

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук
(УФИЦ РАН)

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук
(ИБГ УФИЦ РАН)

На правах рукописи

Шаповалова Дарья Алексеевна

**ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ ОСТЕОАРТРИТА
У ЖЕНЩИН С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ
СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

03.02.07 – генетика

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

Уфа – 2019

Работа выполнена на базе лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБУН Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

Научный руководитель:

Хусаинова Рита Игоревна

Доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, заместитель по лабораторно-диагностической службе ГБУЗ РМГЦ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы. Остеоартрит (МКБ10: M15-M19) – заболевание суставов, характеризующееся клеточным стрессом и деградацией экстрацеллюлярного матрикса, развивающимися при макро- и микроповреждениях, которые активируют аномальный адаптивный восстановительный ответ, включая провоспалительные иммунные механизмы, которые формируются в результате взаимодействия возрастных, гормональных, воспалительных, иммунологических, генетических и средовых факторов. Вклад генетического компонента варьирует в пределах от 40% до 65% в зависимости от наличия данной патологии у ближайших родственников, локализации пораженного сустава, пола и этнической принадлежности исследуемой выборки. Изменения, которые изначально развиваются на молекулярном уровне (аномальный метаболизм в тканях сустава), в последующем приводят к анатомическим и физиологическим нарушениям (деградация хряща, ремоделирование кости, образование остеофитов, индукция субклинического воспаления и утрата нормальной функции сустава) и формированию клинических симптомов заболевания [Алексеева с соавт, 2019].

Более 20% населения мира страдают ОА, 80% этих людей испытывают затруднения в движении, а 25% - ограничения повседневной жизненной активности [2]. Распространенность ОА возрастает с увеличением возраста, достигая пика в промежутке 65-74 лет, при этом до 45-летнего возраста заболевание чаще встречается среди мужчин, а после 54 лет - среди женщин [5].

Несмотря на то, что ОА является наиболее распространенным, приводящим к инвалидности, заболеванием суставов, до сих пор, нет доступного и эффективного лечения кроме дорогостоящей хирургической замены сустава на терминальной стадии болезни. ОА чаще всего диагностируется при наличии клинических проявлений, характерных для выраженных морфологических изменений в хряще и существует проблема раннего выявления деструктивно-дистрофических поражений сустава. В связи с этим необходимы новые подходы к диагностике заболевания и чрезвычайно важен поиск прогностически значимых маркеров, чтобы выявить предрасположенность к заболеванию, возможно, на самых ранних этапах жизни

человека. У пациентов с ОА часто встречаются различные проявления фенотипических признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ), не укладывающихся в структуру наследственных синдромов, характеризуется генетической неоднородностью и многообразием клинических проявлений. Учитывая, что при ОА и НДСТ выявляются изменения структуры соединительной ткани деструктивного характера, можно предположить существование общих патогенетических звеньев формирования данных патологий.

В последнее десятилетие, благодаря технологии полногеномных исследований ассоциаций (GWAS) сотен тысяч однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОМП) с привлечением больших выборок (>100 тысяч образцов) в рамках международных консорциумов, достигнут значительный прогресс в выявлении генетической предрасположенности к ОА, однако существует и множество невыясненных ключевых вопросов. Проблема сочетания ОА с фенотипическими проявлениями НДСТ чрезвычайно актуальна, представляет собой как фундаментальную, так и практическую задачу, решение которой будет способствовать разработке подходов ранней диагностики ОА, основанных на понимании молекулярного патогенеза заболевания.

Цель работы: поиск генетических и эпигенетических маркеров формирования предрасположенности к ОА различных локализаций с учетом наличия признаков ДСТ в целом и ее отдельных фенотипических признаков, а так же, особенностей популяционной структуры народов, проживающих в Волго-Уральском регионе России и разработка прогностических моделей диагностики заболевания.

Задачи исследования:

1. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов катаболизма соединительной ткани (*MMP1*, *MMP3*, *MMP13*, *ASAMTS5*), основных белков хрящевой и костной тканей (*COL1A1*, *COL2A1*), белков, участвующих в хондрогенезе (*AGC1*, *SOX9*) с развитием остеоартрита (ОА) и дисплазии соединительной ткани (ДСТ) в целом, а так же с учетом локализации, возраста манифестации ОА, степени тяжести и отдельных фенотипических проявлений ДСТ и сочетания ОА с ДСТ у женщин с учетом их этнической принадлежности.

2. Репликативный анализ ассоциации локусов, ассоциированных с ОА по данным полногеномного анализа ассоциаций (GWAS), расположенных вблизи генов *DOT1L*, *ALDH1A*, *GNL3*, *GLT8D1*, *ASTN*, *FILIP1*, *SENP6*, *NCOA3*, *DVWA*, *CHST11*, с изолированными артритами различных локализаций и в сочетании с признаками ДСТ у женщин русской и татарской этнической принадлежности.

3. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микро РНК с остеоартритом и дисплазией соединительной ткани с учетом возраста манифестации, степени тяжести и отдельных клинико-патофизиологических форм и этнической принадлежности женщин;

4. Формирование независимой выборки женщин (больные и контроль) и валидации результатов исследования;

5. Разработка прогностических моделей диагностики остеоартрита у женщин с дисплазией соединительной ткани на основе клинико-генетических маркеров.

Научная новизна исследования. Впервые выявлена роль полиморфных вариантов генов-кандидатов развития остеоартроза: *ACAN*, *ADAMTS5*, *CHST11*, *SOX9*, *COL1A1*, полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК в генах: *MMP1*, *MMP9*, *MMP13*, *ADAMTS5*, *FGFR1*, *FGFRL1*, *COL1A1*, *COL2A1*, *COL5A1*, *COL11A1*, *SOX9*, *VDR*, *GDF5*, *SPARC*, *CHST11*, *IL15*, *FGF2*, *ZNF239*, *TPD52*, генов, ассоциированных по результатам полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) исследований: *ALDH1A*, *ASTN2*, *DOT1L*, *NCOA3*, *DVWA*, *6q14.1* (межгенный вариант вблизи *FILIP/SENP1*), *GLN3*, *GLT8D*, *MCF2L* в развитии ОА и нДСТ в целом, а так же с учетом локализации ОА, степени тяжести и отдельных фенотипических проявлений нДСТ, сочетания ОА с нДСТ у женщин из Республики Башкортостан с учетом их этнической принадлежности. Впервые разработаны прогностические модели диагностики ОА на основе клинических, и генетических критериев.

Научно-практическая значимость. Представленные в работе результаты расширяют представления о патогенезе, молекулярно-генетических основах развития ОА и нДСТ, служат основой для разработки диагностического комплекса, позволяющего проведение ранней диагностики риска развития ОА у женщин с

нДСТ с целью проведения превентивного лечения и разработки принципов профилактики заболевания.

Положения, выносимые на защиту:

1. Генотипы *27*27 VNTR полиморфизма гена *ACAN*, *CC локуса *rs4836732* гена *ASTN2*, генотипа *CG локуса *rs3204689* гена *ALDH1A*, Аллель *T (0,562) и сумма генотипов *TT+*CT (0,877) полиморфного локуса *rs935059* в качестве генетических маркеров развития ОА в целом.

2. Генотип *27*27 VNTR полиморфизма гена *ACAN*, Аллель *C локуса *rs835487* гена *CHST11* в качестве генетических маркеров риска развития ОА в коморбидном с нДСТ состоянии.

3. Генетические маркеры риска развития ОА различных локализаций: полиартроза - *CC локуса *rs4836732* гена *ASTN2*, генотип *CG локуса *rs3204689* гена *ALDH1A*; коксартроза - генотип *TT (0,676) локуса *rs835487* гена *CHST11*; гонартроза - аллеля *C локуса *rs2302061*, гена *DOTIL* и аллель *G (0,640) локуса *rs11177* гена *GLN3*

4. Эпигенетические маркеры остеоартрита в целом: аллели *A локуса *rs11540149* мРНК гена *VDR*, *C локуса *rs1054204* гена *SPARC*, генотипа *A*A локуса *rs13317* гена *FGFR1*, аллель *A и генотип *A*A полиморфного локуса *rs9659030* гена *COL11A1*

5. Аллель *A и генотип *A*A локуса *rs1042673* мРНК гена *SOX9* в качестве эпигенетического маркера нДСТ: а также остеоартрита и нДСТ в коморбидном состоянии.

6. Клинико-генетическая диагностическая модель риска формирования нДСТ в целом, состоящая из 14 фенотипических признаков нДСТ и полиморфных вариантов *rs1057972* гена *IL15*, *rs100987470* гена *TPD52*, *rs11177* гена *CLN3*, *rs6976* гена *GLT8D*.

7. Клинико-генетическая диагностическая модель развития ОА в целом, состоящая из; наличие ДСТ в целом, хруст ВЧС, ГЭРБ, гиперкифозы и гиперлордозы а также полиморфные варианты *rs835787* гена *CHST11*, *rs1107946* и *rs1061237* гена *COL1A1*, *rs100987470* гена *TPD52*.

Научно-практическая значимость. Представленные в работе результаты расширяют представления о патогенезе, молекулярно-генетических основах развития ОА и нДСТ, служат основой для разработки диагностического комплекса, позволяющего проведение ранней диагностики риска развития ОА у женщин с нДСТ с целью проведения превентивного лечения и разработки принципов профилактики заболевания.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности определяется достаточным количеством материалов исследования (317 человек), репрезентативной выборкой группы женщин из 100 человек с диагнозом ОА, адекватными и современными методами исследования и статистической обработкой данных. Участие пациентов в исследовании проводилось с их информированного письменного согласия. Результаты исследования доложены на «международном конгрессе по остеопорозу, остеоартрозу и другим метаболическим заболеваниям скелета», Казань, 2016, на конференции «Актуальные вопросы внутренней патологии. Дисплазия соединительной ткани» 2018, научно-практической конференции «Новые концепции диагностики и лечения остеоартроза», Астрахань, 2018,

Личное участие автора в получении результатов. Все этапы исследований, а также описание литературных данных и собственных результатов проведены лично автором. Также автором проведено формирование коллекции образцов ДНК для валидации результатов исследования.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 4 – в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, исследований и обсуждений, заключения и выводов, библиографического списка и приложений. Работа иллюстрирована ... рисунками, содержит ... таблиц, и ... приложений. Список литературы включает ... источника, среди них ... – отечественных, ... – зарубежных и ... ссылки на интернет источники.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Материалы исследования. В качестве материала для исследования использовали образцы ДНК 417 женщин (средний возраст 51.67 ± 11.5), обследованных на наличие признаков нДСТ и ОА в терапевтическом отделении городской клинической больницы № 18, а также в поликлиниках № 2, 18, 38 г. Уфы.

Группу женщин с ОА составили 256 пациенток, группу сравнения – 161 женщина без признаков ОА. Диагноз ОА выставлен в соответствии с критериями Американской ассоциации ревматологов (1995 года) классификацией В.А. Насоновой и М.Г. Астапенко (1989) и рентгенологическим подтверждением. Полиартроз диагностирован у 59 женщин (24.52 %), гонартроз – у 134 (52.26 %), коксартроз – у 53 женщин (23.22 %). Рентгенологическая стадия II по Kellgren-Lawrence была у 95 пациенток (60,9 %), III – у 40 (25.6 %), IV – у 21 (13.5 %).

Все пациенты были опрошены относительно возраста дебюта заболевания и его стажа. Длительность заболевания в целом составила от 1 до 38 лет (в среднем 14.93 ± 9.1 года). Возрастные характеристики каждой из исследуемых групп представлены в таблице 1.

Таблица 1

Основные характеристики исследуемых групп

Группы	n	Возраст		
		M±m	Min	Max
Общая группа	417	51,67±11,5	15	86
ОА в целом	241	55,75±8,62	20	86
КА	53	55,74±9,05	28	73
ГА	135	57,14±7,95	26	86
ПОА	59	52,44±9	20	67
нДСТ в целом	228	52,64±12,2	15	86

нДСТ легкой степени	149	51,66±12,55	15	86
нДСТ выраженная	67	54,01±11,98	18	68
ОА+нДСТ+	170	56,12±9,12	20	86
ОА-нДСТ-	103	47,33±11,1	19	73
Контрольная группа	161	45,55±12,55	15	73

Примечание: «+» означает наличие синдрома, «-» отсутствие синдрома, n – количество индивидов, $M \pm m$ - среднее значение \pm стандартная ошибка, Min - минимум, Max - максимум.

Симптомокомплекс нДСТ был выявлен у 228 человек, среди них у 149 женщин (65.35 %) – легкой степени, у 67 (29.38 %) – выраженной степени. Наличие фенотипических признаков нДСТ оценивалось в баллах по критериям, предложенным Т.И. Кадуриной и Л.Н. Аббакумовой (2008), в модификации авторов (табл. 1). При сумме баллов от 9 до 14 определялась нДСТ легкой, свыше 15 баллов – выраженной степени. Было сформировано несколько групп сравнения в зависимости от наличия и отсутствия признаков ОА в изолированном и коморбидном состояниях с нДСТ, локализации ОА и выраженности нДСТ.

Таблица 1

Критерии оценки для выявления нДСТ (по Т.И. Кадуриной, 2007)

Фенотипические признаки нДСТ	Оценка в баллах
Астенический тип конституции, дефицит массы тела (ИМТ < 15)	1
Парадонтит	1
Вальгусная установка стоп	1
Хруст в суставах	1
Артериальная гипотензия	1
Миопия легкой степени	1
Миопия тяжелой степени	2
Келлоидные рубцы	2
Атрофические стрии	2
Геморрагический синдром	2
Хруст, подвывих ВЧС	2

Гипермобильность суставов: легкая	2
Патологический кифоз/гиперлордоз позвоночника	2
Плоскостопие	2
Пролапс митрального клапана регургитация 0-II	2
Варикозная болезнь нижних конечностей легкой степени	2
Деформация желчного пузыря	2
ГЭРБ	2
Кожа гиперэластичная легкая степень	2
Варикозная болезнь нижних конечностей легкой степени	2
Кожа гиперэластичная выраженная степень	3
Грыжи	3
Опущение внутренних органов	3
Долихостеномелия	3
Гипермобильность суставов: выраженная	3
Килевидная/воронкообразная деформация грудной клетки	3
Пролапс митрального клапана регургитация III-IV	3
Варикозная болезнь нижних конечностей тяжелой степени	3
Сумма	

По этническому составу выборку в целом составляли женщины: 144 (34,53 %) русского, 159 (38,13 %) – татарского, 30 (7,19 %) башкирского происхождения, метисы и представительниц других этносов – 84 (20,14%). Этническая принадлежность определялась на основании информации о предках до третьего поколения.

Для валидации наиболее значимых результатов полученных ассоциаций нами сформирована новая выборка из 100 женщин в возрасте от 37 до 68 лет с наличием остеоартроза различной локализации. Средний возраст обследованных составил $57,02 \pm 7,3$ года, из них моложе 40 лет - 3 человека, от 40 до 50 лет - 12 человек, от 51 до 60 лет - 30 человек, от 61 и старше - 38 человек. По локализации процесса наиболее распространенным был остеоартроз коленных суставов (гонартроз) - 53 человек, генерализованный остеоартроз (полиартроз) выявлен у 21 человек, остеоартроз тазобедренных суставов (коксартроз) - у 16. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Исследование одобрено биоэтическим комитетом ФГБНУ обособленного структурного подразделения Института биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта».

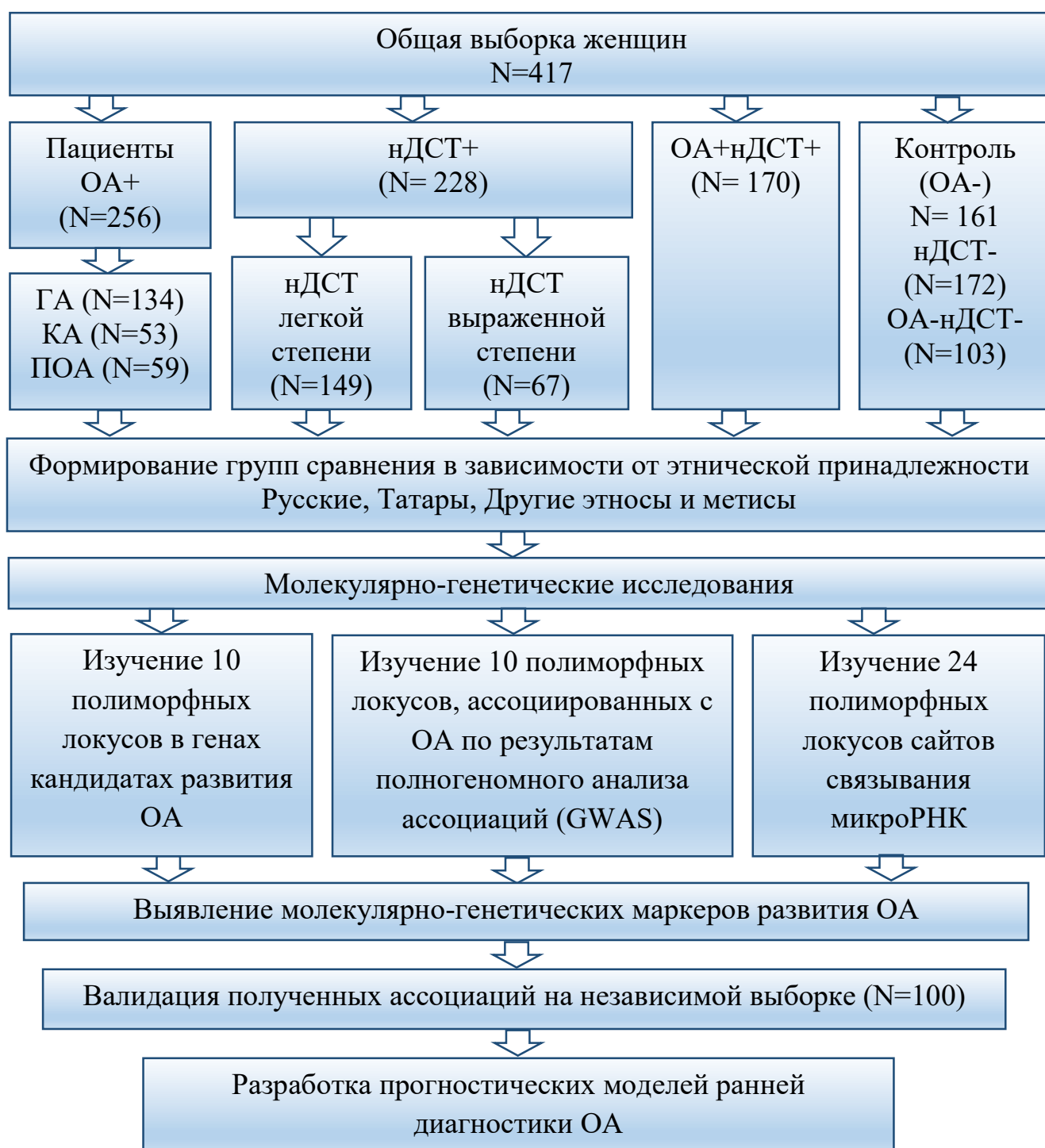


Рисунок 1. Дизайн исследования

ДНК из периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1985). Кровь для исследования набирали в пробирки содержащие антикоагулянт - К2 или К3 соль ЭДТА и хранили при температуре 4⁰ С не более одной недели.

Для генотипирования локусов, ассоциированных с ОА по результатам полногеномного анализа ассоциаций GWAS а также 24 локусов локализованных в сайте связывания микроРНК была использована конкурентная аллель-специфичная ПЦР - KASPTM - патентованная технология компании LGC-Genomics.

Результаты и обсуждение

Исследование и анализ ассоциаций генов-кандидатов с остеоартритом и дисплазией соединительной ткани в различных этнических группах

Республики Башкортостан

Проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов кандидатных генов у пациентов с ОА и нДСТ в изолированном и коморбидном состояниях с учетом их этнической принадлежности. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Значимые результаты исследования генов-кандидатов ОА и нДСТ

SNP ID	Ген	Диагноз	Ассоциация
VNTR	ACAN	ОА в целом	*27: $\chi^2=6,297$, p=0,012, OR=1,50; 95% ДИ 1,09-2,05 *27*27: : $\chi^2=6,297$, p=0,012, OR=1,50, 95% ДИ 1,09-2,05
		ОА+нДСТ+	*27: $\chi^2=4,338$, p=0,037, OR=1,66; 95% ДИ 1,03-2,67 *27*27: : $\chi^2=6,605$, p=0,012, OR=1,67; 95% ДИ 1,12-2,51

<i>rs1107946</i>	<i>COL1A1</i>	ОА+нДСТ+	*С: $\chi^2=4,576$ p=0,032 OR=1,74 95% ДИ 1,04-2,88
		нДСТ выраженная	*С: $\chi^2=4,437$ p=0,035 OR=2,52 95% ДИ 1,04-6,09
<i>rs226794</i>	<i>ADAMTS5</i>	нДСТ у русских	*GG: $\chi^2=7,971$, p=0,004, OR=3,65; 95% ДИ 1,44-9,26 *G: $\chi^2=6,801$, p=0,009, OR=3,08; 95% ДИ 1,28-7,43
<i>rs2830585</i>	<i>ADAMTS5</i>	ОА+ нДСТ+ у русских	*С: $\chi^2=4,881$, p=0,027, OR=3,22; 95% ДИ 1,09-9,44
<i>rs2229989</i>	<i>SOX9</i>	ОА+ у русских	*С: $\chi^2=32,179$, p=0,0001, OR=4,72; 95% ДИ 2,71-8,20 *СС: $\chi^2=20,94$, p=0,000005, OR=6,06; 95% ДИ 2,71-13,52
<i>rs835487</i>	<i>CHST11</i>	ОА у татар	*ТТ: $\chi^2=5,289$, p=0,021, OR=2,37 ; 95% ДИ 1,13-4,99

Полученное нами распределение частот аллелей и генотипов генов *ACAN* и *ADAMTS5* сопоставимо с данными полученными в предыдущих ассоциативных исследованиях 93 мужчин с ОА рук и колен [7], в исследовании 134 австралийских близнецов старше 50 лет с ОА рук, коксартрозом и гонартрозом [8], 165 европейцев мужчин и женщин [9]. Обнаруженная нами ассоциация аллеля *27 с ОА в целом и с ОА в сочетании с ДСТ состоянии, (OR = 1,46 и 1,75), частично согласуется с предыдущим исследованием Horton et al., 1998, где в выборке из 93 мужчин (от 60 лет и старше) наличие аллеля *27 было связано с ОА обеих рук (OR=3,23), но не было обнаружено статистически значимой связи между аллелем *27 и ОА коленного сустава. При исследовании 106 пациентов из Шри-Ланки от 20 до 69 лет с хронической болью в нижней

части спины, полиморфный вариант локуса rs226494 гена *ADAMTS5* ассоциирован со степенью тяжести дегенеративных процессов межпозвоночных дисков [10]. При исследовании ассоциаций полиморфных вариантов rs2830585 и rs226794 гена *ADAMTS5* среди 2715 европейцев, первоначальный анализ 2 выборок ($n = 277$ и $n = 159$) показал тенденцию к уменьшению частоты аллеля *Т rs226794 среди пациентов с тяжелым ОА колена, что согласуется с нашими результатами. Однако распределение аллелей и генотипов у пациентов с ОА коленного сустава из 2 дополнительных выборок ($n = 360$ и $n = 265$) не подтвердили эту тенденцию, не было обнаружено ассоциации с ОА в целом, и с его локализациями [11]. Наибольшее количество ассоциаций полиморфного локуса rs1107946 гена *COL1A1* впервые был исследован у пациентов с остеопорозом и по результатам мета-анализа генотип *СС показал ассоциацию с высоким уровнем МПКТ, в сравнении с *ТТ генотипом у индивидов европейского происхождения [12]. Говоря о патологии соединительной ткани, были проведены исследования данного полиморфного варианта у пациентов с тендинопатиями и разрывами сухожилий, но статистически значимых ассоциаций получено не было. Транскрипционный фактор SOX9 регулирует баланс экспрессии генов внеклеточного матрикса хряща (*ADAMTS*, *ACAN* и *COL2A1*), и подавляет избыточную экспрессию *ADAMTS* в норме [13]. Исследования полиморфного варианта rs2229989 данного гена проводились у пациентов с анкилозирующим спондилитом, значимых ассоциаций обнаружено не было. Генотип *ТТ полиморфного локуса rs835487 локализованный во 2 интроне, в районе энхансерной активности гена *CHST11* был статистически значимо ассоциирован с остеоартрозом у лиц татарской этнической принадлежности, а также показал тенденцию к ассоциации с ОА в целом (0.545) ($\chi^2=3.023$, $p=0.080$), по сравнению с контролем (0.447). По результатам полногеномного анализа напротив аллель *G, был значимо ассоциирован с тотальной заменой тазобедренного сустава в европейских популяциях ($p=1.64 \times 10^{-8}$, OR=1.13; ДИ 1.09–1.18) [14], что частично согласуется с нашими данными.

Репликативное исследование локусов, ассоциированных по результатам полногеномного анализа ассоциаций GWAS

По результатам сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов, нами был получен ряд ассоциаций (табл. 1).

Таблица 1.

Ассоциации полученные в результате сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов исследованных локусов

SNP ID	Ген	Диагноз	Ассоциация
<i>rs4836732</i>	<i>ASTN2</i>	нДСТ+	*ТТ: $\chi^2=4,386$; $p=0,036$; OR=1,79 (95% ДИ 1,03-3,1)
		ОА+нДСТ+ у татар	*СС: $\chi^2=4,705$; $p=0,030$; OR=3,2 (95% ДИ 1,09-9,48)
		ОА у татар	*СС: $\chi^2=6,474$; $p=0,010$; OR=3,15 (95% ДИ 1,27-7,80)
<i>rs3204689</i>	<i>ALDH1A2</i>	Полиартроз	*СG: $\chi^2=4,777$; $p=0,028$; OR=2,22 (95% ДИ 1,08-4,62) *CG+GG: $\chi^2=4,187$; $p=0,040$; OR=2,29 (95% ДИ 1,02-5,17)
<i>rs2302061</i>	<i>DOT1L</i>	Гонартроз	*С: $\chi^2=10,403$; $p=0,001$; OR=2,1 (95% ДИ 1,33-3,33) *СС: $\chi^2=16,839$; $p=0,00004$; OR=22,22 (95% ДИ 2,79-176,85)
		ОА в целом	*С: $\chi^2=5,677$; $p=0,017$; OR=1,62 (95% ДИ 1,09-2,44) *СС: $\chi^2=9,334$; $p=0,002$; OR=14,44 (95% ДИ 1,87-111,78)

		ОА+нДСТ+	*С: $\chi^2=4,156$; $p=0,041$; OR=1,70 (95% ДИ 1,08-2,83) *СС: $\chi^2=4,262$; $p=0,038$; OR=7,03 (95% ДИ 0,83-59,55)
		ОА+нДСТ+ у татар	*С: $\chi^2=4,577$; $p=0,032$; OR=2,2 (95% ДИ 1,06-4,57)
rs7639618	DWVA	Гонартроз	*Т: $\chi^2=5,976$; $p=0,014$; OR=1,75 (95% ДИ 1,11-2,76) *СТ+*ТТ: $\chi^2=6,998$; $p=0,008$; OR=2,11 (95% ДИ 2-3,66) *СТ: $\chi^2=6,235$; $p=0,012$; OR=2,08 (95% ДИ 1,16-3,7)
		Коксартроз	*СТ: $\chi^2=6,300$; $p=0,012$; OR=2,55 (95% ДИ 1,2-5,39)
		ОА в целом	*Т: $\chi^2=4,706$; $p=0,030$; OR=1,54 (95% ДИ 1,04-2,27) *СТ: $\chi^2=9,641$; $p=0,001$; OR=2,15 (95% ДИ 1,32-3,5) *СТ+ТТ: $\chi^2=7,759$; $p=0,005$; OR=1,93 (95% ДИ 1,21-3,07)
		ОА+нДСТ+	*Т: $\chi^2=5,328$; $p=0,020$; OR=1,83 (95% ДИ 1,09-3,09)
		ОА у русских	*Т: $\chi^2=8,111$; $p=0,004$; OR=3,04 (95% ДИ 1,38-6,72) *СТ: $\chi^2=4,029$; $p=0,044$; OR=2,42 (95% ДИ 1-5,83)
		ОА+нДСТ+	*Т: $\chi^2=4,869$; $p=0,027$; OR=3,56 (95% ДИ 1,09-11,58)
		rs6976	GLT8D

			*CC: $\chi^2=41,203$; $p=0,000001$; OR=4,75 (95% ДИ 2,91-7,74)
--	--	--	---

Полученные нами результаты показывают, что локусы, наиболее значимые для развития ОА по данным GWAS исследований, также значимы для формирования фенотипа ОА различных локализаций, а также в сочетании с признаками нДСТ, однако, имеется ряд особенностей.

В исследованной нами выборке генотип *CC локуса *rs4836732* гена *ASTN2*, минорный аллель *C которого был ассоциирован с тотальной заменой тазобедренного сустава у европейских женщин [12], статистически значимо преобладал в выборке женщин с ОА (0,608), а также с ОА в сочетании с признаками нДСТ (0,632) татарской этнической принадлежности по сравнению с контролем (0,393 и 0,400) соответствующей этнической принадлежности. Однако противоположный аллель *T данного локуса *rs4836732* показал ассоциацию с нДСТ в общей выборке. Показано, что продукт гена *ASTN2* представляет собой регуляторный белок, осуществляющий транспорт синаптических молекул, и экспрессируется главным образом в мозге, в связи с чем его функцию в биологии хрящевой ткани еще предстоит выяснить [16].

По результатам анализа локуса *rs3204689* гена *ALDH1A2*, кодирующего альдегиддегидрогеназу - фермент участвующий метаболизме ретиноевой кислоты [17], показал ассоциацию генотипа *CG с полиартрозом у женщин в общей выборке, что также сопоставимо с полногеномными данными, где аллель *C показал ассоциацию с ОА рук у женщин [12]. Shepherd с соавт. (2018) показано, что нокаут гена *ALDH1A2 in vivo*, понижал экспрессию ряда генов хондрогенеза, среди которых ген транскрипционного фактора-9 (*SOX9*; $p=0,002$), агреканы-5 (*ADAMTS5*), и агрекана *ACAN*, что говорит о значимости данного гена в регуляции гомеостаза хрящевой и костной ткани [18].

Так же нами исследовано два полиморфных локуса *rs2302061* и *rs12982744*, локализованных в гене гистоновой метилтрансферазы (*DOT1L*), продукт которого экспрессируется в зрелых хондроцитах человека и вероятно играет роль в

дифференцировке зрелых хондроцитов [13]. Лocus *rs2302061* данного гена показал ассоциации с ОА в целом а также гонартрозом, однако не известно об ассоциациях данного локуса в других популяциях, при этом распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs12982744* оказалось сопоставимым в группах больных и контроля.

Другой исследованный лocus *rs7639618* локализован в гене, *DVWA*, продуктом которого является домен фактора фон Виллебранда. Продукт данного гена связывается с β -тубулином [14] и экспрессируется в суставной ткани независимо от наличия патологического процесса, что подтверждает функциональную роль белкового продукта в внутриклеточном транспорте хондроцитов [19]. По результатам анализа данного локуса аллель *T показал ассоциацию с ОА в целом, гонартрозом и коксартрозом, тогда как по данным GWAS показана ассоциация аллеля *G с ОА коленного сустава ($p=7,3 \times 10^{-11}$) у азиатов. Полученные нами данные могут свидетельствовать о различиях в генетической структуре изученных популяций и разнонаправленной адаптации к различающимся средовым факторам.

Лocus *rs6976* (*GLT8D1*), аллель *T которого показал ассоциацию как с коксартрозом, так и с гонартрозом ($p=7,2 \times 10^{-11}$), по результатам полногеномных исследований, у лиц европейского происхождения [19], [12], однако, по результатам наших исследований противоположный аллель *C показал ассоциацию с гонартрозом (табл. 1), что также отражает необходимость изучения генетических маркеров с учетом этнической структуры популяций.

Не было получено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов при рассмотрении лocusов *rs6094710* (*NCOA3*), *rs11177* (*GNL3*), *rs11841874* (*MCF2L*), между лицами с ОА, его различных локализаций и контроля у женщин из Республики Башкортостан и мы не подтвердили полученные ранее ассоциации.

**Исследование ассоциаций полиморфных лocusов расположенных в
сайте связывания микроРНК, с остеоартритом и дисплазией
соединительной ткани в различных этнических группах Республики
Башкортостан**

Обнаружены статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs9659030* (с.*1183A>G) мРНК гена коллагена XI типа (*COL11A1*). Частота генотипа *AA в группе контроля составила 0,497, тогда как у больных с коксартрозом её частота достигала 0,703 ($\chi^2=5,123$; $p=0,023$) и данный аллель оказался маркером повышенного риска развития коксартроза у женщин (OR=2,39; 95% ДИ 1,1-5,17).

При этом аллель *A данного полиморфного локуса нарушает сродство с *miR-7-1-3p*, *miR-7-2-3p*, в то время как аллель *G создает новый сайт связывания с *miR-495-3p*, *miR-5688*, роль которых в регуляции данного гена и патогенезе ОА пока не изучена.

При изучении другого полиморфного локуса *rs1031820* (*105C>T) локализованного в гене (*COL1A1*) α -1 цепи коллагена I типа, обнаружена ассоциация редкого аллеля *T и генотипа *TT с коксартрозом ($\chi^2=5,763$; $p=0,016$ и $\chi^2=5,156$; $p=0,023$ соответственно). Также аллель *T показал ассоциацию в группе лиц с ОА в целом ($\chi^2=5,092$; $p=0,024$). При рассмотрении выборки в зависимости от этнической принадлежности женщин аллель *T показал ассоциацию в группе женщин татарской этнической принадлежности ($\chi^2=5,135$; $p=0,023$), по сравнению с контролем той же этнической группы (таблица ...).

При этом аллель *T данного локуса создает сайт связывания для *miR-4310*, [*miR-7157-5p*](#), в то время как для аллеля *C родственные микроРНК не определены.

При анализе распределения частот аллелей полиморфного локуса *rs1061237* гена *COL1A1* обнаружена ассоциация частого аллеля *T и генотипа *TT в группе лиц с нДСТ в целом ($\chi^2=33,775$; $p=0,00001$ и $\chi^2=20,680$; $p=0,00005$ соответственно). Также обнаружена ассоциация аллеля *T у женщин с ОА русской этнической принадлежности ($\chi^2=5,405$; $p=0,020$), по сравнению с контролем той же этнической группы. При этом аллель *T данного локуса имеет сродство с микроРНК: [*miR-1226-5p*](#), *miR-1304-5p*, *miR-1914-3p*, *miR-3184-5p*, *miR-423-5p*, *miR-5194*, *miR-6732-5p*, *miR-6734-5p*, *miR-6738-5p*, *miR-*

6834-5p, miR-8055, а аллель *C имеет сродство к *C miR-1275, miR-328-5p, miR-4260, miR-450a-2-3p, miR-4665-5p, miR-5572, miR-6751-5p, miR-6795-5p, miR-6803-5p, miR-6885-5p, miR-6887-5p, miR-7109-5p.

При исследовании другого полиморфного локуса *rs229069* (с.*5689G>T) локуса гена *ADAMTS5* гетерозиготный генотип *GC показал ассоциацию с полиартрозом ($\chi^2=6,496$ p=0,010) в общей выборке женщин по сравнению с контролем.

Аллель *C показал ассоциацию с ОА ранней манифестации ($\chi^2=4,635$; p=0,031), по сравнению с контролем.

При этом аллель *G нарушает сродство мРНК данного гена с miR-3144-3p, miR-875-5p, а аллель *C создает сайт связывания с микроРНК let-7d-3p и let-7e-3p, что предполагает изменение в регуляции экспрессии данного гена.

Генотип *AA локуса *rs13317* (с.*393A>G) гена рецептора1 фактора роста фибробластов (*FGFR1*), участвующего в регуляции множества клеточных процессов, включая рост, дифференцировку, миграцию, выживаемость клеток, оказался ассоциированным с ОА в целом ($\chi^2=6,226$; p=0,012), ОА ранней манифестации ($\chi^2=5,927$; p=0,014), гонартрозом ($\chi^2=4,376$; p=0,036), а также с ОА в сочетании с нДСТ ($\chi^2=3,964$; p=0,046), и с ОА в сочетании с гипермобильностью суставов ($\chi^2=4,041$; p=0,044).

Аллель *A имеет сайты связывания для miR-3128 и miR-4470, тогда как для аллеля *G микроРНК не определены.

Также нами исследован полиморфный вариант *rs10098470* (с.*1073C>T) в гене *TPD52*, кодирующего опухолевый белок D52, связанный с клеточной пролиферацией и апоптозом. Ранее данный полиморфный вариант был исследован в выборке женщин с остеопорозом и получена ассоциация редкого аллеля *T и гетерозиготного генотипа *CT с переломами у женщин русской этнической принадлежности (OR=3,64).

Редкий аллель *A а также сумма генотипов *GA+*AA данного локуса *rs10098470* показал ассоциацию с ОА в целом а также его различной локализацией, помимо этого была обнаружена его ассоциация у женщин с ОА в

сочетании с нДСТ, что позволяет рассматривать данный аллель в качестве маркера риска развития ОА (таблица ...).

Однако при анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs2463018* (с.*1416Т>С) гена углеводной сульфотрансферазы (*CHST11*), *rs1057972* (с.*431А>Т) гена интерлейкина 15 типа (IL 15), *rs4647940* гена белка подобного рецептору фактора роста фибробластов (*FGFRL1*), *rs6854081* (с.*3156Т>G) в гене фактора роста фибробластов (*FGF2*), *rs10793442* в гене белка цинковых пальцев 239 (*ZNF239*), полиморфного локуса *rs1042673* (с.*811А>G) гена фактора транскрипции *SOX9*, и *rs11540149* (с.*1865G>А) гена рецептора витамина D *VDR* не было обнаружено статистически значимых различий между группами больных и контроля (таблица ...).

Валидация полученных нами ассоциаций исследованных локусов на независимой выборке женщин

Для подтверждения полученных нами закономерностей, мы сформировали независимую выборку женщин с ОА и подтвердили полученные нами ассоциации.

Проведена валидация ассоциаций полученных нами ранее на полиморфных локусах *rs835487* и *rs6539153* гена *CHST11*, *rs226794* и *rs2830585* *ADAMTS5*, *rs2229989* и *rs7217932* гена *SOX9*, а также полиморфизма *VNTR* гена *ACAN*, и получены следующие закономерности.

По результатам проведения валидации нами были выявлены схожие закономерности в распределении частот аллелей и генотипов. В частности анализ полиморфного локуса *VNTR* гена *ACAN* подтвердил полученную нами ранее ассоциацию аллеля *27 ($\chi^2=3,938$, $p=0,047$; OR=1,50, 95% ДИ 1-2,24) с ОА в целом, а также гонартрозом в общей выборке ($\chi^2=8,277$, $p=0,004$, OR=2,044; 95% ДИ 1,25-3,34), и у женщин с ОА в сочетании с признаками нДСТ, в общей выборке женщин ($\chi^2=4,338$, $p=0,037$, OR=1,66; 95% ДИ 1,03-2,67), по сравнению с группой контроля. Частота гомозиготного генотипа *27*27 также преобладала в группе больных с ОА в целом ($\chi^2=3,676$, $p=0,055$) и ОА в сочетании с нДСТ,

($\chi^2=3,018, p=0,082$), однако статистически значимое преобладание наблюдалось лишь в группе лиц с гонартрозом ($\chi^2=3,864, p=0,049, OR=2,26, 95\%$ ДИ 0,99-5,19), что объясняется немногочисленностью исследуемой выборки, однако полностью подтверждает полученные ранее закономерности.

Также ранее нами была получена ассоциация генотипа **TT* полиморфного локуса *rs835487* гена *CHST11* с ОА в сочетании с нДСТ у татар, ($\chi^2=1,857, p=0,017$), а также с нДСТ у башкир ($\chi^2=6,308, p=0,012, OR=7,5, ДИ 1,38-40,87$), однако ранее полученные ассоциации не воспроизвелись на независимой выборке из 200 человек ввиду ее малочисленности.

Генотип **GG* полиморфного локуса *rs226794* гена *ADAMTS5* показал ассоциацию с нДСТ у русских женщин ($\chi^2=3,879, p=0,048, OR=4,571; 95\%$ ДИ 1,18-17,71) относительно контрольной группы той же этнической принадлежности при анализе независимой выборки, что согласуется с полученной нами ранее ассоциацией генотипа **GG* с нДСТ у женщин русской этнической принадлежности ($\chi^2=7,971, p=0,004, OR=3,649, 95\%$ ДИ 1,43-9,26).

Также нами было исследовано 10 полиморфных локусов, ассоциированных с ОА по результатам GWAS исследований.

Генотип **CC* локуса *rs2302061* (*DOTIL*) с ОА позднего начала (50-65 лет) ($\chi^2=7,128; p=0,000001; OR=4,27; 95\%$ ДИ 2,7-7,03); генотипов **TT+*CT* локуса *rs7639618* (*DVWA*) с ОА у женщин в общей выборке ($\chi^2=6,816; p=0,009; OR=2,27; 95\%$ ДИ 1,22-4,22), с коксартрозом ($p=0,0007; OR=6,9$), гонартрозом ($p=0,00005; OR=5,92$) и полиартрозом ($p=0,0013; OR=6,27$), также с ОА в сочетании с признаками нДСТ ($\chi^2=5,571; p=0,018, OR=2,52; 95\%$ ДИ 1,15-5,49); генотипа **CG* полиморфного локуса *rs3204689* гена *ALDH1A2* с ОА в сочетании с нДСТ у женщин татарской этнической принадлежности ($\chi^2=9,548, p=0,002, OR=3,84; 95\%$ ДИ 1,6-9,18).

Аллель **T* (0,562) и сумма генотипов **T*T+*C*T* (0,877) полиморфного локуса *rs9350591*, локализованного в межгенной области (*6q14.1*), вблизи 7 генов, 6 из которых: *COL12A1*, *COX7A2*, *TMEM30A*, *FILIP1*, *SENP6* и *MYO6* экспрессируются в хрящевой ткани, показали ассоциацию с ОА у женщин русской этнической принадлежности ($\chi^2=5,241$, $p=0,022$, OR=2,74; 95% ДИ 1,12-6,68 и $\chi^2=3,380$, $p=0,065$, OR=2,42; 95% ДИ 0,93-6,34, соответственно) в сравнении с контролем той же этнической группы (0,489) и (0,867), что согласуется с полногеномными данными, где аллель **T* оказался ассоциирован с ОА тазобедренного сустава у европейцев ($p=2,42 \cdot 10^{-9}$), [Johnson K., 2015; arcOGEN Consortium, 2012].

Генотип **TT* другого полиморфного локуса *rs6976* (*c.*57G>A*) локализованный в 3'нетранслируемой области гена *GLT8D1* гликозилтрансферазы-8, показал протективный эффект в отношении ОА ранней манифестации, ($\chi^2=5,213$, $p=0,022$; OR=0,13, 95% ДИ 0,01-0,99).

При исследовании полиморфного локуса *rs3204689* гена *ALDH1A* нами была получена ассоциация гетерозиготного генотипа **CG* (0,649) ($\chi^2=6,071$, $p=0,013$; OR=2,52, 95% ДИ 1,19-5,33) и суммы генотипов **CG+*GG* (0,757) ($\chi^2=5,226$, $p=0,022$; OR=2,54, 95% ДИ 1,12-5,75) у женщин с полиартрозом в общей выборке, а также генотипа **CG* у женщин с ОА в целом (0,520) ($\chi^2=2,832$, $p=0,092$; OR=1,47, 95% ДИ 0,93-2,33). При разделении выборок в зависимости от этнической принадлежности нами была получена ассоциация генотипа **CG* локуса *rs3204689* гена *ALDH1A* с ОА в целом у женщин татарской этнической принадлежности (0,615) по сравнению с контролем (0,423) ($\chi^2=5,734$, $p=0,016$; OR=2,18, ДИ 1,14-4,17), при этом генотип **CC* оказался протективным ($\chi^2=5,226$, $p=0,022$, OR=0,39; 95% ДИ 0,17-0,89), а гомозиготный генотип **GG* оказался редким, что не позволило получить статистически значимые результаты.

Также нами был проведен анализ на независимой выборке женщин с ОА полиморфных локусов, которые согласно базам данных, являются участками связывания различных микро РНК с мРНК таргетных генов.

Обнаружены статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs9659030* (с.*1183A>G) мРНК гена коллагена XI типа (*COL11A1*). Частота аллеля *A в группе контроля составила 0,628, тогда как у больных с ОА её частота достигала 0,742 ($\chi^2=5,130$, $p=0,023$) и данный аллель оказался маркером повышенного риска развития ОА у женщин (OR=1,70, 95% ДИ 1,07-2,70). Также данный аллель статистически значимо преобладал в группе лиц с коксартрозом 0,771 ($\chi^2=3,335$, $p=0,067$), и полиартрозом 0,789 ($\chi^2=3,540$, $p=0,059$) и оказался маркером повышенного риска развития данных состояний (OR=1,99; 95% ДИ 0,94-4,20 и OR=2,22; 95% ДИ 0,95-5,16 соответственно).

Гомозиготный генотип *A*A исследуемого локуса статистически значимо преобладал в группе лиц с коксартрозом 0,667 ($\chi^2=9,921$, $p=0,001$), полиартрозом 0,579 ($\chi^2=4,874$, $p=0,027$), и ОА в целом 0,538 ($\chi^2=9,137$, $p=0,002$), по сравнению с контролем 0,308, и оказался маркером повышенного риска развития, как ОА в целом (OR=2,62; 95% ДИ 1,39-4,91), так и его отдельных локализаций (OR=4,5, 95% ДИ 1,69-11,93 и OR=3,09; 95% ДИ 1,10-8,66) соответственно.

Генотип *A*A также статистически преобладал в группе лиц с ОА коленного сустава (0,460), по сравнению с контрольной группой (0,308), показав тенденцию к ассоциации данного генотипа с гонартрозом ($\chi^2=3,041$, $p=0,08$). Однако не выявлено различий по частотам аллелей исследуемого локуса с наличием симптомокомплекса нДСТ, и коморбидных состояний с ОА.

При этом аллель *A данного полиморфного локуса нарушает сродство с miR-7-1-3p, miR-7-2-3p, в то время как аллель *G создает новый сайт связывания с miR-495-3p, miR-5688, роль которых в регуляции данного гена и патогенезе ОА пока не изучена.

Ранее исследователи проводили анализ дисбаланса аллельной экспрессии гена *COL11A1* с использованием данного полиморфизма *rs9659030* и у 4 из 26 гетерозиготных по данному локусу пациентов были обнаружены различия в экспрессии данного гена, при этом обнаружена корреляция аллеля *T другого полиморфного локуса *rs1676486* (p.Ser1547Thr) сцепленного с данным полиморфным вариантом *rs9659030*, с пониженной экспрессией данного гена [Raine E.V.A., et al., 2013].

При исследовании другого полиморфного локуса *rs3128575* (с.*2501T>A) гена кодирующего альфа-цепь коллагена V типа *COL5A1*, нами было обнаружено повышение частоты редкого генотипа *T*T в группе лиц с ОА до 50 лет (0,333), в сравнении с контролем (0,161) различия не достигли статистической значимости ($\chi^2=2,875$, $p=0,089$). Так аллель *T имеет сродство с *miR-6504-3p*, в то время как аллель *C создает сайт связывания для *miR-548a-3p*, *miR-548ar-3p*, *miR-548az-3p*, *miR-548e-3p*, *miR-548f-3p*, *miR-548g-3p*. При этом роль данного локуса и предсказанных микроРНК в патогенезе ОА ранее не изучалась.

При исследовании полиморфного локуса *rs1042840* (с.*885A>G) гена коллагеназы 13 типа (*MMP13*), наблюдалась тенденция к повышению аллеля *A (0,727) и генотипа *AA (0,485) у женщин с ОА в целом относительно группы контроля (0,684 и 0,460), при этом различия не достигли статистической значимости. Аллель *A данного полиморфного локуса нарушает сродство мРНК с *miR-3654* и *miR-4638-3p*, а аллель *G создает сайт связывания для *miR-3687*, *miR-4442*, роль которых в патогенезе ОА и регуляции данного гена пока не изучена.

Так же нами исследован полиморфный локус *rs10793442* (с.*332G>T) гена *ZNF239*. Ранее роль полиморфного локуса *rs10793442* изучалась при остеопорозе у женщин, аллель *A оказался рисковым (OR=1,53) для развития данного заболевания, при разделении выборки согласно T критерию, относительно МПКТ [Хусаинова Р.И.,2015]. Однако при исследовании данного полиморфного локуса на выборке женщин с остеоартритом обнаружено

статистически значимое повышение аллеля *А (0,288) и генотипа *АА в группе контроля, относительно группы больных с ОА в целом (0,247 и 0,025), различия достигли статистической значимости и аллель *А оказался протективным в отношении развития ОА в целом ($\chi^2=7,521$ $p=0,006$; OR=0,13, 95% ДИ 0,02-0,60). Данные корреляции подтверждают результаты эпидемиологических исследований, которые демонстрируют связь между высоким уровнем МПКТ и развитием остеоартрита у женщин, однако механизмы лежащие в основе этого наблюдения, остаются неясными.

Аллель *С создает новый сайт связывания для микроРНК miR-582-5p, в то время как аллель *Т создает сайт связывания для miR-7849-3p

Таким образом нами подтверждены полученные ранее закономерности, для локусов локализованных в генах-кандидатах развития ОА: VNTR гена ACAN, rs226794 гена ADAMTS5, для локусов локализованных в генах ассоциированных по результатам полногеномных исследований: rs3204689 гена ALDH1A, rs7639618 гена DVWA, rs2302061 гена DOT1L, локусов локализованных в сайтах связывания микроРНК: rs229069 в гене ADAMTS5, rs1061237 в гене COL1A1, rs9659030 в гене COL11A1, rs1054204 в гене SPARC.

Выводы

1. Обнаружены генетические маркеры развития ОА в целом: генотипы *27*27 VNTR полиморфизма гена ACAN, аллель *Т локуса rs7639618 гена DVWA, аллель *С локуса rs2302061 гена DOT1L, аллель *Т локуса rs1031820 в гене COL1A1, аллель *А локуса rs13317 гена FGFR1, аллель *А локуса rs10098470 гена TPD52.
2. Выявлены генетические маркеры риска развития ОА в коморбидном с нДСТ состоянии: генотип *27*27 VNTR полиморфизма гена ACAN, генотип *СС гена локуса rs4836732 гена ASTN2, аллель *С полиморфного локуса rs1107946 гена COL1A1, аллеля *Т полиморфного локуса rs7639618 гена DVWA, аллель *С полиморфного локуса rs2302061 гена DOT1L, аллель *А локуса rs10098470 гена TPD52.

3. Обнаружены генетические маркеры риска развития ОА различных локализаций: с полиартрозом, генотипа *CG локуса rs3204689 гена ALDH1A; аллель *C локуса rs2302061 гена DOT1L, генотип *CG локуса rs229069 гена ADAMTS5, аллель *A локуса rs10098470 гена TPD52; с коксартрозом - генотип *ТТ локуса rs835487 гена CHST11; генотип *ТТ локуса rs9659030 в гене COL11A1, аллель *Т локуса rs1031820 в гене COL1A1, аллель *А локуса rs10098470 гена TPD52; с гонартрозом - аллеля *С локуса rs2302061, гена DOT1L, аллель *Т локуса rs7639618 гена DVWA, аллель *С локуса rs2302061 гена DOT1L, аллель *С локуса rs6976 гена GLT8D, генотип *АА локуса rs13317 гена FGFR1, аллель *А локуса rs10098470 гена TPD52.

8. Выявлены эпигенетические маркеры остеоартрита в целом: аллель *Т локуса *rs1031820* в гене *COL1A1*, аллель *А локуса *rs13317* гена *FGFR1*, аллель *А локуса локуса *rs10098470* гена *TPD52*.

9. Обнаружено, что аллель *А и генотип *АА локуса *rs1042673* мРНК гена *SOX9* является эпигенетическим маркером нДСТ: а также остеоартрита и нДСТ в коморбидном состоянии.

10. Обнаружено что аллель *С локуса локуса *rs1107946* гена *COL1A1* является эпигенетическим маркером нДСТ выраженной степени а также ОА в сочетании с нДСТ.

11. Выявлена клинико-генетическая диагностическая модель риска формирования нДСТ в целом, состоящая из 14 фенотипических признаков нДСТ и полиморфных вариантов *rs1057972* гена *IL15*, *rs100987470* гена *TPD52*, *rs11177* гена *CLN3*, *rs6976* гена *GLT8D*.

12. Выявлена клинико-генетическая диагностическая модель развития ОА в целом, состоящая из; наличия ДСТ в целом, хруст ВЧС, ГЭРБ, гиперкифозы и гиперлордозы а также полиморфные варианты *rs835787* гена *CHST11*, *rs1107946* и *rs1061237* гена *COL1A1*, *rs100987470* гена *TPD52*.

Список публикаций по теме диссертации

Публикации в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Тюрин А.В., Шаповалова Д.А., Лукманова Л.З., Голубятников В.Б., Бакиров Б.А., Давлетшин Р.А., Хусаинова Р.И. Роль полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ в формировании нарушения гомеостаза соединительной ткани и патологии опорно-двигательного аппарата // Клиническая медицина. 2018 Том: 96 Номер: 8 Год: 2018 Страницы: 754-761 (SCOPUS)

2. Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Литвинов С.С., Хуснутдинова Э.К., Хусаинова Р.И. Роль полиморфного локуса *VNTR* гена агрекана в развитии остеоартроза у женщин // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018; 22(7):865-872. (SCOPUS) (WoS)

3. Хусаинова Р.И., Тюрин А.В., Шаповалова Д.А., Хуснутдинова Э.К. Генетические маркеры остеоартрита у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Генетика. 2017. Т.53. №6. С. 1–11.

4. Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Хуснутдинова Э.К., Хусаинова Р.И. Современные представления о генетике остеоартроза // Медицинская генетика. 2017. Т. 16. № 2. С. 3-10.

Статьи и тезисы в других изданиях

1. Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. Поиск ассоциаций полиморфных локусов гена коллагена I типа с развитием остеоартроза у женщин. Тезисы докладов VII съезда ВОГиС. 2019. С: 583.

2. Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. Репликативный анализ полиморфных локусов генов ассоциированных с остеоартрозом по результатам полногеномных исследований. Доклады Башкирского университета. 2018. (РИНЦ) Т. 3. № 4. С. 477-482.

3. **Шаповалова Д.А.,** Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. Изучение вклада полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК в генах агреканы, сульфотрансферазы, и рецептора витамина D в развитии остеоартроза у женщин. Тезисы II международного конгресса ассоциации ревмоортопедов. Москва. 2018.
4. **Шаповалова Д.А.,** Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микро-РНК в генах матриксных металлопротеиназ с остеоартрозом у женщин. Сборник материалов «Российского конгресса лабораторной медицины». 2018. Москва 3-5 октября. Тезис
5. **Шаповалова Д.А.,** Тюрин А.В., Литвинов С.С., Хусаинова Р.И. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микро-РНК с остеоартрозом у женщин. Материалы конгресса. «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины». Томск. 24-25 мая. 2018. С 139-141. Тезис ISBN 978-5-7511-2549-3
6. **Шаповалова Д.А.,** Тюрин А.В., Литвинов С.С., Хуснутдинова Э.К., Хусаинова Р.И. Оценка диагностической значимости *VNTR* полиморфизма гена агреканы в формировании остеоартроза у женщин // Сборник тезисов научно-практической конференции «Новые концепции диагностики и лечения остеоартроза», Астрахань, 2018. С. 33-35.
7. Тюрин А.В., **Шаповалова Д.А.,** Давлетшин Р.А., Хусаинова Р.И. Ген рецептора витамина D как фактор нарушения костного метаболизма при остеоартрозе // Сборник тезисов научно-практической конференции «Новые концепции диагностики и лечения остеоартроза», Астрахань, 2018. С31-33.
8. **Шаповалова Д.А.,** Тюрин А.В., Литвинов С.С., Хусаинова Р.И. Поиск молекулярно-генетических маркеров остеоартроза // Сборник трудов XI научной конференции «Генетика человека и патология» Под редакцией В.А. Степанова. 2017. Выпуск 11. Томск 2017. С107-109.
9. Тюрин А. В., **Шаповалова Д.А.,** Хусаинова Р. И. Клинико-генетическое исследование коморбидности остеоартроза и дисплазии соединительной ткани у

женщин из Республики Башкортостан // Сборник трудов XI научной конференции «Генетика человека и патология» Под редакцией В.А. Степанова. 2017. Выпуск 11. Томск 2017 С.106-107.

10. Тюрин А.В., Лукманова Л.З., **Шаповалова Д.А.**, Давлетшин Р.А., Хусаинова Р.И. Клинико-генетическое исследование дисплазии соединительной ткани как фактора развития патологии опорно-двигательной системы // Сборник трудов VII Съезда кардиологов сибирского федерального округа. VII всероссийская научно практическая конференция «Актуальные вопросы внутренней патологии. Дисплазия соединительной ткани». 2017г. С160-162.

11. Хусаинова Р.И., Тюрин А.В., **Шаповалова Д.А.**, Хуснутдинова Э.К. Генетические маркеры остеоартрита у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Генетика. 2017. Т.53. №6. С. 1–11.

12. Тюрин А.В., Лукманова Л.З., **Шаповалова Д.А.**, Давлетшин Р.А., Хусаинова Р.И. Молекулярно-генетические маркеры остеоартроза у больных с дисплазией соединительной ткани // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». Под редакцией академика РАН В.И. Покровского. Т. 2. С. 137-138. ISBN 978-5-98407-012-6.

13. **Шаповалова Д.А.**, Тюрин А.В., Литвинов С.С., Кунтузбаев А.Ф., Хусаинова Р.И. Изучение роли полиморфных вариантов генов агреканы (AGC1) и агреканызы (ADAMTS5) в развитии остеоартроза // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». Под редакцией академика РАН В.И. Покровского. Т. 2. С. 142-144. ISBN 978-5-98407-012-6.

14. Тюрин А.В., Хусаинова Р.И., **Шаповалова Д.А.**, Давлетшин Р.А., Хуснутдинова Э.К. Комплексное клинико-генетическое исследование остеоартроза // Тезисы Российского конгресса по остеопорозу и остеоартрозу и другим метаболическим заболеваниям скелета. Научно практический медицинский журнал «Остеопороз и остеопатии» – 2016. №2. – С. 103-104.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ОА – Остеоартрит

ДСТ – Дисплазия соединительной ткани

нДСТ – Недифференцированная дисплазия соединительной ткани

ГА – Гонартроз

КА – Коксоартроз

ПОА – Полиостеоартрит

ГМС – Гипермобильность суставов

МКБ – Международная классификация болезней

ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – Рибонуклеиновая кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПААГ – полиакриламидный гель

p – Уровень статистической значимости

OR (Odds Ratio) - Относительный риск

95% ДИ – Доверительный интервал

ROC – Параметрическая кривая

AUC – Площадь под дугой

COMP – Олигомерный матриксный белок хряща

ГАГ – Гликозаминогликаны

ACAN – Ген кодирующий белок агрекан

ADAMTS5 – Ген агрекканазы 2 (дизинтегрин и металлопротеаза с мотивами тромбспондина)

CHST11 – Ген углеводной сульфотрансферазы 11

COL1A1 – Ген $\alpha 1$ цепи коллагена 1 типа

COL2A1 – Ген $\alpha 1$ цепи коллагена 2 типа

COL5A1 – Ген $\alpha 1$ цепи коллагена 5 типа

COL10A1 – Ген $\alpha 1$ цепи коллагена 10 типа

COL11A1 – Ген $\alpha 1$ цепи коллагена 11 типа

FGF2 – Фактор роста фибробластов

FGFR1 – Рецептор фактора роста фибробластов

FGFRL1 – Ген, кодирующий белок подобный рецептору фактора роста фибробластов

GDF5 – Ген фактора роста и дифференцировки 5

IL15 – Интерлейкин 15 типа

MMP1 – Ген матриксной металлопротеиназы 1 типа (интерстициальная коллагеназа)

MMP3 – Ген матриксной металлопротеиназы 3 типа

MMP9 – Ген матриксной металлопротеиназы 9 типа

MMP13 – Ген матриксной металлопротеиназы 13 типа

SPARC – Остеонектин

SOX9 – Ген транскрипционного фактора 9

TPD52 – Опухолевый белок 52

VDR – Ген рецептора витамина Д

ZNF239 – Ген белка 239 цинкового пальца

ALDH1A – Ген альдегиддегидрогеназы

ASTN2 – Ген астротактина 2

DOT1L – Ген белка гистоновой лизин-метилтрансферазы, (метирует лизин-79 нистона H3)

NCOA3 – Ген ядерного коактиватора 3

DWVA – Ген домена фактора фон виллебранда

FILIP – Ген белка взаимодействующего с филамином А

SENP1 – сентрин специфичная протеаза-1

GLN3 – Ген белка участвующего в обмене гуанина

GLT8D – Ген гликозилтрансферазы 8

MCF2L – Ген фактора обмена гуанина

ИМТ – Индекс массы тела

ПЦР – Полимеразная цепная реакция