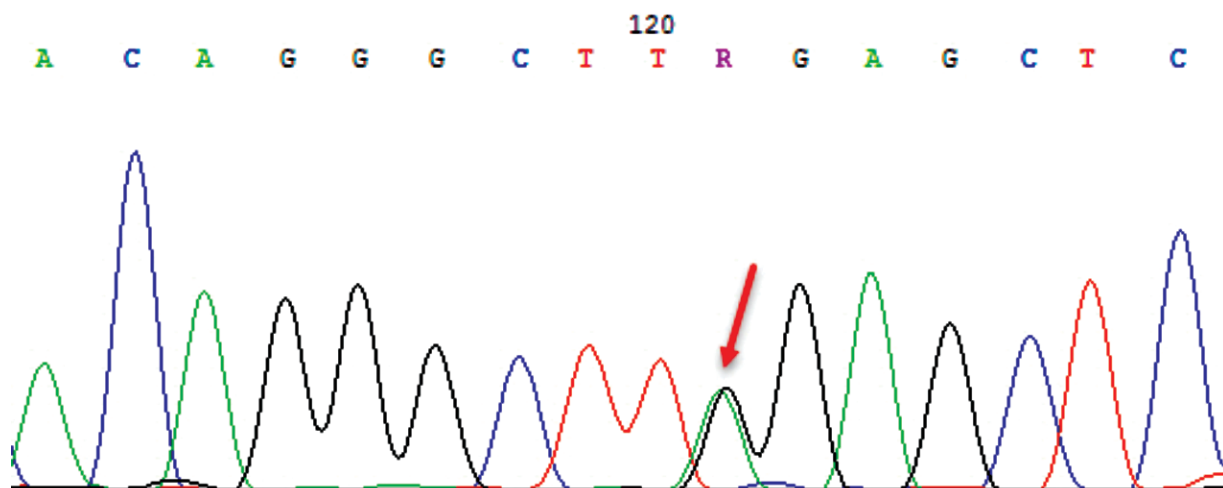
Обсуждение

Белок спастин, как и другие представители AAA-семейства белков, имеет доменную организацию. Наиболее важными для его функционирования являются МТВД- (микротрубочки-связывающий) и АТФазный домены, расположенные на С-конце белка. АТФазный домен (342–599 аа) катализирует процесс распада микротрубочек [5], а миссенс-мутации в этом домене являются наиболее частыми мутациями в гене спастина [7].

Идентифицированная нами нуклеотидная замена затрагивает АТФазный домен, приводя к изменению высококонсервативной аминокислоты в 372-м положении белка. Замена положительно-заряженной аминокислоты аргинин на нейтральную и значительно меньшую аминокислоту глицин, вероятно, может приводить к конформационным изменениям в структуре белка, нарушая его функцию обеспечения физиологической динамики микротрубочек нейронов. Отметим, что ранее была описана другая мутация — с.1114А>Т, приводящая к замене аргинина на стоп кодон и синтезу укороченного белка с полностью отсутствующим АТФазным доменом [7].

Мутации в гене *SPAST* при спорадических случаях НСП нередко и встречаются в выборках почти всех исследователей [8, 9], при этом в таких случаях именно миссенс-мутации являются более частыми, характеризующимися неполной пенетрантностью [10].

Возраст манифестации заболевания обследуемого пациента — первая половина пятого десятилетия, — несколько выше соответствующего среднего значения данного показателя, рассчитанного другими исследователями (24 ± 18 лет) [11]. В целом, клинические признаки па-



Секвенограмма образца с мутацией с.1114А>G (р.Arg372Gly).

циента с миссенс-мутацией с.1114A>G (p.Arg372Gly) не отличаются от таковых у пациентов с небольшими делециями в гене *SPAST*, представленными нами ранее [12]. Другие исследователи также указывают, что у носителей миссенс-мутаций нет фенотипических отличий от носителей мутаций, приводящих к синтезу укороченного белка [11, 13]: при любых мутациях это прогрессирующая спастичность нижних конечностей, гиперрефлексия, положительные стопные рефлексы.

Таким образом, полученные нами данные о пациенте с новой мутацией в гене *SPAST* пополняют информацию о клинико-молекулярно-генетической характеристике НСП, свидетельствуют о необходимости анализа данного гена при sporadических случаях заболевания, а также вносят вклад в разработку алгоритма ДНК-диагностики НСП, оптимального для исследуемого региона.

Список литературы

1. Fink JK Hereditary spastic paraplegia: clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta neuropathologica*. 2013;126(3):307-328.
2. Elert-Dobkowska E, Stepniak I, Krysa W et al. Molecular spectrum of the *SPAST*, *ATL1* and *REEP1* gene mutations associated with the most common hereditary spastic paraplegias in a group of Polish Patients *Journal of Neurological Sciences*. 2015;359(1-2):35-9.
3. Finsterer J, Loscher W, Quasthoff S et al. Hereditary spastic paraplegias with autosomal dominant, recessive, X-linked, or maternal trait of inheritance. *Journal of Neurological Sciences*. 2012;318(1):1-18.
4. Магжанов РВ, Сайфуллина ЕВ, Идрисова РФ и др. Эпидемиологическая характеристика наследственных спастических параплегий в Республике Башкортостан. *Медицинская Генетика*. 2013;(7):12-16.
5. Lumb JH, Connell JW, Allison R, Reid E. The AAA ATPase spastin links microtubule severing to membrane modelling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular Cell Research*. 2012;1823(1):192-197.
6. Lindsey JC, Lusher ME, McDermott CJ et al. Mutation analysis of the spastin gene (*SPG4*) in patients with hereditary spastic paraparesis. *Journal of Medical Genetics*. 2000;37(10):759-765.
7. Sauter S, Mitterski B, Klimpe S et al. Mutation Analysis of the Spastin Gene (*SPG4*) in Patients in Germany with Autosomal Dominant Hereditary Spastic Paraplegia. *Human mutation*. 2002;20(2):127-132.
8. Fei Q-Z, Tang W-G, Rong T-Y et al. Two novel mutations in the Spastin Gene of Chinese patients with hereditary spastic paraplegia. *European Journal of Neurology*. 2011;(18):1194-1196.
9. Braschinsky M, Tamm R, Beetz C et al. Unique spectrum of *SPAST* variants in Estonian HSP patients: presence of benign missense changes but lack of exonic rearrangements. *BMC Neurology*. 2010;10(1):17.
10. Depienne C, Tallaksen C, Lephay JY et al. Spastin mutations are frequent in sporadic spastic paraparesis and their spectrum is different from that observed in familial cases. *Journal of Medical Genetics*. 2006;43(3):259-265.
11. Fonknechten N, Mavel D, Byrne B et al. Spectrum of *SPG4* mutations in autosomal dominant spastic paraplegia. *Human molecular genetics*. 2000;9(4):637-644.
12. Ахметгалеева АФ, Хидиятова ИМ, Сайфуллина ЕВ и др. Две новые мутации в гене *SPG4* у пациентов с аутосомно-доминантной спастической параплегией. *Генетика*. 2016;52(6):691-696.
13. Depienne C, Fedirko E, Forlani S et al. Exon deletions of *SPG4* are a frequent cause of hereditary spastic paraplegia. *Journal of Medical Genetics*. 2007;44(4):281-284.

Clinical case of sporadic spastic paraplegia with the novel mutation in the *SPAST* gene

Akhmetgaleyeva A.F.¹, Khidiyatova I.M.^{1,3}, Saifullina E.V.², Idrisova R.F.⁴, Magzhanov R.V.², Khusnutdinova E.K.^{1,3}

¹ — Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Science Centre, RAS, e-mail: aliya.akhmetgaleyeva@mail.ru

² — Bashkir State Medical University, e-mail: mcjanoff@yandex.ru

³ — Bashkir State University, e-mail: imkhid@mail.ru

⁴ — Republican Clinic Hospital, e-mail: rima773@mail.ru

Timeliness. Hereditary spastic paraplegia (HSP) — a group of clinically and genetically heterogeneous neurodegenerative disorders characterized by progressive spasticity of the lower limbs. **The aim.** Clinical and genetic study of patient with the sporadic form of spastic paraplegia. **Methods.** DNA sample from patient with a sporadic form of spastic paraplegia and the DNA samples from 150 healthy individuals. Mutations identifications was carried out by direct sequencing. **Results.** We identified previously undescribed mutation c.1114A>G (p.Arg372Gly) in the eighth exon of *SPAST* gene in this patient. The clinical picture of HSP in this case corresponds to the uncomplicated form of the disease. **Conclusions.** This data supplement information on the clinic features and genetic of hereditary spastic paraplegia, and contribute to the development of the algorithm of DNA-diagnostics of the disease, optimal for the study region.

Keywords: Hereditary spastic paraplegia, *SPAST* gene, mutation