

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.133.33-06-055.5/7-07

КЛИНИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ АУТОСОМНО-ДОМИНАНТНОЙ АРТЕРИОПАТИИ С СУБКОРТИКАЛЬНЫМИ ИНФАРКТАМИ И ЛЕЙКОЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ (ЦАДАСИЛ) В РОССИЙСКИХ СЕМЬЯХ

С.Н. Иллариошкин, Н.Ю. Абрамычева, Л.А. Калашникова, М.Ю. Максимова, Р.Н. Коновалов, М.С. Степанова, Е.Ю. Федотова

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Москва

Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) — наследственно-семейная форма цереброваскулярного заболевания с поражением мелких артерий мозга, обусловленная мутациями гена Notch3 на хромосоме 19q12. Нами впервые по результатам молекулярно-генетического скрининга выявлена серия случаев ЦАДАСИЛ в российской популяции: заболевание диагностировано у 11 пациентов из 10 семей. Идентифицированы 7 мутаций гена Notch3, в том числе одна новая (V252M) и 6 известных ранее (R141C, R153C, R181C, Y189C, R207C и F984C). Клиническая картина была весьма вариабельной и включала как повторные лакунарные инсульты, так и хронические прогрессирующие неврологические расстройства — когнитивные, экстрапирамидные, аксиальные и другие; возраст начала болезни составил от 24 до 63 лет. Проанализировано значение МРТ-обследования в выявлении характерных для ЦАДАСИЛ гиперинтенсивных очагово-диффузных изменений в белом веществе различных отделов головного мозга (в режиме FLAIR), а также мелких постинфарктных кист в больших полушариях, стволе мозга и мозжечке. Показана важная диагностическая роль выявления таких МРТ-феноменов, как гиперинтенсивные сигналы в передних отделах височных долей и в области наружной капсулы.

Ключевые слова: ЦАДАСИЛ, лейкоэнцефалопатия, Notch3, мутационный скрининг, российская популяция, диагноз.

CLINICAL AND MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF CEREBRAL AUTOSOMAL DOMINANT ARTERIOPATHY WITH SUBCORTICAL INFARCTS AND LEUKOENCEPHALOPATHY (CADASIL) IN RUSSIAN FAMILIES

S.N. Illarioshkin, N.Yu. Abramycheva, L.A. Kalashnikova, M.Yu. Maximova, R.N. Kononov, M.S. Stepanova, E.Yu. Fedotova

Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences (Moscow)

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) is a hereditary form of cerebrovascular 'small vessel disease' caused by mutations in the Notch3 gene on chromosome 19q12. As a result of molecular genetic screening, we revealed for the first time a series of CADASIL cases in Russian population: the disease was diagnosed in 11 patients from 10 families. Seven mutations of the Notch3 were identified, including one new (V252M) and 6 already known (R141C, R153C, R181C, Y189C, R207C and F984C). A clinical picture was highly variable and comprised both recurring lacunar strokes and chronic progressive neurological disorders — cognitive, extrapyramidal, axial, etc.; the disease onset was from 24 to 63 years of age. We analyzed the significance of MRI examination in detecting CADASIL-specific high signal intensity lesions and diffuse changes in different parts of the cerebral white matter (on FLAIR imaging), as well as small post-infarct cysts in the cerebral hemispheres, the brainstem and the cerebellum. The important diagnostic role of revealing such MRI phenomena, as high signal intensity lesions in the pole of the temporal lobes and in the external capsule, is stressed.

Key words: CADASIL, leukoencephalopathy, Notch3, mutation screening, Russian population, diagnosis.

Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией — ЦАДАСИЛ (англ.: CADASIL) — представляет собой особую форму цереброваскулярного заболевания, имеющую четкую генетическую основу. В наиболее развернутом виде данное заболевание было описано французскими исследователями в начале 1990-х годов [3, 43]. Следует отметить, что и до этого в литературе встречались

единичные сходные наблюдения семейных случаев сосудистого поражения мозга с патологией белого вещества, которые обозначались как «наследственная мультиинфарктная деменция», «хроническая семейная сосудистая энцефалопатия», «семейная прогрессирующая субкортикальная энцефалопатия Бинсвангера», «семейная субкортикальная деменция с артериопатической лейкоэнцефалопатией» и др. [25, 40, 41, 45]. Фенотипически ЦАДАСИЛ

весьма сходен с болезнью Бинсвангера — наиболее частой формой патологии мелких артерий мозга, развивающейся на фоне артериальной гипертонии, однако у больных ЦАДАСИЛ артериальное давление нередко остается нормальным.

Как следует из названия, тип наследования ЦАДАСИЛ аутосомно-доминантный, оба пола поражаются в одинаковой степени. Заболевание обусловлено повреждением гена *Notch3*, расположенного на хромосоме 19q12 и кодирующего трансмембранный рецептор, участвующий в контроле клеточного цикла и развития [6, 16]. Белок Notch3 экспрессируется преимущественно в гладкомышечных клетках мелких артерий, играя роль регулятора дифференцировки и созревания гладкомышечных клеток сосудистой стенки [12, 49]. На трансгенных моделях показано, что дисфункция Notch3 ведет к нарушению цереброваскулярной реактивности и повышению резистентности сосудов, кровоснабжающих головной мозг [15, 17, 21]. Интересно, что носительство определенных полиморфизмов в гене *Notch3* повышает возрастную риск поражения белого вещества головного мозга у лиц с артериальной гипертонией [37]; этот факт подчеркивает роль белкового продукта гена в поддержании нормальной структурно-функциональной целостности мелких артерий.

Ген *Notch3* состоит из 33 экзонов. К настоящему времени у больных ЦАДАСИЛ описано уже около 200 мутаций, причем большинство из них расположено в экзонах 2—23 [9, 14, 18, 42]. Открытие гена *Notch3* сделало возможной проведение мутационного скрининга и ДНК-диагностику ЦАДАСИЛ у лиц с подозрением на данное заболевание.

Клинически ЦАДАСИЛ манифестирует чаще всего в возрасте 30—60 лет. Типичные проявления болезни — повторные ишемические инсульты или транзиторные ишемические атаки (ТИА), после первых нарушений мозгового кровообращения (НМК) возможна полная ремиссия [1, 2, 7—9]. Инсульты носят лакунарный характер и, что характерно, возникают обычно в отсутствие артериальной гипертонии и иных сосудистых факторов риска. Нередкими предвестниками лакунарных инсультов и наиболее ранними клиническими симптомами болезни являются

мигренозные приступы (мигрень с аурой). Спустя несколько лет течение болезни может меняться: на смену острым сосудистым эпизодам приходят постепенно прогрессирующая деменция подкоркового типа, нарастающий псевдобульбарный и мозжечковый синдромы, а также аффективные расстройства (чаще по типу депрессии либо биполярных расстройств) [7, 8]. В редких случаях деменция может быть единственным проявлением заболевания. Описаны случаи ЦАДАСИЛ в виде сравнительно изолированного медленно прогрессирующего синдрома паркинсонизма, резистентного к препаратам леводопы [32].

Характерными и весьма ранними признаками ЦАДАСИЛ являются изменения головного мозга на компьютерных томограммах (КТ) и магнитно-резонансных томограммах (МРТ). Они включают комбинацию небольших лакунарных инфарктов в белом веществе больших полушарий, базальных ганглиях, таламусе и мосту с распространенными очагово-диффузными (лейкоареоз) изменениями белого вещества [22, 39, 48]. Специфичным МРТ-признаком ЦАДАСИЛ считается повышение сигнала в режимах T2 и FLAIR в передних отделах височных долей [26]. У 25—69% больных на МРТ в режиме градиент-эхо (T2*) выявляются микрокровоизлияния в вещество головного мозга, чаще у пожилых пациентов и у лиц с более выраженной степенью лейкоареоза [11, 46]. Большое значение придается также нарастающей по мере прогрессирования болезни атрофии головного мозга: показано, что ежегодный темп уменьшения объема мозга при ЦАДАСИЛ в 2—3 раза выше, чем в группе здоровых лиц соответствующего возраста [19, 31].

Морфологической основой ЦАДАСИЛ является системная неамилоидная артериопатия с преимущественным поражением мелких церебральных артерий и артериол [3, 20]. Типичны концентрическое утолщение сосудистой стенки за счет субэндотелиальной фиброзной пролиферации и гиалиноза интимы, фибриноидный некроз и интрамуральный отек. При электронной микроскопии могут выявляться гранулярные осмиофильные включения в области базальной мембраны гладкомышечных клеток мелких артерий [3, 36]. Указанные изменения выявляются не только в церебральных сосудах, но и в мелких артериях внутренних органов (почек, печени, селезенки), скелетных мышц и кожи, что позволяет использовать ультраструктурное исследование биоптатов кожи в качестве удобного метода прижизненной диагностики ЦАДАСИЛ [20, 26, 27, 35]. Следует в то же время отметить, что изменения в коже в подтвержденных случаях синдрома ЦАДАСИЛ могут отсутствовать: согласно данным Н. Markus и соавт., специфичность биопсии кожи при ЦАДАСИЛ составляет 100%, но при этом чувствительность данной процедуры не превышает 45% [26].

К сегодняшнему дню случаи ЦАДАСИЛ выявлены уже в сотнях семей по всему миру (Европа, Северная и Южная Америка, ряд стран африканского континента и ближневосточного региона, Корея, Китай, Япония, Новая Зеландия, Австралия) [7—9].

Сведения об авторах:

Иллариошкин Сергей Николаевич — д-р мед. наук, проф., зам. директора по научной работе и руководитель отдела исследований мозга ФГБУ НЦН РАМН.

125367 Москва, Волоколамское шоссе, д.80.

e-mail: sni@neurology.ru, snillario@gmail.com;

Абрамычева Н.Ю. — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. 5-го неврологического отделения с ДНК-лабораторией;

Калашникова Л.А. — д-р мед. наук, проф., главный науч. сотр. 3-го неврологического отделения;

Максимова М.Ю. — д-р мед. наук, проф., главный науч. сотр. 2-го неврологического отделения;

Коновалов Р.Н. — канд. мед. наук, старший науч. сотр. отделения лучевой диагностики;

Степанова М.С. — канд. биол. наук, науч. сотр. 5-го неврологического отделения с ДНК-лабораторией;

Федотова Е.Ю. — канд. мед. наук, науч. сотр. 5-го неврологического отделения с ДНК-лабораторией.

Ориентировочная распространенность ЦАДАСИЛ составляет около 2 случаев на 100 000 взрослого населения, а частота носительства мутаций в гене *Notch3* — 4,14 на 100 000 взрослых [33]. Предполагается, что реальные цифры распространенности заболевания существенно выше, поскольку многие случаи ЦАДАСИЛ все еще остаются не диагностированными [7, 9]. В отечественной литературе есть единичные публикации, посвященные ЦАДАСИЛ [1, 2], однако широкий систематический скрининг гена *Notch3* в российских семьях с данным заболеванием ранее не проводился. В настоящей статье мы представляем первые результаты такого скрининга, позволившие достоверно диагностировать серию случаев ЦАДАСИЛ и провести клинико-генетические сопоставления.

Пациенты и методы исследования

Нами обследованы 25 пациентов (16 мужчин и 9 женщин, возраст от 22 до 73 лет), направленных в ФГБУ Научный центр неврологии РАМН с повторными острыми церебральными эпизодами (расцениваемыми чаще всего как нарушения мозгового кровообращения по типу лакунарных инсультов), а также картиной многоочагового и/или диффузного поражения белого вещества головного мозга. Диагностические сложности в указанных случаях были связаны с ранним дебютом заболевания (у 20 пациентов симптомы манифестировали до 50 лет, в том числе у 16 пациентов до 30 лет) и отсутствием у большинства больных артериальной гипертензии, сахарного диабета, эмбологенных заболеваний сердца и других сосудистых факторов риска, чаще всего ассоциированных с патологией мелких артерий головного мозга. Диагноз рассеянного склероза в спорных случаях был исключен на основании общепринятых международных критериев [28].

У 40% пациентов имелся положительный семейный анамнез, указывавший на наличие сосудистого заболевания головного мозга (включая мигрень), деменции, психиатрических проявлений или эпилептических припадков у кровных родственников 1—2-й степени родства. При анализе клинической картины за возраст начала болезни принимался возраст, в котором у пациента было впервые зарегистри-

стрировано появление какого-либо церебрального симптома (с острым или постепенным началом), в том числе мигренозных или судорожных приступов, ТИА, нарушений в когнитивной сфере и др.

В результате проведенного диагностического скрининга у обследуемых пациентов была предположена возможность наличия ЦАДАСИЛ, в связи с чем во всех указанных случаях было предпринято молекулярно-генетическое тестирование.

Геномная ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови с помощью набора Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega). Экзоны 2—23 гена *Notch3* были амплифицированы в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим прямым секвенированием (набор BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing, Applied Biosystems) на генетическом анализаторе 3130 DNA Analyser (Applied Biosystems/HITACHI). Электрофореграммы анализировались с помощью программных алгоритмов SeqScape v2.5 и Sequencing Analysis 5.2 (Applied Biosystems). Результаты секвенирования были сопоставлены с референсной нуклеотидной последовательностью гена *Notch3* (NCBI, NT_011295.11).

Результаты

По итогам молекулярно-генетического анализа нами были идентифицированы 7 мутаций в гене *Notch3* (рис. 1, табл. 1), которые имели место у 11 больных из 10 семей. Все мутации были представлены однонуклеотидными заменами с изменением кодируемой аминокислоты в составе белка (миссенс-мутации). Мутации R141C, R181C и R207C встречались повторно, каждая из них — в двух семьях; в одной из этих семей замена R182C была выявлена у обоих больных родственников — отца и сына. Шесть мутаций (R141C, R153C, R181C, Y189C, R207C, F984C) уже были описаны ранее у больных ЦАДАСИЛ из других популяций, причем все они приводят к появлению дополнительного остатка цистеина в одном из EGF-повторов в составе внеклеточного домена белка Notch3. Мутация V252M, не затрагивающая цистеиновые последовательности, у пациентов с ЦАДАСИЛ обнаружена нами впервые.

Таблица 1

Характеристика миссенс-мутаций в гене *Notch3* у российских пациентов с ЦАДАСИЛ

Пациенты	Мутация		Экзон
	нуклеотидная замена	аминокислотная замена	
Нд. III-2, Рж. II-4	499C>T	R141C (Arg141Cys)	4
Кл.	535C>T	R153C (Arg153Cys)	4
Вр. I-1, Вр. II-2, Ос. II-1	622C>T	R182C (Arg182Cys)	4
Бл.	644A>G	Y189C (Tyr189Cys)	4
Кс. II-1, Бр.	697C>T	R207C (Arg207Cys)	4
Мн. II-1	832G>A	V252M (Val252Met)	5
Ак.	3029T>G	F984C (Phe984Cys)	18

Примечание. Здесь и в табл. 2 для семейных случаев ЦАДАСИЛ указан номер пациента в соответствующей родословной (см. родословные на рис. 2).

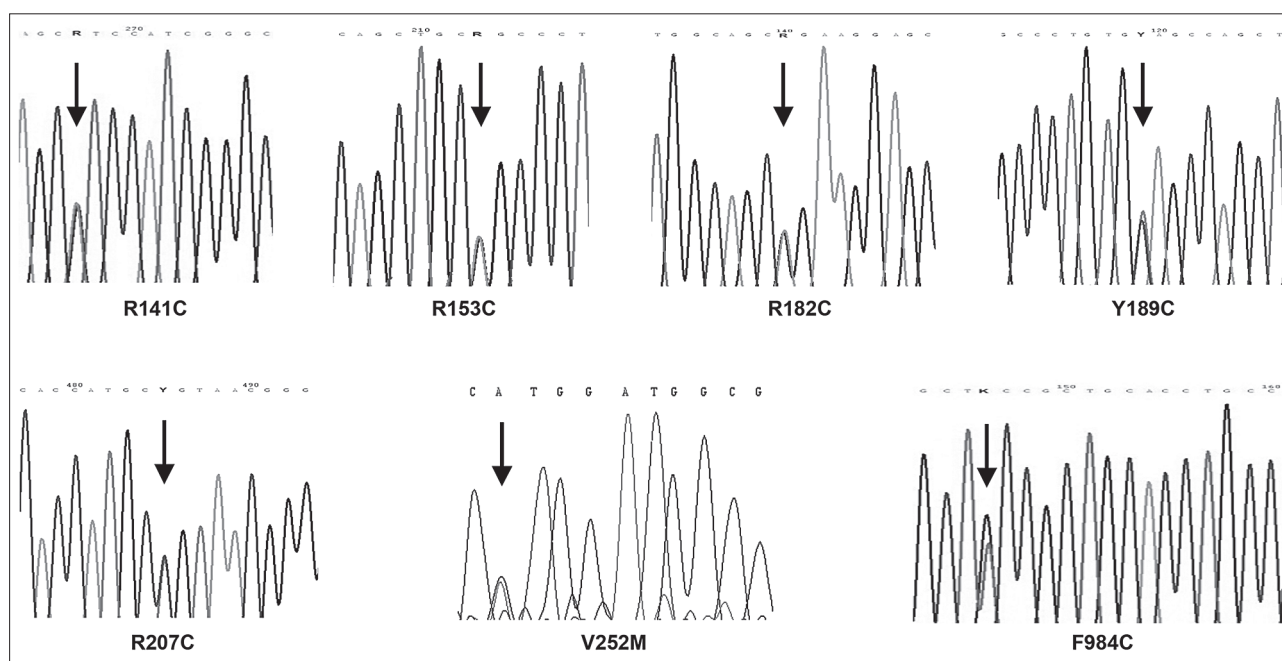


Рис. 1. Выявленные мутации в гене *Notch3* (результаты секвенирования).

В каждом образце стрелка указывает на место нуклеотидной замены. Мутации R207C и F984C секвенированы с прямого праймера, остальные мутации — с обратного праймера.

Среди пациентов с достоверным диагнозом ЦАДАСИЛ, т. е. среди лиц с выявленной мутацией гена *Notch3*, было 7 мужчин и 4 женщины, средний возраст $51,5 \pm 13,7$ (30—73) года, средний возраст начала болезни $40,2 \pm 14,6$ (24—63) года. Четыре случая были спорадическими, а 7 — семейными. Родословные семейных случаев ЦАДАСИЛ с краткой легендой, описывающей заболевание у родственников обследованных пациентов, представлены на рис. 2. Из легенды следует, что, помимо повторных НМК, у некоторых родственников в различных медицинских учреждениях диагностировались рассеянный склероз и деменция (энцефалопатия) неясного генеза. Ошибочность диагностики демиелинизирующего или дегенеративного процесса здесь вполне очевидна: с учетом большого сходства клиники указанных заболеваний с проявлениями ЦАДАСИЛ с большой вероятностью можно предполагать диагноз ЦАДАСИЛ у всех больных родственников в наблюдавшихся семьях.

Клинические и нейровизуализационные характеристики обследованных нами пациентов с ЦАДАСИЛ представлены в табл. 2. Обращает на себя внимание значительная вариабельность фенотипической картины заболевания, касающейся как возраста дебюта симптомов (разброс от 24 до 63 лет), так и спектра неврологических проявлений. В 10 случаях дебют заболевания был острым и соответствовал клинике инсульта или ТИА, у трех больных этому предшествовали приступы мигрени в течение нескольких лет, исчезнувшие на фоне повторных НМК. В большинстве случаев после первых сосудистых церебральных эпизодов отмечалось хорошее восстановление, и пациенты

в течение многих лет могли сохранять работоспособность и приемлемое качество жизни. С годами по мере нарастания числа перенесенных НМК на первый план постепенно начинала выходить клиническая картина диффузного поражения вещества головного мозга с формированием устойчивых психоневрологических синдромов, характерных для далеко зашедших стадий хронической ишемии мозга (деменция, паркинсонизм, псевдобульбарный синдром и т. д.). Лишь у одного пациента ЦАДАСИЛ протекала без четких острых эпизодов в виде нарастающей энцефалопатии с когнитивными, экстрапирамидными и координаторными нарушениями. При обоих вариантах манифестации заболевания возможны достаточно длительные (до нескольких лет) периоды стабилизации состояния пациентов.

Проведение клинко-генетических сопоставлений показало, что мутация R141C у обоих неродственных носителей характеризовалась весьма сходными клиническими проявлениями (см. табл. 2) — дебютом в возрасте около 30 лет и повторными эпизодами НМК с развитием когнитивных нарушений и пирамидной симптоматики. Напротив, мутации R182C и R207C приводили к значительному полиморфизму заболевания: так, у носителей R182C (в том числе у членов одной семьи Вр.) возраст при дебюте симптомов оказался чрезвычайно вариабельным (от 31 года до 52 лет), а у лиц с мутацией R207C заболевание имело как острый приступообразный характер (повторные НМК), так и хроническое прогрессирующее течение.

Данные МРТ-исследования были доступны для анализа у 10 пациентов (см. табл. 2, рис. 3). На томограммах у всех пациентов с ЦАДАСИЛ были вы-

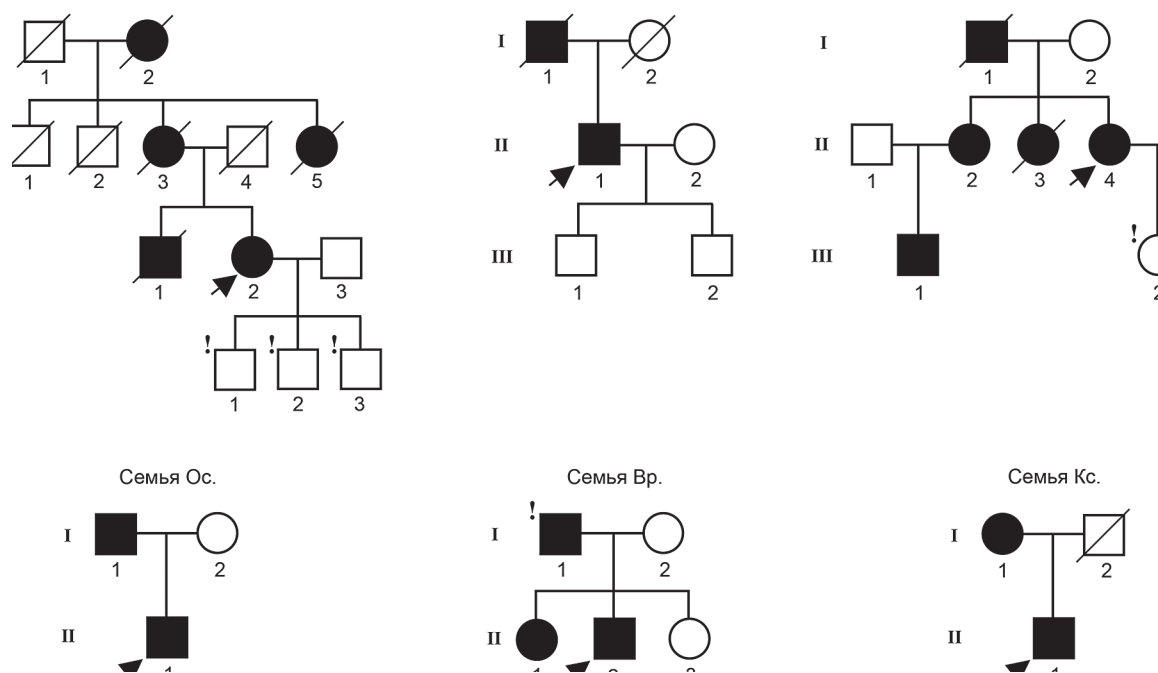


Рис. 2. Родословные семейных случаев ЦАДАСИЛ.

Стрелками указаны пробанды; ! -- лично осмотренные. Семья Нд.: бабка пробанда по матери (I-2) умерла в 83 года от инсульта; мать пробанда (II-3) с 40-летнего возраста перенесла несколько повторных НМК, умерла в 65 лет; тетка по матери (II-5) умерла от инсульта; брат (III-1) в 40 лет перенес инсульт, умер в возрасте 50 лет. Семья Мн.: отец пробанда (I-1) умер от инсульта в пожилом возрасте. Семья Рж.: отец пробанда (I-1) в молодом возрасте перенес инсульт, умер в 50 лет; сестра 66 лет (II-2) страдает деменцией; вторая сестра (II-3) в возрасте 56 лет перенесла инсульт, умерла в 59 лет; племянник 35 лет (III-1) перенес 2 инсульта. Семья Ос.: отец пробанда (I-1) перенес несколько НМК, на МРТ головного мозга -- выраженный лейкоареоз, множественные лакунарные инфаркты в больших полушариях мозга. Семья Вр.: у сестры пробанда (II-1) многоочаговое поражение вещества головного мозга, диагностирован рассеянный склероз (лично не осмотрена). Семья Кс.: мать пробанда 83 лет (I-1) страдает «энцефалопатией альцгеймеровского типа» (со слов родственников).

явлены множественные очаговые или диффузные изменения в белом веществе головного мозга, характеризующиеся повышением интенсивности сигнала

в режимах T2 и FLAIR. Генез этих изменений весьма сложен (сочетание глиоза, демиелинизации и т. д.), и в англоязычной литературе их принято обозначать

Таблица 2

Клиническая характеристика больных ЦАДАСИЛ с идентифицированными мутациями

Пациент	Возраст больного, годы	Возраст начала заболевания, годы	Клинический синдром	Данные МРТ	Мутация
Нд. III-2	46	29	И/ТИА, М, КС, ПН	ГИНК, ЛИБП, МГИО	R141C
Рж. II-4	55	31	И/ТИА, Д, ПН, ТР	ГИНК, ЛА, ЛИБП	R141C
Кл.	49	24	И/ТИА, М, ПН	ГИНК, ГИПВД, ЛА, ЛИБП, ЛИС	R153C
Вр. I-1	73	52	И/ТИА, Д, СП	ГИНК, ГИПВД, ЛА, ЛИБП, ЛИС, МК	R182C
Вр. II-2	45	37	И/ТИА, ПН, ЭП	ГИПВД, ЛИБП, МГИО	R182C
Ос. II-1	35	31	И/ТИА, КС, ПБ, ПН	ГИПВД, МГИО, МК	R182C
Бр.	30	25	И/ТИА, А, ПН	МГИО, ЛИБП	R207C
Кс. II-1	62	58	А, КС, ПН, СП	ЛА+МГИО, ЛИБП, ЛИС	R207C
Мн. II-1	72	63	И/ТИА, А, Д, ПБ, ПН, СП, ТР	ГИНК, ГИПВД, ЛА, ЛИБП, ЛИМ	V252M
Ак.	54	52	И/ТИА, А, ПН	МГИО, ЛИМ	F984C
Бл.	45	?	И/ТИА, КС, ПН	—	Y189C

Примечание. Клинический синдром: А — атаксия, Д — деменция, И/ТИА — инсульты и/или транзиторные ишемические атаки, КС — когнитивное снижение, М — мигрень, ПБ — псевдобульбарный синдром, ПН — пирамидная недостаточность, СП — сосудистый паркинсонизм, ТР — тазовые расстройства, ЭП — эпилептические припадки. Данные МРТ: ГИНК — гиперинтенсивность наружной капсулы, ГИПВД — гиперинтенсивность полюса височной доли, ЛА — лейкоареоз, ЛИБП — лакунарные инфаркты в больших полушариях, ЛИМ — лакунарные инфаркты в мозжечке, ЛИС — лакунарные инфаркты в стволе, МГИО — множественные (мелкие) гиперинтенсивные очаги, МК — микрокровоизлияния.

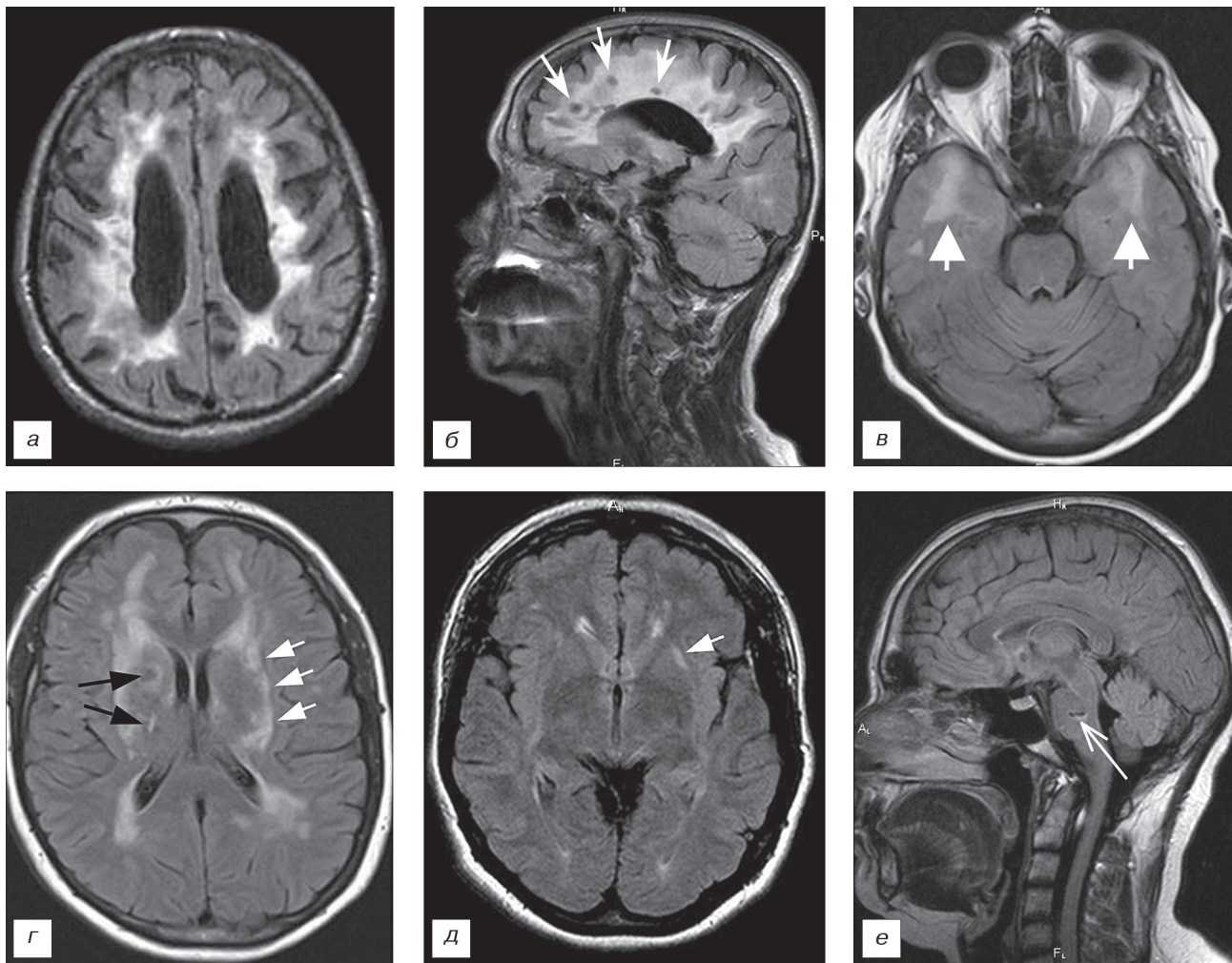


Рис. 3. МРТ-картина ЦАДАСИЛ у обследованных пациентов.

a — пациент Мн.: диффузные гиперинтенсивные изменения белого вещества в перивентрикулярных отделах больших полушарий головного мозга (лейкоареоз); *б* — пациент Рж.: на фоне выраженного лейкоареоза определяются отдельные лакунарные инфаркты (стрелки); *в* — пациент Кл.: крупные гиперинтенсивные сигналы в полосах височных долей (стрелки); *г* — пациент Кл.: двусторонние гиперинтенсивные сигналы в области наружных капсул (белые стрелки) и лакунарные инфаркты в глубоких отделах подкорковой области (черные стрелки); *д* — пациент Нд.: начальные признаки вовлечения наружной капсулы (стрелка) и гиперинтенсивные очаговые изменения белого вещества вокруг передних рогов боковых желудочков; *е* — пациент Кл.: лакунарные инфаркты в мосту мозга (стрелка). Все изображения в режиме FLAIR.

упрощенным термином «гиперинтенсивные очаги» («high signal intensity lesions»). Гиперинтенсивные очаги были локализованы преимущественно в перивентрикулярных и глубоких отделах больших полушарий. Как видно из табл. 2, отдельные или небольшие сливные очаги были характерны в основном для более молодых больных, а диффузные симметричные изменения по типу лейкоареоза наблюдались в позднем возрасте. В совокупности отдельные или сливные гиперинтенсивные очаги наблюдались у 5 (50%) пациентов, диффузные изменения по типу лейкоареоза — у 4 (40%), сочетание множественных отдельных очагов и лейкоареоза — у 1 (10%). Характерные для ЦАДАСИЛ крупные гиперинтенсивные очаги в передних отделах височных долей отмечены у 5 (50%) пациентов, очаги в области наружных капсул — также у 5 (50%). В дополнение к описанным гиперинтенсивным очагам у большинства пациентов ($n=9$) на томограммах обнаруживались мелкие

кисты — типичные последствия повторных лакунарных инфарктов. Чаще всего они располагались в полушариях большого мозга — в подкорковом белом веществе, базальных ганглиях и таламусе (8 пациентов), в отдельных случаях — также в стволе головного мозга (3 пациента) и мозжечке (2). Еще в 2 случаях в веществе мозга были выявлены признаки перенесенных микрокровоизлияний. Широко выявлялись такие неспецифические изменения головного мозга, как расширение боковых желудочков различной степени выраженности и расширение других отделов ликворных пространств (конвексимальных, цистернальных, периваскулярных). У абсолютного большинства больных наблюдалось разнообразное сочетание указанных выше изменений.

Обсуждение

В настоящее время не вызывает сомнений, что традиционные представления о ЦАДАСИЛ как о

«редком» заболевании должны быть пересмотрены. Среди лиц взрослого возраста ЦАДАСИЛ признается наиболее распространенной генетической формой инсульта и сосудистой деменции, которая встречается практически повсеместно [7, 9]. При проведении мутационного скрининга в общей группе пациентов с лакунарными инсультами и лейкоареозом ЦАДАСИЛ выявляется у 2% больных в возрасте до 65 лет и у 11% пациентов моложе 50 лет [13]. У пациентов с лакунарными инсультами в возрасте до 65 лет, не имеющих артериальной гипертонии или сахарного диабета, частота ЦАДАСИЛ с выявленными мутациями в гене *Notch3* составляет 6,6% [10]. Приведенные цифры позволяют считать ЦАДАСИЛ значимой клинической проблемой, поскольку лакунарный инсульт составляет до 20% всех случаев ишемического инсульта [4].

Как показывает наш и зарубежный опыт, ошибки диагностики ЦАДАСИЛ обусловлены сходством заболевания с другими формами многоочагового и/или диффузного поражения белого вещества головного мозга. Как отмечают S. Razvi и соавт., у 35% пациентов с ЦАДАСИЛ в начале болезни ставится диагноз демиелинизирующего заболевания, бинсвангеровской или другой формы деменции, системного васкулита и т.п. [34]. В нашей серии случаев более чем у половины обследованных пациентов и их больных родственников были первоначально диагностированы рассеянный склероз, дисциркуляторная энцефалопатия (без четкого указания на первичную патологию сосудов мозга) либо деменция неясного генеза. По данным ряда авторов, у больных ЦАДАСИЛ отмечается существенно более низкая частота артериальной гипертонии (5—25%) и сахарного диабета (0—4%) по сравнению с пациентами с «классическим» лакунарным инсультом (40—83 и 28—41% соответственно) [5, 30, 38, 44]. Суммарное отсутствие типичных сосудистых факторов риска наблюдается у 18% больных с лакунарным подтипом ишемического инсульта [44], и именно такие случаи должны настораживать врача в плане возможности ЦАДАСИЛ. На фоне повышенных цифр артериального давления основанием предполагать диагноз ЦАДАСИЛ может стать явная диссоциация между сравнительно небольшой выраженностью артериальной гипертонии и значительной распространенностью поражения белого вещества головного мозга.

Еще одним важным аргументом в пользу ЦАДАСИЛ является семейный анамнез по цереброваскулярной патологии. В нашей группе больных аутосомно-доминантные случаи ЦАДАСИЛ с наличием двух и более заболевших родственников составили более половины всех подтвержденных случаев данного заболевания. Это наблюдение подчеркивает необходимость целенаправленного уточнения семейного анамнеза при обследовании пациентов с НМК; при этом в случае указаний на ту или иную подозрительную неврологическую патологию необходимо стремиться к личному осмотру родственников из группы риска. Отметим в то же время, что многие

случаи ЦАДАСИЛ являются спорадическими, например, из-за ограниченных сведений о членах семьи или в силу возникновения новых мутаций в гене *Notch3*.

Клиническая картина болезни в нашей группе пациентов с ЦАДАСИЛ была достаточно типичной. Во всех случаях, кроме одного, первоначально отмечались повторные ишемические НМК с хорошим восстановлением (что может свидетельствовать о лакунарном генезе инсультов), а в последующем неуклонно нарастали подкорковая деменция, экстрапирамидно-мозжечковая симптоматика, пирамидная недостаточность, аксиальные проявления и др. В 27,3% случаев предвестниками лакунарных инсультов и наиболее ранними клиническими симптомами ЦАДАСИЛ были мигренозные приступы, что считается характерным для данного заболевания [23]. Нами (как и другими исследователями) наблюдался выраженный клинический полиморфизм ЦАДАСИЛ: первые проявления возникали от 3-го до 7-го десятилетия жизни, а прогрессирование болезни и отдельных групп симптомов различалось даже у членов одной семьи. По мнению N. Peters и соавт. (2004), такая вариабельность связана с определенной стадийностью заболевания — стадия острого течения, стадия хронического прогрессирования, стадии стабилизации и улучшения [30]. Предполагается, что острое, ступенеобразное нарастание симптомов при ЦАДАСИЛ обусловлено повторными лакунарными инсультами, а фаза хронического прогрессирования связана с нарастанием хронической ишемии мозга и множественными микроинфарктами.

МРТ-картина представленных случаев, демонстрирующая очагово-диффузные гиперинтенсивные изменения (в режимах T2 и FLAIR) в перивентрикулярных и глубоких отделах больших полушарий, а также лакунарные инфаркты (кисты) в больших полушариях, стволе мозга и мозжечке, сходна с нейровизуализационными особенностями ЦАДАСИЛ в других сериях наблюдений [22, 26, 39, 46, 48]. Такие важные признаки, как FLAIR-гиперинтенсивные очаги в передних отделах височных долей и в области наружных капсул, выявлены в половине случаев каждый, причем у 3 пациентов имели место оба указанных феномена. По данным M. O'Sullivan и соавт. [29], в диагностике ЦАДАСИЛ повышение интенсивности сигнала в полюсе височной доли имеет чувствительность 90% и специфичность 100%, что позволяет считать его практически патогномичным признаком данного заболевания. Несколько меньшую чувствительность (93%) и специфичность (45%) имеют изменения сигнала в области наружной капсулы [29]. Признаки повторных микрокровоизлияний в веществе головного мозга (корково-подкорковые отделы, белое вещество, таламус, мост) выявляются у 31—69% пациентов с ЦАДАСИЛ и обычно локализируются вне ишемических очагов [9]. В наших наблюдениях они зарегистрированы лишь в 2 случаях; эта цифра представляется заниженной, что, по-видимому, связано с редким применением

на практике специальных режимов МРТ (градиент-эхо, или T2*) у таких пациентов.

Изменения в белом веществе головного мозга у носителей мутации гена *Notch3* могут иметь место уже на 2—3-м десятилетии жизни при полном отсутствии клинических проявлений, поэтому нейровизуализационные исследования считаются важнейшим элементом диагностического алгоритма при обследовании семей с ЦАДАСИЛ [7, 26, 48]. Считается, что очаговые изменения в мозге на 10—15 лет опережают дебют любых симптомов ЦАДАСИЛ (кроме мигрени с аурой, которая может манифестировать в те же сроки), а после 35 лет нейровизуализационные изменения выявляются уже у 100% носителей мутации [7]. Наличие при данном заболевании чрезвычайно характерных МРТ-феноменов (см. выше) делает МРТ-исследование головного мозга надежным и при этом наиболее доступным методом прижизненной диагностики.

Достоверное подтверждение диагноза ЦАДАСИЛ возможно только при морфологическом (характерные изменения мелких сосудов в биоптатах кожи) или молекулярно-генетическом исследовании. Нами выявлено 6 известных миссенс-мутаций в гене *Notch3*, затрагивающих число копий цистеина в соответствующих EGF-повторах экстрацеллюлярного домена белка, и одна новая миссенс-мутация V252M (832G>A), не влияющая на копийность остатков цистеина. Увеличение или уменьшение числа цистеиновых остатков является ведущим типом молекулярного дефекта при ЦАДАСИЛ [14, 18, 42]. Такие мутации изменяют число дисульфидных «мостиков», связывающих остатки цистеина между собой, и дестабилизируют тем самым пространственную конфигурацию экстрацеллюлярного домена белка *Notch3*. В силу небольшого числа больных детальные сопоставления между характером мутаций и фенотипом в настоящем исследовании были невозможны, но наши предварительные данные подтверждают точку зрения об отсутствии при ЦАДАСИЛ четких клинико-генетических корреляций [7, 9]. Можно предполагать, что на характер клинических проявлений ЦАДАСИЛ, помимо мутаций *Notch3*, влияет большое число дополнительных экзо- и эндогенных факторов (курение, наличие сопутствующих заболеваний, состояние брахиоцефальных артерий и системной гемодинамики, действие генов-модификаторов и др.).

В данной работе анализ гена *Notch3* позволил обнаружить мутации лишь у 11 больных из 25 с предположительным диагнозом ЦАДАСИЛ. Следовательно, более чем в половине предварительно отобранных случаев данный диагноз не подтвердился, несмотря на сходство клинической картины в *Notch3*-позитивной и *Notch3*-негативной группах. Возможно, это частично связано с тем, что мы секвенировали не весь ген, а ограничились экзонами 2—23: в них содержится более 95% всех известных мутаций *Notch3* [18], но все же нельзя исключить возможности редких мутаций в оставшейся области гена. Еще одной из причин может быть генетическая гетерогенность ЦАДАСИЛ. Действительно, у

части пациентов с типичной клинической картиной и наличием аутосомно-доминантного поражения мелких артерий мозга доказано отсутствие мутаций гена *Notch3* [24, 47]. По-видимому, уже в ближайшем будущем по мере идентификации новых генетических локусов молекулярная классификация ЦАДАСИЛ будет выделять несколько самостоятельных форм — ЦАДАСИЛ 1-го типа, ЦАДАСИЛ 2-го типа и т. д. [7].

Таким образом, нами впервые в результате проведенного мутационного скрининга гена *Notch3* идентифицирована серия случаев ЦАДАСИЛ в российской популяции. Полученные результаты расширяют современные представления о патогенетической гетерогенности ишемических НМК и могут служить основой для создания регистра больных ЦАДАСИЛ и их родственников — носителей мутации в пресимптоматической стадии болезни. Хотя на сегодняшний день какие-либо методы лечения ЦАДАСИЛ отсутствуют, по мере внедрения в практику эффективных технологий нейро- и ангиопротекции данное заболевание может стать уникальной моделью для тестирования новых методов фармакологической и клеточной коррекции цереброваскулярных нарушений.

Благодарность: работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-01718а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрин М.И. и др. Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ): первое описание российской семьи с идентифицированной мутацией в гене *Notch3*. *Анналы клинической экспериментальной неврологии*. 2008; 2: 45—50.
2. Мозолевский Ю.В., Янакаева Т.А., Мельникова Е.А. и др. Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией. *Неврологический журнал*. 2005; 2: 34—40.
3. Baudrimont M., Dubas F., Joutel A. et al. Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic strokes: a clinicopathological study. *Stroke*. 1993; 24: 122—5.
4. Arboix A., Martí-Vilalta J.L. Lacunar stroke. *Expert Rev. Neurother*. 2009; 9: 179—96.
5. Arboix A., Martí-Vilalta J.L., Garcia J.H. Clinical study of 227 patients with lacunar infarcts. *Stroke*. 1990; 21: — P. 842—7.
6. Artavanis-Tsakonas S., Matsuno K., Fortini M. Notch signaling. *Science*. 1995; 268: 225—32.
7. Chabriat H., Joutel A., Dichgans M., Tournier-Lasserre E., Boussier M.G. CADASIL. *Lancet Neurol*. 2009; 8: 643—53.
8. Chabriat H., Joutel A., Vahedi K. et al. CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy): clinical features and neuroimaging. *Bull. Acad. Natl. Med.* 2000; 184: 1523—31.
9. Choi J.C. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: a genetic cause of cerebral small vessel disease. *J. Clin. Neurol.* 2010; 6: 1—9.
10. Cocho D., Martí-Fabregas J., Baiget M. et al. Diagnosis of CADASIL disease in normotensive and non-diabetics with lacunar infarct. *Neurologia*. 2011; 26: 325—30.
11. Dichgans M., Holtmannspooter M., Herzog J. et al. Cerebral microbleeds in CADASIL: a gradient-echo magnetic resonance imaging and autopsy study. *Stroke*. 2002; 33: 67—71.
12. Domenga V., Fardoux P., Lacombe P. et al. Notch3 is required for arterial identity and maturation of vascular smooth muscle cells.

- Genes Dev. 2004; 18: 2730—5.
13. *Dong Y, Hassan A, Zhang Z* et al. Yield of screening for CADASIL mutations in lacunar stroke and leukoaraiosis. *Stroke*. 2003; 34: 203—5.
 14. *Dotti M.T, Federico A, Mazzei R* et al. The spectrum of Notch3 mutations in 28 Italian CADASIL families. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2005; 76: 736—8.
 15. *Dubroca C, Lacombe P, Domenga V* et al. Impaired vascular mechanotransduction in a transgenic mouse model of CADASIL arteriopathy. *Stroke*. 2005; 36: 113—7.
 16. *Joutel A, Corpechot C, Ducros A* et al. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996; 383: 707—10.
 17. *Joutel A, Monet-Leprêtre M, Gosele C* et al. Cerebrovascular dysfunction and microcirculation rarefaction precede white matter lesions in a mouse genetic model of cerebral ischemic small vessel disease. *J. Clin. Invest*. 2010; 120: 433—45.
 18. *Joutel A, Vahedi K, Corpechot C* et al. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients. *Lancet*. 1997; 350: 1511—5.
 19. *Jouvent E, Viswanathan A, Mangin J.F* et al. Brain atrophy is related to lacunar lesions and tissue microstructural changes in CADASIL. *Stroke*. 2007; 38: 1786—90.
 20. *Kalimo H, Ruchoux M, Viitanen M* et al. CADASIL: a common form of hereditary arteriopathy causing brain infarcts and dementia. *Brain Pathol*. 2002; 12: 371—84.
 21. *Lacombe P, Oligo C, Domenga V* et al. Impaired cerebral vasoreactivity in a transgenic mouse model of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Stroke*. 2005; 36: 1053—8.
 22. *Liem M.K., Oberstein S.A., Haan J* et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: progression of MR abnormalities in prospective 7-year follow-up study. *Radiology* 2008; 249: 964—71.
 23. *Liem M.K., Oberstein S.A., van der Grond L*. Cadasil and migraine: a narrative review. *Cephalalgia*. 2010; 30: 1284—9.
 24. *Low W.C., Junna M., Borjesson-Hanson A* et al. Hereditary multi-infarct dementia of the Swedish type is a novel disorder different from NOTCH3 causing CADASIL. *Brain*. 2007; 130: 357—62.
 25. *Maeda S, Nakayama H, Isaka K* et al. Familial unusual encephalopathy of Binswanger's type without hypertension. *Folia Psychiatr. Neurol. Jpn*. 1976; 30: 165—77.
 26. *Markus H.S., Martin R.J., Simpson M.A* et al. Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology*. 2002; 59: 1134—8.
 27. *Mayer M., Straube A., Bruening R* et al. Muscle and skin biopsies are a sensitive diagnostic tool in the diagnosis of CADASIL. *J. Neurol*. 1999; 246: 526—32.
 28. *McDonald W., Compston A., Edan G* et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the International panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol*. 2010; 50: 121—7.
 29. *O'Sullivan M., Jarosz J.M., Martin R.J* et al. MRI hyperintensities in of the temporal lobe and external capsule in patients with CADASIL. *Neurology*. 2001; 56: 628—34.
 30. *Peters N., Herzog J., Opherk C., Dichgans M*. A two-year clinical follow-up study in 80 CADASIL subjects. Progression patterns and implications for clinical trials. *Stroke*. 2004; 35: 1603—8.
 31. *Peters N., Holtmannspotter M., Opherk C* et al. Brain volume changes in CADASIL: a serial MRI study in pure subcortical ischemic vascular disease. *Neurology*. 2006; 66: 1517—22.
 32. *Ragno M., Berbellini A., Cacchio G* et al. Parkinsonism is a late, not rare, feature of CADASIL. A study of Italian patients carrying the R1006C mutation. *Stroke*. 2013; 44: 1147—9.
 33. *Razvi S.S., Davidson R., Bone I., Muir K.W*. The prevalence of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in the west of Scotland. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2005; 76: 739—41.
 34. *Razvi S.S., Davidson R., Bone I., Muir K.W*. Is inadequate family history a barrier to diagnosis in CADASIL? *Acta Neurol. Scand*. 2005; 112: 323—6.
 35. *Ruchoux M.M., Chabriat H., Bousser M.G* et al. Presence of ultrastructural arterial lesions in muscle and skin vessels of patients with CADASIL. *Stroke*. 1994; 25: 2291—2.
 36. *Ruchoux M.M., Maurage C.A*. CADASIL: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* — 1997; 56: 947—64.
 37. *Schmidt H., Zeginigg M., Wiltgen M* et al. Genetic variants of the NOTCH3 gene in the elderly and magnetic resonance imaging correlates of age-related cerebral small vessel disease. *Brain*. 2011; 134: 3384—97.
 38. *Singhal S., Bevan S., Barrick T* et al. The influence of genetic and cardiovascular risk factors on the CADASIL phenotype. *Brain*. 2004; 127: 2031—8.
 39. *Singhal S., Rich P., Markus H.S*. The spatial distribution of MR imaging abnormalities in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy and their relationship to age and clinical features. *Am. J. Neuroradiol*. 2005; 26: 2481—7.
 40. *Sonninen V., Savontaus M.L*. Hereditary multi-infarct dementia. *Eur. Neurol*. 1987; 27: 209—15.
 41. *Stevens D.L., Hewlett R.H., Brownell B*. Chronic familial vascular encephalopathy. *Lancet*. 1977; 2: 1364—5.
 42. *Tikka S., Mykkanen K., Ruchoux M.M* et al. Congruence between NOTCH3 mutations and GOM in 131 CADASIL patients. *Brain*. 2009; 132: 933—9.
 43. *Tournier-Lasserre E., Iba-Zizen M.-T., Romero N., Bousser M.-G*. Autosomal dominant syndrome with strokelike episodes and leukoencephalopathy. *Stroke*. 1991; 22: 1297—302.
 44. *Tuszynski M.H., Petitto C.K., Levy D.E*. Risk factors and clinical manifestations of pathologically verified lacunar infarctions. *Stroke*. 1989; 20: 990—9.
 45. *van Bogaert L*. Encephalopathie sous-corticale progressive (Binswanger) à évolution rapide chez deux soeurs. *Med. Hellen*. 1955; 24: 961—72.
 46. *van den Boom R., Lesnik Oberstein S.A.J., Ferrari M.D* et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: MR imaging findings at different ages — 3rd—6th decades. *Radiology*. 2003; 229: 683—90.
 47. *Verreault S., Joutel A., Riant F* et al. A novel hereditary small vessel disease of the brain. *Ann. Neurol*. 2006; 59: 353—7.
 48. *Viswanathan A., Gschwendtner A., Guichard J.-P* et al. Lacunar lesions are independently associated with disability and cognitive impairment in CADASIL. *Neurology*. 2007; 69: 172—9.
 49. *Wang T., Baron M., Trump D*. An overview of Notch3 function in vascular smooth muscle cells. *Progr. Biophys. Mol. Biol*. 2008; 96: 499—509.