

# Перспективы молекулярно-генетических методов диагностики дисплазии соединительной ткани

Донников А.Е., Кесова М.И., лаборатория молекулярно-генетических методов ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

## Molecular methods: perspective diagnostic of connective tissue disorders

Donnikov A.E., Kesova M.I.

### Резюме

В статье рассматривается дисплазия соединительной ткани с позиции молекулярной генетики. Обосновывается различный подход к проведению молекулярно-генетического обследования при дифференцированных и недифференцированных формах дисплазии соединительной ткани.

**Ключевые слова:** дисплазия соединительной ткани, синдром Марфана, синдром Эллера-Данлоса, MASS-фенотип, генетические болезни, многофакторные заболевания.

### Summary

The connective tissue dysplasia from the position of the molecular genetics is reviewed and different approach towards molecular-genetic examination in cases of differentiated or undifferentiated types of connective tissue dysplasia is based in this article.

**Keywords:** connective tissue dysplasia, Marfan syndrome, Ehlers-Danlos syndrome, MASS-phenotype, heritable diseases, multi-factor disorders

### Введение

Соединительная ткань (СТ) представляет сложную организованную систему с огромным количеством звеньев, каждое из которых контролируется определенными генами. Это обстоятельство объясняет генетическую гетерогенность и разнообразие патологических изменений СТ, которая выполняет множество жизненно важных функций, обеспечивая структуру органов и тканей, тканевую проницаемость, водно-солевое равновесие, иммунологическую защиту. Значимость состояния СТ не только как механической структуры, но и как регуляторной канвы функционирования организма оценена еще в 1923 году Г. Шаде, который охарактеризовал СТ как важнейший регулятор гомеостаза, а ее межклеточное вещество — как ключевой компонент внутренней среды организма [1]. Коллаген-ассоциированные и эластин-ассоциированные белки — не просто строительный материал. Это распознающие структуры, участвующие в информационных взаимодействиях. Поэтому при их аномалиях можно ожидать не только развития патоморфологических отклонений в строении СТ, но и нарушения информационных процессов, в том числе — сигнализации

и управления клеточными программами, изменений регуляторного взаимодействия цитокинов и гормонов. Белки СТ участвуют в самосборке органов и тканей, выступают как важные иммунные регуляторы, играя не последнюю роль в определении конституционального своеобразия. Ее коллагеновые структуры функционируют в организме не только в качестве композиционного материала, но и как медиаторы эмбриональных эпителиально-мезенхимальных взаимодействий [2].

Дисплазия соединительной ткани (ДСТ) (dis- нарушения, plasia- развитие, образование) — нарушение развития соединительной ткани в эмбриональном и постнатальном периодах, генетически детерминированное состояние, характеризующееся дефектами волокнистых структур и основного вещества соединительной ткани, приводящее к расстройству гомеостаза на тканевом, органном и организменном уровнях в виде различных морфо-функциональных нарушений висцеральных и локомоторных органов с прогрессивным течением. Основу концепции ДСТ составляют следующие парадигмы [3]:

1. генетической детерминированности;
2. системного и типологического тканевого обоснования;
3. соединительнотканых дефектов структурно и формообразующего развития тканей, органов и систем в онтогенезе;
4. фенотипических критериев и клинических проявлений, отражающих структурно-функциональное несовершенство развития рыхлой и твердой соединительной ткани;

---

Ответственный за ведение переписки -  
Донников Андрей Евгеньевич  
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.  
e-mail: donnikov@mdl-lab.ru

5. прогрессивности течения и связанной с ней степени тяжести диспластикозависимых нарушений функции органов и систем, обуславливающих качество жизни и ее прогноз;

6. наследственных структурно-функциональных нарушений соединительной ткани, являющихся фоновой основой, обладающей высокой степенью риска возникновения ассоциированной патологии;

7. генетически детерминированного дефекта соединительной ткани, обуславливающего особенности фармакокинетики и фармакодинамики лекарств.

## Классификация ДСТ

В номенклатуре болезней ВОЗ термин «дисплазия соединительной ткани» не используется, в пространстве классификационной медицины (МКБ-10) место ДСТ не определено. Синдромы ДСТ, как дифференцированные, так и недифференцированные, «рассеяны» в различных классах и рубриках МКБ-10 (отдельные рубрики XIII и XVII классов). Некоторые авторы рассматривают симптомы ДСТ как патологическое состояние, а не болезнь, до тех пор, пока не возникнут поражения органов и систем. Тем не менее, многие авторы отмечают, что течение ряда заболеваний существенно меняется на фоне ДСТ, которая обуславливает особенности проявления, течения, прогноза этих заболеваний, а следовательно, и подхода к их лечению [4].

Отсутствие единой терминологии привело к тому, что многие авторы применяют свою терминологию для обозначения различных клинических форм дисплазии соединительной ткани. Иногда набор фенотипических признаков у подобных больных напоминает тот или иной из известных дифференцированных синдромов. В подобных случаях ряд авторов говорит о "марфаноподобной" или "элерсеподобной" дисплазии. Широко используется в литературе акроним "MASS-фенотип", по первым буквам наиболее частых фенотипических признаков (Mitral valve, Aorta, Skeleton, Skin), говорят также о дисфункции или слабости соединительной ткани, о мезенхимальной недостаточности или синдроме "малых" соединительно-тканых дисплазий.

Все дефекты соединительной ткани пытаются разделить на две большие группы: (а) заболевания обусловленные дефектами волокнистых компонентов соединительной ткани и (б) заболевания, связанные с нарушениями метаболизма основного вещества соединительной ткани – протеогликанов, гликопротеидов (мукополисахаридозы). Характер внешней и внутренней патологии при этих дефектах существенно различается. Вместе с тем, известно, что соединительная ткань функционирует как единое целое, патология одной структуры – волокнистой неизбежно приведёт к дисрегуляции других компонентов экстрацеллюлярного матрикса с нарушением основных функций соединительной ткани – опорной, трофической, транспортной.

Спорность, противоречивость, нелогичность формулировок полностью отражает сложное состояние проблемы.

## Роль молекулярно-генетических методов в классификации ДСТ

ДСТ морфологически характеризуется изменениями коллагеновых, эластических фибрилл, гликопротеидов, протеогликанов и фибробластов, в основе которых лежат наследуемые мутации генов, кодирующих синтез и пространственную организацию коллагена, структурных белков и белково-углеводных комплексов, а также мутации генов, кодирующих различные ферменты и кофакторы к ним. Таким образом, в основе врожденной патологии соединительной ткани лежит патология молекулярная, которая приводит к изменениям структуры и функции соединительной ткани, и реализуется с чрезвычайной гетерогенностью фенотипических и органных проявлений ДСТ. Большое количество различных генов, продукты которых участвуют в построении и ремоделировании СТ, многоступенчатые регуляторные каскады составляют сложную генную сеть диспластических состояний, отдельные звенья которой до сих пор полностью не изучены.

Завершение первого этапа проекта «Геном человека» и бурное развитие молекулярных методов исследования явилось толчком для попытки положить в основу классификацию ДСТ молекулярно-генетические факторы. В ряде случаев эта попытка увенчалась успехом и существенно расширила возможности диагностики, но, к сожалению, чисто механистическое применение этого принципа ко всем диспластическим феноменам ничего кроме путаницы не принесло. ДСТ – это, несомненно, не единая нозологическая единица, а генетически гетерогенная группа. Этот факт необходимо учитывать для правильного поиска и интерпретации генетических маркеров.

На сегодняшний день принято разделять заболевания соединительной ткани на дифференцированные и недифференцированные формы. При кажущемся внешнем сходстве симптомов генетическая основа этих групп принципиально различается.

## Дифференцированные дисплазии соединительной ткани

(в зарубежной литературе — «синдромальные») характеризуются определенным типом наследования, отчетливо очерченной клинической картиной, а в ряде случаев – установленными и достаточно хорошо изученными генными или биохимическими дефектами, что позволяет отнести дифференцированные формы ДСТ к группе наследственных болезней, для которых единственным этиологическим фактором является определенный генный дефект [4]. Наиболее частые представители этой группы – синдром Марфана, синдром Элерса-Данлоса, несовершенный остеогенез, эластическая псевдокарнома, и синдром вялой кожи (Cutis laxa). Эти заболевания относятся к группе наследственных заболеваний коллагена – коллагенопатиям. Дифференцированные формы ДСТ встречаются редко, что характерно для наследственных болезней, и диагностируются генетиками довольно легко.

**Молекулярные основы дифференцированных форм ДСТ.** При анализе генетических дефектов, лежащих в основе дифференцированных форм ДСТ чаще всего встречаются дефекты структурных белков. В основу

классификации положено название гена, дефект которого приводит к заболеванию. Наиболее распространены наследственные коллагенопатии. Т.И. Кадурина предлагает дополнительно подразделять данные заболевания с учетом положения дефектного гена в метаболических путях синтеза или распада коллагена. С этой позиции можно выделить заболевания, (а) обусловленные дефектом генов самих коллагенов, (б) генов ферментов, участвующих в созревании коллагена или (в) в его распаде. Аналогичный подход предложен и для классификации наследственных фибриллинопатий [5]. Также выделяют тромбоспондинопатии, эластинопатии, ламининопатии. Данная классификация хорошо подходит для дифференцированных форм ДСТ, т.к. отражает единственную наследственную причину заболевания – тяжелый дефект единственного гена. Влияние внешней среды на развитие дифференцированных форм ДСТ, как правило, минимально.

Типичным примером коллагенопатии является синдром Эллерса-Данлоса, который, согласно последней классификации, подразделяется на 6 клинических форм [6]. Дефекты коллагенов I, III и V типов, вызывают соответственно артрохалазию, васкулярную и классическую форму синдрома. Кифосколиотический тип вызывается дефектом гена ADAMTS2, кодирующего фермент, отрезающий N-пропептид I, II и V коллагенов, а дерматоспараксис связан с дефектом гена PLOD1 - лизин-гидроксилазы, катализирующей образование гидроксилизина в коллагенах [6]. Причина возникновения гипермобильного типа синдрома Эллерса-Данлоса пока окончательно не выяснена, несмотря на аутосомно-доминантный тип наследования. Выявлены отдельные мутации в гене TNXB [7; 8], также можно предполагать вовлечение в патогенез этой формы коллагена III или I типов.

Молекулярно-генетическая диагностика дифференцированных форм ДСТ позволяет выявить непосредственную причину заболевания и является необходимым условием для постановки диагноза и принятия эффективных мер по профилактике на основе медико-генетического консультирования и пренатальной диагностики.

## **Недифференцированные дисплазии соединительной ткани**

(нДСТ) диагностируются тогда, когда у пациента набор фенотипических признаков не укладывается ни в одно из дифференцированных заболеваний. Как показывает опыт, такая патология распространена очень широко. В основу классификации и диагностики нДСТ положены исключительно фенотипические проявления.

За рубежом основное внимание уделяется MASS-фенотипу, который является одним из вариантов дифференцированных дисплазий соединительной ткани, и противопоставляется дифференцированным системным заболеваниям соединительной ткани (ревматоидный артрит, системная красная волчанка) [9]. В то же время, практические наблюдения свидетельствуют о наличии у этих больных и других проявлений поражения соединительной ткани: со стороны желудочно-кишечного тракта,

мочевыделительной, нервной систем [10].

Т. И. Кадурина (2000 г.) выделяет MASS-фенотип, марфанодный и элерсopodobный фенотипы, отмечая, что именно эти три фенотипа являются наиболее частыми формами несиндромной ДСТ [11]. Это предложение является очень заманчивым, благодаря своей простоте и исходной идее, что несиндромные формы ДСТ являются «фенотипическими» копиями известных синдромов. Так, «марфанодный фенотип» характеризуется сочетанием «признаков генерализованной дисплазии соединительной ткани с астеническим телосложением, долихостеномелией, арахнодактилией, поражением клапанного аппарата сердца (а порою и аорты), нарушением зрения». При «элерсopodobном фенотипе» отмечается «сочетание признаков генерализованной дисплазии соединительной ткани с тенденцией к гиперэластичности кожи и разной степенью выраженности гипермобильности суставов». «MASS-подобному фенотипу» присущи «признаки генерализованной дисплазии соединительной ткани, ряд нарушений со стороны сердца, скелетные аномалии, а также кожные изменения в виде истончения или наличия участков субатрофии».

Вместе с тем, ряд авторов отмечают, что нДСТ также носит наследственный характер, но, в отличие от дифференцированных форм, при нДСТ практически невозможно четко определить тип наследования. В пределах одной и той же родословной определенные синдромы могут демонстрировать признаки аутосомно-доминантного, аутосомно-рецессивного и даже сцепленного с полом наследования [12; 5]. Такая полиморфность характерна для мультигенных многофакторных заболеваний, которые развиваются в результате взаимодействия определенных комбинации аллелей разных локусов и специфических воздействий факторов окружающей среды [13].

*Молекулярные основы нДСТ.* В отличие от дифференцированных форм ДСТ, вызываемых серьезным дефектом определенного гена с высокой пенетрантностью, нДСТ характеризуется мультигенностью генетической составляющей. Как правило, заболевание возникает при сочетании нескольких дефектов различных генов, каждый из которых сам по себе не приводит к выраженным фенотипическим проявлениям.

Промежуточное положение между дифференцированными и недифференцированными формами ДСТ занимают заболевания, связанные с полиморфизмом генов, кодирующих протеолитические ферменты, участвующие в деградации белков внеклеточного матрикса. Количество наследственных заболеваний, единственной причиной которых является дефект генов металлопротеиназ относительно невелико. Гораздо чаще подобные дефекты приводят к повышению чувствительности к неблагоприятным условиям внешней среды – воздействию курения и других канцерогенов. В первую очередь это различные варианты бронхолегочной патологии, сердечно-сосудистые заболевания, ретинопатии, эндометриоз и онкологические заболевания.

Важно отметить, что список генов, полиморфизм которых ассоциирован с различными проявлениями

нДСТ гораздо шире, чем для дифференцированных форм ДСТ. Чаще всего это дефекты генов не структурных белков, а ферментов, участвующих в ремоделировании соединительной ткани. По-видимому, причиной этого является нестрогая субстратная специфичность этих ферментов и наличие альтернативных путей регулирования и метаболизма.

Список факторов внешней среды, приводящих к ДСТ, достаточно велик. Среди них необходимо особо выделить стресс [14; 15], физические нагрузки [15], тяжелые инфекционные заболевания [16], недостаток магния [17]. Отдельно стоит отметить беременность, при которой манифестируют или прогрессируют диспластические нарушения.

Вышензложенное наглядно демонстрирует невозможность классифицировать или диагностировать недифференцированные формы ДСТ на основании генетических факторов, ассоциированных с этой группой заболеваний. Тем не менее, это не свидетельствует о бесперспективности поиска молекулярно-генетических механизмов формирования нДСТ.

## Направления молекулярно-генетического исследования при нДСТ

В рамках концепции многофакторных заболеваний неправомерно говорить о генетических факторах как о единственной причине болезни, тем не менее, абсолютно оправданно рассмотрение молекулярно-генетических механизмов при развитии соответствующих синдромов в контексте причинно-следственных взаимоотношений. Для того чтобы терминологически разграничить эти два понятия введен термин «предрасположенность» или «подверженность» (англ. Liability). Leroy Hood считает изучение генетической предрасположенности основой медицины будущего [18]. В последние годы резко возрос интерес к изучению генетических маркеров предрасположенности к различным заболеваниям, который обусловлен следующими причинами:

### 1. Стабильность.

Генные полиморфизмы являются врожденными особенностями организма и не меняются в течение жизни. Они также не подвержены физиологическим колебаниям, например, при беременности. Из этого вытекает важнейшее свойство генетических маркеров – предиктивность. Проведенная заранее генетическая диагностика позволяет, вместо лечения возникающих осложнений, сосредоточить усилия на профилактике.

### 2. Доступность.

Все соматические клетки организма несут полный набор генов. Это позволяет использовать для диагностики молекулярных процессов, происходящих, например, в соединительной ткани висцеральных органов, периферическую кровь.

### 3. Технологичность.

На сегодняшний день возможности клинической лабораторной диагностики позволяют в короткие сроки проводить определение широкого спектра генетических маркеров.

Наибольшее распространение в клинической прак-

тике получило исследование однонуклеотидных генных полиморфизмов (SNP). Это мелкие изменения генов, обеспечивающие существование в популяции различных вариантов (аллелей) одного и того же гена. Как правило, SNP не имеют совсем или имеют очень мягкие фенотипические проявления. SNP широко распространены в геноме и являются одним из основных генетических субстратов индивидуальной изменчивости организмов. Разные аллельные варианты могут по-разному отвечать на сигналы, запускающие или останавливающие работу гена, незначительно различаться структурой или функцией белкового продукта. Эти различия обуславливают различную чувствительность организма к факторам внешней среды, что приводит к формированию группы риска. Существенная роль средовых факторов в формировании нДСТ позволяет существенно изменить течение заболевания, как путем фармакологических воздействий, так и через изменение образа жизни с целью исключения или минимизации воздействия наиболее критичных повреждающих факторов.

Пациенты с нДСТ, наследуя разнообразные генетические дефекты родителей, уже в пренатальном и раннем постнатальном периодах имеют морфо-функциональные изменения различных органов и систем, усугубляющиеся по мере развития нарушений и углубления недостаточности компенсаторных механизмов. Закономерным является стремление к раннему выявлению патологических состояний с тем, чтобы предпринять меры профилактики заболеваний, а при их возникновении – максимально препятствовать хронизации, однако клинически нДСТ манифестирует в различные возрастные периоды, и не всегда фенотипические признаки ДСТ позволяют своевременно выявить нарушения. Функциональная неполноценность СТ прогрессирует с возрастом [19], поэтому наиболее раннее определение генетического риска позволяет в ряде случаев предотвратить или существенно снизить тяжесть поражения СТ. В связи с этим особого внимания заслуживает ДСТ у детей. Так Л.Н. Аббакумова считает актуальным раннее изучение диспластических состояний, т.к. соответствующие признаки с большим постоянством встречаются при целом ряде соматических заболеваний, существенным образом отражаясь на их характере и течении [20].

Определение пограничных состояний у детей раннего детства возможно на основе выявления предрасположенности к соответствующим заболеваниям с помощью молекулярно-генетических методов. На современном этапе исследования происходит постепенный переход от одиночных маркеров к многофакторным моделям и анализу гаплотипов.

## Выводы

Таким образом, в основе диагностики ДСТ всегда лежит анализ фенотипа. Применение молекулярно-генетических методов будет преследовать различные цели в зависимости от формы дисплазии. В случае дифференцированных форм выявление генетического дефекта помогает верифицировать диагноз и может быть использовано в целях медико-генетического консультиро-

вания и пренатальной диагностики. При нДСТ молекулярные методы позволяют определить предрасположенность к тому или другому варианту течения дисплазии, оценить степень риска, выявить наиболее существенные факторы внешней среды, воздействие которых мо-

жет привести к развитию заболевания. На основании полученных данных может быть выбрана патогенетически обоснованная профилактика или скорректирована тактика лечения широкого спектра заболеваний, вызванных или ассоциированных с ДСТ. ■

## Литература:

1. Шаде Г. О клиническом значении соединительной ткани Киев: Госиздат Украины; 1923. 120.
2. Разумов В. В. О месте функциональных систем иммунитета и соединительной ткани в общей патологии *Фундамент. исслед.* 2006 - №1. С. 36-37
3. Нечаева Г. И., Яковлев В. М., Конев В. П., Друк И. В., Морозов С. Л. Дисплазия соединительной ткани: основные клинические синдромы, формулировка диагноза, лечение. *Лечащий врач* 2008 - №2. С. 2-7
4. Утц И. А., Городкова Е. Н. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани у детей. *Педиатрия* 2006 - Т. 87 №2. С. 117-119
5. Кадурина Т. И., Горбунова В. Н. Дисплазия соединительной ткани. СПб: Элби-СПб; 2009. 701.
6. Beighton P., De Paepe A., Steinmann B., Tsipouras P., Wenstrup R. J. Ehlers-Danlos syndromes: revised nosology, Villefranche, 1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). *Am J Med Genet.* - 1998. - Vol. 77. - №1. - P. 31-37.
7. Zweers M. C., Bristow J., Steijlen P. M., Dean W. B., Hamel B. C., Otero M., Kucharekova M., Boezeman J. B., Schalkwijk J. Haploinsufficiency of TNXB is associated with hypermobility type of Ehlers-Danlos syndrome. *Am J Hum Genet.* - 2003. - Vol. 73. - №1. - P. 214-217.
8. Zweers M. C., Dean W. B., van Kuppevelt T. H., Bristow J., Schalkwijk J. Elastic fiber abnormalities in hypermobility type Ehlers-Danlos syndrome patients with tenascin-X mutations. *Clin Genet.* - 2005. - Vol. 67. - №4. - P. 330-334.
9. Mendelian inheritance in man. In. McKusik V. A. editors. - Baltimore and London: The Jons Horkins University Press, 1992. - 718-720 с.
10. Kadurina T., Shestakova M. Gastrointestinal tract condition in patients with hereditary connective tissue disease. 3rd Balkan Meeting on Human Genetics: 1998. - pp. 213.
11. Кадурина Т. И. Наследственные коллагенопатии (клиника, диагностика, лечение и диспансеризация) 2000 - С. 297
12. Земцовский Э. В. Соединительнотканые дисплазии сердца. СПб.: ТОО «Политекст-Норд-Вест»; 2000. 115.
13. Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В. Геном человека и гены "предрасположенности" (Введение в предиктивную медицину). СПб.: 2000.
14. Кадурина Т. И. Поражение сердечно-сосудистой системы у детей с различными вариантами наследственных болезней соединительной ткани. *Вестник аритмологии* 2000 - №18. С. 87-92
15. Строев Ю. И., Чурилов Л. П. Кожные стрии: новые представления о патогенезе и диагностической значимости старого симптома. *Медицина. XXI век* 2008 - Т. 11 №2. С. 50-55
16. Мадьяр И. Дифференциальная диагностика заболеваний внутренних органов. Т.1. Будапешт: Изд-во Академии наук Венгрии; 1987. 34-35.
17. Чурилина А. В., Москалюк О. Н., Чалая Л. Ф., Якубенко Е. Д., Эрлихман К. М. Роль магния в формировании дисплазии соединительной ткани (обзор литературы). *Современная педиатрия* 2009 - Т. 26 №4. С. 44-48
18. Hood L. Systems Biology and Systems Medicine. The European Human Genetics Conference May 31 - June 3, 2008: 2008.
19. Блинникова О. Е., Бегдай И. Н., Мутовин Г. Р. Роль дисплазии соединительной ткани в развитии синдрома «вялый ребенок». *Педиатрия* 2001 - №1. С. 38-43
20. Аббакумова Л. Н. Клинические формы дисплазии соединительной ткани у детей СПб: Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия 2006. 36