

© Коллектив авторов

АУТОСОМНО-ДОМИНАНТНАЯ ДОФА-ЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ ДИСТОНΙΑ, ВЫЗВАННАЯ МУТАЦИЯМИ ГЕНА GTP-ЦИКЛОГИДРОЛАЗЫ I

Т. НАГАТСУ, Х. ИЧИНОСЕ

Институт Медицинской Науки, Айчи, Япония

(Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University Toyoake, Aichi 407-1192, Japan), Факс +81-562-93-8831, Эл. почта: tnagatsu@fujita-hu.ac.jp

Развитие аутосомно-доминантной ДОФА-чувствительной дистонии обусловлено мутациями гена GTP-циклогидролазы I - первого и скорость лимитирующего фермента биосинтеза тетрагидробиоптерина. Недостаток последнего приводит к снижению активности тирозингидроксилазы и дефициту дофамина в нигростриатных дофаминергических нейронах. Однако прием небольших доз дофамина позволяет контролировать течение болезни. Удобным методом диагностики этого заболевания является определение активности GTP-циклогидролазы в мононуклеарных клетках крови.

Ключевые слова: аутосомно-доминантная ДОФА-чувствительная дистония, тетрагидробиоптерин, GTP-циклогидролаза I, ген, мутации, недостаточность дофамина, аутосомно-рецессивная недостаточность GTP-циклогидролазы

Биосинтез дофамина и дистония.

Дистония и болезнь Паркинсона - двигательные расстройства, развитие которых сопровождается дефицитом дофамина в нигростриатных дофаминергических нейронах. С разной степенью эффективности они поддаются терапии L-ДОФА. Дофамин образуется из L-тирозина в цепи реакций: L-тирозин → L-ДОФА → дофамин. В этом процессе участвуют два фермента: тирозингидроксилаза (tyrosine hydroxylase, TH) и декарбоксилаза ароматических аминокислот. Кофактором первого служит тетрагидробиоптерин (BH₄). Он синтезируется в содержащих тирозингидроксилазу дофаминергических нейронах из GTP: GTP → 7,8 дигидронеоптеринтрифосфат → 6-пирувоилтетрагидробиоптерин → BH₄. В биосинтезе BH₄ из GTP участвуют три фермента: GTP-циклогидролаза I (GTP-cyclohydrolase, GCH), пирувоилтетрагидроптеринсинтаза и сепиаптеринредуктаза. Первый фермент - GCH - является скоростью-лимитирующим. Снижение его активности приводит к снижению содержания BH₄, понижению активности TH и в конечном итоге дефициту дофамина.

Аутосомно-доминантная ДОФА-чувствительная дистония.

Термином «дистония» обозначается группа двигательных расстройств неизвестной этиологии. Первичные дистонии подразделены на ряд генетических и клинических подтипов.

Аутосомно-доминантную ДОФА-чувствительную дистонию (autosomal dominant DOPA-responsive dystonia, AD-DRD), называемую также болезнью Сегавы, впервые

описали Segawa е.а. в 1972 г [1], как наследственную прогрессирующую дистонию (hereditary progressive dystonia, HPD) с выраженной дневной флуктуацией симптомов. AD-DRD/HPD - новый тип дистоний, отличный от других дистоний и болезни Паркинсона. Клиническое начало заболевания проявляется в течение первых десяти лет жизни. Его первым симптомом является дистоническое положение стопы, которое в течение нескольких лет распространяется и на другие конечности. Эти симптому характеризуются выраженной флуктуацией, превалируя в вечернее время и уменьшаясь в утренние часы после сна. Клиническое течение болезни прогрессирует в первые двадцать лет, убывает в третьем десятилетии и стабилизируется между 3-4 десятилетиями. Низкие дозы L-ДОФА дают терапевтический эффект без неблагоприятного побочного действия. Таким образом, выраженность симптоматики можно контролировать низкими дозами L-ДОФА в течение всей жизни.

Ген GTP-циклогидролазы I - ген, вызывающий AD-DRD/HPD.

Ген AD-DRD/HPD недавно картирован на хромосоме 14q [2-3]. Мы определили хромосомную локализацию гена GCH 14q22.1 - q22.2 в пределах локуса AD-DRD/HPD [4]. Как уже отмечалось выше, GCH - первый и скорость лимитирующий фермент биосинтеза BH_4 - кофактора птеридин-зависимых ферментов, включая TH. Мы охарактеризовали структуры генов GCH мыши и человека. GCH кодируется однокопийным геном, состоящим из 6 экзонов, протяженностью около 30 т.п.н. [5]. Исследуя 6 семей с HPD, мы обнаружили 6 мутаций в гене GCH [4, 6]. В плане этих мутаций все больные были гетерозиготами.

В хромосомах японских индивидуумов, не являющихся родственниками этих больных, ни одна из мутаций не была найдена. При экспрессии мутантных генов в клетках *E.coli* активность GCH не определялась. Это свидетельствовало о том, что обнаруженные мутации не были простым полиморфизмом генов.

Для индукции фермента в мононуклеарных клетках крови [mononuclear blood cells (MBC)] больных AD-DRD/HPD мы измеряли активность GCH, стимулированную фитогемагглютинином. У всех больных с фенотипом AD-DRD/HPD активность GCH в MBC составляла 2-20% от нормальных величин. Эти результаты свидетельствуют о том, что ген GCH - ген, вызывающий AD-DRD/HPD. На 1997 год известны 26 различных мутаций в гене GCH при AD-DRD/HPD в Японии [4, 6-10], Англии [11-12], Германии [13], Испании [14] и России [15]. У некоторых больных отмечается терапевтический эффект при использовании антихолинергических лекарств [12].

В одном случае аутопсии больного с AD-DRD/HPD активность TH и уровень дофамина в putamen и окончаниях нигростриатных дофаминергических нейронов составляли всего 20% от нормальных величин [10, 16].

Мутации при AD-DRD/HPD обнаружены в экзонах 1, 2, 3, 4, 5 и 6. Это были точечные мутации, делеции и инсерции, приводящие к миссенс- и нонсенс-мутациям, а также к мутациям сдвига рамки считывания. Общих мутаций гена GCH не существует, поэтому в клинических случаях, подозрительных на AD-DRD/HPD для окончательного диагноза нужно секвенировать ген GCH. Удобным методом для диагностики AD-DRD/HPD является определение активности GCH в MBC. Кроме упоминавшихся мутаций в экзонах были найдены мутации в интронах 1 и 2, приводившие к делеции экзона 2 [7,10,17]. Мы обнаружили двух мужчин-переносчиков, имевших те же мутации, что и у больных, но в отличие от последних клинические симптомы болезни у них отсутствовали [4]. Активность GCH в MBC этих переносчиков составляла 36 и 37% от нормальных величин. Эти результаты свидетельствуют о том, что активность GCH играет определяющую роль в AD-DRD/HPD.

Если один аллель переносит мутантный ген, активность GCH в MBC больных должна была бы снизиться до 50% от уровня контроля. Однако, активность GCH в MBC больных была менее 20% от нормального уровня. Это предполагает доминантный

негативный эффект, т.е. более низкую удельную активность химерного белка, состоящего из диких и мутантных субъединиц. В случаях мутаций со сдвигом считывающей рамки образовавшиеся мутантные субъединицы не способны взаимодействовать с субъединицей дикого типа. Сниженную экспрессию GCH при AD-RDR/HPD могут обуславливать также мутации в регуляторных доменах.

У некоторых больных мы не обнаружили мутаций во всей кодирующей области, однако активность GCH в МВС составляла менее 20% нормальных величин. Эти результаты указывают на то, что существует дефект гена GCH без мутаций в кодирующей области.

Одной из главных характеристик AD-RDR/HPD является дневная флуктуация симптомов. Поскольку низкий уровень активности GCH у больных AD-RDR/HPD все-таки определяется фермент продолжает, хотя и со сниженной скоростью синтезировать ВН₄, потребности в котором в течение дня превышают реальные возможности его синтеза. Этим, видимо, и обусловлено преобладание симптомов в вечернее время.

Результаты исследования AD-RDR/HPD предполагают, что нигростриатные дофаминергические нейроны наиболее восприимчивы к дефициту ВН₄.

Аутосомно-рецессивная недостаточность GCH.

Аутосомно-рецессивную (autosomal recessive, AR-) недостаточность GCH описали Niederwieser с.а. в 1984 г. [17]. Мы обнаружили две точечных мутации, вызывающие миссенс-мутации в двух аллелях гена GCH [5, 6, 18]. Активность GCH и содержание ВН₄ не определялись. Симптоматика недостаточности AR- GCH тяжелая и сложная. Она включает прогрессивное ухудшение неврологического статуса, гиперфенилаланинемию, тяжелую гипотонию, двигательные расстройства, припадки, эпизоды лихорадки. Большое снижение активности GCH и содержания ВН₄ может привести к снижению всех ВН₄-зависимых ферментов, включая ТН (участвует в биосинтезе дофамина, норадреналина и адреналина), триптофангидроксилазу (участвует в биосинтезе серотонина и мелатонина), фенилаланингидроксилазу (участвует в метаболизме фенилаланина) и синтазу окиси азота (продуцирует NO). Таким образом, полная недостаточность ВН₄ при AR- GCH недостаточности может привести к сочетанному дефициту дофамина, норадреналина, адреналина, серотонина и NO, что и обуславливает более тяжелую симптоматику, чем в случае AD-RDR/HPD.

Болезнь Паркинсона и AD-RDR/HPD.

Болезнь Паркинсона также обусловлена дефицитом дофамина в нигростриатных дофаминергических нейронах. Основное различие между AD-RDR/HPD и болезнью Паркинсона заключается в том, что в отличие от AD-RDR/HPD развитие дефицита дофамина при болезни паркинсона сопровождается гибелью клеток. Это, по-видимому, объясняет тот факт, что AD-RDR/HPD, при которой гибели клеток не происходит, можно контролировать низкими дозами L-ДОФА, в то время как при болезни Паркинсона необходимо использовать высокие дозы L-ДОФА, что приводит к серьезным побочным эффектам.

Авторы посвящают эту работу 70-летию профессора В.З.Горкина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Segawa M., Hosaka A., Miyagawa F., Nomura Y., Imai H. (1976) Adv. Neurol., 14, 215-233.
2. Nygaard T.G., Wilhelmsen K.C., Risch N.J., Brown D.L., Trugman J.M., Gilliam T.C., Fahn S., Weeks D.E. (1993) Nature Genet. 5, 386-391.

3. Tanaka H., Endo K., Tsuji S., Nygaard T.G., Weeks D.E., Nomura Y., Segawa M. (1995) *Ann. Neurol.* **37**, 405-408.
4. Ichinose H., Ohye T., Takahashi E., Seki N., Mori T., Segawa M., Nomura Y., Endo K., Tanaka H., Tsuji S., Fujita K., Nagatsu T. (1995) *Nature Genet.* **8**, 236-242.
5. Ichinose H., Ohye T., Matsuda Y., Hori T., Blau N., Burlina A., Rouse B., Matalon R., Fujita K., Nagatsu T. (1995) *J. Biol. Chem.* **270**, 10062-10071.
6. Ichinose H., Ohye T., Segawa M., Nomura Y., Endo K., Tanaka K., Tsuji S., Fujita K., Nagatsu T. (1995) *Neurosci Lett.* **196**, 5-8.
7. Hirano M., Tamaru Y., Nagai Y., Ito H., Imai T., Ueno S. (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **213**, 645-651.
8. Hirano M., Tamaru Y., Ito H., Matumoto S., Imai T., Ueno S. (1996) *Ann. Neurol.* **40**, 796-798.
9. Hirano M., Imaiso Y., Ueno S. (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **234**, 316-319.
10. Furukawa Y., Shimadzu M., Rajput A.H., Shimizu Y., Tagawa T., Mori H., Yokochi M., Narabayashi H., Hornykiewicz O., Mizuno Y., Kish S.J. (1996) *Ann. Neurol.* **39**, 609-617.
11. Bandmann O., Nygaard T.G., Surtees R., Marsden C.D., Wood N.W., Harding A.E. (1996) *Human Mol. Genet.* **5**, 403-406.
12. Jarman P.R., Bandmann O., Marsden C.D., Wood (1997) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* **63**, 304-308.
13. Muller U., Weber Y., Martinits e.a. (1997) *Am. J. Human Genet.* **61** (Suppl.), A341.
14. Beyer K., Lao-Villadoniga J.I., Vecino-Bilbao D., Cacabelos R., De La Fuente-Fernandez R. (1997) *Lancet*, **340**, 420-421.
15. Illarionov S.N., Miklina N.I., Slonimsky P.A. e.a. (1997) *Am. J. Human Genet.* **61** (Suppl.), A335.
16. Rajput A.H., Gibb W.R.G., Zhong X.H., Shannak K.S., Kish S., Chang L.G., Hornykiewicz O. (1994) *Ann. Neurol.* **35**, 396-402.
17. Niederwieser A., Blau N., Wang M., Joller P., Atares M., Cardesa-Garcia J. (1984) *Eur. J. Pediatr.* **141**, 208-214.

AUTOSOMAL DOMINANT DOPA-RESPONSIVE DYSTONIA CAUSED BY MUTATIONS IN GTP CYCLOHYDROLASE I GENE

TOSHI NAGATSU, HIROSHI ICHINOSE

Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University Toyoake, Aichi 407-1192,
Japan), Fax +81-562-93-8831, E-mail: tnagatsu@fujita-hu.ac.jp

The development of autosomal dominant DOPA-responsive dystonia (AD-DRD) is stipulated by mutations in GTP-cyclohydrolase I gene. GTP-cyclohydrolase I is the first and key enzyme of tetrahydrobiopterin biosynthesis. Its deficiency in nigrostriatal dopaminergic neurons cause a decrease in tyrosine hydroxylase activity and therefore dopamine deficiency. However, administration of low doses of dopamine can control the development of AD-DRD. Determination of GTP-cyclohydrolase I activity in mononuclear blood cells is convenient diagnostic method.

Key words: autosomal dominant DOPA-responsive dystonia, tetrahydrobiopterin, GTP-cyclohydrolase I, gene, mutations, dopamine deficiency, autosomal recessive GTP-cyclohydrolase deficiency