

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЗАВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ

Зарипова А.Р.¹, Хусаинова Р.И.^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия

Незавершенный остеогенез (НО, Q78.0 по МКБ-10) – наследственное заболевание соединительной ткани с широким генотипическим и фенотипическим спектром, которое встречается с частотой 1 на 15-20 тысяч человек. На сегодняшний день известно, что в патогенезе НО участвуют 25 генов, генетическая гетерогенность заболевания до конца не установлена. Аутосомно-доминантный тип наследования наблюдается в 85% случаев, в остальных – аутосомно-рецессивный, Х-сцепленный и случаи de novo. На основе данных о «причинных» генах и вариантах фенотипов у больных НО, в 2009 году на заседании Международной номенклатурной группы конституциональных расстройств скелета была принята современная классификация заболевания, включающая в себя 5 типов заболевания: I тип - легкий (без деформаций), II тип - НО с перинатально-летальным исходом; III тип - НО с тяжелыми деформациями; IV тип - средней степени тяжести; V тип – среднетяжелый НО с оксификацией межкостной мембраны. Кроме того, существует классификация OMIM, в которую включены I-XXII типы НО [<https://www.omim.org/>].

Таким образом, в связи широкой вариабельностью фенотипа и генетической гетерогенностью заболевания, очень важно проводить молекулярно-генетическую диагностику и идентифицировать молекулярные дефекты в генах, которые вовлечены в патогенез заболевания, для определения прогноза течения заболевания и проведения медико-генетического консультирования отягощенных семей.

Цель – поиск патогенных мутаций в генах, участвующих в патогенезе незавершенного остеогенеза, у пациентов, которые проживают на территории Республики Башкортостан.

Материалы и методы. В нашем исследовании приняло участие 81 пациента из 68 семей, проживающих в Республике Башкортостан. Диагноз «несовершенный остеогенез» был установлен медицинскими генетиками в период с 2000 по 2021 годы на основании клинической картины заболевания. Использовали следующие молекулярно-генетические методы: выделение ДНК фенольно-хлороформной экстракцией, полимеразная цепная реакция синтеза ДНК, секвенирование нового поколения (NGS-технология) целевых генов костного метаболизма на платформе Illumina (MiSeq). Валидацию полученных результатов осуществляли секвенированием по Сэнгеру.

Поиск структурных изменений проводился последовательно в четыре этапа. На первом этапе проводилось целевое NGS-секвенирование генов коллагена I типа (COL1A1, COL1A2), анализ проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Исследование было выполнено с использованием оборудования центра коллективного пользования БашГУ.

На втором этапе - целевое секвенирование 13 генов, продукты которых участвуют в модификациях коллагена у пациентов с отсутствием мутаций в генах коллагена I типа, на полупроводниковом секвенаторе Personal Genome Machine (Ion Torrent, Life Technologies, США) в лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, г. Москва. На третьем этапе - целевое секвенирование 166 генов, участвующих в костном метаболизме у пациентов с отсутствием патогенных изменений на предыдущих этапах исследования, на приборе ION S5 в Медико-генетическом научном центре, г. Москва. На четвертом этапе - целевое секвенирование 664 генов, участвующих в метаболизме соединительной ткани у пациентов с отсутствием мутаций в генах целевых панелей предыдущих этапов исследования, на секвенаторе китайского производства в лаборатории молекулярной патологии «Геномед», г. Москва.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований у 49 пациентов из 38 семей было выявлено 38 патогенных изменений, которые имеют как аутосомно-доминантный тип наследования, так и аутосомно-рецессивный, также встречались случаи de novo.

В гене COL1A1 всего было найдено 22 патогенных изменения (с.358C>T, с.375dupC, с.407dupG, с.579delT, с.658C>T, с.858+1G>A, с.967G>T, с.1081C>T, с.1243C>T, с.2444delG, с.2461G>A, с.2569G>T, с.2869C>T, с.3076C>T, с.3792delG, с.1354-12G>A, с.4099A>C, с.757C>T, с.1897G>T, с.1405C>T, с.1265G>C, с.750+2T>G), в гене COL1A2 обнаружено 14 мутаций (с.647G>A, с.874G>A, с.1197+5G>A, с.1826G>A, с.1897_1902 dupGCTGGT, с.2341G>C, с.2756G>A, с.2971G>C, с.3034G>A, с.3277G>A, с.3977A>G, с.3298C>A, с.946G>C, с.980G>C), и единичные изменения в генах P3H1 (с.1051G>T) и IFITM5 (с.-14C>T). Больные с данными мутациями имели характерные для НО клинические проявления и были протипированы в соответствии с современной классификацией: из 49 пациентов 29 пациентов имеют I тип НО, 10 - III тип НО, 7 - IV тип НО. Мутация IFITM5 (с.-14C>T), которая отвечает за развитие НО V типа, встретилась в нашей выборке у трех пациентов (у одного из них в сочетанном варианте).

У 7 пациентов были обнаружены изменения в генах, которые не участвуют в патогенезе НО, – CLCN7 (с.141+4A>C), ALOX12B (с.526G>A), PLEKHM1 (с.2902-9C>T), ERCC4 (с.2395C>T), ARSB (с.454C>T), PTH1R (с.342C>A) и TGFB1 (с.945G>C), SGMS2 (с.148C>T). У одного пациента с типичными клиническими проявлениями НО было найдено две мутации: одна в гене TGFB1 (с.945G>C) - в результате целевого NGS-исследования на втором этапе исследования и другая в гене SGMS2 (с.148C>T) - в результате полноэкзомного исследования в лаборатории Медико-генетического научного центра, г. Москва. У пациентов, с мутациями в «других» генах, были характерные симптомы для НО – у всех были

множественные переломы, кроме того, у больных наблюдались голубые склеры, низкий или средний рост, скелетные деформации и остеопороз в различных сочетаниях.

Сочетанные варианты изменений были найдены у 4 больных НО (с.2869C>T в гене COL1A1 и с.1197+5G>A в гене COL1A2; с.579delT в гене COL1A1 и с.1197+5G>A в гене COL1A2; с.2971G>C в гене COL1A2 и с.212G>C в гене FGF23; с.-14C>T в гене IFITM5 и с.1903C>T в гене LAMB3). Данные молекулярные дефекты являются причиной I, IV и V типов НО у наших пациентов с типичными фенотипами НО: множественные переломы, голубые склеры, скелетные деформации, гипермобильность суставов, низкий рост, кифосколиотическое искривление позвоночника (в различных комбинациях).

В результате ретроспективного клинического наблюдения и отсутствия патогенных изменений в целевых генах костного метаболизма, 9 пациентов из 62 обследованных были исключены из нашего исследования. У 4 пациентов будет продолжен поиск патогенных изменений.

Выводы. При помощи секвенирования нового поколения у 49 пациентов из 38 семей, проживающих на территории Республики Башкортостан, было найдено 38 патогенных изменений, приводящих к развитию НО. Из них: 22 - в гене COL1A1, 14 - в гене COL1A2, 1 - в гене P3H1 и 1 - в гене IFITM5. На долю гена COL1A1 приходится 57,9% (22/38) выявленных мутаций, 36,8% (14/38) - на ген COL1A2 и по 2,63% (1/38) на гены IFITM5 и P3H1. У 7 пациентов были найдены патогенные варианты, характерные для других заболеваний. У 13 пациентов мутации не были идентифицированы, из них 9 человек исключены из исследования, а с 4 пациентами работа будет продолжена.

Технология NGS является эффективным инструментом для выявления молекулярных дефектов, являющихся причиной НО. Клинически, несмотря на генетическую гетерогенность, различные типы НО имеют сходные черты. Поэтому нахождение патогенных мутаций очень важно для понимания течения заболевания, определения прогноза и проведения медико-генетического консультирования отягощенных семей.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-315-90063

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЕМ НЕСФАТИНА-1 И ПОКАЗАТЕЛЯМИ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Зборовская И.А.^{1,2}, Александров А.В.^{1,2}, Квливидзе Т.З.¹, Полякова Ю.В.², Папичев Е.В.², Сивордова Л.Е.², Ахвердян Ю.Р.², Заводовский Б.В.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», Волгоград

Цель работы. Оценить связь маркеров костного обмена с уровнем несфатина-1 (НФ-1) у пациентов с ревматоидным артритом.

Материалы и методы исследования. Обследовано 110 пациентов (105 женщин и 5 мужчин) с диагнозом ревматоидный артрит, классифицированном на основании критериев ACR/EULAR 2010г. Пациентам проводилось полное клинико-лабораторное обследование: сбор анамнеза, осмотр, лабораторные и инструментальные исследования. Уровень НФ-1 в сыворотке крови определялся с использованием коммерческих тест-систем. Исследование минеральной плотности костной ткани проводилось на рентгеновском костном денситометре. Статистическая обработка данных клинического обследования проводилась с использованием программного пакета «STATISTICA 12.0 для Windows». Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. В результате исследования не было выявлено значимой корреляции между уровнем НФ-1 и композитным составом тела у пациентов с ревматоидным артритом и Beta-CrossLaps сыворотки крови. Обнаружена статистически значимая корреляция между НФ-1 и N-терминальным пропептидом проколлагена 1-го типа (P1NP) ($r = 0,218$, $p = 0,022$). Мы не отметили каких-либо существенных взаимосвязей между уровнем НФ-1 в сыворотке крови и минеральной плотностью костной ткани в поясничных позвонках и бедре. Однако, пациенты с остеопорозом ($n=53$) и остеопоретическими переломами ($n=25$) имеют более высокий уровень НФ-1 ($Z=-2,06$; $p=0,040$ и $Z=-2,37$; $p=0,017$ соответственно). В то же время, нами не выявлено корреляционной взаимосвязи между уровнем НФ-1, кумулятивной дозой ($p=0,09$; $p=0,368$) и продолжительностью приема глюкокортикоидов ($p=0,07$; $p=0,462$).

Вывод. В ходе нашего исследования была выявлена взаимосвязь между НФ-1 и маркером формирования костного матрикса P1NP, что свидетельствует о возможном влиянии НФ-1 на дифференцировку и функцию остеобластов. Более того, среди пациентов с остеопоретическими переломами (независимо от давности срока перелома) и остеопорозом уровень НФ-1 был статистически выше, что требует дальнейшего изучения данного вопроса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: несфатин-1, ревматоидный артрит, маркеры костного обмена, остеопороз, остеопоретические переломы, цитокины.