

ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОСТЕОАРТРИТА У ЖЕНЩИН С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

© Шаповалова Д.А.¹, Тюрин А.В.², Хусаинова Р.И.^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

² ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, МЗ РФ, г. Уфа

Введение. Остеоартрит (ОА) – наиболее распространенное, многофакторное заболевание суставов, этиология которого окончательно не установлена. При этом ОА чаще всего диагностируется при наличии клинических проявлений, характерных для выраженных морфологических изменений в хряще, и существует проблема раннего выявления деструктивно-дистрофических поражений сустава. По результатам семейных и близнецовых исследований на роль генетической составляющей в патогенезе ОА отводится от 40 до 65%. Один из подходов в изучении генетической составляющей ОА – исследование генов-кандидатов, роль которых известна в биологии хрящевой ткани. Другой, более современный подход, основан на использовании технологии полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) сотен тысяч однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) с привлечением больших выборок в рамках международных консорциумов, что позволяет выявить новые гены, функция которых в патогенезе ОА ранее не была исследована. Благодаря данному подходу достигнут значительный прогресс в выявлении генетической предрасположенности к ОА, однако существует и множество невыясненных ключевых вопросов.

У пациентов с ОА часто встречаются различные фенотипические признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани (ндСТ), которые не укладываются в структуру наследственных синдромов, и характеризуются генетической неоднородностью и многообразием клинических проявлений. Проблема сочетания ОА и 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.

Целью исследования является поиск ассоциаций полиморфных локусов генов-кандидатов ОА: VNTR (ACAN), rs226794 и rs2830585 (ADAMTS5), rs1107946 (COL1A1) а также локусов в генах, ассоциированных с ОА по результатам GWAS анализа: rs7639618 (DVWA), rs4836732 (ASTN2), rs3204689 (ALDH1A2) и rs835487 (CHST11) с формированием предрасположенности к ОА у женщин с учетом локализации патологического процесса, возраста дебюта заболевания и наличия признаков ндСТ.

Материалы и методы. В работе использованы образцы ДНК 417 женщин. Анализ локусов VNTR гена ACAN, rs2830585 и rs226794 гена ADAMTS5, проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. Для определения нуклеотидных замен локусов rs2830585 (с.1841G>A) и rs226794 (с.2075T>C) гена ADAMTS5 проводили гидролиз ПЦР фрагментов эндонуклеазами рестрикции BsuRI (HaeIII) и MbiI (BsrBI) (Fermentas). Амплификацию локусов rs835487 (с.189+64998A>G) гена CHST11, проводили методом ПЦР в режиме реального времени по технологии TaqMan на амплификаторе BioRad. Для генотипирования локусов, rs1107946 (COL1A1), rs7639618 (DVWA), rs4836732 (ASTN2), rs3204689 (ALDH1A2) была использована конкурентная аллель-специфичная ПЦР - KASP™ (LGC-Genomics), с использованием Quant Studio 12K Flex (Thermo Fisher Scientific).

Результаты исследования и обсуждение. В гене агрекана (ACAN) - протеогликана суставного хряща, отвечающего за способность ткани выдерживать сжимающие нагрузки за счет способности образовывать большие протеогликановые агрегаты в сочетании с гиалуроновой кислотой, исследован VNTR полиморфизм, состоящий из tandemных повторов в 57 нуклеотидов, кодирующих 19 аминокислот. Нами обнаружено 12 аллелей и 24 генотипа, аллель 27 ассоциирован с развитием ОА в отдельности ($p=0,012$; OR=1,50) и в коморбидном с ндСТ состоянии ($p=0,012$; OR=1,67), а также с генерализованным ОА ($p=0,04$; OR=1,68), а также ОА коленных суставов ($p=0,031$; OR=1,52). Обнаруженная нами ассоциация аллеля 27 с ОА в целом и с ОА в сочетании с ндСТ состоянии, (OR = 1,46 и 1,75), частично согласуется с исследованием Horton et al., 1998, где наличие аллеля *27 было связано с ОА рук (OR=3,23).

Выявлена значимость аллеля G локуса rs226794 гена агреканазы-2 (ADAMTS5), катализирующей деградацию молекул агрекана, в формировании ндСТ ($p^{fdr}=0,024$; OR=4,31), а также ОА в сочетании с ндСТ в выборке женщин русской этнической принадлежности ($p=0,023$; OR=3,72). Аллель T локуса rs2830585 гена ADAMTS5 ассоциирован с ндСТ выраженной степени ($p=0,026$; OR=2,24). Аллель G локуса rs1107946 гена COL1A1 – основного коллагена костной ткани, ассоциирован с ОА в сочетании с ндСТ, в общей выборке ($p=0,032$; OR=1,74) и у женщин русского происхождения ($p=0,047$; OR=2,52), по литературным данным генотип GG ассоциирован с высоким уровнем МПКТ у европейцев, что согласуется с предположением, что высокий уровень плотности кости является одним из факторов риска ОА. По результатам репликативного исследования обнаружена ассоциация аллеля A локуса rs7639618 (DVWA) с ОА в целом ($p=0,030$; OR=1,53), коленного сустава ($p^{fdr}=0,022$; OR=1,75), а также с ОА в сочетании с ндСТ в общей выборке женщин ($p=0,020$; OR=1,83), а также с ОА в целом ($p^{fdr}=0,032$; OR=3,04) и в сочетании с ндСТ ($p=0,027$; OR=3,56) у женщин русской этнической принадлежности. Мета-анализ, проведенный Wang с соавт., (2016 г.), результатов изучения 20 популяций Европы и Азии, показал значимость данного локуса для развития ОА коленного сустава у азиатов и отсутствие

таковой в европейских популяциях. В России данный локус изучался нами впервые, ассоциация противоположного аллеля с ОА в целом, а также ОА коленных суставов в сочетании с нДСТ свидетельствует об особенностях генетической структуры исследованной нами выборки и требуется проведение дополнительных исследований в различных популяциях.

Аллель С и генотип СС локуса rs4836732 (ASTN2) ассоциирован с ОА в целом ($p=0,021$; OR=1,58 и $p=0,022$; OR=2,27), генотип CG локуса rs3204689 (ALDH1A2) с генерализованным ОА ($p=0,026$; OR=3,14). Аллель С локуса rs4836732 (ASTN2) ассоциирован с тотальной заменой тазобедренного сустава у европейских женщин ($p=6,1 \times 10^{-10}$), аллель С локуса rs3204689 (ALDH1A2) ассоциирован с ОА кистей у женщин, что сопоставимо с нашими данными.

Аллель G и генотип GG локуса rs835487 (CHST11) показал ассоциацию с ОА тазобедренного сустава ($p=0,026$; OR=2,0 и $p=0,012$; OR=2,5), а также с ОА у женщин татарской этнической принадлежности ($p=0,03$; OR=1,92 и $p=0,026$; OR=2,31), что согласуется с результатами консорциума arCOGEN (2012 г.), где была обнаружена ассоциация аллеля G данного локуса с ОА тазобедренных суставов ($p=1.64 \times 10^{-8}$).

Выводы: Таким образом нами выявлены молекулярно-генетические маркеры развития ОА в целом, различных локализаций, а также в сочетании с нДСТ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Остеоартрит; недифференцированная дисплазия соединительной ткани; генетические маркеры.

MOLECULAR AND GENETIC MARKERS OF OSTEOARTHRITIS IN WOMEN WITH UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

© Shapovalova D.A.¹, Tyurin A.V.², Khusainova R.I.^{1,2}

¹ Institute of biochemistry and genetics, Ufa

² Bashkir state medical University, Ufa

KEYWORDS: Osteoarthritis; undifferentiated dysplasia connective tissue; genetic markers.