

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Полуконова Н.В., Демин А.Г., Полуконова А.В., Ковалев Н.Н., Гладкова Е.В., Федонников А.С.

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ ОСТЕОАРТРОЗА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПА OS3, ОБУСЛОВЛЕННОГО МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ АСПОРИНА (ASPN), СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИ ПОДТВЕРЖДЁННЫМ ГОНАРТРОЗОМ И КОКСАРТРОЗОМ ИЗ ПОПУЛЯЦИЙ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава РФ, 410012, Саратов, Россия

Разработана и апробирована тест-система остеоартроза (ОА) коленного и тазобедренного суставов генетического типа OS3, обусловленного мутациями в гене аспорина ASPN: ключевая мутация SNP rs3078372; гаплотип D13 – исходный, с 13 остатками аспарагиновой кислоты; гаплотипы DX мутантные, с количеством остатков, отличным от 13. В исследовании распространённости ОА OS3-типа приняли добровольное информированное участие 86 пациентов НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии СГМУ им. В.И. Разумовского (НИИТОН СГМУ): 37 представителей коренного населения Кавказа (Республика Дагестан, Чеченская Республика, Республика Ингушетия, Кабардино-Балкарская Республика, Азербайджан, Армения) и 49 – коренного населения Поволжья. Пациенты с ОА коленного и тазобедренного суставов имели III-IV рентгенологические стадии заболевания; контрольную группу составили 25 представителей тех же регионов без ОА. Установлено широкое распространение SNP rs3078372 среди указанных пациентов. В исследуемой нами выборке пациентов с ОА примерно половина обладают ОА генетического типа OS3. Сравнительно большее распространение ОА отмечено среди представителей указанных регионов Кавказа, что может быть связано с рядом факторов, влияющих на формирование ОА: избыточная нагрузка на коленные и тазобедренные суставы, связанная с условиями проживания в горной местности; ограниченная численность популяции с наличием близкородственных браков. В группе населения регионов Поволжья без ОА больше половины являются носителями аллеля DX, что отражает их меньшую подверженность перечисленным факторам. В группе коренных жителей Поволжья распространение аллеля DX выявлено у 70% лиц мужского пола, при этом для формирования ОА-типа OS3 у них чаще требуется две дозы аллеля DX. У гетерозиготных по аллелю DX пациентов ОА может не сформироваться. Для формирования гонартроза OS3-типа чаще требуется две дозы аллеля DX.

Ключевые слова: гонартроз; коксартроз; генетические маркеры; SNP rs3078372; остеоартроз коленного и тазобедренного суставов генетического типа OS3; ASPN.

Для цитирования: Полуконова Н.В., Демин А.Г., Полуконова А.В., Ковалев Н.Н., Гладкова Е.В., Федонников А.С. Распространённость остеоартроза генетического типа OS3, обусловленного мутациями в гене аспорина (ASPN), среди пациентов с рентгенологически подтверждённым гонартрозом и коксартрозом из популяций Европейской части России. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (3): 168-177. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-3-168-177>

Для корреспонденции: Полуконова Н.В., д-р биол. наук, проф., проф. каф. общей биологии, фармакогнозии и ботаники, зав. лаб. клеточных технологий Центра коллективного пользования экспериментальной онкологии; e-mail: polukonovanv@yandex.ru

Финансирование. Исследование поддержано внутривузовским грантом ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Минздрава России №SSMU-2021-006 «Исследование генетических факторов в формировании артроза тазобедренного и коленного суставов».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.12.2022

Принята к печати 11.01.2023

Опубликовано 20.03.2023

Polukonova N.V., Demin A.G., Polukonova A.V., Kovalev N.N., Gladkova E.V., Fedonnikov A.S.

PREVALENCE OF OSTEOARTHRITIS OF GENETIC TYPE OS3 CAUSED BY MUTATIONS IN THE ASPORIN GENE (ASPN) AMONG PATIENTS WITH RADIOLOGICALLY CONFIRMED GONARTHROSIS AND COXARTHROSIS FROM POPULATIONS OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education V.I. Razumovsky Saratov State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 410012, Saratov, Russia

The test system for knee and hip OS3 genetic osteoarthritis (OA) caused by ASPN gene mutations has been designed and tested. The findings suggested that the key mutation was SNP rs3078372; D13 haplotype was the initial one with 13 asparagic acid residues; DX haplotypes were mutant with the number of residues other than 13. The OS3 OA prevalence rate study involved 86 patients of the Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of V.I. Razumovsky State Medical University. All patients took part in the research voluntary and signed their informed consent forms. 37 patients were the representatives of indigenous people of the North Caucasus regions (the Republic of Dagestan, Chechen Republic, the Republic of Ingushetia, the Republic of Kabardino-Balkaria, Azerbaijan, Armenia) and 49 were the representatives of indigenous peoples of the Volga regions with 3-4 radiological stages of knee and hip OA. The control group was made up of 25 individuals of the same regions without OA. The SNP rs3078372 was found to be widespread among the patients. In the studied sample approximately half of the patients had

OS3 OA. The prevalence of OS3 OA was relatively higher in the population of the mentioned Caucasus regions probably related with a number of factors affecting OA progressing: excessive loading of knee and hip joints due to their living in mountainous areas; limited population size with consanguineous marriages. More than a half of individuals from the Volga population group without OA carried a DX allele suggesting their lower susceptibility to the listed factors. The DX allele was found in 70% of men from the Volga indigenous peoples group, and they were more likely to have two doses of DX allele to trigger OS3 OA. DX allele heterozygous patients may totally avoid OA. OS3 gonarthrosis is more often triggered by two doses of the DX allele.

Key words: gonarthrosis; coxarthrosis; genetic markers; SNP rs3078372; OS3 knee and hip osteoarthritis; ASPN.

For citation: Polukonova N.V., Demin A.G., Polukonova A.V., Kovalev N.N., Gladkova E.V., Fedonnikov A.S. Prevalence of osteoarthritis of genetic type OS3 caused by mutations in the asporin gene (*ASPN*) among patients with radiologically confirmed gonarthrosis and coxarthrosis from populations of the European part of Russia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (3): 168-177 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-3-168-177>

For correspondence: Polukonova N.V., D. in Biology, Professor, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany. Head of the Cell Technology Laboratory of the Experimental Oncology Collaborative Centre; e-mail: polukonovanv@yandex.ru

Information about authors:

Polukonova N.V., <https://orcid.org/0000-0001-9228-6808>;
Demin A.G., <https://orcid.org/0000-0002-2767-8239>;
Polukonova A.V., <https://orcid.org/0000-0001-7198-1254>;
Kovalev N.N., <https://orcid.org/0000-0001-6537-8424>;
Gladkova E.V., <https://orcid.org/0000-0002-6207-2275>;
Fedonnikov A.S., <https://orcid.org/0000-0003-0344-4419>.

Acknowledgment. The research was financed by the grant №SSMU-2021-006 The Research of the Genetic Factors in Hip and Knee Arthrosis Formation awarded to the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education V.I. Razumovsky Saratov State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 27.12.2022
Accepted 11.01.2023
Published 20.03.2023

Остеоартроз (ОА) характеризуется дегенерацией суставного хряща, а также ремоделированием субхондральной кости, и представляет собой наиболее распространенную форму суставной патологии у человека, являясь серьезной проблемой для стареющих людей во всем мире [1]. По данным Минздрава России, заболеваемость ОА составляет до 10 случаев на 1000 населения. Средний возраст начала заболевания – 40 лет, при этом свыше 50% населения имеет рентгенологические признаки ОА в возрасте 55 лет, а к 65 годам заболевание проявляется почти у каждого [2, 3]. Учет истинной распространенности ОА в ходе эпидемиологического исследования может превышать данные официальной статистики в пять и более раз [4], так как ОА распознается на стадии активного разрушения хряща с выраженным болевым синдромом и сопровождается появлением маркеров его деструкции в крови [5]. Разработки по диагностике ОА [6, 7] улучшили ситуацию по его выявлению, но не решили проблему полностью, в связи с чем поиск надежных критериев продолжается.

Генетический подход к выявлению ОА позволяет определить предрасположенность к данному заболеванию, и не только прогнозировать его развитие на стадии доклинических проявлений, но и проводить профилактические мероприятия, направленные на предупреждение его развития, обеспечивая, таким образом, персонализированный подход. Генетическая предрасположенность к ОА коленного (гонартроз) и тазобедренного (коксартроз) суставов носит, в том числе, этнический характер, что связано с различием частот аллелей генов в разных этнических группах [5].

В современной практике генетических исследований патологий опорно-двигательной системы среди

основных генетических типов ОА коленного и тазобедренного суставов выделяют следующие варианты ОА: *OS1* (osteoarthritis susceptibility / предрасположенность к остеоартриту) – обусловлен мутациями в гене *FRZB* (frizzled related protein) и связан с развитием ОА только тазобедренного сустава у женщин; *OS3* – обусловлен мутациями в гене аспорина (*ASPN*) и связан с риском развития ОА как коленного, так и тазобедренного суставов; *OS5* – обусловлен мутациями в гене фактора дифференцировки роста 5 (*GDF5*) и связан с риском развития ОА тазобедренного сустава; *OS6* – обусловлен мутациями в гене альфа цепи коллагена VI (*DVWA*) и связан с риском развития ОА коленного сустава [8].

В данном исследовании анализируется распространенность ОА генетического типа *OS3*, обусловленного мутациями в гене аспорина (*ASPN*). Известно, что ген *ASPN* (9q22.31) включает 8 экзонов, его интроны расположены в тех же положениях, что и у генов декорина и бигликана; при этом его фланкирующая промоторная область не содержит ТАТА-блока, но имеет сайты связывания для нескольких факторов транскрипции. *ASPN* принадлежит семейству белков, богатых повторами лейцина и связанных с хрящевой матрицей. Название «аспорин» отражает уникальный богатый аспаратом N-конец и также подтверждает его сходство с декорином [9].

Изучена роль *ASPN* как компонента внеклеточного матрикса, обильно экспрессируемого в суставном хряще у монголоидов японской популяции и европеоидов с ОА, и обнаружена значительная связь между ОА и полиморфизмом повтора аспарагиновой кислоты (*acn*) в N-концевой области белка *ASPN* [10]. Поэтому в качестве маркеров предрасположенности

к ОА по гену *ASPN* можно использовать аллели, отвечающие за разное число повторов *асп* в белке, но отличным от 13: DX (SNP rs3078372), где X = 14, 12, 11, 9 и др. Так, в двух независимых популяциях людей с ОА коленного сустава продемонстрировано, что аллель D14, отвечающий за 14 повторов *асп*, был чрезмерно представлен по сравнению с исходным аллелем – за 13 повторов (D13). D14 был более выраженно представлен у пациентов с ОА тазобедренного сустава, а его частота коррелировала с тяжестью заболевания [10].

Полиморфизм повторов DX был генотипирован у 218 китайцев хань с радиографически подтвержденным первичным симптоматическим ОА коленного сустава и у 454 лиц контрольной группы того же возраста [11]. Соотношение частот аллелей D13 и D14 было сходным у представителей монголоидной расы из японской и китайской популяций, но отличалось от такового у европейских европеоидов. D14 был чаще представлен у пациентов с ОА коленного сустава ($p=0,0013$) и чаще регистрировался у пациентов с ранней манифестацией заболевания, чем у пациентов с поздним проявлением ($p=0,043$), и возраст начала заболевания у пациентов с D14 был более ранним ($p=0,028$). Был сделан вывод об устойчивости ассоциации аллеля D14 с ОА коленного сустава у монголоидов китайской популяции. Это был один из редких случаев, когда ассоциация SNP гена предрасположенности к ОА была точно воспроизведена между различными этническими группами.

В китайской популяции из 527 пациентов с дегенерацией дисков поясничного отдела (ПДД) и 528 человек контрольной группы, и в японской популяции из 745 пациентов и 608 контрольной группы [12] обнаружили значительную связь между D14 и ПДД. ПДД является полигенным заболеванием, гены предрасположенности к которому отвечают за синтез белков внеклеточного матрикса. Экспрессия *ASPN* в позвоночных дисках увеличивалась с возрастом и дегенерацией. *ASPN* относят к генам предрасположенности к ПДД также и у представителей монголоидной расы.

Цель работы: исследовать распространение ОА OS3-типа и аллельных вариантов SNP rs3078372 гена *ASPN* среди коренных жителей Кавказа (КЖК) и коренных жителей Поволжья (КЖП) с гонартрозом и коксартрозом.

Материал и методы. В исследовании приняли добровольное информированное участие 86 пациентов НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (НИИТОН СГМУ), из них 37 пациентов – представители коренного населения регионов Кавказа (Республика Дагестан, Чеченская Республика, Республика Ингушетия, Кабардино-Балкарская Республика, Азербайджан, Армения): 6 пациентов составили контрольную группу без диагностированного ОА и 31 – с диагностированным ОА тазобедренного (20 пациентов) и коленного суставов (11 пациентов, включая пациента с нестабильностью суставов), 49 представителей коренного населения Поволжья: 19 пациентов составили контрольную группу без диагностирован-

ного ОА и 30 пациентов с диагностированным ОА тазобедренного (26 пациентов) и коленного суставов (4 пациента). Все обследованные пациенты с ОА имели III–IV рентгенологические стадии заболевания по классификации Келлгрена-Лоуренса (K-L), отмечали болевой синдром и выраженную функциональную недостаточность пораженных суставов.

Пациенты с ОА также были разделены на возрастные группы согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения: группу пациентов с ранним проявлением ОА составили 10 человек молодого возраста (18 лет–44 года); группу лиц среднего возраста (45–59 лет) составили 22 пациента с ОА; группу лиц с поздним проявлением ОА составили 29 пациентов пожилого (60 лет–74 года) и старческого (75–90 лет) возраста. Контрольную группу составили 25 человек тех же возрастных групп.

Важно заметить, что обращаемость пациентов с той или иной патологией опорно-двигательной системы в НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского зависела от целого ряда организационных аспектов оказания высокотехнологичной помощи, в итоге такую выборку нельзя рассматривать как случайную. Поскольку в этой выборке никак не отображается реальное распределение частот аллелей в популяциях, к ней не применимы классические методы обчета генетических данных, включая закон Харди-Вайберга, и представление результатов в данном случае может носить скорее описательный характер.

Сбор образцов крови и выделение тотальной ДНК. Сбор образцов крови проводился на базе НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского. Образцы крови получали из локтевой вены пациентов в утренние часы в вакуумные пробирки с K_3 ЭДТА, аликвоты однократно замораживали и хранили при температуре $-80^{\circ}C$. Выделение тотальной ДНК проводилось методом протеазного лизиса с последующим осаждением ДНК на кремниевой мембране наборами «Diagen» для выделения ДНК из цельной крови производства «Диа-М», Россия.

Полученные 86 образцов очищенной тотальной ДНК использовались для апробации и адаптации спроектированной тест-системы, и проведения тестирования с использованием тест-системы, доведенной до полной готовности на малой выборке.

При статистической обработке полученных результатов применяли критерий согласия Пирсона χ^2 (Хи-квадрат). За уровень значимости принят $p < 0,05$.

Результаты. Общий дизайн разработанной генетической тест-системы OS3 (ОА коленного и тазобедренного суставов):

Тип наследования – аутосомно-доминантный;
Ген – *ASPN*;

Продукт — аспорин. *ASPN* принадлежит к семейству белков с высоким содержанием лейцина (LRR), связанных с хрящевым матриксом.

Ключевая мутация – rs3078372 (аутосомно-рецессивный тип наследования).

Гаплотипы: D13 (содержит 13 остатков аспарагиновой кислоты) – предковый; DX (с количеством остатков аспарагиновой кислоты, отличающимся от

Результаты тестирования 86 образцов ДНК от пациентов с ОА коленного и тазобедренного суставов и лиц контрольной группы на наличие SNP rs3078372

№	Пол	Географическое проживание	Диагноз	Возраст, годы	ASP _N rs3078372 D13>DX
Коренные жители Кавказа (КЖК)					
1	Ж	Азербайджан	Контроль	42	D13/DX
2	М	Азербайджан	Контроль	49	D13
3	М	Азербайджан	Контроль	60	D13/DX
4	Ж	Республика Дагестан	Контроль	27	D13
5	М	Чеченская Республика	Контроль	46	D13/DX
6	Ж	Чеченская Республика	Контроль	56	D13
7	М	Республика Дагестан	Коксартроз	30	DX
8	Ж	Азербайджан	Коксартроз	50	D13
9	Ж	Азербайджан	Коксартроз	38	D13/DX
10	Ж	Азербайджан	Коксартроз	44	D13/DX
11	М	Азербайджан	Коксартроз	56	D13
12	М	Азербайджан	Коксартроз	79	D13/DX
13	Ж	Республика Дагестан	Коксартроз	68	D13/DX
14	Ж	Республика Дагестан	Коксартроз	34	D13/DX
15	Ж	Республика Дагестан	Коксартроз	51	D13
16	М	Республика Дагестан	Коксартроз	61	D13
17	Ж	Республика Ингушетия	Коксартроз	75	D13
18	Ж	Кабардино-Балкарская Республика	Коксартроз	57	DX
19	Ж	Кабардино-Балкарская Республика	Коксартроз	66	D13/DX
20	М	Кабардино-Балкарская Республика	Коксартроз	62	D13
21	М	Кабардино-Балкарская Республика	Коксартроз	60	D13/DX
22	Ж	Республика Дагестан	Коксартроз	58	D13/DX
23	Ж	Чеченская Республика	Коксартроз	41	D13
24	Ж	Чеченская Республика	Коксартроз	47	D13
25	Ж	Чеченская Республика	Коксартроз	68	D13/DX
26	Ж	Чеченская Республика	Коксартроз	30	D13
27	М	Азербайджан	Гонартроз	50	D13/DX
28	М	Азербайджан	Гонартроз	72	D13
29	Ж	Армения	Гонартроз	62	D13/DX
30	М	Армения	Гонартроз	59	DX
31	Ж	Республика Дагестан	Гонартроз	71	D13
32	Ж	Республика Дагестан	Гонартроз	56	D13
33	Ж	Кабардино-Балкарская Республика	Гонартроз	62	D13
34	Ж	Кабардино-Балкарская Республика	Гонартроз	84	D13/DX
35	Ж	Кабардино-Балкарская Республика	Гонартроз	55	D13
36	Ж	Чеченская Республика	Гонартроз	67	DX
37	М	Кабардино-Балкарская Республика	Нестабильность суставов	18	D13
Коренные жители Поволжья (КЖП)					
38	Ж	Поволжский регион	Контроль	56	D13/DX

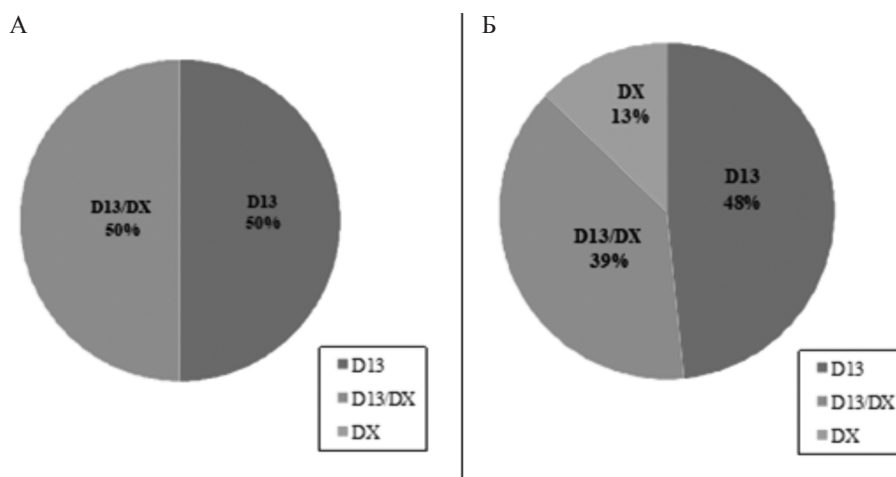
Продолжение табл. 1 см. стр. 173.

№	Пол	Географическое проживание	Диагноз	Возраст, годы	ASPN rs3078372 D13>DX
39	М	Поволжский регион	Контроль	50	D13/DX
40	Ж	Поволжский регион	Контроль	73	D13
41	М	Поволжский регион	Контроль	61	D13/DX
42	Ж	Поволжский регион	Контроль	31	D13/DX
43	Ж	Поволжский регион	Контроль	52	D13/DX
44	Ж	Поволжский регион	Контроль	40	DX
45	Ж	Поволжский регион	Контроль	38	D13/DX
46	Ж	Поволжский регион	Контроль	26	D13
47	М	Поволжский регион	Контроль	63	D13/DX
48	Ж	Поволжский регион	Контроль	54	D13
49	Ж	Поволжский регион	Контроль	41	D13/DX
50	Ж	Поволжский регион	Контроль	49	D13
51	Ж	Поволжский регион	Контроль	50	DX
52	Ж	Поволжский регион	Контроль	42	D13
53	М	Поволжский регион	Контроль	50	D13
54	Ж	Поволжский регион	Контроль	20	D13
55	Ж	Поволжский регион	Контроль	53	D13
56	Ж	Поволжский регион	Контроль	38	DX
57	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	58	DX
58	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	25	D13/DX
59	М	Поволжский регион	Коксартроз	65	D13
60	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	65	DX
61	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	74	D13
62	М	Поволжский регион	Коксартроз	52	DX
63	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	55	D13
64	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	55	D13/DX
65	М	Поволжский регион	Коксартроз	56	D13/DX
66	М	Поволжский регион	Коксартроз	62	D13/DX
67	М	Поволжский регион	Коксартроз	65	D13
68	М	Поволжский регион	Коксартроз	65	D13/DX
69	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	72	D13
70	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	55	D13
71	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	59	D13
72	М	Поволжский регион	Коксартроз	68	D13/DX
73	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	56	D13/DX
74	М	Поволжский регион	Коксартроз	65	D13/DX
75	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	39	D13
76	М	Поволжский регион	Коксартроз	56	D13/DX
77	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	71	D13
78	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	73	D13/DX
79	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	54	D13/DX
80	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	43	D13
81	Ж	Поволжский регион	Коксартроз	75	D13
82	М	Поволжский регион	Коксартроз	58	D13
83	Ж	Поволжский регион	Гонартроз	51	D13/DX
84	Ж	Поволжский регион	Гонартроз	64	D13
85	Ж	Поволжский регион	Гонартроз	72	D13
86	Ж	Поволжский регион	Гонартроз	67	D13

Примечание. Ж – женщины, М – мужчины.

Аллельные варианты SNP rs3078372 гена *ASPN*, ассоциированного с проявлением ОА коленного и тазобедренного суставов генетического типа OS3 среди КЖК и КЖП

Анализируемые категории лиц	Аллельные варианты с SNP rs3078372		
	D13	D13/DX	DX
Представители КЖК без ОА	50,00%	50,00%	0,00%
Пациенты КЖК или с гонартрозом, или с коксартрозом	48,39%	38,71%	12,90%
Пациенты КЖК с коксартрозом	45,00%	45,00%	10,00%
Пациенты КЖК с гонартрозом	54,55%	27,27%	18,18%
Пациенты КЖК женского пола или с гонартрозом, или с коксартрозом	47,62%	42,86%	9,52%
Пациенты КЖК женского пола с коксартрозом	42,86%	50,00%	7,14%
Пациенты КЖК женского пола с гонартрозом	57,14%	28,57%	14,29%
Пациенты КЖК мужского пола или с гонартрозом, или с коксартрозом	50,00%	30,00%	20,00%
Пациенты КЖК мужского пола с коксартрозом	50,00%	33,33%	16,67%
Пациенты КЖК мужского пола с гонартрозом	50,00%	25,00%	25,00%
Представители КЖП без ОА	42,11%	42,11%	15,79%
Пациенты КЖП или с гонартрозом, или с коксартрозом	50,00%	40,00%	10,00%
Пациенты КЖП с коксартрозом	46,15%	42,31%	11,54%
Пациенты КЖП с гонартрозом	75,00%	25,00%	0,00%
Пациенты КЖП мужского пола с коксартрозом	30,00%	60,00%	10,00%
Пациенты КЖП женского пола или коксартрозом или с гонартрозом	60,00%	30,00%	10,00%
Пациенты КЖП женского пола с коксартрозом	56,25%	31,25%	12,50%
Пациенты КЖП женского пола с гонартрозом	75,00%	25,00%	0,00%



Распределение аллелей гена *ASPN* rs3078372 (D13>DX) среди представителей КЖК без ОА (А) и пациентов с ОА (Б).

тически не проявилось. Среди пациентов с ОА, обратившихся за лечением в НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского, половина (50%) является носителями SNP rs3078372 (см. табл. 2), т. е. обладает генетическим типом OS3.

Обращает на себя внимание тот факт, что среди пациентов только с коксартрозом обладателями ОА генетического типа OS3 являются 53,85%, в то время как среди пациентов с гонартрозом обладателями типа OS3 являются только 25%. Среди лиц женского пола выявлено только гетерозиготное носительство SNP rs3078372 и полное отсутствие гомозигот. У 70%

пациентов мужского пола выявлено наличие маркера генетического типа OS3 (табл. 2).

Среди КЖП с ОА количество гомозигот по SNP rs3078372 варьирует от 0 до 11,54%, что в целом меньше по сравнению с пациентами из числа КЖК, среди которых количество гомозигот по SNP rs3078372 варьирует от 10 до 18,18% (см. табл. 2).

Распределение частот аллеля SNP rs3078372 гена *ASPN* в разных возрастных группах. В группе лиц молодого возраста с ранней манифестацией ОА пациентов с гонартрозом не выявлено, все имеют только коксартроз, включая пациента с нестабильностью су-

Распределение аллельных вариантов SNP rs3078372 гена *ASPN*, ассоциированного с проявлением ОА коленного и тазобедренного суставов, среди пациентов разных возрастных групп

№	Возраст, годы	Аллельные варианты SNP rs3078372		
		D13	D13/DX	DX
1	Группа пациентов молодого возраста с ОА (18 лет - 44 года) (<i>n</i> =10)	44,4%	44,4%	1,1%
2	Контрольная группа лиц молодого возраста (<i>n</i> =10)	36,4%	45,5%	8,1%
3	Группа пациентов среднего возраста с ОА (45-59 лет) (<i>n</i> =22)	44,4%	38,9%	6,7%
4	Контрольная группа лиц среднего возраста (<i>n</i> =11)	54,5%	36,4%	9,1%
5	Группа пациентов пожилого и старческого возраста с ОА (60-90 лет) (<i>n</i> =29)	53,6%	35,7%	0,7%
6	Контрольная группа лиц пожилого и старческого возраста (<i>n</i> =4)	25%	75%	0%

Примечание. *n* – число обследованных.

ставов. Среди пациентов с ОА и его ранней манифестацией количество гомо- и гетерозиготных носителей SNP rs3078372 больше (55,5%), чем гомозигот по исходному аллелю (44,4%). Сходное соотношение сохраняется и в группе пациентов с ОА среднего возраста (табл. 3).

В группе пациентов с поздней манифестацией ОА пожилого и старческого возраста (60-90 лет) гомо- и гетерозиготных носителей SNP rs3078372 несколько меньше (46,4%), чем гомозигот по исходному аллелю (53,6%) (см. табл. 3).

В контрольной группе лиц пожилого и старческого возраста выявлено наличие только гетерозиготных носителей SNP rs3078372 при полном отсутствии гомозигот по этой SNP.

Обсуждение. Разработана генетическая тест-система *OS3* (ОА коленного и тазобедренного суставов): тип наследования – аутосомно-доминантный; ген – *ASPN*; продукт – аспорин (*ASPN* семейства белков с высоким содержанием лейцина, связанных с хрящевым матриксом); ключевая мутация – rs3078372; гаплотип – D13 (содержит 13 остатков аспарагиновой кислоты) – исходный; гаплотипы – DX (с количеством остатков аспарагиновой кислоты, отличающимся от 13) – мутантные, ассоциированные с ОА коленного и тазобедренного суставов.

Тест-система для детекции SNP rs3078372 основана на ПЦР с последующей электрофоретической визуализацией в пластине агарозного геля полиморфизма длин продуктов амплификации. Для использования тест-системы для детекции SNP rs3078372 и проверки связи различных вариантов данного SNP с формированием ОА коленного и тазобедренного суставов на больших выборках рекомендуется применение капиллярного секвенирования для получения однозначных результатов по количеству пар нуклеотидов и, соответственно, остатков аспарагиновой кислоты.

Полученные данные позволили выявить в образцах полиморфизм по данному SNP и продемонстрировали наличие более чем двух аллельных вариантов целевого SNP в исследуемой выборке. Выявленные нами отличия между частотами аллеля SNP rs3078372 среди КЖК и КЖП не достигают уровня статистической значимости, что подтверждает их генетическое сходство и принадлежность к единой большой группе населения – европеоидам Восточной Европы.

Наличие в контрольных группах КЖК и КЖП без ОА носителей SNP rs3078372 в гомо- или гетерозиготном состоянии (50% и 57,9%, соответственно) в целом свидетельствует о широком распространении данной SNP среди пациентов НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского даже среди лиц, у которых ОА симптоматически не проявился.

Большее количество представителей, гетерозиготных по аллелю DX с SNP rs3078372, по сравнению с гомозиготными как в контроле, так и среди пациентов, вполне согласуется с рецессивным типом наследования SNP rs3078372.

Отсутствие среди представителей КЖК без ОА гомозигот по SNP rs3078372 по сравнению с пациентами с ОА свидетельствует о том, что при формировании ОА имеет значение количество доз мутантного аллеля. То есть, у гетерозигот по SNP rs3078372 в силу ослабления действия провоцирующих ОА факторов внешней среды, играющих значительную роль при формировании многофакторных заболеваний, ОА может не сформироваться.

Наличие среди представителей КЖП без ОА больше половины (57,90%) носителей аллеля с SNP rs3078372 может, с одной стороны, отражать определенную устойчивость данной этнической группы к ОА. С другой стороны, выявленная тенденция может свидетельствовать о подверженности меньшему количеству провоцирующих факторов внешней среды, влияющих на формирование ОА у КЖП, по сравнению с КЖК. Так, среди факторов внешней среды, провоцирующих формирование ОА у коренного населения Кавказа, можно выделить работу с избыточной нагрузкой коленных и тазобедренных суставов в горной местности, низкое содержание кислорода, разреженную атмосферу, способствующих развитию тканевой гипоксии и приводящих к закреплению определенных метаболических аспектов [13], потребление в пищу питьевой воды ледникового происхождения с низкой минерализацией, способствующую активному выведению минеральных веществ, а также сравнительно ограниченную численность популяций с наличием близкородственных браков, приводящих к увеличению частоты гомозигот по мутантным аллелям, ассоциированным с развитием ОА.

Нами выявлено, что среди КЖК мужского пола с ОА гомозиготных по SNP rs3078372 примерно в два раза больше, чем гомозиготных по этой SNP среди пациентов с ОА женского пола. Так, количество гомозигот по SNP rs3078372 среди пациентов мужского пола с ОА составляет 20% и варьирует от 16,67% (с коксартрозом) до 25% (с гонартрозом), в то время, как среди пациентов с ОА женского пола количество гомозигот по SNP rs3078372 составляет только 9,5%, и варьирует от 7,14% (с коксартрозом) до 14,29% (с гонартрозом). В результате нами отмечены две тенденции: одна связана с увеличением частоты гомозиготных по SNP rs3078372 пациентов с ОА мужского пола, а другая – с увеличением частоты гомозиготных по SNP rs3078372 среди пациентов с гонартрозом. По-видимому, для формирования симптоматического ОА генетического типа OS3 у лиц мужского пола в целом чаще требуется две дозы мутантного аллеля SNP rs3078372, чем у лиц женского пола. Также, для формирования гонартроза генетического типа OS3 в целом чаще требуется две дозы мутантного аллеля SNP rs3078372, чем для формирования коксартроза.

В группе КЖП с ОА, обратившихся за лечением в НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского, примерно половина является носителями SNP rs3078372 и, следовательно, обладает генетическим типом OS3, в то время как остальные пациенты, у которых ОА также подтвержден, но которые носителями SNP rs3078372 не являются, могут обладать другими генетическими типами ОА. Кроме того, отсутствие в генотипах пациентов с ОА маркерной для этого типа ОА SNP rs3078372 может отражать характерную особенность многофакторных заболеваний, к которым относится ОА, а именно то, что заболевание может проявиться даже при отсутствии в генотипе определенной комбинации генов из серии полигенов.

Среди пациентов с коксартрозом из числа КЖП обладателей SNP rs3078372 53,85%, а среди пациентов с гонартрозом – только 25%. По-видимому, генетический вклад аллеля с SNP rs3078372 среди других полигенов при формировании гонартроза типа OS3 у КЖП небольшой. При этом, для формирования гонартроза типа OS3 у лиц женского пола из числа КЖП достаточно только одной дозы аллеля с SNP rs3078372, о чем свидетельствует присутствие среди них только гетерозигот по SNP rs3078372 и полное отсутствие гомозигот. Выявлена тенденция наибольшего распространения среди КЖП и обратившихся за лечением в НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского у лиц мужского пола коксартроза, относящегося к генетическому типу OS3, о чем свидетельствует наличие у 70% пациентов маркера данного генетического типа.

Выявленная тенденция меньшего количества гомозигот по SNP rs3078372 среди пациентов с ОА из числа КЖП по сравнению с пациентами из числа КЖК в целом отражает меньшее распространение ОА типа OS3 среди КЖП по сравнению с КЖК.

Тенденция к понижению количества пациентов с поздней манифестацией ОА пожилого и старческого возраста (60-90 лет) с маркерным аллелем вполне согласуется с большим воздействием провоцирующих фак-

торов внешней среды на формирование ОА у пациентов этого возраста, в то время как в группах лиц среднего и особенно молодого возраста в формирование ОА наибольший вклад вносят именно генетические факторы, в частности, мутантный аллель с SNP rs3078372, ассоциированный с проявлением ОА коленного и тазобедренного суставов генетического типа OS3.

Ранее у монголоидов китайской и японской популяций была выявлена тенденция: у пациентов с ранней манифестацией ОА аллель D14 регистрировался чаще, чем у пациентов с поздней манифестацией [10, 11]. Нами установлена та же тенденция и среди европеоидов: у пациентов с ранней манифестацией ОА OS3-типа аллель DX регистрируется чаще, чем у пациентов с поздней манифестацией ОА этого типа.

Что касается контрольных групп различного возраста, то наиболее значимой для обсуждения, безусловно, являются лица пожилого и старческого возраста с отсутствием симптомов ОА, так как, если данное заболевание не манифестировало к зрелому возрасту, скорее всего, оно не проявится и в дальнейшем. Также обращает на себя внимание наличие в контрольной группе лиц пожилого и старческого возраста только гетерозиготных носителей SNP rs3078372 при полном отсутствии гомозигот по этой SNP. Тенденция отсутствия у лиц пожилого и старческого возраста без ОА гомозигот по мутантному аллелю свидетельствует о том, что ОА типа OS3 у европеоидов Восточной Европы может и не сформироваться у гетерозиготных носителей мутантного аллеля гена *ASPN* при наличии в генотипе только одной дозы этого аллеля.

Заключение. Разработана и апробирована тест-система остеоартроза (ОА) коленного и тазобедренного суставов генетического типа OS3, обусловленного мутациями в гене аспорина *ASPN*: ключевая мутация SNP rs3078372; гаплотип D13 – исходный с 13 остатками аспарагиновой кислоты; гаплотипы DX мутантные с количеством остатков, отличным от 13.

Подтверждено генетическое сходство КЖК и КЖП, и их принадлежность к единой большой группе – европеоидам Восточной Европы. Установлено широкое распространение мутации SNP rs3078372 среди пациентов КЖК и КЖП НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского. Установлена та же тенденция, что и среди представителей монголоидной расы: у пациентов с ранней манифестацией ОА OS3-типа аллель DX регистрируется чаще, чем у пациентов с поздней манифестацией ОА этого типа.

В исследуемой нами выборке пациентов с рентгенологически подтвержденным ОА в среднем примерно половина обладают ОА генетического типа OS3. При этом сравнительно большее распространение ОА отмечено среди КЖК, что может быть связано с рядом факторов внешней среды, влияющих на формирование ОА: работа с избыточной нагрузкой коленных и тазобедренных суставов в горной местности; ограниченная численность популяции с наличием близкородственных браков и другими. В группе КЖП без ОА больше половины являются носителями аллеля DX, что отражает их меньшую подверженность перечисленным факторам.

У пациентов из числа КЖП распространение аллеля DX выявлено у 70% лиц мужского пола, при этом для формирования ОА типа OS3 у них чаще требуется две дозы аллеля DX, чем у лиц женского пола. У гетерозиготных по аллелю DX пациентов ОА может не сформироваться. Для формирования гонартроза OS3-типа чаще требуется две дозы аллеля DX, чем для формирования коксартроза.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 10-12 см. REFERENCES)

2. Миронов С.П., Еськин Н.А., Андреева Т.М. Состояние специализированной амбулаторной травматолого-ортопедической помощи пострадавшим от травм и больным с патологией костно-мышечной систем. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2010; (1): 3-8.
3. Бадюкин В.В. Целесообразность применения нестероидных противовоспалительных препаратов в терапии остеоартроза. *Трудный пациент*. 2010; 11(8): 25-30.
4. Галушко Е.А., Насонов Е.Л. Распространенность ревматических заболеваний в России. *Альманах клинической медицины*. 2018; 46(1): 32-9. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-1-32-39.
5. Забелло Т.В., Миromanov А.М., Миromanova Н.А. Генетические аспекты развития остеоартроза. *Фундаментальные исследования*. 2015; 1(9): 1970-6.
6. Гладкова Е.В. Биохимические предикторы нарушений метаболизма хрящевой ткани в диагностике ранних проявлений остеоартроза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(3): 155-62.
7. Ромакина Н.А., Гладкова Е.В., Титова Ю.И., Гладкова Ю.К. Возможности комплексной диагностики начальных стадий остеоартроза. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2020; 16(2): 494-9.
13. Митрофанов В.А., Жадёнов И.И., Пучиньян Д.М. Остеоартроз: факторы риска, патогенез и современная терапия. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2008; 4(2): 23-30.

REFERENCES

1. Meulenbelt I., Min J.L., van Duijn C.M., Kloppenburg M., Breedveld F.C., Slagboom P.E. Strong linkage on 2q33.3 to familial early-onset generalized osteoarthritis and a consideration of two positional candidate genes. *European Journal of Human Genetics*. 2006; (14): 1280-7. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201704.

2. Mironov S.P., Yeskin N.A., Andreeva T.M. State of specialized out-patient trauma and orthopaedic care for trauma victims and patients with musculoskeletal pathologies. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*. 2010; (1): 3-8. (in Russian)
3. Badokin V.V. Feasibility of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of osteoarthritis. *Trudnyi patsient*. 2010; 11(8): 25-30. (in Russian)
4. Galushko E.A., Nasonov E.L. Prevalence of rheumatic diseases in Russia. *Al manakh klinisheskoy meditsiny*. 2018; 46(1): 32-9. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-1-32-39. (in Russian)
5. Zabello T.V., Miromanov A.M., Miromanova N.A. Genetic aspects of osteoarthritis development. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2015; 1(9): 1970-6. (in Russian)
6. Gladkova E.V. Biochemical predictors of cartilage metabolic disorders in the diagnosis of early manifestations of osteoarthritis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(3): 155-62. (in Russian)
7. Romakina N.A., Gladkova E.V., Titova Y.I., Gladkova Y.K. Possibilities of complex diagnostics of initial stages of osteoarthritis. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2020; 16(2): 494-9. (in Russian)
8. Online Mendelian Inheritance in Man. Доступно по: <https://www.omim.org/entry/601146?search=OSTEOARTHRITIS>.
11. Lorenzo P., Aspberg A., Onnerfjord P., Bayliss M. T., Neame P. J., Heinegard D. Identification and characterization of asporin: a novel member of the leucine-rich repeat protein family closely related to decorin and biglycan. *Journal of Biological Chemistry*. 2001; 276: 12201-11. DOI: 10.1074/jbc.M010932200.
10. Kizawa H., Kou I., Iida A., Sudo A., Miyamoto Y., Fukuda A. et al. An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogenesis and increases susceptibility to osteoarthritis. *Nature Genetics*. 2005; 37: 138-44. DOI: 10.1038/ng1496.
11. Jiang Q., Shi D., Yi L., Ikegawa S., Wang Y., Nakamura T. et al. Replication of the association of the aspartic acid repeat polymorphism in the asporin gene with knee-osteoarthritis susceptibility in Han Chinese. *Journal of Human Genetics*. 2006; 51: 1068-72. DOI: 10.1007/s10038-006-0065-6.
12. Song Y.-Q., Cheung K.M.C., Ho D.W.H., Poon S.C.S., Chiba K., Kawaguchi Y. et al. Association of the asporin D14 allele with lumbar-disc degeneration in Asians. *Am. Journal of Human Genetics*. 2008; 82: 744-7. DOI: 10.1016/j.ajhg.2007.12.017.
13. Mitrofanov V.A., Zhadenov I.I., Puchinyan D.M. Osteoarthritis: risk factors, pathogenesis and modern therapy. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2008; 4(2): 23-30. (in Russian)