

## МАССОВОЕ ПАРАЛЛЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ПРОБЛЕМА “ПЕРЕКРЫВАЮЩИХСЯ” ФЕНОТИПОВ ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ СПАСТИЧЕСКИХ ПАРАПЛЕГИЯХ И СПИНОЦЕРЕБЕЛЛЯРНЫХ АТАКСИЯХ

© 2022 г. Е. П. Нужный<sup>1, \*</sup>, Н. Ю. Абрамьчева<sup>1, \*\*</sup>, Д. Г. Сафонов<sup>1, 2</sup>,  
Е. Ю. Федотова<sup>1</sup>, С. Н. Иллариошкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр неврологии, Москва, 125367 Россия

<sup>2</sup>ООО “Синтол”, Москва, 127434 Россия

\*e-mail: enuzhny@mail.ru

\*\*e-mail: nataabr@rambler.ru

Поступила в редакцию 10.08.2021 г.

После доработки 07.09.2021 г.

Принята к публикации 15.09.2021 г.

Наследственные спастические параплегии (НСП) и спиноцеребеллярные атаксии (СЦА) – гетерогенные группы нейродегенеративных заболеваний, основными клиническими проявлениями которых являются прогрессирующий пирамидный синдром и мозжечковая атаксия. Ввиду значительного генетического и фенотипического полиморфизма дифференциальная диагностика данных заболеваний затруднительна. Использование технологий массового параллельного секвенирования (MPS) позволяет оценить генетическую основу конкретных клинических синдромов и уточнить систематизацию данных перекрывающихся форм патологии. Обследованы 70 пациентов с мозжечковыми атаксиями дегенеративного генеза, поступившие в клинику с подозрением на одну из форм СЦА. Мутационный скрининг включал панельное секвенирование на платформе Illumina MiSeq. В группе пациентов с фенотипами СЦА выявлены четыре индивидуума (5.7%) – носителей мутаций в генах НСП: *CYP7B1* (SPG5) – один пациент, *SPG7* – один пациент и *SPG11* – два пациента. В указанных генах выявлены семь мутаций: ген *CYP7B1* (SPG5) – мутации p.R63X и p.R486C, ген *SPG7* – дупликация c.1047dupC (p.G352Rfs\*43) и мутация в сайте сплайсинга c.1779+1G>T, описанная нами впервые. У двух пациенток с НСП 11-го типа в гене *SPG11* выявлена нонсенс-замена p.Q811X в комплаунд-гетерозиготном положении, другими мутациями были c.7168dupC (p.P2390fs) и c.733\_734del (p.M245fs). Представленные данные подтверждают концепцию, согласно которой НСП и наследственные формы СЦА представляют собой единый континуум спиноцеребеллярных дегенераций со значительным фенотипическим “перекрестом”. Для верификации диагноза у пациентов с мозжечково-пирамидным синдромом дегенеративного генеза необходимо применение методов MPS.

**Ключевые слова:** наследственные спастические параплегии, спиноцеребеллярные атаксии, фенотип, массовое параллельное секвенирование, гены: *CYP7B1*, *SPG7*, *SPG11*.

**DOI:** 10.31857/S0016675822040117

Наследственные спастические параплегии (НСП) и спиноцеребеллярные атаксии (СЦА) – гетерогенные группы нейродегенеративных заболеваний с преимущественным поражением мозжечка и спинного мозга, основными клиническими признаками которых являются прогрессирующая мозжечковая атаксия и пирамидный синдром. Ввиду значительного генетического и фенотипического полиморфизма дифференциальная диагностика данных заболеваний может быть весьма непростой, особенно при манифестации комплексных “перекрывающихся” фенотипов. Некоторые осложненные формы НСП с атаксией клинически могут

быть неотличимы от СЦА с пирамидным синдромом. Основные трудности могут возникнуть при диагностике аутосомно-рецессивных форм НСП и СЦА, характеризующихся распространенным нейродегенеративным процессом, вовлечением различных уровней нервной системы и множественными клиническими проявлениями.

В последние годы ситуация с молекулярным анализом таких сложных групп заболеваний значительно изменилась в связи с появлением новейших высокопроизводительных молекулярно-генетических технологий, в первую очередь массового параллельного секвенирования (Massive

Parallel Sequencing, MPS). Экспоненциально растающее число исследований с использованием технологий MPS позволило установить значительный генетический “перекрест” между НСП, СЦА, а также болезнями с поражением двигательного нейрона, наследственными нейропатиями, деменциями и т.д. [1–3], что требует создания принципиально новых диагностических алгоритмов.

Цель данного исследования – оценка генетической гетерогенности аутосомно-рецессивных СЦА и клинико-генетический анализ пациентов из данной фенотипической группы, имеющих верифицированные мутации в генах НСП.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 70 пациентов с атаксиями дегенеративного генеза (спорадические случаи и семьи с аутосомно-рецессивным типом наследования) старше 18 лет, с дебютом заболевания до 50 лет (28 мужчин, 42 женщины, средний возраст  $33.4 \pm 7.2$  лет). Набор пациентов проводился в ФГБНУ НЦН с 2016 по 2020 гг.

Предварительно методами прямой ДНК-диагностики были исключены наиболее распространенные формы СЦА, вызванные экспансией микросателлитных повторов: атаксия Фридрейха, а также СЦА 1, 2, 3, 6, 8 и 17 типов.

Образцы геномной ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью набора для выделения Wizard Genomic DNA Purification Kit (“Promega”, США). Поиск экспансии GAA-повторов в 1-м интроне гена *FXN* проводили методом ПЦР с последующим разделением ампликонов в агарозном геле. Генотипирование тринуклеотидных повторов генов *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN3*, *SACNA1A*, *ATXN8/ATXN8OS* и *TBP* проводили методом ПЦР с последующим фрагментным анализом.

Всем пациентам проведено панельное секвенирование с помощью разработанной собственной оригинальной таргетной MPS-панели, состоящей из 240 генов наиболее значимых нейродегенеративных заболеваний, проявляющихся двигательными и когнитивными расстройствами (в том числе: СЦА – 86 генов, НСП – 15 генов). Фрагментацию образцов ДНК проводили методом ультразвукового воздействия с помощью S220 System (Covaris, США). Подготовка библиотеки образцов для дальнейшего секвенирования включала в себя фрагментацию геномной ДНК методом ультразвукового воздействия с использованием системы фрагментации ДНК Covaris (Focus-UL); обогащение библиотеки ДНК проводили по технологии SeqCap EZ Library SR с помощью специфических биотинилированных олигонуклеотидных зондов, комплементарных последовательностям кодирующих областей генов, входящих в данную панель.

Секвенирование полученных библиотек ДНК проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina), с использованием набора реагентов для секвенирования MiSeq Reagent Kit v3, 150 циклов. Последовательности адаптеров, нуклеотиды с качеством ниже q20, N-нуклеотиды были удалены из полученных прочтений с помощью программного обеспечения Trimmomatic 0.33. Последовательности картировали на геном человека (GRCh38) с использованием программного обеспечения Bowtie2, в среднем 98% прочтений были картированы успешно. Поиск вариантов осуществляли с помощью программы GATK 3.1, а их аннотацию – с помощью ресурса wANNOVAR. При оценке патогенности выявленных вариантов использовали базы данных: Human Gene Mutation Database, dbSNP, OMIM, ClinVar, руководство по интерпретации данных ACMG [4].

Все положительные находки подтверждались методом капиллярного секвенирования на генетическом анализаторе НАНОФОР 05 (Санкт-Петербург).

Для всех пациентов проведены подробная оценка неврологического статуса и экстра-невральных проявлений, генеалогический анализ, общеклинические обследования, магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга в стандартных режимах.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Сочетание в клинической картине мозжечковой атаксии и пирамидного синдрома отмечалось у 38 (49.3%) пациентов. В результате генотипирования с использованием мультигеновой MPS-панели среди обследованных случаев СЦА были выявлены четыре пациента (5.7%) из неродственных семей – носителей мутаций в генах НСП (различные фенотипические варианты спастической атаксии): *SPG5* – один пациент, *SPG7* – один пациент и *SPG11* – два пациента. Все выявленные случаи были спорадическими. Таким образом, доля выявленных НСП среди группы пациентов с сочетанием прогрессирующей атаксии и пирамидного синдрома составила 10.5%. Характеристики выявленных пациентов и обнаруженные мутации представлены в табл. 1 и 2 соответственно.

У всех пациентов в клинической картине наблюдались как симптомы мозжечковой атаксии, так и признаки пирамидной недостаточности (у пациентов *ХАИ* и *КМЛ* атаксия преобладала над пирамидным синдромом). Также во всех случаях отмечались нарушения саккадических движений глаз и нистагм, характерные для поражения мозжечка. Выраженность пирамидного синдрома варьировала от оживления глубоких рефлексов до умеренного нижнего спастического пареза с патологическими рефлексамии и клонусами стоп.

**Таблица 1.** Характеристика пациентов с выявленными мутациями в генах НСП

Пациент	<i>БРИ</i>	<i>ХАИ</i>	<i>КМЛ</i>	<i>ХЮВ</i>
Пол	Муж.	Муж.	Жен.	Жен.
Возраст/дебют, лет	24/21	37/32	28/26	23/15
Атаксия	++	+++	++	++
Нарушения саккад	+	++	+	+
Нистагм	+	++	+	+
Дизартрия	Нет	+	+	++
Пирамидный синдром	++	+	+	++
Нарушения чувствительности	Снижена вибрационная	Нет	Снижена вибрационная	Нет
Когнитивные нарушения	Нет	Легкие	Умеренные	
МРТ головного мозга	Норма	Атрофия червя мозжечка	Атрофия червя мозжечка, истончение мозолистого тела, лейкоэнцефалопатия	
Ген	<i>CYP7B1</i> (SPG5)	<i>SPG7</i>	<i>SPG11</i>	<i>SPG11</i>

Примечание. +/++/+++ – легкая/умеренная/грубая степень выраженности симптомов.

При МРТ-анализе головного мозга признаки атрофии червя мозжечка выявлялись у трех пациентов (формы *SPG7* и *SPG11*).

Суммарно у четырех пациентов с НСП выявлены семь различных мутаций: миссенс – одна, нонсенс – две, сплайсинговая мутация – одна, делеция со сдвигом рамки считывания – одна, инсерция со сдвигом рамки считывания – две. По своему функциональному значению мутации были интерпретированы как: патогенные варианты – два, вероятно патогенные – четыре, варианты с неопределенной значимостью – один. Мутация, затрагивающая сайт сплайсинга с.1779+1G>T в гене *SPG7*, описана нами впервые.

*Ген CYP7B1 (SPG5), форма ATX/HSP-CYP7B1 (OMIM 270800).* У пробанда 24 лет с прогрессирующей атаксией и легким нижним спастическим парезом выявлены две мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии: миссенс-замена в 6-м экзоне с.С1456Т (р.Р486С), расцененная как вариант с неопределенной значимостью, и нонсенс-мутация во 2-м экзоне с.С187Т (р.Р63Х), описанная ранее как патогенная.

*Ген SPG7 (SPG7), форма ATX/HSP-SPG7 (OMIM 607259).* У пациента 37 лет в течение пяти лет прогрессирует мозжечковая атаксия, в течение последних двух лет – легкий нижний спастический парез. В гене *SPG7* выявлены две патогенные мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии: дупликация цитозина с.1047dupС (р.Г352Rfs\*43) в 8-м экзоне, приводящая к сдвигу рамки считывания (описана ранее), и мутация с.1779+1G>T, затрагивающая канонический сайт сплайсинга (выявлена нами впервые).

Кроме того, у одного пациента 30-ти лет с фенотипом спастической атаксии была выявлена лишь одна описанная ранее патогенная нонсенс-мутация во 2-м экзоне с.Т233А (р.Л78Х). В данном гене неоднократно были описаны крупные делеции, не выявляемые с помощью MPS-панелей, а детальное сопоставление с фенотипом позволяет рассматривать выявленную мутацию как вероятно каузальную (поиск второй мутации не проведен).

*Ген SPG11 (SPG11), ATX/HSP-SPG11 (OMIM 604360).* У двух пациентов (23 и 28 лет) с типичными нейровизуализационными признаками *SPG11* выявлены три мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии: патогенная нонсенс-замена в 13-м экзоне с.С2431Т (р.Q811Х) обнаружена в обоих случаях и была описана ранее. Инсерция со сдвигом рамки считывания с.7168dupС (р.Р2390fs) выявлена нами впервые и расценена как вероятно патогенная. Делеция одного нуклеотида в 4-м экзоне, приводящая к сдвигу рамки считывания с.733\_734del (р.М245fs), была описана ранее в литературе.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее десятилетие, в связи с широким внедрением методов MPS, значительно расширились представления о фенотипическом спектре наследственных атаксий и спастическом параллелизме [5]. В работах, посвященных генетической диагностике СЦА методами MPS, нередко выявляют мутации в генах, традиционно ассоциированных с НСП: *SPG6, SPG7, SPG11, SPG15, SPG33*

Таблица 2. Выявленные методом MPS мутации и оценка их патогенности

Пациент	Ген: вариант мутация	dbSNP_ID MAF	SIFT/PolyPhen2 HDIV/MutFast	Критерии и классификация	Ссылки на описание	Диагноз
<i>БРИ</i>	<i>CYP7B1</i> : миссенс-мутация NM_004820:exon6:c.1456T>p.R486C	rs116171274 0.0006	D/D/A	PS1 + PM2 + PP3 = неопред. значимость	Н/д	НСП 5-типа
	<i>CYP7B1</i> : нонсенс-мутация NM_004820:exon2:c.187T>p.R63X	rs746979262 Н/д	-/-/A	PVS1 + PM2 + PP3 + PP4 + PP5 = патоген.	[27]	
<i>ХАИ</i>	<i>SPG7</i> : инсерция со сдвигом рамки считывания NM_199367:exon8:c.1047dupC>p.G352Rfs*43	rs760818649 Н/д	-	PVS1 + PM4 + PP4 + PP5 = вер. патогенный	[17]	НСП 7-типа
	<i>SPG7</i> : мутация сайта сплайсинга NM_003119:exon13:c.1779+1G>T	Н/д Н/д	-/-/D	PM1 + PM2 + PM4 + PP4 = вер. патогенный	Н/д	
<i>КМЛ</i>	<i>SPG11</i> : нонсенс-мутация NM_025137:exon13:c.C2431T>p.Q811X	Н/д Н/д	-	PVS1 + PP3 + PP4 + PP5 = патоген.	[28]	НСП 11-типа
	<i>SPG11</i> : инсерция со сдвигом рамки считывания NM_025137:exon40:c.7168dupC>p.P2390fs	rs756134516 Н/д	-	PVS1 + PM4 + PP4 = вер. патогенный	Н/д	
<i>ХЮВ</i>	<i>SPG11</i> : нонсенс-мутация NM_025137:exon13:c.C2431T>p.Q811X	Н/д Н/д	-	PVS1 + PM2 + PP3 + PP4 + PP5 = патоген.	[28]	НСП 11-типа
	<i>SPG11</i> : делеция со сдвигом рамки считывания NM_025137:exon4:c.733_734del>p.M245fs	rs312262720 Н/д	-	PVS1 + PM4 + PP4 + PP5 = вер. патогенный	[29]	

Примечание. dbSNP\_ID (Single Nucleotide Polymorphism Database ID) – обозначение номера по базе данных однонуклеотидных полиморфизмов. MAF (Minor Allele Frequency) – частота минорного аллеля. Н/д – нет данных. PVS1 – PP5 – критерии для интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности. Неопред. значимость – вариант с неопределенной значимостью. Вер. патогенный – вероятно патогенный вариант. Патоген. – патогенный вариант. SIFT: D – deleterious (патогенный). PolyPhen2 HDIV: D – probably damaging (вероятно повреждающий). MutFast: D(A) – disease causing (приводящий к заболеванию).

и др. [6–8]. С другой стороны, при обследовании пациентов с НСП также обнаруживают мутации в генах наследственных СЦА: *SACS* (спастическая атаксия Шарлевуа-Сагенэ), *SYNE1* (AP-СЦА 8 типа), *ITPR1* (СЦА 15/29 типа) и др. [9–11].

Ярким примером проявления данного фенотипического “перекреста” является ген *PNPLA6*, мутации в котором могут приводить к нескольким аллельным формам – как к НСП 39 типа (SPG39), так и к наследственным атаксиям без пирамидного синдрома, часто ассоциированным с гипогонадизмом [12].

В настоящем исследовании методом панельного секвенирования нами были выявлены четыре пациента (5.7%) с клинической картиной мозжечково-пирамидного синдрома, имевших мутации в классических генах НСП (*CYP7B1*, *SPG7* и *SPG11*). Схожие результаты были получены в 2020 г. М. Kim с соавт.: в группе из 77 корейских пациентов с наследственными атаксиями ими выявлены по два пациента с *SPG7* и *SPG11* (5.2%) [13]. Столь высокий процент выявления НСП в нашем исследовании связан с особенностями выборки – аутосомно-рецессивные НСП чаще представлены осложненными формами, для многих из которых характерно наличие атаксии в клинической картине.

Мозжечковая атаксия, как одно из проявлений указанных осложненных форм НСП (SPG5, SPG7, SPG11), была описана ранее неоднократно, в том числе в отечественных публикациях [14, 15]. В наиболее крупном исследовании среди 34 пациентов с SPG5 (ген *CYP7B1*, кодирует фермент оксистерол 7-альфа-гидроксилазу 1 – член семейства генов цитохрома P450) выявлялись различные признаки поражения мозжечка: нистагм – 12%, нарушения саккад – 9%, динамическая атаксия – 47%; при этой же форме снижение вибрационной чувствительности и сенситивная атаксия обнаруживались у 94% пациентов [16]. SPG5 – редкая форма НСП, выявленный нами случай является вторым в России [14].

Мутации в гене *SPG7* (белок параплегин, компонент митохондриального AAA-протеазного комплекса) могут приводить к различным аллельным формам: изолированной атаксии без пирамидного синдрома [1], прогрессирующей СЦА [17, 18], а также осложненной и неосложненной формам НСП [19]. В крупном многоцентровом исследовании (241 пациент с *SPG7*-ассоциированными заболеваниями) выявлено, что преобладание пирамидного синдрома над атаксией связано с гомозиготным носительством нонсенс-мутаций [20]. Атрофия мозжечка (преимущественно червя) является частой находкой, даже при минимальной выраженности атаксии [21, 22]. Кроме того, признаки атрофии мозжечка при нейровизуализации были выявлены у родственников па-

циентов – гетерозиготных носителей мутаций в гене *SPG7* [23]. Таким образом, носительство мутаций в данном гене может рассматриваться как фактор риска развития мозжечковых дегенераций с поздним началом.

SPG11 – наиболее частая аутосомно-рецессивная форма НСП как в России, так и за рубежом [15]. Ген *SPG11* кодирует белок спатаксин, контролирующий аксональный рост и внутриклеточный транспорт. При данной форме НСП атаксия не является частым синдромом, но в некоторых случаях может превалировать в клинической картине [13, 24]. В наиболее крупном исследовании (339 пациентов с SPG11) атаксия выявлена у 46.4% больных [25]. Атрофические изменения мозжечка (преимущественно червя) являются более редкой находкой [26].

Представленные данные подтверждают концепцию, согласно которой НСП и СЦА представляют собой единый континуум нейродегенеративных спиноцереbellарных дегенераций со значительным фенотипическим перекрытием, различаясь между собой соотношением и степенью выраженности изменений в пирамидных и спиноцереbellарных трактах, а также вовлечением в патологический процесс нейронов коры и ядер мозжечка [2]. При сочетании в клинической картине мозжечковой атаксии и пирамидного синдрома отнесение каждого конкретного случая к определенному фенотипу может вызывать значительные трудности. Для верификации окончательного (молекулярного) диагноза у пациентов с комплексными фенотипами целесообразно применение методов MPS – таргетного панельного секвенирования (включая гены как СЦА, так и НСП), либо секвенирование экзозома и/или генома.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-015-00171).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. van de Warrenburg B.P., Schouten M.I., de Bot S.T. et al. Clinical exome sequencing for cerebellar ataxia and spastic paraplegia uncovers novel gene disease associations and unanticipated rare disorders // Eur. J. Hum.

- Genet. 2016. V. 24. № 10. P. 1460–1466.  
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.42>
2. *Synofzik M., Schüle R.* Overcoming the divide between ataxias and spastic paraplegias: Shared phenotypes, genes, and pathways // *Mov. Disord.* 2017. V. 32. № 3. P. 332–345.  
<https://doi.org/10.1002/mds.26944>
  3. *Kim A., Kumar K.R., Davis R.L. et al.* Increased diagnostic yield of spastic paraplegia with or without cerebellar ataxia through whole-genome sequencing // *Cerebellum.* 2019. V. 18. № 4. P. 781–790.  
<https://doi.org/10.1007/s12311-019-01038-0>
  4. *Richards S., Aziz N., Bale S. et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology // *Genet. Med.* 2015. V. 17. № 5. P. 405–424.  
<https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
  5. *de Souza P.V.S., de Rezende Pinto W.B.V., de Rezende Batistella G.N. et al.* Hereditary spastic paraplegia: Clinical and genetic hallmarks // *Cerebellum.* 2017. V. 16. № 2. P. 525–551.  
<https://doi.org/10.1007/s12311-016-0803-z>
  6. *Fogel B.L., Lee H., Deignan J.L. et al.* Exome sequencing in the clinical diagnosis of sporadic or familial cerebellar ataxia // *JAMA Neurol.* 2014. V. 71. № 10. P. 1237–1246.  
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.1944>
  7. *Pyle A., Smertenko T., Bargiela D. et al.* Exome sequencing in undiagnosed inherited and sporadic ataxias // *Brain.* 2015. V. 138. Pt. 2. P. 276–283.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awu348>
  8. *Kang C., Liang C., Ahmad K.E. et al.* High degree of genetic heterogeneity for hereditary cerebellar ataxias in Australia // *Cerebellum.* 2019. V. 18. № 1. P. 137–146.  
<https://doi.org/10.1007/s12311-018-0969-7>
  9. *Galatolo D., Tessa A., Filla A. et al.* Clinical application of next generation sequencing in hereditary spinocerebellar ataxia: Increasing the diagnostic yield and broadening the ataxia-spasticity spectrum. A retrospective analysis // *Neurogenetics.* 2018. V. 19. № 1. P. 1–8.  
<https://doi.org/10.1007/s10048-017-0532-6>
  10. *Parodi L., Coarelli G., Stevanin G. et al.* Hereditary ataxias and paraparesias: Clinical and genetic update // *Curr. Opin. Neurol.* 2018. V. 31. № 4. P. 462–471.  
<https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000585>
  11. *Elert-Dobkowska E., Stepniak I., Krysa W. et al.* Next-generation sequencing study reveals the broader variant spectrum of hereditary spastic paraplegia and related phenotypes // *Neurogenetics.* 2019. V. 20. № 1. P. 27–38.  
<https://doi.org/10.1007/s10048-019-00565-6>
  12. *Нужный Е.П., Абрамчычева Н.Ю., Федотова Е.Ю. и др.* PNPLA6-ассоциированные атаксии в России: описание двух клинических случаев // *Нервные болезни.* 2020. № 1. С. 46–51.  
<https://doi.org/10.24411/2226-0757-2020-12151>
  13. *Kim M., Kim A.R., Kim J.S. et al.* Clarification of undiagnosed ataxia using whole-exome sequencing with clinical implications // *Parkinsonism Relat Disord.* 2020. V. 80. P. 58–64.  
<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2020.08.040>
  14. *Руденская Г.Е., Кадникова В.А., Чухрова А.Л. и др.* Редкие аутосомно-рецессивные спастические параплегии // *Мед. генетика.* 2019. Т. 18. № 11. С. 26–35.  
<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.11.26-35>
  15. *Руденская Г.Е., Кадникова В.А., Рыжкова О.П. и др.* Спастические параплегии типов 11 и 15 // *Анналы клин. эксп. неврол.* 2020. Т. 14. № 4. С. 29–38.  
<https://doi.org/10.25692/ACEN.2020.4.4>
  16. *Schöls L., Rattay T.W., Martus P. et al.* Hereditary spastic paraplegia type 5: Natural history, biomarkers and a randomized controlled trial // *Brain.* 2017. V. 140. P. 3112–3127.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awx273>
  17. *Pfeffer G., Pyle A., Griffin H. et al.* SPG7 mutations are a common cause of undiagnosed ataxia // *Neurology.* 2015. V. 17. № 84(11). P. 1174–1176. PMID: 25681447  
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001369>
  18. *Choquet K., Tetreault M., Yang S. et al.* SPG7 mutations explain a significant proportion of French Canadian spastic ataxia cases // *Eur. J. Hum. Genet.* 2016. V. 24. P. 1016–1021.  
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.240>
  19. *Salinas S., Proukakis C., Crosby A. et al.* Hereditary spastic paraplegia: Clinical features and pathogenetic mechanisms // *Lancet Neurol.* 2008. V. 7. P. 1127–1138.  
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70258-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70258-8)
  20. *Coarelli G., Schule R., van de Warrenburg B.P.C. et al.* Loss of paraplegin drives spasticity rather than ataxia in a cohort of 241 patients with SPG7 // *Neurology.* 2019. V. 92(23). P. e2679–e2690.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000007606>
  21. *Hewamadduma H.A., Hoggard N., O'Malley R. et al.* Novel genotype-phenotype and MRI correlations in a large cohort of patients with SPG7 mutations // *Neurol. Genet.* 2018. V. 4. № 6. P. e279.  
<https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000279>
  22. *Руденская Г.Е., Кадникова В.А., Рыжкова О.П. и др.* Аутосомно-рецессивные спастические параплегии типов 7 и 76 // *Анналы клин. эксп. неврол.* 2021. Т. 14. № 4. С. 29–38.  
<https://doi.org/10.25692/ACEN.2020.4.4>
  23. *Klebe S., Depienne C., Gerber S. et al.* Spastic paraplegia gene 7 in patients with spasticity and/or optic neuropathy // *Brain.* 2012. V. 135. P. 2980–2993.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awu240>
  24. *Lilley K., Bhuta S., Sabet A. et al.* Homozygous frameshift mutation of SPG11 as a cause of progressive flaccid paralysis, ataxia and dysphagia // *J. Clin. Neurosci.* 2020. V. 81. P. 90–91.  
<https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.09.004>
  25. *Du J.* Hereditary spastic paraplegia type 11: Clinicogenetic lessons from 339 patients // *J. Clin. Neurosci.* 2021. V. 85. P. 67–71.  
<https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.11.036>
  26. *Rajakulendran S., Paisán-Ruiz C., Houlden H.* Thinning of the corpus callosum and cerebellar atrophy is correlated with phenotypic severity in a family with spastic paraplegia type 11 // *J. Clin. Neurol.* 2011. V. 7. № 2. P. 102–104.  
<https://doi.org/10.3988/jcn.2011.7.2.102>

27. Goizet C., Boukhris A., Durr A. et al. *CYP7B1* mutations in pure and complex forms of hereditary spastic paraplegia type 5 // *Brain*. 2009. V. 132. P. 1589–1600. <https://doi.org/10.1093/brain/awp073>
28. Travaglini L., Aiello C., Stregapede F. et al. The impact of next-generation sequencing on the diagnosis of pediatric-onset hereditary spastic paraplegias: New genotype-phenotype correlations for rare HSP-related genes // *Neurogenetics*. 2018. V. 19. № 2. P. 111–121. <https://doi.org/10.1007/s10048-018-0545-9>
29. Stevanin G., Azzedine H., Denora P. et al. Mutations in *SPG11* are frequent in autosomal recessive spastic paraplegia with thin corpus callosum, cognitive decline and lower motor neuron degeneration // *Brain*. 2008. V. 131. P. 772–784. <https://doi.org/10.1093/brain/awm293>

## Massive Parallel Sequencing and the Problem of Overlapping Phenotypes in Hereditary Spastic Paraplegias and Spinocerebellar Ataxias

E. P. Nuzhnyi<sup>a, \*</sup>, N. Yu. Abramychева<sup>a, \*\*</sup>, D. G. Safonov<sup>a, b</sup>,  
E. Yu. Fedotova<sup>a</sup>, and S. N. Illarioshkin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Research Center of Neurology, Moscow, 125367 Russia

<sup>b</sup>“Syntol” LTD, Moscow, 127434 Russia

\*e-mail: enuzhny@mail.ru

\*\*e-mail: nataabr@rambler.ru

Hereditary spastic paraplegia (HSP) and spinocerebellar ataxia (SCA) are heterogeneous groups of neurodegenerative disorders with the main clinical manifestations including progressive pyramidal syndrome and cerebellar ataxia. The differential diagnosis of these diseases is difficult due to the significant genetic and phenotypic polymorphism. The use of massive parallel sequencing (MPS) technologies makes it possible to assess the genetic basis of specific clinical syndromes and to clarify the systematization of these overlapping phenotypes. We examined 70 patients with degenerative cerebellar ataxias who were admitted to the clinic with suspected one of the SCA form. Mutation screening included panel sequencing on the Illumina MiSeq platform. In the group of patients with SCA phenotypes, 4 individuals (5.7%) – mutations carriers in the HSP genes were identified: *SPG5* – 1 patient, *SPG7* – 1 patient and *SPG11* – 2 patients. Seven mutations were identified: *CYP7B1* (*SPG5*) gene – p.R63X and p.R486C mutations, *SPG7* gene – c.1047dupC (p.G352Rfs\*43) and splice site mutation c.1779+1G>T which was described by us for the first time. Two patients with *SPG11* carried a compound heterozygous nonsense mutation p.Q811X in the *SPG11* gene; other mutations were c.7168dupC (p.P2390fs) and c.733\_734del (p.M245fs). The presented data confirm the concept that HSP and SCA represent a single continuum of spinocerebellar degenerations with a significant phenotypic overlap. To verify the diagnosis in patients with cerebellar and pyramidal syndrome of degenerative genesis, MPS methods should be used.

**Keywords:** hereditary spastic paraplegia, spinocerebellar ataxia, phenotype, massive parallel sequencing.