

Яхяева Гузал Тахировна

**Научное обоснование новых подходов к диагностике и лечению
несовершенного остеогенеза у детей**

(14.01.08 – педиатрия)

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2016

Работа выполнена в федеральном государственном автономном учреждении «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна

Научный консультант:

Кандидат биологических наук

Савостьянов Кирилл Викторович

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
директор института детской эндокринологии, ФГБУ «Эндокринологический научный центр»
Минздрава России

Петеркова Валентина Александровна

Доктор медицинских наук, заведующая лабораторией наследственных болезней
обмена веществ ФГБНУ «Медико-генетический
научный центр»

Захарова Екатерина Юрьевна

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский детский ортопедический институт имени Г.И. Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2016 г. в «___» часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1 и на сайте <http://www.nczd.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор РАН

Виньярская Ирина Валериевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Несовершенный остеогенез (болезнь «хрустального человека») – представляет собой редкое наследственное заболевание соединительной ткани и скелета, характеризующееся повышенной ломкостью костей, деформацией скелета, низким ростом, голубыми склерами, прогрессирующим снижением слуха и аномалией дентина (Marini J.C. et. Al, 2011; Trejo P, Rauch F., 2016; Bregou Bourgeois A. et. al, 2016).

Распространенность несовершенного остеогенеза (6–7:100 000) (Steiner R.D et.al 1993) варьирует в зависимости от типа заболевания. Так, I и IV типы несовершенного остеогенеза составляют почти половину всех случаев болезни. В 1979 г. D.O. Silence и коллегами были представлены первые данные о распространенности заболевания: 3,5; 1,6 и 1–2 на 100 000 населения для I, II и III типа, соответственно; для самого распространенного IV типа показатель определить не удалось, поскольку во многих случаях болезнь оставалась не диагностированной (Sillence D. O. et. al, 1979).

Известно, что в большинстве случаев к развитию несовершенного остеогенеза приводят мутации в генах I типа коллагена COL1A1 и COL1A2, которых известно более 2000 (<https://oi.gene.le.ac.uk>, Árvai K et. al 2016). Однако, несмотря на значительный прогресс в понимании молекулярно-генетических основ несовершенного остеогенеза, отмечаются значительные трудности в сопоставлении результатов молекулярно-генетического анализа с клинической картиной заболевания, а сами генетические методы подтверждения диагноза не являются общедоступными в регионах РФ.

В лечении несовершенного остеогенеза «золотым стандартом» считается применение бисфосфонатов, среди которых наиболее широко применяемым и изученным препаратом является памидроновая кислота (памидронат), эффективная у детей как с умеренным, так и с тяжелым течением болезни. Самым часто используемым протоколом лечения памидронатом является его циклическое введение в дозе от 6 до 9 мг/кг/год (Glorieux F. H. et. al 1998; Plotkin H. et. al 2000; Thomas I.H., DiMeglio L.A. 2016). Однако, эта терапия до сих пор не нашла широкого применения в отечественной педиатрической практике.

Таким образом, в настоящее время распространенность НО в различных регионах РФ не изучена, не существует также общепринятых рекомендаций диагностики данной болезни: недостаточно изучены мутации, приводящие к развитию различных типов несовершенного остеогенеза, имеются значительные трудности в проведении молекулярно-генетического анализа и в сопоставлении их результатов с клинической картиной. Поэтому пациентам с НО редко своевременно устанавливается диагноз и назначается эффективное патогенетически обоснованное лечение. К тому же, учитывая, что свойственные

несовершенному остеогенезу прогрессирующие деструктивные изменения костной ткани приводят к тяжелым деформациям и патологическим переломам, являются основным фактором инвалидизации и определяют качество жизни больных, актуальной является разработка алгоритма лечебно-диагностических мероприятий, необходимых для своевременной верификации диагноза, для предотвращения возникновения новых переломов костей и последующих осложнений.

Цель исследования: изучить течение несовершенного остеогенеза у детей на современном этапе для разработки клинико-генетических критериев диагностики болезни и оптимизации лечения.

Задачи исследования:

1. Изучить клиническую характеристику естественного течения несовершенного остеогенеза у детей с выявлением наиболее частых сочетаний клинических и лабораторно-инструментальных проявлений болезни (фенотипов болезни).
2. Установить характер генетических мутаций у детей с несовершенным остеогенезом.
3. Оценить эффективность терапии бисфосфонатами (памидроновой кислотой), разработать критерии назначения, тактику ведения детей при терапии этими препаратами (описать клинико-терапевтические варианты).
4. Провести экспертную оценку Федерального регистра детей с несовершенным остеогенезом (проанализировать частоту встречаемости болезни в различных регионах и клинико-лабораторные характеристики включенных пациентов на соответствие критериям постановки диагноза и лечения).
5. Создать на основании полученных результатов клинические рекомендации по ведению пациентов с несовершенным остеогенезом в РФ.

Научная новизна

Показано, что у детей с НО на современном этапе частыми проявлениями болезни являются неоднократные, в том числе внутриутробные, переломы костей с манифестацией болезни сразу после рождения, а также голубые склеры, деформации длинных трубчатых костей, признаки остеопении/остеопороза.

Впервые показано, что каждому типу болезни соответствует определенный фенотип. Для наиболее благоприятного фенотипа I (тип I) характерно легкое течение болезни с наличием 3-х симптомов: голубых склер, гипермобильности суставов, деформации нижних конечностей. Средняя степень тяжести течения и 4 симптома болезни (переломы костей, гипермобильность суставов, нарушение изгиба позвоночника и остеопения) свойственны умеренному фенотипу II (тип IV). А наиболее тяжелый фенотип III (тип III) характеризуется тяжелым течением и многочисленными клиническими проявлениями болезни: отставанием в

физическом развитии, множественными переломами и деформациями конечностей, гипермобильностью суставов, отставанием линейного роста, деформациями верхних и нижних конечностей, нарушением изгиба позвоночника и остеопорозом.

Кроме того, при оценке антропометрических данных пациентов с различными типами несовершенного остеогенеза выявлена прямая корреляция низких показателей физического развития со степенью тяжести течения заболевания или фенотипом болезни.

Проведенное молекулярно-генетическое исследование методом секвенирования нового поколения с использованием панели с определением мутации в генах, вызывающих 12 наиболее распространенных заболеваний соединительной ткани, показало наличие у 53% пациентов мутаций в генах кодирующих цепи коллагена, причем 12,5% - мутации, не описанные ранее.

Показано, что применение бисфосфоната памидроновой кислоты у пациентов с клинико-терапевтическим вариантом А (частота переломов более 3 раз в течение 1 года; признаки снижения минеральной плотности костной ткани (остеопения/остеопороз); деформации костей и задержка физического развития) значительно сокращает количество переломов костей и улучшает минеральную плотность костной ткани.

Предложен инструмент для определения показаний к началу терапии бисфосфонатами – два клинико-терапевтических варианта болезни – требующий лечения (А) и не нуждающийся в терапии (В), который позволяет своевременно начать лечение даже в отсутствие высокотехнологических методов обследования и генетического подтверждения диагноза. Разработана эффективная схема ведения пациента: динамическое наблюдение и персонализированные режим введения и дозировки медикамента (при необходимости проведения лекарственной терапии) в зависимости от состояния ребенка (рис.5).

Представлены результаты первого аудита Федерального регистра Министерства здравоохранения Российской Федерации пациентов с диагнозом «несовершенный остеогенез». Обоснованность включения пациентов в данный регистр составила 96,4%. Определена распространенность болезни в РФ (1,08 : 100 000) и в отдельных ФО. Результаты свидетельствуют, что большинство пациентов получает лечение лекарственными средствами с недоказанной эффективностью и только треть – бисфосфонаты, признанные «золотым стандартом» терапии.

Практическая значимость

Сформулированы рекомендации по диагностике несовершенного остеогенеза у детей. Показано, что использование молекулярной диагностики для выявления мутаций при несовершенном остеогенезе не меняет тактику лечения у конкретного пациента при наличии показаний к проведению бисфосфонатной терапии.

Предложена оптимизация диагностики, лечения и мониторинга детей с несовершенным остеогенезом с помощью выделения двух клинико-терапевтических вариантов болезни (А – требующий проведения терапии бисфосфонатами, В – не нуждающийся в таковой). Продемонстрирована эффективная схема лечения препаратом из группы бисфосфонатов, определены длительность применения и показания к переходу на поддерживающие дозы и его отмене.

Предложены клинические рекомендации по ведению детей с несовершенным остеогенезом.

Апробация и внедрение результатов работы в практику

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XVIII и XIX Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2015 и 2016 гг.), а также на международном мастер-классе для молодых ученых (2015 г.). По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, входящих в список рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, а также глава по несовершенному остеогенезу в «Атласе редких болезней» (2016 г. издание 2-е дополненное).

Результаты исследования используются при оказании медицинской помощи пациентам с несовершенным остеогенезом, внедрены методы диагностики и лечения памидроновой кислотой детей с несовершенным остеогенезом в отделении восстановительного лечения детей с нефро-урологическими заболеваниями, ожирением и метаболическими болезнями и в отделении нейроортопедии и ортопедии НИИ педиатрии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста, иллюстрирована 15 рисунками, 26 таблицами и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения, выводов и практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 119 источников, из которых 20 отечественных и 99 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Работа выполнена в отделении восстановительного лечения детей с нефро-урологическими заболеваниями, ожирением и метаболическими болезнями (заведующая отделением – к.м.н. Маргиева Т.В.) НИИ педиатрии (директор — член-корреспондент РАН Намазова-Баранова Л.С.) ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России (директор – академик РАН Баранов А.А.). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России (протокол №11 от 17.12.2013 г.).

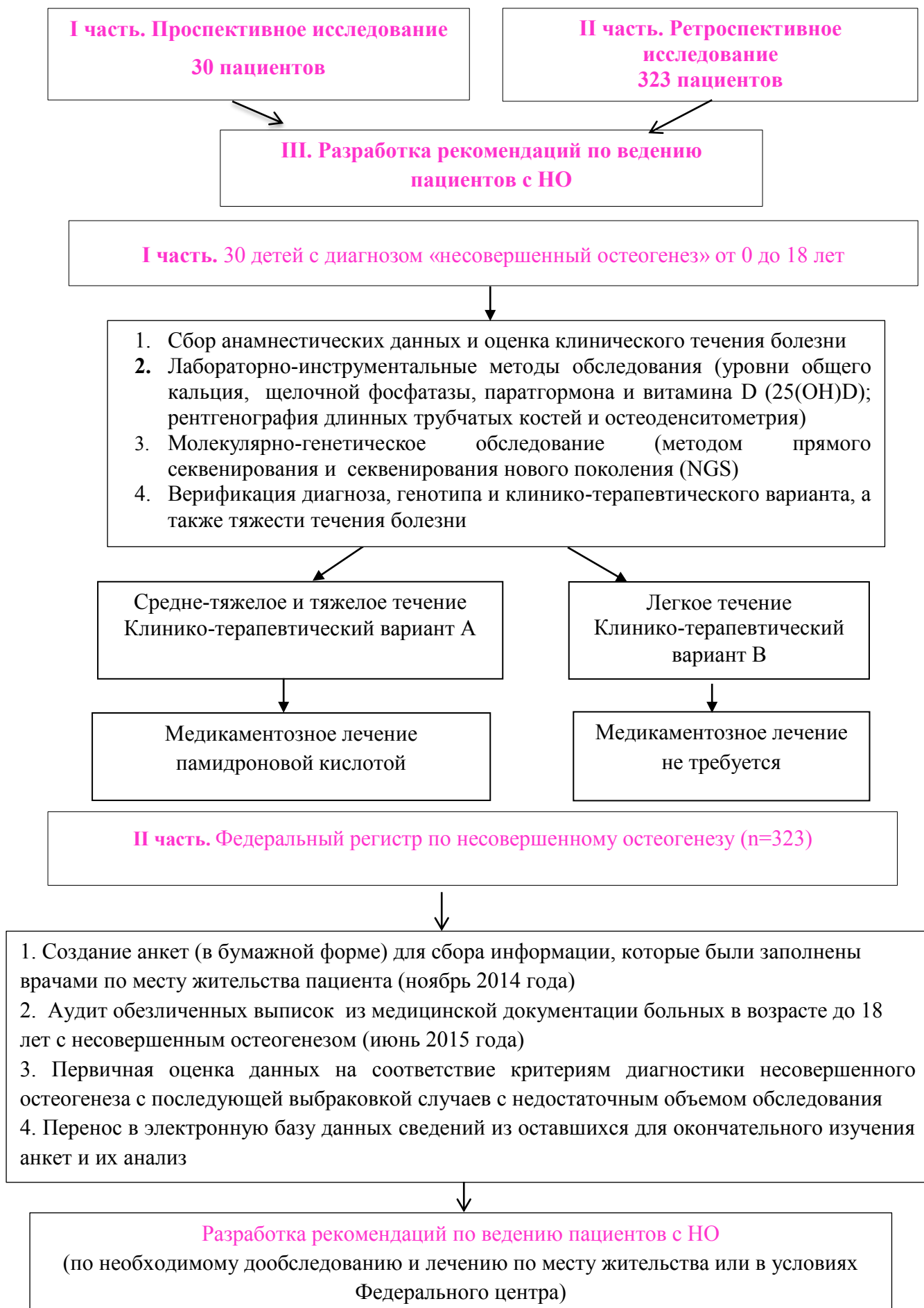


Рис 1. Дизайн исследования

Исследование проведено в 2 этапа: 1) проспективный анализ анамнестических и клинических данных 30 пациентов в возрасте от 0 до 18 лет с разными типами несовершенного остеогенеза, проходивших диагностику и лечение в ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России в 2013 – 2015 гг., 2) ретроспективный анализ данных о 323 пациентах с несовершенным остеогенезом, проживающих в различных регионах РФ, включенных в Федеральный регистр Минздрава России (Рис. 1).

Статистическая обработка полученных данных и анализ результатов исследования проводились на персональном компьютере с использованием программ «Microsoft Office Excel 7.0» и «Statistica 10.0» (США). Расчет проводился для относительных, абсолютных и ранговых величин. Данные статистического анализа: минимальные и максимальные значения, средние значения, ошибки средних, медианы, стандартные отклонения, 25-й и 75-й перцентили, также с использованием непараметрических методов (U-критерий Манна-Уитни).

Для выявления зависимости между парными показателями применялся корреляционный анализ с использованием непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r). Статистически значимыми считались различия между показателями при уровне вероятности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

I. Результаты проспективного исследования

На первом этапе было обследовано 30 детей с диагнозом «несовершенный остеогенез» (НО): 19 (63,3%) мальчиков, 11 (36,7%) девочек. Описательная характеристика анамнеза жизни пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1.

Описательная характеристика показателей анамнеза жизни пациентов (n=30)

Признаки	Результаты
Отягощенный семейный анамнез (по наличию переломов и/или несовершенного остеогенеза), n (%)	8 (26%)
Срок гестации при рождении: Доношенный/недоношенный (n)	22 (73,3%)/ 8 (26,7%)
Родоразрешение: естественный путь/кесарево сечение (n)	23 (76,7%)/ 7 (23,3%)
Длина тела при рождении (см), Med [25%;75%]	50,0 [48,0;52,0]
Масса тела при рождении (кг), Med [25%;75%]	3,1 [2,7;3,3]
Количество пациентов с переломами сразу после рождения*, n (%)	14 (46,6%)
Наличие деформаций длинных трубчатых костей при рождении*, n (%)	8 (26%)

Примечание: * - патологический признак, которого нет у здоровых новорожденных

По типам несовершенного остеогенеза, согласно классификации Sillence, пациенты распределились следующим образом: I тип – у 12 (40%) детей; III тип – у 10 (30%); IV – у 7 (23,34%); V тип – у 1 пациента (3,34%). Второй тип не был верифицирован ни у одного больного.

По результатам анализа степени тяжести течения заболевания: с легким течением наблюдалось 6 детей с I типом НО; со средней степенью тяжести 14 детей, в числе которых наблюдаются все типы НО (табл. 2), но преобладали дети с I и IV типами (12 из 14); с тяжелым течением было 10 детей с III типом НО. Крайне тяжелая степень тяжести течения болезни не отмечена ни у одного пациента.

Таблица 2.

Распределение детей по тяжести заболевания

Степень тяжести	Легкая степень	Средняя степень	Тяжелая степень
Тип НО	I	I/III/IV/V	III
Количество детей	6	7/1/5/1 (14)	10
Пол мальчики/девочки	4/2	9/5	6/4

Как видно из табл.2, степень тяжести присуща разным типам НО в разной степени, то есть уже по течению можно предположить и наиболее вероятный тип болезни: при тяжелом течении – III тип, а при легком – I тип болезни.

Данные клинической характеристики и лабораторно-инструментальных методов обследования пациентов

При **физикальном обследовании** обращало внимание наличие у пациентов таких признаков, как: голубые склеры – у 24 (80%), гипермобильность суставов – у 24 (80%), деформации нижних конечностей – у 19 (63,3%), нарушение изгиба позвоночника (кифоз, лордоз, сколиоз) – у 16 (53,3%), несовершенный дентиногенез – у 9 (30%), деформации верхних конечностей – у 8 (27%) пациентов.

Нарушения слуха при проведении тональной аудиометрии ни у одного пациента выявлено не было (ранее аудиометрия не выполнялась).

По результатам биохимического анализа крови сывороточные уровни общего кальция – 2,48 [2,3;2,57] ммоль/л, щелочной фосфатазы – 277 [205;330] Ед/л, паратгормона – 33,3 [23,2;45,3] пг/мл, общего витамина D – 27,6 нг/мл [22,5;34,5] существенно от референсных значений указанных показателей не отличались.

Экскреция кальция и фосфора в моче при расчете кальций/креатининового (0,3 [0,06;0,71] ммоль/ммоль) и фосфор/креатининового (3,54 [2,4;4,5] ммоль/ммоль) коэффициентов также не была повышена.

Показатели минеральной плотности костной ткани поясничного отдела позвоночника, с учетом костного возраста на момент установления диагноза в среднем составляли: aBMD 0,441 [0,296;0,612] g/cm², SDS Z-score (n=16) -3,25 [-3,65;-2,0] (см. табл. 3).

Таблица 3.

Показатели минеральной плотности костной ткани поясничного отдела позвоночника

Показатели МПК	Z-score	Количество детей
Z-score > -1 (норма)	0,4 [-0,7;1,0]	3
Z-score -2,5 ≤ -1 (остеопения)	-2,0 [-2,2;-1,8]	2
Z-score ≤ -2,5 (остеопороз)	-3,5 [-3,9;-3,2]	11

Примечание: учитывая, что в остеоденситометрии программа определения Z-score нормативов установлена для детей старше 5 лет, у 14 пациентов младше этого возраста уровень SDS Z-score технически не установлен

Далее мы провели анализ клинических и лабораторно-инструментальных характеристик пациентов (рис. 2-4) в зависимости от типа болезни, который позволил определить, что удельный вес отдельных признаков различен у детей с разными типами НО. Так, наличие у ребенка множественных переломов в сочетании с деформацией трубчатых костей (как верхних, так и нижних конечностей) и позвоночника, остеопорозом с повышением активности щелочной фосфатазы и отставанием физического развития было характерно для самого тяжелого III типа болезни. В то же время при IV типе болезни практически отсутствуют деформации конечностей, менее выражена задержка физического развития, значительно реже встречается остеопороз.

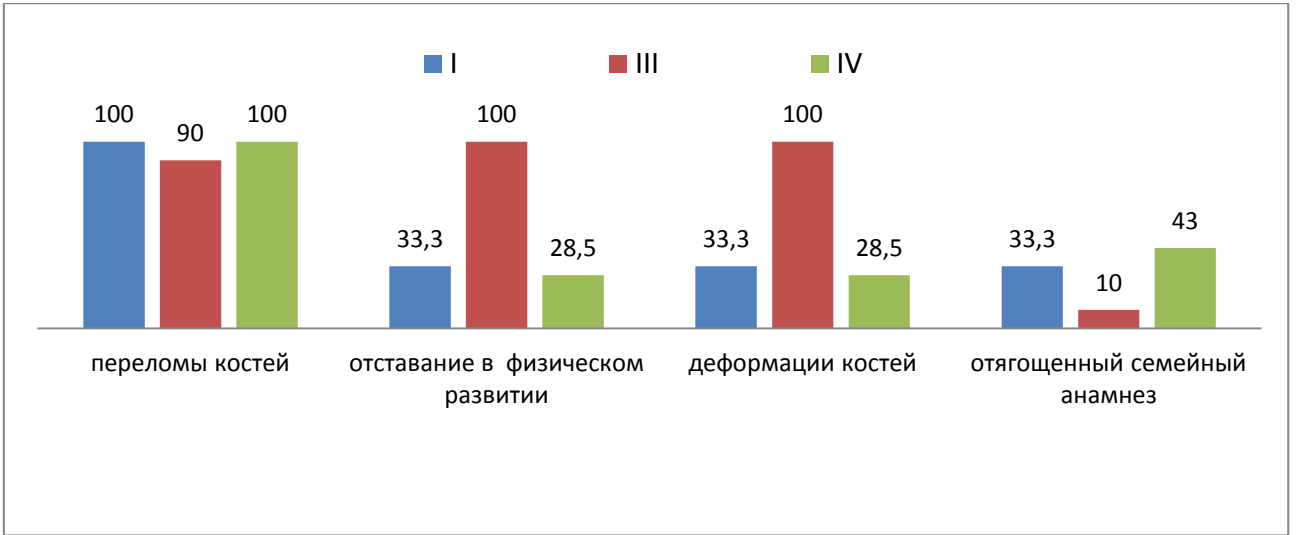


Рис 2. Частота встречаемости жалоб у обследованных больных по типам заболевания (%)

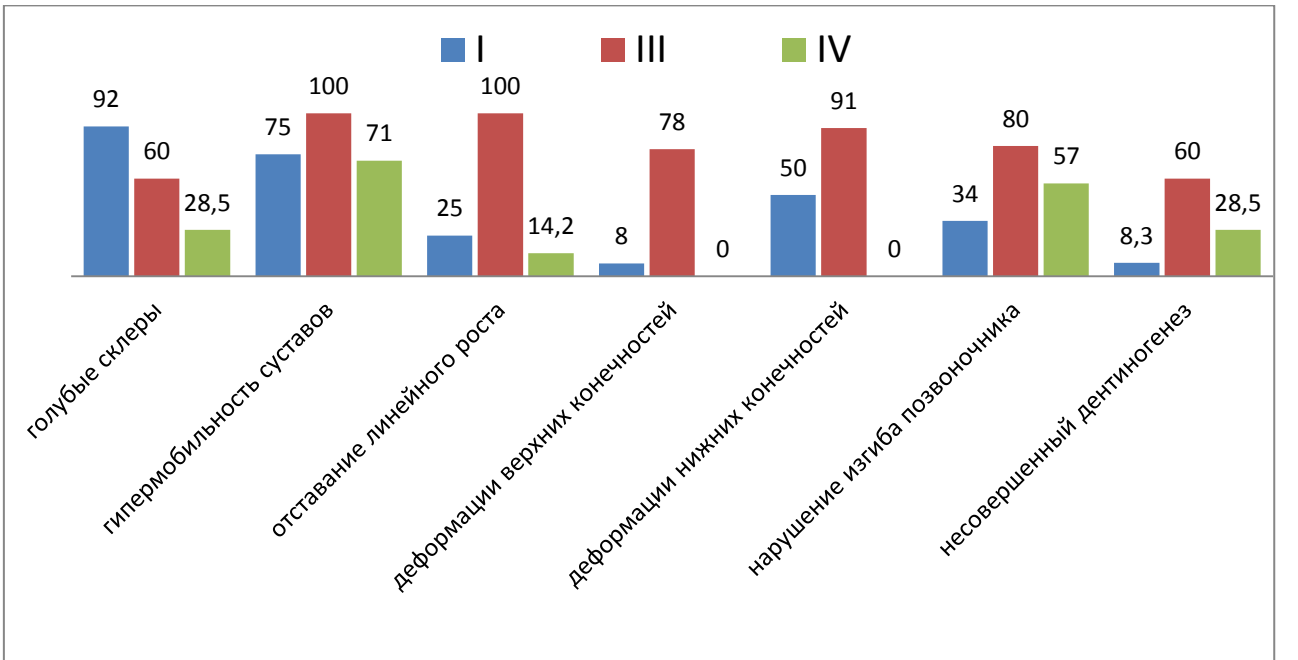


Рис 3. Частота встречаемости признаков внешнего осмотра у обследованных больных по типам заболевания (%)

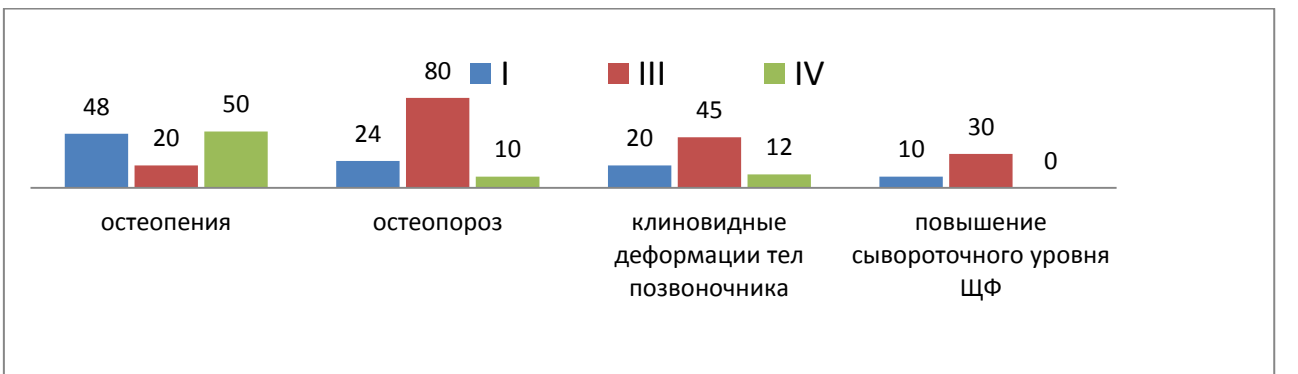


Рис 4. Частота встречаемости признаков лабораторно-инструментальных исследований у обследованных больных по типам заболевания (%)

Антропометрические показатели детей с несовершенным остеогенезом

У всех детей на момент начала исследования отмечались низкие показатели антропометрических данных (дети были невысокие и с низкой массой тела). SDS роста составлял -1,75 [-3,3;-0,4], что примерно соответствует 3 перцентилю. Средние показатели SDS массы тела (-2,0 [-3,2;-0,9]) также находились ниже 3 перцентиля.

При анализе антропометрических данных в зависимости от типа болезни отмечается статистически значимая разница массы тела между I, IV и III типами заболевания (табл. 4).

Таблица 4.

Показатели массы тела и роста (Z-score) с I, III и IV типом несовершенного остеогенеза

Z - score	I тип (n=12)	III тип (n=10)	IV тип (n=7)
Масса тела	-1,85 [-2,4;0,08]*	-3,45 [-4,37;-2,00]*,**	-1,2 [-2,2;-0,41]**
рост	-0,99 [-1,9;-0,2]*	-3,8 [-4,18;-2,6]*,**	-0,97 [-2,3;-0,6]**
ИМТ	0,1 [-1,2;1,1]	-1,0 [-1,2;-0,1]	0,65 [-0,6;1,8]

, p<0,05 (U-критерий Манна — Уитни) при сравнении I (*) и IV(**) типа с III типом болезни*

У 1 ребенка с V типом несовершенного остеогенеза физическое развитие не отличалось от показателей здоровых (масса тела Z-score «1,6», рост Z-score «- 0,05») – в связи с тем, что случай был единственным, сравнение с другими типами не проводилось.

Проведена оценка антропометрических данных пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания, данные приведены в табл. 5.

Таблица 5.

Показатели массы тела и роста (Z- score) в зависимости от тяжести течения несовершенного остеогенеза

Z - score	Легкая степень (n=6)	Средняя степень (n=14)	Тяжелая степень (n=10)
Масса тела	-0,93 [-1,2;-0,25]*	-1,85 [-3,4;1,6]**	-3,44 [-5,12;-1,7]*,**
рост	-1,15 [-1,9;1,7] *	-1,15 [-2,4;0,4]**	-3,6 [-4,75;-1,35]*,**

, p<0,05 (U-критерий Манна — Уитни)*

Таким образом, наибольшая задержка физического развития ожидаемо отмечена у детей с тяжелым течением болезни.

Молекулярно-генетическое обследование пациентов

Всем 30 пациентам, включенным в исследование, был проведен молекулярно-генетический анализ. У 16 пациентов выявлены мутации в генах, кодирующих цепи коллагена: COL1A1–9, COL1A2–4, COL3A1–1, COL5A1–1, COL5A2–1. У 76% пациентов обнаружены мутации в генах коллагена I типа – COL1A1 и COL1A2. При этом более 60 % мутаций в генах COL1A1/COL1A2 составляют миссенс-мутации, приводящие к замене глицина в Gly-X-Y триплете тройной спирали цепи коллагена, расположенные в кодирующих областях исследованных генов (табл. 6).

Таблица 6.

Эффекты влияния на фенотип специфических замен остатков аминокислот глицина в $\alpha 1(I)$ / $\alpha 2(I)$ цепях

	n	Переломы костей	Деформации костей	СА	Голубые склеры	Несовершенный дентиногенез	Рост (z-score)
COL1A1 - $\alpha 1(I)$							
Asp	2	7,5±0,7	0/1	0	2	0	0,6±1,8
Cys	1	23	1	0	1	1	-3,9
His	1	32	1	0	0	1	-3,7
COL1A2- $\alpha 2(I)$							
Ser	2	11,5±4,9	2	0	2	2	-3,7±0,28
Asp	1	4	1	0	1	0	-0,6
Glu	1	1	0	1	0	1	-2,2

Примечание: n – количество детей; СА – семейный анамнез

Мутации в гене COL1A1 обнаружены у 53% (9) пациентов с клиническим проявлениями, характерными для различных форм несовершенного остеогенеза, как с лёгким, так и с тяжёлым течением. У одного пациента с легким течением заболевания, с голубыми склерами, выявлена фреймшифт мутация. Семейный анамнез отягощен – у отца 9 переломов костей с раннего детского возраста, которые прекратились к подростковому периоду, голубые склеры, снижение слуха после 30 лет; у бабушки по линии отца также частые переломы костей. В настоящее время ребенку 12 лет, учитывая анамнез снижения слуха у отца, ребенок регулярно будет проходить аудиологические исследования.

Одна мутация в гене COL1A1, с.493delinsTA в результате делеции и инсерции вызвала стоп кодон p.Tyr165*. Вследствие данной мутации происходит преждевременная терминация синтеза нужного белка (нонсенс мутация), сохраняется синтез

коллагена с нормальной структурой, только в меньшем количестве, что и характерно для I типа несовершенного остеогенеза, которому клинически соответствует пациент.

Особый интерес представляет ситуация, когда мутация в гене COL1A1, может приводить к развитию как несовершенного остеогенеза, так и синдрома Элерса-Данло. В клинической картине у этого ребенка отмечалась симптоматика, характерная для несовершенного остеогенеза, тип I: переломы костей, остеопения, голубые склеры, но одновременно с этим были выявлены симптомы, характерные для Синдрома Элерса-Данло, тип 7: выраженная гипермобильность суставов, гиперэластичная кожа.

Еще у трёх пациентов были выявлены мутации в генах COL3A1, COL5A1, COL5A2, которые как известно, приводят и к развитию синдрома Элерса-Данло. В ходе обследования чётких корреляций между имеющимся клиническим фенотипом и выявленными мутациями в генах коллагена не обнаружено, возможно, имеет место промежуточный фенотип, сочетающий в себе клинические проявления двух заболеваний.

Мутации в гене COL1A2 выявлены у 4 пациентов с несовершенным остеогенезом (III тип - 2; IV тип -1; I тип – 1), все миссенс-мутации (табл. 6).

Миссенс-мутации в генах COL1A1 и COL1A2, которые кодируют соответствующие альфа цепи коллагена I типа, обнаружены у 10 пациентов. Наблюдается сходство между клиническими проявлениями заболевания у пациентов с $\alpha 1$ (I) и $\alpha 2$ (I) группами мутаций, однако, в связи с малой выборкой статистически значимых различий между группами не получено.

У большинства обследованных нами пациентов с несовершенным остеогенезом выявлены частые (согласно имеющимся в литературе данным) мутации в исследованных генах, однако у 2 пациентов были также обнаружены мутации, которые ранее не были описаны: с.596G>A (p.Gly199Asp) и с.493delinsTA (p.Tyr165*).

У 1 пациента проведен молекулярно-генетический анализ методом прямого секвенирования, были исследованы все кодирующие экзоны гена *IFITM5*, а также прилегающие интронные области. В 5'-UTR области была обнаружена мутация с.-14C>T в гетерозиготном состоянии, приводящая к образованию нового старт-кодона и изменению аминокислотной последовательности кодируемого белка BRIL. Клиническая картина заболевания у данного пациента соответствовала V типу несовершенного остеогенеза. В результате проведённого молекулярно-генетического обследования, диагноз этого редкого заболевания был подтверждён.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что во-первых, имеет место тесная параллель между генотипами и фенотипами болезни, а во-вторых, что рутинное генетическое подтверждение диагноза возможно не во всех случаях, но это не исключает

наличие данного диагноза у ребенка. Т.е. наличие у пациента одного из фенотипов болезни позволяет установить диагноз даже в отсутствие генетического подтверждения.

Алгоритм терапии памидроновой кислотой детей с несовершенным остеогнезом

Для решения вопроса о начале терапии ПмК на основании данных мировой литературы нами были сформулированы и предложены для использования в практике клинко-терапевтические варианты НО, определяемые следующими критериями:

- частота переломов более 3 раз в течение 1 года;
- признаки снижения минеральной плотности костной ткани (остеопения/остеопороз);
- деформации костей и задержка физического развития.

Обнаружение 2-х и более критериев причисляет пациента к клинко-терапевтическому варианту А и определяет необходимость начала терапии бисфосфонатами с целью предотвращения дальнейшей потери костной массы (табл. 7). Схема терапии представлена на рис 5. Наличие у пациента менее 2-х из перечисленных критериев относит его к клинко-терапевтическому варианту В, который не требует лечения бисфосфонатами.

Таблица 7.

Распределение обследованных детей по клинко-терапевтическим вариантам

Клинко-терапевтический вариант	А (n=23)	В (n=7)
Параметры		
Тип НО (n)	I/IV/III/V 10/3/9/1	I/IV/III 2/4/1
Число переломов за 1 год (Med [25%;75%])	4,0 [3,0;6,0]	1,0 [0;1]
Деформации костей Верхних/нижних конечностей	8/19 35%/83%	0/3 (30%)
Отставание физического и/или моторного* развития	16 (69%)	0
Признаки снижения минерализации костной ткани Z-score (Med [25%;75%])	-3,45 [-3,8;-3,0]	-1,25 [1;-2,2]

*Примечание: * - отставание моторного развития вследствие частых переломов костей*

Согласно распределению по клинко-терапевтическим вариантам, группу А (n=23) составили дети (76,6%), которые получают терапию памидроновой кислотой (представители клинко-терапевтического варианта А); в группу В (n=7) вошли пациенты (23,4%), которые

не получают терапию памидроновой кислотой, т.к. клинко-терапевтический вариант В в таковой не нуждается.

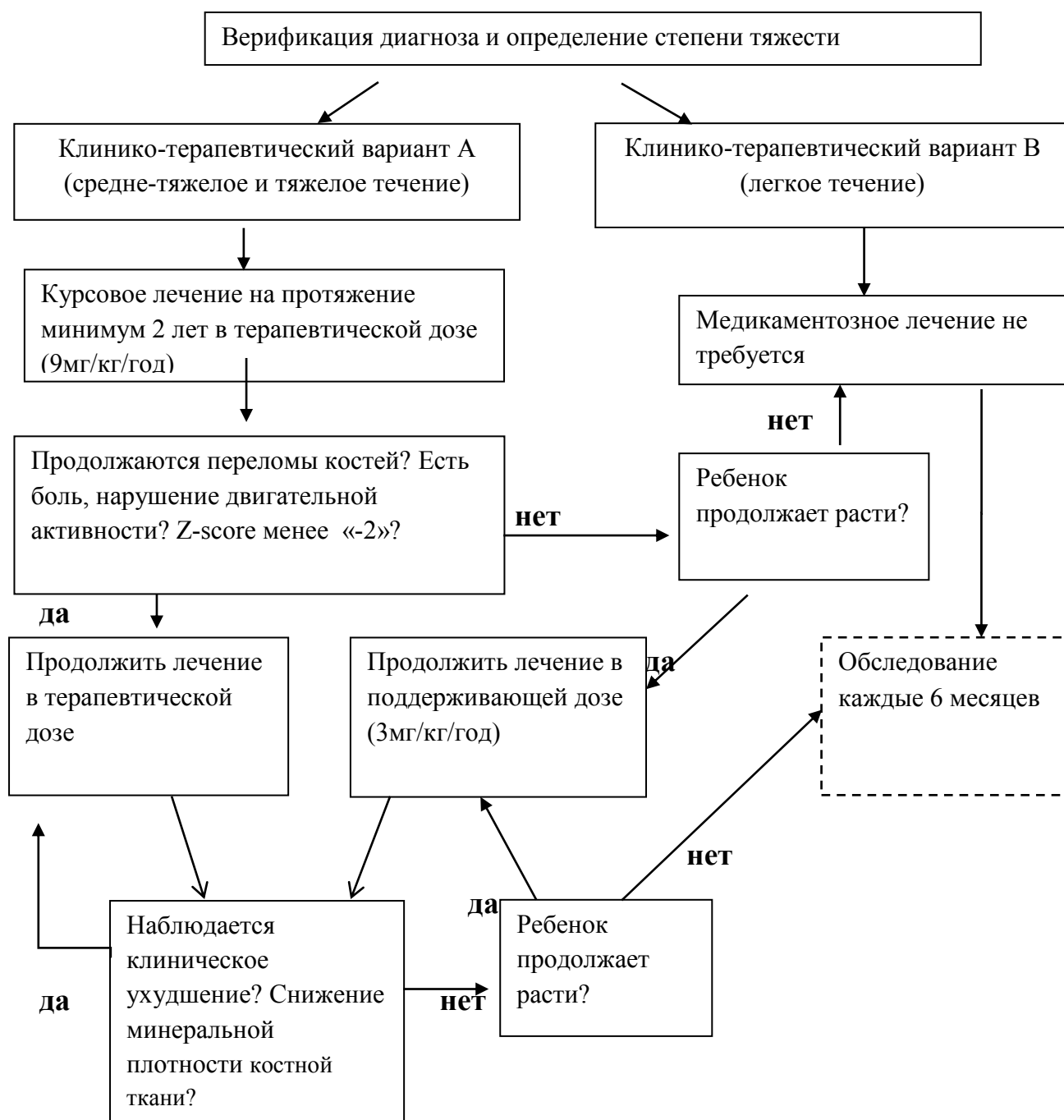


Рис 5. Алгоритм терапии

Клиническая характеристика группы больных, получающей терапию памидроновой кислотой.

Данная группа представлена 9 девочками, 14 мальчиками. Терапию препаратом памидроновой кислоты начинали сразу после постановки диагноза. Возраст детей на момент начала лечения, а также распределение детей по типам представлено в табл. 8.

Таблица 8.

Распределение детей в зависимости от возраста начала терапии памидроновой кислотой (ПМК) и типа несовершенного остеогенеза.

Возраст начала терапии	I	III	IV	V	итого
до 12 месяцев жизни	3	4			7 (30,4%)
от 12 месяцев до 36 месяцев жизни	2	4	1		7 (30,4%)
от 36 месяцев до 84 месяцев жизни	2	1	1	1	5 (21,7%)
от 84 месяцев жизни	3	1			4 (17,3%)

Показатели частоты переломов длинных трубчатых костей и минеральной плотности костной ткани у детей клинико-терапевтического варианта А (получающих терапию памидроновой кислотой, группа А).

У каждого пациента было оценено количество переломов длинных трубчатых костей за 12 мес до начала терапии ПМК. В среднем наблюдалось 4,0 [3,0;6,0] перелома костей в год. Минеральная плотность костной ткани в поясничной области на момент начала исследования была снижена до степени остеопороза: SDS Z-score (L2-L4) -3,45 [-3,8;-3,0] (aBMD 0,404 [0,278;0,612]g/cm²).

В течение 12 месяцев циклических введений памидроновой кислоты в возрастной дозировке по схеме число переломов (рассчитанное в целом для группы) сократилось до 0 [0; 1] (p < 0,001) в год, а также улучшились показатели МПК SDS Z-score (L2-L4) -1,9 [-2,75;-0,75] (aBMD 0,478 [0,356;0,69] g/cm²) (табл 9).

У 12 пациентов продолжительность наблюдения на фоне терапии ПМК составила 24 месяца. Количество переломов костей сохранялось на низких значениях – 0 [0; 1,0] в год (p < 0,05), у 8 из них новых переломов костей не наблюдалось. Отмечено повышение показателя МПК SDS Z-score (L2-L4) до -0,95 [-1,4;-0,6] (aBMD 0,529 [0,414;0,662] g/cm²).

У 5 пациентов период наблюдения составил 36 месяцев, в связи с отсутствием новых переломов костей в течение 24 месяцев, а также нормальными показателями минеральной плотности костной ткани в поясничной области, была снижена доза препарата до профилактической (1/3 терапевтической) – 3 мг/кг/год (табл. 9). При динамическом контроле в течение 12 месяцев у данных пациентов новых переломов костей не наблюдалось, показатели минеральной плотности костной ткани сохранялись на прежнем уровне SDS Z-score (L2-L4) -0,7 [-0,8;-0,4] (aBMD 0,623 [0,586;0,671]g/cm²).

Таблица 9.

Показатели количества переломов костей и костной минеральной плотности в области поясничного отдела позвоночника в зависимости от длительности терапии памидроновой кислотой (ссылки в тексте) (Med [25%;75%])

	В начале исследования	Через 12 мес	Через 24 мес	Через 36 мес
Число детей	23	23	12	5**
Количество переломов	4,0 [3,0;6,0]	0 [0; 1]*	0 [0; 1]*	0 [0; 0]*
aBMD g/cm ²	0,404 [0,278;0,612]	0,478 [0,356;0,69]*	0,529 [0,414;0,662]*	0,620 [0,586;0,671]*
Z-score (L2-L4)	-3,45 [-3,8;-3,0]	-1,9 [-2,75;-0,75]*	-0,95 [-1,4;-0,6]*	-0,7 [-0,8;-0,4]

Примечание: aBMD – показатель костной минеральной плотности в области L2-L4; Z-score – интегральный показатель костной плотности, рассчитан с учетом костного возраста

** p<0,05 (U-критерий Манна – Уитни) оценена с исходными показателями в начале исследования*

*** у 5 пациентов терапия препаратом памидроновой кислоты. проводилась в профилактической дозе (3 мг/кг/год)*

Критерии отмены терапии

- отсутствие новых переломов костей;
- плотность костной ткани в пределах нормы;
- снижение темпов роста (закрытие зон роста);

У 4-х детей проведена отмена терапии в пубертатном периоде, на основании вышеизложенных критериев, данные представлены в табл. 10.

Таблица 10.

Распределение детей в зависимости от возраста начала терапии памидроновой кислотой (ПМК) и типа несовершенного остеогенеза

тип	до начало терапии		длительность терапии (мес)	на фоне терапии		возраст отмены терапии (месяцы жизни)
	количество переломов (в год)	SDS Z-score		количество переломов	SDS Z-score	
I	3	-3,2	15	0	-1,0	150
I	4	-3,5	31	0	-1,0	170
I	1	-4,0	48	0	-0,8	170
IV	6	-4,5	10	0	-2,4	182

II. Результаты ретроспективного исследования

Аудит пациентов по данным Федерального регистра пациентов с несовершенным остеогенезом

На момент начала аудита (июнь 2015 г.) в Федеральном регистре был зарегистрирован 421 случай несовершенного остеогенеза у детей. Для рецензирования не была представлена информация по 86 больным. Дальнейший анализ проводился по данным 335 детей.

Диагноз несовершенного остеогенеза был признан правомочным у 323 детей (из 335), из них у 131 (40,6%) девочки и у 192 (59,4%) мальчиков. Их распределение по Федеральным округам представлено на рис.6.



Рис 6. Распределение детей (n=323) по Федеральным округам Российской Федерации

С учетом численности детского населения (до 17 лет 11 мес 29 дней) в каждом федеральном округе на 1 января 2015 г., рассчитанной Федеральной службой государственной статистики РФ, была определена распространенность несовершенного остеогенеза как в целом в РФ, так и отдельно по ФО. Как видно из табл. 11, данный показатель наиболее высок в Сибирском федеральном округе – 1,5 : 100 000 детского населения и в Приволжском ФО - 1,35 : 100 000, а наименьшие значения получены в Северо-Западном ФО – 0,28 : 100 000. Средняя распространенность НО у детей на территории Российской Федерации составила 1,08 : 100 000 детей или 1 : 92 592.

Таблица 11.

Численность детей с НО на территории Российской Федерации на январь 2015 г.

Федеральный округ	Численность детского населения	Число детей	%	Показатель численности на 100 000
Приволжский	6 213 396	84	26,0	1,35
Центральный	6 841 417	79	24,0	1,15
Сибирский	4 312 994	64	20,0	1,5
Уральский	2 701 259	31	9,5	1,1
Южный	2 797 972	31	9,5	1,1
Северо-Кавказский	2 736 354	13	4,0	0,47
Дальневосточный	1 347 722	14	4,0	1,03
Северо-Западный	2 513 393	7	2,0	0,28
Всего	29 904 364	323	100	1,08

В числе сопутствующих заболеваний зарегистрированы (по одному случаю, их соответствие диагнозу не оценивалось): другие генетически обусловленные болезни (фенилкетонурия, буллезный эпидермолиз, несахарный диабет), аутоиммунные и иные болезни, обусловленные нарушением иммунного ответа (инсулинозависимый сахарный диабет, острый лимфобластный лейкоз, витилиго), врожденные аномалии развития (гемангиома печени, гипоплазия левой почки, поясничная дистопия правой почки). Семейный анамнез был отягощен по несовершенному остеогенезу в 128 (39,6%) случаях. Пренатальное УЗИ позволило выявить признаки болезни всего лишь в 27 (8,4%) случаях. Возраст пациентов на момент постановки диагноза составил 24 [0,1;48] мес. жизни, начиная с рождения до 84 мес. жизни.

Типы НО клинически установлены только у 117 (36,2%) пациентов, из них I тип – у 69 (59,0%) пациентов, III тип – у 32 (27,4%) пациентов, IV тип – у 16 (13,7%).

Молекулярно-генетический анализ не представлен ни у одного из пациентов.

Манифестация случаев переломов распределилась следующим образом: у 38 (12%) пациентов переломы выявлены сразу после рождения, у 90 (28%) пациентов – в первые 6 мес жизни, у 194 (60%) – после 6 мес жизни. Деформации верхних конечностей наблюдали у 51 (15,7%), нижних – у 174 (53,8%) пациентов.

Терапию бисфосфонатами получают 123 (38%) ребенка, возраст начала лечения – 48 (30;90) мес. жизни.

Также в терапии используются другие лекарственные средства, не являющиеся рекомендованными для лечения НО, такие как препараты кальция – 226 (70,0%), витамин D – 167 (51,7%), гормон роста – 21 (6,5%), кальцитонин – 31 (9,6%) больного. Оценить длительность, а также эффективность проводимой терапии не удалось из-за недостаточности информации в анкетах. Оперативные вмешательства на костях проводились у 116 (36%) пациентов.

Двигательная активность пациентов была следующей: самостоятельно ходят 216 (65,2%) детей, передвигаются при помощи коляски – 87 (26,9%), 28 (8,6%) пациентов самостоятельно не ходят и обслуживать себя не могут.

В финале мы проанализировали наличие у детей критериев принадлежности предложенным нами клиничко-терапевтическим вариантам. Данные о количестве переломов в год, минеральной плотности костной ткани, а также о деформации костей и физическом/моторном развитии были указаны только у 274 детей из 323 (табл. 12). По ним и проведен анализ.

Таблица 12.

Наличие критериев тяжести течения болезни у детей, включенных в Федеральный регистр по несовершенному остеогенезу

	Переломы костей	Остеопороз/остеопения	Деформации костей		Отставание в физическом/моторном развитии
			Верхних конечностей	Нижних конечностей	
n(%)	154 (56%)	98 (35%)*	51 (18%)	174 (63%)	206 (75%)

* - у большинства пациентов (за исключением II, которым была выполнена денситометрия) наличие снижения минеральной плотности костной ткани и его степень (остеопороз/остеопения) было установлено по данным обзорной рентгенографии трубчатых костей. В связи с субъективностью исследования указанные результаты не являются истинными.

Как видно из таблицы 12, одновременно 2 критерия из 3-х имеются у 154 пациентов (56%), а 3 – у 98 (35%). Следовательно, в терапии бисфосфонатами нуждается большинство пациентов, в то время как лечение по факту проводилось только у 38%. В то же время до 70% детей получали необоснованную медикаментозную терапию, не способствующую уменьшению риска развития переломов и улучшению минерализации костной ткани, что является примером нерационального использования средств здравоохранения.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее частыми клиническими и лабораторно-инструментальными проявлениями несовершенного остеогенеза на современном этапе являются переломы костей, в том числе при рождении (96,7 и 46,6% соответственно), голубые склеры (80%), деформации трубчатых костей верхних/нижних конечностей (27%/63%), признаки остеопении/остеопороза (13%/73%). При отсутствии других причин вторичного остеопороза, сочетание указанных симптомов не ставит под сомнение наличие диагноза несовершенного остеогенеза.

2. Установлено, что каждый из типов болезни имеет характерный фенотип (сочетание клинических и лабораторно-инструментальных проявлений). Так, для наиболее благоприятного фенотипа I (тип I) характерно легкое течение болезни и всего 3 симптома: голубые склеры, гипермобильность суставов, деформации нижних конечностей вследствие многочисленных переломов. Дети с умеренным фенотипом II (тип IV) имеют среднюю степень тяжести течения и 4 симптома болезни: переломы костей, гипермобильность суставов, нарушение изгиба позвоночника и остеопению. Наиболее тяжелый фенотип III (тип III) характеризуется тяжелым течением и многочисленными клиническими проявлениями: отставанием в физическом развитии, множественными переломами и деформациями

конечностей, гипермобильностью суставов, отставанием линейного роста, деформациями верхних и нижних конечностей, нарушением изгиба позвоночника и остеопорозом.

3. Частота выявления мутаций в генах, кодирующих цепи коллагена, составила 53%. У большинства пациентов с несовершенным остеогенезом выявлены частые мутации, у которых имеет место тесная параллель между генотипами и фенотипами болезни. Новые, не описанные ранее, мутации обнаружены в 12,5% случаев с типом I: в генах COL1A2 мутация с.596G>A (p.Gly199Asp) и COL1A1 мутация с.493delinsTA (p.Tyr165*). В то же время отсутствие известных для несовершенного остеогенеза мутаций при наличии соответствующих клинических проявлений не исключает диагноз данной болезни.

4. Терапия памидроновой кислотой значительно сокращает количество переломов костей (в целом по группе до 0 [0; 1] ($p < 0,001$) в год, у 75% пациентов достигнуто полное отсутствие переломов) и улучшает минеральную плотность костной ткани (за 1 год в 1,8 раза).

5. Критерием необходимости начала терапии препаратами из группы бисфосфонатов служит принадлежность пациента к клинико-терапевтическому варианту А (частота переломов более 3-х раз в год, снижение минеральной плотности костной ткани, деформации костей и отставание физического развития). У детей с клинико-терапевтическим вариантом В (не нуждающимся в терапии бисфосфонатами) каждые 6 мес необходима повторная оценка указанных критериев, поскольку возможна смена фенотипа болезни.

6. Обоснованность включения пациентов в Федеральный регистр по несовершенному остеогенезу составила 96,4 %. Учитывая представленные в регистре данные по количеству пациентов в РФ и ФО, распространенность болезни в целом в РФ составила 1,08 /100 000 детей с преобладанием в Сибирском и Приволжском ФО.

7. Только 1/3 пациентов из Федерального регистра получает терапию бисфосфонатами, признанными «золотым стандартом» лечения детей с несовершенным остеогенезом, в то же время большинство детей лечится другими группами препаратов, неэффективность которых в клинических исследованиях была многократно доказана. Учитывая отсутствие единых протоколов терапии бисфосфонатами при несовершенном остеогенезе, большая когорта (20%), нуждающаяся в терапии, не получает должного лечения, а большинство детей (70%) получает лечение с недоказанной эффективностью.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Использование предложенных клинико-терапевтических вариантов болезни является простым, не требующим высокотехнологичных технологий инструментом, для своевременного решения вопроса о начале терапии бисфосфонатами детей с несовершенным остеогенезом. Целесообразно начинать терапию бисфосфонатами при наличии клинических проявлений,

характерных для несовершенного остеогенеза и наличии показаний к началу терапии (клинико-терапевтический вариант А), не дожидаясь результатов молекулярно-генетического исследования.

2. Лечение бисфосфонатами следует продолжать как минимум 2 года, далее необходимо провести оценку эффективности терапии с решением вопроса о переходе на профилактическую дозу препарата. Продолжение терапии в профилактической (1/2-1/3 терапевтической) дозе вплоть до закрытия зон роста позволяет улучшить показатели минеральной плотности костной ткани или предотвратить усиление остеопороза. Отмена препарата до наступления пубертатного периода чревата возобновлением переломов костей.

3. Своевременная диагностика и, при наличии показаний, раннее начало терапии бисфосфонатами позволят предотвратить инвалидизацию пациентов.

4. На основании результатов исследования созданы Федеральные клинические рекомендации по ведению детей с несовершенным остеогенезом.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Г.Т. Яхяева, Т.В. Маргиева, Л.С. Намазова-Баранова, К.В. Савостьянов, А.А. Пушков, Н.В. Журкова, К.В. Жердев, Н.Д. Вашакмадзе, А.К. Геворкян. V тип несовершенного остеогенеза. Наблюдение редкого случая. Педиатрическая фармакология, 2015, том 12, №1, 79-84с.
2. Г.Т. Яхяева, Л.С. Намазова-Баранова, Т.В. Маргиева. Новые аспекты генетической основы, классификации и лечения несовершенного остеогенеза: Литературный обзор. Педиатрическая фармакология, 2015, том 12, №5, 579-588с.
3. Г.Т. Яхяева, Л.С. Намазова-Баранова, Т.В. Маргиева, О.В. Чумакова. Несовершенный остеогенез у детей в Российской Федерации: результаты аудита Федерального регистра. Педиатрическая фармакология, 2016, том 13, №1, 44-48с.
4. Г.Т. Яхяева, Л.С. Намазова-Баранова, Т.В. Маргиева, Н.В. Журкова, А.А. Пушков, К.В. Савостьянов. Молекулярно-генетические основы наследственных заболеваний соединительной ткани, сопровождающихся частыми переломами костей. Вопросы современной педиатрии, 2016, том 15, №2, 175-179с.
5. Г.Т. Яхяева, Л.С. Намазова-Баранова, Т.В. Маргиева. Опыт применения памидроновой кислоты в терапии у детей с несовершенным остеогенезом. Российский педиатрический журнал, 2016, том 19, №5, 282-287с.

Список сокращений

АР – аутосомно-рецессивный

АД – аутосомно-доминантный

БФ – бисфосфонаты

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

МПК – минеральная плотность костной ткани

НО – несовершенный остеогенез

ПмК – памидроновая кислота

ФО – Федеральный округ

ЭДС - Элерса - Данло синдром

BMD – (bone mineral density) минеральная плотность костной ткани

NGS – (next generation sequencing) секвенирование нового поколения

SDS – (standart deviation score) коэффициент стандартного отклонения