

Частота выявления ОП у мужчин в Грузинской популяции (n= 1650)

<b>Возраст пациентов от 35 до 74 лет</b>	<b>Остеопения T ≤ -2,0 SD</b>	<b>Остеопороз T ≥ -2,5 SD</b>
Ревматоидный Артрит (РА) n=122	10 %	42%
Подагрический полиартрит n=120	8%	51%
Остеоартрит n=1190	16%	48%
Сахарный диабет n=102	25%	65%
Кардиоваскулярные заб. n=116	15%	40%

При изучении обращаемости мужчин для диагностики остеопороза (DXA) в различные центры Грузии (г. Тбилиси) оказалось, что их число не превышает 10 % от общей популяции больных.

<b>Диагностические центры</b>	<b>Годы ( 2019-2020)</b>	<b>Проценты</b>
Медицинский центр «Инова»	2019-2020	5%-5.2%
Клиника «Консилиум Медулла»	2020	10%
Национальный Институт Эндокринологии	2020	7%
Национальный Центр Диабета	2019-2020	10.4%-6%

178 больных в течении 2 лет принимали деносумаб в стандартной дозе 60 мг , подкожно 1 раз в 6 месяцев .

**Результаты и Обсуждение:** Результате лечения прирост МПК ( минеральная плотность кости ) в позвоночнике составила 7.8 %, в общем показателе бедра 5.1%. Деносумаб хорошо переносился мужчинами , его профиль безопасности практически приближается к идеальному , не отличаясь от таковой у женщин . Лечение деносумабом сопровождалось приемом кальция ( 1000 мг ) и витамина Д .

**Выходы:** Суммируя результаты исследования, можно сделать выводы , что необходимо с большим вниманием относится к остеопорозу у мужчин , так как число больных среди мужчин прогрессивно увеличивается

- из-за раннего старения у мужчин
- из-за прогрессивного увеличения риска-факторов остеопороза у мужчин
- из-за низкой комплайненности при лечении мужчин с остеопорозом .
- из-за низких показателей диагностики остеопороза у мужчин.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ОСТЕОПОРОЗУ, ВЫЯВЛЕННЫЕ МЕТОДОМ NGS

Кобец Е.В.<sup>1</sup>, Морозик П.М.<sup>1</sup>, Руденко Э.В.<sup>2</sup>, Самоховец О.Ю.<sup>3</sup>, Руденко Е.В.<sup>3</sup>, Шулинский Р.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларусь»

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, г. Минск

<sup>3</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Республика Беларусь, г. Минск

**Целью данного исследования** было выявить наиболее значимые полиморфные варианты генов, участвующих в костном метаболизме методом NGS для оценки предрасположенности к остеопорозу.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 284 образца (68 контрольных, 216 опытных) лиц, проходивших амбулаторное обследование в «Минском городском центре остеопороза и болезней костно-мышечной системы» и ревматологическом отделении 1-й Минской городской больницы (Беларусь). Все пациенты и лица контрольной группы, принявшие участие и подходящие по критериям включения в исследование, подписали письменное информированное согласие в соответствии с Хельсинской декларацией (в редакции 2013 г.).

Клинические методы обследования включают измерение длины и массы тела, расчет индекса массы тела (ИМТ), измерение минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и ряд биохимических показателей.

Генетические исследования. Методом парно-концевого чтения нами было осуществлено высокопроизводительное секвенирование (NGS) образцов ДНК на основании кастомной панели, включающей экзоны 32 генов: *ALPL*, *BGLAP*, *PMF1-BGLAP*, *BMP1*, *CALCR*, *CASR*, *CALCA*, *CYP19A1*, *ESR1*, *GH1*, *GH2*, *HAS1*, *LRP5*, *MMP1*, *P2RX7*, *PTH*, *SP7*, *SPP1*, *TGFB1*, *TNFRSF11A*, *TNFRSF11B*, *TNFSF11*, *VDR*, *WNT4*, *WTAPP1*, *AR*, *CSHL1*, *CSH2*, *DKK1*, *COL1A1*, *IL6*, *SOST*, *WNT1*.

Биоинформационная обработка. Выравнивали прочтения на GRCh37.p13 референс, локальное выравнивание с преобразование Бароуза-Уиллера в программе BWA, сортировали и индексировали в программе samtools. Файлы vcf фильтровали по покрытию (30-кратное) и среднему Q-base качеству (30). Для анализа ассоциаций, расчёта частот генотипов и аллелей использовали программу plink. Вышеуказанные генотипы также фильтровали на наличие

менделевских ошибок, низких частот вызовов генотипов, низких частот минорных аллелей. Также использовали информацию из проекта 1000 геномов для поиска общих SNP и расчёта популяционной стратификации для дальнейшего ее использования как ковариаты в анализе ассоциаций. Визуализацию частот минорных аллелей среди больных и здоровых групп, а также часть расчётов частот генотипов проводили в Python (библиотеки pandas, numpy, seaborn). Аннотацию мутаций выполняли в утилите SnpEff, парсинг полученных результатов — с использованием языка bash.

**Результаты и обсуждения.** Всего в результате биоинформационического анализа данных NGS после фильтрации SNVs по качеству прочтений QS30 с количеством прочтений не менее 20 среди исследуемых образцов было выявлено более 120 SNVs.

Статистически значимые различия между опытной и контрольной группами выявлены для 15 SNVs. Данные полиморфные варианты найдены в следующих генах: *ALPL*, *CASR*, *CALCR*, *VDR*, *P2RX7*, *COL1A1*.

Статистически значимые различия по частотам аллелей гена щелочной фосфатазы *ALPL* между исследуемыми группами выявлены для 6 инtronных и 2 экзонных вариантов. В кодирующей части гена *ALPL* нуклеотидная замена c.787T>C rs3200254 у пациентов с остеопорозом по сравнению с контрольной группой имеет более высокие частоты: 0.1242 и 0.04545 соответственно (CHISQ=6.379; p=0.01155; OR=2.979; SE=0.4507 (CI95% 1.231-7.206).

Ещё один полиморфный вариант гена *ALPL* расположенный в экзонной области c.1565T>C rs34605986 имеет статистически значимые различия в частотах минорного аллеля между группой остеопороза 0.1296 и контроля 0.06818 (CHISQ=3.565; p=0.05901; OR=2.035; OR=0.3829 (CI95% 0.9611-4.311)).

Выявленные минорные аллели полиморфных вариантов некодирующей части гена *ALPL* rs2275375, rs2275376, rs2275377, rs75829132, rs74063110, rs74063111 статистически значимо чаще встречались в группе пациентов с остеопорозом нежели в контрольной группе (для всех значения p<0.05).

Для гена кальцийчувствительного рецептора *CASR* выявлено два наиболее значимых полиморфных варианта rs2279802; rs1042636, расположенных в области экзонов. Нуклеотидные замены гена кальцийчувствительного рецептора *CASR* c.1608+52G>A, rs2279802 и c.2998A>G rs1042636 имеют одинаковые данные по частотам минорных аллелей для групп остеопороза 0.05864 и контроля 0.1288 (CHISQ=6.347; p=0.01176; OR=0.4214; SE=0.3513 (CI95% 0.2117-0.839)). Видимо данные варианты наследуются сцепленно. При биоинформационическом анализе ассоциации полиморфных вариантов с МПКТ замена c.1608+52G>A гена *CASR* статистически значимо ассоциирована с уровнем МПКТ поясничного отдела позвоночника (BMD L1-L4) BETA=0.1084; SE= 0.05402 (CI95% 0.002493-0.2142); p=0.04604.

Ген кальцитонинового рецептора *CALCR* имеет значимую однонуклеотидную замену c.-6T>C, rs2301680, расположенную в 5UTR-области (CHISQ=7.532; p=0.00606; OR=0.5642; SE=0.2097 (CI95% 0.374-0.8509)). Поскольку частота MAF более высокая в контрольной группе (0.5985), чем в группе пациентов с остеопорозом (0.4568) можно предположить, что замена c.-6T>C позволяет эффективнее происходить трансляции данного рецептора или возможно оставаться реакционноспособным более длительное время при связывании с кальцитонином и остальными членами 7 трансмембранных домена.

Полиморфный вариант гена *VDR* Fok c.2T>C (rs2228570) имеет статистически значимые различия между частотами минорного аллеля в группах остеопороза 0.392 и контроля 0.5152 (CHISQ=5.814; p=0.0159; OR=0.6067; SE=0.208 (CI95% 0.4036-0.9122) и вероятнее всего является протекторным вариантом.

Инtronная однонуклеотидная замена гена пуринергического рецептора *P2RX7* (P2RX7) c.364-53 G>A, rs1653583 статистически значимо чаще встречается у носителей минорного аллеля в группе остеопороза 0.08333, чем контроля 0.0303 (CHISQ=4.163; p=0.04132; OR=2.909; SE=0.5461 (CI95% 0.9975-8.484).

Выявлены две рядом расположенные инtronные замены chr17:48274291: T:G (rs2075555) и chr17:48274309: T:C (rs2075554) гена *COL1A1* имеют одинаковые частоты минорных аллелей для пациентов с остеопорозом 0.179 и лиц контрольной группы 0.1061 (CHISQ=3.754; p=0.05268; OR=1.838; SE=0.3177 (CI95% 0.9861-3.425).

**Выходы.** Среди выявленных минорных аллелей статистически значимо ассоциированы с остеопорозом: rs3200254, rs34605986, rs2275375, rs2275376, rs2275377, rs75829132, rs74063110, rs74063111 гена *ALPL*; rs1653583 гена *P2RX7*; rs2075555 и rs2075554 гена *COL1A1*.

Полученные данные свидетельствуют о возможном протекторном влиянии для МПКТ нуклеотидных замен c.1608+52G>A, rs2279802 и c.2998A>G rs1042636 гена *CASR*; c.-6T>C rs2301680 5UTR-области гена *CALCR*; а также c.2T>C (rs2228570) гена *VDR* Fok.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

1. Кобец Екатерина Вячеславовна, 31 год;
2. Морозик Павел Михайлович, Руденко Эмма Владимировна, Самоховец Ольга Юрьевна, Руденко Елена Викторовна, Шулинский Роман Сергеевич 23 года;
3. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ОСТЕОПОРОЗУ ВЫЯВЛЕННЫЕ МЕТОДОМ NGS;
4. Морозик П.М., к.б.н., доцент;
5. Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларусь», Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, д.27, тел.гор. 80173781856
6. Наименование, адрес и телефон Учреждения;
7. kobets.katsyaryna@gmail.com;
8. Телефон моб. +375298128917