

Дифференциальная диагностика миопатии и множественной эпифизарной дисплазии, обусловленной мутациями в гене *COMP*, в детском возрасте

Т.В. Маркова¹, В.М. Кенис², С.С. Никитин¹, Е.В. Мельченко², Т.С. Нагорнова¹, Д.В. Осипова¹, А.Э. Алиева¹, Я.С. Югено¹, Е.Ю. Захарова¹, Е.Л. Дадали¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова» Минобрнауки России; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии им. Г.И. Турнера» Минздрава России; Россия, 196603 Санкт-Петербург, Пушкин, ул. Парковая, 64–68

Контакты: Татьяна Владимировна Маркова markova@med-gen.ru

Введение. Множественная эпифизарная дисплазия (МЭД) 1-го типа (OMIM: 132400) – один из семи описанных к настоящему времени генетических вариантов этой группы скелетных дисплазий. Заболевание обусловлено мутациями в гене *COMP*, локализованном на хромосоме 19p13.1. Наличие мышечной гипотонии и слабости связочного аппарата суставов, а также умеренное повышение уровня активности креатинфосфокиназы часто приводят к ошибочной диагностике миопатии.

Цель исследования – анализ клинико-генетических характеристик МЭД 1-го типа, обусловленной мутациями в гене *COMP*, в выборке российских пациентов и формирование принципов дифференциальной диагностики заболевания с наследственными миопатиями.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 8 пациентов из 7 семей в возрасте от 7 до 15 лет с МЭД 1-го типа, обусловленной гетерозиготными мутациями в гене *COMP*. Для уточнения диагноза использовались генеалогический анализ, клиническое обследование, неврологический осмотр по стандартной методике с оценкой психоэмоциональной сферы, рентгенография и таргетное секвенирование панели, состоящей из 166 генов, ответственных за развитие наследственной скелетной патологии.

Результаты. Проведен анализ анамнестических данных, клинико-рентгенологических и молекулярно-генетических характеристик 8 пациентов с МЭД 1-го типа, обусловленной мутациями в гене *COMP*. Первые клинические проявления заболевания регистрировались с 2–3-летнего возраста и характеризовались изменением походки, быстрой утомляемостью, трудностью подъема по лестнице, частыми падениями при ходьбе, отсутствием возможности самостоятельно встать с пола и из положения на корточках, выраженной гипермобильностью в суставах. В результате проведения электронейромиографического исследования не отмечалось признаков первично-мышечного поражения. У 2 пациентов обнаружено умеренное повышение уровня активности креатинфосфокиназы в плазме крови до 250–360 Ед/л. Все пациенты в течение нескольких лет наблюдались у неврологов с диагнозом врожденной миопатии. В возрасте 5–6 лет у пациентов возникали боли в коленных и голеностопных суставах, которые расценивались как реактивные, чаще всего ревматические, артропатии. При проведении рентгенологического обследования выявлены типичные признаки поражения эпифизов длинных трубчатых костей, что позволило диагностировать МЭД. В результате анализа секвенирования нового поколения выявлено 7 нуклеотидных вариантов в гене *COMP*, ответственном за возникновение 1-го типа этой группы заболеваний. Три из выявленных вариантов зарегистрированы впервые. Как и в ранее описанных выборках, в анализируемой выборке пациентов большинство нуклеотидных вариантов (6 из 7) локализовались в области 8–14-го экзонов гена *COMP* и приводили к аминокислотным заменам в повторах кальмодулиноподобного домена белка, и лишь 1 замена была локализована в С-концевом участке белковой молекулы.

Заключение. МЭД 1-го типа – генетический вариант скелетных дисплазий, не сопровождающийся значимым снижением роста. У большинства пациентов первыми симптомами заболевания, отмеченными в возрасте 2–3 лет, были нарушение походки, повышенная мышечная утомляемость и приемы Говерса. Наличие этих симптомов наряду с умеренным повышением уровня активности креатинфосфокиназы предшествовало возникновению клинических проявлений скелетной дисплазии, приводя к ошибочной диагностике у пациентов нервно-мышечного заболевания из группы миопатий. Присоединение к этим симптомам выраженных артралгий приводило к ошибочному диагнозу

реактивных артритов. Заподозрить наличие МЭД у пациентов позволяет рентгенологическое исследование длинных трубчатых костей, в результате которого выявляются специфические признаки поражения эпифизов. Для диагностики генетического варианта, обусловленного мутациями в гене *COMP*, необходимо проведение молекулярно-генетического анализа.

Ключевые слова: ген *COMP*, множественная эпифизарная дисплазия, миопатия

Для цитирования: Маркова Т.В., Кенис В.М., Никитин С.С. и др. Дифференциальная диагностика миопатии и множественной эпифизарной дисплазии, обусловленной мутациями в гене *COMP*, в детском возрасте. Нервно-мышечные болезни 2022;12(2):37–46. DOI: 10.17650/2222-8721-2022-12-2-37-46.

Differential diagnosis of myopathy and multiple epiphysal dysplasia caused by mutations in the *COMP* gene in children

T.V. Markova¹, V.M. Kenis², S.S. Nikitin¹, E.V. Melchenko², T.S. Nagornova¹, D.V. Osipova¹, A.E. Alieva¹, Ya.S. Yugenov¹, E.Yu. Zakharova¹, E.L. Dadali¹

¹Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia;

²H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery, Ministry of Health of Russia; 64–68 Parkovaya St., Pushkin, Saint Petersburg 196603, Russia

Contacts: Tatyana Vladimirovna Markova markova@med-gen.ru

Background. Multiple epiphysal dysplasia (MED) type 1 (OMIM: 132400) is one of 7 genetic variants of this group of skeletal dysplasias described to date. The disease is caused by mutations in the *COMP* gene located on chromosome 19p13.1. The presence of muscle hypotonia and ligamentous laxity, as well as a moderate increase in the level of creatinephosphokinase activity, can lead to misdiagnosis of myopathy.

Objective: to analyze the clinical and genetic characteristics of type 1 MED caused by mutations in the *COMP* gene in a series of Russian patients. Differential diagnosis was focused on the distinctive features of the disorder and hereditary myopathies.

Materials and methods. We observed 8 patients from 7 families aged 7 to 15 years with MED type 1 caused by heterozygous mutations in the *COMP* gene. To confirm the diagnosis, the following methods were used: genealogical analysis, clinical examination, neurological examination with psycho-emotional testing, radiography and targeted sequencing of a panel consisting of 166 genes responsible for the development of inherited skeletal pathology.

Results. Case history, clinical, radiological and genetic characteristics of 8 patients with MED type 1 caused by mutations in the *COMP* gene were analyzed. The first clinical manifestations of the disease were recorded from the age of 2–3 years and were characterized by gait disturbances, muscle weakness, difficulties with climbing stairs, frequent falls when walking, the inability to get up from the floor and from a squatting position and hypermobility of the joints. Electroneuromyographic study did not reveal the signs of miopathy. In two patients, a moderate increase in the creatinekinase level of up to 250–360 u/l was found. All patients were surveyed by neurologists for several years with a clinical diagnosis of congenital myopathy. At the age of 5–6 years patients complained knee and ankle pain, which was assumed as rheumatic arthropathy. X-ray examination revealed typical signs of deficient ossification of the epiphyses. The next-generation sequencing analysis revealed seven single nucleotide variants in the *COMP* gene that lead to MED type 1. Three of the found variants here identified for the first time. As previously described, the majority of nucleotide variants (six out of seven) were localized in the 8–14 exons of the *COMP* gene and led to amino acid substitutions in calmodulin-like protein domain repeats, and only one substitution was localized in the C-terminal region of the protein molecule.

Conclusion. In most patients with MED caused by mutations in the *COMP* gene, the first symptoms of the disease are gait disturbance, muscle weakness, and Gowers» maneuvers. The presence of these symptoms, along with a moderate increase in the level of creatinephosphokinase activity, often precedes the onset of clinical manifestations of skeletal dysplasia, leading to a misdiagnosis with myopathies. Accession of expressive arthralgias to these symptoms was mistakenly identified as reactive arthritis. X-ray examination of patients' long bones helps to suspect the presence of MED. This X-ray imaging shows specific signs of epiphyses damage. A molecular-genetic analysis needs to be done to diagnose the genetic variant, caused by mutations in gene *COMP*.

Key words: gene *COMP*, multiple epiphysal dysplasia, myopathy

For citation: Markova T.V., Kenis V.M., Nikitin S.S. et al. Differential diagnosis of myopathy and multiple epiphysal dysplasia caused by mutations in the *COMP* gene in children. Nервно-мышечные болезни = Neuromuscular Diseases 2022;12(2):37–46. (In Russ.). DOI: 10.17650/2222-8721-2022-12-2-37-46.

Введение

Множественная эпифизарная дисплазия (МЭД) — группа генетически гетерогенных скелетных дисплазий, в основе патогенеза которых лежит нарушение оссификации эпифизов длинных трубчатых костей и тел позвонков [1]. Впервые заболевание было описано Томасом Фейербанком в 1946 г. [2]. Примерно половина случаев МЭД обусловлены мутациями в гене *COMP*, ответственном за возникновение МЭД 1-го типа (OMIM: 132400) с аутосомно-доминантным типом наследования [3]. Впервые мутации в этом гене у пациентов с МЭД выявлены в 1995 г. M.D. Briggs и соавт. [4]. Ген *COMP* локализован на хромосоме 19p13.11 и содержит 19 экзонов. Его белковый продукт — пентамерный гликопротеин семейства тромбоспондинов — экспрессируется в суставном хряще, пролиферативных и гипертрофических хондроцитах пластинки роста трубчатых костей, связках, сухожилиях и скелетных мышцах и участвует в эндохондральной оссификации, развитии суставного хряща и обеспечении соединения мышц с их сухожилиями [5, 6].

В отличие от большинства наследственных скелетных дисплазий, у пациентов с этим генетическим вариантом МЭД не отмечается значимого снижения роста. Клинические проявления возникают в раннем детском возрасте и характеризуются задержкой темпов моторного развития, переваливающейся походкой, быстрой утомляемостью при ходьбе, трудностями подъема по лестнице и из горизонтального положения [7]. Наличие мышечной гипотонии и слабости связочного аппарата суставов, а также нерезко выраженное повышение уровня активности креатинфосфокиназы (КФК) плазмы крови часто приводят к ошибочной диагностике миопатии, в связи с чем пациенты в течение нескольких лет наблюдаются и получают терапию у неврологов [8]. Спустя несколько лет к указанным симптомам присоединяются боли в коленных или голеностопных суставах, которые на начальном этапе расцениваются как проявления реактивного ювенильного артрита [3].

В большинстве случаев пациентам не проводится специфическое рентгенологическое обследование, что затрудняет установление правильного диагноза и назначение своевременной терапии. Надежным дифференциально-диагностическим признаком наследственной миопатии, реактивного артрита и МЭД является анализ данных рентгенограмм длинных трубчатых костей. Типичными рентгенологическими признаками МЭД выступают длительное отсутствие оссификации головок бедренных костей, задержка оссификации костей запястья (отставание костного возраста), маленькая и круглая форма эпифизов (так называемые мини-эпифизы, которые с возрастом приобретают серповидную форму, становятся фрагментированными и уплощенными) [1, 3].

Таким образом, установление точного диагноза и направление пациентов к врачам-ортопедам осу-

ществляется только через несколько лет от периода манифестации заболевания, что препятствует назначению своевременного лечения. Показано, что прогрессирующие дегенеративные изменения в тазобедренных и коленных суставах часто уже в юношеском возрасте приводят к необходимости осуществления тотального эндопротезирования [3].

Цель настоящего исследования — анализ клинико-генетических характеристик МЭД 1-го типа, обусловленной мутациями в гене *COMP*, в выборке российских пациентов и формирование принципов дифференциальной диагностики заболевания с наследственными миопатиями.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 8 пациентов из 7 семей в возрасте от 7 до 15 лет с МЭД 1-го типа, обусловленной гетерозиготными мутациями в гене *COMP*. Для уточнения диагноза использовались генеалогический анализ, клиническое обследование, неврологический осмотр по стандартной методике с оценкой психоэмоциональной сферы, рентгенография. Молекулярно-генетическое подтверждение диагноза МЭД 1-го типа основывалось на результатах секвенирования нового поколения таргетной панели, состоящей из 166 генов, ответственных за развитие наследственной скелетной патологии. Выделение геномной ДНК проводилось из цельной крови с помощью набора DNAEasy (QiaGen, Германия) согласно стандартному протоколу производителя. Концентрацию ДНК и библиотек измеряли на приборе Qubit 2.0 с использованием реактивов (qubit BR, qubit HS) производителя по стандартному протоколу. Для пробоподготовки была использована методика, основанная на мультиплексной полимеразной цепной реакции целевых участков ДНК. Секвенирование нового поколения проводилось на секвенаторе Ion Torrent S5 со средним покрытием не менее 80x; количество таргетных областей с покрытием $\geq 90-94$ %. Для аннотации выявленных вариантов использовалась номенклатура, представленная на сайте <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/DNA>, версия 2.15.11. Обработка данных секвенирования проведена с использованием стандартного автоматизированного алгоритма, предлагаемого Ion Torrent.

Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки проектов «1000 геномов», ESP6500 и The Genome Aggregation Database v.2.1.1. Для оценки клинической значимости выявленных вариантов использованы база данных OMIM, база данных по патогенным вариантам HGMD® Professional v.2021.3. Оценка патогенности и причинности генетических вариантов проводилась в соответствии с международными рекомендациями по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования [9].

Валидация выявленных вариантов у пробандов, генотипирование сибсов и родителей проводилось методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру согласно протоколу фирмы-производителя на приборе ABI PRISM 3500xl (Applied Biosystems). Последовательности праймеров подобраны согласно референсной последовательности целевых участков гена *COMP* (NM_000095).

У родителей пробандов было получено письменное информированное согласие на проведение молекулярно-генетического тестирования образцов крови и разрешение на анонимную публикацию результатов исследования.

Результаты

Проведен анализ анамнестических данных, клинико-рентгенологических и молекулярно-генетических характеристик 8 пациентов с МЭД 1-го типа, обусловленной мутациями в гене *COMP*. В 3 семьях заболевание детей унаследовано от одного из родителей. В отягощенных семьях родители пациентов наблюдались у ортопедов с дегенеративным поражением тазобедренных и коленных суставов в виде с двустороннего коксартроза и гонартроза, предъявляли жалобы на артралгии в коленных суставах с детского возраста. В 1 случае было проведено эндопротезирование обоих тазобедренных суставов в возрасте 25 и 26 лет соответственно.

При анализе течения заболевания у пациентов детского возраста показано, что у 3 пациентов отмечалась задержка темпов приобретения моторных навыков на 1-м году жизни, однако первые клинические проявления заболевания регистрировались с 2–3-летнего возраста и характеризовались изменением походки, быстрой утомляемостью, трудностью подъема по лестнице, частыми падениями при ходьбе, отсутствием возможности самостоятельно встать, выраженной гипермобильностью в суставах. В результате проведения электронейромиографического исследования, как правило, не отмечалось признаков поражения нейромоторного аппарата. У 2 пациентов обнаружено нерезко выраженное повышение уровня активности КФК в плазме крови до 250–360 Ед/л (при норме лабораторий до 190 Ед/л). Все пациенты в течение нескольких лет наблюдались у неврологов с диагнозом врожденной миопатии. В возрасте 5–6 лет у пациентов возникали боли в коленных и голеностопных суставах, которые расценивались как реактивные, чаще всего ревматические, артропатии. Диагноз МЭД в половине случаев не был установлен до подросткового возраста. Возраст появления отдельных симптомов и их характеристика у пациентов обследованной выборки представлены на рис. 1.

В результате клинического осмотра пациентов в возрасте от 7 до 15 лет показано, что их рост соответствовал средненижней границе нормы и варьировал в диапазоне от $-0,5$ до $-1,88$ SD. Пациенты предъяв-

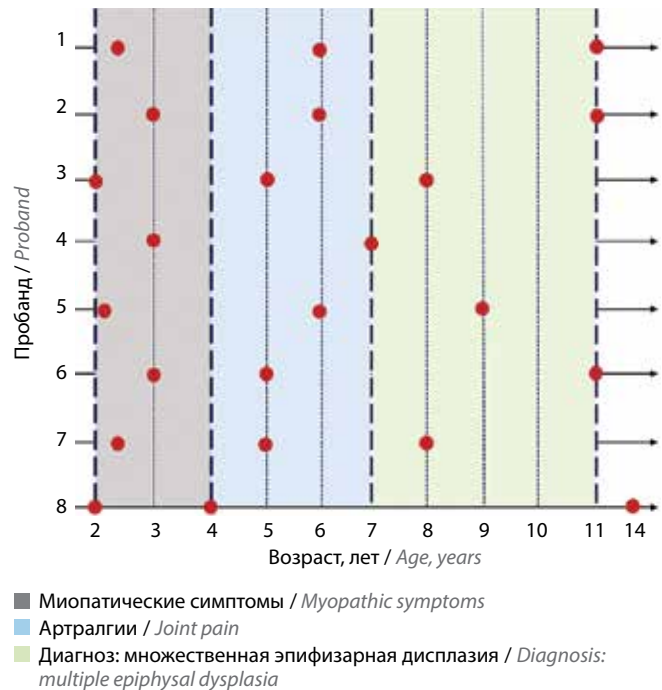


Рис. 1. Возраст появления отдельных симптомов и их характеристика у пациентов обследованной выборки

Fig. 1. Age of symptoms onset and their characteristics in the patients of the surveyed sample

ляли жалобы на нарушение походки, быструю утомляемость и боли в коленных и/или голеностопных суставах при ходьбе. Ни у одного из пациентов не выявлено значимого укорочения конечностей, у 4 пробандов отмечена лишь брахидактилия кистей, а у 2 – тугоподвижность в локтевых суставах. Вальгусная деформация голени обнаружена у 2 пробандов, одному из которых потребовалась их оперативная коррекция: временный гемиепифизодез нижней трети бедренной кости с 2 сторон в возрасте 10 лет. У всех пациентов наблюдались слабость связочного аппарата голеностопных суставов, плосковальгусная деформация обеих стоп и переваливающаяся походка.

При проведении рентгенологического обследования выявлены типичные признаки поражения эпифизов длинных трубчатых костей в виде их деформации и уменьшения в размерах, снижения высоты, неоднородной структуры, резкого грибовидного уплощения головок бедренных костей тазобедренных суставов, неровных контуров и скошенности мышечков бедренных и большеберцовых костей коленных суставов. Изменения позвоночника были минимальны в виде неровности замыкательных пластинок тел позвонков.

На основании анамнеза, клинического осмотра и данных рентгенологического обследования у пациентов предполагалось наличие одного из генетических вариантов МЭД. При проведении молекулярно-генетического анализа выявлено 7 нуклеотидных вариантов, 3 из которых зарегистрированы впервые. Спектр

Таблица 1. Спектр нуклеотидных вариантов в гене *COMP* у пациентов с множественной эпифизарной дисплазией

Table 1. Spectrum of nucleotide variants in the *COMP* gene in patients with multiple epiphyseal dysplasia

Пробанд Proband	Экзон Exon	Нуклеотидный вариант Nucleotide variant	Аминокислотная замена Amino acid substitution	Домен белка Protein domain	Описана ранее Previously described
1	8	c.827C>G	p.Pro276Arg	T3 ₁	M. Czarny-Ratajczak et al. (2001) [10], T.L. Chen et al. (2008) [11]
2	9	c.886C>T	p.Pro296Ser	T3 ₁	—
3	11	c.1153G>A	p.Asp385Asn	T3 ₄	A. Mabuchi et al. (2003) [12], H.Y. Liu et al. (2017) [13]
4	11	c.1153_1155delGAC	p.Asp385del	T3 ₄	G.C.Jackson et al. (2012) [14]
5	13	c.1367A>C	p.Gln456Pro	T3 ₆	—
6	14	c.1501G>A	p.Gly501Ser	T3 ₈	—
7	14	c.1501G>A	p.Gly501Ser	T3 ₈	—
8	16	c.1754C>T	p.Thr585Met	CTD	M.D. Briggs et al. (1998) [15], T.L. Chen et al. (2008) [11], C.L. Hartley et al. (2013) [16]

Примечание. Пробанды 6 и 7 – сводные сибсы с одинаковым генотипом.

Note. Proband 6 and 7 are consolidated siblings with the same genotype.

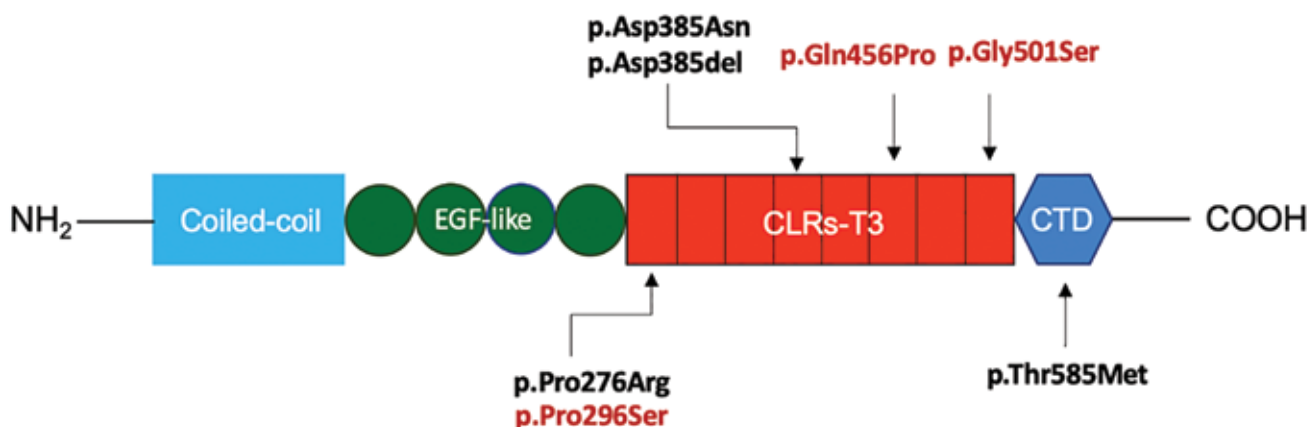


Рис. 2. Локализация аминокислотных замен в доменах белка *COMP* у российских пациентов с мутациями в гене *COMP*. Красным цветом обозначены вновь выявленные нуклеотидные варианты

Fig. 2. Localization of amino acid substitutions in *COMP* protein domains in Russian patients with mutations in the *COMP* gene. Newly identified variants are marked in red

выявленных нуклеотидных вариантов представлен в табл. 1.

Шесть из 7 выявленных нами нуклеотидных вариантов являлись миссенс-заменами, а в 1 случае зарегистрирована делеция 3 нуклеотидов. Шесть нуклеотидных вариантов локализовались в области 8–14-го экзона гена *COMP* и приводили к аминокислотным заменам в повторах кальмодулиноподобного домена белка. Лишь 1 замена локализовалась в С-концевом участке. Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными других исследователей [17, 18]. Локализация аминокислотных замен в белковой молекуле у обследованных пациентов с МЭД 1-го типа представлена на рис. 2.

В качестве демонстрации особенности фенотипических проявлений и характера течения заболевания приводим историю болезни пациента.

Клинический пример

Мальчик в возрасте 13 лет был проконсультирован по поводу жалоб родителей на нарушение походки, утомляемость при ходьбе и боли в суставах, трудности при подъеме из положения на корточках. Родители здоровы, у матери есть здоровая дочь 20 лет от 1-го брака. Мальчик родился от 4-й беременности, от 2-х преждевременных родов на сроке 36 нед, с массой тела 2450 г, длиной тела 46 см, с оценкой по шкале Апгар 7/8 баллов. На 1-м году жизни регулярно проводились курсы массажа,

моторное развитие протекало с небольшой темповой задержкой: сидел самостоятельно с 8 мес, ходил с 1 года 2 мес. На 2-м году жизни родители заметили периодическое «подволакивание» левой стопы, утомляемость при ходьбе (постоянно просился на руки); до 5–6-летнего возраста не мог подниматься по лестницам, присесть на корточки, самостоятельно встать с пола. Ребенок наблюдался у неврологов с диагнозом врожденной миопатии. Однако при проведении электронейромиографического исследования данных в пользу поражения структур нервно-мышечного аппарата не выявлено, уровень активности КФК крови составил 230 Ед/л. В возрасте 6 лет появились боли в голеностопных суставах, выраженное нарушение походки. Ортопедом были диагностированы слабость связочного аппарата стоп, снижение свода и вальгусная деформация стоп, гипермобильность в лучезапястных, локтевых и коленных суставах. В возрасте 8 лет после травмы правой наружной лодыжки проведена рентгенография стоп в 2 проекциях, обнаружены признаки хондропатии в виде уплощения и деформации головок плюсневых костей, нечетких и неровных контуров замыкательных пластинок костей предплюсны обеих стоп, по поводу чего рекомендована консультация профильного специалиста по скелетным дисплазиям. Только в возрасте 11 лет ребенку проведено полное рентгенологическое исследование позвоночника и суставов нижних конечностей в условиях ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии им. Г.И. Турнера», на основании которого было предположено наличие наследственной МЭД.

При осмотре ребенка в возрасте 13 лет рост мальчика составлял 151 см ($-0,89 SD$), масса тела — 41 кг ($-0,41 SD$), что соответствовало среднему гармоничному физическому развитию, с нормальными пропорциями



Рис. 3. Внешний вид пациента (а). Гипермобильность суставов верхней конечности (б)

Fig. 3. The appearance of the patient (a). Hypermobility of the joints of the upper limb (b)

тела (рис. 3а). Обращали на себя внимание признаки гипермобильности (рис. 3б) в лучезапястных, локтевых, коленных и голеностопных суставах. Выявлены легкая асимметрия грудной клетки и нарушение осанки. Отмечена плосковальгусная деформация обеих стоп. Ребенку было трудно вставать и садиться с корточек, использовал при этом миопатические приемы. В неврологическом статусе: при проверке силы в мышцах ног лежа явных парезов нет. Гипотрофии мышц нет. Сухожильные рефлексы с рук и ног живые, $D = S$. Мышечный тонус не изменен. Чувствительность и координация не нарушены.

При рентгенологическом исследовании выявлены умеренная клиновидность передних отделов тел грудных позвонков С7–С9 (рис. 4а), эпифизы головок бедренных костей были уменьшены в размере, с неровными контурами (рис. 4б). Также определялись выраженные нарушения оссификации области коленных суставов (рис. 4в), вальгусная деформация голеностопных суставов вследствие нарушения оссификации дистального эпифиза большеберцовой кости и блока таранной кости (рис. 4г).

На основании клинико-рентгенологических данных предположено наличие у ребенка МЭД 1-го типа. Диагноз был подтвержден при молекулярно-генетическом анализе, в результате которого выявлен вариант нуклеотидной последовательности в 9-м экзоне гена *COMP* (NM_000095): с.886С>Т, р.Pro296Ser в гетерозиготном состоянии. Обнаруженный вариант не зарегистрирован в контрольных выборках gnomAD, не описан в базе HGMD, но в этом кодоне описана другая замена с.886С>А, р.Pro296Thr (CM1410526). Алгоритмы предсказания патогенности расценивают данный вариант как вероятно патогенный (SIFT, Polyphen2_HDIV, Polyphen2_HVAR, MutationTaster, PROVEAN). Методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру обнаруженный вариант подтвержден у ребенка в гетерозиготном состоянии и не обнаружен у родителей, что показало его происхождение *de novo* и позволило диагностировать у больного МЭД 1-го типа.

Обсуждение

Множественная эпифизарная дисплазия 1-го типа — наследственная скелетная дисплазия, обусловленная мутациями в гене *COMP*, локализованном на хромосоме 19p13.1. Его белковый продукт является пентамерным гликопротеином экстрацеллюлярного матрикса, входящим в состав хрящей, связок и мышц. Считается, что его основная функция — катализация фибриногенеза коллагена [19]. Взаимодействуя с другими белками, такими как коллаген II и IX типов, матрилин-3, агрекан и фибронектин, он образует макромолекулярную сеть и, в частности, осуществляет связь мышцы с ее сухожилием [20].

Показано, что белок содержит аминоконцевой спиральный домен олигомеризации (coiled coil), 4 повтора, подобных эпидермальному фактору роста типа II (EGF-подобные/Т2), 8 кальмодулиноподобных повторов типа III (повторы CLR/Т3) и глобулярный карбоксиконцевой



Рис. 4. Рентгенограммы пациента: а – рентгенограмма позвоночника в боковой проекции: умеренная клиновидность передних отделов тел грудных позвонков С7–С9 (белые стрелки) вследствие нарушения оссификации; б – рентгенограмма тазобедренных суставов в прямой проекции: эпифизы головок бедренных костей уменьшены в размере, контуры их неровные (черные стрелки), нарушение оссификации (неровные контуры, дополнительные центры оссификации) большого вертела бедренной кости с 2 сторон (белые стрелки); в – рентгенограмма коленных суставов в прямой проекции: выраженные нарушения оссификации в виде уменьшения размеров, неровности контуров, дополнительных точек оссификации эпифизов бедренных (черные стрелки) и большеберцовых (белые стрелки) костей; предполагаемые истинные размеры хрящевых эпифизов обозначены черными линиями; г – рентгенограмма голеностопных суставов в прямой проекции: значительное вальгусное отклонение дистального латерального угла большеберцовой кости (70° при норме $86-92^\circ$), нарушения оссификации в виде уменьшения размеров, неровности контуров, дополнительных точек оссификации дистального эпифиза большеберцовой кости (черная стрелка) и блока таранной кости (белая стрелка), предполагаемый истинный размер хрящевого эпифиза обозначен черной линией

Fig. 4. Patient radiographs: a – radiograph of the spine (lateral view): moderate wedging of the anterior aspects of the vertebral bodies of C7–C9 thoracic (white arrows) secondary to deficient ossification; б – radiograph of the hip joints: the epiphyses of the femoral heads are small and uneven (black arrows), deficient ossification of the greater trochanters on both sides (white arrows); в – radiograph of the knee joints: deficient ossification, irregularity, extra ossification centers of the femoral (black) and tibial (white calibers) epiphyses; the estimated cartilaginous epiphyses are contoured as black lines; г – radiograph of the ankle joints in direct projection: valgus deviation of the distal lateral tibial angle (70° , normal range – $86-92^\circ$), deficient ossification, irregularity, extra ossification centers of the distal tibial epiphysis (black arrow) and a dome of the talus (white arrow), the estimated cartilaginous epiphysis is contoured as black line

домен (СТД) [21]. Белок является гомопентамером, в котором аминоконцевой домен опосредует пентамеризацию, в результате чего образуется букет-подобная структура из 5 мономеров (рис. 5). Повторы Т2, Т3 и СТД-домены связывают ионы кальция, что крайне необходимо для правильной укладки и секреции белка COMP. Кроме того, С-концевой глобулярный домен необходим для взаимодействия с фибриллярными и нефибриллярными коллагенами и другими белками внеклеточного матрикса и образования кальцийсвязывающих карманов [11].

Так же как и в большинстве описанных в литературе случаев МЭД 1-го типа, в обследованной нами выборке пациентов большинство нуклеотидных вариантов (6 из 7) являлись миссенс-заменами, локализованными в Т3-повторах кальмодулинового белкового домена, которые кодируются 8–14-м экзонами гена COMP. Лишь у 1 пациента выявлена ранее описанная как патогенная миссенс-мутация p.Thr585Met в С-концевом белковом домене [11, 15, 16]. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, которые показали, что 90 % всех мутаций, приводящих к возникновению

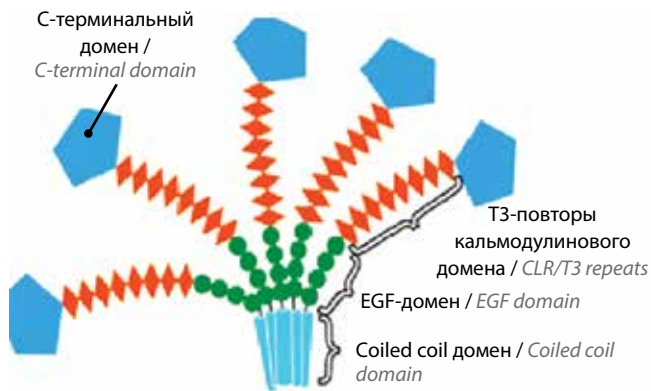


Рис. 5. Доменная структура белка *COMP*

Fig. 5. Domain structure of the *COMP* protein

МЭД 1-го типа, локализуется в пределах кальмодулинового домена, который состоит из аминокислотных остатков, сгруппированных в 8 последовательных Т3-повторов [17]. Мутации в С-терминальном глобулярном домене, кодируемом 15–19-м экзонами, обнаруживаются не более чем у 10 % пациентов и группируются в 2 регионах этого домена – в аминокислотных остатках 583, 585, 587 и 718, 719 [17, 18].

Анализ анамнеза и особенности клинических проявлений у наблюдаемых нами и описанных в литературе пациентов с МЭД 1-го типа показали, что первыми признаками заболевания, регистрируемыми в раннем детском возрасте, являются изменение походки, повышенная мышечная утомляемость, трудности подъема по лестнице и из положения на корточках, что приводит к ошибочной диагностике врожденной миопатии. Установлению этого диагноза способствует также наличие задержки темпов приобретения двигательных навыков на 1-м году жизни, умеренная мышечная гипотония, нерезко выраженное повышение уровня активности КФК и признаки первично-мышечного характера поражения, регистрируемого при проведении электронейромиографического исследования, которые обнаруживаются у некоторых пациентов с МЭД 1-го типа. Наличие этих симптомов приводит к ошибочной диагностике миопатии, наблюдению и лечению пациентов у невролога. Необходимо отметить, что у таких пациентов не отмечается снижения сухожильных рефлексов, характерного для врожденных миопатий. Показано, что наиболее часто значимые симптомы миопатии наблюдается при мутациях, нарушающих аминокислотную последовательность в области С-концевого домена. Так, E. Jakkula и соавт. описали семью с 5 пораженными в 3 поколениях, с мутацией p.Arg718Trp в гене *COMP*, у 2 из которых наряду с симптомами МЭД отмечались значимая мышечная слабость и повышение уровня КФК от 440 до 1647 Ед/л, по поводу которых они с 3-летнего возраста наблюдались у невролога с диагнозом миопатии [22]. Повышение уровня КФК отмечалось также еще у 2 членов этой

семьи с клиническими и рентгенологическими признаками МЭД при отсутствии миопатических симптомов. G. C. Jackson и соавт. в 2012 г. описали 7-летнего мальчика с мутацией p.Thr585Lys, который с 3-летнего возраста наблюдался у невролога с диагнозом врожденной миопатии. Диагноз МЭД 1-го типа у него был предположен только после проведения рентгенографии тазобедренных суставов и молекулярно-генетического анализа [14]. Для объяснения наличия миопатических симптомов у пациентов с МЭД 1-го типа К.А. Piğó и соавт. провели анализ фенотипических и морфологических изменений у мышей, нокаутных по мутации p.Thr585Met в гене *COMP*. Авторами проведено морфологическое изучение скелетных мышц, ахиллова сухожилия и межпозвоночных дисков животных. Показано, что наблюдаемые у них умеренные признаки миопатии были обусловлены нарушением строения перимизия, а также мышечно-сухожильных сочленений и увеличением количества волокон с центрально расположенными ядрами в этой области [6]. Таким образом, сделано заключение, что симптомы миопатии являются следствием тендопатий, а гипермобильность суставов обусловлена структурными нарушениями в области мышечно-сухожильных сочленений. Однако морфологические исследования биоптатов мышц пациентов с МЭД 1-го типа, проведенные J. Kennedy и соавт. в 2005 г., показали, что в ряде случаев у них обнаруживаются также атрофия и изменение диаметра мышечных волокон [18].

Заключение

Изучение анамнеза и особенностей клинико-рентгенологических характеристик выборки российских пациентов с МЭД, обусловленной мутациями в гене *COMP*, и анализ данных литературы показали, что у большинства пациентов первыми симптомами заболевания, отмеченными в возрасте 2–3 лет, являются нарушение походки, повышенная мышечная утомляемость и приемы Говерса. Наличие этих симптомов наряду с умеренным повышением уровня активности КФК часто предшествует возникновению клинических проявлений скелетной дисплазии, приводя к ошибочной диагностике у пациентов нервно-мышечного заболевания из группы миопатий и длительному наблюдению и лечению пациентов у врача-невролога, что приводит к задержке установления точного диагноза и назначению специфической терапии. Надежным рентгенологическим признаком МЭД 1-го типа у таких пациентов является наличие характерных изменений эпифизов в виде неправильной формы, маленьких размеров и их уплощения с возрастом, преимущественно суставных поверхностей трубчатых костей бедер, коленных суставов, лодыжек, запястий и кистей. Кроме того, специфическими признаками МЭД могут быть боли в крупных суставах нижних конечностей, возникающие

без признаков реактивного артрита, что также необходимо учитывать при проведении дифференциальной диагностики МЭД с миопатиями и реактивными артритами.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Anthony S., Munk R., Skakun W. et al. Multiple epiphyseal dysplasia. *J Am Acad Orthop Surg* 2015;23(3):164–72. DOI: 10.5435/JAAOS-D-13-00173.
- Fairbank H.A. Dysplasia epiphysealis multiplex. *Proc R Soc Med* 1946;39(6):315–7.
- Unger S., Bonafé L., Superti-Furga A. Multiple epiphyseal dysplasia: clinical and radiographic features, differential diagnosis and molecular basis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008;22(1):19–32. DOI: 10.1016/j.berh.2007.11.009.
- Briggs M.D., Hoffman S.M., King L.M. et al. Pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia due to mutations in the cartilage oligomeric matrix protein gene. *Nat Genet* 1995;10(3):330–6. DOI: 10.1038/ng0795-330.
- Hecht J.T., Hayes E., Haynes R. et al. *COMP* mutations, chondrocyte function and cartilage matrix. *Matrix Biol* 2005;23(8):525–33. DOI: 10.1016/j.matbio.2004.09.006.
- Piróg K.A., Jaka O., Katakura Y. et al. A mouse model offers novel insights into the myopathy and tendinopathy often associated with pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia. *Hum Mol Genet* 2010;19(1):52–64. DOI: 10.1093/hmg/ddp466.
- Chapman K.L., Briggs M.D., Mortier G.R. Review: clinical variability and genetic heterogeneity in multiple epiphyseal dysplasia. *Pediatr Pathol Mol Med* 2003;22(1):53–75. DOI: 10.1080/pdp.22.1.53.75.
- Piróg K.A., Briggs M.D. Skeletal dysplasias associated with mild myopathy – a clinical and molecular review. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:686457. DOI: 10.1155/2010/686457.
- Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405–24. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
- Czarny-Ratajczak M., Lohiniva J., Rogala P. et al. A mutation in *COL9A1* causes multiple epiphyseal dysplasia: further evidence for locus heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2001;69(5):969–80. DOI: 10.1086/324023.
- Chen T.L., Posey K.L., Hecht J.T. et al. *COMP* mutations: domain-dependent relationship between abnormal chondrocyte trafficking and clinical PSACH and MED phenotypes. *J Cell Biochem* 2008;103(3):778–87. DOI: 10.1002/jcb.21445.
- Mabuchi A., Manabe N., Haga N. et al. Novel types of *COMP* mutations and genotype-phenotype association in pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia. *Hum Genet* 2003;112(1):84–90. DOI: 10.1007/s00439-002-0845-9.
- Liu H.Y., Xiao J.F., Huang J. et al. Diagnosis with multiple epiphyseal dysplasia using whole-exome sequencing in a Chinese family. *Chin Med J (Engl)* 2017;130(1):104–7. DOI: 10.4103/0366-6999.196568.
- Jackson G.C., Mittaz-Crettol L., Taylor J.A. et al. Pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia: a 7-year comprehensive analysis of the known disease genes identify novel and recurrent mutations and provides an accurate assessment of their relative contribution. *Hum Mutat* 2012;33(1):144–57. DOI: 10.1002/humu.21611.
- Briggs M.D., Mortier G.R., Cole W.G. et al. Diverse mutations in the gene for cartilage oligomeric matrix protein in the pseudoachondroplasia-multiple epiphyseal dysplasia disease spectrum. *Am J Hum Genet* 1998;62(2):311–9. DOI: 10.1086/301713.
- Hartley C.L., Edwards S., Mullan L. et al. Armet/Manf and Creld2 are components of a specialized ER stress response provoked by inappropriate formation of disulphide bonds: implications for genetic skeletal diseases. *Hum Mol Genet* 2013;22(25):5262–75. DOI: 10.1093/hmg/ddt383.
- Briggs M.D., Brock J., Ramsden S.C., Bell P.A. Genotype to phenotype correlations in cartilage oligomeric matrix protein associated chondrodysplasias. *Eur J Hum Genet* 2014;22(11):1278–82. DOI: 10.1038/ejhg.2014.30.
- Kennedy J., Jackson G.C., Barker F.S. et al. Novel and recurrent mutations in the C-terminal domain of *COMP* cluster in two distinct regions and result in a spectrum of phenotypes within the pseudoachondroplasia – multiple epiphyseal dysplasia disease group. *Hum Mutat* 2005;25(6):593–4. DOI: 10.1002/humu.9342.
- Halász K., Kassner A., Mörgelin M. et al. *COMP* acts as a catalyst in collagen fibrillogenesis. *J Biol Chem* 2007;282(43):31166–73. DOI: 10.1074/jbc.M705735200.
- Tan K., Duquette M., Joachimik A. et al. The crystal structure of the signature domain of cartilage oligomeric matrix protein: implications for collagen, glycosaminoglycan and integrin binding. *FASEB J* 2009;23(8):2490–501. DOI: 10.1096/fj.08-128090.
- Posey K.L., Coustry F., Hecht J.T. Cartilage oligomeric matrix protein: *COMP*opathies and beyond. *Matrix Biol* 2018;71–72:161–73. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.02.023.
- Jakkula E., Lohiniva J., Capone A. et al. A recurrent R718W mutation in *COMP* results in multiple epiphyseal dysplasia with mild myopathy: clinical and pathogenetic overlap with collagen IX mutations. *J Med Genet* 2003;40(12):942–8. DOI: 10.1136/jmg.40.12.942.

Вклад авторов

Т.В. Маркова, В.М. Кенис, С.С. Никитин: разработка дизайна исследования, обзор литературы, написание и редактирование текста статьи;
Т.С. Нагорнова: проведение лабораторной молекулярно-генетической диагностики, анализ результатов исследований и написание текста статьи;

Е.В. Мельченко, Д.В. Осипова, А.Э. Алиева, Я.С. Югено: сбор и обработка клинического материала, анализ полученных данных;

Е.Ю. Захарова, Е.Л. Дадали: разработка концепции исследования, редактирование текста статьи.

Authors' contributions

T.V. Markova, V.M. Kenis, S.S. Nikitin: study design development, literature review, writing and editing the article;

T.S. Nagornova: conducting laboratory molecular genetic diagnostics, analysis of results obtained, writing the article;

E.V. Melchenko, T.S. Nagornova, D.V. Osipova, A.E. Alieva, Ya.S. Yugenov: collecting and processing of clinical material, analysis of the data obtained;

E.Yu. Zakharova, E.L. Dadali: development of the research concept, editing the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

Т.В. Маркова / T.V. Markova: <https://orcid.org/0000-0002-2672-6294>
В.М. Кенис / V.M. Kenis: <https://orcid.org/0000-0002-7651-8485>
С.С. Никитин / S.S. Nikitin: <https://orcid.org/0000-0003-3292-2758>
Е.В. Мельченко / E.V. Melchenko: <https://orcid.org/0000-0003-1139-5573>
Т.С. Нагорнова / T.S. Nagornova: <https://orcid.org/0000-0003-4527-4518>
Д.В. Осипова / D.V. Osipova: <https://orcid.org/0000-0002-5863-3543>
А.Э. Алиева / A.E. Alieva: <https://orcid.org/0000-0003-1048-075X>
Я.С. Югено / Ya.S. Yugeno: <https://orcid.org/0000-0002-3144-6043>
Е.Ю. Захарова / E.Yu. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0002-5020-1180>
Е.Л. Дадали / E.L. Dadali: <https://orcid.org/0000-0001-5602-2805>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Государственное бюджетное финансирование.
Financing. State budget financing.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Исследование проведено в соответствии с рекомендациями Хельсинкской декларации, протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» (протокол № 2021-3 от 12.03.2021). Законные представители пациентов дали письменное информированное согласие на проведение молекулярно-генетического тестирования образцов крови и разрешение на анонимную публикацию результатов исследования.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, the study protocol was approved by the biomedical ethics committee of the Research Centre for Medical Genetics (protocol No. 2021-3 dated 12.03.2021). Legal representatives of patients signed written informed consent to molecular-genetic testing and publication of patients' anonymized data.