ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НЕРВНО-МЫШЕЧНЫЕ БОЛЕЗНИ. ЧАСТЬ 3. МЫШЕЧНЫЕ ДИСТРОФИИ: ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Казаков В.М.^{1,2}, Скоромец А.А.¹, Руденко Д.И.^{1,2}, Стучевская Т.Р.^{1,2}, Колынин В.О.^{1,2}

¹Кафедра неврологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

²Отделение нервно-мышечных болезней ГМПБ 2, Санкт-Петербург, Россия

Обсуждается мембранная теория слабости мышц при наследственных мышечных дистрофиях вследствие повреждения сарколеммы и мембран других органелл скелетной мышцы, роль КТ, МРТ и фосфорной МРТ-спектроскопии в диагностике мышечных дистрофий, а также использование неинвазивного способа пренатальной диагностики путем молекулярно-генетического анализа ДНК плода, полученной из крови беременной женщины. Описаны различные пробные способы лечения мышечных дистрофий.

Ключевые слова: патогенез прогрессирующих мышечных дистрофий; мембранная теория поражения мышц; роль КТ, МРТ и фосфорной МРТ-спектроскопии в диагностике мышечных дистрофий; пренатальная диагностика и методы лечения.

Для цитирования: Казаков В.М., Скоромец А.А., Руденко Д.И., Стучевская Т.Р., Колынин В.О. Наследственные нервно-мышечные болезни. Часть 3. Мышечные дистрофии: патогенез, диагностика и лечение. *Российский неврологический журнал*. 2020;25(2):5–11 (Russian). DOI 10.30629/2658-7947-2020-25-2-5-11.

Для корреспонденции: Казаков В. М. — e-mail: valerykazakov@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Информация об авторах

Казаков В.М., e-mail: valerykazakov@mail.ru

Скоромец А.А., e-mail: askoromets@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5884-3110>

Руденко Д.И., e-mail: dmrd_H2@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0561-4194>

Стучевская Т.Р., e-mail: timamd@gmail.ru

Колынин В.О., e-mail: vkolynin@mail.ru

HEREDITARY NEUROMUSCULAR DISEASES. PART 3. MUSCULAR DYSTROPHIES: PATHOGENESIS, DIAGNOSIS AND ATTEMPTS OF TRIAL TREATMENTS

Kazakov V.M.^{1,2}, Skoromets A.A.¹, Rudenko D.I.^{1,2}, Stuchevskaya T.R.^{1,2}, Kolynin V.O.^{1,2}

¹Department of Neurology First Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia

²State Medical University, Russia Department of Neuromuscular Diseases, City Hospital 2, St. Petersburg, Russia

Membrane theory of muscle weakness in hereditary muscular dystrophy was described with accent of predominated Ca²⁺ ions in skeletal muscle due to destruction of the sarcolemma and other membranes of the different organelles of the skeletal muscle. Showed the role of CT, MRI and phosphorus NMR-spectroscopy as well as the noninvasive the analysis cell-free fetus DNA in maternal plasma for prenatal diagnostic of muscular dystrophies. The different a trial attempts of treatment of muscular dystrophy was described.

Key words: membranes theory of the muscle affection; the role of CT, MRI and phosphorus NMR-spectroscopy in diagnosis of muscular dystrophy; noninvasive prenatal diagnosis and the different principles of muscular dystrophy treatment.

For citation: Kazakov V.M., Skoromets A.A., Rudenko D.I., Stuchevskaya T.R., Kolynin V.O. Hereditary Neuromuscular Diseases. Part 3. Muscular Dystrophies: Pathogenesis, Diagnosis and Attempts of Trial Treatments. *Russian Neurological Journal (Rossijskij Nevrologicheskij Zhurnal)*. 2020;25(2):5–11 (Russian). DOI 10.30629/2658-7947-2020-25-2-5-11.

For correspondence: Kazakov V.M. — e-mail: valerykazakov@mail.ru

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Acknowledgements. The study had no sponsorship.

Information about authors

Kazakov V.M., e-mail: valerykazakov@mail.ru

Skoromets A.A., e-mail: askoromets@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5884-3110>

Rudenko D.I., e-mail: dmrd_H2@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0561-4194>

Stuchevskaya T.R., e-mail: timamd@gmail.ru

Kolynin V.O., e-mail: vkolynin@mail.ru

Патогенез прогрессирующих мышечных дистрофий (ПМД)

Мембранная теория. Наиболее популярной является гипотеза генерализованного дефекта мембран мышц. Предполагается, что нарушение синтеза дистрофина и дистрофин-связанных белков приводит к повышенной проницаемости сарколеммальной мембраны и нарушению функционирования вольтаж-зависимых ионных кальциевых каналов сарколеммы. Это приводит к избыточному поступлению ионов кальция внутрь клетки, который путем активации протеаз и пептидаз оказывает прямое некротизирующее действие на миофибриллы, а также является мощным стимулятором апоптоза. Эта гипотеза объясняет факт снижения активности саркоплазматических ферментов в мышечной ткани у больных ПМД и увеличение их концентрации в сыворотке крови.

Увеличение концентрации ионов кальция в саркоплазме ведет также к активации мембранных фосфолипаз, повреждающих липидный биослой мембран. Это обуславливает нарушение липидно-белковых взаимодействий мембран различных органелл мышечной клетки (митохондрии, лизосомы, пероксисом), в том числе мембран саркоплазматического ретикулума и сарколеммы. Вследствие структурных дефектов митохондриальных мембран в миофибриллах снижается дезаминирующая активность фермента моноаминоксидазы, что способствует накоплению катехоламинов, оказывающих токсическое действие на мышечные волокна и сосуды.

Повреждение мембран митохондрий ведет к перегрузке митохондрий кальцием, что приводит к неустойчивости реакций окислительного фосфорилирования и нарушению образования АТФ. Повреждение мембран лизосом способствует проникновению лизосомальных ферментов (протеаз, пептидаз, РНКаз) в саркоплазму и усилению катаболических процессов. Избыток кальция в пероксисомах нарушает образование энергии за счет окисления жирных кислот с очень длинной цепью. Он также усиливает перекисное окисление образовавшихся жирных кислот в клеточных мембранах. Это приводит к накоплению свободных радикалов, которые также повреждают липидный слой плазматических мембран и мембран органелл в мышечной клетке.

Таким образом, аккумуляция кальция и индуцированные им биохимические реакции приводят к деструкции мышечных волокон и увеличению соединительной и жировой ткани в мышцах, нарушению механизмов сокращения и расслабления мышечных волокон.

Диагностика прогрессирующих мышечных дистрофий (ПМД). Почти при всех типах МД при использовании дополнительных методов исследования (электрофизиологические, гистологические, гистохимические биохимические, электронномикроскопические, ультразвуковые, компьютерная и магнитно-резонансная томография) обнаруживаются неспецифические изменения, и все перечисленные методы не позволяют поставить точный диагноз

типа дистрофии. Однако все эти методы позволяют подтвердить наличие миогенного процесса, то есть миодистрофию, и отличить ее от неврогенных атрофий (нейронопатий и невропатий) и врожденных миопатий с характерными гистологическими изменениями мышечных волокон, а также митохондриальных и метаболических миопатий.

Точный диагноз типа МД устанавливается на основании молекулярно-генетических исследований (ПЦР и анализ конформационного полиморфизма одонитевой ДНК для обнаружения мутации в гене), иммуноблоттинга и иммуногистохимии (с использованием меченых антител к специфическим белкам — продуктам генов), а также фосфорной МР-спектроскопии [1].

Рентгеновская компьютерная томография (КТ). Нормальная мышца имеет гомогенный вид и представлена **нормоденсивной** зоной плотностью от 50 до 70 единиц по Хаунсфилду. Гиперденсивная зона представлена костью (белый цвет), гиподенсивная зона — жировой клетчаткой, соединительной тканью и водой (темный цвет). В месте развития жировой и соединительнотканной дегенерации снижается плотность мышечной паренхимы от –8 до –112 единиц (по Хаунсфилду). Гипертрофированная мышца представлена гиперденсивной зоной (белый цвет), а псевдогипертрофированная мышца — гомогенной гиподенсивной зоной (темный цвет). При миопатии раньше снижается плотность мышцы вследствие замещения мышцы жировой и соединительной тканью и позднее уменьшается размер мышцы из-за ее атрофии. При невропатии раньше появляется уменьшение размера мышцы вследствие атрофии и позднее снижается плотность мышцы вследствие замещения жировой тканью. КТ позволяет отличить миопатию от денервационной атрофии и полимиозита. При полимиозите на КТ выявляются гипотенсивные участки — признаки инфильтрации, нахождения жидкости (воды) в этих участках мышцы.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) мышц. Получение изображения основано на определении плотности ядер протонов (водорода) в различных структурах мышцы и времени их релаксации. Структуры с малой плотностью ядер протонов (мышца, кости) дают сигналы слабой интенсивности (они имеют темный цвет). Жир, вода и соединительная ткань, наоборот, дают сигнал сильной интенсивности (они имеют белый цвет). МРТ, как и КТ, позволяет установить размер мышцы, выявить жировое перерождение мышцы и формулу мышечных поражений [2–4].

Таким образом, УЗИ, КТ и МРТ позволяют определить морфологические изменения в мышце.

Фосфорная МР-спектроскопия. Этот метод позволяет изучить энергетический метаболизм мышцы, оценить состояние всех путей образования энергии (АТФ) в скелетной мышце за счет окисления углеводов (окислительное фосфорилирование) и жиров в митохондриях, креатинфосфата, анаэробного гликолиза и гликогенолиза. С помощью

МР-спектроскопии непосредственно определяют РН клетки, концентрацию фосфокреатина, АТФ, неорганического фосфата и лактата. Косвенным путем, через подсчет различных соотношений и коэффициентов, используя «перекрестные теоремы», можно оценить активность энзимов, участвующих в окислительном фосфорилировании, расщеплении гликогена, жировом обмене. Метод безопасен, безболезнен, и результаты повторных исследований позволяют проследить влияние различных препаратов на энергетический метаболизм мышцы, то есть оценить эффективность проводимого лечения. В ряде случаев МР-спектроскопия позволяет выявить первичный биохимический дефект, дефицит определенного энзима, поэтому метод можно использовать для диагностирования различных видов гликогенозов и митохондриальных миопатий [1].

Пренатальная диагностика. До недавнего времени широко использовался трансабдоминальный амниоцентез, который выполнялся на 8–9-й нед. беременности для генетического анализа клеток амниотической жидкости или ворсинок хориона [5]. Однако в настоящее время для пренатальной диагностики мышечных дистрофий и других наследственных заболеваний используется неинвазивный способ диагностики путем молекулярно-генетического анализа ДНК плода, полученной из крови беременной женщины [6, 7].

Попытки пробного лечения мышечных дистрофий. Широко используются реабилитационные методы: массаж, гимнастика, плавание, растяже-

ние мышечных контрактур, ортезы, фиксирующие голеностопный, коленный и тазобедренный суставы, специальные корсеты для исправления сильного кифоза или сколиоза, хирургические операции для исправления патологической деформации стопы, кифоза и фиксации лопаток к грудной клетке, кресла на колесах с автоматическим управлением и дыхательные аппараты. По мнению большинства исследователей, перечисленные выше методы улучшают двигательную активность больных. Из медикаментозных средств применяют коэнзим Q10 по 100–150 мг в день в течение 1 года. Коэнзим Q10 является главным транспортером электронов, который переносит их от комплексов I, II, а также электронов, образующихся при окислении жирных кислот и длинноцепочечных аминокислот в цикле Кребса, на комплекс III. Другой транспортер — цитохром C — переносит электроны на комплекс IV. Однако коэнзим Q10 и цитохром C, наряду с переносом электронов по дыхательной цепи, осуществляют также перенос ионов водорода из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. В процессе обратного тока протонов внутрь матрикса митохондрий (в комплексе V) происходит утилизация освобождаемой в дыхательной цепи энергии путем фосфорилирования АДФ в АТФ и других макроэргических фосфатов и создается запас энергии биологического окисления. Митохондрии называют энергетическими станциями клетки, они поглощают 90% кислорода, поступающего в организм человека, и образуют 80–90% АТФ [8].

Рис. 1. МРТ мышц голени в T1-взвешенном изображении (ВИ) у больных с конечным фенотипом ЛЛКМД2. Жировая дегенерация (гиперинтенсивный сигнал) мышц задней группы бедер (справа) и перонеальной группы (слева), включая *mm. gastrocnemius (caput mediale)*

Fig. 1. MRI of the lower leg muscles in T1 in patients with the final phenotype of FSLMD2. Fatty degeneration (hyperintensive signal) of the muscles of the posterior thigh group (right) and the peroneal group (left), including *mm. gastrocnemius (caput mediale)*

Идебенон (Noben) — аналог убиквинона (CoQ); антиоксидант, блокирует перекисное окисление липидов и образование свободных радикалов, участвует в транспорте электронов в дыхательной цепи митохондрий [9, 10]. При болезни Дюшенна обычная доза составляет 5 мг/кг массы тела, а при тяжелых случаях болезни 400–500 мг в день в течение 1 года. Витамин Е по 400 мг × 3 раза в день до 1600 мг (1600 мг равняется 800 МЕ) в течение 6–12 мес., а также L-карнитин по 1 г 2–3 раза в день.

Верапамил — блокатор кальциевых каналов, редко используется для лечения миопатий (см. патогенез МД и роль йонов кальция в повреждении мышц). Максимальная доза верапамила — до 240 мг в день.

В последние 5 лет для лечения МД Дюшенна (МДД) применяют стероидные препараты — преднизолон или дефлазакорт. Первоначально использовали непрерывный способ лечения: доза преднизолона 0,3–0,75 мг на 1 кг массы тела с ежедневным приемом в течение 6 мес. [8]. Однако С. Angelini, Е. Peterle [11] предложили прерывистый способ лечения: преднизолон 0,75 мг/кг/день или дефлазакорт 0,9 мг/кг/день. Назначается препарат каждые 10 дней в месяц в течение 6–12 мес. По мнению авторов, эффект лечения тот же, но осложнений значительно меньше. Дефлазакорт дает меньше осложнений, чем преднизолон, в плане задержки жидкости, гипертензии и прибавки массы тела.

Ряд авторов [12] использовали для лечения бетасаркогликанопатий сочетание дефлазакарта в дозе 0,9 мг/кг/день в течение 30 мес. и пентоксифиллина, который добавили через 4 мес. после начала лечения дефлазакартом. Несмотря на наличие у больных тяжелого поражения мышц преимущественно тазово-бедренной области отмечалось замедление прогрессирования болезни. Авторы объясняли положительный эффект действием пентоксифиллина. Пентоксифиллин является блокатором фосфодиэстеразы. По данным рандомизированных исследований, он уменьшает воспаление и фиброз и увеличивает силу мышц [11, 12].

В настоящее время проводится испытание нового стероидного препарата vamorolone [13]. Это новый стероидный противовоспалительный препарат, аналог преднизолона, сохраняющий целостность костной ткани, не вызывающий остеопороз и гипергликемию (5 мг на 1 кг массы тела в день; максимальная доза 6 мг/кг/день).

При МД Дюшенна, как вероятно и при других МД, изменяется гуморальный и клеточный иммунитет. В мышце оказывается много некротизированных мышечных волокон, и в ответ появляются моноклональные антитела, представленные цитотоксическими Т-клетками. Отмечается повышенная чувствительность дистрофической мышцы к повреждающему действию Т-клеток. Для предотвращения такой иммунной атаки и используются стероиды.

Однако стероиды обладают не только противовоспалительной и иммуносупрессивной активностью

(другие иммуносупрессивные препараты (азатиоприн, циклофосфамид) обычно не оказывают положительного эффекта при МД Дюшенна). Имеются и другие механизмы действия стероидов, например стероиды влияют на экспрессию генов. В частности, они вызывают гиперэкспрессию гена утrophина, что приводит к увеличению синтеза утrophина в мышечной клетке. В качестве возможного механизма действия стероидных препаратов была предложена концепция стабилизации стероидами липидного биослоя плазматической мембраны.

Стероиды влияют на миогенез и обменные процессы в клетке, уменьшают концентрацию внутриклеточного кальция, стимулируют пролиферацию миоцитов и блокируют распад белков (протеолизис) [14, 15]. Однако они не предотвращают развитие фиброза мышц и контрактуры. Таким образом, маловероятно, что только иммуносупрессивное действие стероидов является важным фактором в лечении МД.

Существует опыт лечения циклоспорином, который применяли при МД Дюшенна в дозе 5 мг на 1 кг массы тела ежедневно в течение 2 мес. Полагают, что циклоспорин уменьшает количество цитотоксических лимфоцитов, а также может вырабатывать интерлейкины, различные противовоспалительные цитокины и гамма-интерферон к Т-лимфоцитам.

Ряд авторов рекомендуют использовать циклоспорин А при миопатии Бетлема и синдроме Ульриха в дозе 4 мг/кг массы тела ежедневно 2 мес. [16, 17]. Было обнаружено, что этот препарат блокирует кальциневрин, который нарушает обмен утrophина, и ингибирует повышенную проницаемость митохондриальных пор, что обеспечивает сохранность экстрацеллюлярных белков, таких как коллаген 6-го типа, ламинин и коллаген 1-го типа. Эти процессы уменьшают дегенерацию мышечных волокон и улучшают процессы регенерации.

Гентамицин вызывает реэкспрессию гена дистрофина в мышечных волокнах у больных МДД с нонсенс-точковыми мутациями (преждевременный стоп-кодон). Препарат частично восстанавливает считывание информации с поврежденного кодона и в какой-то степени восстанавливает синтез дистрофина. Это подтверждается методами иммуногистохимии и вестерн-блоттингом. Первый курс занимает 6 дней: гентамицин в дозе 6 мг на 1 кг массы тела разводится в 500,0 мл физраствора, вводится в течение 2 ч. Второй курс проводится через 4 нед. и занимает также 6 дней. Доза гентамицина — 7,5 мг на 1 кг массы тела в 500 мл физраствора, введение в течение 2 ч [18].

При лице-лопаточно-плечевой МД (ЛЛПМД) проводили клинические испытания альбутерола (сальбутамола) — симпатомиметика, агониста бета-2-адренорецепторов, по 8 мг 2 раза в день (16 мг) или 4 раза в день (32 мг) в течение года. Нарастания силы мышц не было, несколько увеличилась масса мышц. Побочные действия: возможны тахикардия, ишемия миокарда, аритмия, кардиопатия. Альбутерол является бронходилататором и используется при

бронхиальной астме [19]. В 2007 г. начали испытывать новый агонист бета 2-адренорецепторов — формотерол [20]. Его исследовали у 65 больных ЛЛПМД в течение 26 нед. Назначали формотерол в микродозах в течение 4 недель. Обнаружили гипертрофию мышц и улучшение их функции.

Описаны единичные попытки лечения больных МД трофическими факторами — рекомбинантным гормоном роста человека (0,1 мг на 1 кг массы тела) и рекомбинантным инсулиноподобным фактором (15 мкг на 1 кг массы тела). Отмечался положительный эффект на белковый обмен в мышце. Инсулиноподобный фактор роста стимулирует регенерацию мышцы путем активации генов, участвующих в миогенезе. Введение инсулиноподобного фактора роста проводили с помощью аденовирусов [21].

В 2005 г. [22] на специальной сессии обсуждался вопрос о новых способах лечения МД Дюшенна. Предложены дальнейшие эксперименты на лабораторных мышцах.

Торможение активности протеаз, разрушающих белки мышцы. Фермент кальпаин, относящийся к протеазам, содержится в мышечной клетке в неактивном состоянии. Когда происходит повреждение мышечной мембраны вследствие отсутствия дистрофина, в клетку устремляются ионы кальция, которые активируют кальпаин, и это приводит к деградации мышечных волокон. Препарат леупептин ингибирует кальпаин и предотвращает массивное повреждение мышц. Исследование на мышцах дало положительный эффект. Другой ингибитор кальпаина — BBIC (Bowman-Birk inhibitor concentrate). В эксперименте на лабораторных мышцах показано уменьшение распада мышечных волокон.

Торможение активности миостатина с помощью моноклональных антител. Активный миостатин (трансформирующий фактор роста) через ряд химических реакций внутри клетки ингибирует биосинтез новых мышечных белков. В эксперименте на лабораторных мышцах после введения человеческих антител (MYO-029) к миостатину в течение 3 мес. отмечали увеличение мышечной массы и силы [21, 22]. В начале 2005 г. начато клиническое испытание действия антител к миостатину на больных МД Беккера, лице-лопаточно-плечевой и конечностно-поясной формами. Оценка результатов проведена в конце 2008 г. Больные и врачи отмечали нарастание двигательной активности, увеличение массы и силы мышц. Однако получение человеческих антител (MYO-29) для лечения МД — очень дорогой метод.

Обнаружены белки, которые не содержат антител, подавляющие миостатин другим путем, — фоллистатин и родственные фоллистатину белки (активин или белок рецептора 2В активина (ACVR2B)). Введение фоллистатина, который блокирует рецепторы миостатина, дистрофическим мышцам приводило к увеличению массы и силы мышц. Предложено также в эксперименте на лабораторных мышцах введение гена фоллистатина в мышцу или артерию с помощью аденоассоциированного вирусного век-

тора. Отмечали у лабораторных мышечей увеличение массы и силы мышц, а также уменьшение клеточной инфильтрации в мышце [23, 24].

Перспективы генной терапии МД в будущем. Заместительная генная терапия — это перспективный способ лечения МД Дюшенна. Первоначально ожидали, что клеточно-опосредованный перенос нормального аллеля гена дистрофина путем введения в мышцу миобластов будет весьма полезным. Но после нескольких испытаний этого метода на мышцах мальчиков с МД Дюшенна оказалось, что миобласты не способны передвигаться внутри мышцы, не способны дифференцироваться в миотубулы и остаются клетками-сателлитами, а главное, миобласты не способны передавать ген дистрофина (то есть ДНК) в клетку хозяина. Таким образом, миобласт-терапия оказалась неэффективной.

На мышцах моделей животных (миодистрофические крысы и собаки — золотые ретриверы) проводится экспериментальное лечение «чистыми» генами (полноразмерная кДНК гена дистрофина, равная 12 кб), которые прямо инъецируют в мышцу, или «мини-генами» (кодирующая часть гена дистрофина, равная 6,3 кб), которыми снабжаются аденовирусный или ретровирусный векторы, а затем вводятся в мышцу. При введении ДНК (плюс аденовирусный вектор) в мышечные волокна 50% мышечных волокон превращаются в дистрофин-положительные. Однако аденовирус-опосредованный перенос гена дистрофина не приводил к «смягчению» фенотипа МД у лабораторных мышечей. С появлением улучшенного аденовирусного вектора, в котором все вирусные гены были удалены, в мышечные волокна может быть доставлена полноразмерная кДНК гена дистрофина (12 кб). Этот вектор, вызывающий незначительную иммунологическую реакцию в организме хозяина, может генерировать в течение длительного периода полноразмерный дистрофин, что предотвращает некроз мышечных волокон.

Эффективным в эксперименте оказался способ доставки ДНК в липосомах, снабженных вирусным вектором. При попадании липосом в мышечную клетку они разрушаются липазами, и ДНК начинает синтезировать дистрофин в клетке хозяина.

Рассматривается вопрос о возможной терапии МД стволовыми клетками. Можно использовать стволовые (гемопозитические) клетки костного мозга взрослых, которые могут трансформироваться в миогенные клетки. Однако лучше использовать эмбриональные стволовые мезенхимальные клетки или мезоангиобласты, расположенные в эндотелии аорты эмбриона. Эти клетки, взятые от нормальных мышечей, инъецированные в мышцу дистрофических мышечей, приводили к регенерации мышечных волокон, образованию дистрофина и восстановлению силы мышц [25]. Высказывается мнение, что миогенные стволовые клетки могут подавлять активность миостатина [23]. В 2004–2005 гг. вновь начато пробное лечение гомологичными миобластами [26, 27], а позднее — мезоангиобластами [28], выращенными из сохранных биопсированных мышц больных

ЛЛПМД и окулофарингеальной миопатией. Авторы показали [28], что мезоангиобласты ЛЛПМД из незатронутых мышц могут быть использованы для остановки мышечной дегенерации в сильно пораженных мышцах, и предполагают, что фармакологические и молекулярные вмешательства, направленные на улучшение самонаведения и приживления трансплантированных аутологичных мезоангиобластов, могут открыть путь к клеточной терапии для пациентов без необходимости иммуносупрессии или генетической коррекции *in vitro*.

Новейший способ лечения МД Дюшенна [29–32]. С целью восстановления экспрессии гена дистрофина начали использовать вставку нового экзона (или замену экзона, в котором произошла мутация). Если в экзоне произошла точечная мутация, то он перестает нормально функционировать. Например, аминокислота метионин кодируется триплетом или кодоном АТГ. Вследствие мутации в кодоне может измениться последовательность оснований, например вместо АТГ возникнет триплет ТГА, который будет кодировать другую аминокислоту или вообще ничего не будет кодировать (стоп-кодон). Это приведет к тому, что синтез белка (дистрофина) остановится, то есть нарушится рамка считывания информации.

Восстановить рамку считывания информации можно путем замены экзона, который перестал нормально функционировать. Создается нормальный искусственный экзон, обеспечивающий синтез той же аминокислоты. Это антисмысловой (антисенс) олигорибонуклеотид, получивший в США название морфолино. Следующая задача — переместить такой олигонуклеотид в матричную РНК мышечной клетки. Таким переносчиком является U7-ген, кодирующий маленькую нуклеарную РНК. Для переноса этого комплекса (морфолино + U7-ген) в мышечную клетку используется аденовирусный вектор. Комплекс (морфолино, U7-ген и аденовирус) вводили сначала в мышцы, а затем в кровяное русло мышей, крыс, собак и обезьян с мышечной дистрофией Дюшенна. На собаках с точечной мутацией в экзоне 7 проводили замену экзонов 6, 7 и 8 с помощью этого метода. Через несколько месяцев начинал синтезироваться нормальный дистрофин, но с более короткой цепью аминокислот, который выявлялся в 80% мышечных волокон, и улучшалась функция мышц. Вирусный ген не включался в геном собаки и обезьяны. Не отмечали аллергических реакций.

Клинические испытания проводили на женщинах, носителях мутантного гена (Дюшенна), а также на больных МД Дюшенна мальчиках. У 13% больных миодистрофией Дюшенна выполнили замену 51-го экзона. Исследователи из всех стран полагают, что восстановление рамки считывания дисферлина улучшает силу мышц и двигательную активность больного МД Дюшенна и делает его сравнимым по этим показателям с больным МД Беккера. Проводятся также клинические испытания на больных с заменой экзонов 44, 55 и 51 [30–32].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Duboc D., Jehenson P., Tran Dinh S., et al. Phosphorus NMR spectroscopy study of muscular enzyme deficiency involving glycogenosis and glycolysis. *Neurology*. 1987;37:663–671.
2. Казаков В.М., Руденко Д.И., Скоромец А.А. Лице-лопаточно-плечевая мышечная дистрофия и ее связь с лице-лопаточно-перонеальной мышечной дистрофией. История, клиника, генетика и дифференциальный диагноз. СПб: Политехника. 2008;374. [Kazakov V.M., Rudenko D.I., Skoromets A.A. Facio-scapulo-humeral muscular dystrophy and her connection with facio-scapulo-peroneal muscular dystrophy. History, clinical, genetics and differential diagnosis. Sinct-Petersburg: Polytechnica. 2008;374. (In Russian)].
3. Kazakov V., Kolynin V., Rudenko D., Pozdnyakov A. MRI of lower limb muscles in patients with 4q35-linked FSLD2. Oxford Symposium on Muscle Disease. Oxford, UK. 2007;5.
4. Колынин В.О. Магнитно-резонансная томография (МРТ) скелетных мышц у больных с аутосомно-доминантной сцепленной с хромосомой 4q35 лице-лопаточно-перонеальной мышечной дистрофией. Дисс. канд. мед. наук СПбГМУ им. И.П. Павлова СПб. 2007;174. [Kolynin V.O. Magnit-resonance tomographic (MRT) of skeletal muscles in patients with autosomal dominant facio-scapulo-humeral muscular dystrophy linked with chromosome 4q35. Thesis, SPb. 2007;174. (In Russian)].
5. Bakker E., van Ommen G.J.B. Duchenne and Becker muscular dystrophy (DMD and BMD) In: Neuromuscular Disorders: Clinical and molecular genetics. (Ed. A.E.H. Emery), Chichester: Wiley. 1998;59–85.
6. Upadhyaya M., MacDonald M., Ravine D. Noninvasive prenatal diagnosis for facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Prenat. Diagn.* 1999;19(10):959–965.
7. Imran Rafi, Lyn Chitty. Noninvasive the analysis cell-free fetus DNA in maternal plasma and non-invasive prenatal diagnosis. *Br. J. Gen. Pract.* 2009;59 (562):146–148.
8. Sacconi S., Trevisson E., Salvati L. et al. Coenzyme Q10 is frequently reduced in muscle in patients with mitochondrial myopathy. *Neuromuscul. Disord.* 2010;20(1):44–48.
9. Buyse G.M., Goemans M., van den Nauwe et al. Idebenon as a novel therapeutic approach for Duchenne muscular dystrophy. Results from a 12 months, double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Neuromuscul. Disord.* 2011;21 (6):396–405.
10. Griggs R.C., Herr B.E., Eagle M. et al. Equipoise concerning corticosteroid use in boys with Duchenne muscular dystrophy: persistent wide variation in practice. (Abstract). *Neuromuscul. Disord.* 2008;18(9–10):824.
11. Angelini C., Peterle E. Old and new therapeutic developments in steroid treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol.* 2012;31:9–20.
12. Wong-Kissel L.C., Kuntz N.L. Two siblings with limb-girdle dystrophy type 2E responsive to deflazacort. *Neuromuscul. Disord.* 2010;20(2):122–124.
13. Hoffman E.P., Riddlec V., Maxime A. et al. Phase 1 trial of vamorolone, a first-in-class steroid, shows improvements in side effects via biomarkers bridged to clinical outcomes. *Steroid.* 2018;134:43–52.
14. Munzur A.Y. Glucocorticoid corticosteroid for Duchenne muscular dystrophy. *Cochrane Detabase Syst. Rev.* 2008;23(1):3725.
15. Suri, Valdia. Glucocorticoid regulation of brain-derived neurotrophic factor: Relevance to hippocampal structural and functional plasticity. *Neuroscience.* 2013;239:196–213.
16. Merlini L., Angellini A., Tiepolo T. et al. Cyclosporine A corrects mitochondrial dysfunction and muscle apoptosis in patients with collagen VI myopathies. *Proc. Nat. Sci.* 2008;105;(9–10):5225–5229.

17. Merlini L., Bernardi P. Therapy of collagen VI-related myopathy (Bethlem and Ulrich). *Neurotherapeutics*. 2008;5:613–618.
18. Politano L., Nigro G., Nigro V. et al. Gentamicin administration in Duchenne patients with premature stop codon. Preliminary results. *Acta Myol*. 2003;XXII(1):11–14.
19. van der Kooi E.L., Vogels O.J., van Asseldonk R.J. et al. Strength training and albuterol in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology*. 2004;24:702–708.
20. Harcourt L.J., Schertzer J.D., Ryall J.G., Lynch G.S. Lower dose formoterol administration improves muscle function in dystrophic mdx mice without increasing fatigue. *Neuromuscul Disord*. 2007;17:47–55.
21. Patel K., Macharia R., Amthor H. Molecular mechanisms involving IGF-1 and myostatin to induce muscle hypertrophy as a therapeutic strategy for Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*. 2005;XXIV(3):230–241.
22. Scheuerbrandt G. Fourth round table conference in Monaco on 15 January 2005: Regulation of muscle growth, a therapeutic issue for Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*. 2005;XXIV(1):25–35.
23. Tsuchida K. Myostatin inhibition by a follistatin-derived peptide ameliorates the pathophysiology of MD model mice. *Acta Myol*. 2008;XXVII:14–18.
24. Ohsawa Y., Okada T., Kuga A. et al. Caveolin-3 regulates myostatin signaling — Mini-review. *Acta Myol*. 2008;XXVII:19–24.
25. Morgan J.E. Stem cells to treat muscular dystrophies. *Acta Myol*. 2005;XXIV(3):181–183.
26. Mouli V., Aamiri A., Perie S et al. Myoblast transfer therapy. Is there any light at the end of the tunnel? *Acta Myol*. 2005;XXIV(2):128–133.
27. Vilqin J.T. Myoblast transplantation: clinical trials and perspectives. Mini-review. *Acta Myol*. 2005;XXIV(2):119–127.
28. Morosetti R., Girardo T., Broccoloni A. et al. Mesoangioblasts from FSHMD display in vivo a variable myogenic ability predictable by their in vitro behavior. *Cell Transplant*. 2010;20(8):1299–313.
29. Bertonni C. Oligonucleotide-mediated gene editing for neuromuscular disorders. *Acta Myol*. 2005;XXIV:194–201.
30. Scheuerbrandt G. Exon Skipping with U7 gene transfer. *Acta Myol*. 2006;XXV:40–42.
31. Yokoto T., Duddy W., Partridge T. Optimizing exon skipping therapies for DMD. *Acta Myol*. 2007;XXVI(3):179–84.
32. Muntoni F. The development of antisense oligonucleotide therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord*. 2010;20(5):355–362.

Поступила 26.06.19
Принята к печати 08.09.19