

## ПОИСК АССОЦИАЦИЙ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ МИКРОРНК С ОСТЕОАРТРИТОМ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

© Тюрин А.В.<sup>1</sup>, Шаповалова Д.А.<sup>2</sup>, Хусаинова Р.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, Уфа

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа

**Введение.** Остеoarтрит (ОА, МКБ10: M15-M19) – заболевание суставов, характеризующееся клеточным стрессом и деградацией экстрацеллюлярного матрикса, развивающееся при макро- и микроповреждениях, которые активируют аномальный адаптивный восстановительный ответ, включая провоспалительные иммунные механизмы, формирующееся в результате взаимодействия возрастных, гормональных, воспалительных, иммунологических, генетических и средовых факторов. Вклад генетического компонента варьирует в пределах от 40% до 65%, однако, результаты всех проведенных на сегодняшний день исследований не могут полностью объяснить молекулярный патогенез данного заболевания. Актуальным является проведение эпигенетических исследований, в том числе – исследование сайтов связывания микроРНК (miR). Недавние исследования здорового хряща и хряща при ОА коленного сустава показали, что miR-125b подавляет экспрессию гена агреканазы-4 (ADAMTS4) в хряще при ОА через активацию IL1 $\beta$  (Matsukawa et al, 2013). Park et al. показали, что miR-558 понижает экспрессию гена кодирующего субъединицу цитохрома-С оксидазы-2 (COX2) через активацию IL1b и стимулирует катаболизм хондроцитов при ОА (Park et al, 2013). Поскольку выявляется все больше микроРНК, которые играют роль в хондрогенезе, гомеостазе хряща и патогенезе ОА, необходима идентификация ключевых таргетных целей микроРНК, которые функционально влияют на патогенез ОА и прогрессирование заболевания, а также механизмов регулирования микроРНК.

**Цель:** изучение полиморфных вариантов rs1061237, rs1061947 гена коллагена 1 типа (COL1A1), rs3128575 гена коллагена 5 типа (COL5A1), rs9659030 гена коллагена 11 типа (COL11A1), rs229077, rs229069, rs9978597 гена агреканазы 2 (ADAMTS5), rs13317 гена рецептора фактора роста фибробластов (FGFR1), rs2463018 гена углеводной сульфотрансферазы (CHST11), rs6854081 гена фактора роста фибробластов (FGF2), располагающихся в сайтах связывания микроРНК, и поиск ассоциаций с ОА различной локализации.

**Материал и методы.** В качестве материала для исследования использовали образцы ДНК 417 женщин (51,67  $\pm$  11,5 лет), которые обследованы на наличие остеоартрита в соответствии с критериями Американской ассоциации ревматологов (1995 года) с рентгенологическим подтверждением. Группу женщин с ОА составили 356 пациенток, из них генерализованный остеоартрит диагностирован у 84 женщин (23,83 %), гонартроз – у 197 (54,30%), коксартроз – у 75 женщин (21,87%), группу сравнения составили 161 женщина без признаков ОА. Для генотипирования локусов была использована конкурентная аллель-специфичная ПЦР (KASP<sup>TM</sup>). Статистическая обработка проведена с использованием пакета Statistica 6.0. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов сайтов связывания микроРНК в группах больных и здоровых лиц применялся критерий  $\chi^2$ . Степень ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (OR). Поправку на множественность сравнений осуществляли, вычисляя значение FDR, применяя методику Бенжамини-Хохберга с помощью онлайн калькулятора (<https://tools.carbocation.com/FDR>). Количество пар сравнений принимали равным произведению количества оцениваемых маркеров и количества групп сравнения относительно одной контрольной группы.

**Результаты и обсуждение.** Была выявлена ассоциация аллеля \*А полиморфного варианта rs9659030 гена COL11A1 с развитием генерализованного остеоартрита ( $p=0,019$ ; OR=2,0; (1,11–3,62)), генотипа \*AA – с развитием ОА в целом ( $p=0,026$ ; OR=1,59;(1,05–2,42)), генерализованного остеоартрита ( $p=0,003$ ; OR=2,75;(1,39–5,46)) и ОА тазобедренных суставов ( $p=0,016$ ; OR=2,3;(1,14–4,36)). Аллель \*А 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. в исследовании E.V. Raine с соавт. был произведен анализ дисбаланса аллельной экспрессии гена COL11A1 с использованием трех полиморфных локусов rs9659030, rs1676486, rs2615977 и не было обнаружено влияния rs9659030, расположенного в 3'НТО данного гена на экспрессию гена COL11A1. В данном исследовании было выявлено понижение экспрессии гена COL11A1 при наличии редкого аллеля\*Т полиморфного локуса rs1676486 (p.Ser1419Thr), находящегося в неравновесии по сцеплению с rs9659030, однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения обнаруженных данных (Raine et al.,2013). В то же время, для данного локуса был выявлен эффект аллельного дисбаланса при исследовании экспрессии РНК полиморфных вариантов гена COL11A1 в хряще больных ОА, было выявлено два локуса с наибольшим коэффициентом дисбаланса – rs2229783 и rs9659030, причем у последнего он был выше (Hollander 2019). При исследовании распределения частот аллелей и генотипов локуса rs229069 гена ADAMTS5 были выявлены ассоциации аллеля \*С с ОА в целом ( $p=0,018$ ; OR=1,43;(1,06–1,93)), а так же с ОА коленных ( $p=0,042$ ; OR=1,43;(1,01–2,03)) и тазобедренных суставов ( $p=0,026$ ; OR=2,039;(1,08–3,85)), генотип \*СС был ассоциирован с ОА в целом ( $p=0,037$ ; OR=1,53;(1,02–2,28)) и ОА тазобедренных суставов ( $p=0,026$ ; OR=2,039;(1,08–3,85)). Аллель \*G нарушает сродство мРНК данного гена с miR-3144-3p, miR-875-5p, а аллель \*С создает сайт связывания с микроРНК let-7d-3p и let-7e-3p, что предполагает изменение в регуляции

экспрессии данного гена. Аллель \*А полиморфного варианта rs13317 гена FGFR1 был ассоциирован с развитием ОА в целом ( $p=0,001$ ;  $p^*=0,01$ ;  $OR=1,67$ ;  $(1,2-2,3)$ ), с ОА коленных суставов ( $p=0,004$ ;  $p^*=0,04$ ;  $OR=1,74$ ;  $(1,19-2,55)$ ) и генерализованным остеоартритом ( $p=0,044$ ;  $OR=1,67$ ;  $(1,01-2,75)$ ), генотип \*АА был ассоциирован с ОА в целом ( $p=0,001$ ;  $OR=1,67$ ;  $(1,2-2,3)$ ), ОА коленных суставов ( $p=0,003$ ;  $OR=2$ ;  $(1,26-3,2)$ ) и генерализованным остеоартритом ( $p=0,010$ ;  $OR=2,22$ ;  $(1,2-4,09)$ ). Аллель \*А имеет сайты связывания для miR-3128 и miR-4470, тогда как для аллеля \*G микроРНК не определены. Данный полиморфный вариант ассоциирован с патологией развития нервной системы и костной ткани. Была выявлена значимость локуса rs13317 гена FGFR1 в развитии аномалий лицевого скелета у пациентов из Японии и Кореи (Adel 2017). При исследовании 203 пациентов с повреждением ротаторной манжеты плеча была выявлена ассоциация аллеля \*А с наличием данной патологии (Vaughn 2017). После введения поправки на множественность сравнений сохранили статистическую значимость ассоциации аллеля \*А и генотипа \*АА локуса rs13317 с ОА в целом ( $p^*=0,01$ ) и ОА коленных суставов ( $p^*=0,04$  и  $p^*=0,03$ , соответственно). При исследовании распределения частот аллелей и генотипов локусов rs1061237, rs1061947 (COL1A1), rs3128575 (COL5A1), rs229077, rs9978597 (ADAMTS5), rs2463018 (CHST11), rs6854081 (FGF2) не было обнаружено статистически значимых различий между группами больных и контроля.

**Заключение.** Таким образом, обнаружена значимость полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК rs9659030 (COL11A1), rs229069 (ADAMTS5), rs13317(FGFR1) в развитии остеоартрита в целом и его отдельных локализаций, что вносит существенный вклад в изучение патогенеза данного заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: МикроРНК; остеоартрит; ревматология.

## SEARCH FOR ASSOCIATION BETWEEN MICRORNA BINDING SITES WITH OSTEOARTHRITIS OF DIFFERENT LOCALIZATION

© Tiurin A.V.<sup>1</sup>, Shapovalova D.A.<sup>2</sup>, Khusainova R.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State Medical University, Ufa

<sup>2</sup>Institute for Biochemistry and Genetics, Ufa

KEYWORDS: MicroRNA; osteoarthritis; rheumatology.