



ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

DOI: <https://doi.org/10.17816/PED1345-27>

Научная статья

ЛИЗОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ НАКОПЛЕНИЯ. СФИНГОЛИПИДОЗЫ – СФИНГОМИЕЛИНОВЫЙ ЛИПИДОЗ, ИЛИ БОЛЕЗНЬ НИМАННА – ПИКА, БОЛЕЗНЬ ВОЛЬМАНА

© В.Н. Горбунова¹, Н.В. Бучинская²

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Диагностический центр (медицинско-генетический), Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Горбунова В.Н., Бучинская Н.В. Лизосомные болезни накопления. Сфинголипидозы – сфингомиелиновый липидоз, или болезнь Ниманна – Пика, болезнь Вольмана // Педиатр. – 2022. – Т. 13. – № 4. – С. 5–27. DOI: <https://doi.org/10.17816/PED1345-27>

Представлены эпидемиология, клиническая биохимическая и молекулярно-генетическая характеристика гликосфинголипидозов, сопровождающихся нарушением метаболизма и избыточным накоплением в различных паренхиматозных органах, костном и головном мозге не только сфинголипидов, но и свободного холестерина. Прежде всего, это сфингомиелиновый липидоз, или болезнь Ниманна – Пика, – клинически полиморфная и генетически гетерогенная группа редких моногенных заболеваний. Различающиеся по дебюту и тяжести течения типы А и В являются аллельными заболеваниями и обусловлены присутствием рецессивных мутаций в гене лизосомной кислой сфингомиелиназы (*SMPD1*). Тип А – это классическая острая нейронопатия, при которой в 85 % случаев болезнь дебютирует до 6 мес., смерть наступает в возрасте до 3 лет. Причиной заболевания становятся мутации с преждевременной терминацией трансляции или тяжелыми нарушениями каталитической активности фермента. При типе В чаще обнаруживаются миссенс-мутации. Это хроническая висцеральная форма, при которой неврологическая симптоматика, как правило, отсутствует, и больные доживают до подросткового возраста. Юношеские и взрослые формы хронической нейронопатии типа С генетически гетерогенны. В 95 % случаев они обусловлены мутациями в гене *NPC1* (тип С1) и в 5 % – в гене *NPC2* (тип С2). Продукты этих генов – трансмембранные белки, отвечающие за транспорт холестерина и других липидов. Болезнь накопления эфирами холестерина, или болезнь Вольмана, обусловлена наследственной недостаточностью лизосомной кислой липазы А. Обсуждается возможность ранней диагностики этих заболеваний на базе неонатального скрининга с целью повышения эффективности их профилактики и лечения. Подчеркнуто значение экспериментальных моделей для изучения молекулярных основ патогенеза этих тяжелых наследственных заболеваний и разработка различных терапевтических подходов, таких как трансплантация костного мозга, ферментная заместительная терапия и субстратредуцирующая терапия. Представлен клинический пример болезни Ниманна – Пика типа С.

Ключевые слова: лизосомные болезни накопления; сфинголипидозы; болезнь Ниманна – Пика; болезнь Вольмана.

Поступила: 15.06.2022

Одобрена: 19.07.2022

Принята к печати: 30.09.2022

DOI: <https://doi.org/10.17816/PED1345-27>

Research Article

LYSOSOMAL STORAGE DISEASES. SPHINGOLIPIDOSES – SPHINGOMYELIN LIPIDOSIS, OR NIEMANN–PICK DISEASE, WOLMAN DISEASE

© Victoria N. Gorbunova¹, Natalia V. Buchinskaia²

¹ St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;

² St. Petersburg State Medical Diagnostic Center (Genetic medical center), Saint Petersburg, Russia

For citation: Gorbunova VN, Buchinskaia NV. Lysosomal storage diseases. Sphingolipidoses — sphingomyelin lipidosis, or Niemann–Pick disease, Wolman disease. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2022;13(4):5-27. DOI: <https://doi.org/10.17816/PED1345-27>

The epidemiology, clinical biochemical and molecular genetic characteristics of glycosphingolipidoses with impaired metabolism and excessive accumulation in parenchymal organs, bone and brain not only of sphingolipids, but also free cholesterol are presented. First of all, it is sphingomyelin lipidosis, or Niemann–Pick disease, a clinically polymorphic and genetically heterogeneous group of rare monogenic diseases. Types A and B, which differ in onset and severity, are allelic diseases and are caused by the presence of recessive mutations in the lysosomal acid sphingomyelinase (*SMPD1*) gene. Type A is a classic acute neuronopathy, which starts in 85% of cases before 6 months, death occurs before the age of 3 years. The cause of the disease is mutations with premature termination of translation or severe impairment of the catalytic activity of the enzyme. In type B, missense mutations are more common. This is a chronic visceral form, in which neurological symptoms are usually absent, and patients survive into adolescence. Juvenile and adult forms of chronic neuronopathy type C are genetically heterogeneous. In 95% of cases they are caused by mutations in the *NPC1* gene (type C1) and in 5% – in the *NPC2* gene (type C2). The products of these genes are transmembrane proteins responsible for the transport of cholesterol and other lipids. Cholesterol ester storage disease, or Wolman disease, is caused by hereditary deficiency of lysosomal acid lipase A. The possibility of early diagnosis of these diseases based on neonatal screening is discussed in order to increase the effectiveness of their prevention and treatment. The importance of experimental models for studying the molecular basis of the pathogenesis of these severe hereditary diseases and developing various therapeutic approaches, such as bone marrow transplantation, enzyme replacement therapy, and substrate-reducing therapy, is emphasized. A clinical example of Niemann–Pick disease type C is presented.

Keywords: lysosomal storage disorders; sphingolipidoses; Niemann–Pick disease; Wolman disease.

Received: 15.06.2022

Revised: 19.07.2022

Accepted: 30.09.2022

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущих номерах журнала представлена общая характеристика лизосомных болезней накопления [2], дано подробное описание мукополисахаридозов [4–6] и цереброзидозов, к числу которых относятся болезни Фабри, Гоше и Фарбера [7]. Данный обзор посвящен описанию гликосфинголипидозов, сопровождающихся нарушением метаболизма и избыточным накоплением в ретикулоэндотелиальных клетках не только сфинголипидов, но и свободного холестерина. Прежде всего, это сфингомиелиновый липидоз, или болезнь Ниманна – Пика, — клинически полиморфная и генетически гетерогенная группа редких моногенных заболеваний. К детской форме I относятся классический острый тип А (нейронопатия) и хронический висцеральный тип В. Оба типа являются аллельными заболеваниями и обусловлены присутствием различных рецессивных мутаций в гене *SMPD1* лизосомной кислой сфингомиелиназы (ASM) [43–45]. Юношеская и взрослая форма II, или хроническая нейронопатия тип С, — генетически гетерогенная группа заболеваний. В 95 % случаев у больных обнаруживаются мутации в гене *NPC1* (тип С1) и в 5 % — в гене *NPC2* (тип С2) [21, 30, 31]. Продуктами этих генов становятся трансмембранные белки, отвечающие за транспорт холестерина и других липидов. Болезнь накопления эфиров холестерина, или болезнь Вольмана, обусловлена наследственной недостаточностью лизосомной кислой липазы А [12, 37, 53]. Повышенный интерес к этим болезням связан с появлением и практической доступностью методов индивидуальной молекулярной диагностики, принципиальной возможностью проведения неонатального скрининга и разработкой безопасных и эффективных методов не только симптоматического, но и патогенетического лечения некоторых из этих тяжелых наследственных заболеваний.

БОЛЕЗНЬ НИМАННА – ПИКА, СФИНГОМИЕЛИНОВЫЙ ЛИПИДОЗ

Клиника и эпидемиология

Болезнь Ниманна – Пика, или сфингомиелиновый липидоз, — это генетически гетерогенная группа аутосомно-рецессивных заболеваний, обусловленных наследственной недостаточностью ферментов, участвующих в деградации сфингомиелина, а также в транспорте и метаболизме холестерина [8–10]. В основе патогенеза заболевания лежит накопление липидов, главным образом, сфингомиелина и свободного холестерина в ретикулоэндотелиальных и других типах клеток, что ведет к их избирательной гибели. Особенно чув-

ствительны к этому дефекту клетки центральной нервной системы (ЦНС).

Характерные симптомы болезни Ниманна – Пика, как группы заболеваний, — гепатосplenомегалия, задержка физического и умственного развития. Серьезные неврологические расстройства включают прогрессирующую деменцию, спастические парезы и параличи с угнетением сухожильных рефлексов и судорожным синдромом на более поздних стадиях болезни. У больных могут нарушаться зрение и слух. При исследовании глазного дна нередко отмечается вишнево-красное пятно — симптом «вишневой косточки». В пунктах костного мозга, печени, селезенки, лимфатических узлов обнаруживаются крупные вакуолизированные клетки Пика, так называемые «пенистые» клетки.

В зависимости от времени дебюта выделяют детские, юношеские и взрослые формы. К детским формам (I) относятся классическая острая нейронопатия — тип А, и хроническая висцеральная форма — тип В. К юношеским и взрослым формам (II) относятся хроническая нейронопатия тип С и новошотландский вариант — тип D. Все формы отличаются высоким клиническим полиморфизмом.

У 85 % больных сфингомиелиновым липидозом типа А симптомы развиваются к 4–6 мес., смерть наступает в возрасте до 3 лет. Характерными симптомами болезни Ниманна – Пика типа А считаются задержка роста, дефицит веса, частые респираторные инфекции, затяжная неонатальная гипербилирубинемия. Родители могут предъявлять жалобы на рвоту, трудности при кормлении, склонность к запорам, беспричинные подъемы температуры, потерю приобретенных ранее навыков. При осмотре ребенка можно отметить выступающий живот за счет гепатосplenомегалии и слабость мышц передней брюшной стенки, диффузную мышечную гипотонию, ксантомы на коже, увеличение лимфатических узлов. Для детей характерна задержка психомоторного развития с переходом в интеллектуальный дефицит в более старшем возрасте, быстрое прогрессирование неврологической симптоматики от мышечной гипотонии и гипорефлексии к спастичности, мышечной ригидности и атетоидных движений, развитию судорожного синдрома [8]. При обследовании отмечают развитие анемии и тромбоцитопении, повышение трансаминаз, гиперлипидемию. Рентгенологически выявляют диффузные гранулярные или ретикулярные инфильтраты в легких [11].

При форме В первые симптомы заболевания отмечаются в возрасте 2–6 лет, а неврологическая симптоматика не характерна. Возможна

низкорослость. Характерны выступающий живот и гепатосplenомегалия, лимфаденопатия, частые респираторные инфекции. Для поражения легких характерно постепенное прогрессирование с развитием инфильтрации альвеол, интерстициальными и нодулярными изменениями и исходом в дыхательную недостаточность к 20–25 годам. Клиническая диагностика этой формы заболевания часто бывает затруднена. Пациенты с болезнью Ниманна – Пика типа В доживают до подросткового или взрослого возраста. Причинами летального исхода могут быть дыхательная недостаточность, цирроз печени и геморрагические симптомы как результат печеночной недостаточности и дефицита факторов свертывания крови [51].

Группы риска для выявления сфингомиелинового липидоза типа В: (1) кардиологические больные с низкими уровнями липопротеиной высокой плотности и (2) эндокринными нарушениями, сочетающимися с задержкой роста [76].

Болезнь Ниманна – Пика тип С характеризуется более поздним началом, преобладанием неврологической симптоматики в клинической картине. При юношеских формах дебют и скорость течения болезни могут значительно варьировать. При ретроспективном обследовании 70 пациентов из разных стран с типом С болезни Ниманна – Пика возраст начала клинических проявлений варьировал от неонатального периода до 55 лет. Смерть наступала в возрасте от 5 до 15 лет [87]. В зависимости от возраста манифестации выделяют следующие формы болезни типа С [9]:

- перинатальная (дебют до 3 мес.);
- ранняя младенческая (дебют в 3–24 мес.);
- поздняя младенческая (2–6 лет);
- ювенильная (6–15 лет);
- подростковая или взрослая форма (>15 лет).

Для всех форм характерны гепатосplenомегалия, задержка психомоторного развития и мышечная гипотония. Холестаз и спленомегалия без признаков портальной гипертензии являются ранним и патогномоничным симптомокомплексом болезни Ниманна – Пика типа С. Тем не менее опираться на эти симптомы возможно только в раннем возрасте, так как признаки холестаза самопроизвольно разрешаются к возрасту 6–8 мес., в то время как гепатосplenомегалия может сохраняться длительно. Висцеральные проявления обычно предшествуют симптомам со стороны нервной системы [9].

При раннем дебюте неиммунная водянка, гепатосplenомегалия и асцит развиваются внутриутробно или вскоре после рождения ребенка, в дальнейшем появляются симптомы холестаза, снижение мышечного тонуса, развивается поражение легких

(инфилтраты). У 10 % пациентов болезнь имеет фульминантное течение с развитием печеночной недостаточности и летальным исходом до возраста 1 года. Поздняя младенческая форма характеризуется появлением мозговых расстройств (атаксии), бульбарного и псевдобульбарного (дизартрия, дисфагия), судорожного синдромов, надъядерного пареза взора.

Поздние формы заболевания характеризуются медленным прогрессированием и дебютируют в подростковом возрасте или у взрослых. Первыми клиническими симптомами у этой группы пациентов могут быть либо большие психозы, либо офтальмоплегия или дистония с сохранением интеллектуальных функций. При ювенильной форме наблюдаются экстрапирамидные нарушения — гиперкинезы, брадикинезия, мышечная дистония, вертикальный парез взора, геластическая катаплексия. Пациенты, доживающие до подросткового или взрослого возраста, страдают когнитивными и психическими нарушениями, такими как психозы, имеют склонность к депрессии и развитию шизофреноидных расстройств [9]. Вертикальный парез взора — один из самых важных диагностических признаков заболевания. Для взрослых пациентов характерны умеренная гепатосplenомегалия и относительно небольшое накопление сфингомиелина в гепатоцитах, клетках селезенки и костного мозга.

На основании опыта наблюдения за 87 американскими пациентами с болезнью Ниманна – Пика типа С1 выявлен средний возраст диагностики — 10 лет (около 50 % пациентов — до 7 лет) [29]. Средний возраст летального исхода составил 16 лет, хотя половина из них погибла до 12,5 лет. Наиболее частыми симптомами при рождении была желтуха (52 %) с последующим увеличением селезенки (36 %) и печени (31 %); менее частыми — асциты (19 %) и мышечная гипотония (6 %). При дальнейшем развитии ребенка неуклюжесть отмечается у 87 % больных, трудности с обучением — у 87 %, атаксия — у 83 %, дисфагия — у 80 % и вертикальный парез взора — у 81 %. Эти данные положены в основу диагностики болезни Ниманна – Пика II и составления национальной компьютерной базы данных пациентов [9, 10, 65].

Окуломоторные нарушения зачастую являются ключевыми признаками, позволяющими заподозрить болезнь Ниманна – Пика типа С. Обычно они начинаются в старшем младенческом возрасте с нарушения саккадических движений глаз. Симптомы могут быть пропущены при клиническом осмотре, если не оцениваются самопроизвольные движения глазных яблок. Первыми нарушаются вертикальные движения глаз, затем

появляются нарушения движений по горизонтали. На начальных стадиях нарушаются самопроизвольные саккадические движения, при сохранении нормальных плавных движений глаз. С течением времени глазные симптомы прогрессируют до полного вертикального пареза взора [9].

С генетической точки зрения болезнь Ниманна – Пика делится на 3 типа. Детские формы сфингомиелинового липидоза типов А и В являются аллельными заболеваниями, так как обусловлены присутствием гомозиготных или компаунд-гетерозиготных инактивирующих мутаций в одном и том же гене *SMPD1* лизосомной кислой сфингомиелиназы (ASM) [43–45].

Юношеские и взрослые формы II генетически гетерогенны [9, 10]. У 95 % пациентов с клиническим типом С обнаружаются мутации в гене *NPC1*, вовлеченному в контроль внутриклеточного перемещения холестерина и других липидов. Это генетический тип С1, к которому относится также и новошотландский клинический тип D. У 5 % пациентов с юношескими и взрослыми формами болезни Ниманна – Пика обнаруживаются мутации в другом гене *NPC2*, белковый продукт которого участвует в связывании и транспорте холестерина. Это генетический тип С2. Точные взаимоотношения между белками, кодируемыми генами *NPC1* и *NPC2*, до сих пор изучены недостаточно. Клиническая диагностика двух генетических типов сфингомиелинового липидоза С1 и С2 практически невозможна. Она может быть осуществлена только с привлечением данных молекулярно-генетического анализа [3, 20, 26].

Болезнь Ниманна – Пика относится к числу редких аутосомно-рецессивных заболеваний. Однако в некоторых этнических группах и генетических изолятах ее частота достаточно велика. Так, в 40 % всех случаев она встречается среди евреев-ашкеназов, и в этой популяции ее частота составляет 1 : 40 000. Необычно высокая частота висцеральной формы болезни зарегистрирована на севере Африки в Марокко, Алжире и Тунисе [84]. В других популяциях частота детских типов А и В болезни Ниманна – Пика оценивается как 1 : 250 000, а юношеских форм типа С — 1 : 100 000–120 000 [10]. Юношеский тип D заболевания с высокой частотой встречается в Новой Шотландии среди населения французского происхождения. Так, в одном из районов страны частота больных достигает 1 %, а частота гетерозигот колеблется в пределах от 10 до 26 % [30, 91].

При обобщении результатов параллельного экзомного секвенирования, выполненного в четырех независимых исследованиях, были получены несме-

щенные оценки частоты болезни Ниманна – Пика типа С и вариантов С1 и С2. Они составляют 1,12, 1,08 и 0,03 на 100 000 новорожденных соответственно. При этом происходит недооценка вариантов С1 с поздним началом, и требуется их дополнительный скрининг в группах высокого риска [90].

БОЛЕЗНЬ НИМАННА – ПИКА I, ТИПЫ А И В

Биохимические основы патогенеза

Первичный биохимический дефект при детских формах болезни типов А и В — отсутствие или снижение активности лизосомной сфингомиелиназы, катализирующей расщепление сфингомиелина, выполняющего функцию стабилизатора клеточных мембран, до фосфорилхолина и церамида. В результате нарушения катаболизма сфингомиелина происходит его накопление в лизосомах клеток многих органов больного. Одновременно происходит накопление других фосфолипидов и холестерина, также являющегося основным структурным компонентом мембран. Гистологически это выявляется в появлении «пенистых» клеток.

Картирование и идентификация гена *SMPD1*

Определение аминокислотной последовательности фрагмента экстрагированной из мочи ASM позволило искусственно синтезировать смесь олигонуклеотидов, с помощью которых был проведен скрининг двух тканеспецифических библиотек генов фибробластов и плаценты человека с целью изоляции кДНК-овых последовательностей гена ASM — *SMPD1* [68]. С использованием методов соматической гибридизации ген *SMPD1* был картирован в коротком плече хромосомы 11 [67]. Его локализация в области 11p15 доказана методом гибридизации *in situ*. Ген *SMPD1* расположен в импринтированной области генома и экспрессируется преимущественно с материнской хромосомы [72].

Отобранные кДНК-последовательности были использованы в дальнейшем в качестве зондов для изоляции геномной ДНК и анализа его экспрессии. Определена полная нуклеотидная последовательность гена ASM, а также достаточно протяженных районов, flankирующих ген с двух сторон [73]. Кодирующая часть гена разделена на 6 экзонов, величина которых варьирует от 77 до 773 пар оснований. Самый крупный экзон 2 кодирует 258 аминокислот, что составляет 44 % зрелого полипептида. Ген *SMPD1* повсеместно экспрессируется, то есть относится к числу генов «домашнего хозяйства». Оказалось, что в различных тканях, в частности, в фибробластах и плаценте, в результате альтернативного сплайсинга образуются различные изоформы сфингомиелиназы.

Мутации в гене *SMPD1*

Идентификация мутаций в гене *SMPD1* у пациентов с детскими формами сфингомиелинового липидоза послужила доказательством его причастности к развитию болезни [43, 80]. В настоящее время описано более 100 мутаций в гене *SMPD1*. Показано, что тяжелые мутации, такие как небольшие делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания, нонсенс-мутации и аминокислотные замены, полностью разрушающие каталитическую активность сфингомиелиназы, обнаруживаются у пациентов с типом А болезни Ниманна – Пика. У пациентов с типом В найдены миссенс-мутации и делеции, не сопровождающиеся сдвигом рамки считывания. В опытах по сайт-направленному мутагенезу было показано, что при миссенс-мутациях сохраняется остаточная активность фермента.

Для детских форм заболевания характерно также присутствие мажорных мутаций, специфичных для различных этнических групп. Так, суммарная частота трех мутантных аллелей среди больных типом А евреев-ашkenазов сфингомиелинового липидоза достигает 65 %, что является основанием для скрининга гетерозиготных носителей мутаций в данной этнической группе [43–45]. Две из этих мутаций — L302P и делеция одного нуклеотида в 330-й позиции гена — полностью разрушают каталитическую активность фермента. Эти мутации не найдены у пациентов нееврейского происхождения или у пациентов с типом В заболевания. Третья мутация — R496L, является мажорной среди больных сфингомиелиновым липидозом типа А, но и в этом случае ее частота среди пациентов еврейского происхождения составляет 32 %, а нееврейского — только 5 % [44].

Частой среди пациентов с висцеральной формой заболевания в этнической группе евреев-ашkenазов является делеция трех нуклеотидов, приводящая к отсутствию аргинина в 608-м положении сфингомиелиназы — delR608 [44]. Эту мутацию гораздо реже находят у пациентов с типом В, принадлежащих к другим национальностям, за одним очень важным исключением. Оказалось, что в странах, расположенных в северо-западной части Африки, частота delR608 среди мутантных аллелей гена *SMPD1* составляет около 80 % [84]. Удивительным можно рассматривать тот факт, что гомозиготы по delR608 характеризуются различной каталитической активностью сфингомиелиназы и варьирующей тяжестью течения сфингомиелинового липидоза. По-видимому, на проявление этой мутации могут оказывать влияние какие-то другие генетические или средовые факторы.

Экспериментальные модели

Создана трансгенная «нокаут»-линия с направленно разрушенным геном *Astm* мыши [60]. У гомозиготных мутантов наблюдались массивные накопления сфингомиелина в ретикулоэндотелиальной системе печени, селезенки, костного мозга, легких и ЦНС. Ганглиозный слой клеток Пуркинье мозжечка к 4 мес. оказался полностью разрушен, что на фенотипическом уровне проявлялось в виде тяжелого нарушения нейромоторики. В целом клиническая картина была сходна с нейровисцеральной формой сфингомиелинового липидоза А. Аналогичные результаты были получены на другой ASM-дефицитной «нокаут»-линии мышей [33]. Эти модели успешно используются для разработки ферментной заместительной терапии (ФЗТ) пациентов с болезнью Ниманна – Пика I [74].

С использованием новой технологии сконструирована еще одна трансгенная «нокаут»-линия мышей, в которой стабильно сохранялся низкий уровень фракция лизосомной сфингомиелиназы (L-SM) и полностью отсутствовала секреторная сфингомиелиназа (S-SM) [52]. В различных органах мутантных животных активность L-SM колебалась в пределах 1–14 %, и к 8 мес. уже присутствовали патологические накопления сфингомиелина. В мозге активность L-SM составляла от 11,5 до 18,2 %, однако клетки Пуркинье мозжечка были полностью сохраны. Этого было достаточно, чтобы даже при отсутствии S-SM у мутантных мышей не развивались тяжелые неврологические проявления сфингомиелинового липидоза, улучшалась общая жизнеспособность и увеличивалась продолжительность жизни по сравнению с *Astm*-мутантами.

Лабораторная диагностика и лечение

Диагностика заболевания основана на оценке клинических проявлений сфингомиелинового липидоза в сочетании с наличием «пенистых» клеток в пунктуре костного мозга и печени, снижением активности сфингомиелиназы в лейкоцитах и накоплением холестерина, сфингомиелина и других фосфолипидов в биоптате печени. Подтверждением диагноза болезни Ниманна – Пика I является идентификация мутаций в гене *SMPD1*.

В качестве перспективного направления лечения пациентов с болезнью Ниманна – Пика I одной из первых была предложена фармакологическая шаперонотерапия, основанная на изучении молекулярных механизмов коррекции проницаемости лизосомных мембран, возникающей под влиянием различных форм стресса. Нарушение стабильности лизосом — один из главных маркеров стресс-индуцируемой клеточной гибели.

При типах А и В болезни Ниманна – Пика, обусловленной наследственной недостаточностью ASM, также наблюдается заметное увеличение проницаемости лизосом. При стрессе происходит транслокация на лизосомы небольшого белка теплового шока Hsp70 и его связывание с одним из кофакторов лизосомного сфингомиелинового метаболизма (BMP), что в конечном счете и приводит к стабилизации лизосомных мембран [36]. Искусственное ингибирование взаимодействия Hsp70 с BMP с помощью антител к BMP или введения Trp90Phe-замены в Hsp70, так же как фармакологическое или генетическое ингибирование ASM, предотвращает Hsp70-опосредованную стабилизацию лизосомных мембран. Эти результаты открывают возможность для разработки новой стратегии лечения сфингомиелинового липидоза и других лизосомных болезней накопления с помощью рекомбинантной формы Hsp70. Однако этот подход не нашел пока дальнейшего продолжения.

Доказана безопасность и эффективность ФЗТ ненейронопатической формы болезни Ниманна – Пика типа В с помощью внутривенных инъекций рекомбинантной кислой сфингомиелиназы (rhASM) — олипудазы альфа [89]. Разработаны и прошли первую фазу клинических испытаний оптимальные схемы индивидуального лечения больных в отношении необходимых доз и периодичности введения препарата, приводящие к устойчивому снижению накопления сфингомиелина и периодическому появлению церамида — продукта катаболизма сфингомиелина, уменьшению объема селезенки и печени в сочетании с улучшением общих показателей качества жизни [54].

Однако ФЗТ не может быть использована для лечения нейронопатической формы болезни Ниманна – Пика, так как вводимые препараты не проникают через гематоэнцефалический барьер. Это ограничение может быть преодолено с помощью генотерапии. На приматах показана безопасность прямой инъекции в церебелломедуллярную цистерну гена ASM человека в составе аденоассоциированного вектора, серотип 9 — AAV9-hASM [71]. Терапевтический эффект этой процедуры был оценен на модельной «нокаут»-линии мышей ASM-KO. После введения AAV9-hASM наблюдали длительную экспрессию трансгена во многих клетках головного и спинного мозга животных без появления каких-либо признаков токсичности или воспалительных реакций. Спустя 2 мес. после проведенной процедуры в мозге мышей не наблюдали свойственные этой линии проявления нейронопатического сфингомиелинового липидоза, такие как ухудшение моторики и памяти, накопление сфин-

гомиелина, увеличение размеров лизосом и гибель нейронов. Активность ASM появлялась не только в мозге, но и в плазме крови, наряду с уменьшением накопления сфингомиелина и снижением воспаления в печени. Найдена минимальная доза трансгена, способная оказывать подобный терапевтический эффект [79]. Эти результаты показывают перспективность генотерапии для лечения болезни Ниманна – Пика типа А.

БОЛЕЗНЬ НИМАННА – ПИКА II, ЮВЕНИЛЬНЫЕ ФОРМЫ, ТИПЫ С1 И С2

Опыты по межаллельной комплементации, выполненные на культурах фибробластов больных, показали, что тип С болезни Ниманна – Пика II генетически неоднороден [78]. В небольшом проценте семей прослеживается сцепление заболевания с цитогенетическими маркерами длинного плеча хромосомы 14, а не 18q11.2, в которой расположен ген *NPC1* [83]. Новый генетический вариант болезни Ниманна – Пика был обозначен как тип С2, а соответствующий мутантный ген — *NPC2*, в отличие от типа С1, обусловленного мутациями в гене *NPC1*.

Биохимические основы патогенеза

95 % юношеских форм болезни Ниманна – Пика типа С и новошотландский вариант тип Д вместе составляют генетический тип С1, обусловленный наследственной недостаточностью большого мембранныго гликопротеина, локализованного на поверхности лизосом и эндосом [85]. Основная функция этого высоко консервативного связанного с мембраной белка, кодируемого геном *NPC1*, — высвобождение холестерина и других гликолипидов из лизосом и эндосом, при этом он действует как трансмембранныя молекулярная помпа [82]. Белок NPC1 состоит из 1278 аминокислот, содержит 13 трансмембранных доменов, 5 из которых формируют стеролчувствительную область, и 3 большие гидрофильные цитоплазматические петли с дилейциновыми мотивами, определяющими ассоциацию белка с эндосомами [20, 34]. Прослежена гомология белка NPC1 с некоторыми другими белками, участвующими во внутриклеточном гомеостазе холестерина, а также с морфогенетическим рецептором «*Patched*», дефектным у пациентов с синдромом базально-клеточных невусов.

С использованием методов иммуногистохимии, световой и электронной микроскопии показано, что в мозге мышей ген *Npc1* экспрессируется в клетках глии и астроцитах и его продукт участвует в пресинаптических процессах, происходящих в нервных окончаниях [64]. Причем у трансгенных

мышей с инактивированным геном *Npc1* именно терминальные области дендритов и аксонов как первичные сайты нейродегенерации предшествуют появлению неврологических и поведенческих аномалий.

Сфингомиелиназная активность у больных, как правило, снижена и составляет в среднем около 38 % нормы. Однако при слиянии культивируемых клеток, полученных от пациентов с болезнью Ниманна – Пика типа С, с клетками пациентов типа А или В происходит восстановление сфингомиелиназной активности, то есть в гетерокарионах происходит комплементация исходных дефектов.

Более чем у 90 % больных, включая все тяжелые случаи, наблюдается очень низкая скорость эстерификации холестерина, вследствие чего неэстерифицированный холестерин в высокой концентрации накапливается в клетках. Полученные результаты были подтверждены в совместных межлабораторных исследованиях, выполненных на 70 пациентах с болезнью Ниманна – Пика типа С [87]. Авторы показали, что в культивируемых фибробластах больных резко понижена эстерификация холестерина при выращивании этих клеток в среде с добавлением чистых липопротеинов низкой плотности (ЛНП) человека. Промежуточная скорость эстерификации наблюдается в культивируемых фибробластах гетерозигот. Клинический фенотип очевидно коррелирует с уровнем биохимического дефекта. Неэстерифицированный холестерин накапливается не только в лизосомах, но на ранней стадии и в аппарате Гольджи [17]. Показано, что сфингомиелиназная недостаточность в фибробластах пациентов может быть скорректирована при удалении из культуральной среды липопротеиновой фракции [81]. Эти данные согласуются с предположением, что первичный дефект при типе С болезни Ниманна – Пика связан с клеточным транспортом и/или процессингом свободного холестерина. Снижение активности сфингомиелиназы происходит вследствие внутриклеточного накопления холестерина, то есть является вторичным признаком болезни. Четкой корреляции между характером нарушений холестеринового гомеостаза и клиническими проявлениями болезни не прослеживается, и у некоторых пациентов наблюдаются лишь небольшие изменения в клеточном транспорте холестерина — так называемый вариантный биохимический фенотип.

Продукт гена *NPC2* — консервативный среди млекопитающих секреторный гликопротеин с молекулярной массой 25–27 кД, состоящий из 151 аминокислот, 19 из которых представляют собой сигнальный пептид. При субклеточном фрак-

ционировании было показано, что этот гликопротеин оказался лизосомным белком, участвующим в связывании холестерина. Определена кристаллическая структура NPC2-белка и охарактеризованы его лигандные свойства [27]. При кислом и нейтральном pH белок связывает аналог холестерина — дигидроэргостерол. В дальнейшем было показано, что очищенный продукт гена *NPC2* — это секреторный растворимый белок, специфично связывающий холестерин [39]. Оба белка — NPC2 и NPC2 — ответственны за выход холестерина из поздних эндосом и лизосом.

Картирование генов *NPC1* и *NPC2*

Картированию гена *NPC1* человека способствовала идентификация мутантного гена в генетической линии мышей C57BL/Ks, характеризующейся сниженной активностью сфингомиелиназы и внутриклеточным накоплением избытка сфингомиелина [57]. Предполагалось, что линия C57BL/Ks — это генетическая модель детских форм сфингомиелиоза типов А и В. Оказалось, что это не так. Локус *Spm*, мутантный в линии C57BL/Ks, был картирован в хромосоме 18 мыши в области, синтетической участок двух хромосом человека — 5 и 18 [70]. На большой выборке семей был проведен анализ сцепления гена *NPC1*, ответственного за развитие сфинголипидоза типа С, с микросателлитными маркерами этих двух хромосом человека [21]. Никакого сцепления с маркерами хромосомы 5 не было найдено, тогда как сильное сцепление было обнаружено с маркерами перицентромерного района хромосомы 18. Эти данные были убедительно подтверждены в опытах по восстановлению холестеринового метаболизма в ЗТЗ-мутантной линии клеток, полученной от *spm/spm*-мышей, при переносе в них фрагментов хромосомы 18 человека [41]. В дальнейших исследованиях было показано, что наиболее вероятная область локализации гена *NPC1* — 18q11.2. Методом позиционного клонирования ген *NPC1* был идентифицирован в этой цитогенетической области, что позволило изолировать его кДНК и определить ее нуклеотидную последовательность [16, 20]. Ген *NPC1* состоит из 25 экзонов, распределенных на площади более чем в 47 кб геномной ДНК [58].

При скрининге эпидидимальной тканеспецифической библиотеки генов человека был идентифицирован неизвестный ранее ген *HE1*, выделена и проклонирована его кДНК [35]. Ген *HE1* экспрессируется во всех исследованных тканях с образованием мРНК размером 0,9 кб [59]. Наивысший уровень экспрессии зарегистрирован в тестис, почках и печени, самый низкий — в легких и мышцах.

С использованием метода радиационных гибридов ген *HE1* был картирован в области 14q24.3. Учитывая локализацию гена *HE1* и функции его продукта как лизосомного белка, участвующего в метаболизме холестерина, было высказано предположение, что мутации в этом гене ответственны за болезнь Ниманна – Пика типа С2 [59]. Оказалось, что продукт гена *HE1* отсутствует в культивируемых фибробластах пациентов с типом С2. Более того, экзогенное введение рекомбинантного белка *HE1* в фибробласты пациентов с типом С2 приводило к заметному снижению отложений холестерина ЛНП. Таким образом была доказана идентичность генов *HE1* и *NPC2*.

Мутации в генах *NPC1* и *NPC2*

Наиболее частый тип мутаций в гене *NPC1* — замены нуклеотидов, сопровождающиеся заменой аминокислот в белке, то есть миссенс-мутации [20, 31, 32]. Так, среди 13 идентифицированных мутаций 8 были миссенс-типа, 3 — небольшими делециями со сдвигом рамки считывания и 2 — сплайсинговыми. При этом 7 из 8 аминокислотных замен были кластерированы в одном трансмембранным домене белка, что указывает на его высокую функциональную значимость.

В другом исследовании из 13 мутаций, идентифицированных у 12 больных, 10 оказались уникальными и находились в компаунд-гетерозиготном состоянии [16]. Были найдены 2 миссенс-мутации в гомозиготном состоянии у 4 неродственных пациентов, имеющих одинаковый гаплотип по внутригенным полиморфным маркерам, что указывает на возможность участия «эффекта основателя» в их распространении.

Проведено сопоставление спектра мутаций в гене *NPC1* с уровнем иммунореактивных форм кодируемого этим геном белка в кожных фибробластах 30 неродственных пациентов с типом С1 болезни Ниманна – Пика, 9 из которых имели «вариантный» биохимический фенотип [55, 56]. У 14 больных обнаружены гомозиготные мутации. 32 идентифицированные мутации затрагивали практически все домены белка *NPC1*, но 11 из них были кластерированы в консервативном цистеин-богатом районе цитоплазматической петли. 3 миссенс-мутации, сопровождающиеся заменой аминокислот в стерол-чувствительном домене белка *NPC1*, а также мутации с преждевременной терминацией трансляции встречались исключительно у пациентов с ранней неврологической формой заболевания и классическими, то есть тяжелыми нарушениями в клеточном транспорте холестерина. У пациентов со взрослыми неневрологическими формами

и/или «вариантным» биохимическим фенотипом были идентифицированы другие миссенс-мутации. Четкой корреляции между генотипом и фенотипом в этом случае не наблюдалось, хотя все 5 миссенс-мутаций, ассоциированных с «вариантным» биохимическим фенотипом, включая рекуррентную мутацию P1007A, приводили к аминокислотным заменам в цитоплазматическом районе белка.

При проведении молекулярно-генетического анализа в выборке из 143 неродственных пациентов с типом С болезни Ниманна – Пика мутантные аллели были идентифицированы в 88 % случаев, из них 114 различных мутаций в гене *NPC1* и 7 — в гене *NPC2* [62]. Наиболее частой была замена I1061T, которая составила 18 % всех мутантных аллелей гена *NPC1*. Район между кодонами 1038 и 1253, имеющий 35 % гомологии с соответствующим геном *Patched*, является «горячей» точкой мутагенеза. «Вариантный» биохимический фенотип часто встречается среди португальских больных [69]. В этой этнической группе у пациентов с тяжелым «классическим» фенотипом были найдены 2 сплайсинговые мутации. Все 3 миссенс-мутации (C177Y, R978C и P1007A), которые в различных комбинациях встречались у пациентов с «вариантным» биохимическим фенотипом, сопровождались аминокислотными заменами в цитоплазматических районах белка *NPC1*. В Испании при формах болезни с ранней неврологической симптоматикой часто встречается миссенс-мутация Q775P, а при детской форме с поздним началом преобладающая миссенс-мутация C177Y [25]. В Японии мажорной является сплайсинговая мутация 1553G-A [92].

Обнаружение у одного из больных нонсенс-мутации E20X в гене *NPC2*, которая нарушила связывание холестерина и поддержание его нормального внутриклеточного содержания, рассматривали как окончательное доказательство причастности этого гена к развитию болезни Ниманна – Пика типа С2 [38]. Эта мажорная мутация составляет по разным данным от 34 до 56 % всех мутантных аллелей в гене *NPC2* [55, 56, 88]. Идентификация этой и других мутаций в гене *NPC2* позволила определить функционально значимые районы белка [62]. Из 16 идентифицированных мутантных аллелей было только 5 разных мутаций — 2 нонсенс-типа (E20X и E118X) и по одной — делеция 1 нуклеотида (27delG), сплайсинговая мутация (IVS2+5G-A) и миссенс-мутация (S67P). В 7 исследованных семьях гомозиготы по мутациям E20X, E118X и S67P, а также компаунд-гетерозиготы по E20X и 27delG имели тяжелое течение заболевания, которое закончилось летальным исходом чаще всего от дыхательной недостаточности в возрасте от 6 мес. до 4 лет.

Экспериментальные модели

Описаны спонтанные генетические линии мышей с фенотипическими аномалиями, сходными с теми, которые наблюдаются при болезни Ниманна – Пика [49]. Показано, что в одной из этих линий (BALB/c) произошла инактивация гена *Npc1* за счет инсерции ретропозона *Npc1*(–/–). У гомозиготных мутантов этой линии рано развивается неврологическая симптоматика, наблюдается заметная потеря веса, стерильность и ранняя гибель животных. Трансгенное введение мышам этой линии нормального гена *NPC1* человека с обеспечением его избирательной экспрессии в ЦНС предотвращает процесс нейродегенерации [48]. У трансгенных мышей восстанавливается плодовитость и значительно увеличивается продолжительность жизни. Однако полной коррекции неврологического фенотипа не наблюдается, так как в некоторых нейронах и клетках глии сохраняется избыточное накопление GM2- и GM3-гангиозидов. У трансгенных животных наблюдается также коррекция висцеральных нарушений в печени и селезенке. Авторы делают вывод, что неврологические аномалии при болезни Ниманна – Пика первично обусловлены недостаточностью белка *NPC1* в ЦНС, а не являются вторичным эффектом висцеральных нарушений.

В ряде работ показано, что нарушение внутриклеточного транспорта ЛНП-холестерина приводит к снижению синтеза оксистерола и стероидов. В связи с этим на мышной *Npc1*(–/–)-модели были проведены испытания возможности использования нейростероида аллопрегнанолона (allopregnanolone) и синтетического лиганда оксистерола для лечения болезни Ниманна – Пика [42]. Назначение этих препаратов мутантным животным увеличивает продолжительность их жизни и заметно отодвигает появление неврологической симптоматики.

Путем направленного трансгеноза сконструирована условно нулевая модельная линия мышей, у которых ген *Npc1* инактивирован только в зрелых клетках Пуркинье мозжечка [25]. У таких животных наблюдается возрастзависимое ухудшение двигательных функций, включая атаксию, нарушение равновесия, появление круговых движений. Однако вес и продолжительность жизни условных мутантов сохраняются в пределах нормы. При гистологическом исследовании выявляется прогрессирующая потеря клеток Пуркинье в определенной области мозжечка, причем пространственно-временные характеристики этой селективной нейродегенерации сходны с теми, которые наблюдаются у полных нулевых мутантов. Субпопуляция клеток Пуркинье, расположенных в заднем отделе мозжечка, устойчива к клеточной гибели, несмотря на отсутствие

продукта гена *Npc1*. Таким образом, атаксический фенотип нулевых мутантов по гену *Npc1* определяется селективной гибелью клеток Пуркинье, а не их дисфункцией.

Некоторые синтетические препараты (U18666A) способны индуцировать изменения внутриклеточного метаболизма, сходные с теми, которые наблюдаются при болезни Ниманна – Пика [47]. Эти изменения сопровождаются лизосомными накоплениями сфингозина и уменьшением уровня лизосомного кальция. Сфингозин сам по себе способен индуцировать нарушения внутриклеточного гомеостаза кальция концентрационно-зависимым образом. При этом накопление холестерина, сфингиомиэлина и глицеросфинголипида вторично. Введение *Npc1*(–/–)-мышам препарата циркумина, способного повышать содержание кальция в цитоплазме, на 35 % увеличивает продолжительность жизни мутантных животных и на три недели задерживает развитие болезни. Авторы предполагают, что продукт гена *NPC1* участвует в высвобождении сфингозина из лизосом. Накопление сфингозина в лизосомах при болезни Ниманна – Пика изменяет внутриклеточную концентрацию кальция, что, в свою очередь, приводит к нарушению эндцитозного транспорта.

Для исследования функций белка *NPC2* и его возможных взаимодействий с белком *NPC1* созданы мышиные гипоморфные модели, в которых уровень экспрессии гена *NPC2* в различных тканях составлял от 0 до 4 % [77]. Фенотипы нулевых мутантов по одному из генов *NPC1* или *NPC2*, так же как двойных мутантов, были сходны по началу болезни, ее развитию, вовлечению нервной системы и характеру липидных накоплений. Это доказывает, что функции обоих белков связаны с транспортом липидов от лизосом к другим внутриклеточным сайтам.

Лабораторная диагностика и лечение

Клиническая и биохимическая диагностика болезни Ниманна – Пика II такая же, как и при форме I. Лучшие диагностические тесты, наряду с регистрацией характерных неврологических расстройств, — дефектная индукция эстерификации холестерина и накопление холестерина в везикулах, регистрируемое цитохимически после окрашивания клеток филиппином [86]. Дифференциальная диагностика болезни Ниманна – Пика типов С1 и С2 возможна только при идентификации мутаций в соответствующих генах *NPC1* или *NPC2*.

Первый препарат, который был предложен для лечения болезни Ниманна – Пика типа С — это миглустат (Zavesca, Brazaves) — небольшой ими-

носахар, участвующий в обратном регулировании синтеза глюкоцерамида, который катализирует первый шаг в синтезе гликосфинголипидов. Миглустат способен проникать через гематоэнцефалический барьер и потенциально может использоваться для лечения неврологических нарушений [50, 66]. Миглустат может также опосредованно участвовать в регуляции внутриклеточного гомеостаза кальция путем влияния на концентрацию глюкозилцерамида и накопление сфингозина — предполагаемого пускового фактора в патогенезе заболевания [9]. Безопасность и эффективность миглустата была показана на экспериментальных моделях болезни Ниманна – Пика типа С, что позволило перейти к клиническим испытаниям. В различных независимых исследованиях показано, что при ежедневном приеме препарата происходит стабилизация или улучшение многих неврологических проявлений заболевания, прежде всего исчезает вертикальный парез взора, который служит одним из маркеров прогрессирования заболевания. Наиболее часто при приеме препарата отмечаются нежелательные явления: умеренная диарея, метеоризм, потеря веса и трепет. Все эти проявления имеют тенденцию к снижению со временем и успешно контролируются.

В последние годы во всем мире интенсивно развивается трансляционная медицина, направленная на внедрение современных научных достижений в практику здравоохранения. Так, в Национальном Институте Здоровья (NIH) США создана программа лечения редких и запущенных болезней (Therapeutics for Rare and Neglected Diseases — TRND), цель которой состоит в объединении усилий академической науки, непрофильных организаций, фармацевтических и биотехнологических компаний для разработки новых терапевтических подходов и лечения тяжелых наследственных заболеваний. Одной из первых задач этой программы был поиск и испытание препаратов для лечения пациентов с болезнью Ниманна – Пика типа С [61]. Основанием для исследования служили результаты успешного применения стероида аллопрегнанолона и его синтетического лиганда оксистерола для коррекции свойственных мышам трансгенной линии *Npc1(–)* неврологических нарушений, сходных с клиническими проявлениями типа С1 болезни Ниманна – Пика [42]. Оказалось, что при использовании только одного лиганда — 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрина (HP β CD) — лечение происходит более эффективно по сравнению с комбинированной терапией [22]. При систематическом введении HP β CD мышам, моделирующим типы С1 и С2 болезни Ниманна – Пика, наблюда-

ется значительное снижение во многих органах мутантных животных лизосомного накопления холестерина, замедление процесса нейродегенерации и значительное увеличение продолжительности жизни. При введении препарата непосредственно в ЦНС *Npc1(–)*-мышей процесс нейродегенерации полностью прекращается [46].

Описан новый биомаркер — N-пальмитоил-О-фосфохолинэзерин (PPCS) — для диагностики болезни Ниманна – Пика типа С и оценки эффективности лечения этого заболевания с использованием препарата 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрина (HP β CD) [75]. Для определения содержания HP β CD в плазме и спинномозговой жидкости разработан высокочувствительный метод жидкостной хроматографии — tandemной масс-спектрометрии. При содержании PPCS в плазме выше 248 нг/мл чувствительность диагностики составляет 100 % и специфичность — 96,6 %. При болезни Ниманна – Пика типа С1 содержание PPCS в спинномозговой жидкости достоверно повышенено и это повышение коррелирует с тяжестью неврологических проявлений заболевания. При лечении путем интракраниального введения HP β CD содержание PPCS не меняется, в то время как при внутривенном введении (IV клинические испытания) у всех больных плазменные уровни PPCS достоверно снижаются.

Клинические примеры болезни Ниманна – Пика типа С

В настоящий момент в медико-генетическом центре Санкт-Петербурга наблюдаются 4 пациента с болезнью Ниманна – Пика типа С в возрасте от 13 до 24 лет (см. таблицу).

Подробно мы остановимся на описании пациента № 2. Это молодой мужчина 24 лет. Первые симптомы заболевания отмечались с возраста 2 лет. Мальчика беспокоили боли в мышцах. В связи с неспецифичностью жалоб подробного исследования предпринято не было. В младшем школьном возрасте возникли трудности в обучении (со 2-го класса). В 13–14 лет обращали на себя внимание «растянутая речь», неловкость движений, спленомегалия (по данным ультразвукового исследования). С 16 лет начали беспокоить: головокружения, запрокидывание головы, неловкость движений. В связи с данными жалобами инициировано неврологическое обследование, выполнена магнитно-резонансная томография головного мозга, на которой выявили умеренные атрофические изменения вещества головного мозга, признаки гипоплазии червя мозжечка. Мальчик был консультирован в Медико-генетическом центре, первоначально была заподозрена атаксия Фридreichа.

Таблица / Table

Характеристика пациентов с болезнью Ниманна – Пика типа С
Characteristics of patients with Niemann–Pick type C disease

Пациент, возраст / Patient, years	Первые симптомы заболевания, возраст / Time of first symptoms, years old	Возраст диагностики, лет / Time of diagnosing, years old	Особенности клинических проявлений на момент установления диагноза / Symptoms at the time of diagnosing	Молекулярно-генетическое исследование / Genetic base	Дифференциальный диагноз / Differential diagnosis
Пациент № 1, 13 лет / Patient 1, 13 YO	2 года / 2 YO	8,5	Атаксия, дизартрия, вертикальный парез взора / Ataxia, dysarthria, vertical gase paresis	20/22 экзоны гена <i>NPC1</i> (c.3019C>G/c.3325delA) / 20/22 exons <i>NPC1</i> gene (c.3019C>G/c.3325delA)	–/NA
Пациент № 2, 24 года / Patient 2, 24 YO	2 года / 2 YO	20	Дизартрия, скандированная речь, дизграфия, снижение памяти и внимания, атаксия, мышечная гипотония, интенционный трепор, брадикинезия, вертикальный парез взора, психозы, нарушение походки / Dysarthria, scanned speech, dysgraphia, decreased memory and attention, ataxia, muscle hypotonia, intentional tremor, bradykinesia, vertical gase paresis, psychosis, gait disturbance	Экзоны 19/12 гена <i>NPC1</i> c.2861C>T (p.Ser954Leu)/ c.1883A>G (p.Tyr628Cys) / 19/12 exons <i>NPC1</i> gene c.2861C>T (p.Ser954Leu)/ c.1883A>G (p.Tyr628Cys)	Атаксия Фридрайха. Резидуально-органическое поражение центральной нервной системы: атрофические изменения головного мозга, гипоплазия червя мозжечка / Ataxia Friedreich. Residual organic lesion of the central nervous system: atrophic changes in the brain, hypoplasia of the cerebellar vermis
Пациент № 3, 23 года / Patient 3, 23 YO	5–6 лет / 5–6 YO	20	Атаксия, периодические падения, неразборчивая смазанная речь, дисфагия. Мышечная слабость. Вертикальный парез взора. Оживление сухожильных рефлексов, патологические стопные знаки, деформация стоп, нарушение походки / Ataxia, intermittent falls, slurred speech, dysgraphia, muscle hypotonia, vertical gase paresis, increased tendon reflexes, pathological foot reflexes, foot deformity, gait disturbance	Ген <i>NPC1</i> p.Gly992Arg/p.Arg1059Term / <i>NPC1</i> gene p.Gly992Arg/p.Arg1059Term	Наследственная моторно-сенсорная нейропатия (болезнь Шарко – Мари). Спастическая параплегия Штрюмпеля / Hereditary motor-sensory neuropathy (Charcot–Marie’s disease). Strumpel’s spastic paraparesis
Пациент № 4, 26 лет / Patient 4, 26 YO	15 лет / 15 YO	24	Дисфагия, дисфония, дизартрия. Атаксия. Вертикальный парез взора. Повышение сухожильных рефлексов. Нарушение походки / Dysphagia, dysphonia, dysarthria, ataxia, vertical gase paresis, increased tendon reflexes, gait disturbance	Ген <i>NPC1</i> , экзон 0 c.3019C>G (p.Pro1007Ala) в гомозиготном состоянии / <i>NPC1</i> gene, exon 0 c.3019C>G (p.Pro1007Ala) in the homozygous state	Атаксия неясного генеза, спиноцеребеллярная атаксия? При магнитно-резонансной томографии картина церебеллярной атрофии / Ataxia of unknown origin, spinocerebellar ataxia? MRI picture of cerebellar atrophy

В 20 лет клиническая картина состояла в следующем: дизартрия, скандированная речь, дизграфия, снижение памяти и внимания, шаткость походки, интенционный тремор, «полые стопы», у молодого человека появились психозы (периодически стал «забывать, как жевать пищу», появилась дисфагия при попытке проглотить плохо пережеванную пищу, замкнутость, страхи, расширение зрачков). При осмотре отмечались: вертикальный парез взора, редкие мигания, диффузная мышечная гипотония, глубокие сухожильные рефлексы были оживлены, с расширенными зонами. Брадикинезия, движения размашистые. Походка атактическая. Координационные пробы — грубые интенционные движения. Для исключения болезни Ниманна — Пика типа С проведено исследование: биохимическая диагностика лизосфингомиелин-509 6,23 MoM (норма 0,15–3,7 MoM), 7-кетохолестерин 181 нг/мл (норма 10–75 нг/мл), триол 76,6 нг/мл (норма 2–50 нг/мл). В связи с положительной биохимической диагностикой проведена молекулярно-генетическая диагностика. Выявлены 2 патогенных варианта в гене *NPC1* в компаунд-гетерозиготном состоянии: в экзоне 19 с.2861C>T (р.Ser954Leu) и экзоне 12 с.1883A>G (р.Tyr628Cys). С возраста 20 лет молодой человек начал получать субстрат-редуцирующую терапию препаратом мигlustat. Основным побочным эффектом терапии является периодическая тромбоцитопения с быстрым восстановлением при пропуске нескольких приемов препарата. К возрасту 24 лет (4 года субстрат-редуцирующей терапии) в клинической картине сохраняются: дизартрия, скандированная речь, дизграфия, дизлексия, шаткость походки, тремор. Психозы на фоне терапии стали реже, возникают только в весенний и осенний периоды, не требуют специальной медикаментозной коррекции. Снизился уровень тревожности, пациент может оставаться дома один. При объективном осмотре не отмечается гепатосplenомегалия, сохраняется вертикальный парез взора, атаксия, шаткость походки, неточность при выполнении координационных проб. У молодого человека оформлена 2-я группа инвалидности, но остаются проблемы с трудоустройством в связи с невозможностью самостоятельного передвижения по городу, речевыми проблемами, нарушениями мелкой моторики (письмо, точность движений). Сохраняется атаксия, повышена травматизация в быту. В настоящий момент получает лечение гипсовой лонгетой из-за падения дома и получения травмы связок голеностопного сустава. Таким образом, можно отметить проблемы ранней диагностики болезни Ниманна — Пика типа С в клинической практике. Только у одного

пациента диагноз был установлен в детском возрасте. Кроме того, клинически мы не видим значимого эффекта субстрат-редуцирующей терапии. Состояние пациентов в целом стабилизировалось, но недостаточно для осуществления социальной интеграции в общество и возможности полной независимости от ухаживающих родственников.

БОЛЕЗНЬ ВОЛЬМАНА, БОЛЕЗНЬ НАКОПЛЕНИЯ ЭФИРОВ ХОЛЕСТЕРИНА

Клиника и эпидемиология

Болезнь Вольмана — это редкое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное наследственной недостаточностью лизосомной кислой липазы А. Основной патогенетический механизм связан с нарушением гомеостаза липидов и отложением большого количества нерастворимых эфиров холестерина и триглицеридов в лизосомах клеток большинства тканей. При этом размеры и количество лизосом резко возрастают, что приводит к гибели клеток и нарушению функций соответствующих тканей. При гистологическом анализе в большинстве тканей наблюдается вакуолизация клеток, появление «пенистых» клеток. Дополнительно развивается кальцификация надпочечников. Основные клинические проявления заболевания выражаются в дисфункции печени и дислипидемии вследствие накопления эфиров холестерина и триглицеридов преимущественно в печени, сосудах и ретикулоэндотелиальной системе. Особенно чувствительны к накоплению липидов печень, почки, селезенка, надпочечники, лимфоидная ткань, стенки тонкого кишечника и сосудов, а в нервной системе — области активной миелинизации. Наблюдается массивная инфильтрация этих органов макрофагами, нагруженными эфирами холестерина и триглицеридами. В зависимости от начала заболевания выделяют две клинические формы — неонатальную и более позднюю, которую называют болезнью накопления эфиров холестерина.

При классической неонатальной форме болезнь развивается вскоре после рождения или в течение первого полугодия жизни и проявляется в виде гепатосplenомегалии, персистирующей рвоты, диареи, стеатореи, прогрессирующей анемии. Возможны приступы субфебрильной лихорадки. Наблюдается выраженная задержка физического и психомоторного развития. Рентгенологически выявляется кальцификация и увеличение надпочечников. Больные чаще всего погибают в первом полугодии жизни, иногда в начале второго года от кахексии, рекуррентных инфекций, прогрессирующих неврологических расстройств.

Болезнь накопления эфиров холестерина характеризуется поздним началом, варьирующим в диапазоне от 2 до 10 лет, а иногда до более чем 20 лет. Течение заболевания прогредиентное, медленно прогрессирующее. Неврологическая симптоматика, как правило, отсутствует. Основное, а иногда единственное проявление заболевания — гепатомегалия, обусловленная инфильтрацией печени макрофагами, нагруженными эфирами холестерина. Следствием гепатомегалии может быть фиброз и цирроз печени. Пациенты могут предъявлять жалобы на рецидивирующие боли в животе. Гиперхолестеринемия наблюдается практически у всех больных. У части больных развиваются спленомегалия, варикозное расширение вен пищевода, носовые или кишечные кровотечения, почечная недостаточность. Накопление нейтральных жиров и эфиров холестерина в артериях предрасполагает к развитию атеросклероза. Хотя общий витальный прогноз благоприятный, некоторые пациенты могут погибать во второй или третьей декаде жизни от острой почечной недостаточности.

Суммарная частота болезни Вольмана не превышает 1 : 350 000 новорожденных.

Биохимические основы патогенеза

Кислая липаза А — одна из лизосомных гидролаз. Ее основная функция состоит в гидролизе в лизосомах эфиров холестерина, связанных с ЛНП. Высвобождение холестерина супрессирует его дальнейший синтез и стимулирует эстерификацию.

Активность кислой липазы А полностью отсутствует или снижена более чем в 200 раз у пациентов с неонатальной формой болезни Вольмана и от 50 до 100 раз при болезни накопления эфиров холестерина [18]. Таким образом, различия в характере течения этих двух аллельных заболеваний определяются остаточной активностью фермента.

Картирование гена *LIPA*

Методом соматической гибридизации ген лизосомной кислой липазы А человека — *LIPA* — был картирован в длинном плече хромосомы 10 [39]. В дальнейшем с использованием метода флуоресцентной гибридизации *in situ* было показано, что ген *LIPA* расположен в области 10q23.31 [13]. Он состоит из 10 экзонов, распределенных на площади в 36 кб геномной ДНК [14]. Изоляция и секвенирование кДНК гена *LIPA* позволили определить аминокислотную последовательность кислой липазы А [12].

Мутации в гене *LIPA*

Окончательным доказательством аллельной природы неонатальной болезни Вольмана и болезни

накопления эфиров холестерина стало обнаружение мутаций в гене *LIPA* у пациентов с каждым из этих двух заболеваний. Из 6 идентифицированных в гене *LIPA* мутаций 3 приводят к преждевременному прекращению синтеза белка, 2 нарушают процесс сплайсинга и 1 сопровождается заменой аминокислоты, разрушающей структуру альфа-спирали белка [1, 12, 15, 28, 37, 53]. Причем последняя мутация Leu179Pro, так же как инсерция одного нуклеотида 1-BP INS, 634T, в компаунде с другими мутациями была найдена как при неонатальной болезни Вольмана, так и при болезни накопления эфиров холестерина. Одна из сплайсинговых мутаций, сопровождающаяся в 97 % случаев ошибочным вырезанием экзона 8, по-видимому, является мажорной, так как часто обнаруживается у неродственных пациентов с болезнью накопления эфиров холестерина [15]. В 3 % случаев сплайсинг оказывается не нарушенным, и синтезируется нормальный фермент. Остаточная активность кислой липазы А у больных, несущих эту мутацию, может достигать 9 %, что объясняет мягкое течение заболевания.

Экспериментальные модели

Путем направленного разрушения гена *Lip1* создана трансгенная «нокаут»-линия мышей с нулевой активностью лизосомной кислой липазы А — Lal(−/−) [23]. У гетерозиготных животных активность кислой липазы составляла около 50 % и не наблюдалось накопления липидов. Гомозиготные мутанты развивались нормально, несмотря на массивные, в 30 раз превосходящие норму накопления эфиров холестерина и триглицеридов во многих органах. В возрасте 21 дня печень животных была вдвое больше нормы и имела желто-оранжевую окраску. При этом мутантные самцы и самки сохраняли плодовитость. Эта линия мышей Lal(−/−) фенотипически моделирует болезнь накопления эфиров холестерина человека, хотя биохимически и гистопатологически она в большей степени похожа на болезнь Вольмана.

На этой модели показана возможность генной коррекции основных клинических проявлений болезни накопления эфиров холестерина. Введение 2-месячным мутантным Lal(−/−) мышам путем инъекции в хвостовую вену нормального гена *LIPA* человека в составе экспрессирующего вектора (phLAL) и обеспечение его доставки в лизосомы с помощью рецептора M6 приводило после 30 дней лечения к исчезновению желто-оранжевой окраски печени и снижению ее веса на 36 % [24]. При этом содержание эфиров холестерина и триглицеридов в печени уменьшилось на 50 %, в селезенке — на 69 % и в тонком кишечнике — на 50 %.

Лабораторная диагностика и лечение

Диагностика заболевания основана на определении активности кислой лизосомной липазы в сочетании с клиническими проявлениями заболевания и биохимическими показателями накопления эфиров холестерина и триглицеридов. С привлечением специалистов различных медицинских профилей — клинических генетиков, гепатологов, гастроэнтерологов, кардиологов и гастроэнтерологов — разработана международная программа для раннего выявления больных с недостаточностью кислой лизосомной липазы, их мониторинга и определения клинических критерий прогноза заболевания [40]. Цель этой программы — развитие междисциплинарного подхода для оказания интегрированной медицинской помощи взрослым пациентам с накоплением эфиров холестерина.

Предложена и прошла 3-ю фазу клинических испытаний ФЗТ для детей и взрослых с недостаточностью кислой лизосомной липазы [19]. Она основана на использовании рекомбинантного фермента — себелипазы альфа. Испытание продолжалось 20 нед., в нем приняли участие 66 пациентов. Наблюдали достоверное улучшение состояния печени, оцениваемое по содержанию уровня аланинаминотрансферазы и некоторых других патологических проявлений дислипидемии. Таким образом, себелипаза альфа рассматривается как перспективный препарат для лечения болезни накопления эфиров холестерина [63].

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Информированное согласие на публикацию.

Авторы получили письменное согласие пациентов и их представителей на публикацию медицинских данных.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев В.В., Алипов А.Н., Андреев В.А., и др. Медицинские лабораторные технологии. 3-е изд., доп. и перераб. Т. 2. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 792 с.
2. Горбунова В.Н. Наследственные болезни обмена. Лизосомные болезни накопления // Педиатр. 2021. Т. 12, № 2. С. 73–83. DOI: 10.17816/PED12273-83
3. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. Санкт-Петербург: Специальная Литература, 1997. 287 с.
4. Горбунова В.Н., Бучинская Н.В. Лизосомные болезни накопления: мукополисахаридозы I и II типов // Педиатр. 2021. Т. 12, № 3. С. 69–83. DOI: 10.17816/PED12369-83
5. Горбунова В.Н., Бучинская Н.В. Лизосомные болезни накопления: мукополисахаридоз III типа, синдром Санфилиппо // Педиатр. 2021. Т. 12, № 4. С. 69–82. DOI: 10.17816/PED12469-81
6. Горбунова В.Н. Бучинская Н.В. Лизосомные болезни накопления. Мукополисахаридозы IV, VI и VII типов — синдромы Моркио, Марото — Лами и Сляя // Педиатр. 2021. Т. 12, № 6. С. 107–125. DOI: 10.17816/PED126107-125
7. Горбунова В.Н., Бучинская Н.В., Янус Г.А., Костик М.М. Лизосомные болезни накопления. Сфинголипидозы — болезни Фабри, Гоше, Фарбера // Педиатр. 2022. Т. 13, № 2. С. 61–88. DOI: 10.17816/PED13261-88
8. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ. Справочное пособие для врачей. Москва: РОО Центр социальной адаптации и реабилитации детей «Фохат», 2005. 364 с.
9. Ассоциация медицинских генетиков, Союз педиатров России. Клинические рекомендации. Болезнь Ниманна — Пика тип С. Москва: МЗ РФ, 2019. 59 с.
10. Новиков П.В., Семячкина А.Н., Воинова В.Ю., Захарова Е.Ю. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Ниманна — Пика тип С. Москва: МЗ РФ, 2013. 29 с.
11. Семячкина А.Н., Букина Т.М., Курбатов М.Б., и др. Болезнь Ниманна — Пика типа А у детей // Российский вестник педиатрии и перинатологии. 2008. Т. 53, № 4. С. 52–57.
12. Anderson R.A., Byrum R.S., Coates P.M., Sando G.N. Mutations at the lysosomal acid cholesteryl ester hydrolase gene locus in Wolman disease // PNAS. 1994. Vol. 91, No. 7. P. 2718–2722. DOI: 10.1073/pnas.91.7.2718

13. Anderson R.A., Rao N., Byrum R.S., et al. *In situ* localization of the genetic locus encoding the lysosomal acid lipase/cholesterol esterase (LIPA) deficient in Wolman disease to chromosome 10q23.2-q23.3 // *Genomics*. 1993. Vol. 15, No. 1. P. 245–247. DOI: 10.1006/geno.1993.1052
14. Aslanidis C., Klima H., Lackner K.J., Schmitz G. Genomic organization of the human lysosomal acid lipase gene (LIPA) // *Genomics*. 1994. Vol. 20, No. 2. P. 329–331. DOI: 10.1006/geno.1994.1180
15. Aslanidis C., Ries S., Fehringer P., et al. Genetic and biochemical evidence that CESD and Wolman disease are distinguished by residual lysosomal acid lipase activity // *Genomics*. 1996. Vol. 33, No. 1. P. 85–93. DOI: 10.1006/geno.1996.0162
16. Bauer P., Knoblich R., Bauer C., et al. NPC1: complete genomic sequence, mutation analysis, and characterization of haplotypes // *Hum Mutat*. 2002. Vol. 19, No. 1. P. 30–38. DOI: 10.1002/humu.10016
17. Blanchette-Mackie E.J., Dwyer N.K., Avene L.M., et al. Type C Niemann–Pick disease: low density lipoprotein uptake is associated with premature cholesterol accumulation in the Golgi complex and excessive cholesterol storage in lysosomes // *PNAS*. 1988. Vol. 85, No. 21. P. 8022–8026. DOI: 10.1073/pnas.85.21.8022
18. Burton B.K., Reed S.P. Acid lipase cross-reacting material in Wolman disease and cholesterol ester storage disease // *Am J Hum Genet*. 1981. Vol. 33. P. 203–208.
19. Burton B.K., Balwani M., Feillet F., et al. A phase 3 trial of sebelipase alfa in lysosomal acid lipase deficiency // *N Engl J Med*. 2015. Vol. 373. P. 1010–1020. DOI: 10.1056/NEJMoa1501365
20. Carstea E.D., Morris J.A., Coleman K.G., et al. Niemann–Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis // *Science*. 1997. Vol. 277. P. 228–231.
21. Carstea E.D., Polymeropoulos M.H., Parker C.C., et al. Linkage of Niemann–Pick disease type C to human chromosome 18 // *PNAS*. 1993. Vol. 90, No. 5. P. 2002–2004. DOI: 10.1073/pnas.90.5.2002
22. Davidson C.D., Ali N.F., Micsenyi M.C., et al. Chronic cyclodextrin treatment of murine Niemann–Pick C disease ameliorates neuronal cholesterol and glycosphingolipid storage and disease progression // *PLoS One*. 2009. Vol. 4, No. 9. ID: 0006951. DOI: 10.1371/journal.pone.0006951
23. Du H., Duanmu M., Witte D., Grabowski G.A. Targeted disruption of the mouse lysosomal acid lipase gene: long-term survival with massive cholestryler ester and triglyceride storage // *Hum Mol Genet*. 1998. Vol. 7, No. 9. P. 1347–1354. DOI: 10.1093/hmg/7.9.1347
24. Du H., Schiavi S., Levine M., et al. Enzyme therapy for lysosomal acid lipase deficiency in the mouse // *Hum Mol Genet*. 2001. Vol. 10, No. 16. P. 1639–1648. DOI: 10.1093/hmg/10.16.1639
25. Elrick M.J., Pacheco C.D., Yu T., et al. Conditional Niemann–Pick C mice demonstrate cell autonomous Purkinje cell neurodegeneration // *Hum Mol Genet*. 2010. Vol. 19, No. 5. P. 837–847. DOI: 10.1093/hmg/ddp552
26. Fernandez-Valero E.M., Ballart A., Iturriaga C., et al. Identification of 25 new mutations in 40 unrelated Spanish Niemann–Pick type C patients: genotype-phenotype correlations // *Clin Genet*. 2005. Vol. 68, No. 3. P. 245–254. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2005.00490.x
27. Friedland N., Liou H.-L., Lobel P., Stock A.M. Structure of a cholesterol-binding protein deficient in Niemann–Pick type C2 disease // *PNAS*. 2003. Vol. 100, No. 5. P. 2512–2517. DOI: 10.1073/pnas.0437840100
28. Fujiyama J., Sakuraba H., Kuriyama M., et al. A new mutation (LIPA Tyr22X) of lysosomal acid lipase gene in a Japanese patient with Wolman disease // *Hum Mutat*. 1996. Vol. 8. P. 377–380. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1004(1996)8:4<377::AID-HUMU15>3.0.CO;2-#
29. Garver W.S., Francis G.A., Jelinek D., et al. The National Niemann–Pick C1 Disease Database: report of clinical features and health problems // *Am J Med Genet*. 2007. Vol. 143A, No. 11. P. 1204–1211. DOI: 10.1002/ajmg.a.31735
30. Greer W.L., Riddell D.C., Byers D.M., et al. Linkage of Niemann–Pick disease type D to the same region of human chromosome 18 as Niemann–Pick disease type C // *Am J Hum Genet*. 1997. Vol. 61. P. 139–142. DOI: 10.1086/513899
31. Greer W.L., Riddell D.C., Gillan T.L., et al. The Nova Scotia (type D) form of Niemann–Pick disease is caused by a 3097G-T transversion in NPC1 // *Am J Hum Genet*. 1998. Vol. 63, No. 1. P. 52–54. DOI: 10.1086/301931
32. Greer W.L., Riddell D.C., Murty S., et al. Linkage disequilibrium mapping of the Nova Scotia variant of Niemann–Pick disease // *Clin Genet*. 1999. Vol. 55, No. 4. P. 248–255. DOI: 10.1034/j.1399-0004.1999.550406.x
33. Horinouchi K., Erlich S., Perl D.P., et al. Acid sphingomyelinase deficient mice: a model of types A and B Niemann–Pick disease // *Nat Genet*. 1995. Vol. 10. P. 288–293. DOI: 10.1038/ng0795-288
34. Ioannou Y.A. The structure and function of the Niemann–Pick C1 protein // *Mol Genet Metab*. 2000. Vol. 71, No. 1–2. P. 175–181. DOI: 10.1006/mgme.2000.3061
35. Kirchhoff C., Osterhoff C., Habben I., Ivell R. Cloning and analysis of mRNAs expressed specifically in the human epididymis // *Int J Androl*. 1990. Vol. 13, No. 2. P. 155–167. DOI: 10.1111/j.1365-2605.1990.tb00972.x
36. Kirkegaard T., Roth A.G., Petersen N.H.T., et al. Hsp70 stabilizes lysosomes and reverts Niemann–Pick disease-associated lysosomal pathology // *Nature*. 2010. Vol. 463. P. 549–553. DOI: 10.1038/nature08710
37. Klima H., Ullrich K., Aslanidis C., et al. A splice junction mutation causes deletion of a 72-base exon from the mRNA for lysosomal acid lipase in a patient with

- cholesteryl ester storage disease // *J Clin Invest.* 1993. Vol. 92, No. 6. P. 2713–2718. DOI: 10.1172/JCI116888
38. Ko D.C., Binkley J., Sidow A., Scott M.P. The integrity of a cholesterol-binding pocket in Niemann–Pick C2 protein is necessary to control lysosome cholesterol levels // *PNAS.* 2003. Vol. 100, No. 5. P. 2518–2525. DOI: 10.1073/pnas.0530027100
39. Koch G., Lalley P.A., McAvoy M., Shows T.B. Assignment of LIPA, associated with human acid lipase deficiency to human chromosome 10 and comparative assignment to mouse chromosome 19 // *Somat Cell Genet.* 1981. Vol. 7. P. 345–358. DOI: 10.1007/BF01538859
40. Kohli R., Ratziu V., Fiel M.I., et al. Initial assessment and ongoing monitoring of lysosomal acid lipase deficiency in children and adults: Consensus recommendations from an international collaborative working group // *Mol Genet Metab.* 2020. Vol. 129, No. 2. P. 59–66. DOI: 10.1016/j.ymgme.2019.11.004
41. Kurimasa A., Ohno K., Oshimura M. Restoration of cholesterol metabolism in 3T3 cell lines derived from the sphingomyelinosis mouse (spm/spm) by transfer of a human chromosome 18 // *Hum Genet.* 1993. Vol. 92. P. 157–162. DOI: 10.1007/BF00219684
42. Langmade S.J., Gale S.E., Frolov A., et al. Pregnane X receptor (PXR) activation: a mechanism for neuroprotection in a mouse model of Niemann–Pick C disease // *PNAS.* 2006. Vol. 103, No. 37. P. 13807–13812. DOI: 10.1073/pnas.0606218103
43. Levran O., Desnick R.J., Schuchman E.H. Niemann–Pick type B disease: identification of a single codon deletion in the acid sphingomyelinase gene and genotype/phenotype correlations in the type A and B patients // *J Clin Invest.* 1991. Vol. 88, No. 3. P. 806–810. DOI: 10.1172/JCI115380
44. Levran O., Desnick R.J., Schuchman E.H. Identification and expression of a common missense mutation (L302P) in the acid sphingomyelinase gene of Ashkenazi Jewish type A Niemann–Pick disease patients // *Blood.* 1992. Vol. 80. P. 2081–2087. DOI: 10.1182/blood.V80.8.2081.bloodjournal8082081
45. Levran O., Desnick R.J., Schuchman E.H. Type A Niemann–Pick disease: a frame shift mutation in the acid sphingomyelinase gene (fsP330) occurs in Ashkenazi Jewish patients // *Hum Mutat.* 1993. Vol. 2, No. 4. P. 317–319. DOI: 10.1002/humu.1380020414
46. Liu B. Therapeutic potential of cyclodextrins in the treatment of Niemann–Pick type C disease // *Clin Lipidol.* 2012. Vol. 7, No. 3. P. 289–301. DOI: 10.2217/clp.12.31
47. Lloyd-Evans E., Morgan A.J., He X., et al. Niemann–Pick disease type C1 is a sphingosine storage disease that causes deregulation of lysosomal calcium // *Nat Med.* 2008. Vol. 14. P. 1247–1255. DOI: 10.1038/nm.1876
48. Loftus S.K., Erickson R.P., Walkley S.U., et al. Rescue of neurodegeneration in Niemann–Pick C mice by a prion-promoter-driven Npc1 cDNA transgene // *Hum Mol Genet.* 2002. Vol. 11, No. 24. P. 3107–3114. DOI: 10.1093/hmg/11.24.3107
49. Loftus S.K., Morris J.A., Carstea E.D., et al. Murine model of Niemann–Pick C disease: mutation in a cholesterol homeostasis gene // *Science.* 1997. Vol. 277, No. 5323. P. 232–235. DOI: 10.1126/science.277.5323.232
50. Lyseng-Williamson K.A. Miglustat: a review of its use in Niemann–Pick disease type C // *Drugs.* 2014. Vol. 74, No. 1. P. 61–74. DOI: 10.1007/s40265-013-0164-6
51. McGovern M.M., Lippa N., Bagiella E., et al. Morbidity and mortality in type B Niemann–Pick disease // *Genet Med.* 2013. Vol. 15, No. 8. P. 618–623. DOI: 10.1038/gim.2013.4
52. Marathe S., Miranda S.R.P., Devlin C., et al. Creation of a mouse model for non-neurological (type B) Niemann–Pick disease by stable, low level expression of lysosomal sphingomyelinase in the absence of secretory sphingomyelinase: relationship between brain intra-lysosomal enzyme activity and central nervous system function // *Hum Mol Genet.* 2000. Vol. 9, No. 13. P. 1967–1976. DOI: 10.1093/hmg/9.13.1967
53. Maslen C.L., Babcock D., Illingworth D.R. Occurrence of a mutation associated with Wolman disease in a family with cholesteryl ester storage disease // *J Inher Metab Dis.* 1995. Vol. 18, No. 5. P. 620–623. DOI: 10.1007/BF02436008
54. McGovern M.M., Wasserstein M.P., Kirmse B., et al. Novel first-dose adverse drug reactions during a phase I trial of olipudase alfa (recombinant human acid sphingomyelinase) in adults with Niemann–Pick disease type B (acid sphingomyelinase deficiency) // *Genet Med.* 2016. Vol. 18, No. 1. P. 34–40. DOI: 10.1038/gim.2015.24
55. Millat G., Chikh K., Naureckiene S., et al. Niemann–Pick disease type C: spectrum of HE1 mutations and genotype/phenotype correlations in the NPC2 group // *Am J Hum Genet.* 2001. Vol. 69, No. 5. P. 1013–1021. DOI: 10.1086/324068
56. Millat G., Marcais C., Tomasetto C., et al. Niemann–Pick C1 disease: correlations between NPC1 mutations, levels of NPC1 protein, and phenotypes emphasize the functional significance of the putative sterol-sensing domain and of the cysteine-rich luminal loop // *Am J Hum Genet.* 2001. Vol. 68, No. 6. P. 1373–1385. DOI: 10.1086/320606
57. Miyawaki S., Yoshida H., Mitsuoka S., et al. A mouse model for Niemann–Pick disease: influence of genetic background on disease expression in spm/spm mice // *J Hered.* 1986. Vol. 77, No. 6. P. 379–384. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a110265
58. Morris J.A., Zhang D., Coleman K.G., et al. The genomic organization and polymorphism analysis of the human Niemann–Pick C1 gene // *Biochem Biophys Res Commun.* 1999. Vol. 261, No. 2. P. 493–498. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1070

59. Naureckiene S., Sleat D.E., Lackland H., et al. Identification of HE1 as the second gene of Niemann–Pick C disease // *Science*. 2000. Vol. 290, No. 5500. P. 2298–2301. DOI: 10.1126/science.290.5500.2298
60. Otterbach B., Stoffel W. Acid sphingomyelinase-deficient mice mimic the neurovisceral form of human lysosomal storage disease (Niemann–Pick disease) // *Cell*. 1995. Vol. 81. P. 1053–1061. DOI: 10.1016/S0092-8674(05)80010-8
61. Ottinger E.A., Kao M.L., Carrillo-Carrasco N., et al. Collaborative development of 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin for the treatment of Niemann–Pick type C1 disease // *Curr Top Med Chem*. 2014. Vol. 14, No. 3. P. 330–339. DOI: 10.2174/1568026613666131127160118
62. Park W.D., O'Brien J.F., Lundquist P.A., et al. Identification of 58 novel mutations in Niemann–Pick disease type C: correlation with biochemical phenotype and importance of PTC1-like domains in NPC1 // *Hum Mutat*. 2003. Vol. 22, No. 4. P. 313–325. DOI: 10.1002/humu.10255
63. Pastores G.M., Hughes D.A. Lysosomal acid lipase deficiency: therapeutic options // *Drug Des Devel Ther*. 2020. Vol. 14. P. 591–601. DOI: 10.2147/DDDT.S149264
64. Patel S.C., Suresh S., Kumar U., et al. Localization of Niemann–Pick C1 protein in astrocytes: implications for neuronal degeneration in Niemann–Pick type C disease // *PNAS*. 1999. Vol. 96, No. 4. P. 1657–1662. DOI: 10.1073/pnas.96.4.1657
65. Patterson M.C., Hendriksz Ch.J., Walterfang M., et al. Frits Wijburg on behalf of the NP-C Guidelines Working Group Recommendations for the diagnosis and management of Niemann–Pick disease type C: An update // *Mol Genet Metab*. 2012. Vol. 106, No. 3. P. 330–344. DOI: 10.1016/j.ymgme.2012.03.012
66. Patterson M.C., Vecchio D., Prady H., et al. Miglustat for treatment of Niemann–Pick C disease: a randomised controlled study // *Lancet Neurol*. 2007. Vol. 6, No. 9. P. 765–772. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70194-1
67. Da Veiga Pereira L., Desnick R.J., Adler D.A., et al. Regional assignment of the human acid sphingomyelinase gene (SMPD1) by PCR analysis of somatic cell hybrids and *in situ* hybridization to 11p15.1-p15.4 // *Genomics*. 1991. Vol. 9, No. 2. P. 229–234. DOI: 10.1016/0888-7543(91)90246-B
68. Quintern L.E., Schuchman E.H., Levran O., et al. Isolation of cDNA clones encoding human acid sphingomyelinase: occurrence of alternatively processed transcript // *EMBO J*. 1989. Vol. 5. P. 2469–2473. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb08382.x
69. Ribeiro I., Marcao A., Amaral O., et al. Niemann–Pick type C disease: *NPC1* mutations associated with severe and mild cellular cholesterol trafficking alterations // *Hum Genet*. 2001. Vol. 109. P. 24–32. DOI: 10.1007/s004390100531
70. Sakai Y., Miyawaki S., Shimizu A., et al. A molecular genetic linkage map of mouse chromo- some 18, including *spm*, *Grl1*, *Fim-2/c-fms*, and *Mbp* // *Biochem Genet*. 1991. Vol. 29. P. 103–113. DOI: 10.1007/BF00578243
71. Samaranch L., Pérez-Cañamás A., Soto-Huelin B., et al. Adeno-associated viral vector serotype 9-based gene therapy for Niemann–Pick disease type A // *Sci Transl Med*. 2019. Vol. 11, No. 506. ID eaat3738. DOI: 10.1126/scitranslmed.aat3738
72. Schuchman E.H., Suchi M., Takahashi T., et al. Human acid sphingomyelinase: isolation, nucleotide sequence, and expression of the full-length and alternatively spliced cDNAs // *J Biol Chem*. 1991. Vol. 266, No. 13. P. 8531–8539. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)93007-3
73. Schuchman E.H., Levran O., Pireira L.V., Desnick R.J. Structural organization and complete nucleotide sequence of the gene encoding human acid sphingomyelinase (SPMD1) // *Genomics*. 1992. Vol. 12, No. 2. P. 197–205. DOI: 10.1016/0888-7543(92)90366-Z
74. Schuchman E.H. The pathogenesis and treatment of acid sphingomyelinase-deficient Niemann–Pick disease // *J Inherit Metab Dis*. 2007. Vol. 30, No. 5. P. 654–663. DOI: 10.1007/s10545-007-0632-9
75. Sidhu R., Kell P., Dietzen D.J., et al. Application of N-palmitoyl-O-phosphocholineserine for diagnosis and assessment of response to treatment in Niemann–Pick type C disease // *Mol Genet Metab*. 2020. Vol. 129, No. 4. P. 292–302. DOI: 10.1016/j.ymgme.2020.01.007
76. Simonaro C.M., Desnick R.J., McGovern M.M., et al. The demographics and distribution of type B Niemann–Pick disease: novel mutations lead to new genotype/phenotype correlations // *Am J Hum Genet*. 2002. Vol. 71, No. 6. P. 1413–1419. DOI: 10.1086/345074
77. Sleat D.E., Wiseman J.A., El-Banna M., et al. Genetic evidence for nonredundant functional cooperativity between NPC1 and NPC2 in lipid transport // *PNAS*. 2004. Vol. 101, No. 16. P. 5886–5891. DOI: 10.1073/pnas.0308456101
78. Steinberg S.J., Ward C.P., Fensom A.H. Complementation studies in Niemann–Pick disease type C indicate the existence of a second group // *J Med Genet*. 1994. Vol. 31. P. 317–320. DOI: 10.1136/jmg.31.4.317
79. Suchi M., Denur T., Desnick R.J., et al. Retroviral-mediated transfer of the human acid sphingomyelinase cDNA: correction metabolic defect in cultured Niemann–Pick disease cells // *PNAS*. 1992. Vol. 89, No. 8. P. 3227–3231. DOI: 10.1073/pnas.89.8.3227
80. Takahashi T., Suchi M., Desnick R.J., et al. Identification and expression of five mutations in the human acid sphingomyelinase gene causing type A and B Niemann–Pick disease: molecular evidence for genetic heterogeneity in the neuronopathic and non-neuronopathic forms // *J Biol Chem*. 1992. Vol. 267, No. 18. P. 12552–12558. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)42312-5

81. Thomas G.H., Tuck-Muller C.M., Miller C.S., Reynolds L.W. Correction of sphingomyelinase deficiency in Niemann–Pick disease type C fibroblasts by removal of lipoprotein fraction from culture media // *J Inherit Metab Dis.* 1989. Vol. 12, No. 2. P. 139–151. DOI: 10.1007/BF01800716
82. Vance J.E. Lipid imbalance in the neurological disorder, Niemann–Pick C disease // *FEBS Lett.* 2006. Vol. 580, No. 23. P. 5518–5524. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.06.008
83. Vanier M.T., Duthel S., Rodriguez-Lafrasse C., et al. Genetic heterogeneity in Niemann–Pick C disease: a study using somatic cell hybridization and linkage analysis // *Am J Hum Genet.* 1996. Vol. 58. P. 118–125.
84. Vanier M.T., Ferlinz K., Rousson R., et al. Deletion of arginine (608) in acid sphingomyelinase is the prevalent mutation among Niemann–Pick disease type B patients from northern Africa // *Hum Genet.* 1993. Vol. 92. P. 325–330. DOI: 10.1007/BF01247328
85. Vanier M.T., Millat G. Niemann–Pick disease type C // *Clin Genet.* 2003. Vol. 64, No. 4. P. 269–281. DOI: 10.1034/j.1399-0004.2003.00147.x
86. Vanier M.T., Rodriguez-Lafrasse C., Rousson R., et al. Type C Niemann–Pick disease: biochemical aspects and phenotypic heterogeneity // *Dev Neurosci.* 1991. Vol. 13, No. 4–5. P. 307–314. DOI: 10.1159/000112178
87. Vanier M.T., Wenger D.A., Comly M.E., et al. Niemann–Pick disease group C: clinical variability and diagnosis based on defective cholesterol esterification: a collaborative study on 70 patients // *Clin Genet.* 1988. Vol. 33, No. 5. P. 331–348. DOI: 10.1111/j.1399-0004.1988.tb03460.x
88. Verot L., Chikh K., Freydier E., et al. Niemann–Pick C disease: functional characterization of three NPC2 mutations and clinical and molecular update on patients with NPC2 // *Clin Genet.* 2007. Vol. 71, No. 4. P. 320–330. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2007.00782.x
89. Wasserstein M.P., Jones S.A., Soran H., et al. Successful within-patient dose escalation of olipudase alfa in acid sphingomyelinase deficiency // *Mol Genet Metab.* 2015. Vol. 116, No. 1–2. P. 88–97. DOI: 10.1016/j.ymgme.2015.05.013
90. Wassif C.A., Cross J.L., Iben J., et al. High incidence of unrecognized visceral/neurological late-onset Niemann–Pick disease, type C1, predicted by analysis of massively parallel sequencing data sets // *Genet Med.* 2016. Vol. 18, No. 1. P. 41–48. DOI: 10.1038/gim.2015.25
91. Winsor E.J.T., Welch J.P. Genetic and demographic aspects of Nova Scotia Niemann–Pick disease (type D) // *Am J Hum Genet.* 1978. Vol. 30. P. 530–538.
92. Yamamoto T., Nanba E., Ninomiya H., et al. NPC1 gene mutations in Japanese patients with Niemann–Pick disease type C // *Hum Genet.* 1999. Vol. 105. P. 10–16. DOI: 10.1007/s004399900059

REFERENCES

1. Alekseev VV, Alipov AN, Andreev VA, et al. *Meditinskije laboratornye tekhnologii. 3rd edition. Vol. 2.* Moscow: GEHOTAR-Media, 2013. 792 p. (In Russ.)
2. Gorbunova VN. Congenital metabolic diseases. Lysosomal storage diseases. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2021;12(2):73–83. (In Russ.) DOI: 10.17816/PED12273-83
3. Gorbunova VN, Baranov VS. *Vvedenie v molekulyarnuyu diagnostiku i genoterapiyu nasledstvennykh zabolеваний.* Saint Petersburg: Spetsial'naya Literatura, 1997. 287 p. (In Russ.)
4. Gorbunova VN, Buchinskaia NV. Lysosomal storage diseases: mucopolysaccharidosis type I and II. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2021;12(30):69–83. (In Russ.) DOI: 10.17816/PED12369-83
5. Gorbunova VN, Buchinskaia NV. Lysosomal storage diseases. Mucopolysaccharidosis type III, Sanfilippo syndrome. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2021;12(4):69–81. (In Russ.) DOI: 10.17816/PED12469-81
6. Gorbunova VN, Buchinskaia NV. Lysosomal storage diseases. Mucopolysaccharidosis types IV, VI, and VII – Morquio, Marote–Lamy and Sly syndrome. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2021;12(6):107–125. (In Russ.) DOI: 10.17816/PED126107-125
7. Gorbunova VN, Buchinskaia NV, Janus GA, Kosistik MM. Lysosomal storage diseases. Sphingolipidoses – Fabry, Gaucher and Farber diseases. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2022;13(2):61–88. (In Russ.) DOI: 10.17816/PED13261-88
8. Krasnopol'skaya KD. *Nasledstvennye bolezni obmena veshchestv. Spravochnoe posobie dlya vrachei.* Moscow: ROO Tsentr sotsial'noi adaptatsii i reabilitatsii detei "Fokhat", 2005. 364 p. (In Russ.)
9. Assotsiatsiya meditsinskikh genetikov, Soyuz pediatrov Rossii. *Klinicheskie rekomendatsii. Bolezn' Nimanna-Pika tip S.* Moscow: MZ RF; 2019. 59 p. (In Russ.)
10. Novikov PV, Semyachkina AN, Voinova VYu, Zakhrova EYu. *Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu bolezni Nimanna-Pika tip S.* Moscow: MZ RF; 2013. 29 p. (In Russ.)
11. Semyachkina AN, Bukina TM, Kurbatov MB, et al. Niemann–Pick a disease in children. *Russian Bulletin of perinatology and pediatrics.* 2008;53(4):52–57. (In Russ.)
12. Anderson RA, Byrum RS, Coates PM, Sando GN. Mutations at the lysosomal acid cholesteryl ester hydrolase gene locus in Wolman disease. *PNAS.* 1994;91(7): 2718–2722. DOI: 10.1073/pnas.91.7.2718
13. Anderson RA, Rao N, Byrum RS, et al. *In situ* localization of the genetic locus encoding the lysosomal acid lipase/cholesteryl esterase (LIPA) deficient in Wolman disease to chromosome 10q23.2-q23.3. *Genomics.* 1993;15(1):245–247. DOI: 10.1006/geno.1993.1052

14. Aslanidis C, Klima H, Lackner KJ, Schmitz G. Genomic organization of the human lysosomal acid lipase gene (LIPA). *Genomics*. 1994;20(2):329–331. DOI: 10.1006/geno.1994.1180
15. Aslanidis C, Ries S, Fehringer P, et al. Genetic and biochemical evidence that CESD and Wolman disease are distinguished by residual lysosomal acid lipase activity. *Genomics*. 1996;33(1):85–93. DOI: 10.1006/geno.1996.0162
16. Bauer P, Knoblich R, Bauer C, et al. NPC1: complete genomic sequence, mutation analysis, and characterization of haplotypes. *Hum Mutat*. 2002;19(1):30–38. DOI: 10.1002/humu.10016
17. Blanchette-Mackie EJ, Dwyer NK, Avende LM, et al. Type C Niemann–Pick disease: low density lipoprotein uptake is associated with premature cholesterol accumulation in the Golgi complex and excessive cholesterol storage in lysosomes. *PNAS*. 1988;85(21): 8022–8026. DOI: 10.1073/pnas.85.21.8022
18. Burton BK, Reed SP. Acid lipase cross-reacting material in Wolman disease and cholesterol ester storage disease. *Am J Hum Genet*. 1981;33:203–208.
19. Burton BK, Bhalwani M, Feillet F, et al. A phase 3 trial of sebelipase alfa in lysosomal acid lipase deficiency. *N Engl J Med*. 2015;373:1010–1020. DOI: 10.1056/NEJMoa1501365
20. Carstea ED, Morris JA, Coleman KG, et al. Niemann–Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science*. 1997;277:228–231.
21. Carstea ED, Polymeropoulos MH, Parker CC, et al. Linkage of Niemann–Pick disease type C to human chromosome 18. *PNAS*. 1993;90(5):2002–2004. DOI: 10.1073/pnas.90.5.2002
22. Davidson CD, Ali NF, Micsenyi MC, et al. Chronic cyclodextrin treatment of murine Niemann–Pick C disease ameliorates neuronal cholesterol and glycosphingolipid storage and disease progression. *PLoS One*. 2009;4(9): 0006951. DOI: 10.1371/journal.pone.0006951
23. Du H, Duanmu M, Witte D, Grabowski GA. Targeted disruption of the mouse lysosomal acid lipase gene: long-term survival with massive cholestrylo ester and triglyceride storage. *Hum Mol Genet*. 1998;7(9): 1347–1354. DOI: 10.1093/hmg/7.9.1347
24. Du H, Schiavi S, Levine M, et al. Enzyme therapy for lysosomal acid lipase deficiency in the mouse. *Hum Mol Genet*. 2001;10(16):1639–1648. DOI: 10.1093/hmg/10.16.1639
25. Elrick MJ, Pacheco CD, Yu T, et al. Conditional Niemann–Pick C mice demonstrate cell autonomous Purkinje cell neurodegeneration. *Hum Mol Genet*. 2010;19(5):837–847. DOI: 10.1093/hmg/ddp552
26. Fernandez-Valero EM, Ballart A, Iturriaga C, et al. Identification of 25 new mutations in 40 unrelated Spanish Niemann–Pick type C patients: genotype–phenotype correlations. *Clin Genet*. 2005;68(3):245–254. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2005.00490.x
27. Friedland N, Liou H-L, Lobel P, Stock AM. Structure of a cholesterol-binding protein deficient in Niemann–Pick type C2 disease. *PNAS*. 2003;100(5):2512–2517. DOI: 10.1073/pnas.0437840100
28. Fujiyama J, Sakuraba H, Kuriyama M, et al. A new mutation (LIPA Tyr22X) of lysosomal acid lipase gene in a Japanese patient with Wolman disease. *Hum Mutat*. 1996;8:377–380. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1004(1996)8:4<377::AID-HUMU15>3.0.CO;2-#
29. Garver WS, Francis GA, Jelinek D, et al. The National Niemann–Pick C1 Disease Database: report of clinical features and health problems. *Am J Med Genet*. 2007;143A(11):1204–1211. DOI: 10.1002/ajmg.a.31735
30. Greer WL, Riddell DC, Byers DM, et al. Linkage of Niemann–Pick disease type D to the same region of human chromosome 18 as Niemann–Pick disease type C. *Am J Hum Genet*. 1997;61:139–142. DOI: 10.1086/513899
31. Greer WL, Riddell DC, Gillan TL, et al. The Nova Scotia (type D) form of Niemann–Pick disease is caused by a 3097G-T transversion in NPC1. *Am J Hum Genet*. 1998;63(1):52–54. DOI: 10.1086/301931
32. Greer WL, Riddell DC, Murty S, et al. Linkage disequilibrium mapping of the Nova Scotia variant of Niemann–Pick disease. *Clin Genet*. 1999;55(4):248–255. DOI: 10.1034/j.1399-0004.1999.550406.x
33. Horinouchi K, Erlich S, Perl DP, et al. Acid sphingomyelinase deficient mice: a model of types A and B Niemann–Pick disease. *Nat Genet*. 1995;10:288–293. DOI: 10.1038/ng0795-288
34. Ioannou YA. The structure and function of the Niemann–Pick C1 protein. *Mol Genet Metab*. 2000;71 (1–2):175–181. DOI: 10.1006/mgme.2000.3061
35. Kirchhoff C, Osterhoff C, Habben I, Ivell R. Cloning and analysis of mRNAs expressed specifically in the human epididymis. *Int J Androl*. 1990;13(2):155–167. DOI: 10.1111/j.1365-2605.1990.tb00972.x
36. Kirkegaard T, Roth AG, Petersen NHT, et al. Hsp70 stabilizes lysosomes and reverts Niemann–Pick disease-associated lysosomal pathology. *Nature*. 2010;463:549–553. DOI: 10.1038/nature08710
37. Klima H, Ullrich K, Aslanidis C, et al. A splice junction mutation causes deletion of a 72-base exon from the mRNA for lysosomal acid lipase in a patient with cholestrylo ester storage disease. *J Clin Invest*. 1993;92(60):2713–2718. DOI: 10.1172/JCI116888
38. Ko DC, Binkley J, Sidow A, Scott MP. The integrity of a cholesterol-binding pocket in Niemann–Pick C2 protein is necessary to control lysosome cholesterol levels. *PNAS*. 2003;100(5):2518–2525. DOI: 10.1073/pnas.0530027100

39. Koch G, Lalley PA, McAvoy M, Shows TB. Assignment of LIPA, associated with human acid lipase deficiency to human chromosome 10 and comparative assignment to mouse chromosome 19. *Somat Cell Genet*. 1981;7:345–358. DOI: 10.1007/BF01538859
40. Kohli R, Ratziu V, Fiel MI, et al. Initial assessment and ongoing monitoring of lysosomal acid lipase deficiency in children and adults: Consensus recommendations from an international collaborative working group. *Mol Genet Metab*. 2020;129(2):59–66. DOI: 10.1016/j.ymgme.2019.11.004
41. Kurimasa A, Ohno K, Oshimura M. Restoration of cholesterol metabolism in 3T3 cell lines derived from the sphingomyelinosis mouse (spm/spm) by transfer of a human chromosome 18. *Hum Genet*. 1993;92: 157–162. DOI: 10.1007/BF00219684
42. Langmade SJ, Gale SE, Frolov A, et al. Pregnen X receptor (PXR) activation: a mechanism for neuroprotection in a mouse model of Niemann–Pick C disease. *PNAS*. 2006;103(37):13807–13812. DOI: 10.1073/pnas.0606218103
43. Levran O, Desnick RJ, Schuchman EH. Niemann–Pick type B disease: identification of a single codon deletion in the acid sphingomyelinase gene and genotype/phenotype correlations in the type A and B patients. *J Clin Invest*. 1991;88(3):806–810. DOI: 10.1172/JCI115380
44. Levran O, Desnick RJ, Schuchman EH. Identification and expression of a common missense mutation (L302P) in the acid sphingomyelinase gene of Ashkenazi Jewish type A Niemann–Pick disease patients. *Blood*. 1992;80:2081–2087. DOI: 10.1182/blood.V80.8.2081.bloodjournal8082081
45. Levran O, Desnick RJ, Schuchman EH. Type A Niemann–Pick disease: a frame shift mutation in the acid sphingomyelinase gene (fsP330) occurs in Ashkenazi Jewish patients. *Hum Mutat*. 1993;2(4):317–319. DOI: 10.1002/humu.1380020414
46. Liu B. Therapeutic potential of cyclodextrins in the treatment of Niemann–Pick type C disease. *Clin Lipidol*. 2012;7(3):289–301. DOI: 10.2217/clp.12.31
47. Lloyd-Evans E, Morgan AJ, He X, et al. Niemann–Pick disease type C1 is a sphingosine storage disease that causes deregulation of lysosomal calcium. *Nat Med*. 2008;14:1247–1255. DOI: 10.1038/nm.1876
48. Loftus SK, Erickson RP, Walkley SU, et al. Rescue of neurodegeneration in Niemann–Pick C mice by a prion-promoter-driven Npc1 cDNA transgene. *Hum Mol Genet*. 2002;11(24):3107–3114. DOI: 10.1093/hmg/11.24.3107
49. Loftus SK, Morris JA, Carstea ED, et al. Murine model of Niemann–Pick C disease: mutation in a cholesterol homeostasis gene. *Science*. 1997;277(5323):232–235. DOI: 10.1126/science.277.5323.232
50. Lyseng-Williamson KA. Miglustat: a review of its use in Niemann–Pick disease type C. *Drugs*. 2014;74(1): 61–74. DOI: 10.1007/s40265-013-0164-6
51. McGovern MM, Lippa N, Bagiella E, et al. Morbidity and mortality in type B Niemann–Pick disease. *Genet Med*. 2013;15(8):618–623. DOI: 10.1038/gim.2013.4
52. Marathe S, Miranda SRP, Devlin C, et al. Creation of a mouse model for non-neurological (type B) Niemann–Pick disease by stable, low level expression of lysosomal sphingomyelinase in the absence of secretory sphingomyelinase: relationship between brain intra-lysosomal enzyme activity and central nervous system function. *Hum Mol Genet*. 2000;9(13): 1967–1976. DOI: 10.1093/hmg/9.13.1967
53. Maslen CL, Babcock D, Illingworth DR. Occurrence of a mutation associated with Wolman disease in a family with cholesteryl ester storage disease. *J Inher Metab Dis*. 1995;18(5):620–623. DOI: 10.1007/BF02436008
54. McGovern MM, Wasserstein MP, Kirmse B, et al. Novel first-dose adverse drug reactions during a phase I trial of olipudase alfa (recombinant human acid sphingomyelinase) in adults with Niemann–Pick disease type B (acid sphingomyelinase deficiency). *Genet Med*. 2016;18(1):34–40. DOI: 10.1038/gim.2015.24
55. Millat G, Chikh K, Naureckiene S, et al. Niemann–Pick disease type C: spectrum of HE1 mutations and genotype/phenotype correlations in the NPC2 group. *Am J Hum Genet*. 2001;69(5):1013–1021. DOI: 10.1086/324068
56. Millat G, Marcais C, Tomasetto C, et al. Niemann–Pick C1 disease: correlations between NPC1 mutations, levels of NPC1 protein, and phenotypes emphasize the functional significance of the putative sterol-sensing domain and of the cysteine-rich luminal loop. *Am J Hum Genet*. 2001;68(6):1373–1385. DOI: 10.1086/320606
57. Miyawaki S, Yoshida H, Mitsuoka S, et al. A mouse model for Niemann–Pick disease: influence of genetic background on disease expression in spm/spm mice. *J Hered*. 1986;77(6):379–384. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a110265
58. Morris JA, Zhang D, Coleman KG, et al. The genomic organization and polymorphism analysis of the human Niemann–Pick C1 gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;261(2):493–498. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1070
59. Naureckiene S, Sleat DE, Lackland H, et al. Identification of HE1 as the second gene of Niemann–Pick C disease. *Science*. 2000;290(5500):2298–2301. DOI: 10.1126/science.290.5500.2298
60. Otterbach B, Stoffel W. Acid sphingomyelinase-deficient mice mimic the neurovisceral form of human lysosomal storage disease (Niemann–Pick disease). *Cell*. 1995;81: 1053–1061. DOI: 10.1016/S0092-8674(05)80010-8

61. Ottinger EA, Kao ML, Carrillo-Carrasco N, et al. Collaborative development of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin for the treatment of Niemann–Pick type C1 disease. *Curr Top Med Chem.* 2014;14(3):330–339. DOI: 10.2174/1568026613666131127160118
62. Park WD, O'Brien JF, Lundquist PA, et al. Identification of 58 novel mutations in Niemann–Pick disease type C: correlation with biochemical phenotype and importance of PTC1-like domains in NPC1. *Hum Mutat.* 2003;22(40):313–325. DOI: 10.1002/humu.10255
63. Pastores GM, Hughes DA. Lysosomal Acid Lipase Deficiency: Therapeutic Options. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:591–601. DOI: 10.2147/DDDT.S149264
64. Patel SC, Suresh S, Kumar U, et al. Localization of Niemann–Pick C1 protein in astrocytes: implications for neuronal degeneration in Niemann–Pick type C disease. *PNAS.* 1999;96(4):1657–1662. DOI: 10.1073/pnas.96.4.1657
65. Patterson MC, Hendriksz ChJ, Walterfang M, et al. Frits Wijburgon behalf of the NP-C Guidelines Working Group Recommendations for the diagnosis and management of Niemann–Pick disease type C: An update. *Mol Genet Metab.* 2012;106(3):330–344. DOI: 10.1016/j.ymgme.2012.03.012
66. Patterson MC, Vecchio D, Prady H, et al. Miglustat for treatment of Niemann–Pick C disease: a randomised controlled study. *Lancet Neurol.* 2007;6(9):765–772. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70194-1
67. Da Veiga Pereira L, Desnick RJ, Adler DA, et al. Regional assignment of the human acid sphingomyelinase gene (SMPD1) by PCR analysis of somatic cell hybrids and in situ hybridization to 11p15.1-p15.4. *Genomics.* 1991;9(2): 229–234. DOI: 10.1016/0888-7543(91)90246-B
68. Quintern LE, Schuchman EH, Levran O, et al. Isolation of cDNA clones encoding human acid sphingomyelinase: occurrence of alternatively processed transcript. *EMBO J.* 1989;5:2469–2473. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb08382.x
69. Ribeiro I, Marcao A, Amaral O, et al. Niemann–Pick type C disease: NPC1 mutations associated with severe and mild cellular cholesterol trafficking alterations. *Hum Genet.* 2001;109:24–32. DOI: 10.1007/s004390100531
70. Sakai Y, Miyawaki S, Shimizu A, et al. A molecular genetic linkage map of mouse chromosome 18, including spm, Grl1, Fim-2/c-fms, and Mbp. *Biochem Genet.* 1991;29:103–113. DOI: 10.1007/BF00578243
71. Samaranch L, Pérez-Cañamás A, Soto-Huelin B, et al. Adeno-associated viral vector serotype 9-based gene therapy for Niemann–Pick disease type A. *Sci Transl Med.* 2019;11(506):eaat3738. DOI: 10.1126/scitranslmed.aat3738
72. Schuchman EH, Suchi M, Takahashi T, et al. Human acid sphingomyelinase: isolation, nucleotide sequence, and expression of the full-length and alternatively spliced cDNAs. *J Biol Chem.* 1991;266(13): 8531–8539. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)93007-3
73. Schuchman EH, Levran O, Pireira LV, Desnick RJ. Structural organization and complete nucleotide sequence of the gene encoding human acid sphingomyelinase (SMPD1). *Genomics.* 1992;12(2):197–205. DOI: 10.1016/0888-7543(92)90366-Z
74. Schuchman EH. The pathogenesis and treatment of acid sphingomyelinase-deficient Niemann–Pick disease. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(5):654–663. DOI: 10.1007/s10545-007-0632-9
75. Sidhu R, Kell P, Dietzen DJ, et al. Application of N-palmitoyl-O-phosphocholineserine for diagnosis and assessment of response to treatment in Niemann–Pick type C disease. *Mol Genet Metab.* 2020;129(4): 292–302. DOI: 10.1016/j.ymgme.2020.01.007
76. Simonaro CM, Desnick RJ, McGovern MM, et al. The demographics and distribution of type B Niemann–Pick disease: novel mutations lead to new genotype/phenotype correlations. *Am J Hum Genet.* 2002;71(6):1413–1419. DOI: 10.1086/345074
77. Sleat DE, Wiseman JA, El-Banna M, et al. Genetic evidence for nonredundant functional cooperativity between NPC1 and NPC2 in lipid transport. *PNAS.* 2004;101(16): 5886–5891. DOI: 10.1073/pnas.0308456101
78. Steinberg SJ, Ward CP, Fensom AH. Complementation studies in Niemann–Pick disease type C indicate the existence of a second group. *J Med Genet.* 1994;31:317–320. DOI: 10.1136/jmg.31.4.317
79. Suchi M, Denur T, Desnick RJ, et al. Retroviral-mediated transfer of the human acid sphingomyelinase cDNA: correction metabolic defect in cultured Niemann–Pick disease cells. *PNAS.* 1992;89(8):3227–3231. DOI: 10.1073/pnas.89.8.3227
80. Takahashi T, Suchi M, Desnick RJ, et al. Identification and expression of five mutations in the human acid sphingomyelinase gene causing type A and B Niemann–Pick disease: molecular evidence for genetic heterogeneity in the neuronopathic and non-neuronopathic forms. *J Biol Chem.* 1992;267(18): 12552–12558. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)42312-5
81. Thomas GH, Tuck-Muller CM, Miller CS, Reynolds LW. Correction of sphingomyelinase deficiency in Niemann–Pick disease type C fibroblasts by removal of lipoprotein fraction from culture media. *J Inherit Metab Dis.* 1989;12(2):139–151. DOI: 10.1007/BF01800716
82. Vance JE. Lipid imbalance in the neurological disorder, Niemann–Pick C disease. *FEBS Lett.* 2006;580(23): 5518–5524. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.06.008
83. Vanier MT, Duthel S, Rodriguez-Lafrasse C, et al. Genetic heterogeneity in Niemann–Pick C disease: a study using somatic cell hybridization and linkage analysis. *Am J Hum Genet.* 1996;58:118–125.

84. Vanier MT, Ferlinz K, Rousson R, et al. Deletion of arginine (608) in acid sphingomyelinase is the prevalent mutation among Niemann–Pick disease type B patients from northern Africa. *Hum Genet*. 1993;92: 325–330. DOI: 10.1007/BF01247328
85. Vanier MT, Millat G. Niemann–Pick disease type C. *Clin Genet*. 2003;64(4):269–281. DOI: 10.1034/j.1399-0004.2003.00147.x
86. Vanier MT, Rodriguez-Lafrasse C, Rousson R, et al. Type C Niemann–Pick disease: biochemical aspects and phenotypic heterogeneity. *Dev Neurosci*. 1991; 13(4–5):307–314. DOI: 10.1159/000112178
87. Vanier MT, Wenger DA, Comly ME, et al. Niemann–Pick disease group C: clinical variability and diagnosis based on defective cholesterol esterification: a collaborative study on 70 patients. *Clin Genet*. 1988;33(5):331–348. DOI: 10.1111/j.1399-0004.1988.tb03460.x
88. Verot L, Chikh K, Freydiere E, et al. Niemann–Pick C disease: functional characterization of three NPC2 mutations and clinical and molecular update on patients with NPC2. *Clin Genet*. 2007;71(4):320–330. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2007.00782.x
89. Wasserstein MP, Jones SA, Soran H, et al. Successful within-patient dose escalation of olipudase alfa in acid sphingomyelinase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2015; 116(1–2):88–97. DOI: 10.1016/j.ymgme.2015.05.013
90. Wassif CA, Cross JL, Iben J, et al. High incidence of unrecognized visceral/neurological late-onset Niemann–Pick disease, type C1, predicted by analysis of massively parallel sequencing data sets. *Genet Med*. 2016;18(1):41–48. DOI: 10.1038/gim.2015.25
91. Winsor EJT, Welch JP. Genetic and demographic aspects of Nova Scotia Niemann–Pick disease (type D). *Am J Hum Genet*. 1978;30:530–538.
92. Yamamoto T, Nanba E, Ninomiya H, et al. NPC1 gene mutations in Japanese patients with Niemann–Pick disease type C. *Hum Genet*. 1999;105:10–16. DOI: 10.1007/s004399900059

◆ Информация об авторах

Виктория Николаевна Горбунова – д-р биол. наук, профессор кафедры общей и молекулярной медицинской генетики. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: vngor@mail.ru

*Наталья Валерьевна Бучинская – канд. мед. наук, педиатр, врач-генетик консультативного отделения. СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медицинско-генетический)», Санкт-Петербург, Россия. E-mail: nbuchinskaia@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

◆ Information about the authors

Victoria N. Gorbunova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Medical Genetics. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vngor@mail.ru

*Natalia V. Buchinskaia – MD, PhD, Pediatrician, Geneticist. St. Petersburg State Medical Diagnostic Center (Genetic Medical Center), Saint Petersburg, Russia. E-mail: nbuchinskaia@gmail.com