

© Коллектив авторов, 2010

В.Г. Арсентьев¹, М.В. Асеев², В.С. Баранов^{1,2}, Е.А. Волошина¹,
Ю.И. Староверов¹, Н.П. Шабалов¹

ИССЛЕДОВАНИЕ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ДИСПЛАЗИЯМИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

¹ФГУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,

²ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Проведено обследование 66 детей с клинически выраженными признаками дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Проводили двухэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию костной ткани и определение полиморфизма генов COL1A1 (G-T) и VDR (Taq1) – основных генов-кандидатов, обеспечивающих ремоделирование костной ткани и ассоциированных с развитием остеопороза. Выявлена высокая частота снижения минеральной плотности костной ткани (МПКТ) у детей с ДСТ: 54,5% в поясничном отделе позвоночника и у 42,4% во всем скелете, что существенно выше аналогичных данных контрольной группы (24,2 и 12,1% соответственно). Значимого вклада генетического полиморфизма в снижение МПКТ у детей с ДСТ не выявлено.

Ключевые слова: остеопороз, минеральная плотность костной ткани, остеоденситометрия, дисплазия соединительной ткани, дети.

Authors examined 66 children with clinical signs of connective tissue dysplasia (CTD). Examination included double-energy X-ray absorptiometry (DEXA) of bone tissue and determined gene polymorphism of COL1A1 (G-T) and VDR (Taq1) genes – main candidates provided bone tissue remodeling and associated with development of osteoporosis. Examination showed high rate of decreased bone mineral density (BMD) in children with CTD – 54,5% of patients had low BMD in lumbar part of spine and 42,4% – in total skeleton, and this rate was significantly higher than in control group (24,2 and 12,1% correspondingly). There were no found any data about significant participation of gene polymorphism in development of low BMD in children with CTD.

Key words: osteoporosis, bone mineral density, osteodensitometry, connective tissue dysplasia, children.

Наследственные нарушения соединительной ткани (ННСТ) – гетерогенная группа заболеваний, обусловленных генетическими дефектами синтеза и/или распада белков внеклеточного матрикса либо нарушениями морфогенеза соединительной ткани (СТ).

Дисплазии СТ (ДСТ) – ННСТ мультифакторной природы, характеризуются многообразием клинических проявлений от доброкачественных субклинических форм до полиорганной патологии с прогрессирующим течением, объединены в конституциональные фенотипы и синдромы, характеризуются генетической неоднородностью [1]. Кроме собственно соединительнотканых изменений, ДСТ служат конституциональной основой

при формировании полиорганных нарушений. В последнее время предметом обсуждения и согласования стало выделение так называемых диспластических синдромов и фенотипов, введение которых в клиническую практику позволяет сузить границы применения термина ДСТ и уточнить нозологическую принадлежность ННСТ [1–3].

Особенности строения СТ определяют конституциональную основу патологических состояний, формирующихся еще внутриутробно и в течение детства под влиянием средовых и генетических факторов. Наследственная природа ДСТ изучена недостаточно вследствие клинической «размытости», отсутствия критериев диагностики и точных лабораторных тестов, позволяющих

Контактная информация:

Арсентьев Вадим Геннадиевич – докторант каф. детских болезней ФГУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова

Адрес: г. Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 6А

Тел.: (812) 329-71-64, E-mail: rainman63@mail.ru

Статья поступила 15.03.10, принята к печати 2.06.10.

выделять отдельные нозологические формы [1]. Многочисленные и очень протяженные по размеру гены коллагенов, особенности регуляции функции генов, контролирующих синтез белков СТ и гликопротеинов внеклеточного матрикса, при весьма сходных клинических проявлениях их мутаций, создают серьезные методические трудности для молекулярной диагностики ННСТ. Более того, сложности выявления типа наследования, неопределенность клинической симптоматики дают основания рассматривать их как гетерогенную группу мультифакторных заболеваний (МФЗ), обусловленных действием средовых факторов (внутриутробные факторы, перинатальная гипоксия, интранатальные травмы, пищевые дефициты), на фоне неблагоприятных аллельных вариантов так называемых «генов предрасположенности» [4].

Известно, что СТ, так же как кости скелета, развивается из одного эмбрионального зачатка – склеротома и состоит преимущественно из коллагеновых белков, синтез которых контролируется одними и теми же генами [5]. Частым нарушением развития костей является относящийся к типичным МФЗ остеопороз (ОП), в возникновении которого играют роль как генетические, так и средовые факторы. Так, минеральная плотность костной ткани (МПКТ) зависит от функции многих генов, основными из которых для населения Санкт-Петербурга и Северо-Западного региона РФ являются гены коллагена I типа α_1 (COL1A1) и рецептора витамина D (VDR) [4, 6]. Данные гены могут рассматриваться и в качестве генов-кандидатов при развитии ДСТ.

В настоящее время назрела необходимость комплексного изучения данной группы детей, выделения таких больных в группу риска полиорганной патологии [7]. В литературе имеются обобщенные данные о клинических признаках и критериях ДСТ у взрослых [1, 2]. У детей клиническая картина ДСТ зачастую не развернута полностью, отсутствуют клинические рекомендации по их диагностике [8].

Общепринятые алгоритмы обследования отсутствуют. Сложность диагностики ДСТ усугубляется отсутствием точного определения характера, количества и специфичности признаков [8–10]. Кроме ННСТ с очерченной клиникой и доказанным моногенным типом наследования (синдромы Марфана, Элерса–Данло, несовершенный остеогенез), выделяют более распространенные в популяции синдромы и фенотипы: пролапс митрального клапана, марфаноподобный, элерсоподобный фенотипы, синдром гипермобильности суставов, синдромы со смешанным и неклассифицируемым фенотипом [1].

Цель исследования – на основе анализа фенотипических признаков разработать принципы клинической диагностики ДСТ; изучить распро-

страненность, степень выраженности и локализацию снижения МПКТ и взаимосвязь ее и других проявлений ДСТ с полиморфизмом генов COL1A1 и VDR.

Материалы и методы исследования

По нашему опыту, при выявлении детей с ДСТ целесообразно провести количественную оценку суммы баллов наблюдаемых клинических признаков. На основании данных литературы и собственного опыта была предпринята попытка составления сводной таблицы признаков с учетом их балльной оценки. В основу ее формирования положено наличие и выраженность фенотипов ДСТ, каждый из которых оценивается от 0 до 3 баллов. Таблица опубликована в Национальном руководстве «Педиатрия» [3], учебниках «Детские болезни» [9] и «Педиатрия» [11]. Для формирования основной группы независимо от диагноза отбирали пациентов с признаками системных форм ДСТ. По нашим данным, сумма баллов более 30 дает основание констатировать ДСТ как фоновую конституциональную особенность (диспластический фенотип по А.А. Богомольцу) [12] и обосновывает необходимость дальнейшего обследования для подтверждения органических изменений, так как висцеральные признаки дизморфогенеза тесно связаны с системным дефектом СТ. Данную таблицу можно рекомендовать для скрининга ДСТ у детей старше 5 лет, но она не предназначена для нозологической диагностики и не подменяет ее критериев [3, 9, 13]. По данным обследования 120 здоровых детей-кадетов средняя сумма баллов составляет $11,41 \pm 4,47$ (здесь и далее $M \pm STD$).

Проведено одномоментное обследование 66 детей и подростков (30 мальчиков, 36 девочек) с соматическими заболеваниями в возрасте от 3 лет 10 мес до 17 лет 9 мес с клинически выраженным симптомокомплексом ДСТ (основная группа). Средний возраст составил $10,27 \pm 3,9$ лет, сумма баллов по нашей таблице – $37,34 \pm 6,27$. Контрольную группу составили 33 ребенка, не имевших симптомокомплекса ДСТ (сумма баллов < 20). По основным заболеваниям, возрастному, половому составу дети контрольной группы не отличались от основной.

Достоверность статистических различий доказывали с помощью критерия Стьюдента.

Кроме общесоматического и неврологического обследования, проводили следующие исследования:

- 1) двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (остеоденситометрия) поясничного отдела позвоночника и всего скелета с помощью прибора General Electric Medical Systems LUNAR PRODIGY Vision 4 (США). Программное обеспечение снабжено детскими нормативами, наличие которых позволяет сравнивать фактические показатели МПКТ с соответствующими значениями референтной базы для конкретного пола, календарного и костного возраста, уровней физического и полового развития. Оценку МПКТ проводили по критериям ВОЗ для детей (Z-критерий) [14–16];

2) исследование функционально значимого G-T полиморфизма в положении +1245 гена коллагена I типа α_1 (COL1A1 на 17q21.31-q22.05). В результате G-T полиморфизма возникают два аллеля: S – нормальный и s – функционально неполноценный, ассоциированный со снижением МПКТ [4, 6];

3) исследование Taq1 полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR на 12q12-q14). Регистрировали два аллеля: T – нормальный и t – функционально неполноценный, ассоциированный со снижением МПКТ [4, 6]. Результаты генетического тестирования свидетельствуют о том, что у больных ОП частота функционально неполноценного t-аллеля в 2 раза превышает таковую в популяции Северо-Западного региона РФ [4].

Результаты и их обсуждение

В результате лабораторных исследований ни у одного пациента не выявлено кальци-, фосфопении, изменения активности щелочной фосфатазы. В структуре основных диагнозов обращает на себя внимание высокая частота аллергических заболеваний (25,2%) (большинство составила бронхиальная астма); второй по частоте была нейроциркуляторная дисфункция (20,2%). На 3-м месте находились заболевания костно-мышечной системы и СТ (15,1%). Заболевания органов пищеварения были выявлены у 10,1%, преобладали гастродуоденит и функциональная диспепсия. Результаты соматического обследования опубликованы нами ранее [13, 17]. В частности, при сонографическом и рентгенологическом исследовании отмечена высокая частота нарушений в шейном отделе позвоночника (у 81,4% детей, в среднем 1,63 изменений на одного обследованного). Нестабильность шейных позвонков выявлена у 46,8%, сколиоз шейного отдела – у 44,1%, краниальный подвывих C₁/C₂ – у 22%, гипоплазия C₁ – у 18,6%, аномалия Киммерли – у 15,3%, другие изменения – у 17% детей с ДСТ.

Снижение МПКТ (от -1STD до -4,3STD) у детей с ДСТ по результатам остеоденситометрии поясничного отдела позвоночника, отражающей структуру губчатых костей, выявлено у 36 детей (54,5%). Снижение МПКТ поясничного отдела значительнее -2,5STD (ОП) было зарегистрировано у 10 детей (15,2%).

Снижение МПКТ всего скелета, отражающее состояние длинных трубчатых и плоских костей (от -1STD до -2,5STD, что соответствует остеоопении), выявлено у 28 детей (42,4%). Снижение МПКТ по результатам денситометрии поясничного отдела позвоночника, не превышающее -1STD, было установлено еще у 10 детей (15,2%).

По результатам обоих измерений, значимое снижение МПКТ выявлено у 38 (57,6%) детей основной группы (55,5% девочек и 60% мальчиков). Только в 2 случаях снижение МПКТ регистрировали по данным всего скелета без снижения показателя МПКТ в поясничном отделе. По результатам остеоденситометрии поясничного отдела позвоночника среднее снижение по Z-критерию составило -1,21STD, всего скелета -0,85STD. Результаты определения МПКТ представлены в табл. 1.

При обследовании контрольной группы снижение МПКТ в поясничном отделе позвоночника выявлено значимо реже по сравнению с данными основной группы ($p < 0,01$; в среднем снижение -0,24STD). МПКТ всего скелета в среднем повышено до +0,51STD по Z-критерию. Ни у кого из детей контрольной группы не было зарегистрировано снижения МПКТ более -2,5STD.

Результаты изучения аллельных частот и распределения генотипов по изученным полиморфизмам генов COL1A1 и VDR у детей основной и контрольной групп приведены в табл. 2 и 3.

Среди детей основной группы значимой связи выявленных полиморфизмов генов COL1A1 и VDR в формировании ДСТ или их сочетаний со снижением МПКТ не выявлено. Необходимо существенно расширить ареал поиска генов-кандидатов, ассоциированных с ДСТ и ОП в детском возрасте. Учитывая важность проблемы, следует обратить внимание на необходимость раннего выявления у детей с ДСТ признаков остеоопении с целью ее профилактики и лечения для предотвращения осложнений со стороны костной системы в зрелом возрасте.

Референтные базы остеоденситометра General Electric установлены для американской популяции, данные могут не совпадать с российскими. В частности, в США для снижения частоты ОП

Таблица 1

Результаты остеоденситометрии у детей основной и контрольной групп

Показатели	ДСТ		Контроль		p
	n	%	n	%	
Снижение МПКТ поясничного отдела от -1STD до -2,5STD (остеоопения)	26	39,3	8	24,2	<0,01
Снижение МПКТ поясничного отдела более -2,5STD (ОП)	10	15,2	0	0	<0,01
Снижение МПКТ поясничного отдела более -1STD (остеоопения + ОП)	36	54,5	8	24,2	<0,01
Снижение МПКТ всего скелета от -1 STD до -2,5STD	28	42,4	4	12,1	<0,01
Снижение МПКТ поясничного отдела и/или всего скелета	38	57,6	8	24,2	<0,01
Итого	66	100	33	100	-

Таблица 2

**Сочетание полиморфизма гена COL1A1 со снижением МПКТ
у наблюдаемых больных**

Группы детей	n	Генотипы			Аллели	
		SS, n/%	Ss, n/%	ss, n/%	S, %	s, %
Контроль	33	24/72,7	9/27,3	0	86,4	13,6
ДСТ	66	45/68,2	21/31,8	0	89,5	10,5
ДСТ со снижением МПКТ	38	26/68,4	12/31,6	0	84,2	15,8

Таблица 3

Сочетание полиморфизма гена VDR со снижением МПКТ у наблюдаемых больных

Группы детей	n	Генотипы			Аллели	
		TT, n/%	Tt, n/%	tt, n/%	T, %	t, %
Контроль	33	18/54,5	15/45,5	0	77,3	22,7
ДСТ	66	28/42,5	36/54,5	2/3,0	69	30,3
ДСТ со снижением МПКТ	38	18/47,4	19/50,0	1/2,6	72,4	27,6

повсеместно проводится добавление витамина D в молоко. В отечественной литературе мы нашли лишь одно популяционное исследование, проведенное среди детей на аналогичном денситометре в Приморском крае. Снижение МПКТ в поясничных позвонках выявлено у 15,39% здоровых детей [18]. Более высокая частота снижения МПКТ у детей контрольной группы в нашем исследовании может быть обусловлена особенностями водоснабжения Северо-Западного региона, бедностью воды кальцием на территории Скандинавского геологического щита.

Выявлено значимое увеличение частоты остеопении у детей с ДСТ, при этом снижение МПКТ в поясничном отделе более чувствительно, что согласуется с общепринятыми методиками. Не выявлено значимого вклада генетического полиморфизма G-T в положении +1245 гена коллагена I типа α_1 гена (COL1A1) и Taq1 гена рецептора витамина D (VDR) в формирование снижения МПКТ у детей с ДСТ.

Выводы

1. ДСТ часто фенотипически проявляется полиорганными нарушениями прежде всего со стороны костной ткани и шейных позвонков.

2. У детей с ДСТ выявлена высокая частота и значительная выраженность снижения МПКТ – 54,5% в поясничном отделе позвоночника и 42,4% во всем скелете, что значимо выше данных контрольной группы. Частота ОП достигает у таких детей 15,2%. Остеоденситометрию целесообразно включить в программу обследования детей с ДСТ.

3. Не выявлено значимого вклада генетических полиморфизмов G-T гена COL1A1 и Taq1 гена VDR в формирование снижения МПКТ у детей с ДСТ. Необходимо расширить спектр генов-кандидатов, ответственных за снижение МПКТ при ДСТ.

4. Детям с остеопенией необходима дотация кальция и витамина D, мониторинг МПКТ. Учитывая высокую частоту снижения МПКТ в российской популяции, целесообразно проведение витаминизации молока холекальциферолом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наследственные нарушения соединительной ткани. Российские рекомендации. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2009; 8 (6); Приложение 5.
2. Земцовский Э.В. Диспластические фенотипы. Диспластическое сердце. СПб.: Ольга, 2007.
3. Шабалов Н.П., Арсентьев В.Г. Наследственные болезни соединительной ткани (глава в руководстве). В кн.: Педиатрия: Национальное руководство. В 2 томах. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009; т. 1: 298–320.
4. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009.
5. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека: научно-практические аспекты. СПб.: Изд-во Н-Л, 2007.
6. Зазерская И.Е., Асеев М.В., Баранов В.С. и др. Остеопороз. Генетическая предрасположенность, современная диагностика, профилактика: метод. рекомендации. Под ред.

- Э.К. Айламазян. СПб.: НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, 2003.
7. Николаев К.Ю., Отева Э.А., Николаева А.А. и др. Дисплазия соединительной ткани и полиорганная патология у детей школьного возраста. Педиатрия, 2006; 2: 89–91.
8. Кадурин Т.И., Горбунова В.Н. Дисплазия соединительной ткани: Руководство для врачей. СПб.: ЭЛБИ, 2009.
9. Эрман Л.В., Арсентьев В.Г., Шабалов Н.П. Наследственные болезни соединительной ткани (глава в учебнике). В кн.: Шабалов Н.П. Детские болезни: учебник. 6-е изд. В 2 томах. СПб.: Питер, 2007; т. 2: 587–603.
10. Bravo JF, Wolff C et al. Clinical Study of Hereditary Disorders of Connective Tissues in a Chilean Population. Joint Hypermobility Syndrome and Vascular Ehlers-Danlos Syndrome. Arthritis & Rheumatism, 2006; 54 (2): 515–523.
11. Арсентьев В.Г. Иммунопатологические заболевания соединительной ткани (глава в учебнике). В кн.: Педиатрия.

Под ред. Н.П. Шабалова. 4-е изд. СПб.: СпецЛит, 2007: 607–629.

12. *Богомолец А.А.* Избранные труды. Киев: Изд-во АН УССР, 1957; т. 2: 223–331.

13. *Арсентьев В.Г., Арзуманова Т.И., Асеев М.В. и др.* Полиорганные нарушения при дисплазиях соединительной ткани у детей и подростков. Педиатрия, 2009; 88 (1): 135–138.

14. *Shaw NJ.* Osteoporosis in paediatrics. Arch. Dis. Child. 2007; 92 (2): 169–175.

15. *Коровина Н.А., Творогова Т.М., Гаврюшова Л.П., Захарова И.Н.* Остеопороз у детей: Пособие для врачей. М.: Последипломное образование, 2005.

16. *Щеплягина Л.А., Моисеева Т.Ю., Коваленко Т.В. и др.* Остеопения у детей: диагностика, профилактика и коррекция: пособие для врачей. М.: НЦЗД РАМН, 2005.

17. *Арсентьев В.Г., Калядин С.Б., Шабалов Н.П.* Состояние опорно-двигательного аппарата и полиорганные нарушения при дисплазиях соединительной ткани у детей. В кн.: Диагностика, профилактика и коррекция нарушений опорно-двигательного аппарата у детей и подростков. М.: НЦЗД РАМН, 2008: 9–11.

18. *Васильева Т.Г., Максимова О.Г.* Распространенность остеопенического синдрома у детей Приморского края. Педиатрия, 2008; 87 (6): 146–149.