

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

Тюрин Антон Викторович

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОНОГЕННЫХ И  
МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

3.1.18. Внутренние болезни

1.5.7. Генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты

доктор медицинских наук, профессор

Ганцева Х.Х.

доктор биологических наук, доцент

Хусаинова Р.И.

Уфа – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
1.1 Морфофункциональные характеристики различных типов соединительной ткани.....	18
1.1.1 Основные типы соединительной ткани и особенности их строения.....	18
1.1.2 Морфофункциональные характеристики скелетной соединительной ткани.....	20
1.1.3 Особенности метаболизма скелетной соединительной ткани – кости и хряща.....	24
1.1.4. Дисплазия соединительной ткани как предрасполагающий фактор соматических заболеваний.....	28
1.2 Моногенные и многофакторные заболеваний соединительной ткани.....	31
1.2.1 Основные характеристики остеоартрита.....	31
1.2.1.1 Этиология и патогенез остеоартрита.....	32
1.2.1.2 Эпидемиологические характеристики остеоартрита.....	33
1.2.1.3 Современные подходы к классификации остеоартрита.....	34
1.2.1.4 Диагностика остеоартрита.....	39
1.2.1.5 Генетические и эпигенетические маркеры остеоартрита.....	42
1.2.2 Основные характеристики остеопороза.....	49
1.2.2.1 Этиология и патогенез остеопороза.....	59
1.2.2.2 Эпидемиологические характеристики остеопороза.....	51
1.2.2.3 Диагностика остеопороза.....	52
1.2.2.4 Генетические и эпигенетические маркеры остеопороза.....	57
1.2.3 Вопросы клинической и молекулярной коморбидности остеоартрита и остеопороза.....	61
1.2.4 Основные характеристики синдрома Элерса-Данло.....	67
1.2.4.1 Этиология и патогенез синдрома Элерса-Данло.....	67
1.2.4.2 Эпидемиологические характеристики синдрома Элерса-Данло.....	68

1.2.4.3	Классификация синдрома Элерса-Данло.....	69
1.2.4.4.	Диагностика синдрома Элерса-Данло.....	73
1.2.4.5	Лечение синдрома Элерса-Данло.....	74
1.2.5	Основные характеристики несовершенного остеогенеза.....	75
1.2.5.1	Этиология и патогенез несовершенного остеогенеза.....	75
1.2.5.2	Эпидемиологические характеристики несовершенного остеогенеза...	75
1.2.5.3	Классификация несовершенного остеогенеза.....	77
1.2.5.4	Лечение несовершенного остеогенеза.....	84
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....		88
2.1.	Структура и этапы исследования.....	88
2.2	Эпидемиологические исследования.....	90
2.3	Характеристика обследованных лиц.....	90
2.3.1	Характеристика когорты с остеоартритом.....	90
2.3.2	Характеристика когорты с остеопорозом.....	92
2.3.3	Характеристика когорты с несовершенным остеогенезом.....	93
2.3.4	Характеристика когорты с синдромом Элерса-Данло.....	94
2.4	Оценка диспластической стигматизации.....	95
2.5	Инструментальные методы обследования.....	96
2.6	Молекулярно-генетические методы исследования.....	98
2.7	Статистическая обработка данных.....	102
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....		104
3.1	Анализ распространенность моногенных и многофакторных заболеваний соединительной ткани в Республике Башкортостан.....	104
3.1.1	Анализ распространенности остеоартрита и остеопороза в Республике Башкортостан.....	105
3.1.2	Анализ распространенности несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан.....	116
3.2	Клинические особенности заболеваний соединительной ткани.....	130
3.2.1	Уровни минеральной плотности костной ткани и переломы при	

остеоартрите и остеопорозе.....	130
3.2.2 Частота встречаемости фенотипических маркеров дисплазии соединительной ткан у пациентов с различными вариантами патологии соединительной ткани.....	144
3.2.3 Клиническая вариабельность моногенных форм заболеваний соединительной ткани.....	156
3.3 Поиск молекулярно-генетических маркеров многофакторных заболеваний соединительной ткани.....	181
3.3.1 Поиск молекулярных маркеров остеоартрита.....	181
3.3.2 Поиск молекулярных маркеров остеопороза.....	190
3.4. Исследование молекулярной архитектуры наследственных заболеваний соединительной ткани.....	201
3.4.1 Молекулярно-генетическое исследование несовершенного остеогенеза у пациентов из Республики Башкортостан.....	201
3.4.2 Исследование молекулярной архитектуры синдрома Элерса-Данло у пациентов из Республики Башкортостан.....	219
3.5 Анализ молекулярных маркеров с учетом популяционных особенностей региона.....	230
3.5.1 Поиск этноспецифических маркеров у пациентов с остеоартритом и остеопорозом.....	230
3.5.2 Поиск этноспецифических маркеров у пациентов с несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло.....	239
3.6. Разработка методов диагностики и прогнозирования развития заболеваний соединительной ткани.....	242
3.6.1 Разработка прогностических моделей развития остеоартрита.....	242
3.6.2 Разработка прогностических моделей развития остеопороза.....	245
3.6.3 Разработка алгоритма клинической диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло.....	254
3.6.4 Разработка алгоритма ДНК-диагностики несовершенного остеогенеза	

и синдрома Элерса-Данло.....	259
3.7 Разработка фармакологических подходов к лечению заболеваний соединительной ткани.....	267
3.7.1 Разработка персонализированных подходов к лечению многофакторных заболеваний соединительной ткани.....	267
3.7.2 Разработка персонализированных подходов к лечению моногенных заболеваний соединительной ткани.....	273
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	280
ВЫВОДЫ.....	287
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	289
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	290
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	291
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	370
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Анкета пациента с несовершенным остеогенезом.....	370
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Анкета пациента с синдромом Элерса-Данло.....	371
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Характеристики исследованных локусов.....	372

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Заболевания соединительной ткани представляют собой обширную группу патологий, которая характеризуется выраженной клинической вариабельностью за счет гетерогенности соединительной ткани и ее широкого распространения в организме человека [62; 72; 634]. В русскоязычной и в зарубежной литературе широко используется термин «системные заболевания соединительной ткани» [8; 461], однако данная группа заболеваний не охватывает весь перечень патологий, расположенных в XIII классе МКБ-10 (M00-M99). Для данной группы заболеваний представляется возможным использование определения «структурные заболевания соединительной ткани». Состоянием, наиболее полно характеризующим структурные нарушения, является дисплазия соединительной ткани (ДСТ). Выделяют дифференцированную (наследственную, моногенную, олигогенную) ДСТ, к которой относятся в первую очередь несовершенный остеогенез (НО, Q78.0) и синдром Элерса-Данло (СЭД, Q79.6). Эти заболевания появляются при возникновении мутации в структуре определённого гена и передаются в соответствии с типом наследования [14]. Следует отметить, что в предыдущих версиях МКБ они также находились в разделе костно-мышечных заболеваний. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани (нДСТ, M35.8) – это генетически детерминированные состояния, характеризующиеся дефектами волокнистых структур и основного вещества соединительной ткани, приводящие к нарушению формообразования органов и систем, имеющие проградентное течение, определяющие особенности ассоциированной патологии [321]. Данный подтип является многофакторной патологией – имеет генетическую предрасположенность, но зависит также от факторов среды [66]. За счет изменений структуры волокон и межклеточного вещества нДСТ оказывает влияние на развитие ряда соматических заболеваний, в первую очередь – остеопороза (ОП, M80-M81) и остеоартрита (ОА, M15-M19). Названные патологии являются наиболее частыми заболеваниями опорно-двигательного аппарата, по данным ВОЗ, примерно 1,71 миллиарда человек в мире страдают от

болезней костно-мышечной системы, также они являются ведущим фактором инвалидизации [310]. Хотя распространенность нарушений и болезней костно-мышечной системы увеличивается с возрастом, ими страдают все более молодые люди, что делает изучение данной группы заболеваний актуальным и социально значимым.

### **Степень разработанности темы**

Несмотря на значительные объемы исследований и ряд достигнутых успехов, остаются нерешенные вопросы в различных аспектах изучения патологии соединительной ткани. Так, не до конца оптимизированы эпидемиологические данные. В частности, остеоартрит – наиболее распространенное заболевание суставов, в мире насчитывается около 303,1 млн распространенных случаев ОА тазобедренного и коленного суставов, он занимает 11-е место в мире по количеству людей с инвалидностью [342]. Однако данные сильно варьируют как в разных странах, так и в пределах России, что может быть связано с неоптимальной системой учета заболеваемости [360; 376; 601]. Остеопороз является причиной более 8,9 млн. переломов ежегодно во всем мире и занимает значимое место среди заболеваний с высокой инвалидизацией и смертностью [47]. Предполагается, что отсутствие ранней диагностики у большинства больных ОП может быть связано с 84% случаев переломов [557]. В России ОП страдают 14 млн человек, что составляет 10% населения [7; 17]. Распространенность наследственных форм, к которым относятся НО и СЭД, считается равной 1:10000, однако эти цифры зачастую не подтверждены данными молекулярного анализа, и поэтому могут включать в себя как гипердиагностику из-за схожих фенотипических проявлений с другими заболеваниями, так недостаточную диагностику стертых (неучтенных) форм заболеваний [164; 633]. Оптимизация систем учета на основании валидированных клинических, лабораторных и молекулярно-генетических критериев позволит разработать более эффективные алгоритмы оказания медицинской помощи данным категориям пациентов.

Классификация структурных заболеваний соединительной ткани также окончательно не разработана и в последние годы прошла ряд изменений. Остеоартрит ранее обозначался, как остеоартроз, и только с определением роли воспаления в патогенезе заболевания, сменил название [270]. В качестве диагностических критериев остеопороза изначально применяли только измерение минеральной плотности костной ткани, но идентификация молекулярных маркеров позволили выявить фенотип с переломами и сохраненным уровнем МПКТ, что нашло свое отражение в классификации [305]. Изменение классификационных критериев несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло, произошедшие совсем недавно, напрямую связаны с достижениями ДНК-диагностики и определением молекулярного патогенеза данных заболеваний [28; 373; 580; 648].

Важной практической медицинской проблемой является выявление заболеваний соединительной ткани зачастую на поздних стадиях при появлении выраженных клинических проявлений или осложнений – болевого синдрома или перелома, что значительно снижает эффективность лечения [111; 231; 565]. Возможным вариантом решения этой проблемы может стать разработка клинко-генетических прогностических моделей, с оценкой индивидуального риска, ранней диагностикой и профилактикой [257; 282].

Фундаментальный научный интерес представляет коморбидность различных вариантов патологии соединительной ткани и наличие общих звеньев патогенеза. Взаимосвязь остеопороза и остеоартрита исследуется в течение длительного времени [382; 463], но до сих пор является предметом дискуссий, так как клинические данные противоречивы. Наследственные синдромы также зачастую сочетают черты нескольких фенотипов, что требует проведения молекулярной диагностики. В доступной литературе имеется несколько случаев сочетания синдрома Элерса-Данлоса и несовершенного остеогенеза у пациентов с различным уровнем проявлений клинических симптомов обоих заболеваний [177; 179; 199; 331; 403; 488; 510]. Актуальным является также поиск общих звеньев



патогенеза и молекулярных маркеров моногенных и многофакторных заболеваний [102; 463].

Несмотря на наличие большого количества протоколов и рекомендаций по терапии ОА и ОП, эффективность лечения не всегда достигается полностью и требуются дальнейшие исследования для выявления звеньев патогенеза, которые могли бы послужить потенциальными мишенями для разработки таргетной терапии, перспективным является проведение фармакогенетических исследований в области прогнозирования чувствительности к антирезорбтивной терапии [412; 413].

Возможным ключом для решения обозначенных проблем могут быть исследования молекулярного патогенеза моногенных и многофакторных заболеваний соединительной ткани, как в отношении изменений последовательности ДНК, так и эпигенетических механизмов регуляции [127]. Анализ микроРНК (miRNA), позволил идентифицировать aberrантно экспрессируемые факторы в жидкостях организма пациентов с ОА, которые могут представлять новые биомаркеры заболевания [149]. Описан повышенный уровень miRNA-497 в сыворотке у женщин с остеоартритом по сравнению с женщинами с остеопоротическим переломом бедра [547]. В другом исследовании были выявлены более высокие уровни miRNA-497 в сыворотке крови женщин с ОА, чем у женщины с ОП и контрольной группой. Экспрессия miRNA-365 и miRNA-155 снижены, в то время как miRNA-423 повышены у пациентов с остеоартритом и остеопорозом по сравнению с контрольной группой [548]. miRNA-122-5p, miRNA-93-5p, miRNA-21 и miRNA-140 как общий биомаркер могут быть использованы для определения предрасположенности к остеоартриту коленного сустава и остеопорозу у одних и тех же людей [535]. При этом объектом исследования могут быть не только уровни экспрессии микроРНК, а факторы, которые на влияют на ее взаимодействие с целевыми генами. Комплементарное взаимодействие микроРНК с их сайтами связывания в 3'-нетранслируемых областях (3'UTR) мРНК целевых генов подавляет трансляцию, играя ведущую роль в контроле экспрессии генов. Элементы узнавания микроРНК в данных

областях генов часто содержат однонуклеотидные полиморфные варианты (SNP), которые могут изменять сродство связывания с целевыми микроРНК, что приводит к дисрегуляции экспрессии генов путем упразднения, ослабления или создания микроРНК-связывающих сайтов [499; 558]. Несколько сайтов связывания одной и той же микроРНК в 3'UTR могут значительно усилить степень эпигенетической регуляции [223; 650]. Исследования молекулярного патогенеза наследственных форм патологии связаны с развитием технологии секвенирования нового поколения [385; 555]. Задача исследователей – разработать наиболее оптимальные протоколы секвенирования и алгоритмы ДНК-диагностики для конкретных заболеваний с учетом характера наследуемости, популяционных особенностей, предсказательной ценности и экономической эффективности [348], [455], [357].

Таким образом, в исследовании моногенных и многофакторных заболеваниях соединительной ткани имеются нерешенные вопросы, касающиеся изучения эпидемиологии, патогенеза, в том числе молекулярного, создания инструментов ранней диагностики и персонализированного лечения. Для решения этих вопросов необходимо провести комплексные клинические и молекулярно-генетические исследования несовершенного остеогенеза, синдрома Элерса-Данло, остеопороза и остеоартрита с учетом региональных, гендерных, популяционных особенностей и с применением современных инструментов биоинформатической обработки. Это послужит базой для создания способов прогнозирования, алгоритмов маршрутизации, протоколов генотипирования, и в итоге – созданию новых и совершенствованию имеющихся клинических рекомендаций. Кроме того, в настоящее время увеличивается продолжительность жизни пациентов с наследственными вариантами заболеваний, увеличивается число взрослых пациентов, что требует разработки принципиально новых алгоритмов ведения именно этих категорий пациентов.

### **Цель исследования**

Целью исследования является комплексное исследование клинико-эпидемиологических и молекулярно-генетических аспектов несовершенного

остеогенеза, синдрома Элерса-Данло, остеоартрита и остеопороза для оптимизации их диагностики и лечения.

### **Задачи исследования**

1. Анализ эпидемиологических характеристик остеоартрита, остеопороза, несовершенного остеогенеза, синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан.
2. Оценка клинических и лабораторно-инструментальных характеристик поражения костной и хрящевой ткани, а также выраженности фенотипических проявлений дисплазии соединительной ткани у пациентов с остеоартритом, остеопорозом, несовершенным остеогенезом, синдромом Элерса-Данло.
3. Поиск молекулярно-генетических маркеров остеоартрита и остеопороза в целом и их отдельных фенотипов на основе изучения 60 полиморфных вариантов генов, вовлеченных в метаболизм соединительной ткани.
4. Исследование молекулярной архитектуры несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло у пациентов из Республики Башкортостан с использованием различных технологий генотипирования.
5. Поиск молекулярных маркеров остеоартрита, остеопороза, несовершенного остеогенеза, синдрома Элерса-Данло с учетом популяционных особенностей Республики Башкортостан
6. Создание алгоритмов диагностики моногенных и многофакторных заболеваний соединительной ткани с разработкой прогностических моделей, протоколов клинической диагностики и генотипирования.
7. Разработка персонализированных подходов к терапии моногенных и многофакторных заболеваний соединительной ткани.

### **Научная новизна**

Впервые представлена концепция структурных заболеваний соединительной ткани на основании многолетних клинических и молекулярно-генетических исследований. Сформирован Биобанк данных и биологических материалов уникальных когорт пациентов с наследственными и многофакторными вариантами патологий соединительной ткани – остеоартритом,

остеопорозом, несовершенным остеогенезом, синдромом Элерса-Данло, не имеющий аналогов в России и отвечающий требованиям мировых стандартов биобанкирования. На сформированных когортах пациентов проведены исследования, которые ранее не были осуществлены не только в России, но и в мировой практике. Была исследована клиническая коморбидность остеоартрита и остеопороза у женщин и мужчин, выявлены особенности минеральной плотности костной ткани при ОА различной локализации. Впервые в России осуществлен поиск молекулярно-генетических предикторов ОА и ОП в популяции женщин и мужчин из Республики Башкортостан, исследованы гены-кандидаты и сайты связывания микроРНК, а также проведен репликативный анализ результатов GWAS-исследований, выявлены маркеры риска и этноспецифические варианты. Помимо новых и оригинальных подходов к получению экспериментальных данных, впервые были внедрены новые методы биоинформатической обработки. Впервые в мире для создания моделей риска развития ОП был применен метод полигенной оценки риска (PRS), разработаны предсказательные модели с высокой прогностической ценностью. Когорты пациентов с НО и СЭД являются одними из крупнейших в России и сопоставимы по объему с ведущими мировыми центрами по изучению данных заболеваний. Впервые у пациентов с наследственными вариантами были применена рентгеновская денситометрия в режиме «Total body» и сцинтиграфия костей, которые позволили получить новые уникальные данные об оценке активности заболевания и состояния костной ткани вне стандартных локализаций. Проведенное многоэтапное молекулярно-генетическое исследование выявило патогенные варианты, в том числе ранее неописанные и ультра-редкие, часть которых может быть уникальной только для Республики Башкортостан и пациентов башкирской этнической группы. Таким образом, данное научное исследование посвящено решению важнейшей научной проблемы – комплексному изучению структурных заболеваний соединительной ткани. Полученные результаты вносят неоценимый вклад в понимание патогенеза, в том числе молекулярно-генетического, что является основой для разработки

перспективных методик профилактики, диагностики и лечения данной группы заболеваний.

### **Практическая значимость**

Оценка распространенности остеоартрита, остеопороза, несовершенного остеогенеза, синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан позволила сформировать регистры пациентов с наследственной патологией, каждый пациент взят на телемедицинский контроль, с возможностью планирования стационарного лечения, проведена ДНК-диагностика с уточнением диагноза и тактики лечения. Разработаны алгоритмы клинической диагностики НО и СЭД, которые снижают вероятность гипер- и гиподиагностики. Созданы диагностические NGS-панели с наиболее специфичными для когорты пациентов из Республики Башкортостан изменениями, обеспечивающие более доступную ДНК-диагностику. Разработаны прогностические модели риска развития остеоартрита и остеопороза, позволяющие проводить раннюю предикцию развития данных заболеваний и проведения профилактики, коррекции факторов риска. Разработанные алгоритмы терапии взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом позволяют улучшить качество жизни и снизить уровень болевого синдрома. Алгоритмы молекулярной диагностики и лечения включены в проект Федеральных клинических рекомендаций МЗ РФ и апробированы на базе Клиники БГМУ и ГБУЗ РБ Республиканский медико-генетический центр.

### **Методология и методы исследования**

В основе методологии исследования лежит комплексное изучение структурных заболеваний соединительной ткани. В ходе выполнения работы использованы теоретический анализ, наблюдение и сравнение с последующей статистической обработкой полученных данных. Дизайн исследования собой одномоментное поперечное исследование с фрагментом проспективного исследования. Диссертационное исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол №5 от 17.05.2023) и соответствует требованиям, регламентированным Хельсинкской декларацией

Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы научных медицинских исследований с участием людей».

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Как наследственные, так и многофакторные заболевания соединительной ткани в Республике Башкортостан имеют выраженную территориальную неоднородность, при этом частота встречаемости сопоставима с таковой в России.
2. У женщин с остеоартритом высокая частота встречаемости фенотипических признаков нДСТ. Повышенная МПКТ поясничного отдела позвоночника вместе с повышенным ИМТ характерны для женщин с остеоартритом коленных суставов. Маркером риска переломов в целом у мужчин является МПКТ шейки бедра и поясничного отдела позвоночника, у женщин – только МПКТ шейки бедра.
3. У пациентов с несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло отмечается более высокая частота встречаемости фенотипических признаков нДСТ, что свидетельствует о системном вовлечении соединительной ткани. Клиническая картина данных заболеваний характеризуется высокой вариабельностью. Типичным клиническим проявлением для пациентов с несовершенным остеогенезом является хронический болевой синдром.
4. Лocus rs7639618 (*DVWA*) ассоциирован с остеоартритом коленного и тазобедренного суставов, локусы rs3134069 и rs3102734 (*OPG*), rs6854081 (*FDF2*), rs11540149 (*VDR*) являются маркерами риска переломов, а locus rs7844539 (*OPG*) является маркером риска снижения МПКТ у женщин. У мужчин локусы rs1031820 (*COL11A1*) и locus rs10098470 (*TPD52*) влияют на риск переломов переломами, locus rs2073618 (*OPG*) – на снижение уровня МПКТ.
5. Все патогенные изменения нуклеотидной последовательности, выявленные у пациентов с несовершенным остеогенезом из Республики Башкортостан, локализованы в генах *COL1A1*, *COL1A2*, *P3H1*, *IFITM5* и *SGMS2*. На долю мутаций в гене коллагена I типа пришлось 70,2% выявленных мутаций. Выявлено 6 мутаций, характерных для других заболеваний. У пациентов с синдромом Элерса-Данло выявлены нуклеотидные изменения в генах *COL5A1* и *COL5A2*.

6. Лocus rs1061237 (*COL1A1*) может быть рассмотрен в качестве этноспецифического маркера риска развития остеоартрита у русских женщин, rs6854081 (*FGF2*) – у татарских женщин, rs229069 (*ADAMTS5*) и rs73611720 (*GDF5*) – у метисов и других этнических групп. Лocus rs198470 (*TPD52*) может быть рассмотрен в качестве этноспецифического маркера риска развития остеопороза у русских женщин. Выявлен уникальный аутосомно-рецессивный вариант несовершенного остеогенеза, обусловленный мутациями в гене *P3H1* у трех неродственных пациентов башкирского происхождения.

7. Разработаны клиничко-генетические модели риска развития остеоартрита и остеопороза, в том числе на основе метода полигенной оценки риска (PRS). Предложен маркер – полиморфный вариант rs2297480 гена *FDPS* для прогнозирования эффективности терапии витамином Д у женщин с постменопаузальным остеопорозом.

8. На основе клинических и генетических данных предложен алгоритм клинической диагностики с последующим молекулярно-генетическим подтверждением для пациентов с несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло, а также впервые разработан алгоритм лечения взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом препаратами из группы бисфосфонатов.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику Клиники БГМУ и ГБУЗ МЗ РБ Республиканский медико-генетический центр для совершенствования диагностики и лечения пациентов с наследственными заболеваниями соединительной ткани. Полученные результаты также используются в учебном процессе на кафедрах внутренних болезней, медицинской генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Степень статистической значимости и апробация результатов**

Тема диссертационного исследования утверждена на заседании Ученого совета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол №6 от 27.06.2023).

Комиссия по проверке первичной документации установила правильность оформления и регистрации проведенных исследований в установленном порядке. Фактические данные, протоколы исследований, использованные методы, статистические данные, позволяют заключить, что научные положения исследования и выводы являются достоверными. Апробация диссертационного исследования проводилась на заседании Научной проблемной комиссией ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России по специальности «внутренние болезни» с участием сотрудников кафедры медицинской генетики и фундаментальной медицины (протокол №50 от 20.09.2023)

Основные результаты диссертационного исследования были доложены на всероссийских и международных конференциях: European Society of Human Genetics (Copenhagen, 2017, Milan, 2018), Генетика человека и патология (Томск, 2017, 2022), Российский конгресс по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием (Казань, 2016, Ярославль 2020, Санкт-Петербург, 2022), Национальный конгресс терапевтов с международным участием (Москва, 2018-2022), Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы внутренней патологии. Дисплазия соединительной ткани» (Омск, 2017, 2021), World congress on osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (Krakow, 2018, Barcelona, 2022), European Congress of Rheumatology (Madrid 2019, Copenhagen, 2022), Евро-Азиатский форум внутренней медицины (Уфа, 2023).

#### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит идея, основная концепция исследования, разработка и научное обоснование дизайна работы на основе многолетних целенаправленных исследований. Весь материал, представленный в работе, проанализирован и статистически обработан автором самостоятельно. Автор самостоятельно сформулировал выводы и практические рекомендации для использования в образовательной деятельности и в медицинских организациях. Все пациенты с наследственными формами патологии соединительной ткани были осмотрены автором, с определением программы лечения и динамического наблюдения.



### **Обоснование соответствия диссертации паспорту научной специальности**

На основании диссертационного исследования разработаны и внедрены теоретические положения и практические рекомендации, вносящие существенный вклад в развитие внутренней медицины и генетики – результаты исследования открывают новые подходы в понимании патогенеза, возможностях ранней диагностики и персонализированной терапии заболеваний соединительной ткани. Диссертационное исследование соответствует шифру и паспорту специальности 3.1.18. Внутренние болезни: Изучение этиологии и патогенеза заболеваний внутренних органов: дыхания, сердечно-сосудистой системы, пищеварения, почек, соединительной ткани и суставов во всем многообразии их проявлений и сочетаний. Диссертационное исследование соответствует специальности 1.5.7. Генетика: Генетические механизмы наследственных аномалий. Мультифакторные заболевания. Разработка методов диагностики наследственных заболеваний и предрасположенности к ним. Генотерапия. Генетические маркеры физических, физиологических и психофизиологических признаков человека.

### **Публикации**

По теме диссертационного исследования опубликована 40 печатных работ, из них 26 научных статей (13 – в рекомендованных ВАК рецензируемых научных журналах, 13 – в журналах, индексируемых в Scopus и Web of Science, из них 6 относящихся к Q1-2), 14 материалов конференций (6 – в рекомендованных ВАК рецензируемых научных журналах, 8 – в журналах, индексируемых в Scopus и Web of Science, из них 8 относящихся к Q1-2).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Диссертация изложена на 377 страницах машинописного текста, содержит 63 таблицы и 32 рисунка. Список литературы включает 657 источников, из них 76 – отечественных и 581 – зарубежных авторов.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Морфофункциональные характеристики различных типов соединительной ткани

В обзоре литературы структурированы и обобщены как вопросы строения и метаболизма соединительной ткани в целом, так и при различных вариантах патологии, а также современное состояние проблемы изучения клинико-генетических аспектов исследуемой патологии. Акцент сделан на поиск универсальных элементов патогенеза, анализе коморбидности, в том числе – на молекулярном уровне, поскольку именно понимание данных механизмов способно привести к пересмотру как классификаций, так и подходов к диагностике и лечению моногенных и многофакторных вариантов патологии соединительной ткани.

#### 1.1.1 Основные типы соединительной ткани и особенности их строения

Соединительная ткань (СТ) наиболее широко представлена в организме человека. У данной ткани есть несколько определений: «Соединительная ткань – ткань животного организма, развивающаяся из мезенхимы, выполняющая опорно-механическую, трофическую, защитную и репаративную функции» [53], «Соединительная ткань – это комплекс клеток, волокон и основного вещества, которые объединяются общностью происхождения и выполняемых функций и представляют собой единое целое» [27], «Ткань, которая поддерживает, защищает и придает структуру другим тканям и органам в организме. а также накапливает жир, помогает перемещать питательные и другие вещества между тканями и органами, помогает восстанавливать поврежденные ткани» [397].

Морфологическая классификация основана на содержании волокон, межклеточного вещества и их соотношении [133]. Среди соединительной ткани по структуре выделяют:

- I. Волокнистая соединительная ткань (собственно соединительная ткань)
  1. Рыхлая волокнистая неоформленная СТ (стромы внутренних органов, сосочковый слой кожи, окружение сосудов)
  2. а) Плотная волокнистая неоформленная СТ (сетчатый слой дермы)

б) Плотная волокнистая оформленная СТ (сухожилия, связки, капсулы, фасции)

## II. Соединительная ткань со специальными свойствами

1. Жировая клетчатка (бурая и белая жировая ткань);
2. Ретикулярная (stroma кровеносных сосудов);
3. Слизистая ткань (только в эмбриональном периоде – часть пупочного канатика);
4. Пигментная ткань (радужка, хориоидея)

## III. Скелетные соединительные ткани

1. Хрящевая ткань
  - а) Волокнистый хрящ
  - б) Эластический хрящ
  - с) Гиалиновый хрящ
2. Костная ткань
  - а) Грубоволокнистая
  - б) Пластинчатая
    - губчатая
    - компактная

Источником развития различных типов соединительной ткани является мезенхима (от греч. *mesos* – средний, *enchima* – заполняющая масса). Это один из эмбриональных зачатков (по некоторым представлениям – эмбриональная ткань), представляющий собой разрыхленную часть среднего зародышевого листка. Клеточные элементы мезенхимы образуются в процессе дифференцировки дерматома, склеротома, висцерального и париетального листков спланхнотома. Главными компонентами соединительной ткани являются производные клеток – волокнистые структуры коллагенового и эластического типов, основное (аморфное) вещество, играющее роль интегративно-буферной метаболической среды, и клеточные элементы, создающие и поддерживающие количественное и качественное соотношение состава неклеточных компонентов. Органная специфичность клеточных элементов соединительной ткани выражается в

количестве, форме и соотношении различных видов клеток, их метаболизме и функциях, оптимально приспособленных к функции органа. В рыхлой волокнистой соединительной ткани преобладают клетки различных дифферонов и аморфное вещество над волокнами, а в плотной соединительной ткани – наоборот, основную ее массу составляют волокна [15]. Наиболее широко в организме представлена скелетная соединительная ткань, в связи с чем особенности ее строения и метаболизма требуют более подробного рассмотрения.

### **1.1.2 Морфофункциональные характеристики скелетной соединительной ткани**

Особыми формами соединительной ткани являются скелетные ткани – костная и хрящевая. Кость — это анатомическая структура, отвечающая за движение, защиту, поддержание минерального гомеостаза и структурную поддержку человеческого тела. Скелет взрослого человека состоит из 206 отдельных костей. Морфологически кость представлена клетками и межклеточным веществом. Выделяют три основных типа клеток – остеокласты, остеобласты и остециты.

Остеокласт – гигантская многоядерная клетка диаметром до 100 мкм, происходит из гемопоэтических клеток мононуклеарной линии и является клеткой костной ткани, ответственной за резорбцию кости [578]. Она обычно обнаруживается в контакте с кальцифицированной поверхностью кости и внутри лакун в результате собственной резорбтивной активности. Остеокласты имеют большое количество комплексов Гольджи, митохондрий и транспортных везикулы, наполненные лизосомальными ферментами. Лизосомальные ферменты, такие как тартратрезистентная кислая фосфатаза и катепсин К, активно синтезируются остеокластом и секретируются через клеточную стенку в костно-резорбтивный отдел [586]. Процесс прикрепления остеокласта к поверхности кости включает связывание интегринов, экспрессированных в остеокластах, со специфическими аминокислотными последовательностями в белках на поверхности костного матрикса. После адгезии к костному матриксу связывание интегринов активирует цитоскелетную реорганизацию внутри остеокласта.

Прикрепление обычно происходит с помощью динамических структур, называемых подосомами [576]. Благодаря своей непрерывной сборке и разборке они позволяют остеокласту перемещаться по поверхности кости, во время чего происходит резорбция кости. Остеокласты резорбируют кость путем окисления и протеолиза костного матрикса и кристаллов гидроксиапатита. Первым процессом при резорбции костного матрикса является мобилизация кристаллов гидроксиапатита путем прерывания их связи с коллагеном. Затем коллагеновые волокна разрушаются либо катепсинами, либо активированными коллагеназами. Функция остеокластов регулируется как местно действующими цитокинами, так и системными гормонами. Были обнаружены рецепторы остеокластов для кальцитонина, андрогенов, тиреотропного гормона, инсулина, паратиреоидного гормона, инсулиноподобного фактора роста (IGF-1), интерлейкина 1 (IL-1), колониестимулирующего фактора (CSF-1), тромбоцитарного фактора роста (PDGF) [205; 219; 326; 347; 356; 366; 473; 579; 593; 655]

Остеобласт отвечает за производство компонентов костного матрикса. Остеобласты не функционируют по отдельности, а находятся в скоплениях вдоль поверхности кости, выстраиваясь в слой костного матрикса, который они производят. Остеобласты происходят из мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, которые обладают способностью дифференцироваться в остеобласты, адипоциты, хондроциты, миобласты, или фибробласты [139]. Около 15% зрелых остеобластов дифференцируются в остециты, некоторые клетки остаются на поверхности кости, превращаясь в клетки надкостницы. При формировании кости происходит производство и созревание остеоидного матрикса, за которым следует его минерализация. В нормальной взрослой кости эти процессы происходят с одинаковой скоростью, так что баланс между производством матрикса и минерализацией равный. Первоначально остеобласты производят остеоид, быстро откладывая коллаген. Затем следует увеличение скорости минерализации до уровня, равного скорости синтеза коллагена. На заключительной стадии скорость синтеза коллагена снижается, а минерализация продолжается до тех пор, пока остеоид не станет полностью минерализованным.

Остеобласты вырабатывают ряд факторов роста под воздействием различных стимулов, включая инсулиноподобные факторы роста (IGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), трансформирующий фактор роста-бета (TGF- $\beta$ ) и костные морфогенетические белки (BMP) [153; 159; 311; 318; 539]. Активность остеобластов регулируется аутокринным и паракринным вариантами. Рецепторы для классических гормонов, таких как паратиреоидный гормон, гормоны щитовидной железы, гормон роста, инсулин, прогестерон и пролактин также находятся в остеобластах [201; 259; 319; 472; 532].

Остеоциты представляют собой терминально дифференцированные остеобласты, которые локализованы в костном матриксе позади наступающего фронта минерализации. Они внедряются в лакуны внутри костного матрикса и соединяются друг с другом и с поверхностными клетками своими межклеточными отростками в каналцах, содержащих жидкость. Остеоциты являются наиболее распространенными (85-90%) и очень долгоживущими клетками кости. Они реагируют на изменения физических сил, воздействующих на кость, и на повреждения, передавая сигналы поверхностным клеткам через каналцевые отростки. Наиболее важным белковым продуктом является склеростин (продукт гена *SOST*), являющийся мощным ингибитором образования кости за счет ингибирования передачи сигналов Wnt-каскада [244; 326].

Внеклеточный костный матрикс представляет собой композит, состоящий из органических и неорганических компонентов. Органический матрикс составляет около 20% массы кости и состоит в основном из коллагена I типа, который придает кости гибкость [137]. Неорганический матрикс составляет примерно 65–70% массы кости и служит резервуаром ионов. Ионы образуют кристаллические структуры преимущественно в форме гидроксиапатита кальция [431], которые окружают и пропитывают коллагеновые волокна, придавая кости большую часть ее жесткости. Изменения в структуре коллагена и/или его минерализации, возникающие в результате старения или генетических патологий, таких как несовершенный остеогенез, могут нарушить целостность костной

ткани, что приведет к ее ослаблению и большей, чем обычно, склонности к переломам [646]. Помимо коллагеновых волокон, костный матрикс содержит большое количество неколлагеновых белков, которые включают белки адгезии (витронектин, фибронектин), остеопонтин, остекальцин и протеогликаны (например, версикан, декорин и гиалуронан) [333]. Эти белки не только участвуют в минерализации костной ткани, но и являются важной средой для взаимодействия между клетками и играют важную роль в гомеостазе клеточного микроокружения.

Строение хрящевой ткани несколько отличается от кости, в первую очередь – по клеточному составу. Взрослый суставной хрящ представляет собой бессосудистую ткань, в которой хондроциты, уникальный клеточный компонент, в норме не делятся, а поддерживают замену внеклеточного матрикса. Хондроцит является единственным клеточным компонентом суставного хряща и отвечает как за синтез, так и за расщепление хрящевого матрикса [314]. Во время развития скелета хондроциты возникают из мезенхимальных предшественников, чтобы синтезировать матрицы или хрящевые зачатки для развивающейся кости [363]. Хондрогенез происходит в результате конденсации мезенхимальных клеток, экспрессирующих коллагены I, III и V, и дифференцировки хондрогениторных клеток с экспрессией специфичных для хряща коллагенов II, IX и XI. Во время развития конечности покоящиеся хондроциты образуют хрящ на концах противоположных костей с промежуточными интерзонами, претерпевают пролиферацию, затем переходят к конечной дифференцировке до гипертрофии и апоптоза, чтобы обеспечить эндохондральную оссификацию, в результате чего кальцифицированные гипертрофические хрящи резорбируются и заменяются костью. Помимо гуморальных факторов, замедление и стабилизация сегмента роста хряща связаны с увеличением локального гидростатического напряжения и достижением итогового равновесия данного параметра. Распределение толщины суставного хряща в конкретном суставе, таким образом, связано с локальным уровнем давления на суставные поверхности [154; 386; 538].

Межклеточный матрикс хряща состоит из фибриллярной коллагеновой сети, которая придает прочность на растяжение, и территориального матрикса, расположенного ближе к клетке, который содержит микрофибриллы коллагена VI типа. Сопротивление сжатию обеспечивает крупный агрегирующий протеогликан – агрекан, который присоединяется к полимерам гиалуроновой кислоты с помощью белка-связки. Период полураспада агрекана составляет от 3 до 24 лет. Протеогликаны необходимы для защиты коллагеновой сети, период полураспада которой составляет более 100 лет, если она не подвергается неадекватной деградации. В матриксе также присутствует большое количество других неколлагеновых молекул, включая бигликан, декорин, фибромодулин, матрилины и олигомерный матриксный белок хряща (COMP). COMP действует как катализатор фибриллогенеза коллагена [174], а взаимодействие между коллагеном типа IX и COMP или матрилином-3 необходимо для правильного формирования и поддержания матрикса суставного хряща [198; 313; 522].

### **1.1.3 Особенности метаболизма скелетной соединительной ткани – кости и хряща**

Кость подвергается ремоделированию на протяжении всей жизни в результате действия остеобластов и остеокластов. В гомеостатическом равновесии резорбция и образование сбалансированы таким образом, что старая кость постоянно заменяется новой тканью, что позволяет адаптироваться к механическим нагрузкам и деформациям. В 1990 году Фрост определил это явление как ремоделирование кости [284]. Ежегодно ремоделируется от 2% до 5% кортикальной кости. Трабекулярная кость ремоделируется более активно, чем кортикальная кость, из-за того, что в ней гораздо больше отношение поверхности к объему. Цикл ремоделирования состоит из трех последовательных фаз: резорбции, реверсии и формирования. Стадии цикла ремоделирования имеют разную продолжительность. Резорбция, вероятно, продолжается около 2 недель, фаза реверсии может длиться до 4 или 5 недель, а формирование может продолжаться в течение 4 месяцев, пока новая структурная единица кости не будет полностью создана. Предположение о том, что между формированием и



резорбцией кости должен существовать механизм связи, впервые было высказано в 1964 году [338]. Однако, точный молекулярный механизм, описывающий взаимодействие между клетками остеобластной и остеокластических линий был идентифицирован лишь недавно [437]. Цикл ремоделирования кости начинается с активации, опосредованной клетками линии остеобластов. Активация может включать остециты, выстилающие клетки и преостеобласты в костном мозге, однако клетки, ответственные за это, до конца не определены. Эти клетки претерпевают изменения в своей форме, выделяют ферменты, которые переваривают белки на поверхности кости, и экспрессируют пептид из 317 аминокислот, член суперсемейства фактора некроза опухоли (TNF), называемый лигандом рецепторного активатора NF-каппа В (RANKL). RANKL взаимодействует с рецептором на предшественников остеокластов под названием RANK. Взаимодействие RANKL/RANK приводит к активации, дифференцировке и слиянию гемопоэтических клеток остеокластов чтобы они начали процесс резорбции. Кроме того, он также продлевает выживание остеокластов, подавляя апоптоз [624]. Это взаимодействие указывает на то, что резорбция и формирование костной ткани связаны между собой, в частности, через RANKL. Эффекты RANKL блокируются остеопротегерином (OPG), принадлежащим к семейству рецепторов фактора некроза опухоли (TNF). OPG действует в качестве рецептора-приманки (растворимый рецептор, действующий как антагонист) для RANKL и в основном вырабатывается клетками остеобластов, но он также может вырабатываться и другими клетками костного мозга [339; 482]. OPG регулирует резорбцию кости, подавляя окончательную дифференцировку и активацию остеокластов и вызывая их апоптоз. OPG не встраивается в костный матрикс, поэтому его воздействие на резорбцию кости является полностью обратимым. Противоположные фенотипы мышей со сверхэкспрессией OPG или с делецией RANKL (остеопетроз) и мышей с дефицитом OPG или со сверхэкспрессией RANKL (остеопороз) привели к гипотезе, что OPG и RANKL могут быть медиаторами стимулирующего или ингибирующего влияния различных системных гормонов, факторов роста и цитокинов на остеокластогенез. Это

сформировало гипотезу конвергенции, согласно которой активность резорбтивных и антирезорбтивных агентов "сходится" на уровне этих двух медиаторов, конечное соотношение которых контролирует степень дифференцировки, активации и апоптоза остеокластов [610]. Ряд цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкин 10 (IL-10) модулируют эту систему путем непосредственного увеличения экспрессии RANKL [369]. Кроме того, ряд других цитокинов и гормонов оказывают свое влияние на остеокластогенез путем регулирования выработки клетками OPG и RANKL. Интерлейкин 6 (IL-6), плеiotропный цитокин, секретируемый остеобластами, остеокластами и стромальными клетками, представляется важным регулятором костного ремоделирования, стимулируя остеокластическую резорбцию кости [216], а также стимулируя образование остеобластов в условиях высокого оборота костной ткани [312]. Помимо этого, существуют гуморальные (системные) механизмы ремоделирования костной ткани. Паратиреоидный гормон (ПТГ) является наиболее важным регулятором гомеостаза кальция. Он поддерживает концентрацию кальция в сыворотке крови, стимулируя резорбцию костной ткани, увеличивая почечную канальцевую реабсорбцию кальция и выработку почечного кальцитриола. ПТГ стимулирует образование костной ткани при периодическом введении и резорбцию костей, когда он выделяется постоянно [618]. Кальцитриол (витамин D3) необходим для усиления кишечного всасывания кальция и фосфора и таким образом он способствует минерализации костей. Кроме того, витамин D3 обладает важным анаболическим действием на костную ткань [640]. Кальцитонин в фармакологических дозах модулирует прекращение подвижности остеокластов и ингибирование секреции протеолитических ферментов через его рецептор на остеокластах. Этот эффект, однако, ограничен дозой, и его физиологическая роль в скелете взрослого человека минимальна. Система гормона роста (IFR-1 и IGF-2) важна для скелетного роста, особенно в концевых хрящевых пластинках и во время формирования эндохондриальной кости. Они являются одними из основных определяющих факторов костной массы взрослого человека [260]. Глюкокортикоиды оказывают как

стимулирующее, так и ингибирующее действие на клетки костной ткани. Они необходимы для созревания остеобластов, способствуя их дифференцировке из мезенхимальных предшественников, но они также снижают и их активность. Кроме того, глюкокортикоиды сенсibiliзируют костные клетки к регуляторам костного ремоделирования и усиливают рекрутирование остеокластов [364]. Эстрогены снижают чувствительность клеток-предшественников остеокластов к RANKL, тем самым предотвращая образование остеокластов [253]. Кроме того, помимо сокращения продолжительности жизни остеокластов, эстрогены стимулируют пролиферацию остеобластов и снижают их апоптоз [254]. Они влияют на гены, кодирующие ферменты, белки костного матрикса, гормональные рецепторы, факторы транскрипции, а также повышают местное производство OPG, IGF I, IGF II и TGF- $\beta$  [410]. Андрогены необходимы для роста и поддержания скелета посредством воздействия на андрогеновый рецептор, который присутствует во всех типах костных клеток [326; 543]

Метаболизм хрящевой ткани протекает с участием только одного типа клеток – хондроцитов, которые синтезируют различные регуляторные вещества. После формирования зрелой хрящевой ткани, основным механизмом ее ремоделирования является деятельность ферментов, разрушающих межклеточный матрикс. При заболеваниях суставов происходит сдвиг данного равновесия сторону разрушения, как ответ на избыточную механическую нагрузку в сочетании с генетическими аномалиями или травмой хряща и окружающих сустав тканей или за счет повышенного синтеза медиаторов воспаления. Исследования *in vivo* и *in vitro* показали, что хондроциты вырабатывают ряд медиаторов воспаления, таких как интерлейкин-1-бета (IL-1 $\beta$ ) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ). Хондроциты отвечают на эти провоспалительные цитокины увеличением выработки протеиназ, простагландинов и оксида азота (NO) [197; 396]. Из протеиназ, разрушающих коллагены и протеогликаны хряща при заболеваниях суставов, наибольшее внимание уделяется матриксным металлопротеиназам (ММР) и аггреканазам, поскольку они разрушают нативные коллагены и протеогликаны [156; 527; 542]. К ним относятся коллагеназы (ММР-

1, MMP-8 и MMP-13), желатиназы (MMP-2 и MMP-9), стромелизин-1 (MMP-3) и мембранная протеиназа типа I (MMP-14) [443]. Хотя несколько матриксных протеиназ, включая MMP-3, MMP-8 и MMP-14, способны разрушать протеогликаны, ADAMTS-4 и ADAMTS-5 в настоящее время считаются основными ферментами, разрушающими агреган в хряще [98; 112].

#### **1.1.4. Дисплазия соединительной ткани как предрасполагающий фактор соматических заболеваний**

Дисплазия соединительной ткани (ДСТ) – наследственно-обусловленное нарушение строения и функции соединительной ткани в различных периодах онтогенеза, характеризующееся дефектами фибриллярных структур и основного межклеточного вещества, приводящее к расстройству метаболизма на тканевом, органном и организменном уровнях в виде различных морфофункциональных нарушений внутренних органов с прогрессирующим течением [68]. Каталог наследственных заболеваний человека МакКьюсика [465] объединяет несколько десятков тысяч нозологических форм наследственной патологии, из них более 400 связаны с патологией соединительной ткани. В первую очередь к ним относят нарушения биосинтеза и деградации коллагена [88]. Группа наследственных заболеваний соединительной ткани и скелета была впервые выделена американским генетиком МакКьюсиком в 1655 году. К тому времени она объединяла лишь некоторые нозологические формы: несовершенный остеогенез, синдром Марфана, синдром Элерса-Данло, эластическую псевдоксантому и гаргоилизм [551]. Следующее описание ДСТ датируется 1682 годом исследователем J. VanMeekeren. Дальнейшее изучение [75] позволило установить наследственный характер ряда синдромов, в основе которых лежат генные дефекты синтеза коллагена и определенный тип наследования. Прогресс в этих исследованиях во многом был связан с расширяющимися возможностями генетической диагностики, выявлением новых генов, вовлеченных в формирование наследственных заболеваний соединительной ткани, что уточняло представления о патогенезе и зачастую служило причиной для пересмотра или редактирования классификаций и диагностических критериев.

Однако далеко не все пациенты имеют набор фенотипических проявлений, которые соответствуют диагностическим критериям наследственных форм заболеваний соединительной ткани. В связи с этим, в начале 90х годов прошлого века были начаты исследования несиндромной, или, как она была названа впоследствии – недифференцированной дисплазии соединительной ткани [61]. Одними из первых данной проблемой заинтересовались кардиологи, исследовавшие пациентов с пролапсом митрального клапана. Они выявили более часто встречающиеся маркеры дисплазии соединительной ткани у этой категории пациентов [29]. В течение некоторого времени исследования недифференцированной ДСТ носили неупорядоченный характер, поскольку не было разработано единых подходов, диагностических критериев и методик. Тем не менее, выявились лидеры мнений в исследовании данного вопроса, а именно Т.И. Кадурина, автор одной из самых значимых монографий по вопросу дисплазии соединительной ткани [63] и Г.И. Нечаева, основавшая Омскую школу исследования ДСТ, во многом благодаря усилиям которой были созданы, а впоследствии и пересмотрены Национальные рекомендации по диагностике и лечению дисплазии соединительной ткани [321; 630].

По сравнению с наследственными формами, недифференцированная ДСТ встречается значительно чаще, по данным разных авторов – от 10 до 30 % популяции, в зависимости от возраста, географических и этнических особенностей [10; 13; 67]. Именно поэтому одним из направлений исследования недифференцированной дисплазии соединительной ткани было изучение ее влияния на формирование и особенности клинической картины различной соматической патологии. В литературе имеется большое количество данных о связи ДСТ с различными заболеваниями. ДСТ, как правило, усугубляет ее течение. Наиболее подробно описаны ассоциации ДСТ со следующими нозологиями: варикозная болезнь вен нижних конечностей [35], менструальная дисфункция [49], патология беременности [65], патология височно-верхнечелюстного сустава [69], дистопия и нарушение функции почек [11], сахарный диабет [55], атрофический гастрит [43], грыжевая болезнь [70],

мальформации сосудов сердца и головного мозга [44; 74], нарушение реологии крови [41], снижение физической работоспособности [16]. Есть данные, что при ДСТ и одном из ее фенотипических проявлений – гипермобильности суставов развивается патология суставов – остеоартрит в более раннем возрасте [9]. Влияние ДСТ на костную ткань на данный момент имеет дискуссионный характер. И.Н. Захарова выявила дефицит остеотропных микронутриентов, таких как витамины (D, A, C, E, K), макроэлементы (кальций, фосфор, магний), микроэлементы (медь, марганец, цинк, бор, селен, кремний) в исследовании 130 подростков с признаками нДСТ [23]. Результаты исследования костной ткани в случаях с дисплазией соединительной ткани показали развитие последовательных дистрофических, деструктивных и атрофических изменений с расширением гаверсовых каналов, развитием в них грануляционной ткани и появлением воспалительной инфильтрации, а также изменений в виде хондроматозного перерождения и неравномерного кальциноза. Со стороны гаверсовых каналов увеличивалось разрастание волокнистой соединительной ткани в виде фиброзной дисплазии кости [51]. При исследовании 15 пациентов с дифференцированной (синдром Марфана) и 54 пациентов с недифференцированной формой ДСТ, представленной двумя вариантами (костно-висцеральным и костно-мышечным), соединительнотканной дисплазией костной ткани в возрасте 20-37 лет наиболее выраженные изменения плотности костной ткани характерны для лиц с синдромом Марфана, менее выраженные – при недифференцированных формах дисплазии соединительной ткани [36]. В другом исследовании показатели минеральной плотности костной ткани были изучены у 122 пациентов (64 мужчин и 58 женщин) с синдромом гипермобильности суставов (СГМС) в возрасте от 18 до 34 лет (средний возраст  $23,07 \pm 2,4$  года). У всех больных выявлены внешние диспластические признаки, среднее количество которых составило  $6,4 \pm 0,2$ . Среди молодых мужчин с СГМС абнормальные значения Z-критерия выявлены у 48,4%, тогда как в группе женщин с СГМС аналогичного возраста низкая МПКТ обнаружена у 77,6% обследованных. При детализации степени снижения минеральной костной

плотности по отношению к пиковой костной массе у 23,7% пациентов с СГМС Z-критерий оказался менее  $-2,0$  SD, т.е. соответствовал диагностическому понятию «костной массы ниже возрастной нормы» [59]. Представленные данные имеют фрагментарный характер и нуждаются в дальнейших исследованиях.

## **1.2 Моногенные и многофакторные заболевания соединительной ткани**

### **1.2.1 Основные характеристики остеоартрита**

Остеоартрит (ранее – остеоартроз, ОА) – одно из наиболее распространенных заболеваний опорно-двигательного аппарата. Согласно современным представлениям, ОА – это заболевание суставов, характеризующееся клеточным стрессом и деградацией экстрацеллюлярного матрикса, возникающими при макро- или микроповреждениях, которые активируют ненормальные адаптивные восстановительные ответы, включая провоспалительные пути иммунной системы [[2]]. Другое определение, опубликованное Международным обществом по изучению остеоартрита (OARSI), описывает ОА как заболевание, проявляющееся сначала как молекулярное нарушение в виде аномального метаболизма тканей сустава, за которым следуют анатомические и/или физиологические нарушения, характеризующиеся деградацией хряща, ремоделированием кости, образованием остеофитов, воспалением сустава и потерей нормальной функции сустава [152]. Остеоартрит, долгое время характеризуемый как первично-дегенеративное заболевание, в настоящее время вновь является предметом активного научного исследования, при этом этиология и патофизиология данного состояния окончательно не установлена. Повреждение суставов при ОА может происходить как из-за повторяющихся и чрезмерных механических нагрузок на сустав, так и кумулятивного воздействия вялотекущего воспаления с течением времени [605]. Потеря структуры и функции суставного хряща с сужением суставной щели является одним из основных признаков ОА, наряду с изменением субхондральной кости, формированием костных разрастаний – остеофитов и формированием синовита [393; 502].

### 1.2.1.1 Этиология и патогенез остеоартрита

Этиология ОА окончательно не установлена, однако известно несколько достоверных факторов, способствующих развитию заболевания. Одним из них является избыточная масса тела, особенно для ОА коленных суставов [469]. Растущее понимание того, что жировая ткань играет роль в стимуляции системного воспаления, способствуя прогрессированию заболевания и появлению боли, помимо повышенной нагрузки на суставы, было подкреплено данными, связанными с исследованием ожирения у пациентов с ОА кистей, которое показало положительную корреляцию индекса массы тела (ИМТ) с развитием заболевания, а частота формирования ОА кистей у лиц с ожирением была почти в 2 раза выше [116; 119]. Другим фактором риска принято считать спортивные и профессиональные нагрузки. В основном в более старой литературе отражено, что риск ОА кистей рук повышается у лиц определенных профессий, связанных с повторяющимися нагрузками на суставы кисти. Исследование, проведенное в 1961 году, продемонстрировало повышенный риск развития ОА кистей рук у английских сборщиков хлопка [390]. Иллюстрацией зависимости между нагрузкой и ОА кисти является работа Nakamura et al., который выявил зависимость частоты возникновения узлов Гебердена и рентгенографического ОА кисти у школьных поваров в зависимости от уровня нагрузки [582]. Была также показана обратная зависимость: отсутствие механической нагрузки уменьшает риск развития ОА кисти, что основано на исследовании 75 гериатрических пациентов с гемипарезом, при этом ОА кисти на парализованной руке встречался редко [124; 328; 508]. В 5-летнем проспективном исследовании, проведенном на базе НИИР им. В.А. Насоновой, посвященном факторам риска прогрессирования ОА коленных суставов, продемонстрировано, что избыточная масса тела, интенсивная боль, наличие синовита и отека костного мозга в субхондральных отделах большеберцовой кости по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) являются основными предикторами прогрессирования ОА коленных суставов [32]. В более поздней многоцентровой проспективной 5-летней работе



включавшей 344 пациента с ОА коленных суставов, были подтверждены ранее выделенные факторы риска и их вклад в прогрессирование заболевания [2; 283]

### **1.2.1.2 Эпидемиологические характеристики остеоартрита**

Частота встречаемости ОА в популяции высока, заболеванию более подвержены пациенты старшей возрастной группы. На данный момент в мире насчитывается около 303,1 млн. случаев ОА тазобедренного и коленного суставов, а стандартизированная по возрасту оценка распространенности составляет 3754,2 на 100000 человек. Это на 9,3% больше по сравнению с данными 1990 года [309]. При этом результаты различных исследований могут отличаться весьма значительно, что, во-первых, связано с влиянием этнической принадлежности и уровнем жизни и медицины, а с другой – отсутствием единого подхода к постановке диагноза ОА. В большинстве исследований используются либо рентгенологические критерии ОА, обычно определяемые по рентгенологической шкале Kellgren & Lawrence  $\geq 2$ , [530], либо симптоматический ОА – рентгенографически подтвержденный ОА, сопровождающийся типичными симптомами, либо с использованием подхода с анкетированием пациентов (Grotle et al. 2008). Примечательно, что исследования на основании наличия симптомов дали более однородные и сопоставимые результаты [589]. Были также отмечены расовые и этнические различия в распространенности ОА различных локализаций. В рамках проекта по исследованию распространенности ОА округа Джонстон (США) у афроамериканских мужчин отмечалась более высокая распространенность рентгенографического ОА тазобедренного сустава, чем у мужчин европеоидной расы (32,2% против 23,8%), в то время как между афроамериканскими и европеоидными женщинами различий не было (40,3% против 39,4%) [506]. В Пекинском исследовании ОА кисти и тазобедренного сустава был менее распространен среди китайцев, чем среди европеоидов (47% против 85% и 0,8% против 4,5%, соответственно), но ОА коленного сустава был более распространен среди китайских женщин, чем среди женщин европейского происхождения (46,6% против 34,8%) [175; 401; 638]. Несколько крупных исследований показали,

что у женщин риск развития ОА коленного сустава выше, чем у мужчин [84; 507], но это не всегда характерно для ОА тазобедренных суставов и кисти [272]. В России эпидемиологический анализ показал существенное несовпадение трендов первичной заболеваемости в различных регионах. Так, с 2004 по 2008 г. в РФ после периода повышения первичной заболеваемости регистрировался ее статистически значимый спад на 6,2% в год, сменившийся резким подъемом с 48,9 до 66,3 на 100 тыс. населения в 2012 г. С этого перелома тренда показатели первичной заболеваемости ОА в РФ растут стабильно на 0,6% в год. Такие существенные изменения трендов первичной заболеваемости ОА были совсем не характерны для Северо-западного федерального округа, где первичная заболеваемость ОА после того же 2004 г. стабильно росла – с 310,5 до 772,9 на 100 тыс. населения в 2018 г. – на 5,6% ежегодно [376]. В целом, распространенность ОА растет, что, вероятно, связано со старением населения и растущей распространенностью ожирения.

### **1.2.1.3 Современные подходы к классификации остеоартрита**

Классификации ОА претерпевали изменения в зависимости от критериев, которые были взяты за их основу. Исходно ОА подразделялся на первичный и вторичный, а также выделялись типы ОА в зависимости от его локализации. Наиболее широко используемые критерии классификации ОА были опубликованы Американской коллегией ревматологов (ACR) в 1990 году [583], за ними последовали диагностические рекомендации, опубликованные Европейской противоревматической лигой (EULAR) в 2009 году [256]. Критерии EULAR отличаются от критериев ACR главным образом тем, что подчеркивают исключение воспалительных заболеваний, таких, как псориатический артрит, ревматоидный артрит и подагра, а также использованием доказательной базы для определения вероятности диагноза на основе различных факторов [191].

Одной из актуальных современных тенденций является выделение фенотипов и эндотипов ОА на основе совокупности наблюдаемых характеристик или черт индивидуума, возникающих в результате взаимодействия генетических факторов и факторов окружающей среды [109]. При исследовании фенотипов

чаще всего за категориальный признак принимается какой то один критерий, например, характеристики субхондральной кости [354], уровень сывороточных маркеров воспалительного компонента [362], наличие гистологических признаков синовита [337], характер болевого синдрома [263]. Большой интерес вызывает определение воспалительного и костного фенотипа ОА. Методики, которые могут быть использованы для лучшего определения воспалительного фенотипа, включают визуализацию (например, УЗИ или МРТ) для выявления синовита [571], уровни в крови высокочувствительного С-реактивного белка (CRP) и IL-6 [233; 235], растворимые маркеры макрофагов (CD14 и CD163 в синовиальной жидкости и CD163 в сыворотке крови) [196] и транскриптомные данные лейкоцитов периферической крови [362]. Определение костного фенотипа, вероятно, будет включать визуализацию остеофитов и субхондрального склероза с помощью рентгенографии и поражений костного мозга, выявляемых с помощью МРТ. Однако, поскольку эти признаки являются общими для ОА, трудно представить, как они определяют отдельный костный фенотип.

Эндотипы – это скорее группы, объединенные общим механизмом развития заболевания. Структурный эндотип, связанный со старением или клеточной старостью, был предложен в нескольких исследованиях, в основном в доклинических моделях [172; 395]. Не только более тяжелые клинические варианты течения ОА, но и различия в экспрессии генов и путях, представленных этими генами, наблюдались у пожилых мышей по сравнению с молодыми в модели ОА, вызванной травмой [426], что позволяет предположить, что одна и та же модель ОА может приводить к различным фенотипам в зависимости от возраста. Определение эндотипа старения при ОА у человека может быть важным, поскольку в настоящее время разрабатываются препараты для лечения ОА, называемые сенолитиками, которые направлены на уничтожение стареющих клеток в суставе [545]. Существует активный интерес к определению воспалительного эндотипа, который имел бы общий механизм, связанный с конкретным цитокином, на который можно было бы направить терапию. В подтверждение существования эндотипа с повышенными воспалительными

характеристиками, Attur et al. показали существование двух подгрупп пациентов с ОА коленного сустава с различными профилями экспрессии генов в лейкоцитах периферической крови. В этом исследовании клинические и структурные исходы были хуже в подгруппе с более высокой продукцией IL-1 $\beta$  по сравнению с подгруппой с более низким уровнем [362]. Активно исследуется роль малых молекул воспаления и газотрансмиттеров в патогенезе воспаления при ОА. Оксид азота (NO) – одна из молекул, вовлеченных в данный патологический процесс [514]. Анализ содержания NO в синовиальной жидкости пациентов с ОА дал противоречивые результаты [570]. В отличие от синовиоцитов, хондроциты обладают способностью самостоятельно вырабатывать оксид азота, о чем свидетельствуют повышенные уровни iNOS и NO в тканях суставного хряща. Напротив, хондроциты пациентов без ОА не экспрессируют iNOS, а у нокаутных по гену iNOS мышей не развивается экспериментальный ОА [122]. NO может вырабатываться на постоянной основе, играя важную роль в клеточной пролиферации, дифференцировке и даже в защите от окислительного стресса. Некоторые эксперименты показали, что NO сам по себе не является цитотоксичным для культивируемых хондроцитов. Однако избыток NO может быть губительным, вызывая деградацию хряща или ингибируя синтез хрящевого матрикса, провоцируя дисфункцию митохондрий. Существует сильная корреляция между выработкой нитритов и распространенностью апоптотических клеток в хряще, собранном при экспериментально вызванном ОА у кроликов. Было обнаружено, что несколько молекул увеличивают выработку NO хондроцитами через регуляцию индуцибельной синтазы оксида азота, например, провоспалительные молекулы (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , LPS) или доноры NO [365; 384]. Примечательно, что NO также играет определенную роль в опосредовании апоптоза хондроцитов, что является общей чертой прогрессирующего ОА. Более того, NO также изменяет функцию митохондрий в хондроцитах при ОА, что приводит к снижению выживаемости клеток за счет подавления активности митохондриальной дыхательной цепи и синтеза АТФ [653]. Концентрация NO значительно повышена в синовиальной жидкости в модели ОА у собак [245] и

людей [106]. Существует небольшой, но растущий массив литературы, демонстрирующий, что NO оказывает благоприятное воздействие на некоторые типы клеток, включая сухожилия и остеобласты. Кроме того, NO и его производные играют важную роль в снижении ноцицепции и боли [96]. Эндогенный NO является анальгетиком, в эксперименте было показано, что донор NO 3-морфолинозиднонимин (SIN-1) вызывает у крыс либо анальгезию, либо ноцицепцию в зависимости от дозы и используемой модели боли [560]. На модели артрита с использованием зимозана в коленных суставах крыс было показано, что доноры NO, SIN-1 и нитропруссид натрия, вызывают анальгезию при продолжающейся боли, что свидетельствует о присущей им антиноцицептивной активности [449].

В большей степени протекторным действием обладает сероводород ( $H_2S$ ). Установлено, что  $H_2S$  оказывает цитопротекторное действие через модуляцию антиоксидантных, противовоспалительных, антиапоптотических и проангиогенных реакций в различных условиях [288]. Благотворное действие  $H_2S$ , по-видимому, является дозозависимым, поскольку различные исследования продемонстрировали противоположные результаты [157]. В мышинных макрофагах низкая концентрация  $H_2S$  ингибировала активацию и синтез нескольких провоспалительных медиаторов, таких как TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-6 и IL-1 $\beta$ . Однако при более высоких концентрациях  $H_2S$  стимулировал выработку провоспалительных молекул макрофагами человека [150]. Кроме того, другие исследования подтвердили, что  $H_2S$  ингибирует NF- $\kappa$ B зависимую экспрессию провоспалительных цитокинов (например, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 и iNOS) в макрофагах, клеточной линии кардиомиоцитов, хондроцитах и клеточной линии миобластов [391]. Интересно, что в синовиальной жидкости при РА уровень  $H_2S$  оказался выше, чем у пациентов с остеоартритом, кроме того, обнаруженные уровни положительно коррелировали с активностью заболевания и воспалением [343]. Выявлена роль  $H_2S$  -продуцирующего фермента CSE (cystathionine gamma-lyase) в повышенной кальцификации хряща. Действительно, повышенная кальцификация хряща наблюдается, когда CSE не функционирует, например, в

мышинных моделях возраст-ассоциированного или хирургически индуцированного ОА. Уровни кальцификации и гистологическая тяжесть ОА у мышей и людей отрицательно коррелировали с экспрессией CSE. Результаты *in vitro* показали, что дефицит CSE привел к снижению клеточного уровня  $H_2S$  и увеличению кальцификации в хондроцитах. При фармакологическом повышении уровня  $H_2S$  в хондроцитах с помощью новой молекулы CSE PAM или при генетической сверхэкспрессии CSE наблюдалось снижение кальцификации. Эти исследования показывают, что генерируемый CSE сероводород является регулятором экспериментального и человеческого хрящевого кальциноза [151; 344; 594]. Экзогенные источники  $H_2S$  показали значительное противовоспалительное действие в модели остеоартрита и при ревматоидном артрите *in vitro* и *in vivo* [540]. Повышение выработки  $H_2S$  в хондроцитах может представлять собой потенциальный модификатор заболевания для лечения ОА [607]. За последние несколько лет становится все более очевидным, что  $H_2S$  влияет на регенерацию костной ткани, действуя на нескольких уровнях, таких как регуляция активности костных клеток, снижение окислительного стресса, регуляция потребления кальция костными клетками и стимулирование ангиогенеза. CBS (cystathionine beta-synthase) и CSE, ферменты, продуцирующие  $H_2S$ , экспрессируются как в мультпотентных стволовых клетках, так и в остеобластах [222]. В частности, CSE является преобладающим источником  $H_2S$  в остеобластах [195].  $H_2S$  играет цитопротекторную роль в костных клетках; он защищает ОБ от гомоцистеин-индуцированной митохондриальной токсичности [345], а также ОБ от перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) – индуцированной гибели клеток и апоптоза [323]. Другие потенциальные эндотипы включают эндотипы, связанные с метаболическими факторами [212; 609] и гормональной дисрегуляцией [110; 550].

Недавно было введено понятие прогностических групп течения заболевания. Чаще всего они формируются на основе кластерного анализа большого количества данных. Гетерогенность долгосрочных исходов ОА была выявлена в ряде недавних исследований с использованием траекторного анализа

[207; 459; 553]. Также прогностический подход позволяет определить группы пациентов с потенциальным ответом на лекарственную терапию для персонализации лечения. Lee et al. обнаружили четыре модели ответа на физические упражнения в течение 12 недель среди пациентов с ОА коленного сустава, причем более 70% пациентов демонстрировали раннее улучшение, в то время как у меньшинства наблюдалось замедленное улучшение (15%) или отсутствие улучшения (10%) [485]. В ходе другого исследования было показано, что ортопедическая обувь значительно больше облегчает боль в колене у пациентов с более тяжелым структурным заболеванием (степень по Kellgren & Lawrence 3 или 4), чем у пациентов с более легким заболеванием (степень по Kellgren & Lawrence 2), по сравнению с обычной обувью, и что это может быть связано с уменьшением пикового момента аддукции колена [436].

#### **1.2.1.4 Диагностика остеоартрита**

Диагностика ОА основывается на клинических критериях и результатах инструментальных методов исследования. Несколько исследовательских ассоциаций разработали собственные критерии диагностики, имеющие определенные различия. Например, критерии Европейской лиги против ревматизма (EULAR) для диагностики ОА коленных суставов включают такие признаки, как возраст старше 40 лет, боль в суставах, связанная с движением, утренняя скованность в коленном суставе менее 30 минут и функциональные ограничения коленного сустава [256]. По критериям Американской коллегии ревматологов (ACR) для ОА коленного сустава у пациента должны быть следующие признаки:

- 1) крепитация, утренняя скованность в коленях до 30 мин, возраст 38 лет и старше.
- 2) крепитация, утренняя скованность продолжительностью более 30 минут и образование остеофитов
- 3) отсутствие крепитации, но образование остеофитов

По критериям Национального института здоровья и совершенствования медицинской помощи (NICE, Великобритания), у пациентов может быть

диагностирован ОА коленного сустава, если они старше 45 лет, имеют боль в суставах, связанную с движением, и либо отсутствие утренней скованности в колене, либо скованность в течение 30 минут или менее [176; 358]. Однако создание критериев раннего ОА – чрезвычайно трудоемкий процесс, что обусловлено высокой гетерогенностью заболевания, слабой корреляцией его клинических проявлений с объективными методами диагностики, отсутствием четко определенных биохимических маркеров возникновения и прогрессирования. Все это привело к тому, что единые диагностические критерии раннего ОА до сих пор не разработаны.

К настоящему времени опубликован ряд клинических рекомендаций и алгоритмов ведения больных ОА, подготовленных профильными ассоциациями мира – OARSI (Osteoarthritis Research Society International – Международное общество по изучению остеоартрита), ESCEO (European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases – Европейское общество по клиническим и экономическим аспектам остеопороза, остеоартрита и заболеваний опорно-двигательного аппарата) и EULAR. ESCEO предложило алгоритм этапного лечения при ОА, включающий базисную и расширенную терапию. В рутинной клинической практике в нашей стране большинство экспертов отмечают ряд сложностей терапии ОА, связанных с неоднородностью регламентирующих документов и степенью приверженности специалистов к выполнению клинических рекомендаций.

В Российской Федерации стратегия и тактика терапии ОА регламентированы в рекомендациях “Хроническая боль у пациентов пожилого и старческого возраста”, одобренных научно-практическим советом МЗ РФ в 2020 г.. Практикующие врачи ориентируются также на клинические рекомендации по диагностике и лечению остеоартроза Общероссийской общественной организации “Ассоциация ревматологов России” 2016 г. Также в 2016 г. были предложены клинические рекомендации “Ведение остеоартрита с коморбидностью в общей врачебной практике” Российского научного медицинского общества терапевтов [5; 405]. Что касается инструментальных методов обследования, наиболее



применяемым для диагностики ОА являются рентгенография. Рентгенограммы используются для оценки образования остеофитов и сужения суставной щели, на ее основе разработаны схемы классификации, такие, как градация Келлгрена-Лоуренса (Kellgren & Lawrence) [377] и шкала классификации Международного общества исследования остеоартрита [99].

Другим методом является МРТ, которое оперирует контрастом изображения, чтобы выделить различные типы тканей. Оптическая когерентная томография (ОКТ) позволяет получать поперечные эхограммы в инфракрасном свете и получать изображения суставного хряща в реальном времени [467]. Этот метод требует помещения эндоскопа непосредственно на хрящ, что делается во время артроскопии. Современная технология УЗИ предлагает множество преимуществ, включая получение многоплоскостных изображений, возможность визуализации динамических структур в режиме реального времени, отсутствие ионизирующего излучения и возможность использования в интервенционных процедурах. Кроме того, УЗИ является экономически эффективным и может использоваться без контрастного усиления для визуализации различных тканей, пораженных ОА [146].

Параллельно были разработаны критерии раннего ОА – ESKOA (Early Symptomatic Knee Osteoarthritis), предложенные А. Migliore и соавт. и включающие клинические, рентгенологические параметры, факторы риска, антропометрические показатели и данные анамнеза больных [587]. Применимость этих критериев проверяется в международном исследовании, в котором участвуют 8 стран, в том числе Россия. В настоящее время проводится активный набор участников в это исследование, его результаты будут рассмотрены после обработки полученных данных. Также проблема раннего ОА разрабатывается в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» в рамках фундаментальной научной темы «Разработка методов комплексной терапии заболеваний костно-мышечной системы» (№ АААА-А19-119021190150-б) [3].

### 1.2.1.5 Генетические и эпигенетические маркеры остеоартрита

Исследование близнецов, членов семей в ряду поколений и их генетики на наличие остеоартрита являлось первым доступным методом изучения. Первые результаты такого рода исследований появились в литературе в 1941 году, когда Stecher обнаружил связь между частотой возникновения генерализованного остеоартрита кистей у близнецов первой линии родства и контролем. Далее в процессе исследования оказалось, что частота возникновения остеоартрита у монозиготных близнецов превышала частоту у дизиготных, и генетический компонент мог составлять от 50 до 65% [306]. В проведенных исследованиях было уделено особое внимание анализу формирования краевых остеофитов и образованию подкожных узелков у пациентов, страдающих остеоартритом. Локализация и количество этих изменений были ясно прослежены в ряде поколений пациентов [343]. Также было выявлено увеличение частоты заболевания среди родственников, по сравнению с общей популяцией, которое получило название «семейная агрегация». Однако изучение генетической предрасположенности в полной мере не было проведено, в основном был вычислен близнецовый риск. Проведенное исследование в Великобритании выявило, что близнецовый риск для рентгенологической градации остеоартрита по шкале Келлгрена-Лоуренса класс III составлял 4,99; для остеоартрита с анкилозом 5,07 и для пациентов, подвергшихся тотальной артропластике, – 8,53 [442]. Тем не менее, учитывая высокую частоту остеоартрита среди населения и разнообразные клинические проявления заболевания, данные методы недостаточно эффективны для выявления роли наследственности в патогенезе заболевания и требуют дальнейшего исследования.

Следующим этапом изучения молекулярных основ ОА стало исследование генов-кандидатов. Ограничение этого типа анализа заключается в том, что необходимо априорное знание об этиологии заболевания. Другим ограничением является то, что только очень маленькие участки генома могут быть исследованы за один раз. Это означает, что важные гены могут быть пропущены при использовании этого метода. С помощью ген-кандидатного подхода удалось

идентифицировать несколько ассоциированных с развитием ОА локусов. Ген фактора роста и дифференцировки 5 типа (*GDF5*) является одним из наиболее изученных молекулярных маркеров, связанных с ОА. Этот ген, по-видимому, играет роль в развитии, поддержании и восстановлении хрящей и костей, а мутации в его кодирующей области могут приводить к заболеваниям опорно-двигательного аппарата. Была выявлена ассоциация между полиморфизмом rs143383 и формированием ОА в целом, но эта ассоциация до сих пор остается спорной, так как с другой стороны, аллель С данного локуса в ряде исследований демонстрировал протективный эффект при ОА коленного сустава и/или ОА кисти в ряде популяций [104; 185; 651]. Ген рецептора эстрогена (*ESR*) регулирует клеточные сигнальные пути, влияющие на костную массу. Проведенные исследования показали, что локус rs2228480 в гене *ESR* был ассоциирован со снижением риска ОА коленного сустава в общей популяции [120]. Ген семейства трансформирующих факторов роста (*SMAD3*) играет критическую роль в гомеостазе суставного хряща, выполняя функцию ядерного регулятора транскрипции. Полиморфизм rs12901499 увеличивает риск ОА коленного и тазобедренного суставов в популяции китайских женщин [117]. Белковый продукт гена матричной металлопротеиназы-1 (*MMP1*) может разрушать коллагеновые волокна во внеклеточном матриксе суставного хряща и играет важную роль в патогенезе ОА, поскольку экспрессия *MMP1* в хондроцитах ОА выше, чем в нормальных хондроцитах [394]. Полиморфизм rs1799750 гена *MMP1* был ассоциирован с формированием ОА височно-нижнечелюстного сустава у китайцев обоего пола [394]. Девять SNPs четырех генов матричных металлопротеиназ были связаны с ОА коленного сустава: 1607 1G/2G (*MMP1*) в популяциях Турции и Китая, rs650108, rs650108, rs520540, rs602128 и rs679620 (*MMP3*) в популяции Китая, rs1940475 и rs376520 (*MMP8*) в популяции Финляндии и rs2252070 (*MMP13*) в популяции Китая [121]. Ассоциации полиморфных вариантов генов белка аспорина (*ASPN*), Frizzled-связанного белка (*FRZB*) и простагландин-эндопероксид синтетазы (*PTGS2*) были выявлены с применением ген-кандидатного подхода и продолжают быть предметом

функциональных исследования и дальнейшего генетического воспроизведения в независимых популяциях [79; 81; 83; 100; 300; 595; 598]. В целом, ОА является архетипическим примером распространенного, полигенного заболевания, при котором болезнь возникает из-за наследования множества аллелей риска со скромным индивидуальным влиянием. Это также соответствует модели "порога ответственности" полигенных заболеваний. В этой модели считается, что множество различных генетических вариантов могут повышать восприимчивость к прерывистому заболеванию или признаку, такому как наличие или отсутствие ОА. Если индивидуум достигает порогового числа этих вариантов и их сопутствующие эффекты проявляются, у него впоследствии развивается заболевание [202].

Важным этапом исследований генетической предрасположенности к ОА стало использование метода поиска полногеномных ассоциаций с высокой степенью статистической значимости (GWAS). GWAS стал важным генетическим инструментом, который позволил исследователям понять полигенную природу ОА. На сегодняшний день до 124 однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), охватывающих 95 независимых локусов, были связаны с ОА [301]. Следует отметить, что, как и при многих других распространенных заболеваниях, большинство сигналов GWAS было зарегистрировано в некодирующих областях генома [301]. Комплексный анализ, проведенный после GWAS, позволил выявить гены-мишени, ассоциированных с ОА, а также гены, терапия которых одобрена или находится в стадии клинических испытаний. Среди генов-мишеней выделяются ген коллаген-галактозилтрансферазы (*COLGALT2*), транскрипционного фактора RUNT (*RUNX2*), цитоскелетного белка (*PLEC*), матриксного GLA-белка (*MGP*), альдегиддегидрогеназы (*ALDH1A2*), транскрипционного фактора роста (*TGFB1*), фактора роста и дифференцировки (*GDF5*), доменного белка RWD (*RWDD2B*), белка 5го цикла клеточного деления (*CDC5L*). Интересно, что кодируемые белки этих генов вовлечены в биологические функции, связанные с ОА, такие как цитоскелетный белок (*PLEC*), внеклеточная сигнализация (*GDF5* и *TGFB1*), транскрипционный фактор,

необходимый для остеобластической дифференцировки и скелетогенеза (*RUNX2*), внутриклеточный фермент (*ALDH1A2*) или внеклеточный регулятор кальция (*MGP*) [301]. Из них для белковых продуктов *TGFBI* и *GDF5* разрабатывается таргетная терапия, на данный момент находящаяся в стадии клинических испытаний [295; 350]. К сожалению, размеры эффектов аллелей, определяющих риск ОА по данным GWAS, невелики, подавляющее большинство коэффициентов вероятности (OR) составляют  $<1,5$ , и нет общих локусов с большим эффектом, как, например, у антигена лейкоцитов человека (HLA) при аутоиммунных артритных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит. Самый большой показатель относительного риска (OR), зарегистрированный до сих пор для локуса ОА, составляет 16,70 для варианта в гене хрящевого олигомерного матричного белка (*COMP*), но этот вариант ограничен обширной исландской родословной и отсутствует в других европейских популяциях [295; 649].

Существует два основных механизма, с помощью которых генетические изменения могут влиять на фенотип. Первый – через прямое изменение белка. Это может быть, например, результатом того, что генетический вариант изменяет код ДНК в кодирующей последовательности гена, что вводит аминокислотную замену, которая изменяет функцию белка. Это механизм, с помощью которого варианты ДНК действуют во многих менделевских заболеваниях [464], но редко встречается при распространенных заболеваниях. Второй механизм заключается в изменении регуляции экспрессии генов, что приводит к повышению или понижению уровня мРНК гена, а затем и уровня кодируемого белка. Это механизм, с помощью которого подавляющее большинство вариантов действует при распространенных заболеваниях [621]. Генетические локусы, в которых генотипы полиморфных локусов связаны с такими изменениями в уровнях экспрессии генов, называются локусами количественных признаков экспрессии (eQTLs) [296; 619], а большинство генетических вариантов, которые до сих пор были связаны с распространенными заболеваниями, расположены в некодирующих областях генома [572]. При ОА менее 10% из 124 SNP, которые были ассоциированы с этим заболеванием, расположены в последовательностях,

кодирующих белок. Это является промежуточным вариантом между генетической и эпигенетической регуляцией развития заболевания.

Эпигенетика, как определение, присутствует в биологическом лексиконе с тех пор, как было введено К.Х. Уоддингтоном в 1930-х годах [644]. Концепции, описываемые этим словом, претерпели значительные изменения: от широкого общего постулата о работе молекулярного развития до более современного термина, используемого для обозначения множества генетических и транскрипционных хроматических регуляторов [316; 644]. Объем и широта этих регуляторов могут варьировать в зависимости от контекста, но обычно они включают нуклеотидные или аминокислотные модификации, такие как метилирование/деметиление, ацетилирование/деацетилирование, фосфорилирование, гликозилирование, убиквитинирование, транспозиционные элементы, некодирующие РНК (нк-РНК), малые интерферирующие РНК (siRNA) и микроРНК (miRNA). В последнее время ученые расширяют исследования этих спорадических или временных клеточных событий, чтобы определить влияние на эпигенетические регуляторы изменений окружающей среды во время развития (экологическая эпигенетика) и/или наследственности (трансгенерационная эпигенетика) [155; 161]. Кроме того, исследования начинают проливать свет на то, как эпигенетические изменения влияют на нормальные физиологические функции.

Метилирование ДНК включает в себя присоединение метильной группы к определенному участку нити ДНК. Эта реакция катализируется ДНК-метилтрансферазами (ДНМТ), и в настоящее время известно четыре фермента у млекопитающих: DNMT1, DNMT3a, DNMT3b и DNMT3L [322; 612]. Биологическое значение этого добавления заключается в том, что оно изменяет трехмерную конформацию ДНК и, в зависимости от расположения, может либо усиливать, либо подавлять способность факторов транскрипции и/или связанных с ними белков взаимодействовать с ДНК [184; 249]. При ОА изменения в структуре метилирования ДНК являются одними из наиболее широко изученных эпигенетических механизмов. Первые исследования паттернов метилирования

ДНК, связанных с ОА, были направлены в основном на гены-кандидаты, связанные с патофизиологией ОА. В их число вошли гены матриксных металлопротеиназ (*MMP-3*, *MMP-9*, *MMP-13*) и агреканызы 4 и 5 типов (*ADAMTS-4* и *ADAMTS-5*), белковые продукты которых повышены при ОА и способствуют протеолитической деградации хряща [224; 528]. Провоспалительные молекулы, такие как интерлейкины (*IL-1 $\beta$* , *IL-6* и *IL-8*), индуцибельная синтаза оксида азота (*iNOS*) и фактор некроза опухоли-альфа (*TNF- $\alpha$* ), ответственные за возникновение и поддержание хронического воспаления суставов, также были выбраны в качестве мишеней [398; 552]. Результаты исследований показали, что промоторные области генов таких катаболических факторов, как *MMP-3*, *MMP-9*, *MMP-13*, *ADAMTS-4* и *ADAMTS-5*, интерлейкины (*IL-1 $\beta$* , *IL-6* и *IL-8*), индуцибельная синтаза оксида азота (*iNOS*) и фактор некроза опухоли-альфа (*TNF- $\alpha$* ) деметилированы при ОА, что позволяет увеличить их экспрессию [118; 248; 524; 620]. Гены, кодирующие анаболические факторы, такие как гены хрящевого внеклеточного матрикса – коллагена второго типа (*COL2A1*) и агрекана (*ACAN*), также были подвергнуты исследованию и оказались гиперметилированными, что снижает уровень их экспрессии [123; 379]. Исследования изменений метилирования ДНК при ОА также были сосредоточены на сигнальных путях, которые, как известно, изменяются в суставном хряще и субхондральной кости при ОА. Например, при прогрессировании ОА повышается активность пути *Wnt*, и были обнаружены эпигенетические изменения, которые изменяют функцию склеростина (*SOST*) и медиатора секреции *Wnt*-лигандов (*WLS*) для усиления воспаления и эндохондральной оссификации, соответственно [225; 552]. В последнее время исследования метилирования ДНК при ОА перешли к нецелевым исследованиям геномного метилома с целью выявления новых генов или регионов, ассоциированных с болезнью. Методы стандартизации, используемые в этих нецелевых широкогеномных анализах, облегчают сравнение наборов данных и способствуют проведению более комплексных исследований, что увеличивает объем выборки и позволяет изучать специфические для ОА изменения метилирования ДНК. Анализ этих глобальных наборов данных

начинает выявлять региональные и/или этнические метилирования, которые способствуют предрасположенности к заболеваниям. Например, мета-анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) в европейских, японских и восточноазиатских популяциях выявил регионально-специфические SNPs в гене коллагена типа XI (*COL11A1*), факторе роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и факторе дифференцировки роста 5 (*GDF5*), которые повышают восприимчивость к ОА [81; 115; 389; 425; 528; 595; 629].

Еще одним механизмом эпигенетической регуляции развития ОА является деятельность микроРНК (miRNA). За последние десятилетия у пациентов с ОА была продемонстрирована аномальная экспрессия miRNA по сравнению со здоровыми лицами [435]. Более того, было показано, что miRNA могут играть как защитную, так и деструктивную роль в патогенезе ОА [588]. Например, сообщалось, что экспрессия miRNA-140 была снижена в хряще пациентов с ОА по сравнению со здоровым хрящом, а внутрисуставное введение miRNA-140 значительно облегчало прогрессирование ОА [427]. Аналогичным образом, экспрессия miRNA-30a была снижена в хондроцитах при ОА, а ген *ADAMTS-5* был идентифицирован как ее прямая мишень [600]. Кроме того, ген *MMP-19* был идентифицирован как прямая мишень miRNA-193b-3p, а экспрессия miRNA-193b-3p снизилась в хондроцитах при ОА, лечение экзогенной miRNA-193b-3p помогло облегчить воспалительные реакции, вызванные IL-1 $\beta$  [428]. Хотя вышеупомянутые miRNA демонстрируют защитное действие на хрящ, другие miRNA могут сдвигать гомеостаз хондроцитов и хряща в сторону катаболического фенотипа. Например, было показано, что экспрессия miRNA-365 регулируется механическим стрессом и повышается в хряще пациентов как с первичным, так и посттравматическим ОА.

Хотя биологическая сложность ОА пугает, прогресс, достигнутый в нашем молекулярно-генетическом понимании болезни, имеет потенциал для ускорения разработки прогностических маркеров и специализированной терапии ОА [315]. Действительно, несколько препаратов для лечения остеоартрита, модифицирующих болезнь (DMOADs), которые в настоящее время проходят



клинические испытания, включая внутрисуставную терапию факторами роста TGF- $\beta$  и FGF-18, ингибиторами Wnt [466], направлены на белки, гены которых были выявлены с помощью GWAS [90; 302]. При использовании DMOADs и эпигенетических вмешательств необходимо будет рассмотреть вопрос о том, как лучше доставить терапию в ткань сустава и обеспечить ее постоянство, а также к каким пациентам следует направлять терапию [466]. В решении последнего вопроса может помочь применение шкалы полигенного риска ОА (PRS). По мере того, как все больше локусов GWAS сообщают о том или ином заболевании, появляется возможность стратифицировать вероятность развития заболевания у человека на основе частоты и размера эффекта наследуемых вариантов [616].

### **1.2.2 Основные характеристики остеопороза**

Остеопороз определяется Всемирной организацией здравоохранения как "прогрессирующее системное заболевание скелета, характеризующееся низкой костной массой и ухудшением микроархитектуры костной ткани, с последующим увеличением хрупкости костей и восприимчивости к переломам" [329]. Это одна из основных причин переломов у лиц старше 50 лет, с потенциально серьезными последствиями, отягощением течения сопутствующих заболеваний, как физических, так и психологических [566].

#### **1.2.2.1 Этиология и патогенез остеопороза**

Остеопороз – полиэтиологичное, многофакторное заболевание. Отдельное место занимает вторичный остеопороз, возникающий у пациентов с эндокринными и ревматологическими заболеваниями, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), а также рядом наследственных патологий. Развитие лекарственно-индуцированного ОП ассоциировано с приемом ряда ЛС [181; 255; 447]: гормональных (системные глюкокортикостероиды [ГКС], ингибиторы ароматазы, депо-медроксипрогестерон, агонисты гонадотропин-рилизинг гормона [ГнРГ], левотироксин), антисекреторных (ингибиторы протонной помпы [ИПП], блокаторы H<sub>2</sub>-гистаминовых рецепторов), психотропных (противоэпилептические препараты, антидепрессанты), сахароснижающих ЛС

(тиазолидиндионы), а также ингибиторов кальциневрина, антиретровирусных препаратов, антикоагулянтов, некоторых химиотерапевтических препаратов, петлевых диуретиков [20].

Первичный остеопороз может быть разделен на возраст-ассоциированный (сенильный), постменопаузальный остеопороз у женщин и идиопатический. Проведенные исследования выявили ряд факторов риска развития первичного ОП, в частности – влияние массы тела. Во многих эпидемиологических исследованиях сообщалось, что низкий индекс массы тела (ИМТ) являются факторами риска «хрупких» (остеопоротических) переломов. В частности, результаты мета-анализа данных 60 000 мужчин и женщин из 12 проспективных популяционных когортных исследований показали, что общее количество переломов, остеопоротических переломов и переломов бедра обратно коррелировали с ИМТ как у мужчин, так и у женщин, но эти ассоциации теряли статистическую значимость после поправки на ИМТ, за исключением перелома бедра [136]. Более того, в исследовании Schott et al, проведенном на большой выборке почти 8000 французских женщин старше 75 лет, риск перелома бедра увеличивался на 40% на каждое стандартное отклонение снижения жировой массы, в то время как на риск перелома не влияла тощая масса [340]. В исследовании Premaor et al. оценивались 1005 постменопаузальных женщин младше 75 лет, обратившихся в связи с низкотравматичными переломами, и сообщалось, что переломы запястья встречались значительно реже, а переломы бедра – значительно чаще у женщин с ожирением по сравнению с женщинами с нормальной массой тела [180]. Недавнее проспективное исследование Prieto-Alhambra et al, проведенное с участием 832 775 испанских женщин в возрасте старше 50 лет, посещающих врачей общей практики, подтвердило, что ожирение защищает от переломов бедра и таза, но связано с увеличением риска перелома проксимального отдела плечевой кости почти на 20% [584]. Данные о переломах позвонков у людей с ожирением скудны, хотя в итальянском исследовании, проведенном на небольшой когорте постменопаузальных женщин, оказалось, что более высокий ИМТ связан с более высокой вероятностью переломов позвонков,

независимо от положительной связи между весом и ИМТ [334]. Взаимосвязь между ИМТ, ожирением и минеральной плотностью костной ткани, изученная во многих исследованиях, не показала линейной корреляции, но корреляция варьировалась в зависимости от ИМТ. Большое британское кросс-секционное исследование выявило положительную связь между ожирением и ИМТ у мужчин с нормальным весом, но обнаружило отрицательную связь у мужчин с повышенным уровнем ИМТ. У женщин наблюдалась отрицательная связь между ожирением и ИМТ в пременопаузе, но положительная связь в постменопаузе [189]. Другое исследование, проведенное среди населения США, показало, что связь между ИМТ и МПКТ не является просто линейной и что существует «величина насыщения». Анализ эффекта насыщения показал, что оптимальное значение ИМТ составило 26,13 для бедренной кости и 26,82 для поясничного отдела позвоночника. Результаты свидетельствуют о том, что поддержание ИМТ на уровне слегка избыточного веса (приблизительно 26 кг/м<sup>2</sup>) может обеспечить оптимальный уровень МПКТ [611].

### **1.2.2.2 Эпидемиологические характеристики остеопороза**

Частота встречаемости остеопороза различается в различных странах и регионах мира, что связано с гендерными, этническими, возрастными особенностями популяций. В США самая высокая частота переломов бедра наблюдается у белых женщин, а самая низкая – у чернокожих американских женщин, частота у женщин латиноамериканской и азиатской национальности занимает промежуточное положение [521]. В Великобритании самые низкие показатели переломов наблюдались у темнокожих пациентов; показатели «хрупких» (низкотравматических) переломов у белых женщин были в 4,7 раза выше, чем у темнокожих женщин, и в 2,7 раза выше у белых мужчин, чем у темнокожих мужчин. У лиц смешанной или южно-азиатской национальности частота переломов бедра была в два раза ниже, чем у лиц белой национальности [246]. Предполагается, что этнические различия в размерах и микроархитектуре скелета, пиковой минеральной плотности костной ткани, а также различия в геометрии проксимального отдела бедренной кости лежат в основе этих различий

в частоте переломов бедра [214; 513]. Афроамериканские женщины имеют более высокий уровень плотности костной ткани [505], большую площадь костной ткани, увеличенную толщину трабекул и кортикального слоя по сравнению с европеоидными женщинами, что обеспечивает большую прочность кости и устойчивость к переломам [214; 566]. В России ОП страдают 14 млн человек, что составляет 10% населения [7; 17]. У 20 млн человек диагностирована остеопения. Частота заболеваемости у женщин увеличивается на 15% в возрастной группе от 50–59 лет и более чем на 70% – в возрасте старше 80 лет [21]. ОП занимает 4-е место по распространенности (после заболеваний сердечно-сосудистой системы, онкологии и сахарного диабета) [19; 22]. Большинство переломов на фоне ОП происходит спонтанно (46%) или после минимальной травмы (36%), но правильный диагноз при 1-м визите к врачу устанавливают лишь у 43% больных [18; 37; 52]. По данным Тагаева и соавторов, среди 1700 лиц пожилого и старческого возраста в возрасте от 60 до 90 лет, из них 820 мужчин и 880 женщин распространенность остеопороза среди женщин составила 48,9% по сравнению с 27,6% среди мужчин. У мужчин показатели минеральной плотности костной ткани были в норме у 293 (35,7%) чел., остеопения диагностирована у 301 (36,7%) из них, а остеопороз – у 226 (27,6%) чел. У женщин показатели минеральной плотности костной ткани были в норме у 192 (21,8%) чел., остеопения диагностирована у 258 (29,3%) из них, а остеопороз – у 430 (48,9%) [64].

### **1.2.2.3 Диагностика остеопороза**

Основным методом инструментальной диагностики ОП является рентгеновская денситометрия (DXA). Классификация ВОЗ при интерпретации рентгеновской денситометрии используется следующим образом: для мужчин в возрасте 65 лет и старше, а также женщин в постменопаузе используют T-критерий, а диагноз остеопороза ставят, когда T-критерий равен -2,5 или ниже; для мужчин в возрасте от 50 до 65 лет T-критерий может быть использован для установления диагноза остеопороза, если он ниже -2,5 и имеются другие факторы риска переломов; у мужчин любого возраста при наличии причин для вторичного остеопороза диагноз остеопороза ставят на основании клинических показателей

(терапия глюкокортикоидами, гипогонадизм, гиперпаратиреоз) и подтвержденной низкой МПКТ; у мужчин моложе 50 лет диагноз остеопороза не рекомендуется ставить на основании только денситометрических показателей. Классификация ВОЗ неприменима для здоровых женщин в пременопаузе. При интерпретации рентгеновской денситометрии используют Z-критерий, а не T-критерий, диагноз остеопороза ставят при наличии вторичных причин низкой МПКТ (терапия глюкокортикоидами, гипогонадизм, гиперпаратиреоз) либо факторов риска переломов. У женщин в пременопаузе диагноз остеопороза также нельзя ставить на основании только денситометрических показателей. Комиссия по согласованию позиций Международного общества клинической денситометрии (ISCD) отмечает, что классификация МПКТ, предложенная ВОЗ, неприменима для детей. При интерпретации DXA используют Z-критерий; диагноз остеопороза нельзя ставить на основании только денситометрических показателей; если Z-критерий менее -2,0, используют определение «низкая плотность костной ткани для данного хронологического возраста»; величину Z-критерия интерпретируют в сравнении с наилучшей доступной базой данных для здоровых детей сопоставимого возраста (эти нормативные значения должны быть указаны в денситометрическом протоколе); проводится денситометрия позвоночника и всего тела; показатели МПКТ для прогнозирования риска переломов у детей точно не определены; отсутствуют общепринятые стандарты для коррекции МПКТ или костного минерального содержания с учетом таких факторов, как размер костей, фаза пубертатного периода, стадия формирования скелета и состав тела [33]. Кроме того, исследования по перекрестной калибровке различных денситометров с использованием европейского фантома позвоночника (*in vitro*) и у пациентов (*in vivo*) показали, что все устройства DXA разных фирм производителей хорошо коррелировали между собой, но при этом демонстрировали существенные различия в абсолютных значениях МПКТ [188; 632]. Как правило, денситометры Hologic недооценивали нормативные показатели МПКТ, а аппараты Lunar, наоборот, их переоценивали, в то время как сканеры Norland давали разнонаправленные результаты при значении МПКТ менее 0,5

г/см<sup>2</sup> и занижали МПКТ при плотности, равной 1,5 г/см<sup>2</sup> и более [188]. Разница в значениях МПКТ поясничного отдела позвоночника между аппаратами Hologic и Norland составляла 1,3 %, между Hologic и Lunar — 11,7 %, между Norland и Lunar — 12,2% [46; 632].

Следует отметить, что переломы далеко не всегда случаются у пациентов с низкой МПКТ. В исследовании Boschitsch только 13,5% пациентов в возрастной группе 55-59 лет и 19% в возрастной группе 60-64 года имели остеопоротические показатели МПКТ (Т-критерий менее -2,5), но две трети пациентов (66,8%), сообщивших о дистальных переломах предплечья или бедра, были моложе 65 лет. В целом, 70,5% переломов дистального предплечья и более половины (53,6%) переломов бедра произошли при неosteoporотическом состоянии значения МПКТ [144]. Более новые методы, такие как периферическая количественная компьютерная томография (pQCT) и периферическая компьютерная томография высокого разрешения (HR-pQCT), могут обеспечить более детальную оценку структуры кости. Однако их использование в клинической практике ограничено дороговизной и доступностью инструментов, отсутствием популяционных референсных данных, а также убедительных доказательств их превосходства в плане стратификации риска над традиционной денситометрией.

Актуальным вопросом является разработка и валидация инструментов скрининга остеопороза. Использование клинических факторов риска в дополнение к измерению МПКТ повышает точность оценки риска остеопоротических переломов [614]. В связи с этим был разработан ряд инструментов для расчета риска переломов, основанных либо только на клинических факторах риска (QFracture), либо в сочетании с измерением МПКТ (FRAX, Garvan). Доступны два калькулятора, разработанные на основе отдельных когорт: Австралийский калькулятор риска переломов Гарвана (<https://www.garvan.org.au/bone-fracture-risk>) и QFracture (<http://www.qfracture.org>) [335; 566]. Наиболее широко используемым инструментом является инструмент оценки риска переломов FRAX® (<http://www.shef.ac.uk/FRAX>) [282]. Программа FRAX была запущена в 2008 году Университетом Шеффилда и позволяет

рассчитать риск 10-летней вероятности крупного остеопоротического перелома (бедренная кость, позвоночника, проксимального отдела плечевой кости или предплечья) для нелеченых пациентов в возрасте от 40 до 90 лет с использованием легко получаемых клинических факторов риска перелома и МПКТ шейки бедра, когда это возможно [282]. Клинические факторы риска, включенные в расчет – возраст, пол, вес, рост, наличие переломов в анамнезе, перелом бедра у родителей, курение, прием глюкокортикоидов, ревматоидный артрит, вторичный остеопороз и употребление алкоголя более 3 единиц в день. FRAX основан на данных, собранных в крупных проспективных обсервационных исследованиях, в которых оценивались клинические факторы риска, МПКТ и переломы у женщин и мужчин разных национальностей и из разных регионов мира [114; 585]. FRAX был валидирован примерно в 26 независимых когортах, большинство участников которых составляли женщины [581]. Статистическая мощьность этого огромного набора данных позволяет оценить вероятность перелома на основе набора факторов риска, характерных для конкретного человека [281]. Однако, как и у любого клинического инструмента, есть очевидные ограничения. Отсутствие широкой валидации на леченых пациентах, ограничение четырьмя этническими группами в США (белые, чернокожие, испаноязычные и американцы азиатского происхождения), неопределенность в отношении диапазона ошибки при определении риска перелома, отсутствие валидации при измерении МПКТ с помощью других технологий, кроме DXA, – вот лишь некоторые из недостатков [462]. Примечательно, что число женщин, которые перенесут перелом в любой данный год, превышает общее число тех, кто перенесет новый инсульт, рак молочной железы или инфаркт миокарда. Большинство переломов происходит у лиц, у которых остеопороз не диагностирован с помощью тестирования МПКТ, и/или у лиц с небольшим количеством клинических факторов риска и, следовательно, с низкой вероятностью перелома с помощью FRAX [209]. Зачастую помощь в установке диагноза могут оказать клинические проявления остеопороза. Наиболее специфичные симптомы, связанные с изменением осанки и снижением роста, имеют высокую прогностическую ценность только при их

выраженных изменениях. Так, переломы позвонков следует подозревать, если рост снизился более чем на 2,0 см за год или более чем 4,0 см за жизнь, если стоя спиной к стене без запрокидывания головы пациент не достает стены затылком или если расстояние «ребра–гребни подвздошных костей» меньше ширины двух пальцев [26].

В качестве дополнительных критериев диагностики и методов оценки эффективности лечения ОП применяют методы биохимического исследования. Маркеры костной резорбции — гидроксипролин (НУР), гидроксизин (НУЛ), деоксипиридинолин (DPD), пиридинолин (PYD), костный сиалопротеин (BSP), остеопонтин (OP), тартрат-резистентная кислая фосфатаза 5b (TRAP 5b), карбокси-терминальный телопептид коллагена I типа (CTX или  $\beta$ -CrossLaps), амино-терминальный телопептид коллагена I типа (NTX) и катепсин К (CTSK) в той или иной степени могут быть использованы для этих целей. Большинство маркеров костной резорбции являются продуктами деградации костного коллагена (НУР, НУЛ, DPD, PYD, CTX, NTX), ферментами остеокластов (TRAP 5b, CTSK). Ранние исследования костного метаболизма основывались на определении мочевых DPD и PYD, заключались в сборе мочи в течение 24 часов, что было громоздким и трудоемким, приводило к неточностям в их исследовании. В настоящее время стали доступны сывороточные маркеры костной резорбции, изучение которых более предпочтительно, маркером выбора является CTX [48].

Отдельно следует отметить гендерные различия в распространенности и факторах риска развития ОП в целом и переломов в различных популяциях. В исследовании Leslie et al., было обследовано 4745 женщин и 1887 мужчин (средний возраст женщин 65,8 года, мужчин – 65,3 года). Женщины имели значительно большую частоту предыдущих переломов, перелома бедра у родителей и ревматоидного артрита, тогда как мужчины имели большую распространенность текущего курения и употребления алкоголя в больших количествах. У мужчин с тяжелым остеопоротическим переломом средняя МПКТ поясничного отдела позвоночника была значительно выше, чем у женщин с аналогичным переломом ( $0,971 \pm 0,175$  против  $0,851 \pm 0,164$ ,  $p < 0,001$ ). Тем не менее,



мужчины без серьезных остеопоротических переломов имели более высокую среднюю МПКТ, чем женщины без серьезных остеопоротических переломов ( $1,049 \pm 0,170$  против  $0,927 \pm 0,168$ ,  $p < 0,001$ ). Фактически, даже средняя МПКТ поясничного отдела позвоночника у мужчин с большим остеопоротическим переломом была выше, чем у женщин без большого остеопоротического перелома [160]. В исследовании 5875 мужчин, наблюдаемых в среднем в течение 10,8 лет, было зафиксировано 97 переломов запястья. Частота переломов запястья составляла 1,6 на 1000 человеко-лет в целом и колебалась от 1,0 среди мужчин в возрасте 65-69 лет до 2,4 среди мужчин в возрасте старше 80 лет. Значимыми предикторами переломов были переломы в анамнезе после 50 лет ( $OR=2,48$ ), высокий уровень фосфатов в сыворотке ( $OR=1,25$ ), использование селективных ингибиторов рецепторов серотонина ( $OR=3,60$ ), невозможность выполнить тест на силу хвата ( $OR=3,38$ ). Не было обнаружено связи с такими классическими факторами низкотравматических переломов, как падения, наличие диабета, низкое потребление кальция и витамина D, а также употребление алкоголя [592].

#### **1.2.2.4 Генетические и эпигенетические маркеры остеопороза**

Генетические исследования остеопороза берут начало в 1990-х годах с исследований генов-кандидатов, выявивших ассоциации между полиморфизмами в генах, имеющих отношение к костной ткани и МПКТ, например, гены рецептора витамина D и коллагена I типа [500]. Затем последовал этап исследований и семейных случаев заболевания [516]. В ретроспективе ни один из этих подходов не дал исчерпывающей информации о генетической природе ОП [171; 423]. Уровень МПКТ, полученный с помощью DXA, используемый для диагностики остеопороза, является высоко наследуемым признаком с уровнем наследуемости ( $h^2$ ) порядка 50-80%. Выбор его в качестве биомаркера привел к идентификации сотен ассоциированных локусов [596]. Близнецовые и семейные исследования также показали, что такие параметры костей, как геометрия ( $h^2 = 30-70\%$ ) [511], ультразвуковые характеристики ( $h^2 = 40-50\%$ ) [511] и периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения

(HR-pQCT) микроархитектуры кости ( $h^2 = 20-80\%$ ) [332], также высоко наследуются.

В 2007 году были опубликованы первые результаты исследования полногеномного анализа ассоциаций (GWAS). Результаты первого исследования GWAS на основе Фрамингемского исследования первоначально были неутешительными в результате низкой плотности маркеров (100000 SNPs) и недостаточной статистической мощности ( $N=1141$ ) [304]. Благодаря развитию геномных технологий и статистических генетических методологий стало ясно, что успех GWAS зависит в значительной степени от размера выборки [78]. Это понимание привело к значительным изменениям, определяющим успех последующих GWAS, где с увеличением размера выборки количество локусов, ассоциированных с МПКТ, стало резко возрастать. В начале 2008 года два GWAS одновременно выявили пять общих вариантов, связанных с изменением МПКТ в общей популяции. Richards et al. [140] идентифицировали два варианта в генах трансмембранного липопротеина низкой плотности (*LRP5*) и остеопротегерина (*TNFRSF11B/OPG*), связанных с МПКТ поясничного отдела позвоночника и шейкой бедра, у 8557 человек. Варианты *LRP5* также были связаны с остеопоротическими переломами, воспроизводя результаты крупнейшего исследования генов-кандидатов, проведенного в рамках консорциума GENOMOS [388]. Почти одновременно с этим Stykárðóttir et al. [442] идентифицировали в дополнение к *TNFRSF11B* варианты в генах эстрогена (*ESR1*) и белка цинковых пальцев (*ZBTB40*) у 13 786 исландских индивидуумов. Эти гены были связаны с МПКТ и остеопоротическими переломами. Последующая работа той же группы с расширенным объемом выборки ( $N = 15\ 375$ ) выявила дополнительные новые варианты, картированные вблизи гена члена суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 11a (*TNFRSF11A/RANK*), склеростина (*SOST*), киназы 3, регулирующей аффинность микротрубочек (*MARK3*), и остерикса (*SP7*) [451]. На сегодняшний день более 20 первичных GWAS и мета-анализов GWAS выявили сотни ассоциаций полиморфных локусов с уровнями МПКТ. В крупнейшем на сегодняшний день GWAS проанализировали МПКТ пяточной кости у 426 824

человек и были выявлены 1103 независимые ассоциации, достигшие полногеномного уровня значимости, в 518 генах. Но даже такой массив полученных данных объясняли только 20% фенотипической изменчивости [101]. Эти данные свидетельствуют о том, что МПКТ очень полигенна или даже омнигенна, и что большая часть генетической основы МПКТ еще предстоит открыть. GWAS идеально подходят для выявления ассоциаций с распространенными вариантами (частоты минорных аллелей – MAF более 5%). Следовательно, возможно, что редкие варианты (MAF менее 1%) могут объяснить часть «отсутствующей наследственности» [276]. В поддержку этой гипотезы недавние проекты секвенирования всего генома выявили редкие варианты с большим влиянием на МПКТ [101; 458; 625].

Как и для большинства многофакторных заболеваний, исследуются эпигенетические механизмы возникновения остеопороза. Метилирование ДНК, модификации гистонов и РНК-ассоциированные механизмы приводят к изменчивой экспрессии идентичной генетической информации в зависимости от окружающих условий, что приводит к усилению экспрессии или снижению активности генов [399]. Метилирование ДНК оказывает значительное влияние на дифференцировку и деятельность костных клеток [414] и может участвовать в патогенетических механизмах остеопороза [534]. Метилирование ДНК в целом снижается с возрастом. Первые эпигенетические исследования остеопороза часто фокусировались на нескольких генах-кандидатах с известной патогенетической функцией в биологии костной ткани. Например, в одном из исследований сравнивались уровни метилирования ДНК в промоторной области склеростина (*SOST*) в образцах костных биоптатов постменопаузальных женщин с остеопорозом и здорового контроля [424]. Исследователи обнаружили, что промотор *SOST* показал более высокое метилирование ДНК у пациентов с остеопорозом, чем в контрольной группе, что было повторено в независимой когорте из 63 постменопаузальных женщин (27 с остеопорозом и 36 без остеопороза). В 2013 году первое эпигеномное широкомасштабное исследование ассоциаций (EWAS) костей человека выявило 241 дифференциально

метилированный CpG-сайт в образцах трабекулярной кости головки бедренной кости 27 пациентов с остеопоротическими переломами бедра и 26 пациентов с остеоартритом тазобедренного сустава [221]. В связи с трудностью получения образцов костной ткани человека, некоторые EWAS использовали цельную кровь для проверки ассоциаций метилирования ДНК с остеопорозом и МПКТ. Крупномасштабное исследование EWAS для поиска ассоциаций с МПКТ шейки бедра и поясничного отдела позвоночника в цельной крови 5515 человек не выявило сильных последовательных сигналов ассоциации метилирования ДНК ни в одном из более чем 450 000 проверенных CpG-сайтов [250]. По сравнению со многими другими видами тканей и клеток человека, современные данные об эпигенетической архитектуре первичной костной ткани и клеток человека довольно скудны, даже в рамках таких масштабных проектов, как консорциумы ENCODE [103] и NIH Roadmap [367].

Оценку экспрессии miRNA у пациентов с остеопорозом и выделение специфических miRNA, коррелирующие со степенью тяжести заболевания, проводили в ряде исследований. Было показано, что некоторые miRNA способствуют дифференцировке остеобластов при остеопорозе, оказывая ингибирующее действие на прогрессирование заболевания. Например, miRna-33-5p действует как механочувствительная miRNA, которая положительно регулирует остеобластогенез [434]. Эксперименты на животных показали, что уровень активности щелочной фосфатазы и жизнеспособность остеобластов увеличивались при повышении уровня экспрессии miR-96 [429]. Уровень miRNA-133a был значительно повышен у женщин европеоидной расы в постменопаузе с низкой МПКТ [432], а уровень miRNA-194-5p и miRNA-21-5p отрицательно коррелировал с МПКТ у китайских женщин с остеопорозом [349; 496]. Зелигер и др. [277] также идентифицировали miR-21-5p в дополнение к четырем другим miRNAs (miR-23a-3p, miR-24-3p, miR-100-5p и miR-125b-5p), которые дифференциально экспрессируются в сыворотке и активируются в костной ткани у пациентов с остеопоротическими переломами. В исследованиях *in vitro* наблюдали miRNA, которые взаимодействуют с известными ключевыми

регуляторами костного метаболизма, такими как miR-152-3p и miR-335-3p с Dickkopf-1 [229], miR-30e-5p с Lrp6 [433], и вышеупомянутый miR-133 с Runx2 [85]. Кроме того, Anastasilakis et al. [158] сообщили, что уровни miRNA в сыворотке изменились в ответ на антиостеопоротическое лечение. После 3 месяцев лечения рекомбинантным тирепаратидом экспрессия miR-33 была снижена, а уровень miR-133a в сыворотке крови снизился после 12 месяцев лечения. Хотя уровень miR-124 существенно не изменился при лечении, уровень экспрессии miR-124 был ниже после третьего месяца лечения, а реактивность минеральной плотности костной ткани на лечение была выше на двенадцатом месяце [158].

### **1.2.3 Вопросы клинической и молекулярной коморбидности остеоартрита и остеопороза**

Гипотеза о том, что ОА и ОП имеют обратную зависимость, была впервые выдвинута в 1970-х годах, и с тех пор были проведены различные исследования. Первое исследование, в котором оценивалась взаимосвязь между ОА и ОП, показало, что ОА редко встречается у пациентов с переломами бедра [279]. В Чингфордском исследовании [608], одном из самых известных исследований на эту тему, сравнили женщин среднего возраста с ранними рентгенологическими признаками ОА (в кистях рук, коленях и поясничных позвонках) и без них. Было выявлено, что МПКТ у пациентов с ранним ОА были несколько выше, что послужило основой предположения об обратной взаимосвязи между этими заболеваниями. Аналогично, в исследовании Miyama [247] было установлено, что развитие поясничного ОА было менее выраженным у японских женщин с остеопорозом в течение 10 лет наблюдения. Подобные результаты были показаны и в других исследованиях [372; 526]. С другой стороны, в Роттердамском исследовании [471] изучалась взаимосвязь между рентгенологическим ОА и риском переломов, и независимо от МПКТ, было установлено, что риски переломов позвонков и периферических костей были повышены у пациентов с рентгенологическим ОА коленного сустава. В другом исследовании было обнаружено, что хотя МПКТ была выше у пациентов с ОА, риск переломов не

снижался по сравнению с контрольной группой здоровых людей [336]. Одним из вариантов объяснения этого феномена могут быть результаты исследования Abdul-Mohamed et al., в котором количественная компьютерная томография показала, что увеличение МПКТ было не общим, а региональным у пациентов с рентгенологическим ОА коленного сустава [643]. При этом и остеофиты, и склероз в фасеточных суставах и кальцификаты в брюшной аорте могут вызывать аналогичное увеличение МПКТ и влиять на искажение результатов [267]. Таким образом, хотя DEXA по-прежнему используется в качестве золотого стандарта для диагностики ОП, его результаты следует оценивать с осторожностью, особенно у пациентов с остеоартритом [218; 628]. 195 пациенток с болью в колене и рентгенологическим ОА коленного сустава были исследованы на предмет связи тяжести ОА коленного сустава с МПКТ. Между МПКТ проксимального отдела бедренной кости и сужением суставной щели была выявлена статистически значимая связь, а МПКТ проксимального отдела бедренной кости была, положительно, связана с увеличением ширины суставной щели. Отсутствовала связь между МПКТ позвоночника и сужением суставной щели. МПКТ проксимального отдела бедренной кости также была статистически значимо ниже у пациентов с более высокой степенью ОА по Келлгрону-Лоуренсу [355]. При анализе данных 2491 мужчин и 3302 женщины в возрасте старше 50 лет в рамках Корейского национального обследования состояния здоровья и питания (KNHANES), скорректированная МПКТ шейки бедра и поясничного отдела позвоночника была значительно выше у пациентов с ОА коленного сустава, при этом данный параметр уменьшался по мере рентгенологического прогрессирования ОА. Доля остеопороза среди лиц с 4 стадией заболевания по Келлгрону-Лоуренсу достигала 39,5% [381]. Ряд российских исследователей также занимался проблемой коморбидности ОА и ОП, преимущественно в женской популяции. В поисковое исследование были включены 56 женщин с ОА коленных суставов в возрасте от 44 до 75 лет. Остеопенический синдром диагностирован у абсолютного большинства больных – в 52 (92,8%) случаях, из них остеопения – у 27 (48,2%) и остеопороз – у 25 (44,6%). Нормальная МПК

зарегистрирована у 4 (7,1%) женщин. Установлено статистически значимое увеличение показателей МПКТ и Т-критерия по мере прогрессирования ОА как в шейке бедра, так и в поясничном отделе позвоночника. Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о значимой положительной корреляционной взаимосвязи между МПКТ шейки бедра и рентгенологической стадией ОА ( $r = 501$ ;  $p < 0,001$ ) [40]. В другом исследовании 124 женщин (средний возраст –  $73,3 \pm 8,46$  года) с диагнозом ОА определялась МПКТ поясничного отдела позвоночника ( $L_I-L_{IV}$ ) и шейки бедренной кости. Общая частота остеопороза в исследуемой когорте составила 28%, остеопении – 41%. ОП диагностирован у 20% женщин в возрасте 60–74 лет и у 38% – в возрасте 75–90 лет. В возрастных группах 65–74 лет и  $\geq 75$  лет у женщин с ОА тазобедренных суставов III–IV стадии МПКТ в шейке бедра была значимо выше, чем при I–II стадии ( $p < 0,05$ ). В то же время в поясничном отделе позвоночника более поздние рентгенологические стадии ОА тазобедренных суставов были ассоциированы с более низкой МПК ( $p < 0,05$ ) [1]. В исследовании Кашеваровой и соавторов приведены следующие данные: «110 женщин с ОА коленных суставов обследованы дважды с интервалом в 5 лет. Через 5 лет наблюдения рентгенологическое прогрессирование наблюдалось у 40 пациентов (2-я группа), у 70 (1-я группа) – стадия осталась прежней. Пациенты в обеих группах были сопоставимы по возрасту и длительности болезни, однако в группе с прогрессированием заболевания по данным денситометрии чаще определялись нормальные показатели МПКТ как в поясничном отделе позвоночника, так и в шейке бедра (47,5% против 37,1% и 62,5% против 44,3% соответственно). В группе без прогрессирования в большинстве случаев выявлялись показатели МПК, соответствующие остеопорозу и остеопении: 32,9% против 22,5% и 55,7% против 37,5% соответственно по сравнению со 2-й группой. Через 5 лет межгрупповые различия по этим параметрам тоже сохранялись. При оценке абсолютных значений МПКТ за данный период наблюдения было выявлено статистически значимое увеличение плотности кости в шейке бедра и бедре в целом у пациентов в группе с прогрессированием заболевания:  $0,79 \pm 0,11$  против

0,73±0,16. У пациентов с IV стадией ОА определялись статистически значимо более высокие значения МПКТ в поясничном отделе позвоночника по сравнению с больными, имеющими I–III стадии (при I стадии – 0,87±0,12 г/см<sup>2</sup>; при II – 0,92±0,21 г/см<sup>2</sup>; при III – 0,88±0,13 г/см<sup>2</sup>, при IV – 1,07±0,17 г/см<sup>2</sup>). При оценке МПКТ в шейке бедренной кости значимых различий между стадиями заболевания не отмечено, однако выявлялась тенденция к более высоким значениям МПКТ при IV стадии по сравнению с III (p=0,06). Исследования МПКТ бедра в целом продемонстрировали схожие результаты с поясничным отделом позвоночника (p=0,01). МПК у пациентов с IV стадией статистически значимо было выше, чем при I и III (соответственно IV – 0,98±0,13 г/см<sup>2</sup>, I – 0,85±0,10 г/см<sup>2</sup> и III – 0,86±0,16 г/см<sup>2</sup>). Корреляционный анализ также подтвердил прямо пропорциональную связь между стадией ОА и МПКТ во всех отделах» [32].

С учетом разнородных клинических данных, были предприняты поиски факторов патогенеза, которые способствуют совместному или изолированному развитию ОА и ОП. В частности, телосложение может по-разному влиять на развитие данных заболеваний. Ожирение стимулирует развитие и прогрессирование ОА путем механической нагрузки на суставы и предполагаемым неблагоприятным воздействием специфических адипокинов, вырабатываемых жировой тканью. В отличие от этого, низкая масса тела (менее 60 кг) или низкий ИМТ (менее 20 кг/м<sup>2</sup>) является хорошо известным фактором риска для развития ОП и является ассоциируется с повышенным риском переломов [136]. В исследовании более 800 000 постменопаузальных женщин в Испании показало наличие ассоциаций между ожирением и переломами [584]. У женщин, страдающих ожирением, отмечался более высокий риск перелома проксимального плечевого сустава, чем у женщин с нормальным весом или весом ниже нормы (OR=1,28), и был значительно снижен риск перелома бедра. Частота переломов других участков скелета не имела статистически значимых различий. Примечательно, что исследование более 1 миллиона постменопаузальных женщин в США показало, что риск переломов бедра у женщин с ожирением больше по сравнению с женщинами с нормальным или низким ИМТ. Однако это



исследование также продемонстрировало снижение частоты переломов запястья и значительно более высокую частоту переломов лодыжек у женщин с ожирением по сравнению с худыми женщинами [215]. По сравнению с ая с людьми с нормальным весом (ИМТ от 18,5 до < 25 кг/м<sup>2</sup> ), люди с ожирением (ИМТ >30 кг/м<sup>2</sup> ) имеют в 2,5-4,5 раза повышенный риск развития ОА коленного сустава [192; 324]. Связь между ожирением и ОА тазобедренного сустава и кисти менее выражена. Тем не менее, несколько исследований указывают на повышенный риск развития ОА кисти и тазобедренного сустава у людей с ожирением [119; 392; 463]. Таким образом, влияние ИМТ на риск переломов и развития ОА у женщин противоречиво, у мужчин же исследования носят фрагментарный характер.

Были исследованы молекулярные маркеры для поиска общих или различающихся звеньев патогенеза ОА и ОП. При исследовании эпигенетической регуляции костного и хрящевого метаболизма получены следующие результаты. Фрагменты трабекулярной кости были получены из центральной части головки бедра у 27 пациентов с переломами бедра и 26 пациентов с ОА тазобедренного сустава. Сравнение образцов костной ткани при ОП и ОА выявило 241 сайт CpG, расположенный в 228 генах, со значительными различиями в метилировании. Из них 217 были менее метилированы в ОП, чем в ОА. Различия в абсолютном метилировании составляли >5% в 128 CpG-сайтах и >10% в 45 CpG-сайтах [306]. Также был проведен биоинформатический анализ 6 образцов костной ткани пациентов с ОП и 6 – с ОА. В остеопоротических образцах по сравнению с остеоартритическими было выявлено 15 дифференцированно экспрессированных miRNAs (включая 2 с пониженной экспрессией и 13 с повышенной), в свою очередь они регулировали активность 161 гена и были связаны с 60 длинными некодирующими РНК (lncRNAs). В базе данных сравнительной токсикогеномики, 2 lncRNAs (*MALAT1* и *NEAT1*), 2 miRNAs (hsa-miR-32-3p, downregulated; и hsa-miR-22-3p, upregulated) и 6 генов (*SPI1*, *PTEN*, *ESR1*, *ERBB3*, *CSF1R* и *CDK6*), связанных с клеточной смертью, ростом и дифференциацией, были определены как ключевые кандидаты, отделяющие остеопороз от остеоартрита [352]. Образцы губчатой кости были собраны у 12 госпитализированных пациентов и разделены

на группу остеопороза, группу остеоартрита, группу остеопороза в сочетании с остеоартритом и нормальную контрольную группу (N). По сравнению с группой ОА и ОП уровни метилирования в группе ОА и группе ОП были статистически выше ( $p < 0,05$ ). При анализе микрочипов всего для 1222 сайта имело место гиперметилирование. Анализ, нацеленный на гены с дифференциальной экспрессией между группой ОА и ОП и группа контроля показали, что группа ОА и группа ОП имеют 4 гена со схожими профилями метилирования: *PPIL3*, *NIF3L1*, *SMTN* и *CALHM2* [525]. Пятьдесят шесть пациентов, подвергшихся эндопротезированию тазобедренного сустава по причине остеоартрита (32 пациента, 24 женщины и 8 мужчин, 65-80 лет) или перелома шейки бедра (24 пациента, 18 женщин и 6 мужчин, 53-85 лет), были включены в исследование. Для количественного определения мРНК *CTSK* (катепсин К), *MMP-9* (матриксная металлопротеиназа 9), *ACP5* (TRAP), *TNFSF11* (RANKL), *TNFRSF11B* (OPG) и *BGLAP* (остеокальцин) использовали ПЦР в реальном времени. Уровень мРНК, кодирующих *MMP-9* и остеокальцин, был выше в группе остеоартроза ( $p = 0,011$ ,  $p = 0,001$ , соответственно), тогда как экспрессия *RANKL* и соотношение *RANKL/OPG* были значительно ниже в группе остеоартроза, чем в группе ОП. Экспрессия катепсина К, *MMP-9* и *TRAP* относительно *RANKL* была значительно выше в группе остеоартроза. Отношение всех трех протеолитических ферментов к маркеру образования остеокальцина было выше в группе переломов. Экспрессия генов катепсина К, *MMP-9*, *TRAP*, *RANKL*, *OPG* и остеокальцина и связь между уровнями их мРНК указывали на более высокую резорбцию кости и образование кости при остеоартрите [264]. По данным микроскопических исследований, морфогенез остеоартрита характеризуется ремоделированием субхондральной кости. На тканевом уровне изменения характеризуются истончением костной пластинки, утолщением трабекул, развитием остеоподобного матрикса, очагов некроза с усиленной васкуляризацией. Появление остеоподобного матрикса на месте губчатой кости сопровождается исчезновением элементов красного костного мозга. Патоморфологическая картина субхондральной кости при ОА представляется сложной, с одновременно протекающими некротическими и

пролиферативными процессами, приводящими в конечном итоге к ремоделированию тканей сустава, снижению сервисной (трофической) роли субхондральной кости относительно хрящевой пластинки [34].

#### **1.2.4 Основные характеристики синдрома Элерса-Данло**

Синдром Элерса-Данлоса (СЭД) представляют собой наследственное заболевание соединительной ткани с разнообразными фенотипическими проявлениями. Несмотря на клиническую гетерогенность, основными симптомами являются хрупкость и избыточная растяжимость кожи, гипермобильность суставов и чрезмерная кровоточивость [591]. Клинический спектр тяжести варьирует от легкой гиперрастяжимости кожи и гипермобильности суставов до тяжелых физических дефектов и угрожающих жизни сосудистых осложнений [484].

##### **1.2.4.1 Этиология и патогенез синдрома Элерса-Данло**

Патогенные генетические варианты для большинства типов СЭД определены и могут быть использованы для диагностики. СЭД вызывается различными патогенными мутациями, и каждый подтип связан с определенными вариантами генов. Классический СЭД наследуется по аутосомно-доминантному типу и вызывается патогенными вариантами в генах *COL5A1* и *COL5A2*, а в редких случаях — в гене *COL1A1* [407; 430]. Гены *COL5A1* и *COL5A2* контролируют цепи альфа1 и альфа2 коллагена типа V, соответственно, их варианты приводят к неправильному функционированию гена *COL5A1* и структурным нарушениям коллагена типа V, что ухудшает фибриллогенез коллагена. У лиц с классическим типом СЭД вероятность передачи варианта детям составляет 50%, однако у половины пациентов с этим подтипом СЭД заболевание является результатом патогенного варианта *de novo* [408]. Недавние исследования показали вовлечение других молекул внеклеточного матрикса (ВКМ), таких как протеогликаны и тенасцин-Х, или генетические дефекты в молекулах, участвующих во внутриклеточной транспортировке, секреции и сборке белков ВКМ [484]. Классический СЭД также ассоциирован с дефицитом тенасцина-Х (ОМIM #606408) [92]; сердечно-клапанный тип СЭД возникает в том

числе при мутации в коллагене I типа (*COL1A2*, OMIM #225320) [617]; сосудистый тип СЭД (OMIM #130050) – при мутаций в гене коллагена III типа (*COL3A1*) [170]; кифосколиотический тип СЭД (OMIM #225400) ассоциирован с мутациями в гене лизилгидроксилазы (*PLOD1*) [652]. Артрохалазийный тип СЭД (OMIM #130060) вызвана потерей экзона 6 в *COL1A1* (СЭД VIIA) или *COL1A2* (СЭД VIIB), что приводит к структурным дефектам коллагена I типа [238; 239], а дерматоспараксисный тип (OMIM #225410) возникает из-за мутаций в гене агреканызы 2 (*ADAMTS2*) [341].

#### 1.2.4.2 Эпидемиологические характеристики синдрома Элерса-Данло

СЭД является относительно редким заболеванием, поражающим 1 на 5000-10000 человек. Данные литературы зачастую противоречивы, что связано с недостаточным количеством исследований, отсутствии до определенного времени унифицированных подходов к диагностике и в целом ее высокой сложностью [230; 294]. На сегодняшний день не выявлено существенных расовых или географических факторов, влияющих на распространенность СЭД. Классический тип СЭД присутствует примерно у 1 из каждых 20 000 человек [408]. Лица с отягощенной наследственностью имеют 50% вероятность развития болезни [406]. Сосудистый тип СЭД составляет относительно небольшой процент всех случаев СЭД (около 4–5%) и поражает примерно 1 из каждых 100 000–250 000 человек [230]. Кроме того, дети людей с этим заболеванием имеют 50% шанс унаследовать заболевание, поскольку сосудистый СЭД почти всегда имеет аутосомно-доминантный тип наследования. Гипермобильность, отличительная черта гипермобильного типа СЭД, чаще встречается у женщин, чем у мужчин, и в целом это наиболее распространенный тип СЭД, но точная частота не определена из-за отсутствия понимания, что есть гипермобильный тип СЭД, а что – доброкачественная гипермобильность или часть недифференцированного фенотипа [291; 495]. Исследования частоты встречаемости в России носят единичный характер. Так, по данным Зинченко и соавторов, в популяциях европейской части России распространенность СЭД I и II типов составила в среднем 1:9466 с вариацией по популяциям: 1:1716 в Татарстане, 1:1892 в

Карачаево-Черкесской Республике, 1:3675 в Брянской области, 1:4169 в Башкортостане, 1:6815 в Ростовской области, 1:14331 в Кировской области, 1:20000 в Архангельской области, 1:29739 в Удмуртии, 1:25333 в Тверской области, 1:30479 в Краснодарском крае, 1:30767 в Марий Эл, 1:37784 в Чувашии, 1:50900 в Адыгее [12; 25; 30; 39; 56].

#### **1.2.4.3 Классификация синдрома Элерса-Данло**

За последние 50 лет были сформулированы различные системы классификации. Первая классификация с пятью основными типами была введена Бейтоном в 1970 [131], за которой последовала Берлинская классификация с 11 типами [370] и нозология Вильфранша 1997 г., в которую были включены шесть типов СЭД [240]. Быстрое развитие генетических методов диагностики позволило распознать множество различных заболеваний, которые, хотя и отличаются от первоначально описанных классических типов СЭД, получили общий термин «СЭД» вследствие наличия генерализованной «хрупкости» соединительной ткани. Таким образом, в последней версии классификации, опубликованной в 2017 г., выделено 13 типов с 19 различными генами, в основном участвующими в синтезе и поддержании коллагена и внеклеточного матрикса. В 2017 году она была расширена с включением широкого спектра клинически проявлений [580]. Следует отметить, что у значительного процента пациентов с СЭД не выявлено ни одного патогенного варианта ни в одном из известных генов, связанных с СЭД. Таким образом, ожидается, что с использованием технологий секвенирования следующего поколения (next generation sequencing, NGS) и полноэкзомного/полногеномного секвенирования другие типы СЭД будут определены на молекулярном уровне, что потребует обновления существующей классификации. Отдельное внимание уделяется классификационной принадлежности гипермобильного типа СЭД. В 2018 году Международное общество СЭД запустило новаторскую программу «Генетическая оценка гипермобильного типа СЭДs» (<https://www.ehlers-danlos.com>). До конца 2020 года исследование направлено на набор, скрининг и проведение NGS у 1000 человек, у которых был диагностирован гипермобильный тип СЭД в соответствии с

клиническими критериями, установленными в 2017 году, которые являются более строгими, чем критерии Вильфранша [580]. Понимание генетических причин гипермобильного типа СЭД, несомненно, имеет центральное значение для совершенствования классификационных критериев СЭД, поскольку это позволит ставить однозначные диагнозы большому количеству пациентов. Кроме того, понимание генетических путей и этиопатогенеза гипермобильного типа поможет найти возможные терапевтические подходы к этому заболеванию [531].

Основным и наиболее часто встречающимся типом СЭД является классический, который характеризуется разнообразием клинических проявлений. У некоторых пациентов отмечаются неврологические и спинальные проявления [448]. Кроме того, у некоторых пациентов были обнаружены тревожная симптоматика, эмоциональные расстройства [374], депрессивные симптомы и тревожное обсессивно-компульсивное расстройство личности [631]. Исследования нейропсихологического функционирования немногочисленны. Однако результаты свидетельствуют о дефиците концентрации внимания [269] и когнитивных нарушениях в области решения визуально-пространственных задач, внимания и памяти [168]. Тем не менее, наиболее распространенными признаками являются [484]:

1. Гиперрастяжимость кожи. Она диагностируется, когда ее можно растянуть на 3 см или более на нейтральном участке, например, на шее, дистальной части предплечья, тыльной стороне кистей, локте или коленях, пока не будет ощущаться сопротивление [407].
2. Гипермобильность суставов, которая оценивается по шкале гипермобильности Бейтона [368]. Это изменение может быть связано также с дефицитом тенасцина-Х [242].
3. Хрупкость тканей: кожа легко повреждается после незначительной травмы, чаще в местах давления и открытых участках, представляя собой тонкие и широкие атрофические рубцы, часто называемые "рубцами папиросной бумаги" [484], которые могут быть результатом изменения декорина, фибромодулина и люмикана [275; 402; 411; 575].

Сосудистый тип СЭД обычно передается по аутосомно-доминантному типу, однако было несколько случаев, когда больные унаследовали заболевание по биаллельному типу наследования [416; 635]. Этот подтип СЭД часто возникает при наличии патогенных вариантов гена *COL3A1*, расположенного на хромосоме 2 в положении 31. *COL3A1* регулирует про-альфа1-цепь коллагена III типа [230; 237]. Эти варианты генов могут замедлять синтез или высвобождение коллагена и нарушать структурную целостность коллагена III типа, в конечном итоге делая его нефункциональным [167; 626]. Варианты гена *COL1A1*, контролирующего коллаген I типа, также были идентифицированы в некоторых случаях сосудистого типа СЭД [430]. Миссенс-варианты составляют две трети случаев сосудистого типа СЭД, однако нулевые варианты и частичные делеции генов также могут встречаться. Исследования показали, что наиболее тяжелые случаи сосудистого типа СЭД могут быть связаны с миссенс-вариантами на С-конце молекулы. И наоборот, более легкие формы этого подтипа могут быть связаны с нулевыми вариантами гена *COL3A1* [170]. Приблизительно 50% пациентов с сосудистым типом СЭД наследуют вариант гена *COL3A1* от своего больного родителя, а остальные 50% приобретают заболевание из-за наличия патогенного варианта *de novo*. Кифосколиотический тип СЭД возникает в результате дефицита проколлаген-лизина, фермента 2-оксоглутарат-5-диоксигеназы, кодируемого геном *FKBP14*. Кифосколиотический СЭД имеет аутосомно-рецессивный тип наследования и включает вариант, который чаще всего приводит к тому, что ген *FKBP14* в хромосомном локусе 7p14.3 становится нефункциональным. Однако в редких случаях вариант гена приводит к миссенс-варианту или делеции внутри рамки считывания [287; 446]. Этот ген кодирует белок пептидил-пролил-цистранизомеразу и влияет на модификацию коллагенов III, VI, X типов. Каждый ребенок больного пациента имеет примерно 25%-й шанс развития заболевания, 25%-й шанс не заболеть расстройством и не быть его носителем и 50%-й шанс быть носителем этого типа СЭД. Носители или гетерозиготы этого заболевания не проявляют симптомов или фенотипических признаков кифосколиотического типа СЭД [278]. К сожалению, данные об этиологии

остальных подтипов СЭД все еще ограничены. Например, по последним данным 2017 года ген, вызывающий гипермобильный тип СЭД, остается неидентифицированным [430]. В некоторых случаях сообщалось о вариантах генов *TNXB* и *COL3A1* и аутосомно-доминантном типе наследования [408]. При этом классический тип СЭД включает вариант гена, кодирующего тенаascin-X и имеет аутосомно-рецессивный тип наследования [430]. Клапанный тип СЭД связана с вариантами в генах *NMD* и/или *COL1A2*, влияющими на коллаген типа I. Этот тип синдрома Элерса-Данло имеет аутосомно-рецессивный тип наследования [430]. Артрохалазийный тип синдрома Элерса-Данло имеет аутосомно-доминантный тип наследования и вызывается патогенными вариантами в гене, кодирующем цепь коллагена I типа, *COL1A1*, и гене, кодирующем альфа2 коллагена типа 1 (*COL1A2*) [408]. Дерматоспараксисный тип СЭД, с другой стороны, является аутосомно-рецессивным заболеванием и возникает из-за функциональной аномалии фермента, контролирующего аминоконцевой пропептид, проколлаген-N-протеиназы, влияющего на проколлаген типов I, II и III [341; 604]. Ген *ADAMTS2* также связан с этим подтипом синдрома Элерса-Данло [406]. Синдром ломкой роговицы является аутосомно-рецессивным заболеванием и вызывается вариантами генов белков цинковых пальцев (*ZNF469* и *PRDM5*). Спондилодиспластический тип СЭД имеет аутосомно-доминантный тип наследования и вызывается вариантами генов *B4GALT7* и *B3GALT6*, влияющими на галактозилтрансферазу типа I и II соответственно [211]. Варианты гена семейства носителей растворителей (*SLC39A13*) ассоциирован со спондилодиспластическим типом синдрома Элерса-Данло. Мышечно-контрактурный тип передается по аутосомно-рецессивному типу и включает варианты генов сульфотрансферазы (*CHST14*) и дерматансульфатэпимеразы (*DSE*) [211]. Геном, вызывающим миопатический тип синдрома Элерса-Данло, является *COL12A1*, который контролирует альфа-цепь коллагена типа 12. Наследование этого подтипа синдрома Элерса-Данло может быть аутосомно-доминантным или аутосомно-рецессивным [211]. Пародонтальный тип синдрома Элерса-Данло, аутосомно-доминантное заболевание, вызывается вариантами



генов (*C1R* и *C1S*), влияющими на *C1r* и *C1s* субкомпоненты комплемента [187]. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы лучше понять генетические профили пациентов с СЭД, что потенциально может привести к появлению еще неизвестных методов лечения в будущем.

#### 1.2.4.4. Диагностика синдрома Элерса-Данло

Молекулярные исследования, включающие тестирование одного гена (одновременное или последовательное), мультигенную панель или комплексное тестирование генов, являются ключевым инструментом диагностики СЭД. Это включает в себя извлечение геномной ДНК и матричной РНК из культивируемых кожных фибробластов. Например, у человека с классическим типом СЭД используется молекулярное тестирование, чтобы определить, являются ли они гетерозиготами по одному из экзонных маркеров *COL5A1* и экспрессируются ли оба аллеля. Тестирование одного гена начинается с анализа последовательности различных типов коллагена. Если этот процесс не выявляет патогенных аномалий, дальнейшее тестирование проводят путем анализа генной направленной делеции и дупликации. Мультигенное панельное тестирование исследует несколько генов одновременно и является наиболее эффективным, если клиницисты могут сузить панель до тех генов, которые они подозревают. Помимо молекулярно-генетических методов исследования, другие лабораторные методы, включая ультраструктурные исследования и биохимические исследования, могут использоваться для выявления структурных аномалий, что играет значимую роль в диагностике СЭД. Например, электронная микроскопия биоптатов кожи используется для определения деформаций коллагена [330]. Биопсия кожи должна быть выполнена на полную толщину, поскольку ультраструктурные изменения наиболее заметны в центральной части ретикулярной дермы. Гель-электрофорез помогает идентифицировать аномалии коллагена, который может быть изменен при различных формах СЭД. Эта форма анализа белка коллагена не служит диагностическим критерием, однако это может помочь дифференцировать определенные подтипы СЭД [408; 602]. Визуализирующие исследования, такие как артериальная ангиография, КТ и МРТ, могут быть особенно полезны при

оценке пациентов с СЭД, особенно сосудистого типа, где можно такие кардинальные признаки, как расширение артерий, аневризмы, расслоения, грыжи и разрывы органов [563; 635].

#### **1.2.4.5 Лечение синдрома Элерса-Данло**

Медицинским работникам рекомендуется направлять любого потенциального пациента с СЭД или, по крайней мере, при подозрении на этот диагноз к многопрофильной медицинской команде [241]. У пациентов, в связи с множественными проявлениями, наилучшим вариантом лечения является медицинская и биопсихосоциальная программа лечения [375]. Этиотропной и патогенетической терапии СЭД не существует. Лечение направлено на устранение симптомов и профилактику осложнений с помощью физиотерапии и обезболивающих препаратов [404]. Фармакологическая терапия ограничена и не имеет доказательной базы [656]. К сожалению, распространенность боли при этом синдроме может достигать 100% [163], а распространенность хронической боли может достигать 90% у пациентов с различными типами заболевания [486]. При классическом типе СЭД, центральным элементом оказания помощи является сердечно-сосудистая система, включающая измерение размера корня аорты и артериальное давление, эхокардиограмму [590]. Это также требует особого внимания к опорно-двигательному аппарату [407], в то время как при классическом типе СЭД, обусловленном дефицитом тенасцина-X (c1EDS) и дерматоспараксисом не существует специфических точек приложения терапии. Сосудистый тип СЭД схож с классическим типом, с более строгими акцентом на исследование функций сердца и сосудов. При артрохалазии особое внимание уделяется костно-мышечной и кожной системам, например, лечению ортопедических проблем, особенно вывихов. Однако в этом случае основное ведение должно осуществляться во время беременности, поскольку женщины могут быть подвержены разрыву кожи промежности и послеродовому расширению эпизиотомических разрезов и опущению матки и/или мочевого пузыря. Синдром хрупкой роговицы требует первичной профилактики разрыва роговицы [590]. Мышечно-контрактурный тип требует особого внимания к

костно-мышечным, кожным, сердечно-сосудистым, висцеральным и глазным осложнениям [200; 383]. Для остальных подтипов лечение неспецифично. Прогноз и осложнения варьируют в зависимости от формы заболевания. Пациенты с классическим и гипермобильным типами чаще доживают до старшего возраста, тогда как пациенты с сосудистым типом имеют склонность к разрыву артерий и внутренних органов [368; 484].

## **1.2.5 Основные характеристики несовершенного остеогенеза**

### **1.2.5.1 Этиология и патогенез несовершенного остеогенеза**

Несовершенный остеогенез (НО) представляет собой системное заболевание соединительной ткани, характеризующееся низкой костной массой и хрупкостью костей, вызывающее значительное снижение качества жизни пациентов из-за боли, неподвижности, деформаций скелета и дефицита роста [491]. Снижение прочности костей приводит к малотравматичным переломам или переломам в нетипичных местах, таким, как локтевой отросток и компрессионные переломы позвонков [280; 533]. Внеклеточные проявления могут включать зубные аномалии, серо-голубые склеры, потерю слуха, гипермобильность суставов и, реже, мышечную слабость, сердечно-сосудистые и легочные осложнения. По оценкам, заболеваемость НО составляет в среднем 1:10 000 [478]. Идентификация вариантов в генах, связанных с НО, у легко пораженных или бессимптомных людей подтверждает наличие более широкого клинического спектра, который варьируется от низкой костной массы и раннего остеопороза до прогрессирующего деформирующего и перинатального летального НО [533; 536].

### **1.2.5.2 Эпидемиологические характеристики несовершенного остеогенеза**

Существует лишь несколько эпидемиологических исследований по оценке распространенности НО в популяциях мира. В исследовании южноамериканской популяции Orolí и соавт., был оценен уровень распространенности скелетных дисплазий при рождении, частота встречаемости НО составила 0,4 на 10000 новорожденных [468]. В исследовании Stoll. частота встречаемости НО при рождении составила 1 на 15000 новорождённых в Страсбурге (Франция) и его окрестностях [13]. D. O. Silience и соавт., при исследовании австралийской

популяции выделили три больших группы пациентов с НО. Первая группа – доминантно наследуемый НО с голубыми склерами. По данным переписи населения 1976 года, минимальная частота в штате Виктория оценивалась как 127 на 3746000, то есть 3-4 на 100 000 населения. В период с 1955 по 1974 год включительно минимальная заболеваемость составила 3-5 на 100000 или 1 на 28 500 живорожденных. Вторая группа – перинатальный летальный НО с рентгенографически «сморщенными» бедренными костями и ребрами с «четками». В период с 1965 по 1975 родилось 12 младенцев с этим вариантом НО, частота составила 12 на 749851 или 1-6 на 100000 живорождений. Третья группа – прогрессивно деформирующий НО с нормальными склерами. В 1976 году, когда численность населения по переписи составляла 3746000 человек, в штате Виктория проживало 18 больных. Таким образом, минимальная распространенность этого синдрома составляла 18 на 3746000, то есть 0,48 на 100000. В период с 1955 по 1976 год включительно в штате Виктория был зарегистрирован 21 больной новорожденный, 13 из которых выжили, а 8 умерли. Таким образом, минимальная заболеваемость составила 21 на 1444716, то есть 1,45 на 100 000 живорожденных [551]. В Дании частота болезни в популяции составила 21,8 случая на 100 тыс. населения [108]. НО встречается во всем мире без гендерных различий. По оценкам, в Соединенных Штатах насчитывается примерно 25000 – 50000 больных. Хотя и эти цифры могут быть недооценены, поскольку часты встречи с людьми с легкой формой НО, не диагностированной ранее, у которых этот диагноз упускается из виду. Один случай НО приходится примерно на 10 000 живорожденных в США, но во всем мире заболеваемость варьируется [418]. Если учитывать данную оценку с поправкой на численность населения (в США в 2007 г. — 302,2 млн, в России на 1 августа 2015 г. — 146,4 млн человек), в РФ распространенность НО может составлять около 12,5–25 тыс. случаев. В российский регистр НО включено описание 650 случаев, из них 421 — у детей, что свидетельствует о значительной по масштабам гиподиагностике заболевания. Причиной этому может быть недостаточная осведомленность врачей в вопросах диагностики и лечения НО [45]. В российских популяциях

распространенность НО с аутомно-доминантным (АД) типом наследования составляет в республиках Адыгея 1:65000, Саха Якутия 1:7869, Башкортостан 1:24824, Татарстан 1:52316, Удмуртия 1:22194, Марий Эл 1:57190, Костромская 1:74080, Тверская 1:25333 области. При исследовании распространенности НО в Ростовской области выявлено 19 семей (29 больных) с АД типом наследования и 1 семья (1 больной) с аутомно-рецессивным типом наследования. Общая распространенность заболевания составила 1:16582 (или 6,03 на 100000 населения) [31].

НО может наследоваться как доминантное, рецессивное или сцепленное с X-хромосомой заболевание [419]. Чаще всего это доминантное заболевание, вызываемое патогенными вариантами генов коллагена I типа (*COL1A1* или *COL1A2*). Нулевые аллели (т. е. делеции или варианты сплайсинга, вызывающие сдвиг рамки считывания, или укороченные варианты) в *COL1A1* приводят к гаплонедостаточности, которая обычно связана с легкой формой НО (тип I). В то время, как миссенс-мутации (часто замены глицина в повторе Gly-XY) или мутации сплайсинга (которые не нарушают рамку считывания) в *COL1A1* или *COL1A2* обычно приводят к летальному, тяжелому или умеренному НО (типы II, III или IV соответственно). Доминантная форма заболевания, хотя и более редкая, вызывается рецидивирующим патогенным вариантом в 5'-нетранслируемой области гена *IFITM5* (кодирует интерферон-индуцированный трансмембранный белок 5, также известный как BRIL) и классифицируется как НО типа V [87].

### 1.2.5.3 Классификация несовершенного остеогенеза

За последние 15 лет патогенные варианты в нескольких дополнительных генах были связаны с рецессивными и сцепленными с X-хромосомой формами заболевания. Изучение этих генов дало значительное количество информации для нового понимания процесса формирования и минерализации костей. Многие из этих генов кодируют белки, которые играют важную роль в фолдинге и внутриклеточных или внеклеточных посттрансляционных модификациях коллагена I типа, например, гены *CRTAP* (белок, ассоциированный с хрящом), *P3H1* (пролил-3-гидроксилазы), *PPIB* (пептидил-пролил-изомеразы) и *BMP1*

(костного морфогенетического белка) или его внутриклеточном перемещении, например, пролил-изомераза-10 и ингибитор серпин-пептидазы, а также в контроле качества синтеза белка и реакции эндоплазматического ретикулума на стресс, например, *CREB3L1* (цАМФ-связывающий белок 3) и *MBTPS2* (протеаза сайта-2, связанная с мембранным фактором транскрипции). Некоторые гены кодируют белки, которые непосредственно секретируются остеобластами и могут связываться с коллагеном в матриксе и влиять на его минерализацию во время формирования кости, например, *SERPINF1* (ингибитор серпин пептидазы F) и *SPARC* (остеонектин) [478]. Некоторые из них играют важную роль в костной анаболической функции канонического сигнального пути WNT, например, *LRP5* (белок, родственник рецептору липопротеинов низкой плотности), *WNT1* (сигнальный белок, член семейства сайтов интеграции) и *MESD* (шаперон развития мезодермы) и, помимо НО, могут быть связаны с генерализованным остеопорозом [126]. В последние годы были выявлены патогенные варианты в генах, кодирующих белки с внутриклеточной или ядерной локализацией, механизм влияния которых на функции остеобластов еще предстоит выяснить, например, *SP7* (остерикс) и *TENT5A/FAM46A* (терминальная нуклеотидилтрансфераза 5A) [268].

Подсчитано, что изменения в генах, отличных от тех, которые кодируют коллаген типа I, ответственны примерно за 15-25% случаев НО, при этом патогенные аллели демонстрируют различное географическое распространение [226; 603]. Растущий список генов, связанных с более редкими формами НО, привел к созданию системы классификации, которая определяет подтипы НО на основе причинного гена, и теперь она доходит до НО типа XX (Таблица 1), согласно базе данных Online Mendelian Inheritance in Man (<https://www.omim.org>). Хотя такая генетическая классификация может быть полезной, поскольку вмешательства могут быть эффективными только при некоторых типах НО, фенотипическая классификация оказалась более удобной в клиническом применении [415; 577].

Таблица 1 – Генетическая классификация несовершенного остеогенеза

Тип НО	Фенотип ОМIM#	Наслед- ование	Ген	Тяжесть и клинические особенности
I	166200	АД	<i>COL1A1</i>	Легкое течение заболевания, линейный рост соответствует среднему или несколько ниже среднего в популяции, деформации костей отсутствуют или невыражены
II	166210	АД, АР	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i>	Перинатально летальный, гипоминерализация костей черепа, деформация ребер по типу «нити жемчуга», выраженные деформации костей
III	259420	АД, АР	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i>	Тяжелый с прогрессирующими деформациями костей, выраженное отставание линейного роста
IV	166220	АД	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i>	Проявления от средней тяжести до тяжелого, деформации длинных трубчатых костей, позвоночника, отставание линейного роста от незначительного до тяжелого
V	610967	АД	<i>IFITM5</i>	Проявления от легкой до умеренной степени выраженности с кальцификацией межкостных мембран и/или гипертрофическими мозолями, вывихом головки лучевой кости

Продолжение таблицы 1

Тип НО	Фенотип ОМIM#	Наследование	Ген	Тяжесть и клинические особенности
VI	613982	AP	<i>SERPINF1</i>	Проявления от умеренной до тяжелой степени выраженности, характерно наличие неминерализованного остеоида; картина биопсии кости имеет рисунок пластинок в виде “рыбьей чешуи”
VII	610682	AP	<i>CRTAP</i>	Проявления от тяжелого течения до летального, характерна ризомелия (укорочение проксимальных отделов конечностей)
VIII	610915	AP	<i>LEPRE1</i> ( <i>P3H1</i> )	Проявления от тяжелого течения до летального, характерна ризомелия, коксавара, изменения метафизов длинных трубчатых костей в виде кальцификации по типу “попкорна”
IX	259440	AP	<i>PPIB</i>	Тяжелый, укорочение длинных трубчатых костей и их деформация (в т.ч. саблевидная деформация большеберцовых костей)
X	613848	AP	<i>SERPINH1</i>	Тяжелый деформирующий с внутриутробными переломами костей
XI	610968	AP	<i>FKBP10</i>	Деформации скелета варьируют от легкой до тяжелой степени выраженности, имеют место врожденные контрактуры суставов



Продолжение таблицы 1

Тип НО	Фенотип ОМIM#	Наследование	Ген	Тяжесть и клинические особенности
XII	613849	AP	<i>SP7</i>	Тяжелые деформации скелета с задержкой прорезывания зубов
XIII	614856	AP	<i>BMP1</i>	Проявления варьируют от среднетяжелой до тяжелой степени с прогрессирующими деформациями костей
XIV	615066	AP	<i>TMEM38B</i>	От умеренной до тяжелой степени
XV	615220	AP, АД	<i>WNT1</i>	Проявления от умеренной до тяжелой степени выраженности, характерны пороки развития головного мозга
XVI	616229	AP	<i>CREB3L1</i>	Тяжелое течение с прогрессирующими выраженными деформациями костей, наличием внутриутробных переломов костей
XVII	616507	AP	<i>SPARC</i>	Тяжелое прогрессирующее течение
XVIII	617952	AP	<i>FAM64A</i>	От умеренной до тяжелой степени, дисморфические особенности, задержка линейного роста
XIX	301014	XP	<i>MBTPS2</i>	От умеренной до тяжелой степени, деформация грудной клетки
XX	618644	AP	<i>MESD</i>	Тяжелый с прогрессирующими деформациями костей

Примечание: здесь и далее АД – аутосомно-доминантный, AP – аутосомно-рецессивный, приведено из [536] с изменениями

Для НО были предложены различные системы клинической классификации. В прошлом те, кто перенес переломы до или во время рождения, были сгруппированы под классификатором «врожденный НО», а остальные были включены в «поздний НО». Классификация Sillence была введена в 1979 году и до сих пор остается наиболее широко используемой. Тип I — самая легкая форма НО с ярко выраженным голубым цветом склер, который остается таковым на протяжении всей жизни. Пациенты редко нуждаются во вспомогательных приспособлениях для ходьбы, зачастую могут заниматься спортом. Рост пациентов обычно ниже среднего по сравнению со сверстниками или генетическим целевым ростом, оцененным у здоровых родителей. Тип II наиболее клинически тяжелый вариант НО, называемый также «перинатально-летальным». Пациенты погибают во время пренатального или перинатального периода от респираторного дистресса из-за крайней хрупкости ребер и легочной гипоплазии или порока развития (кровоизлияния) в центральную нервную систему. Пациенты с НО III типа являются наиболее тяжело пораженными выжившими с голубыми склерами, которые с рождения имеют многочисленные переломы, приводящие к тяжелой деформации конечностей. Тяжелая деформация позвоночника часто развивается со второго десятилетия жизни. Пациенты имеют низкий рост и обычно во взрослом возрасте прикованы к инвалидной коляске. Для больных с IV типом НО характерна нормальная окраска склер и промежуточная степень ломкости костей. Во взрослом возрасте они в большинстве случаев нуждаются в помощи при ходьбе. Наличие или отсутствие несовершенного дентиногенеза используется для подклассификации групп на подгруппы А и В. Стоматологические проблемы, включая несовершенный дентиногенез или прогнатию, распространены и могут привести к инвалидности, что требует стоматологической помощи [409]. V тип НО (с кальцинозом в межкостных мембранах и/или гипертрофической мозолью) впервые был описан в 1908 г. [129]. В 2004 году. Glorieux с соавторами впервые комплексно описали пациентов с клиническими проявлениями НО V типа: образование гиперпластической мозоли, вывих головки лучевой кости, окостенение межкостной мембраны и ограничение

вращения предплечья. Также был упомянут необычный гистологический рисунок кости – неравномерно расположенные «сетчатые» пластинки [519]. Классические проявления НО – несовершенный дентиногенез и прогрессирующее снижение слуха не характерны для данного типа НО, однако, встречаются единичные упоминания о пациентах с подобными фенотипическими признаками. Частота встречаемости деформация длинных трубчатых костей – 100%, сколиоза – 70% и компрессионных переломов позвонков – 50% [327]. С учетом удобства клинического применения модифицированной классификации Sillence, рекомендуется придерживаться ее при постановке диагноза. Интеграция имеющегося на сегодняшний день перечня патогенных вариантов и клинических фенотипов заболевания представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Современная классификация незавершенного остеогенеза

Тип	Название типа	Ген	Тип наследования
I	Недеформирующий тип с голубыми склерами	<i>COL1A1, COL1A2, SP7, BMP1, P3H1, PLS3</i>	АД, Х-сцепленный
II	Перинатально летальный, тяжелый	<i>COL1A1, COL1A2, CRTAP, P3H1, CREB3L1, PPIB, BMP1</i>	АД, АР
III	Прогрессивно деформирующий, умеренно тяжелый	<i>COL1A1, COL1A2, BMP1, CRTAP, FKBP10, P3H1, PLOD2, PPIB, SERPINF1, SERPINH1, TMEM38B, WNT1, CREB3L1, FAM46A</i>	АД, АР
IV	Вариабельный НО с голубыми склерами	<i>COL1A1, COL1A2, WNT1, CRTAP, PPIB, SP7, PLS3, TMEM38B, FKBP10, SPARC</i>	АД, АР, Х-сцепленный
V	Среднетяжелый НО с оссификацией межкостной мембраны предплечья	<i>IFITM5</i>	АД

#### 1.2.5.4 Лечение несовершенного остеогенеза

Цели лечения НО включают снижение частоты переломов, облегчение боли и стимулирование роста, подвижности и функциональной независимости пациентов. Учитывая множество скелетных и внескелетных проявлений, следует оказывать междисциплинарную помощь, сочетающую генетическое консультирование, ортопедическую хирургию, физиотерапию, стоматологическую экспертизу и другие узкоспециализированные направления в зависимости от симптомов и осложнений [417]. Ортопедическая помощь включает лечение переломов и оперативное лечение деформаций длинных костей и позвоночника [474]. Физиотерапия и реабилитация необходимы для развития моторики, повышения выносливости, облегчения боли, обретения независимости и помощи в восстановлении после хирургических процедур [183]. С точки зрения питания поддержание адекватного уровня витамина D и кальция важно для поддержания здоровья костей, а также для повышения эффективности и минимизации побочных эффектов использования бисфосфонатов, но дозу следует корректировать для предотвращения гиперкальциурии [491]. Основой лечения на данный момент является фармакологическая терапия, препараты которой можно условно разделить на две группы – антирезорбтивные и анаболические. Базовая группа антирезорбтивных препаратов – азотсодержащие бисфосфонаты (памидронат, алендронат, ризедронат и золедроновая кислота) улучшают костную массу и архитектуру, в некоторой степени снижают риск переломов [440]. Они ингибируют активность остеокластов и индукцию их апоптоза. Бисфосфонаты можно вводить перорально или внутривенно. Недавние исследования предполагают более высокий эффект внутривенных бисфосфонатов по сравнению с пероральными бисфосфонатами в улучшении минеральной плотности костей [86] и снижении частоты переломов [657]. Циклические инфузии бисфосфонатов уменьшают хроническую боль [194]. Бисфосфонаты, как правило, хорошо переносятся, и наиболее частые побочные эффекты включают раздражение желудочно-кишечного тракта при пероральном приеме и инфузионную реакцию острой фазы (гиперпирексия, миалгия и слабость), вероятно,

иммуноопосредованную, которая обычно возникает во время первой инфузии. Транзиторную гипокальцемию можно предотвратить путем предварительного назначения кальция и витамина D. Также недавнее когортное исследование предполагает снижение вероятности сколиоза, по крайней мере, при более легком НО I типа при применении бисфосфонатов [86]. Другим антирезорбтивным препаратом является деносумаб, который представляет собой человеческое моноклональное антитело, нацеленное на активацию рецептора лиганда ядерного фактора каппа-В (RANKL), цитокина, который опосредует остеокластогенез [145]. Таким образом, механизм действия подобен бисфосфонатам в том смысле, что он ингибирует активность остеокластов, подавляя резорбцию кости. Доклинические исследования на животных моделях показали дополнительный эффект, обеспечивающий долговременное формирование периостальной кости, что свидетельствует о потенциальном преимуществе перед бисфосфонатами [569]. Деносумаб вводят посредством подкожных инъекций (что может быть более удобным для пациентов и их семей по сравнению с внутривенными бисфосфонатами). В отличие от бисфосфонатов, он имеет короткий период полувыведения, составляющий примерно 30 дней. Терапия деносумабом была испытана на пациентах с НО типа VI (вызванным мутациями гена *PEDF*), которые плохо реагировали на терапию бисфосфонатами. Увеличение МПКТ было незначительным, сообщалось о гиперкальцемии и гиперкальциурии как во время (между дозами), так и после лечения деносумабом, а также были опасения по поводу быстрой потери костной массы после лечения [622]. Другое исследование у десяти пациентов с НО показало значительное увеличение МПКТ поясничного отдела позвоночника без существенных изменений в морфологии позвоночника или подвижности [541]. В настоящее время данные о клиническом использовании деносумаба при НО ограничены [573] и для решения этого вопроса продолжаются многоцентровые клинические испытания (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02352753>). Перспективными антирезорбтивными препаратами являются ромосозумаб и блосозумаб, которые представляют собой моноклональные антитела к склеростину, гликопротеину,

ингибирующему образованию костей посредством угнетения канонического сигнального пути Wnt в остеобластах [440]. Ромосозумаб недавно был одобрен для использования при остеопорозе. Доклинические исследования на животных моделях НО продемонстрировали положительное влияние терапии, ингибирующей склеростин, на формирование кости и МПКТ [440; 491; 544]. Данных о безопасности и эффективности применения данного препарата у пациентов с НО пока нет, препарат находится на стадии клинических исследований (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03216486>).

Остеоанаболическая терапия направлена на повышение активности остеобластов и формирование костей [325]. Препаратом с подобным действием является синтетический аналог паратиреоидного гормона (ПТГ) – тирепаратид. В настоящее время он одобрен для использования только у взрослых с остеопорозом, а опыт применения в лечении НО ограничен. Доклинические исследования на крысах, получавших лечение высокими дозами ПТГ, вызвали беспокойство по поводу риска развития остеосаркомы [554]. Из-за этого его клиническое применение ограничено в течение 24 месяцев, и он не применялся у детей. Рандомизированные плацебо-контролируемые клинические испытания терапии тирепаратидом у взрослых пациентов с НО показали значительное увеличение МПКТ при НО типа I, хотя терапия, по-видимому, не столь эффективна при умеренном и тяжелом НО типов III и IV [236; 258]. Абалопаратид (синтетический аналог родственного ПТГ пептида) продемонстрировал сильное влияние на анаболическую активность костей и может быть рассмотрен в будущем для лечения НО [143]. Гормон роста был предложен в качестве лечения НО для устранения дефицита роста и из-за его потенциального анаболического эффекта в костях. Раннее исследование показало, что часть пациентов, в основном с НО IV типа, может реагировать на лечение гормоном роста увеличением скорости линейного роста с умеренным улучшением плотности губчатой кости [497]. Другое исследование сравнило комбинацию гормона роста и терапии бисфосфонатами с монотерапией бисфосфонатами и показало синергетический эффект на скорость роста, но не влияние на риск переломов [308]. В целом

лечение гормоном роста оказалось менее эффективным при более тяжелом НО III типа. Недостаточно данных, подтверждающих его пользу при лечении НО, и в настоящее время этот подход не используется в стандартной клинической практике. Комбинированным эффектом обладает антитело против TGF $\beta$ . Антирезорбтивное и анаболическое лечение увеличивает костную массу, однако они не воздействуют на механистическую основу аномалий коллагена I типа и матрикса, которые лежат в основе хрупкости кости при НО. Исследования на животных моделях показывают, что непрерывная активация бета-сигналинга TGF приводит к низкой костной массе и хрупкости костей при НО, связанном с мутацией коллагена и посттрансляционной модификацией [262; 274]. Основываясь на этих данных, в настоящее время проводятся клинические испытания для оценки безопасности и эффективности ингибирования TGF-бета у взрослых пациентов с НО (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03064074>). Клеточная и генная терапия направлена на решение этой проблемы путем исправления генетического дефекта, хотя эти вмешательства связаны с этическими проблемами и проблемами безопасности и до сих пор считаются экспериментальными, а их широкое распространение остается проблемой [536].

Таким образом, патология соединительной ткани представляет собой актуальную проблему, связанную с вопросами классификации, диагностики и лечения. Несмотря на определенные успехи, все еще остается много вопросов, требующих как применения современных методов исследования и биоинформатической обработки, так и новых концептуальных подходов к исследованию заболеваний соединительной ткани в целом.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Структура и этапы исследования

Исследование проводилось в период с 2016 по 2022 годы и включало несколько когорт пациентов со структурными заболеваниями соединительной ткани – остеоартритом, остеопорозом, несовершенным остеогенезом и синдромом Эдерса-Данло. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

На I этапе исследования для каждого заболевания были проведены эпидемиологические исследования с оценкой распространенности в целом, и в отдельных городах и районах Республики Башкортостан с составлением карт распространенности.

На II этапе для каждой когорты пациентов были проведены клинико-инструментальные и молекулярно-генетические исследования, включающие в себя оценку диспластической стигматизации, исследование коморбидности патологий и ее факторов, с применением современных подходов и методик, а также разработанных нами анкет и опросников для каждой нозологии (Приложение 1). В рамках данного этапа, на основании результатов клинического исследования был осуществлен отбор пациентов для молекулярно-генетических исследований и поиска ДНК-маркеров.

На III этапе проведена разработка алгоритмов диагностики на основе выявленных клинико-генетических предикторов с применением методов многомерного статистического анализа, а также методов разработки персонализированной терапии. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ (протокол №5 от 17.05.2023), проводилось в соответствии с Хелсинкской декларацией Всемирной медицинской организации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта», все включенные в исследование подписали информированное согласие на участие.





Рисунок 1 – Схема проведения основных этапов исследования.

## **2.2 Эпидемиологические исследования**

В рамках эпидемиологического исследования изучены показатели распространенности остеоартрита, остеопороза, несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан, территориальные особенности и ряд дополнительных эпидемиологических характеристик, таких как половой и возрастной состав. Численность населения Республики Башкортостан на 01.01.2023 года составляет 4051005 человек, из них 1899317 мужчин и 2151688 женщин. Данные о численности населения республики в целом, о распределении населения по полу и по возрастным группам, а также о численности населения, проживающего в районах и городах республики, получены на официальном сайте Территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Республике Башкортостан [<https://02.rosstat.gov.ru/>]. Распространенность заболевания (болезненность, prevalence) вычислялась по формуле: «(Число первичных обращений по поводу заболеваний, выявленных в данном и в предыдущие годы / средняя численность населения) x 1000». Информация о частоте встречаемости заболеваний взята на основе отчетов ГКУЗ РБ Медицинский информационно-аналитический центр. Карты распространенности заболеваний составлены с использованием программного обеспечения Ms Paint 3D.

## **2.3 Характеристика обследованных лиц**

### **2.3.1 Характеристика когорты с остеоартритом**

Когорта лиц для исследования ОА составила 417 женщин, обследованных на наличие ОА в терапевтических отделениях городской клинической больницы № 18, Клиники БГМУ, а также в поликлиниках № 2, 18, 38 г. Уфы. Критериями включения пациентов в группу с остеоартритом были:

1. Возраст от 18 до 65 лет
2. Дебют заболевания в возрасте до 55 лет
3. Наличие у пациенток остеоартрита в соответствии с критериями Американской ассоциации ревматологов (1995), классификацией Насоновой В.А. и Астапенко М.Г, (1989), с рентгенологическим подтверждением.

Критериями исключения были:

1. Диффузные заболевания соединительной ткани
2. Возраст старше 65 лет
3. Инфекционный процесс
4. Предшествующая травма суставов и костей
5. Беременность и лактация
6. Нежелание участвовать в исследовании

Для постановки диагноза применяли критерии Althman (1991) и Американской ассоциации ревматологов (1995). Симптоматический остеоартрит подтверждался проведением рентгенограмм суставов в стандартных проекциях с дальнейшей классификацией по методике Kellgren-Lawrence. Группу женщин с ОА составили 256 пациенток, группу контроля – 161 женщина без признаков ОА. Генерализованный ОА диагностирован у 59 женщин (24,52 %), ОА коленного сустава – у 134 (52,26 %), ОА тазобедренного сустава – у 53 женщин (23,22 %). Стаж заболевания варьировал от 1 до 36 лет ( $13,83 \pm 8,2$  года). Возрастные характеристики каждой из исследуемых групп представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Основные характеристики выборки пациентов с ОА и контроля

Показатель	Женщины
ОА в целом	
Объем выборки, N	256
Показатель	Женщины
ОА в целом	
Возраст, лет, $M \pm m$	$55,74 \pm 8,64$
ИМТ, $кг/м^2$ , $M \pm m$	$25,43 \pm 5,99$
ОА тазобедренного сустава	
Объем выборки, N	53
Возраст, лет, $M \pm m$	$55,74 \pm 9,05$
ИМТ, $кг/м^2$ , $M \pm m$	$26,18 \pm 5,30$

## Продолжение таблицы 3

Показатель	Женщины
ОА коленного сустава	
Объем выборки, N	134
Возраст, лет, $M \pm m$	57,13 $\pm$ 7,98
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , $M \pm m$	28,12 $\pm$ 4,89
Генерализованный ОА	
Объем выборки, N	59
Возраст, лет, $M \pm m$	52,44 $\pm$ 9,18
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , $M \pm m$	26,32 $\pm$ 3,77
Контрольная группа	
Объем выборки, N	161
Возраст, лет, $M \pm m$	45,55 $\pm$ 12,55
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , $M \pm m$	25,32 $\pm$ 3,84

*Примечание: здесь и далее N – количество индивидов,  $M \pm m$  – среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего*

### 2.3.2 Характеристика когорты с остеопорозом

В когорту пациентов с остеопорозом вошли 987 женщин в постменопаузе (63,7 $\pm$ 8,9 лет) и 476 мужчин (63 $\pm$ 11,7 лет). В контрольную группу вошли лица без переломов и с нормальными значениями МПКТ по Т-критерию. Были сформированы группы сравнения в зависимости от наличия переломов, а также результатов изменения МПКТ (таблица 4). Критерием исключения являлся вторичный характер остеопороза.

Таблица 4 – Основные характеристики выборки пациентов с ОП и контроля

Показатель	Женщины	Мужчины
Пациенты с переломами		
Объем выборки, N	294	158
Возраст, лет, $M \pm m$	62,16 $\pm$ 7,95	60,48 $\pm$ 12,13

Продолжение таблицы 4

Показатель	Женщины	Мужчины
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , М±m	27,02±3,60	26,99±4,71
Пациенты без переломов		
Объем выборки, N	407	200
Возраст, лет, М±m	60,13±8,01	60,46±12,14
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , М±m	27,80±3,80	28,02±5,01
Показатель	Женщины	Мужчины
Пациенты с низким уровнем МПКТ		
Объем выборки, N	324	162
Возраст, лет, М±m	62,165±7,949	60,473±12,142
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , М±m	27,04±3,60	28±5,04
Пациенты с нормальным уровнем МПКТ		
Объем выборки, N	172	278
Возраст, лет, М±m	60,23±7,97	60,44±12,11
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , М±m	28,12±4,91	27,61±4,65

Для проведения фармакогенетических исследований была сформирована отдельная когорта пациентов, для обеспечения максимальной гомогенности выборки. Она состояла из 295 женщин постменопаузального (68,45±11,87 лет) возраста, с установленным диагнозом «остеопороз». Каждая пациентка проходила ежегодное обследование, включавшее в себя осмотр ортопеда-травматолога, измерение минеральной плотности костной ткани, определение уровня витамина Д в сыворотке крови. Пациентки получали терапию согласно клиническим рекомендациям – алендроновая кислота 70 мг 1 раз в неделю + колекальциферол 2000 Ме и кальций 1000 мг ежедневно.

### 2.3.3 Характеристика когорты с несовершенным остеогенезом

В исследование включены 64 пациента (средний возраст 24,6±15,56 лет) из 54 семей, проживающих в Республике Башкортостан. Диагноз «несовершенный

остеогенез» был установлен медицинскими генетиками в период с 2000 по 2021 годы. Обследуемые проживают на территории Республики Башкортостан и состоят на учёте в ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр» (г. Уфа). В результате устного опроса и по анкетным данным, мы выяснили, что 54 пробанда и 10 членов их семей относятся к следующим этническим группам: русские – 42,1% (27/64); татары – 35,3% (23/64); башкиры – 10,9% (7/64); метисы – 6,2% (4/64); марийцы – 3,1% (2/64); таджики – 1,5% (1/64). При определении пациента к тому или иному этносу, учитывалась национальная принадлежность его родителей и родственников до третьего поколения. В контрольную выборку включены ДНК 50 человек с нормальным уровнем минеральной плотности костной ткани. Они были отобраны по аналогичным критериям с исследуемыми пациентами – по полу, возрасту и национальности.

Для углубленного клинического обследования были отобраны 12 пациентов от 19 до 33 лет (средний возраст  $26,75 \pm 7,31$  лет), из них 6 мужчин и 6 женщин. Было проведено комплексное исследование состояния опорно-двигательного аппарата с применением клинических (осмотр, опрос, заполнение индексов боли), лабораторных (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализы крови) и инструментальных (ЭхоКГ, УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства, рентгеновская денситометрия, сцинтиграфия) методов обследования. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

#### **2.3.4 Характеристика когорты с синдромом Элерса-Данло**

В исследование включено 43 пациента (средний возраст  $28,6 \pm 7,44$  лет) из 37 семей с синдромом Элерса-Данло, проживающих на территории Республики Башкортостан. Диагноз «синдром Элерса-Данло» был установлен медицинскими генетиками в период с 2000 по 2021 годы. Обследуемые проживают на территории Республики Башкортостан и состоят на учёте в ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр» (г. Уфа). Согласно классификационным критериям, все пациенты были отнесены к I (классическому) типу синдрома Элерса-Данло. По этническому составу выборка была

представлена 22 (51,1%) пациентами русской этнической принадлежности, 14 (32,5%) пациентами татарской этнической принадлежности, 4 (9,3%) метисами и 3 (6,8%) пациента башкирской этнической принадлежности. Для углубленного обследования отобрано 5 пациентов с синдромом Элерса-Данло.

#### **2.4 Оценка диспластической стигматизации**

Клинические проявления и выраженность дисплазии соединительной ткани оценивали с помощью алгоритма, основанного на балльно-количественной оценке признаков [67]. Признаки выявлялись при сборе анамнеза, объективном осмотре, а также с применением методов инструментальной диагностики. Фенотипические проявления были сгруппированы в зависимости от диагностической ценности, выраженной в баллах, после завершения обследования проводился подсчет суммы баллов. В зависимости от общего количества баллов проводилась оценка наличия дисплазии соединительной ткани: менее 8 баллов – отсутствие дисплазии, 9 – 14 баллов – дисплазия легкой степени, более 15 баллов – выраженная дисплазия.

Гиперэластичность кожи выраженной степени, опущение внутренних органов, долихостеномелия, пролапс митрального клапана с регургитацией III-IV, гипермобильность суставов выраженной степени, варикозная болезнь нижних конечностей тяжелой степени, грыжи, килевидная или воронкообразная деформация грудной клетки оценивались в 3 балла, келлоидные рубцы, атрофические стрии, геморрагический синдром, хруст и подвывих височно-нижнечелюстного сустава (ВЧС), гипермобильность суставов легкой степени, патологический кифоз или гиперлордоз позвоночника, плоскостопие, пролапс митрального клапана регургитацией 0-II, варикозная болезнь нижних конечностей легкой степени, миопия тяжелой степени, деформация желчного пузыря, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь – в 2 балла, астенический тип конституции, дефицит массы тела (индекс массы тела  $< 15$ ), парадонтит, вальгусная установка стоп, миопия легкой степени, хруст в суставах, артериальная гипотензия – в 1 балл.

## 2.5 Инструментальные методы обследования

Была проведена инструментальная диагностика состояния костной и хрящевой ткани, а также других органов и систем, которая включала в себя рентгеновскую денситометрию в различных режимах, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек, эхокардиографию, сцинтиграфию костей скелета.

Рентгеновская денситометрия проводилась на аппарате Lunar Prology (США) в стандартных точках (согласно позициям ISCD 2015/2019 – поясничный отдел позвоночника, шейка бедренной кости), а также с применением программного режима Total body. Исследование проводил персонал, имеющий сертификат рентгенолога и прошедший обучение на конкретном приборе. Рентгеноконтрастные предметы (застежки, металлизированная нить, фольга, денежные знаки и т.п.) удаляли из области сканирования. При исследовании поясничных позвонков для устранения поясничного лордоза ноги пациента укладывали на специальный куб. При исследовании проксимального бедра для того, чтобы шейка бедра располагалась параллельно поверхности стола, стопу пациента фиксировали в положении ротации внутрь. При денситометрии по программе «Все тело» («Whole body») удаляли все рентгеноконтрастные предметы и контролировали неподвижное положение пациента в течение всего сеанса исследования. Полученные результаты сравнивали с референсной базой (NHANES III) и вычислением как абсолютной минеральной плотности костной ткани ( $\text{г/см}^2$ ), так и T/Z критериев. T-критерий – разница между измеренным значением МПКТ и средним показателем пика костной массы молодых женщин в возрасте 20–29 лет. Результат сравнения представляется в стандартном отклонении. T-критерий используется только для женщин в постменопаузе и мужчин старше 50 лет. Значение T-критерия при диагностике ОП по критериям ВОЗ менее – 2,5 среднеквадратических отклонений (СКО) в одном из трех регионов центральной денситометрии соответствует наличию остеопороза. Z-критерий – разница между измеренным значением МПКТ и средним показателем МПКТ у здоровых мужчин и женщин аналогичного возраста. Результат сравнения



представляется в стандартном отклонении. Применение Z-критерия является предпочтительным при необходимости подготовки заключения по данным МПК у женщин в предменопаузальном периоде и у мужчин моложе 50 лет. Значения Z-критерия ниже  $-2,0$  СКО определяется как «ниже ожидаемого значения для данного возраста», а Z-критерий выше  $-2,0$  СКО «находится в пределах ожидаемого диапазона для данного возраста».

Ультразвуковое исследование органов брюшной проводили на аппарате Aixplorer (Super Sonic Imagine, Франция) с конвексным датчиком 1–6 МГц (В-режим, режим цветового и энергетического доплеровского картирования). Во время исследования все квадранты брюшной полости от мечевидного отростка области до таза были тщательно изучены с оценкой расположения, размеров, контуров, эхогенности и эхоструктуры паренхимы органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Трансторакальная ЭхоКГ проводилась на ультразвуковом аппарате экспертного класса Vivid E9 (GE Healthcare) матричным секторным фазированным датчиком частотой 3,5 МГц в В-, М- и доплеровских режимах по стандартной методике [271]. Исследование проводилось после 15 минут отдыха из стандартных эхокардиографических позиций с синхронной записью ЭКГ: парастернальная позиция по длинной и короткой оси, апикальная 2-, 4- и 5-камерная позиция, субкостальная и супрастернальная позиции. Для улучшения качества визуализации пациента укладывали на левый бок с приподнятой верхней частью туловища на  $45^\circ$ , при этом левая рука находилась под головой, а правая – вытянута вдоль туловища.

Сцинтиграфия проводилась в Лаборатории радионуклидной диагностики Клиники БГМУ. После введения радиофармпрепарата ( $740$  МБк  $Tc-99m$  пирфотех) отсроченное изображение было получено через 3–4 часа после введения с использованием двойной гамма-камеры (GE NM/CT Discovery 670, США), оснащенной низкоэнергетическим коллиматором высокого разрешения. Измерение количества трассеров в ROI анализировали с помощью программного обеспечения, предоставленного поставщиком (Xeleris 4.0, GE, США). Для

эталонного измерения стандартную область интереса (ROI) диаметром 2 см располагали в средних третях правых и левых плечевых, локтевых, бедренных, большеберцовых костей, телах грудных и поясничных позвонков. Динамика накопления радиофармпрепарата оценивалась в том числе на фоне терапии.

## 2.6 Молекулярно-генетические методы исследования

Геномную ДНК обследуемых выделяли из цельной венозной крови методом экстракции фенол-хлороформом [Mathew et al., 1984]. Концентрацию ДНК измеряли с помощью спектрофотометра Epoch-1 (BioTek, США) и Qubit (Thermo Fisher Scientific, США). Для определения распределения аллелей и генотипов исследованных локусов производили ПЦР в реальном времени с применением технологии TaqMan и KASP на базе амплификатор CFX96 «Thermal Cycler 1000» (BioRad) и системы для проведения ПЦР в режиме реального времени QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). Характеристики исследованных локусов представлены в приложении 2. Для определения изменений нуклеотидной последовательности в гене альфа цепи коллагена V типа (*COL5A1*) был использован метод анализа конформационного полиморфизма однонитевой ДНК- SSCP-анализ (SSCP – Single Strand Conformation Polymorphism) по методике, описанной ранее Хусаиновой Р.И. [73]. Секвенирование ДНК по Сэнгеру производилось с использованием секвенатора Applied Biosystems 3500x1 по методике, описанной ранее Шаповаловой Д.А. [76]. Массовое параллельное секвенирование (секвенирование нового поколения, NGS) с использованием различных таргетных панелей у пациентов с наследственными формами патологии соединительной ткани проводилось в несколько этапов:

- На первом этапе было проведено целевое NGS-секвенирование генов коллагена I и V типов (*COL1A1*, *COL1A2*, *COL5A1*, *COL5A2*) в соответствии с высокой частотой (85-90 %) мутаций в этой локализации. Для анализа мутаций в генах *COL1A1* и *COL1A2* была разработана панель праймеров для секвенирования полной последовательности генов с помощью направленного массового параллельного секвенирования (MPS). Обогащение интересующих регионов генома проводили методом ПЦР длинных фрагментов с использованием набора

BioMaster LR HS-PCR-Color (2x) ("Биолабмикс", Россия) с получением фрагментов на амплификаторе SureCyler 8800 (Agilent Technologies, США). Наличие амплифицированных продуктов проверяли с помощью агарозного геле-электрофореза. Библиотеки ДНК готовили с помощью набора Nextera Flex kit (Illumina, США) в соответствии с рекомендованным производителем протоколом. МПС проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора для секвенирования MiSeq Reagent Kit V2 (Illumina, США) в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем. Полученные в результате MPS данные подвергались биоинформационной обработке, которая включала следующие основные этапы: оценка качества показаний с помощью программы FastQC, удаление адаптеров и обрезка последовательности с помощью пакета Trimmomatic-0.36, выравнивание по целевым последовательностям с помощью Bowtie2, конвертация в bam-файлы, их сортировка и преобразование в формат VCF с помощью набора утилит Samtools. Исследование проводилось с использованием панелей и протоколов, разработанных коллективом исследователей совместно с фирмой "Parseq Lab" (Санкт-Петербург, Россия).

- на втором этапе было проведено целевое NGS секвенирование 13 генов, продукты которых участвуют в модификации коллагена у пациентов без мутаций в генах коллагена I и V типов. Молекулярно-генетическая диагностика пациентов проводилась в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии" Минздрава России, г. Москва. Для ДНК-диагностики использовалась панель праймеров для мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования по технологии Ion Ampliseq™ Custom DNA Panel (Life Technologies, США), которая включала 13 генов, продукты которых участвуют в модификации коллагена. Подготовка библиотеки и эмульсионная ПЦР проводились в соответствии с рекомендациями производителя. Подготовительный этап – подготовка библиотек ДНК: амплификация исследуемых областей генома, присоединение к ним адаптеров с 10 штрих-кодами, очистка ли-блиотек; амплификация библиотек на микрочастицах и

обогащение микрочастиц, содержащих ДНК-шаблоны. Далее проводилась расшифровка последовательности ДНК (секвенирование на полупроводниковом секвенаторе Personal Genome Machine (Ion Torrent, Life Technologies, США). Биоинформационную обработку результатов секвенирования проводили с использованием программного модуля Torrent Suite 4.2.1 (Ion Torrent, Life Technologies, США) и пакета программ Anovar (версия 2014Nov12).

- на третьем этапе было проведено целевое NGS секвенирование 166 генов, участвующих в костном метаболизме соединительной ткани у пациентов с отсутствием патогенных изменений на предыдущих этапах исследования. Анализ проводился в Медико-генетическом научном центре (МГНЦ), Москва, на приборе ION S5 (Thermo Fisher Scientific, США). Глубина считывания не менее  $\times 110$ . Это означает, что каждый исследуемый участок генома анализируется в среднем не менее 110 раз, чтобы избежать влияния технических ошибок чтения на результаты исследования. Для сложных областей генома (например, богатых GC) средний охват мог быть ниже.

- на четвертом этапе было проведено целевое NGS-секвенирование 664 генов, участвующих в метаболизме соединительной ткани, у пациентов с отсутствием мутаций в генах целевых панелей предыдущих этапов исследования. Молекулярно-генетическая диагностика пациентов проводилась в лаборатории молекулярной патологии "Геномед", Москва с использованием платформ MGISEQ-200 и наборов фирмы-производителя (Beijing Genomics Institute, КНР). Для молекулярно-генетического анализа использована авторская панель "Болезни соединительной ткани". Анализ ДНК проведен с использованием технологии секвенирования нового поколения по методу парного чтения. Среднее покрытие целевых сайтов секвенирования в исследуемых генах составляет не менее  $70\times$ . Обработка данных секвенирования проводится с помощью автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание считываний с референсной последовательностью генома человека (hg19), постобработку выравнивания, идентификацию вариантов и фильтрацию вариантов по качеству.

Все выявленные мутации были подтверждены секвенированием по методу Сэнгера для пациентов и ближайших родственников с использованием генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific Inc.) и набора BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit согласно протоколу производителя (Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific). Аннотацию выявленных вариантов в соответствии с каноническим транскриптом каждого гена и их приоритезацию с учетом рекомендаций ACMG версии 3.0. Для описания вариантов нуклеотидной последовательности использовали стандартную номенклатуру ([www.hgvs.org](http://www.hgvs.org)). Для картирования последовательности секвенированных участков при биоинформатической обработке использовали референсную геномную последовательность, расположенную на ресурсе RefSeq Национального центра биотехнологической информации. Геномные координаты определялись в соответствии со стандартом геномной сборки (GRCh38). Клиническую значимость и фенотипические проявления вариантов нуклеотидных последовательностей определяли с использованием баз данных OI и на основе данных Exome Aggregation Consortium, а также на основании литературных данных.

Для оценки функциональной значимости выявленных изменений нуклеотидной последовательности в генах-мишенях использовали различные базы данных и прогностические программы. Поиск ранее описанных вариантов проводили в базах данных секвенирования экзомов (Exome Aggregation Consortium; Exome Variant Server), геномного и целевого секвенирования (1000 Genomes Project), однонуклеотидных вариантов (dbSNP) и структурных вариаций (dbVar), специализированной базе данных по мутациям и полиморфным вариантам для НО (Osteogenesis Imperfecta Variant Database). Если нуклеотидный вариант не был ранее описан в литературе и не представлен в базах данных или информация о нем недостаточна, для решения вопроса о его значимости проводился анализ патогенности выявленных вариантов генов с использованием прогностических программ SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), FATHMM (Functional Analysis through Hidden Markov Models), MutationAssessor, PolyPhen2

(Polymorphism Phenotyping v-2), Condel (Consensus Deleteriousness), MutationTaster, MutPred (Mutation Prediction), Align GVGD (Align Grantham Variation/Grantham Deviation) и PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer).

## 2.7 Статистическая обработка данных

Анализ полученных данных был выполнен с использованием широко применяемых методов вариационной статистики и стандартных программных пакетов, таких как Microsoft Excel 2013 и Statistica 6,0. Для создания базы данных использовался редактор электронных таблиц MS Excel. Предварительно с целью выбора оптимального метода статистического анализа проводилась оценка нормальности распределения с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении (параметрической статистике) данные описывались в форме  $M \pm m$ , где  $M$  представляет среднее значение,  $m$  – стандартное отклонение. В то же время, при ненормальном распределении (непараметрической статистике) использовалась форма  $Me [Q1; Q3]$ , где  $Me$  – медиана,  $Q1/Q3$  – первый и третий квартили. При сравнении данных между группами в зависимости от распределения данных и объема выборки применялись параметрические методы (t-критерий Стьюдента) и непараметрические методы ( $\chi^2$ , критерии Краскелла-Уоллиса и Манна-Уитни).

Размер выборки был определен путем проведения анализа мощности статистического теста с использованием специальных калькуляторов <http://osse.bii.a-star.edu.sg/calculation2.php> и <http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/gpc/cc2.html>.

Для сравнения частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля был использован критерий  $\chi^2$ . Для таблиц сопряженности  $2 \times 2$  применялся критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность в случае, если частота хотя бы в одной ячейке таблицы была меньше или равна 5.

Проведена оценка степени ассоциации с применением показателя отношения шансов (Odds Ratio, OR), который рассчитывается по формуле:  $OR = (a \times d) / (b \times c)$ , где  $a$  – частота аллеля (генотипа) в выборке больных,  $b$  – частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке,  $c$  – сумма частот остальных аллелей

(генотипов) в выборке больных,  $d$  – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке (Реброва с соавт., 2003). Анализ неравновесия по сцеплению был проведен с помощью программы Haploview 4.2 (<http://www.chgb.org.cn/lda/lda.htm>).

Поправку на множественность сравнений осуществляли, вычисляя значение FDR (false discovery rate – Benjamini–Hochberg) с применением онлайн-калькулятора (<https://tools.carbocation.com/FDR>).

Мета-анализ результатов для определения гетерогенности выборки проводили с использованием программы Plink 1.07 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/index.shtml>), рассматривая модели с фиксированным (метод Мантеля–Хензеля) и случайным эффектами (метод Дерсимоняна–Лэйрда). Для оценки статистической гетерогенности использовали  $Q$  критерий Кохрена, уровень гетерогенности определяли при помощи статистического критерия  $I^2$  (доля изменчивости, обусловленная неоднородностью выборок). Обобщение результатов проводилось с применением метода многофакторной логистической регрессии с построением ROC-кривых; состоятельность итоговых уравнений регрессии оценивали путем вычисления площади под кривой (AUC- area under ROC curve), как было описано ранее в работе Шаповаловой Д.А. [76].

Расчет полигенной оценки риска (PRS) проводился с использованием программного обеспечения Plink 1.09 и рассчитывался путем суммирования эффектов аллелей риска, взвешенных по величине эффекта аллелей риска (OR). PGS, полученные для каждого индивидуума, были дополнительно нормализованы с помощью скрипта нормализации программного обеспечения R-studio версии 1.4.1717. Формула для расчета PGS выглядит следующим образом [31]:

$$PRS = \frac{\sum_i^N S_i * G_{ij}}{P * M_j}$$

где  $S_j$  – размер эффекта (OR);  $G_{ij}$  – наблюдаемое число аллелей риска;  $P$  – плотность выборки (2 для людей);  $N$  – общее число полиморфных вариантов;  $M_j$  – число отсутствующих генотипов в анализируемом массиве.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Анализ распространенности наследственных и многофакторных заболеваний соединительной ткани в Республике Башкортостан

Республика Башкортостан является регионом Приволжского Федерального округа и частью Уральского экономического района. Площадь ее составляет 142 947 км<sup>2</sup>. Республика в рамках административно-территориального устройства делится на следующие административно-территориальные единицы: 8 городов республиканского значения и 54 района, включающие 12 городов районного значения, 2 рабочих посёлка, 828 сельсоветов. Численность населения республики по данным Госкомстата России на 2023 год составляет 4 077 600 человек. По численности населения Башкортостан является лидером среди республик. Городское население — 62,23%, в сельской местности приживают 37,77% жителей республики. В столице республики, городе Уфе и прилегающем к ней Уфимском муниципальном районе проживает 31,34% населения. Наименее плотно населёнными являются Зилаирский (3 чел./км<sup>2</sup>), Белорецкий (3,7 чел./км<sup>2</sup>) и Бурзянский муниципальные районы (4 чел./км<sup>2</sup>). Наибольшая плотность сельского населения отмечается в Уфимском (37 чел./км<sup>2</sup>), Кармаскалинском (30 чел./км<sup>2</sup>), Чишминском (29 чел./км<sup>2</sup>) и Туймазинском (27 чел./км<sup>2</sup>) муниципальных районах. Более 60% численности населения республики сконцентрировано в предуральской и южной природно-климатических зонах. В трех природно-климатических зонах (предуральской, южной и северной) сконцентрировано около 83% населения республики. Отдельно следует выделить Башкирское Зауралье, которое объединяет городской округ город Сибай, муниципальные районы Абзелиловский, Баймакский, Бурзянский, Зианчуринский, Зилаирский, Учалинский, Хайбуллинский районы Республики Башкортостан. Площадь региона – 40062 кв. км (27,9 % площади Республики Башкортостан). Численность населения в 2023 году составила 344271 человек (8,47 % численности населения республики). Данный регион был в течение длительного времени географически изолирован от основной части республики, что, в том числе, оказало влияние на распространённость ряда заболеваний.



Зауралье Республики Башкортостан представляет собой относительно обособленный регион компактного проживания башкир, имеющих специфические историко-культурные традиции. Согласно С.И.Руденко, данная территория является юго-восточным районом восточной области расселения башкир, т.к. местное население имело общие черты физического типа, а также сходство в быту и культуре. Кроме этого, исследователем в Зауралье отдельно выделена северная подобласть, жители которой отличались от своих соседей особенностями хозяйственной и культурной жизни [58]. В настоящее время города юго-восточного Башкортостана лидируют по уровню представительства башкир. В них сложилась специфическая этноязыковая и этнокультурная ситуация, создавшая условия для формирования в Зауралье башкирской урбанизированной культуры. Сибай, Баймак, Учалы можно рассматривать как своеобразный конгломерат «башкирских» городов, играющих важную роль в приобщении башкирского этноса к городскому образу жизни [71].

По этническому составу 36,3% населения республики составляют русские, 29,8% – башкиры, 24,1% – татары. Коренное население республики — башкиры. В республике также проживают чувашаи, марийцы, украинцы, мордва, немцы и представители порядка 150 других национальностей. Старение населения является одним из четырех глобальных демографических трендов и является актуальной проблемой для Республики Башкортостан. Удельный вес населения в возрасте старше 65 лет в республике составил 14% на начало 2020 года, в целом по России данный показатель составляет 15%. Однако население Башкортостана остается более молодым (На 2020 год – 39,21 лет), чем в среднем по России (40,23 лет) и является самым «молодым» в ПФО. Более молодым в республике является городское население, как по показателям среднего возраста, так и по доле пожилого населения.

### **3.1.1 Анализ распространенности остеоартрита и остеопороза в Республике Башкортостан**

Нами проведена оценка распространенности остеоартрита и остеопороза в Республике Башкортостан в целом, а также в отдельных районах и городах.

Динамика изменения показателей распространенности этих заболеваний в целом по республике в период с 2020 по 2022 годы представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Динамика распространенности остеоартрита и остеопороза в Республике Башкортостан в 2020-2022 годы

Год	ОА (М15-М19)			ОП (М80-М85)		
	Женщины, ‰	Мужчины, ‰	Всего, ‰	Женщины, ‰	Мужчины, ‰	Всего, ‰
2020	20,04	8,91	28,95	0,23	0,03	0,27
2021	22,01	9,39	31,39	0,25	0,03	0,29
2022	25,12	11,42	36,55	0,45	0,08	0,54

В динамике общая распространенность ОА варьируется от 28,95‰ в 2020 году, повышаясь до 36,55‰ в 2022 году. Ежегодно сохраняется более, чем двукратное превышение частоты встречаемости заболевания у женщин по сравнению с мужчинами. Отдельно был проведен анализ распространенности остеоартрита в районах и городах РБ. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Распространенность остеоартрита в городах и районах Республики Башкортостан в 2021 году

№ на карте	Город/район	Распространенность, ‰
53	Чекмагушевский район	51,71
20	Илишевский район	49,45
57	Янаульский район	44,56
46	Альшеевский район	43,15
24	г. Стерлитамак и Стерлитамакский район	40,43
26	Дюртюлинский район	40,16
58	г. Уфа и Уфимский район	39,59
7	Бакалинский район	39,06
19	Татышлинский район	38,05

Продолжение таблицы 6

№ на карте	Город/район	Распространенность, ‰
21	г.Нефтекамск	36,97
39	Салаватский район	36,63
51	г.Кумертау и Куюргазинский район	36,61
25	Давлекановский район	36,50
32	Калтасинский район	36,05
8	Балтачевский район	35,39
41	Дуванский район	35,22
36	Краснокамский район	35,17
47	Стерлибашевский район	34,99
3	Архангельский район	34,80
43	Миякинский район	34,79
54	Чишминский район	34,73
44	Кугарчинский район	34,50
17	Бураевский район	34,33
10	Белокатайский район	32,54
40	Мелеузовский район	31,90
42	Мишкинский район	31,36
12	Бижбулякский район	31,06
18	Бурзянский район	30,72
56	Благоварский район	30,61
37	Гафурийский район	30,01
48	Аургазинский район	29,94
15	Мечетлинский район	29,82
27	Ермекеевский район	29,58
33	Караидельский район	28,95
38	Кушнаренковский район	28,57

Продолжение таблицы 6

№ на карте	Город/район	Распространенность, ‰
55	Шаранский район	28,54
11	Белорецкий район	28,36
50	Федоровский район	28,16
5	Аскинский район	27,93
23	ГБУЗ РБ ГБ №1 г.Октябрьский	27,53
45	Нуримановский район	27,13
28	Зилаирский район	27,13
31	Ишимбайский район	26,80
2	Хайбуллинский район	26,79
16	Буздякский район	26,41
35	Кигинский район	26,34
1	Учалинский район	25,38
34	Кармаскалинский район	25,18
52	г.Сибай	24,23
49	Туймазинский район	24,22
9	Белебеевский район	24,15
4	Абзелиловский район	23,34
6	Баймакский район	21,48
30	Зианчуринский район	21,46
14	Благовещенский район	21,32
22	г.Салават	19,87
13	Бирский район	19,64
29	Иглинский район	15,65

В целом заболеваемость варьировала от 15,65‰ в Иглинском районе до 51,71‰ в Чекмагушевском районе республики. Распространенность в крупных

городах отличалась незначительно – в Уфе 39,59‰, в Стерлитамаке – 40,43‰, в Нефтекамске – 36,97 случаев на 1000 населения. Также была проведена оценка особенностей распространенности заболевания в различных географических и природно-климатических зонах (рисунок 2).

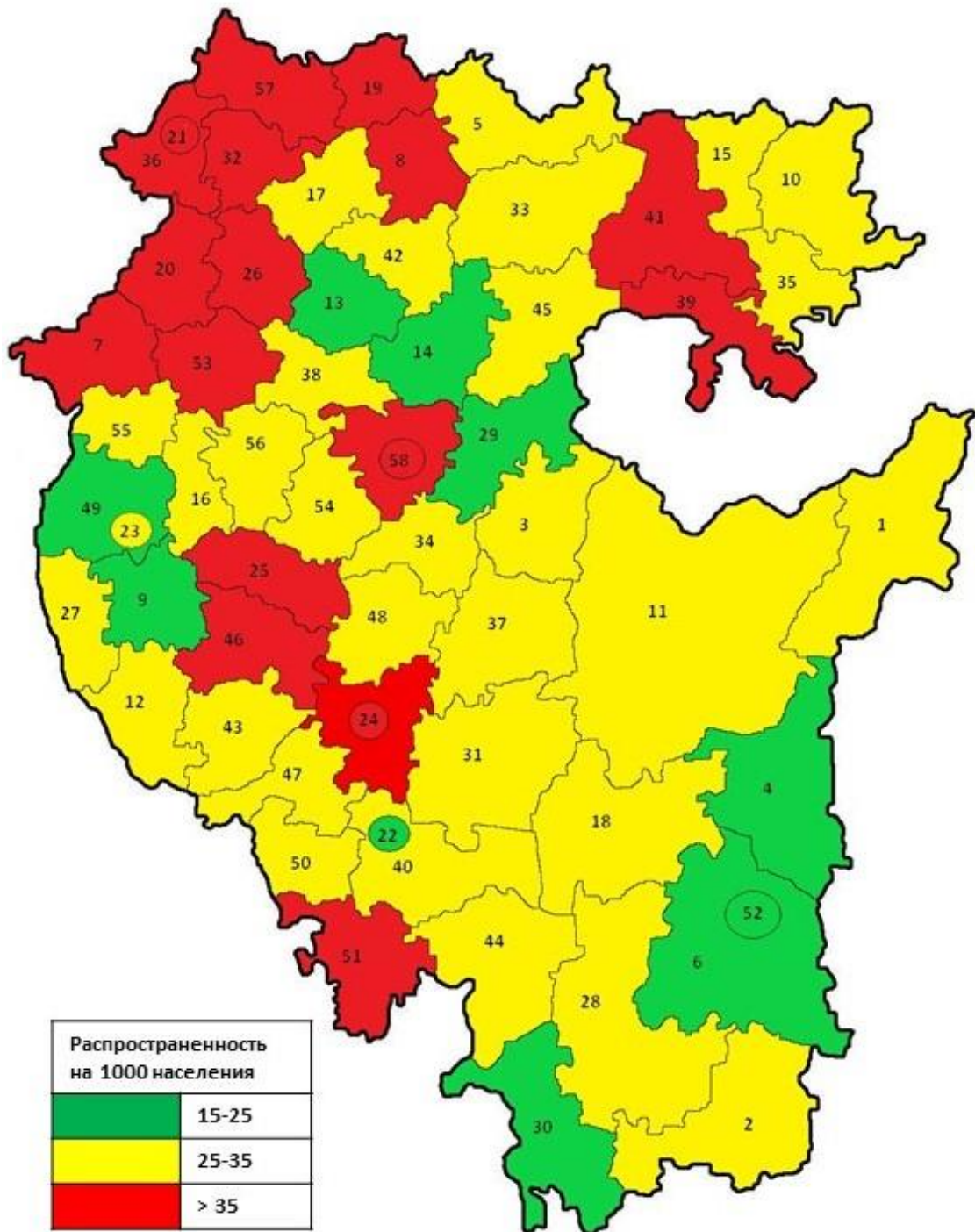


Рисунок 2 – Территориальный анализ распространенности ОА в Республике Башкортостан. Нумерация городов и районов соответствует таблице 8.

Отмечается более высокая распространенность ОА в северной зоне (Илишевский район – 49,45 случаев на 1000 населения, Янаульский район – 44,56 случаев на 1000 населения, Дюртюлинский район – 40,16 случаев на 1000 населения), наименьшая – в предуральской и в западных регионах республики (Абзелиловский район – 23,34 случая на 1000 населения, Баймакский район – 21,48 случаев на 1000 населения, Белебеевский район – 24,15 случаев на 1000 населения, Туймазинский район – 24,22 случая на 1000 населения). Карта распространенности ОА в Республике Башкортостан представлена на рисунке 2.

Аналогичным образом была проведена оценка распространенности остеопороза в Республике Башкортостан. Уровень ее был значительно ниже, чем распространенность ОА, составляя от 0,27‰ населения в 2020 году до 0,54‰ в 2022 году. Распространенность среди женщин была еще более высокой по сравнению с остеоартритом. Отдельно был проведен анализ распространенности остеопороза в районах и городах республики (таблица 7).

Таблица 7 – Распространенность остеопороза в городах и районах Республики Башкортостан в 2021 году

№ на карте	Город/район	Распространенность, ‰
57	Янаульский район	24,14
10	Белокатайский район	5,57
37	Гафурийский район	5,19
21	г.Нефтекамск	3,79
53	Чекмагушевский район	3,20
58	г. Уфа и Уфимский район	2,56
20	Илишевский район	2,30
5	Аскинский район	2,26
25	Давлекановский район	2,21
38	Кушнаренковский район	2,13

Продолжение таблицы 7

№ на карте	Город/район	Распространенность, ‰
1	Учалинский район	2,13
17	Бураевский район	2,10
8	Балтачевский район	1,86
51	г.Кумертау и Куюргазинский район	1,71
52	г.Сибай	1,70
47	Стерлибашевский район	1,58
50	Федоровский район	1,58
36	Краснокамский район	1,54
23	г.Октябрьский	1,54
7	Бакалинский район	1,43
4	Абзелиловский район	1,35
22	г.Салават	1,32
14	Благовещенский район	1,31
6	Баймакский район	1,29
16	Бuzдякский район	1,24
24	г. Стерлитамак и Стерлитамакский район	1,22
9	Белебеевский район	1,20
43	Миякинский район	1,14
35	Кигинский район	1,07
40	Мелеuzовский район	1,04
3	Архангельский район	1,03
31	Ишимбайский район	1,03
39	Салаватский район	1,02
34	Кармаскалинский район	0,99
48	Аургазинский район	0,96
44	Кугарчинский район	0,93

Продолжение таблицы 7

№ на карте	Город/район	Распространенность, ‰
46	Альшеевский район	0,93
15	Мечетлинский район	0,85
18	Бурзянский район	0,84
32	Калтасинский район	0,84
13	Бирский район	0,83
49	Туймазинский район	0,80
19	Татышлинский район	0,76
11	Белорецкий район	0,72
26	Дюртюлинский район	0,66
54	Чишминский район	0,63
55	Шаранский район	0,60
12	Бижбулякский район	0,59
29	Иглинский район	0,57
33	Караидельский район	0,56
30	Зианчуринский район	0,52
42	Мишкинский район	0,44
56	Благоварский район	0,44
45	Нуримановский район	0,35
41	Дуванский район	0,32
2	Хайбуллинский район	0,30
27	Ермекеевский район	0,19
28	Зилаирский район	0,00

Максимальная распространенность остеопороза в республике была выявлена в Янаульском районе и составляла 24,14‰, что значительно превышало средние показатели. Помимо данного результата, значения распространенности



лежали в интервале от 5,57‰ в Белокатайском районе до 0,19‰ в Ермекеевском районе, при этом в Зилаирском районе республики не было выявлено ни одного случая остеопороза в 2021 году. Географический анализ распространенности ОП представлен на рисунке 3.

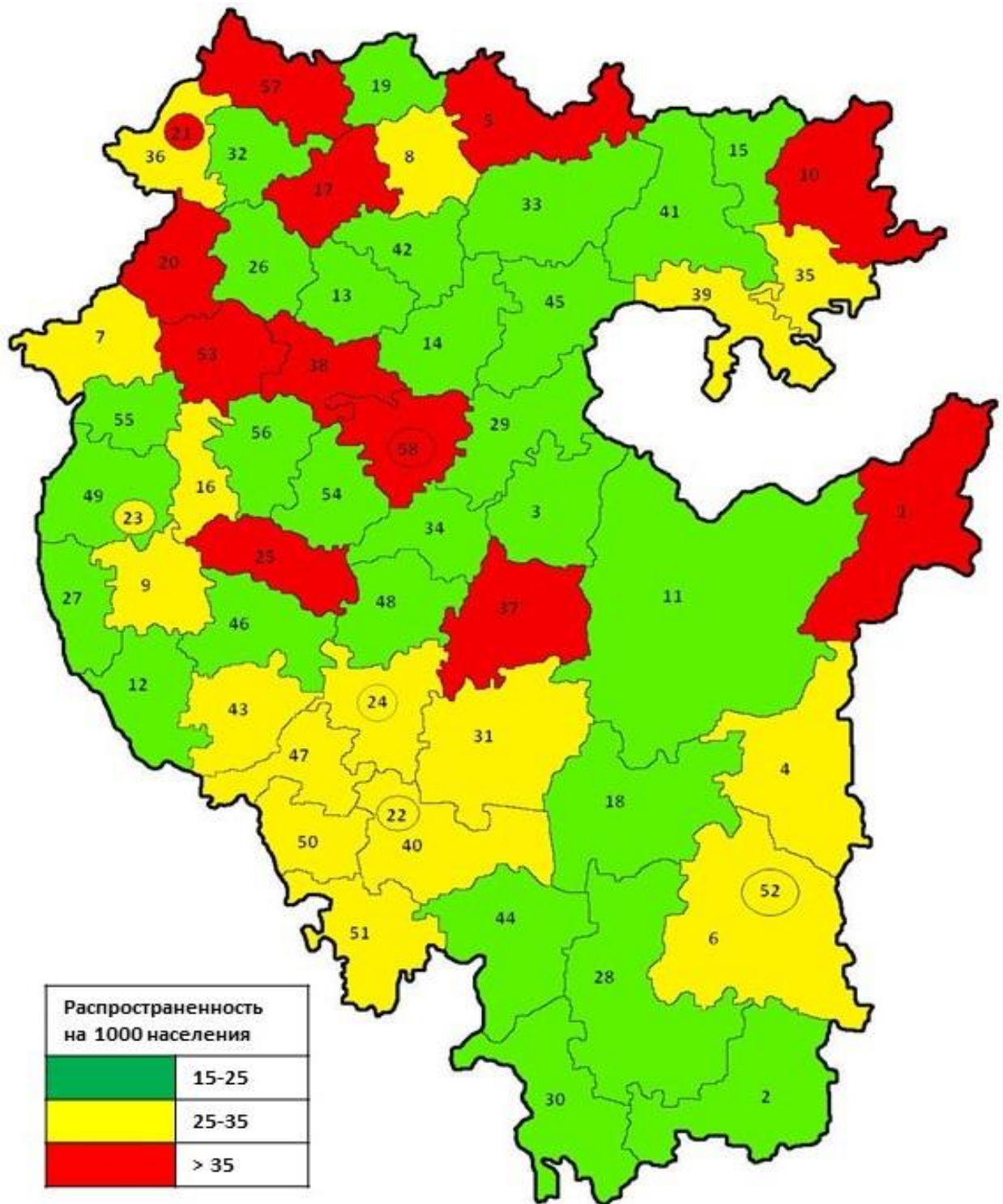


Рисунок 3 – Территориальный анализ распространенности ОП в Республике Башкортостан. Нумерация городов и районов соответствует таблице 9

Как и при анализе распространенности ОА, обращает на себя внимание более высокая распространенность ОП в северной части республики.

Сопоставляя данные по распространенности ОА и ОП, следует отметить районы с достаточно высокой частотой встречаемости обеих патологий. Это Чекмагушевский район (1 и 5 место по частоте, соответственно), Илишевский район (2 и 7 место), Янаульский район (3 и 1 место). Полученные результаты могут быть связаны с большей информированностью медицинских работников лечебных учреждений этих районов о заболеваниях опорно-двигательного аппарата. В крупных городах в целом отмечается стабильно высокий уровень общей распространенности ОА и ОП, например в Уфе эти показатели составляют 39,59‰ и 2,56‰, в Нефтекамске 36,97‰ и 3,79‰, в Стерлитамаке 40,43‰ и 1,22‰. Вероятнее всего, это связано в большей степени с доступностью медицинской помощи в крупных населенных пунктах.

Обсуждение. По данным В.А. Насоновой и соавт. [42], в 1996 г. показатель распространенности ОА по России составил 9,9 на 1000 взрослого населения. В период с 2011 по 2016 г. в России отмечался рост общей распространенности ОА с 32,2 на 1000 населения в 2011 г. до 35,7 в 2016 г., при этом показатели в различных регионах отличаются весьма значительно. Максимальная распространенность среди взрослого населения – 51,9‰ – выявлена в Северозападном федеральном округе. Она существенно отличалась от показателей в Поволжье (40,0‰) и Северокавказском федеральном округе, где зафиксирована наименьшая распространенность – 15,7‰ [376]. Безусловно, данные официальной статистики в большей степени отражают уровень организации первичной медико-санитарной медицинской помощи. Помимо очевидных недостатков ретроспективного исследования, которое не позволяет нам сделать надлежащие выводы о причинно-следственной связи, мы полагаемся на рутинно собираемые административные коды МКБ-10, основанные на диагнозах врачей для определения случая, в том числе и без рентгенологического подтверждения. Корреляция между симптомами и рентгенологическим ОА переменна и часто низкая, в зависимости от оцениваемой локализации сустава

[567]. Поэтому нельзя исключать возможность ошибочного диагноза ОА и неточного кодирования. Во-вторых, зачастую используется неуточненное кодирование ОА для оценки распространенности и заболеваемости. Тем не менее, существуют большие различия в показателях заболеваемости ОА различной локализации. Например, в исследовании, проведенном в Великобритании, не наблюдалось изменений тенденций заболеваемости в течение 1997–2017 гг. для лодыжек, стоп, запястий и кистей, в то время как при ОА коленного и тазобедренного суставов наблюдалась тенденция к небольшому увеличению [503; 623].

Исследование распространенности остеопороза сопряжено с рядом сложностей. Во-первых, исходя из определения, первичным ОП в подавляющем большинстве случаев страдают женщины в постменопаузе и мужчины старше 50 лет. Таким образом, нет единого мнения, как рассчитывать общую заболеваемость ОП – к общей численности популяции или только к отдельной возрастной группе. В доступной литературе есть примеры как первого, так и второго подхода. Так, в Саратовской области в 2006 году было зарегистрировано 987 больных с остеопорозом, распространенность составляет 0,38‰ среди всего взрослого населения. В 2007 г. количество больных остеопорозом увеличилось на 31,6% и составило 1443, что соответствует уровню распространенности 0,56‰. Число пациентов с остеопорозом в 2008 г. составило 1384 человек (0,54 случаев на 1000 населения) [50]. Данные, полученные авторами из статистических отчетов, сопоставимы с полученными нами результатами. При непосредственном обследовании когорт случайных лиц с применением инструментальных методов диагностики результаты, как правило, получаются выше. В Республике Мордовия было обследовано путем случайной выборки 743 человек, из которых 90,4% женщин, 9,6% мужчин в возрасте от 18 до 80 лет. Остеопороз выявлен у 15%, среди них 67% в возрасте старше 60 лет, 24% в возрасте от 40 до 59 лет, 9% в возрасте от 18 до 39 лет [6]. Результаты европейских исследований также, как правило, выше, чем данные из России. Так, в Германии в 2016 году было

выявлено 169 282 пациента (143 967 женщин и 25 315 мужчин) с остеопорозом, распространенность составила 44,4 ‰ [252].

**Заключение.** Выявленная частота встречаемости остеоартрита в Республике Башкортостан составила 36,55 случаев на 1000 населения, что сопоставимо с средней распространенностью по стране (35,7‰). Частота встречаемости остеопороза составила 0,54 на 1000 населения, что также соответствует распространенности по данным других исследований. Среди пациентов как с остеоартритом, так и с остеопорозом преобладали женщины. При анализе распространенности в районах республики отмечается выраженная территориальная неоднородность. В совокупности это свидетельствует о необходимости введения унифицированного подхода к диагностике и регистрации случаев остеоартрита и остеопороза для возможности оценить его истинную распространенность в различных популяциях.

### **3.1.2 Анализ распространенность несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан**

Был проведен анализ распространенности несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан. В качестве источника данных были использованы картотека ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр (бывший Перинатальный центр) и Региональная медицинская информационно-аналитическая система (РМИАС) ПроМед, активное наполнение которой в республике началось в 2018 году. Была проведена оцифровка всех амбулаторных карт пациентов с обозначенными диагнозами, особое внимание уделялось клинической картине заболевания и проводимому лечению.

Всего по данным картотеки ГБУЗ РМГЦ было выявлено 199 пациентов с несовершенным остеогенезом, из них в базе ПроМед факт обращения за медицинской помощью был отражен у 69 (34,6%) пациентов. Мужчин выявлено 71, женщин 62 человека. Доля пациентов младше 18 лет в целом по республике составила 36,1%. Основные характеристики данной выборки представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Основные демографические характеристики пациентов с НО в Республике Башкортостан

Категории	До 18 лет	Старше 18 лет	Мужчин	Женщин
Всего пациентов	72 (0,361)	127 (0,639)	112 (0,562)	87 (0,438)
На учете в Промед	35 (0,486)	41 (0,322)	42 (0,375)	34 (0,390)
До 18 лет			39 (0,348)	33 (0,379)
Старше 18 лет			73 (0,652)	54 (0,621)

*Примечание: здесь и далее данные о пациентах представлены в виде  $n$  ( $n_1$ ), где  $n$  – число пациентов,  $n_1$  – доля в общей выборке*

В Уфе зарегистрировано 80 пациентов, процент состоящих на учете в базе ПроМед несколько больше, чем в среднем по республике (42,5%), как и доля пациентов младше 18 лет (45%). В крупных городах с населением более 100000 человек (Стерлитамак, Нефтекамск, Салават, Октябрьский) всего зарегистрировано 23 пациента, из них в базе ПроМед только 6 (26%). Также отмечается преобладание пациентов старше 18 лет (74%), при этом доля пациентов с установленным молекулярным диагнозом сопоставима со средними показателями по республике (26%). В населенных пунктах с населением менее 100000 человек проживает 96 пациентов с несовершенным остеогенезом, из них 37 состоит на учете в базе ПроМед (38,5%). Среди всех пациентов было выявлено 166 спорадических и 15 семейных случаев заболевания (таблица 9).

Таблица 9 – Эпидемиологические характеристики пациентов с НО в Республике Башкортостан в зависимости от места проживания

Категории	Всего	Уфа	Города > 100000 населения	Города < 100000 населения
Всего пациентов	199	80	23	96
На учете в РМИАС ПроМед	69 (0,346)	34 (0,425)	6 (0,260)	37 (0,385)
До 18 лет	72 (0,361)	36 (0,450)	6 (0,260)	30 (0,313)
Старше 18 лет	127 (0,639)	44 (0,550)	17 (0,740)	66 (0,687)

Был проведен анализ распространенности несовершенного остеогенеза в различных населенных пунктах республики Башкортостан. Данные о распространенности НО приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Показатели распространенности НО в районах и городах Республики Башкортостан

№ на карте	Медицинская организация	Число в целом	Частота в целом,	Число без семейных случаев	Частота без семейных случаев
1	Учалинский район	6	8,526	5	7,105
2	Хайбуллинский район	1	3,300	1	3,300
3	Архангельский район	0	0	0	0
4	Абзелиловский район	1	2,220	1	2,220
5	Аскинский район	4	22,081	4	22,081
6	Баймакский район	0	0	0	0
7	Бакалинский район	0	0	0	0
8	Балтачевский район	0	0	0	0
9	Белебеевский район	4	4,164	3	3,123
10	Белокатайский район	2	11,145	2	11,145
11	Белорецкий район	3	2,989	3	2,989
12	Бижбулякский район	0	0	0	0
13	Бирский район	1	1,557	1	1,557
14	Благовещенский район	2	4,080	2	4,080
15	Мечетлинский район	1	4,471	1	4,471
16	Будзякский район	1	3,762	1	3,762
17	Бураевский район	0	0	0	0
18	Бурзянский район	0	0	0	0
19	Татышлинский район	0	0	0	0
20	Илишевский район	3	9,461	3	9,461

Продолжение таблицы 10

№ на карте	Медицинская организация	Число в целом	Частота в целом,	Число без семейных случаев	Частота без семейных случаев
21	г.Нефтекамск	8	5,694	8	5,694
22	г.Салават	6	3,959	5	3,299
23	г.Октябрьский	5	4,379	4	3,503
24	г. Стерлитамак и Стерлитамакский район	16	5,753	13	4,674
25	Давлекановский район	3	7,605	3	7,605
26	Дюртюлинский район	4	6,602	4	6,602
27	Ермекеевский район	0	0	0	0
28	Зилаирский район	0	0	0	0
29	Иглинский район	3	4,611	3	4,611
30	Зианчуринский район	1	4,003	1	4,003
31	Ишимбайский район	4	4,638	3	3,478
32	Калтасинский район	1	4,418	1	4,418
33	Караидельский район				
34	Кармаскалинский район	2	4,058	2	4,058
35	Кигинский район	1	5,933	1	5,933
36	Краснокамский район	0	0	0	0
37	Гафурийский район	3	9,787	3	9,787
38	Кушнаренковский район	6	22,860	4	15,240
39	Салаватский район	0	0	0	0
40	Мелеuzовский район	3	3,659	3	3,659
41	Дуванский район	0	0	0	0
42	Мишкинский район	0	0	0	0
43	Миякинский район	2	8,110	2	8,110

Продолжение таблицы 10

№ на карте	Медицинская организация	Число в целом	Частота в целом,	Число без семейных случаев	Частота без семейных случаев
44	Кугарчинский район	1	3,590	1	3,590
45	Нуримановский район	3	15,071	3	15,071
46	Альшеевский район	0	0	0	0
47	Стерлибашевский район	0	0	0	0
48	Аургазинский район	0	0	0	0
49	Туймазинский район	2	1,511	2	1,511
50	Федоровский район	0	0	0	0
51	г.Кумертау и Куюргазинский район	3	4,716	3	4,716
52	г.Сибай	3	4,808	3	4,808
53	Чекмагушевский район	0	0	0	0
54	Чишминский район	6	11,467	4	7,645
55	Шаранский район	0	0	0	0
56	Благоварский район	1	3,980	1	3,980
57	Янаульский район	2	4,559	2	4,559
58	г. Уфа и Уфимский район	81	6,581	75	6,093
	Всего по РБ	199	5,031	181	4,576

В целом частота встречаемости НО по республике Башкортостан составляет 5,031 на 100000 населения, если провести расчет с учетом всех пациентов. Если объединить семейные случаи заболевания, частота уменьшится до 4,576 на 100000 населения. Был проведен анализ распространенности НО в зависимости от географических зон республики с составлением карты распространённости. Результат представлен на рисунке 4.



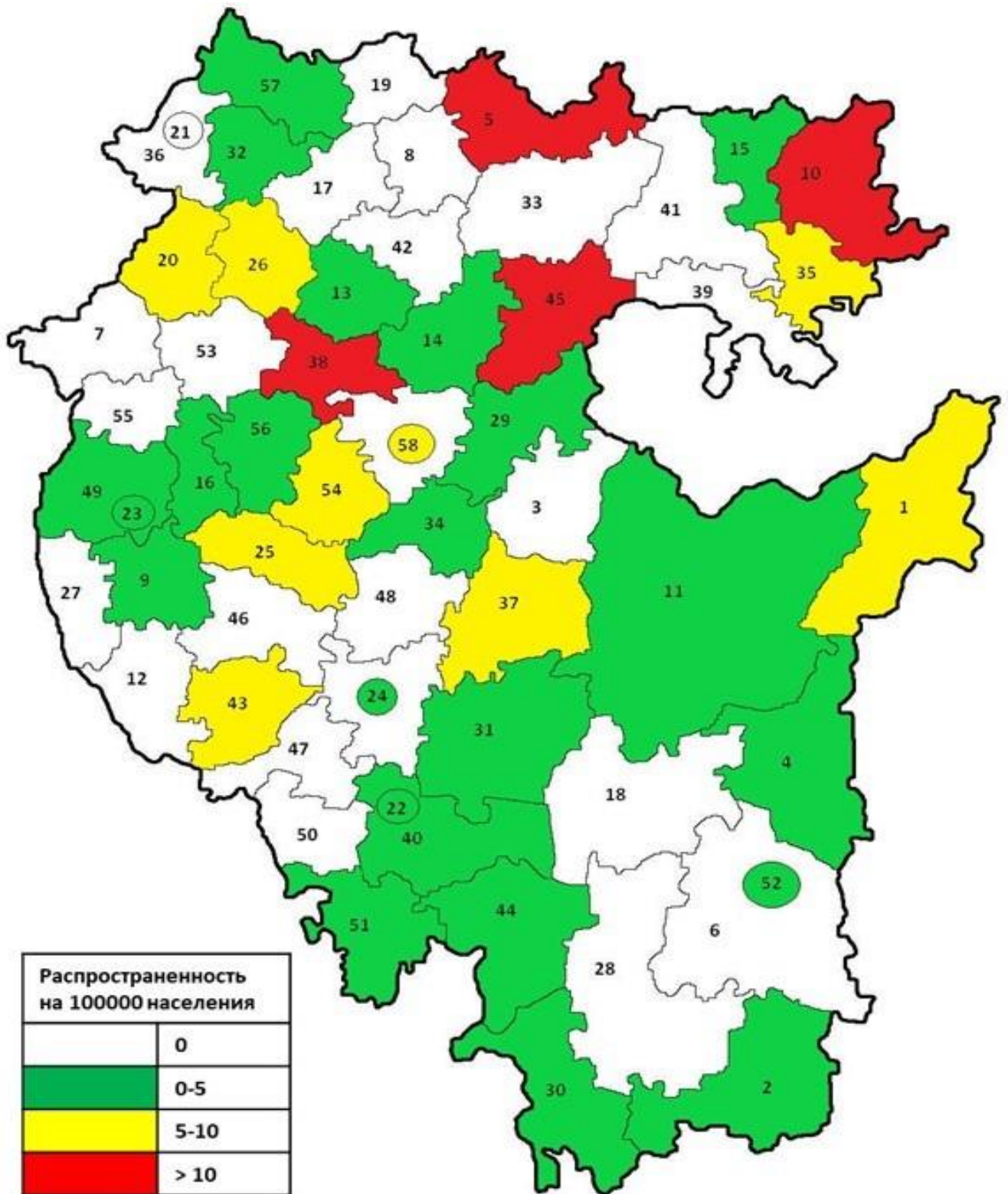


Рисунок 4 – Территориальный анализ распространенности НО в Республике Башкортостан. Нумерация городов и районов соответствует таблице 12

Регионы с наиболее высокими показателями распространенности являются Кушнаренковский, Аскинский, Нуримановский, Чишминский и Белокатайский, где частота встречаемости была больше 10 на 100000 населения. Отчасти это

объясняется семейными случаями в данных районах, но при корректировке частоты по семейным случаям показатели Аскинского, Нуримановского и Белокатайского района не изменились. В большинстве районов и городов республики частота варьировала от 3 до 10 случаев на 100000 населения, в Белорецком, Бирском, Туймазинском и Абзелиловском районе она была менее 3. В 21 районе и административном округе не было зарегистрировано ни одного пациента с НО. Отмечается повышенная частота встречаемости НО в крупных городах республики – Уфе и Стерлитамаке, а также близлежащих районах, что вероятнее всего обусловлено более высоким качеством оказания медицинской помощи, и в Учалинском районе. Данный район относится к Башкирскому Зауралью и представляет регион с наименьшей транспортной доступностью относительно остальной территории республики, так как территория района вытянулась полосой вдоль восточного склона Уральских гор.

На учете в ГБУЗ РМГЦ в Республике Башкортостан зарегистрировано 133 пациента с синдромом Элерса-Данло, из них на учете в базе ПроМед – 30 пациентов (22,5%). Мужчин в целом по республике 71 человек, женщин – 62. Как и в случае с НО, преобладают пациенты старше 18 лет – их 89 человек (66,9%). Основные демографические характеристики пациентов с СЭД представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Основные характеристики пациентов с СЭД в Республике Башкортостан

Категории	До 18 лет	Старше 18 лет	Мужчин	Женщин
Всего пациентов	44 (0,330)	89 (0,670)	71 (0,533)	62 (0,467)
На учете в РМИАС ПроМед	19 (0,431)	11 (0,123)	14 (0,197)	16 (0,258)
До 18 лет			21 (0,295)	23 (0,370)
Старше 18 лет			50 (0,705)	39 (0,629)

В Уфе зарегистрированы 54 пациента с синдромом Элерса-Данло, из них только 8 человек состоят на учете в базе ПроМед (14,8%), доля пациентов младше

18 лет чуть меньше, чем в целом по республике (26,9%). В крупных городах зарегистрировано 16 пациентов с синдромом Элерса-Данло, из них 3 пациента находятся в базе ПроМед (18,7%). Распределение по возрастным группам сопоставимо со средними данными по республике – 31,2% пациентов младше 18 лет. В населенных пунктах менее 100000 населения проживает 63 пациента с синдромом Элерса-Данло, из них 23 – младше 18 лет (36,5%). На учете в ПроМед состоит 18 пациентов (28,6%). Среди всех пациентов было выявлено 111 спорадических и 8 семейных случаев заболевания. Основные эпидемиологические данные по пациента с синдромом Элерса-Данло представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Эпидемиологические характеристики пациентов с СЭД в Республике Башкортостан в зависимости от места проживания

Категории	Всего	Уфа	Города > 100000 населения	Города < 100000 населения
Всего СЭД	133	54	16	63
На учете (Промед)	30 (0,225)	8 (0,148)	3 (0,187)	18 (0,286)
До 18 лет	44 (0,330)	16 (0,269)	5 (0,312)	23 (0,365)
Старше 18 лет	89 (0,669)	38 (0,703)	11 (0,688)	40 (0,635)

Был проведен анализ распространенности синдрома Элерса-Данло в различных населенных пунктах республики Башкортостан. Данные о распространенности СЭД приведены в таблице 13. В целом по республике распространённость СЭД составила 3,362 на 100000 населения. При исключении семейных случаев заболевания частота составила 2,831 на 1000000. Районами, где частота встречаемости превысила 10 на 100000 населения, были Бакалинский, Толбазинский и Миякинский, при этом при рассмотрении семейных случаев как один столь же высокие показатели остались в Толбазинском районе.

Таблица 13 – Показатели распространенности СЭД в районах и городах Республики Башкортостан

№ на карте	Район	Число в целом	Частота в целом	Число без семейных случаев	Частота без семейных случаев
1	Учалинский район	2	2,842	1	1,421
2	Хайбуллинский район	0	0	0	0
3	Архангельский район	0	0	0	0
4	Абзелиловский район	3	6,661	3	6,661
5	Аскинский район	1	5,520	1	5,520
6	Баймакский район	3	5,379	3	5,379
7	Бакалинский район	7	26,968	2	7,705
8	Балтачевский район	1	5,166	1	5,166
9	Белебеевский район	2	2,082	2	2,082
10	Белокатайский район	0	0	0	0
11	Белорецкий район	1	0,996	1	0,996
12	Бижбулякский район	0	0	0	0
13	Бирский район	1	1,557	1	1,557
14	Благовещенский район	0	0	0	0
15	Мечетлинский район	0	0	0	0
16	Буздякский район	0	0	0	0
17	Бураевский район	0	0	0	0
18	Бурзянский район	1	6,023	1	6,023
19	Татышлинский район	0	0	0	0
20	Илишевский район	0	0	0	0
21	г.Нефтекамск – г. Агидель	5	3,559	5	3,559
22	г.Салават	2	1,320	2	1,320
23	г.Октябрьский	3	2,627	2	1,751
24	г. Стерлитамак и Стерлитамакский район	11	3,955	9	3,236

Продолжение таблицы 13

№ на карте	Район	Число в целом	Частота в целом	Число без семейных случаев	Частота без семейных случаев
25	Давлекановский район	0	0	0	0
26	Дюртюлинский район	1	1,650	1	1,650
27	Ермекеевский район	0	0	0	0
28	Зилаирский район	0	0	0	0
29	Иглинский район	0	0	0	0
30	Зианчуринский район	0	0	0	0
31	Ишимбайский район	2	2,319	2	2,319
32	Калтасинский район	0	0	0	0
33	Караидельский район	0	0	0	0
34	Кармаскалинский район	0	0	0	0
35	Кигинский район	0	0	0	0
36	Краснокамский район	2	7,532	1	3,766
37	Гафурийский район	0	0	0	0
38	Кушнаренковский район	1	3,810	1	3,810
39	Салаватский район	0	0	0	0
40	Мелеuzовский район	1	1,220	1	1,220
41	Дуванский район	3	9,728	2	6,485
42	Мишкинский район	0	0	0	0
43	Миякинский район	3	12,165	2	8,110
44	Кугарчинский район	0	0	0	0
45	Нуримановский район	1	5,024	1	5,024
46	Альшеевский район	3	7,976	3	7,976
47	Стерлибашевский район	0	0	0	0
48	Аургазинский район	5	15,448	5	15,448
49	Туймазинский район	3	2,267	3	2,267

Продолжение таблицы 13

№ на карте	Район	Число в целом	Частота в целом	Число без семейных случаев	Частота без семейных случаев
50	Федоровский район	0	0	0	0
51	г.Кумертау и Куюргазинский район	1	1,572	1	1,572
52	г.Сибай	6	9,617	4	6,411
53	Чекмагушевский район	1	3,556	1	3,556
54	Чишминский район	1	1,911	1	1,911
55	Шаранский район	1	5,025	1	5,025
56	Благоварский район	0	0	0	0
57	Янаульский район	1	2,279	1	2,279
58	г. Уфа и Уфимский район	54	4,387	47	3,819
	Всего по РБ	133	3,362	112	2,831

В остальных районах и городах не было выявлено значимого преобладания частоты встречаемости случаев СЭД. В Уфе показатель распространённости составил 4,387 на 100000 населения, после коррекции семейных случаев – 3,819. В 26 районах и административных округах не было зарегистрировано ни одного пациента с синдромом Элерса-Данло, что может быть связано с недостаточной диагностической настороженностью врачей первичного контакта, а также малой доступностью квалифицированной медицинской помощи врача-генетика. При оценке географической распространённости синдрома в республике также не было выявлено зон накопления заболевания. Карта распространённости по районам республики представлена на рисунке 5.

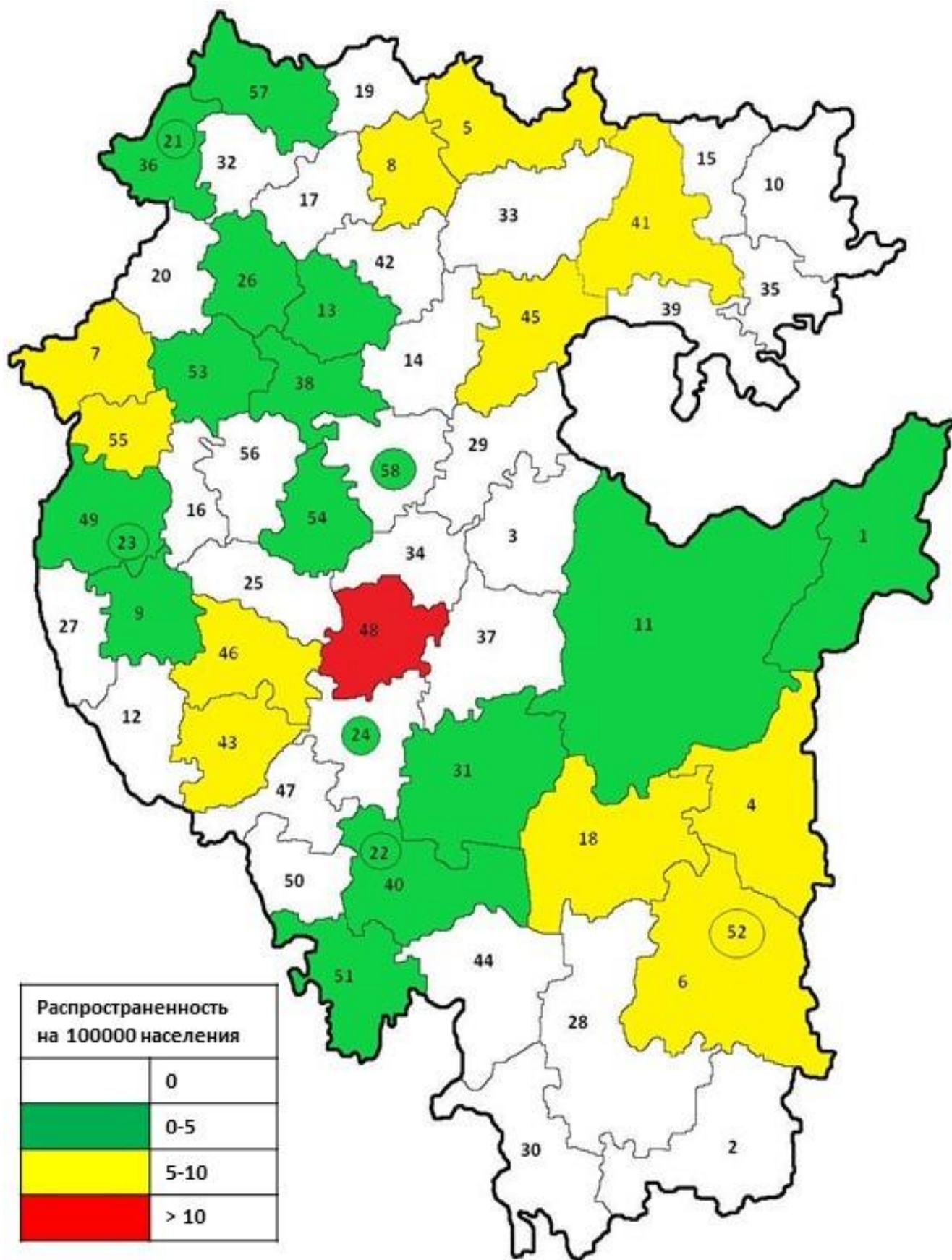


Рисунок 5 – Территориальный анализ распространенности СЭД в Республике Башкортостан. Нумерация городов и районов соответствует таблице 15



Обсуждение. Исследования наследственных форм заболеваний соединительной ткани как в России, так и в мире носит фрагментарный характер. Распространенность и частота заболеваний по данным различных авторов варьирует в широких пределах. В исследовании южноамериканской популяции Orolí и соавт., был оценен уровень распространенности скелетных дисплазий при рождении, частота встречаемости НО составила 0,4 на 10000 новорожденных [468]. В исследовании Stoll, частота встречаемости НО при рождении составила 1 на 15000 новорожденных в Страсбурге (Франция) и его окрестностях [13]. D. O. Sillence и соавт., при исследовании австралийской популяции выделили три больших группы пациентов с НО. Первая группа – доминантно наследуемый НО с голубыми склерами. По данным переписи населения 1976 года, минимальная частота в штате Виктория оценивалась как 127 на 3746000, то есть 3-4 на 100 000 населения. В период с 1955 по 1974 год включительно минимальная заболеваемость составила 3-5 на 100000 или 1 на 28 500 живорожденных. Вторая группа – перинатальный летальный НО с рентгенографически «сморщенными» бедренными костями и ребрами с «четками». В период с 1965 по 1975 родилось 12 младенцев с этим вариантом НО, частота составила 12 на 749851 или 1-6 на 100000 живорождений. Третья группа – прогрессивно деформирующий НО с нормальными склерами. В 1976 году, когда численность населения по переписи составляла 3746000 человек, в штате Виктория проживало 18 больных. Таким образом, минимальная распространенность этого синдрома составляла 18 на 3746000, то есть 0,48 на 100000 [551]. В Дании частота болезни в популяции составила 21,8 случая на 100 тыс. населения [108]. НО встречается во всем мире без гендерных различий. По оценкам, в Соединенных Штатах насчитывается примерно 25000 – 50000 больных. Один случай НО приходится примерно на 10 000 живорожденных в США, но во всем мире заболеваемость варьируется [418]. Если учитывать данную оценку с поправкой на численность населения (в США в 2007 г. — 302,2 млн, в России на 1 августа 2015 г. — 146,4 млн человек), в РФ распространенность НО может составлять около 12,5–25 тыс. случаев. В российский регистр НО включено описание 650 случаев, из них 421 — у детей,



что свидетельствует о значительной по масштабам гиподиагностике заболевания. Причиной этому может быть недостаточная осведомленность врачей в вопросах диагностики и лечения НО [45]. В российских популяциях распространенность НО с аутосомно-доминантным (АД) типом наследования составляет в республиках Адыгея 1:65000, Саха Якутия 1:7869, Башкортостан 1:24824, Татарстан 1:52316, Удмуртия 1:22194, Марий Эл 1:57190, Костромская 1:74080, Тверская 1:25333 области. При исследовании распространенности НО в Ростовской области выявлено 19 семей (29 больных) с АД типом наследования и 1 семья (1 больной) с аутосомно-рецессивным типом наследования. Общая распространенность заболевания составила 1:16582 (или 6,03 на 100000 населения) [31].

СЭД является относительно редким заболеванием, поражающим 1 на 5000-10 000 человек. Данные литературы противоречивы, что связано с недостаточным количеством исследований, отсутствии до определенного времени унифицированных подходов к диагностике и в целом ее высокой сложностью [230; 294]. На сегодняшний день не выявлено существенных расовых или географических факторов, влияющих на распространенность СЭД. Классический тип СЭД присутствует примерно у 1 из каждых 20 000 человек [408]. Лица с отягощенной наследственностью имеют 50% вероятность развития болезни [406]. Сосудистый тип СЭД составляет относительно небольшой процент всех случаев (около 4–5%) и поражает примерно 1 из каждых 50 000–250 000 человек [230]. Кроме того, дети людей с этим заболеванием имеют 50% шанс унаследовать заболевание, поскольку сосудистый СЭД почти всегда имеет аутосомно-доминантный тип наследования. Гипермобильность, отличительная черта гипермобильного типа СЭД, чаще встречается у женщин, чем у мужчин, и в целом это наиболее распространенный тип СЭД, но точная частота не определена из-за отсутствия понимания, что есть гипермобильный тип СЭД, а что – доброкачественная гипермобильность или часть недифференцированного фенотипа, поскольку отсутствуют подтверждающие молекулярно-генетические

тесты, способные помочь в дифференциальной диагностике данного типа СЭД [291; 495].

Исследования частоты встречаемости в России носят единичный характер. Так, по данным Зинченко и соавторов, в популяциях европейской части России распространенность СЭД I и СЭД II составила в среднем 1:9466 с вариацией по популяциям: 1:1716 в Татарстане, 1:1892 в Карачаево-Черкесской Республике, 1:3675 в Брянской области, 1:4169 в Башкортостане, 1:6815 в Ростовской области, 1:14331 в Кировской области, 1:20000 в Архангельской области, 1:29739 в Удмуртии, 1:25333 в Тверской области, 1:30479 в Краснодарском крае, 1:30767 в Марий Эл, 1:37784 в Чувашии, 1:50900 в Адыгее [12; 25; 30; 39; 56].

**Заключение.** Общая распространенность несовершенного остеогенеза в Республике Башкортостан составила 5,031 случаев на 100 тыс. населения, синдрома Элерса-Данло – 3,362 случаев на 100 тыс. населения. Среди пациентов обеих патологий отмечается незначительное преобладание мужчин (56,2% и 53,3%, соответственно). Пациенты с несовершенным остеогенезом чаще находятся на активном наблюдении, по сравнению с синдромом Элерса-Данло (48,6% и 22,5% соответственно), что объясняется более длительным периодом работы с этой группой больных. Как и для многофакторных заболеваний соединительной ткани, отмечается выраженная территориальная неоднородность, связанная как с накоплением семейных случаев, так и с особенностями оказания медицинской помощи данным категориям пациентов.

## **3.2 Клинические особенности заболеваний соединительной ткани**

### **3.2.1 Уровни минеральной плотности костной ткани и переломы при остеоартрите и остеопорозе**

Вопросы коморбидности остеопороза и остеоартрита являются объектом научного исследования в течение длительного времени, и тем не менее до сих пор высоко актуальны. По результатам крупных многоцентровых исследований отмечается сниженный шанс совместного развития данных патологий, однако более детальные исследования, в том числе на ранних стадиях остеоартрита,

свидетельствуют о наличии, как минимум, общих звеньев патогенеза у данных заболеваний. Также не до конца установлена значимость уровня МПКТ в оценке риска развития как ОА, так и переломов различной локализации, поскольку зачастую они могут случаться при нормальном уровне МПКТ. Мы оценили показатели МПКТ поясничного отдела позвоночника и шейки бедренной кости у различных категорий пациентов, коморбидность остеоартрита и остеопороза в исследуемых нами когортах пациентов, как мужчин, так и женщин. Дизайн данного фрагмента исследования представлен на рисунке 6.

На первом этапе был проведен поиск ассоциаций МПКТ и индекса массы тела (ИМТ) с переломами в целом, а также переломами различной локализации у мужчин и женщин. В исследование было включено 828 женщин постменопаузального возраста ( $61,94 \pm 7,98$  лет) и 496 мужчин старше 50 лет ( $62,03 \pm 10,83$  лет). Всем пациентам было проведено измерение минеральной плотности костной ткани в стандартных локализациях – поясничном отделе позвоночника и шейке бедренной кости. Наличие низкотравматических переломов оценивали по данным анамнеза и результатам рентгенографии костей. Критериями исключения были системные заболевания соединительной ткани, прием медикаментов, способных отрицательно влиять на МПКТ, инфекция, отказ от участия в исследовании. Также были исключены пациенты, курящие и употребляющие алкоголь в количестве более 3 стандартных доз в сутки.

Сформированные выборки были разделены на группы сравнения по наличию переломов и их локализации: 1 группа – с переломами поясничного отдела позвоночника (50 мужчин и 29 женщин), 2 группа – с переломами периферических костей, в том числе шейки бедра, голени, бедренной и лучевой кости (76 мужчин и 263 женщины), 3 – группа с сочетанными переломами поясничного отдела позвоночника и периферических костей скелета (18 мужчин и 11 женщин) и 4 группа – с нетипичными переломами в локализациях, которые менее подвержены переломам при остеопорозе – переломы черепа, костей лица, пальцев верхних и нижних конечностей, копчика (7 мужчин и 47 женщин).

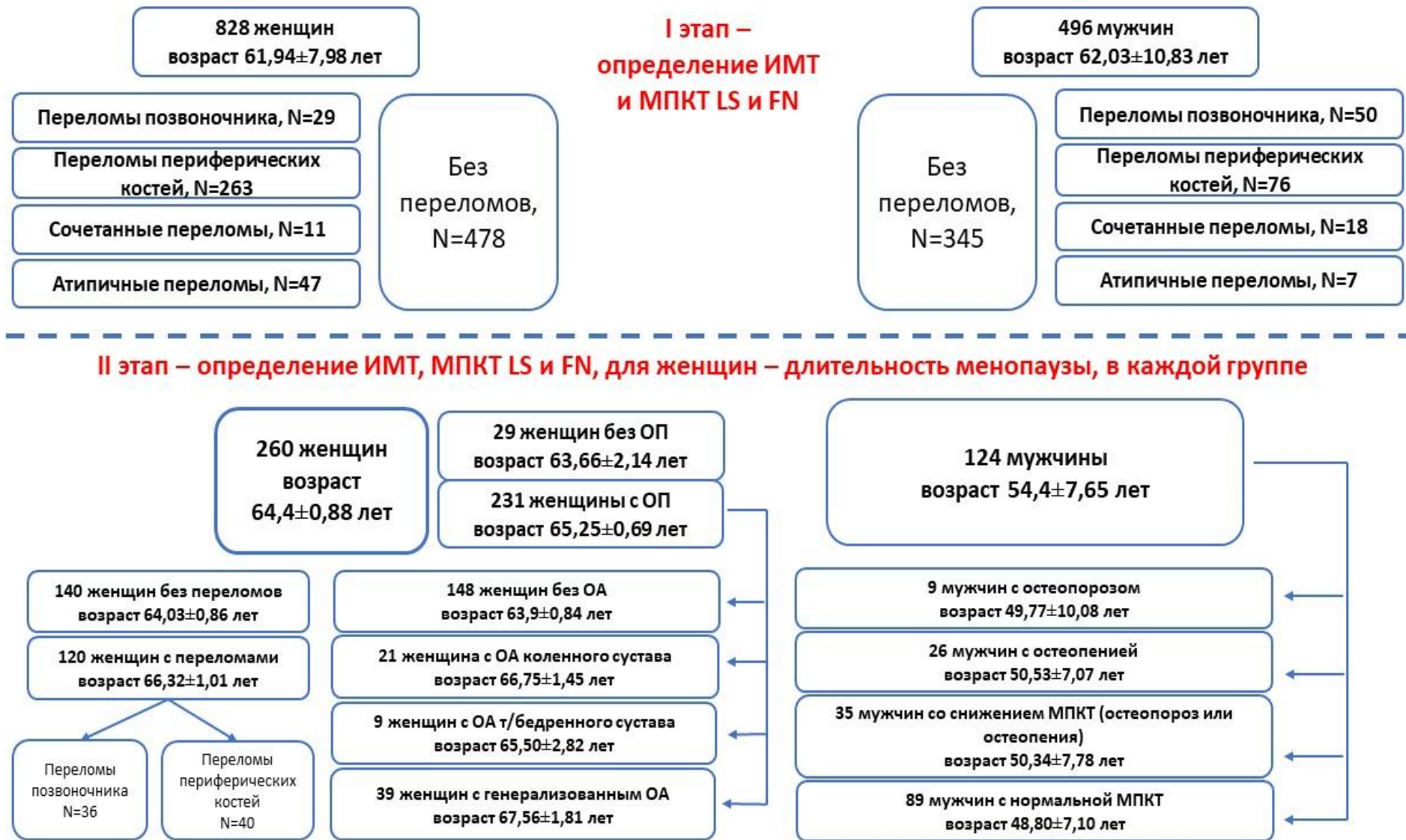


Рисунок 6 – Алгоритм исследования состояния костной ткани при ОА и ОП

Контрольную группу составили 345 мужчин и 478 женщин без переломов. Основной локализацией переломов были кости периферического скелета – в первую очередь, шейка бедренной кости. Частота переломов позвоночника была значимо выше у мужчин (33,13% и 8,28%;  $\chi^2=22,14$ ,  $p=0,0001$ ), также у мужчин чаще встречались переломы сочетанных локализаций (11,92 % и 3,14 %;  $\chi^2=13,84$ ,  $p=0,001$ ). У женщин статистически чаще встречались переломы трубчатых костей периферического скелета (75,12% и 50,32%,  $\chi^2=18,14$ ,  $p=0,0001$ ) и переломы нетипичных локализаций (13,46% и 4,63%;  $\chi^2=15,21$ ,  $p=0,0002$ ). Результаты измерения МПКТ, вычисления Т-критерия и ИМТ у женщин представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Показатели ИМТ, МПКТ и Т-критерия у женщин с различными локализациями переломов

Показатель	Переломы в целом n=350	Группа 1 n=29	Группа 2 n=263	Группа 3 n=11	Группа 4 n=47	Контроль n=478
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,70±4,52 p=1*10 <sup>-5</sup>	28,20±5,02	26,64±4,59 p=2*10 <sup>-5</sup>	25,63±3,71 p=0,01	28,78±3,85	28,40±5,18
МПКТ LS (г/см <sup>2</sup> )	0,81±0,18	0,68±0,24 p=0,035	0,82±0,17	0,76±0,16	0,81±0,02	0,87±0,19
T-LS	-1,86±1,22	-2,17±1,45	-1,93±1,16	-1,54±1,16	-2,12±0,53	-1,59±1,53
МПКТ FN (г/см <sup>2</sup> )	0,73±0,14	0,75±0,15	0,71±0,13	0,74±0,14	0,78±0,03	0,76±0,15
T-FN	-1,89±1,11 p=12*10 <sup>-5</sup>	-2,33±1,04 p=5*10 <sup>-4</sup>	-1,90±1,12 p=38*10 <sup>-5</sup>	-1,80±0,92	-1,49±0,35	-1,34±1,19

*Примечание: здесь и далее LS – поясничный отдел позвоночника, FN – шейка бедренной кости, t – критерий Стьюдента*

Был проведен анализ полученных значений в каждой группе относительно группы контроля. У женщин сниженный индекс массы тела был ассоциирован с переломами в целом, а также с переломами периферических костей скелета и

сочетанных локализаций. Уровень минеральной плотности костной ткани поясничного отдела позвоночника был закономерно ассоциирован с переломами, при этом числовое значение Т-критерия, хоть и было меньше, чем в группе контроля, не было статистически значимо ассоциировано с переломами. Абсолютные значения МПКТ шейки бедренной кости были сопоставимы в исследуемых группах и группе контроля, однако при этом значения Т-критерия различались, и его снижение было статистически значимо ассоциировано с переломами в целом, переломами позвоночника и переломами периферических костей скелета. Аналогичные результаты измерения МПКТ, вычисления Т-критерия и ИМТ у мужчин представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Показатели ИМТ, МПКТ и Т-критерия у мужчин с различными локализациями переломов

Показатель	Переломы в целом	Группа 1 n=50	Группа 2 n=76	Группа 3 n=18	Контроль n=345
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,54±4,50 p=0,0016	27,02±4,75	27,47±4,89	25,33±3,76 p=13*10 <sup>-5</sup>	28,44±4,67
МПКТ LS (г/см <sup>2</sup> )	0,88±0,18 p=1*10 <sup>-5</sup>	0,84±0,21 p=0,0027	0,95±0,15 p=0,045	0,77±0,12 p=1*10 <sup>-5</sup>	1,01±0,20
T-LS	-1,94±1,62 p=1*10 <sup>-5</sup>	-2,40±1,90 p=0,004	-1,23±1,45 p=0,047	-2,90±1,13 p=1*10 <sup>-5</sup>	-0,73±1,89
МПКТ FN (г/см <sup>2</sup> )	0,80±0,16	0,81±0,17	0,84±0,14	0,71±0,12 p=1*10 <sup>-5</sup>	0,87±0,17
T-FN	-1,46±1,11 p=1*10 <sup>-5</sup>	-1,42±1,09 p=2*10 <sup>-4</sup>	-1,07±0,98	-2,17±0,86 p=1*10 <sup>-5</sup>	-0,88±1,12

У мужчин были выявлены ассоциации снижения ИМТ с переломами в целом, а также с переломами сочетанных локализаций. Значения минеральной плотности костной ткани поясничного отдела позвоночника как в абсолютном значении, так и в виде Т-критерия были ассоциированы с переломами в целом, а также со всеми основными группами остеопоретических переломов, за

исключением нетипичных локализаций. При этом абсолютные значения уровня МПКТ шейки бедренной кости были ассоциированы только с переломами сочетанной локализации, а значения Т-критерия – с переломами в целом, переломами позвоночника и сочетанными переломами.

На втором этапе мы исследовали распространенность остеоартрита у 231 женщин с остеопорозом. Группу сравнения составили 29 женщин сопоставимого возраста без снижения МПКТ и переломов. Была проведена оценка ИМТ, длительности менопаузы, уровня витамина Д, наличия ОА в целом и отдельных его локализаций. Результаты представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Основные клинические характеристики и частота встречаемости ОА у женщин с остеопорозом и группы сравнения

Параметр	ОП+ N=231	ОП – N=29	P
Возраст, лет	65,25 ±0,69	63,66 ±2,14	0,440
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,57 ±0,30	27,25 ±0,79	0,059
Длительность менопаузы, лет	47,68 ±0,40	49,83 ±0,86	0,065
Витамин Д, нмоль/л	22,02 ±0,89	22,90 ±2,76	0,760
МПКТ FN, г/м <sup>2</sup>	0,63 ±0,11	0,76 ±0,15	0,0001
МПКТ LS, г/м <sup>2</sup>	0,75 ±0,13	0,92 ±0,11	0,0001
ОА в целом	83(0,36)	13(0,45)	0,462
Генерализованный ОА	39(0,12)	5(0,17)	0,567
ОА коленного сустава	21(0,09)	6(0,21)	0,062
ОА тазобедренного сустава	9(0,04)	0(0,00)	-
ОА неуточненной локализации	14(0,06)	2(0,07)	0,553
Посттравматический ОА	3(0,01)	0(0,00)	-
ОА -	148(0,64)	16(0,55)	0,462

*Примечание: здесь и далее данные о пациентах представлены в виде n (n<sub>1</sub>), где n – число пациентов, n<sub>1</sub> – доля в общей выборке*

Помимо очевидных статистически значимых различий в уровнях МПКТ между группой остеопороза и контрольной, обращает на себя внимание тенденции к большему ИМТ в контрольной группе ( $p=0,059$ ) и меньшей длительности менопаузы у женщин с остеопорозом ( $p=0,065$ ) при несколько более высоком уровне среднего возраста. Сывороточные концентрации витамина Д были сопоставимы в исследуемых группах. Не было выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости ОА в целом у женщин с остеопорозом и в контрольной группе, однако ОА коленных суставов чаще встречался в группе контроля, хотя различия носили характер тенденции ( $p=0,062$ ), что может быть связано с малыми размерами выборки.

Далее мы провели оценку ИМТ, длительности менопаузы, уровней витамина Д, МПКТ FN и LS у 231 женщины с остеопорозом в зависимости от наличия и локализации ОА. Женщины с сочетанием остеопороза и остеоартрита были статистически значимо старше, чем женщины с изолированным остеопорозом ( $67,03\pm 1,09$  и  $63,9\pm 0,84$ ,  $p=0,021$ ). При оценке возрастных различий в зависимости от локализации патологического процесса, старше были пациентки с генерализованным ОА, но различия не достигли статистической значимости из-за малого размера выборки ( $p=0,059$ ). Индекс массы тела у женщин без остеоартрита был наименьший, что может свидетельствовать как о неблагоприятном метаболическом влиянии жировой ткани на формирование дегенеративных процессов в суставном хряще, так и о повышенном разрушении хряща на фоне повышенной механической нагрузки, при этом ИМТ у женщин с ОА коленного сустава был наибольшим, различия достигли уровня статистической значимости по сравнению с контрольной группой ( $28,60\pm 0,89$  и  $25,43\pm 0,35$ ,  $p=0,0003$ ). Длительность менопаузы была в целом сопоставима во всех исследованных группах, сывороточные концентрации витамина Д были в области недостаточности, а у пациенток с генерализованным ОА и ОА коленных суставов – в области дефицита, хотя различия с контрольной группой и не достигли уровня статистической значимости. Уровни минеральной плотности костной ткани в области шейки бедренной кости практически не отличались в исследованных



группах, а вот МПКТ поясничного отдела позвоночника была значительно выше в группе с ОА коленного сустава ( $0,86\pm 0,07$  и  $0,76\pm 0,14$ ;  $p=0,00005$ ), различия достигли статистической значимости, и, вероятно, повлияли на возникновение ассоциации МПКТ поясничного отдела позвоночника и ОА в целом, вследствие высокого удельного веса данной локализации среди всех случаев ОА. Повышенная МПКТ соотносится с более высоким уровнем ИМТ у данных пациенток, выявляя эти два фактора как рискованные для развития ОА данной локализации. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 17. Таблица 17 – Основные клинические характеристики женщин с остеопорозом в зависимости от локализации остеоартрита

Параметр	ОА в целом N=83	Генерализованный ОА, N=39	ОА коленного сустава N=21	ОА т/б сустава N=9	Контроль N=148
Возраст, лет	$67,03\pm 1,09$ $p=0,021$	$67,56\pm 1,81$ $p=0,059$	$66,75\pm 1,45$	$65,50\pm 2,82$	$63,9\pm 0,84$
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$26,32\pm 0,47$	$26,32\pm 0,77$	$28,60\pm 0,89$ $p=0,0003$	$26,18\pm 1,30$	$25,43\pm 0,35$
Менопауза, лет	$48,23\pm 0,60$	$48,29\pm 0,82$	$48,88\pm 0,85$	$49,33\pm 1,69$	$47,80\pm 0,47$
Витамин Д, нмоль/л	$20,45\pm 1,19$	$19,51\pm 2,06$	$18,49\pm 1,24$	$25,56\pm 3,70$	$22,78\pm 1,08$
МПКТ FN, г/м <sup>2</sup>	$0,65\pm 0,12$	$0,64\pm 0,09$	$0,68\pm 0,11$	$0,62\pm 0,12$	$0,64\pm 0,15$
МПКТ LS, г/м <sup>2</sup>	$0,79\pm 0,08$ $p=0,048$	$0,78\pm 0,10$	$0,86\pm 0,07$ $p=0,0005$	$0,81\pm 0,16$	$0,76\pm 0,14$

*Примечание: здесь и далее FN – шейка бедренной кости, LS – поясничный отдел позвоночника, т/б – тазобедренный*

Была проведена оценка клинических параметров у женщин с переломами различной локализации. Возраст во всех группах был сопоставим, как и индекс массы тела. Возраст наступления менопаузы был несколько раньше у пациенток с переломами позвоночника, однако различия были статистически незначимы. Отмечается существенное снижение сывороточной концентрации витамина Д у пациенток с переломами периферических костей по сравнению с лицами без переломов ( $16,09 \pm 1,40$  и  $23,62 \pm 1,14$ ,  $p=0,001$ ). Обращают на себя внимание уровни МПКТ у женщин с переломами различной локализации. Статистически значимое снижение плотности костной ткани в области шейки бедренной кости было отмечено только у пациенток с переломами периферических костей, в то время как МПКТ поясничного отдела позвоночника была ассоциирована как с переломами в целом, так и с различными их локализациями, что может характеризовать данный параметр как более ценный предиктор переломов.

Была проведена оценка частоты встречаемости ОА у женщин с переломами различных локализаций. Частота ОА была сопоставима как в группе с переломами в целом относительно контрольной группы, так и у пациенток с переломами позвоночника или периферических костей. Сравнительную оценку различий в частоте встречаемости ОА различной локализации в исследованных группах провести затруднительно ввиду малочисленности сравниваемых подгрупп. Подробную информацию о клинических характеристиках женщин с переломами различной локализации и распространенность ОА представлена в таблице 18.

Таблица 18 – Основные клинические характеристики женщин с переломами различной локализации и группы контроля

Параметр	Переломы в целом N=120	Переломы периферии N=40	Переломы позвоночника N=36	Без переломов N=140
Возраст	$66,32 \pm 1,01$	$64,31 \pm 1,91$	$66,62 \pm 1,65$	$64,03 \pm 0,86$
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$25,85 \pm 0,43$	$24,69 \pm 0,74$	$25,65 \pm 0,71$	$25,69 \pm 0,38$

Продолжение таблицы 18

Параметр	Переломы в целом N=120	Переломы периферии N=40	Переломы позвоночника N=36	Без переломов N=140
Длительность менопаузы, лет	47,72±0,57	48,40±0,94	46,55±1,29	48,11±0,49
МПКТ LS, г/м <sup>2</sup>	0,63±0,10	0,59±0,11 p=0,014	0,65±0,12	0,65±0,07
МПКТ FN, г/м <sup>2</sup>	0,74±0,13 p=0,004	0,74±0,16 p=0,023	0,72±0,14 p=0,007	0,83±0,14
ОА в целом	38 (0,316)	13 (0,325)	10 (0,278)	58 (0,411)
Генерализованный ОА	10 (0,083)	1 (0,025)	3 (0,083)	31 (0,219)
ОА коленного сустава	15 (0,125)	6 (0,150)	3 (0,083)	15 (0,107)
ОА тазобедренного сустава	1 (0,008)	1 (0,025)	0	5 (0,035)
ОА неуточненной локализации	10(0,083)	3 (0,075)	4 (0,112)	6 (0,042)
Посттравматический ОА	2 (0,017)	2 (0,050)	0	1 (0,008)
ОА -	82 (0,684)	27 (0,675)	26 (0,722)	83 (0,589)

Также мы провели исследование распространенности остеопороза, остеопении, остеоартрита, дорсопатий и их сочетаний у 124 мужчин среднего возраста. Остеопороз был выявлен у 9 пациентов, остеопения у 26 мужчин, в целом они были несколько старше, чем мужчины в контрольной группе (50,34±7,78 и 48,80±7,10), но различия не были статистически значимы. Отмечались закономерные статистически значимые различия в уровнях МПКТ у мужчин с остеопорозом и остеопенией относительно группы контроля, так как

именно этот показатель и служил критерием разделения на группы. Следует отметить статистически значимо меньший индекс массы тела у мужчин с остеопорозом по сравнению с контрольной группой ( $25,53 \pm 2,80$  и  $27,79 \pm 3,91$ ;  $p=0,001$ ). ОА в целом встречался редко как в группе со снижением МПКТ (11%), так и в контрольной группе (10%), что соответствует литературным данным о распространенности остеоартрита в мужской популяции. Также в литературе упоминается боль в спине, как клинический маркер снижения МПКТ поясничного отдела позвоночника у мужчин. По результатам наших исследований мы выявили увеличение частоты дорсопатий у лиц с остеопорозом и остеопенией по сравнению с группой контроля, однако различия не достигли уровня статистической значимости. Основные результаты представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Основные клинические характеристики мужчин с различными уровнями МПКТ

Параметр	Остеопороз N=9	Остеопения N=26	Остеопороз + Остеопения, N=35	Контроль N=89
Возраст, лет	$49,77 \pm 10,08$	$50,53 \pm 7,07$	$50,34 \pm 7,78$	$48,80 \pm 7,10$
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$25,53 \pm 2,80$ $p=0,001$	$27,76 \pm 3,23$	$26,93 \pm 3,40$	$27,79 \pm 3,91$
МПКТ FN, г/м <sup>2</sup>	$0,92 \pm 0,09$	$0,97 \pm 0,22$	$0,94 \pm 0,19$	$1,08 \pm 0,18$
МПКТ LS, г/м <sup>2</sup>	$0,86 \pm 0,09$	$1,06 \pm 0,03$	$1,02 \pm 0,07$	$1,26 \pm 0,10$
ОА всего	3 (0,33)	1 (0,03)	4 (0,11)	9 (0,10)
Отсутствие ОА -	6 (0,67)	25 (0,97)	31 (0,89)	80 (0,90)
Дорсопатия	5 (0,55)	17 (0,65)	22 (0,62)	43 (0,48)
Отсутствие дорсопатии	4 (0,45)	9 (0,35)	13 (0,38)	46 (0,52)

*Примечание: «+» обозначает сочетанное состояние*

Также была проведена оценка МПКТ у мужчин с остеоартритом в целом. Пациенты с ОА были старше, чем группа контроля, различия носили характер тенденции. Индекс массы тела был сопоставим в исследованных группах. Отмечается снижение уровней МПКТ как в области поясничного отдела позвоночника, так и в области шейки бедренной кости у мужчин с остеоартритом, в первом случае эти различия достигли уровня статистической значимости. Результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Основные клинические характеристики мужчин с ОА в целом

Параметр	ОА в целом N=13	Контроль N=111	P
Возраст, лет	53,16±6,53	48,0±7,31	0,071
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,78±4,35	27,52±3,75	0,334
МПКТ FN, г/м <sup>2</sup>	-0,4±1,05	-0,23±0,92	0,123
МПКТ LS, г/м <sup>2</sup>	-0,91±1,36	-0,2±1,17	0,045

Обсуждение. Принято считать, что мужчины менее подвержены остеопорозу и риску переломов, в том числе за счет более высокого пика костной массы и более медленной скорости снижения МПКТ, чем у женщин. Это подтверждается рядом исследований [204], однако данные последних лет не столь однозначны. Выявленные различия у мужчин и женщин указывают на необходимость дальнейших исследований дифференциальной связи уровня МПКТ с рисками переломов в различных локализациях. Литературные источники по данным вопросам предоставляют противоречивые данные, поскольку первичный остеопороз у мужчин изучен в меньшей степени. В ряду факторов, влияющих на особенности течения ОП в различных возрастных и гендерных группах называют различия в профилях половых гормонов, оказывающих значимое влияние на метаболизм костной ткани, усиливая набор пиковой костной массы у мужчин и увеличивая толщину кортикального слоя кости [378], курение, при котором отмечалась более низкая МПКТ у мужчин [637], факт предыдущих переломов, который ускоряет снижение МПКТ до 20% [361] и ряд других

параметров. В исследовании пожилых мужчин МПКТ правой руки являлась предиктором переломов запястья, наряду с такими факторами, как анамнез предыдущих переломов, высокий сывороточный уровень фосфатов, прием препаратов из группы ингибиторов селективного обратного захвата серотонина и сниженной силы запястья по данным динамометрии [592]. Внутри когорты мужчин также присутствует некоторая гетерогенность в зависимости от локализации перелома и этнической принадлежности. Так, средние различия МПКТ шейки бедренной кости и поясничного отдела позвоночника между субъектами с переломом и без перелома были статистически значимыми во всех когортах, за исключением афроамериканцев США и азиатских мужчин. В то же время не было выявлено ассоциаций МПКТ шейки бедренной кости и частоты переломов данной локализации [512]. Традиционно используемый параметр – индекс массы тела – также не может в полной мере являться надежным предиктором предсказания фенотипа и клинических особенностей течения остеопороза. Увеличение индекса массы тела происходит параллельно с увеличением минеральной плотности костной ткани, достигая плато на уровне 30 кг/м<sup>2</sup>. Более высокий индекс массы тела был связан с более низким риском серьезных остеопоротических переломов у женщин в многовариантных моделях. Протективная ассоциация более высокого ИМТ с переломом бедра была сильнее и лишь частично объяснялась минеральной плотностью костей (OR=0,79 [0,73–0,99] для ожирения I и OR=0,79 [0,46–0,98] для ожирения II). Также низкий ИМТ расценивался как фактор риска переломов периферического скелета и ребер, но не был ассоциирован с переломами бедренной кости [421]. При этом не было выявлено ассоциаций более высокого ИМТ с риском остеопоротических переломов бедра у мужчин [481]. По результатам другого исследования, пациенты с переломами позвоночника имели наименьшие показатели МПКТ как на трабекулярных, так и на кортикальных участках, с переломом бедра и без переломов позвоночника – наибольшие значения трабекулярной кости и в большинстве кортикальных костей, с переломами бедра и позвоночника – промежуточные значения в большинстве измерений [421]. Расчетная МПКТ

пяточной кости по шкалам генетического риска явилась независимым предиктором переломов предплечья и позвонков, в то время как подобный параметр для бедренной кости оказался информативен для прогнозирования переломов бедра. Это может быть связано с наличием уникальной информации о микроструктуре губчатой кости, полезную для прогнозирования переломов предплечья и позвонков [135]. Одним из наиболее чувствительных современных предикторов переломов считают микроархитектонику костной ткани, исследуемую с применением компьютерной томографии высокого разрешения. У большинства пожилых пациентов обоего пола с переломами шейки бедренной кости уровень Т-критерия не был ниже -2,5, однако были выявлены изменения структуры костной ткани по данным КТ высокого разрешения [186]. Полученные нами результаты могут свидетельствовать о клинической гетерогенности остеопороза и наличии его различных эндотипов, в том числе с сохраненным значением МПКТ. Имеющиеся гендерные различия являются основанием для разработки дифференцированных оценок риска развития остеопороза у мужчин и женщин на основании персонализированных критериев.

**Заключение.** Не было выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости ОА у пациентов со сниженной МПКТ как среди мужчин, так и среди женщин, при этом боль в спине чаще встречалась у мужчин со сниженной МПКТ. У женщин уровень МПКТ шейки бедренной кости ассоциирован с риском развития переломов в целом, МПКТ поясничного отдела позвоночника – только с развитием переломов данной локализации. У мужчин уровень МПКТ как поясничного отдела позвоночника, так и шейки бедренной кости ассоциирован с повышенным риском развития переломов различной локализации. У женщин с ОА коленных суставов были выявлены повышенный уровень МПКТ поясничного отдела позвоночника и высокий ИМТ, а у мужчин низкий ИМТ был ассоциирован с остеопорозом. Были выявлены ассоциации ИМТ и переломов различных локализаций.

### 3.2.2 Частота встречаемости фенотипических маркеров дисплазии соединительной ткани у пациентов с различными вариантами патологии соединительной ткани

Было проведено исследование частоты встречаемости фенотипических признаков нДСТ у женщин и мужчин в целом, у женщин с ОА в зависимости от локализации патологического процесса и у мужчин с различными уровнями МПКТ, дорсопатиями и ОА. Дизайн данного фрагмента исследования представлен на рисунке 7.

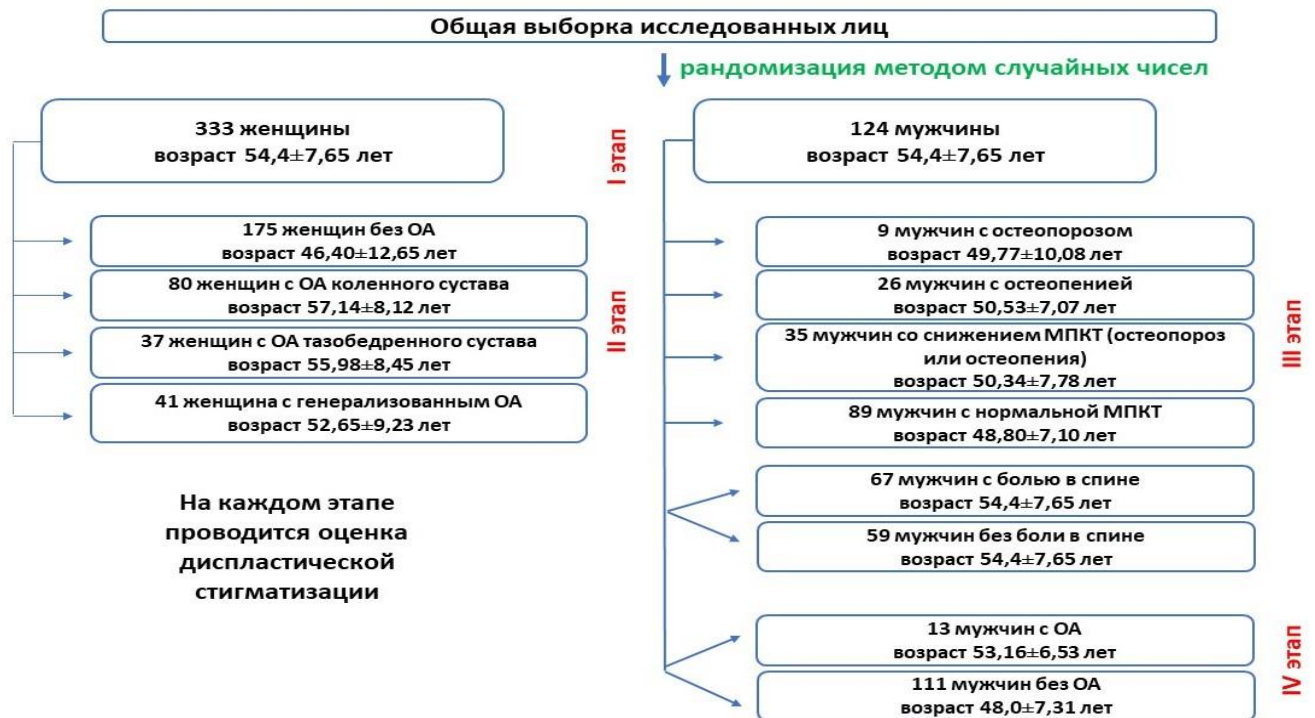


Рисунок 7 – Алгоритм оценки диспластической стигматизации у различных категорий обследованных.

Пациенты были отобраны из общей выборки с применением рандомизации методом случайных чисел. На первом этапе была проведена оценка диспластической стигматизации у 333 женщин и 124 мужчин в целом и сравнительный анализ частоты встречаемости признаков ДСТ в каждой из этих групп. При оценке встречаемости фенотипических признаков ДСТ у женщин наиболее часто были диагностированы хруст в суставах (64%), геморрагический синдром (41,1%), варикозная болезнь вен нижних конечностей (36,9%), вальгусная установка стоп (35,4%), плоскостопие (34,2%), артериальная



гипотензия и хруст височно-челюстного сустава (по 31,8%). У мужчин наиболее часто встречались хруст в суставах (79%), в частности – хруст височно-нижнечелюстного сустава (70,2%), гипермобильность суставов (62,1%), парадонтоз (58,1%) и миопия (34,7%). Частота встречаемости других признаков представлена в таблице 21.

Таблица 21 – Сравнительный анализ частоты встречаемости фенотипических признаков ДСТ у женщин и мужчин в целом

Признак	Женщины N=333	Мужчины N=124	Статистическая значимость
Гиперэластичность кожи	46 (0,138)	4 (0,032)	p=0,0001
Келлоидные рубцы	9 (0,027)	8 (0,065)	p=0,342
Атрофические стрии	17 (0,051)	1 (0,008)	p=0,035
Геморрагический синдром	137 (0,411)	10 (0,081)	p=0,0001
Индекс массы тела < 15	84 (0,252)	0 (0,000)	p=1*10 <sup>-4</sup>
Грыжевая болезнь	46 (0,138)	26 (0,210)	p=0,233
Висцероптозы	64 (0,192)	4 (0,032)	p=2*10 <sup>-5</sup>
Проляпс митрального клапана	19 (0,057)	8 (0,065)	p=0,711
Варикозная болезнь	123 (0,369)	29 (0,234)	p=0,006
Миопия	82 (0,246)	43 (0,347)	p=0,041
Деформация желчного пузыря	36 (0,108)	13 (0,105)	p=0,122
ГЭРБ	22 (0,066)	35 (0,282)	p=0,0007
Артериальная гипотензия	106 (0,318)	9 (0,073)	p=0,00001
Парадонтоз	103 (0,309)	72 (0,581)	p=2*10 <sup>-5</sup>
Хруст ВЧС	106 (0,318)	87 (0,702)	p=1*10 <sup>-5</sup>
Долихостененомелия	11 (0,033)	4 (0,032)	p=0,833
ГМС	76 (0,228)	77 (0,621)	p=2*10 <sup>-5</sup>
Деформация грудной клетки	16 (0,048)	1 (0,008)	p=0,366
Плоскостопие	114 (0,342)	19 (0,153)	p=0,00008

## Продолжение таблицы 21

Признак	Женщины N=333	Мужчины N=124	Статистическая значимость
Вальгусная установка стоп	118 (0,354)	3 (0,024)	$p=1*10^{-5}$
Хруст суставов	213 (0,640)	98 (0,790)	$p=0,281$
Патологический кифоз/лордоз	43 (0,129)	37 (0,298)	$p=0,0007$

*Примечание: ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ВЧС – височно-нижнечелюстной сустав, ГМС – гипермобильность суставов*

При проведении сравнительной оценки частоты встречаемости фенотипических проявлений ДСТ у женщин и мужчин выявлено, у женщин статистически значимо чаще встречались гиперэластичность кожи, атрофические стрии, геморрагический синдром, низкий индекс массы тела, висцероптозы, варикозная болезнь вен нижних конечностей, артериальная гипотензия, плоскостопие и вальгусная установка стоп. У мужчин статистически значимо чаще встречались миопия, ГЭРБ, парадантоз, хруст ВЧС, гипермобильность суставов и патологический кифоз/лордоз позвоночника.

На втором этапе исследования мы оценили частоту встречаемости фенотипических признаков ДСТ у женщин с ОА в целом, а также с ОА различных локализаций. Результаты представлены в таблице

Таблица 22 – Сравнительный анализ частоты встречаемости фенотипических признаков ДСТ у женщин с различными вариантами ОА.

Признак	ОА в целом, N=158	ОА т/б сустава, N=80	ОА коленного сустава, N=37	Генерализ- ованный ОА, N=41	Контроль, N=175
Гиперэластичность кожи	27 (0,171)	11 (0,125)	5 (0,138)	11 (0,268)*	19 (0,102)
Келлоидные рубцы	4 (0,025)	4 (0,050)	-	-	5 (0,028)

Продолжение таблицы 22

Признак	ОА в целом, N=158	ОА т/б сустава, N=80	ОА коленного сустава, N=37	Генерализованный ОА, N=41	Контроль, N=175
Атрофические стрии	8 (0,051)	5 (0,062)	1 (0,028)	2 (0,048)	9 (0,051)
Геморрагический синдром	74 (0,468)**	35 (0,437)	16 (0,440)	23 (0,561)*	63 (0,360)
Индекс массы тела < 15,	20 (0,127)*	9 (0,112)*	4 (0,111)*	7 (0,170)*	64 (0,365)
Грыжевая болезнь	21 (0,133)	11 (0,137)	3 (0,083)	7 (0,017)	15 (0,085)
Висцероптозы	39 (0,247)*	26 (0,325)*	6 (0,166)	7 (0,170)	25 (0,142)
Проляпс митрального клапана	9 (0,057)	4 (0,050)	3 (0,083)	2 (0,048)	10 (0,057)
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	76 (0,481)*	37 (0,462)	19 (0,527)*	20 (0,487)	47 (0,268)
Миопия	46 (0,291)	21 (0,187)	8 (0,138)	17 (0,268)	36 (0,165)
Деформация желчного пузыря	21 (0,133)	10 (0,125)	4 (0,111)	7 (0,170)	15 (0,085)
ГЭРБ	15 (0,095)**	8 (0,100)	3 (0,083)	4 (0,097)	7 (0,040)
Артериальная гипотензия,	52 (0,329)	26 (0,325)	10 (0,277)	16 (0,390)	54 (0,308)
Пародонтоз	56 (0,354)*	23 (0,250)	18 (0,281)	15 (0,227)	25 (0,225)

Продолжение таблицы 22

Признак	ОА в целом, N=158	ОА т/б сустава, N=80	ОА коленного сустава, N=37	Генерализованный ОА, N=41	Контроль, N=175
Хруст ВЧС	59 (0,373)*	27 (0,337)	11 (0,305)	21 (0,512)*	47 (0,268)
Долихостеномелия,	1 (0,006)*	0	0	1 (0,024)	10 (0,057)
ГМС	41 (0,259)	16 (0,150)	10 (0,194)	15 (0,243)	35 (0,200)
Деформация грудной клетки	7 (0,044)	3 (0,037)	3(0,083)	1 (0,024)	9 (0,051)
Плоскостопие	62 (0,392)	26 (0,325)	18 (0,500)*	18 (0,439)*	52 (0,297)
Вальгусная установка стоп	63 (0,399)	31 (0,387)	13 (0,361)	19 (0,463)*	55 (0,314)
Хруст суставов	119 0,753)*	60 (0,750)*	29 (0,800)*	30 (0,731)*	94 (0,537)
Патологический кифоз/лордоз	26 (0,165)	12 (0,150)	9 (0,250)*	5 (0,122)	17 (0,097)

**Примечание:** знаком \* и \*\* обозначены признаки, различия частот которых статистически значимо отличаются от контрольной группы( \* -  $p < 0,05$  и \*\* -  $0,05 < p < 0,08$ ), ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ВЧС – височно-нижнечелюстной сустав, ГМС – гипермобильность суставов, т/б – тазобедренного

Наиболее распространёнными признаками ДСТ у женщин с ОА, независимо от локализации были варикозная болезнь вен нижних конечностей (от 46,2% при ОА тазобедренного сустава до 52,7% при ОА коленного сустава) и хруст

суставов: 80% при ОА коленного сустава и 73,1% при общем ОА. Также часто встречались плоскостопие (от 32,5% при ОА тазобедренного сустава до 50% при ОА коленного сустава) и геморрагический синдром (56,1% при генерализованном ОА и 43,7% при ОА тазобедренного сустава). Особый интерес вызывают различия в частоте проявления фенотипических признаков при остеоартрите по сравнению с группой контроля.

ОА всех локализаций достоверно ассоциировался с более низкими значениями ИМТ и большей частотой встречаемости хруста суставов в сравнении с группой контроля. Частота встречаемости висцероптоза (32,5%) преобладала при ОА тазобедренного сустава в сравнении с контролем и ОА других локализаций. Также было обнаружено, что частота встречаемости плоскостопия (50%), гиперкифоза/гиперлордоза (25%) и варикозной болезни нижних конечностей (52,7%) была максимальной для ОА коленного сустава относительно ОА других локализаций и статистически значимо преобладала над группой контроля (29,7%, 9,7%, 52,7%).

Пациентки с генерализованным ОА имели наибольшую диспластическую стигматизацию. Так у пациенток из группы генерализованного ОА статистически значимо чаще встречались такие признаки ДСТ как вальгусная установка стоп, геморрагический синдром, хруст височно-нижнечелюстного сустава, кожная гиперэластичность легкой степени, тяжелая миопия и плоскостопие. Также была обнаружена тенденция ( $p=0,056$  и  $p=0,07$  соответственно) к более частой встречаемости деформации желчного пузыря и миопии легкой степени в группе генерализованного ОА, однако статистической значимости достигнуто не было. Таким образом, выявлены отдельные фенотипические маркеры ДСТ у женщин.

Следующим этапом исследования была оценка диспластической стигматизации у мужчин с различными уровнями минеральной плотности костной ткани. Среди включенных в исследование 124 мужчин, из них остеопороз по данным рентгеновской денситометрии был выявлено у 9 пациентов, остеопения у 26 пациентов. Частота встречаемости признаков ДСТ представлена в таблице 23.

Таблица 23 – Сравнительный анализ частоты встречаемости фенотипических признаков ДСТ мужчин с различными уровнями МПКТ

Признак	Остеопороз N=9	Остеопения N=26	Остеопороз + Остеопения, N=35	Контроль, N=89
Гиперэластичность кожи	0	2 (0,077)	2 (0,057)	2 (0,022)
Келлоидные рубцы	1 (0,111)	0	1 (0,029)	7 (0,079)
Атрофические стрии	1 (0,111)	0	1 (0,029)	0 (0,000)
Геморрагический синдром	1 (0,111)	2 (0,077)	3 (0,086)	7 (0,079)
Грыжевая болезнь	2 (0,222)	2 (0,077)	4 (0,114)	22 (0,247)
Висцероптозы	0	0	0	4 (0,045)
ПМК	0	1 (0,038)	1 (0,029)	7 (0,079)
Варикозная болезнь вен	2 (0,222)	5 (0,192)	7 (0,200)	22 (0,247)
Миопия	3 (0,333)	8 (0,308)	11 (0,314)	32 (0,360)
Деформация желчного пузыря	1 (0,111)	2 (0,077)	3 (0,086)	10 (0,112)
ГЭРБ	3 (0,333)	8 (0,308)	11 (0,314)	24 (0,270)
Артериальная гипотензия	1 (0,111)	2 (0,077)	3 (0,086)	6 (0,067)
Парадонтоз	3 (0,333)	0	3 (0,086)	47 (0,528)

Продолжение таблицы 23

Признак	Остеопороз N=9	Остеопения N=26	Остеопороз + Остеопения, N=35	Контроль, N=89
Хруст ВЧС	7 (0,778)*	22 (0,846)**	29 (0,829)**	58 (0,652)
Долихостененомел ия	0	0	0	4 (0,045)
ГМС	7 (0,778)*	18 (0,692)	25 (0,714)	52 (0,584)
Деформация грудной клетки	0	0	0	1 (0,011)
Плоскостопие	3 (0,333)	2 (0,077)	5 (0,143)	14 (0,157)
Вальгусная установка стоп	0	2 (0,077)	2 (0,057)	1 (0,011)
Хруст суставов	8 (0,889)	21 (0,808)	29 (0,829)	70 (0,787)
Патологический кифоз/лордоз	3 (0,333)	10 (0,385)	13 (0,371)	24 (0,270)

**Примечание:** знаком \* обозначены признаки, различия частот которых статистически значимо отличаются от контрольной группы (\* - $p < 0,05$ ), ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ВЧС – височно-нижнечелюстной сустав, ГМС – гипермобильность суставов, ПМК – пролапс митрального клапана

Проведение сравнительной оценки частоты встречаемости фенотипических признаков ДСТ у мужчин затруднительно вследствие малого числа пациентов с остеопорозом, поэтому были объединены группы пациентов с остеопорозом и остеопенией в группу со сниженной МПКТ. В группах со снижением уровней МПКТ отмечалось статистически значимые увеличения частоты встречаемости

хруста височно-нижнечелюстного сустава и ГМС. Однако, с учетом того, что эти признаки в целом были одними из самых распространенных среди всех выявленных, диагностическая ценность данных признаков для прогнозирования остеопороза вызывает сомнения. Также была проведена сравнительная оценка распространенности фенотипических проявлений ДСТ у мужчин с дорсопатиями и остеоартритом. Результаты представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Сравнительный анализ частоты встречаемости фенотипических признаков ДСТ мужчин с дорсопатией и остеоартритом

Признак	Дорсопатия N=65	Контроль N=59	ОА N=13	Контроль N=111
Гиперэластичность кожи	3 (0,046)	1 (0,017)	0	4 (0,036)
Келлоидные рубцы	6 (0,092)	2 (0,034)	1 (0,077)	7 (0,063)
Атрофические стрии	1 (0,015)	0 (0,000)	1 (0,077)	0
Геморрагический синдром	6 (0,092)	4 (0,068)	3 (0,231)	7 (0,063)
Грыжевая болезнь	12 (0,185)	14 (0,237)	6 (0,462)	20 (0,180)
			p=0,046	
Висцероптозы	1 (0,015)	3 (0,051)	1 (0,077)	3 (0,027)
Проляпс митрального клапана	4 (0,062)	4 (0,068)	1 (0,077)	7 (0,063)
Варикозная болезнь вен	18 (0,277)	11 (0,186)	3 (0,231)	26 (0,234)
Миопия	21 (0,323)	22 (0,373)	6 (0,462)	37 (0,333)



Продолжение таблицы 24

Признак	Дорсопатия N=65	Контроль N=59	ОА N=13	Контроль N=111
Деформация желчного пузыря	6 (0,092)	7 (0,119)	2 (0,154)	11 (0,099)
ГЭРБ	20 (0,308)	15 (0,254)	4 (0,308)	31 (0,279)
Артериальная гипотензия	4 (0,062)	5 (0,085)	0	9 (0,081)
Пародонтоз	43 (0,662) p=0,08	29 (0,492)	9 (0,692)	63 (0,568)
Хруст ВЧС	46 (0,708)	41 (0,695)	11 (0,846)	76 (0,685)
Долихостеномелия	3 (0,046)	1 (0,017)	0	4 (0,036)
ГМС	40 (0,615)	37 (0,627)	5 (0,385)	72 (0,649)
Деформация грудной клетки	1 (0,015)	0	0	1 (0,009)
Плоскостопие	8 (0,123)	11 (0,186)	3 (0,231)	16 (0,144)
Вальгусная установка стоп	2 (0,031)	1 (0,017)	0	3 (0,750)
Хруст суставов	50 (0,769)	48 (0,814)	11 (0,846)	87 (0,784)
Патологический кифоз/лордоз	18 (0,277)	19 (0,322)	5 (0,385)	32 (0,288)

*Примечание: ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ВЧС – височно-нижнечелюстной сустав, ГМС – гипермобильность суставов*

Среди всех исследованных признаков, как у мужчин с дорсопатией, так и остеоартритом в целом, не было выявлено преобладания какого-либо фенотипического признака ДСТ, за исключением умеренно выраженной ассоциации грыжевой болезни у мужчин с ОА. Это может свидетельствовать о низком уровне диспластической стигматизации у мужчин в целом, и отсутствии значимого влияния ДСТ на развитие патологии опорно-двигательного аппарата.

Обсуждение. Поскольку понятие недифференцированной дисплазии соединительной ткани преимущественно используется российскими исследователями, при анализе данных литературы мы ориентируемся на результаты отечественных авторов. Исследования ассоциаций ДСТ и состояния костной ткани проводились преимущественно у детей и подростков. Так, И.Н. Захарова исследовала 90 подростков с признаками ДСТ, 40 человек составили группу контроля. При денситометрическом исследовании у подростков обеих групп было выявлено снижение МПКТ, однако ее частота и степень выраженности были различны. В 1-й группе остеопения диагностирована у 53 человек (МПКТ =  $0,84 \pm 0,13$  г/см<sup>2</sup>), у 15 человек – остеопороз (МПКТ =  $0,74 \pm 0,01$  г/см<sup>2</sup>). В целом снижение МПКТ в 1-й группе наблюдалось у 68 человек (75%). Во 2-й группе остеопения выявлена у 11 человек (27,5%). Нормальные значения минеральной плотности костной ткани ( $1,09 \pm 0,15$  г/см<sup>2</sup>), соответствовавшие росту, полу и возрасту, отмечены у 51 (37%) подростка обеих групп [23].

В другом исследовании проводилась оценка характеристик костной ткани 40 женщин с преобладающими висцеральными проявлениями ДСТ, 40 женщин с преобладающими костно-суставными и кожными проявлениями ДСТ и 25 практически здоровых женщин соответствующего возраста без признаков ДСТ. При оценке функционального состояния костной ткани у пациенток с ДСТ было выявлено снижение МПКТ и нарушение структуры кости. У обследованных пациенток как в I, так и во II группах была выявлена остеопения. При анализе показателей прочности костной ткани на ультразвуковом денситометре была установлена статистически значимая разница в скорости прохождения

ультразвуковой волны (SOS) вдоль кортикального слоя кости; снижение показателя SOS во II группе пациенток составило около 3%, в то же время как в I группе – 1% в сравнении с контрольной группой [141]. Морфологическим субстратом изменения костной ткани у лиц с ДСТ является последовательность дистрофических, деструктивных и атрофических изменений с расширением гаверсовых каналов, развитием в них грануляционной ткани и появлением воспалительной инфильтрации, а также изменений в виде хондроматозного перерождения и неравномерного кальциноза. Со стороны гаверсовых каналов увеличивается разрастание волокнистой соединительной ткани в виде фиброзной дисплазии кости [450].

Был проведен ряд исследований влияния ДСТ на развитие ОА. Так, при одномоментном исследовании 203 женщин (55–62 года), индекс выявляемости ДСТ по шкале Л.В. Соловьёвой составил более 1,92 у 6 (12%) пациенток без ОА и 44 (28,8%) с ОА. Достоверно чаще у женщин с ОА встречались плоскостопие и миопия. У 53 (34,6%) пациенток с ОА и только у 1 (2%) пациентки без ОА имелось три и более фенотипических признака ( $\chi^2 = 18,925$ ,  $p < 0,001$ ), что свидетельствует о ДСТ как о факторе риска развития ОА [24]. В другом исследовании женщин с ОА коленных суставов в сочетании с ДСТ и без ДСТ выраженность болевого синдрома в суставах по данным визуально-аналоговой шкалы боли достоверно не различались. Между группами не было статистически значимых различий по общей оценке боли, но функциональные ограничения у пациенток с ДСТ были существенно менее выраженными. При оценке качества жизни инструментом «EQ-5D» более 87,5 % женщин с ОА без ДСТ и только 33,3 % женщин с ОА и ДСТ отмечали затруднения при передвижении; 12,5 % женщин с ОА без ДСТ и ни одна из женщин с ОА и ДСТ не имела затруднения при умывании или одевании; 62,5 % женщин с ОА без ДСТ и 37,1 % женщин с ОА и ДСТ имели проблемы с выполнением повседневных обязанностей; 87,5 % женщин с ОА без ДСТ испытывали умеренную и 12,5 % – сильную боль, 100 % женщин с ОА и ДСТ испытывали умеренную боль [54].

Закключение. Выявлены клинические признаки нДСТ, ассоциированные с различными вариантами остеоартрита. Избыточный вес тела и хруст в суставах ассоциированы с остеоартритом, птозы ассоциированы с остеоартритом тазобедренных суставов, венозная недостаточность, плоскостопие, гиперлордозы – с остеоартритом коленных суставов, гиперэластичность кожи, выраженная миопия, хруст ВЧС, вальгусная деформация – с множественными поражениями суставов у женщин. Ассоциации фенотипических проявлений ДСТ с изменением МПКТ и развитием ассоциированных клинических состояний у мужчин немногочисленны, что не позволяет рассматривать их в качестве прогностических инструментов оценки риска развития ОП.

### **3.2.3 Клиническая вариабельность моногенных форм заболеваний соединительной ткани**

Высокая клиническая вариабельность у пациентов с моногенными формами патологии соединительной ткани зачастую затрудняет диагностику, создает сложности при разработке классификационных критериев, поэтому исследования в данной области являются очень важными, и каждый полученный результат имеет существенное значение, в связи с невысокой частотой встречаемости заболеваний. С равной частотой встречается как недостаточная диагностика, вследствие не до конца отработанных алгоритмов, или атипичных, «мягких» фенотипов заболевания, так и избыточная диагностика. В случае несовершенного остеогенеза зачастую любой низкотравматический перелом у лиц молодого и среднего возраста склонны интерпретировать как вариант данной патологии. Усугубляется данная ситуация невысокой доступностью в повседневной клинической практике подтверждающих молекулярно-генетических методов исследования. В связи с этим, мы провели исследование фенотипических проявлений у 64 пациентов с несовершенным остеогенезом и 43 пациентов с синдромом Элерса-Данло из Республики Башкортостан. У всех пациентов проведена оценка основных клинических критериев заболеваний, также некоторым пациентам проведено углубленное клиническое исследование. Дизайн денного фрагмента работы представлен на рисунке 8.



Рисунок 8 – Алгоритм клинического обследования пациентов с моногенными формами патологии соединительной ткани

Среди 64 обследованных пациентов с НО было 10 семейных случаев заболевания, таким образом, была возможность оценить как межсемеиную, там и внутрисемейную вариабельность клинической картины. У всех пациентов с НО была проведена оценка наличия голубых склер и количества переломов – основных диагностических критериев данного заболевания. Результаты исследования спорадических случаев представлены в таблице 26.

Таблица 25 – Основные клинические характеристики когорты пациентов со спорадическими случаями НО

Семья	Пациент	Пол	Возраст	Голубые склеры	Переломы
1	1	Ж	68	+	18
2	2	Ж	54	+	11
3	3	Ж	5	+	3
4	4	М	19	+	33
5	5	М	9	+	11
6	6	М	32	+	15
7	7	Ж	28	+	10
8	8	Ж	27	+	13
9	9	Ж	28	+	15
10	10	Ж	12	+	50
11	11	М	9	+	7

Продолжение таблицы 25

Семья	Пациент	Пол	Возраст	Голубые склеры	Переломы
12	12	М	17	+	12
13	13	М	6	-	4
14	14	М	12	-	3
15	15	М	20	+	7
16	16	Ж	20	+	5
17	17	М	4	+	5
18	18	М	24	+	12
19	19	Ж	27	+	15
20	20	Ж	26	+	50
21	21	М	10	+	10
22	22	М	12	-	4
23	23	Ж	15	+	9
24	24	Ж	5	+	1
25	25	М	12	+	18
26	26	М	8	+	5
27	27	М	31	+	11
28	28	Ж	29	+	17
29	29	М	14	+	18
30	30	Ж	16	+	9
31	31	Ж	31	+	16
32	32	М	23	+	14
33	33	М	32	+	11
34	34	М	35	+	8
35	35	М	16	-	0
36	36	М	20	-	0
37	37	М	23	-	0

## Продолжение таблицы 25

Семья	Пациент	Пол	Возраст	Голубые склеры	Переломы
38	38	М	19	-	0
39	39	Ж	29	+	10
40	40	Ж	20	-	0
41	41	М	7	+	0
42	42	М	14	+	12
43	43	М	25	-	25
44	44	Ж	28	+	11

*Примечание: здесь и далее «+» означает наличие признака, «-» отсутствие признака*

Голубая окраска склер встречалась у 35 пациентов из 44 (79,5%), количество переломов варьировало от 3 до 50, в среднем составляя  $13,11 \pm 10,85$ . У детей голубые склеры встречались в 15 случаях из 19 (78,9%), среднее количество переломов составило  $10,64 \pm 7,25$ . Результаты исследования основных фенотипических признаков у пациентов с семейными случаями НО представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Основные клинические характеристики когорты пациентов с семейными случаями НО

Семья	Пациент	Пол	Возраст	Голубые склеры	Переломы
1	43	М	26	+	15
	44	Ж	59	-	3
2	45	Ж	30	+	8
	46	Ж	52	+	20
3	47	М	29	+	19
	48	М	52	-	0
4	49	Ж	17	+	14
	50	М	46	-	0

Продолжение таблицы 26

Семья	Пациент	Пол	Возраст	Голубые склеры	Переломы
5	51	М	10	+	6
	52	Ж	36	-	3
6	53	М	11	+	5
	54	М	41	-	0
7	55	М	23	+	10
	56	Ж	52	-	0
8	57	М	34	-	7
	58	М	58	-	0
9	59	Ж	6	+	5
	60	Ж	32	+	7
10	61	М	4	-	4
	62	М	45	-	0

Среди 20 пациентов из 10 семей голубая окраска склер встречалась только у 10 (50%) обследованных, количество переломов варьировало от 3 до 20 ( $9,0 \pm 5,75$ ). Обращает на себя внимание выраженная внутрисемейная вариабельность клинических проявлений. В 6 семьях только один из пациентов имел голубую окраску склер, и в большинстве семей общее количество переломов значительно отличалось, зачастую у одного из членов семьи переломы отсутствовали.

12 пациентов от 19 до 34 лет прошло углубленное обследование на базе Клиники БГМУ. Было проведено комплексное обследование, включавшее в себя клинический осмотр, в том числе оценку болевого синдрома в спине и суставах по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) и наличие органных признаков дисплазии соединительной ткани с помощью модифицированной шкалы Т.И. Кадуриной, определение общего и ионизированного кальция, щелочной фосфатазы, рентгенографию костей скелета; двуэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию в режиме Total Body, в ряде случаев – сцинтиграфию костей скелета. Контрольную группу составили 30 сопоставимых по возрасту здоровых



лиц без признаков заболеваний костно-мышечной системы. Основные клинические признаки НО включенных в обследование пациентов приведены в таблице 27.

Таблица 27 – Основные характеристики пациентов с НО, прошедших углубленное обследование

№	Возраст, лет	Пол	Ген	Тип заболевания	ГС	НС	ГМС	ГЭК	НД	Счет ДСТ
1	30	Ж	<i>SGMS2</i>	КПСЧ	+	-	+	-	-	15
2	28	Ж	<i>IFITM5</i>	НО V	+	-	+	-	+	21
3	19	М	Не выявлен	НО I	-	-	+	-	-	7
4	25	Ж	Не выявлен	НО I	+	-	+	-	-	9
5	23	М	<i>P3H1</i>	НО VIII	-	-	+	-	+	10
6	20	М	<i>COL1A1</i>	НО I	+	-	+	-	-	9
7	21	Ж	<i>PLOD2</i>	Синдром Брука	+	-	+	-	-	20
8	24	М	<i>COL1A2</i>	НО IV	-	-	+	-	-	12
9	34	М	Не выявлен	НО I	+	-	+	-	+	10
10	20	Ж	<i>COL1A1</i>	НО III	+	-	+	-	+	15
11	33	Ж	<i>COL1A2</i>	НО I	+	+	+	-	-	15
12	20	М	Не выявлен	НО I	+	-	+	+	-	14

Примечание: ГМС – гипермобильность суставов, ГЭК – гиперэластичность кожи, НД – несовершенный дентиногенез, НС – нарушение слуха, ГС – голубые склеры, КПСЧ – кольцевые поражения свода черепа с хрупкостью костей

В группе пациентов с несовершенным остеогенезом возраст варьировал от 19 до 34 лет (средний возраст  $24,75 \pm 5,31$  лет). Счет фенотипических признаков ДСТ составил  $13,08 \pm 4,39$  баллов при пороговом значении 8 баллов. У всех пациентов была выявлена гипермобильность суставов различной степени выраженности. При этом не у всех были выявлены такие базовые фенотипические признаки, как голубой оттенок склер (9/12), несовершенный дентиногенез (5/12), нарушение слуха отмечалось только у одного пациента, как и гиперэластичность кожи. 5 пациентов получали терапию бисфосфонатами до 18 лет. Количество переломов до 18 лет варьировало от 4 до 35 (медиана 9,5 [6; 13,5]). После 18 лет переломы продолжились у 7 пациентов. Средний уровень минеральной плотности костной ткани (МПКТ) составил  $1,045 \pm 0,208$  г/см<sup>3</sup>, показатель Z-критерия составил  $-0,375 \pm 1,43$  (таблица). Боль в спине отмечали 8 пациентов (67%), боль в суставах – 11 (92% (таблица 28)).

Таблица 28 – Характеристика костно-мышечной системы и получаемой терапии БФ у пациентов с НО, прошедших углубленное обследование

Пациент	ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	БФ до 18 лет	Переломы		МПКТ total body	Z критерий
			< 18 лет	> 18 лет		
1	28,5	+	10	11	1,088	0,3
2	17,2	-	14	1	0,941	-0,5
3	18,2	-	9	0	0,885	-0,9
4	29,4	-	4	0	1,288	1,3
5	21,1	-	6	0	1,269	1,2
6	16,9	+	35	2	1,223	0,2
7	18,4	+	13	2	1,003	0,3
8	22,9	+	9	3	1,118	0,9
9	31,2	-	10	0	1,284	-0,1
10	33,7	+	35	5	0,745	-2,6
11	20,5	-	4	2	0,666	-3,2
12	17,1	-	6	0	1,031	-1,4

*Примечание: БФ – бисфосфонаты*

В группе контроля средний возраст составил  $19,96 \pm 0,76$  лет. Переломы носили единичный характер и были связаны со значительными внешними воздействиями. Счет фенотипических признаков ДСТ составил  $7,96 \pm 3,73$  балла. Боль в спине отмечали 19 обследованных (63%), боль в суставах – 14 (47%). Средний уровень МПКТ составил  $1,159 \pm 0,082$  г/см<sup>3</sup>, показатель Z-критерия составил  $0,97 \pm 0,606$ . При проведении сравнительного анализа обследованных параметров выявлено статистически значимые различия в уровне МПКТ и Z-критерия ( $t=2,85$ ;  $p=0,0067$  и  $t=4,34$ ;  $p=0,0001$  соответственно). Несмотря на первичный дефект фибриллярного компонента костного вещества, уровень минерализации у пациентов с НО также снижен, хотя и не достигает уровня остеопороза в раннем возрасте. В группе с НО отмечается практически двукратное превышение уровня диспластической стигматизации ( $t=3,81$ ;  $p=0,0004$ ), что может свидетельствовать о вовлечении не только костной системы, но и соединительной ткани в целом. Частота болевого синдрома в спине была сопоставима в обеих исследованных группах, боль в суставах статистически чаще отмечали пациенты с НО ( $\chi^2=5,54$ ;  $p=0,019$ ) (таблица 29).

Таблица 29 – Сравнительный анализ клинических параметров пациентов с НО и группы контроля

Признак	Группа НО, N=12	Контроль, N=30
Мужчин, N	6 (50%)	11 (37%)
Возраст, лет	$24,75 \pm 5,31$	$19,96 \pm 0,764$
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$22,92 \pm 6,12$	$21,26 \pm 2,51$
Фенотипические признаки ДСТ, баллы	$13,08 \pm 4,39$ $p=0,0004$	$7,96 \pm 3,73$
Переломы до 18 лет, всего	155	4
Переломы до 18 лет, у 1 пациента, Ме [Q1;Q3]	9,5 [6; 13,5]	0
Переломы после 18 лет, всего	26	2
Переломы после 18 лет, у 1 пациента, Ме [Q1;Q3]	1,5 [0; 2,5]	0

## Продолжение таблицы 29

Признак	Группа НО, N=12	Контроль, N=30
МПКТ общая, г/см <sup>3</sup>	1,045±0,208 p=0,0067	1,159±0,082
Z критерий	-0,375±1,43 p<0,0001	0,97±0,606
Боль в спине, N	8 (67%)	19 (63%)
Боль в суставах и конечностях, N	11 (92%) p=0,019	14 (47%)

*Примечание: здесь и далее Me [Q1;Q3] – медиана, 1й и 3й квартили*

Примечательно, что на момент исследования уровень болевого синдрома у пациентов с НО получавших и не получавших терапию бисфосфонатами был сопоставим, при этом уровень Z-критерия был ниже в группе пациентов, не получавших терапию, однако различия не достигли уровня статистической значимости (таблица 30).

Таблица 30 – Сравнительный анализ клинических параметров пациентов с НО, в зависимости от терапии бисфосфонатами

Признак	БФ до 18 лет (+), N=5	БФ до 18 лет (-), N=7
Мужчин, N	2 (40%)	4 (57,14%)
Возраст, лет	23±4,24	26,05±5,94
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	24,08±7,02	22,1±5,82
Фенопризнаки ДСТ	14,2±4,08	12,28±4,75
Переломы до 18 лет, всего	102	53
Переломы до 18 лет, у 1 пациента, Me [Q1;Q3]	13 [10; 35]	6 [4; 10]
Переломы после 18 лет, всего	23	3
Переломы после 18 лет, у 1 пациента, Me [Q1;Q3]	3 [2; 5]	1 [0; 1]

## Продолжение таблицы 30

Признак	БФ до 18 лет (+), N=5	БФ до 18 лет (-), N=7
МПКТ total	1,035±0,18	1,052±0,24
Z критерий	-0,18±1,38	-0,51±1,55
Боль в спине	3 (60%)	5 (71,43%)
Боль в суставах и конечностях	4 (80%)	7 (100%)

Помимо измерения МПКТ методом рентгеновской денситометрии проводилось исследование метаболической активности костей с применением сцинтиграфии с радиоактивным технецием. Результаты значительно отличаются у разных пациентов, и представлены на рисунке 9.

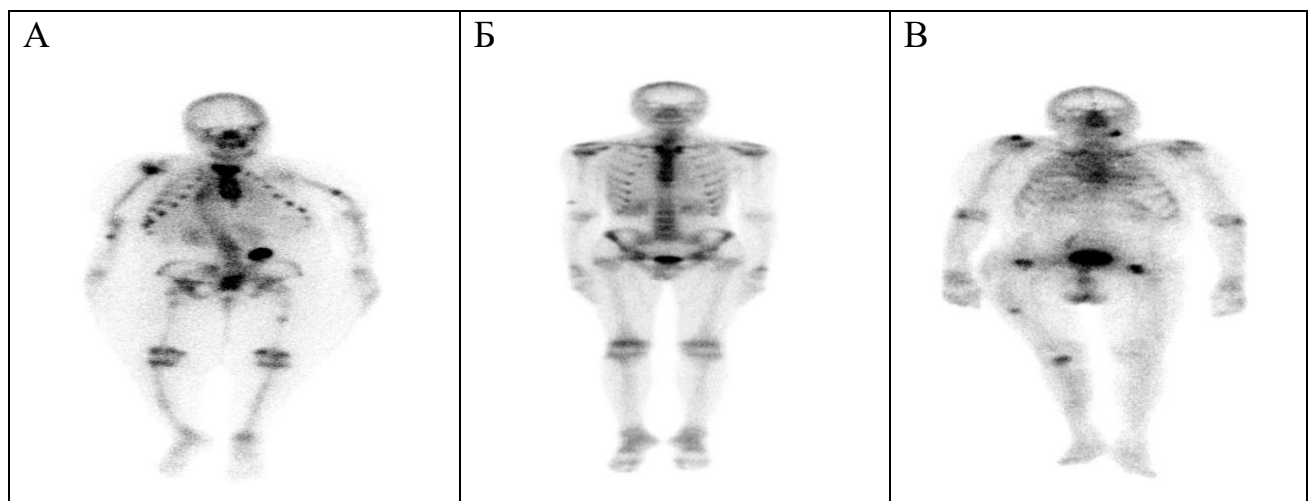


Рисунок 9 – Сцинтиграфия костей скелета у пациентов с НО.

У пациентов А и Б была выявлена множественная метаболическая активность в проекции грудного и пояснично-крестцового отделов позвоночника, плечевых, локтевых, лучезапястных, грудино-ключичных суставов, крестцово-подвздошных сочленений, тазобедренных, коленных суставов определяется диффузное, повышение накопления радиофармпрепарата (РФП), соответствующее дегенеративно-дистрофическим изменениям. У пациента В, более старшего возраста, отмечается гиперфиксация РФП в проекции грудного и пояснично-крестцового отделов позвоночника, плечевых (D>S), локтевых, лучезапястных, грудино-ключичных суставов, крестцово-подвздошных

сочленений, тазобедренных, коленных, голеностопных суставов определяется диффузно-очаговое повышение накопления РФП, соответствующее дегенеративно-дистрофическим изменениям. Очаги гиперфиксации в проекции акромиально-ключичного сочленения справа; нижней челюсти слева (в области удаленного зуба); шейках бедренных костей с двух сторон больше слева (при КТ-сопоставлении в области шейки бедренной кости справа определяется консолидированный перелом, фиксированный металлическими шурупами, в шейке левой бедренной кости – неконсолидированный перелом); средней трети бедренной кости справа (при КТ сопоставлении в средней трети правой бедренной кости определяется точка максимальной угловой деформации с выраженным локальным разряжением костнотрабекулярного рисунка, кортикальный слой на этом уровне истончен). Количественные характеристики приведены в таблице 31.

Таблица 31 – Уровни фиксации РФП у пациентов с НО и без патологии

Локализация	Пациент А	Пациент Б	Пациент В
Плечевая кость	18±6	11,8±3,47	18,28±4,45
Локтевая кость	11±3	9,11±2,97	13,9±4,11
Бедренная кость	9±3	13,04±3,44	14,79±3,54
Большеберцовая кость	13±5	12,13±3,55	19,13±3,66
Грудные позвонки	50±12	82,11±10,29	49,61±7,59
Поясничные позвонки	34±8	73,8±10,97	54,51±8,62

Следует рассмотреть более подробно редкие типы НО, которые были выявлены в ходе исследования. Одним из таких является V тип НО, который характеризуется типичными клиническими и рентгенологическими проявлениями, а так же специфическими молекулярным дефектом с.-14С>Т в гене *IFITM5*. Среди всех включенных в исследование было выявлено 3 пациента с

данным типом заболевания. Частота встречаемости данного типа составила 4,6%. Во всех случаях клиническая симптоматика была крайне неоднородной. У первого пациента НО тип V был заподозрен на основании клинического обследования, а мутация в гене *IFITM5* была выявлена методом Сэнгера. У двух других неродственных пациентов с НО изменение в гене *IFITM5* было обнаружено при скрининге мутаций методом секвенирования следующего поколения (NGS). Демографические данные, информация о переломах и возраст начала лечения представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Демографические характеристики пациентов с несовершенным остеогенезом V типа

Пациент	1	2	3
Пол	М	Ж	Ж
Возраст взятия на курацию, лет	7	25	24
Возраст постановки клинического диагноза, лет	2,5	25	14
Возраст постановки молекулярного диагноза, лет	3	25	24
Классический НО типа V	+	-	-
Семейный анамнез	-	-	-
Этнос	Башкир	Русский	Русский
Рост, (SD Score)	-2,1	1,4	1,1
Вес, (SD Score)	-1,96	-3,1	-3,3
Возраст первого перелома, лет	2,5	с рождения	с рождения
Всего переломов	10	> 15	> 50
Возраст начала терапии, лет	2,5	-	-
Мобильность	+	+	-

У всех пациентов мутация была обнаружена de-novo. Случаев аутосомно-доминантного наследования выявлено не было. Все пациенты имели низкий рост

(SD Score: от 1,1 до -2,1). Количество переломов варьировалось от 10 до 50, а возраст первого перелома – от рождения до 2,5 лет. Компрессионные переломы позвонков наблюдались у всех пациентов. Только 1 пациент получал лечение бисфосфонатами. Было показано, что минеральная плотность костной ткани варьирует в широких пределах.

В данном исследовании у 1 пациента был выявлен тяжелый остеопороз, несмотря на применение БФ. Показатели Z-критерия у двух других пациентов были в пределах нормы. Двое пациентов могли ходить без посторонней помощи, одна не могла ходить самостоятельно и пользовалась инвалидным креслом. У двух пациентов отмечалась голубая окраска склер. Проблемы со слухом и несовершенный дентиногенез не наблюдались ни у одного из пациентов. У пациента 1 была тонкая эмаль и кариес, у пациента 2 – аномалии зубов в виде скученности и неправильного роста зубов, эмаль нормального цвета, изменений формы зубов не отмечено; у пациента 3 – признаки повреждения эмали, частый кариес, также отмечена скученность и неправильный рост зубов. Кроме того, у пациента 1 – общее нарушение речи III уровня (таблица 33).

Таблица 33 – Клиническая характеристика пациентов с остеогенезом несовершенным V типа

Пациент	1	2	3
Голубые склеры	+	+	-
Нарушение слуха	-	-	-
Несовершенный дентиногенез	-	-	-
Переломы позвонков	+	+	+
Контрактуры суставов	+	+	+
Речевые нарушения	+	-	-
Интеллектуальные нарушения	-	-	-



У всех пациентов отмечались контрактуры суставов, что связано вероятнее всего с деформациями после переломов. У пациента 2 также наблюдалась гиперпронация в правом локтевом суставе. Тяжелая гипермобильность суставов наблюдалась только у пациента 2, а у пациента 1- только в суставах кистей. Рентгенологические особенности пациентов с НО V типа обобщены в таблице. Гипертрофический каллус выявлен у 1 пациента, кальцификация межкостной мембраны – у 2 пациентов. Сколиоз и искривление длинных трубчатых костей было выявлено у всех обследованных пациентов (таблица 34).

Таблица 34 – Рентгенографические характеристики пациентов с остеогенезом несовершенного сустава V типа

Пациент	1	2	3
Гипертрофический каллус	+	-	-
Кальцификация межкостной мембраны	+	+	-
Сколиоз	+	+	+
МПКТ (кг/см <sup>2</sup> )	нет данных	0,653	руки = 0,910 ноги = 0,697 туловище = 1,15
МПКТ Z-критерий	лучевая кость -6,3; большеберцовая кость -6,6	-0,5	-0,5

По данным сцинтиграфии, у одного из пациентов с НО V типа присутствует очаг гиперфиксации РФП в правой бедренной кости, что может быть проявлением формирования гипертрофической костной мозоли (рисунок 10). Таким образом, классический фенотип несовершенного остеогенеза V типы мы выявили только у одного пациента.



Рисунок 10 – Сцинтиграфия костей скелета у пациентки с НО V типа.

У пробанда №2 отмечалась атипичная клиническая картина, схожая с клиническими проявлениями болезни Элерса-Данлоса, и у него была обнаружена ранее не описанная мутация с.1903 С>Т: р.Arg635\* в гетерозиготном состоянии в гене ламинина В3 (*LAMB3*), мутации в котором встречаются при буллезном эпидермолизе и несовершенном амилогенезе, что приводит к более мягкому клиническому проявлению НО типа V. У этого пациента нет проблем с кожей, присутствуют некоторые зубные аномалии, состояние зубов не требовало медицинского вмешательства до последнего года, когда появился кариес нескольких локализаций. Многие типы НО характеризуются несовершенным дентиногенезом, дефект в гене *LAMB3* может лежать в основе молекулярного патогенеза этого состояния. Ко-мутации в генах *IFITM5* и *LAMB3* не были описаны в литературе. Однако только после молекулярно-генетической диагностики стало ясно, что у пациента НО тип V.

Другой редкой патологией, которая была выявлена в процессе исследования, были кольцевые поражения свода черепа (КПСЧ) с хрупкостью костей с или без спондилометафизарной дисплазии (MIM: #126550) — редкое аутосомно-доминантное заболевание скелета, характеризующееся низкой минеральной плотностью костей, переломами позвоночника и периферических костей и специфическими склеротическими поражениями костей черепа. Пробанд — женщина 30-ти лет, у которой первый перелом правой бедренной кости был

обнаружен вскоре после рождения, повторный перелом той же кости случился в год. В течение жизни зарегистрированы множественные переломы верхних и нижних конечностей (около 20), с 17 до 20 лет получала курсовое лечение бисфосфонатами. При проведении рентгенографии черепа в правой боковой проекции в возрасте 30-ти лет диагностированы склеротические поражения в проекции лобно-теменных, височных костей, максимальными размерами в проекции венечного шва. Эти данные были подтверждены компьютерной томографией костей черепа. При проведении сцинтиграфии костей скелета в апреле 2020 года не было выявлено метаболически активных зон, которые зачастую выявляются у пациентов с несовершенным остеогенезом, даже вне зон переломов и костных мозолей. При осмотре пробанда обращал на себя внимание низкий рост – 150 см (-2.02 SD), сколиоз груднопоясничного отдела позвоночника 2 степени, асимметрия грудной клетки, деформация конечностей и ограничение движений в левом локтевом суставе после переломов, укорочение левой нижней конечности на 2 см. Отмечался серый оттенок склеры глаз. На голове в области лобно-теменных костей пальпировалось костное плотное образование. Данные инструментальных исследований представлены на рисунке 11.

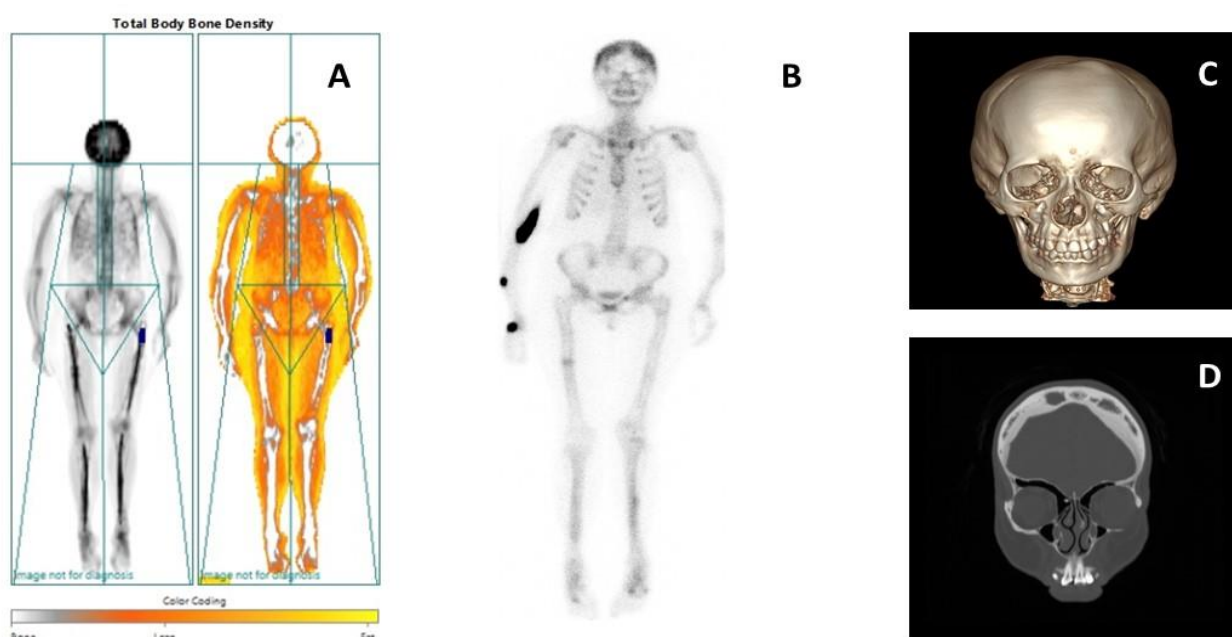


Рисунок 11 – Рентгеновская денситометрия (А), сцинтиграфия (В), компьютерная томография костей черепа (С,Д) пациентки с синдромом КПСЧ.

Алгоритм генетической диагностики у пациентки включал первоначальное исследование патогенных изменений в генах коллагена 1 типа, где не было найдено значимых мутаций. Далее пациентка была обследована на панели «Заболевания соединительной ткани», где был выявлен патогенный вариант с.945G>C (p.Lys315Asn) в гене *TGFBI*, ассоциированный с синдромом Камурати-Энгельмана. Болезнь Камурати-Энгельмана (БКЭ) — это редкая дисплазия костной ткани с вариабельной клинической картиной. Для нее характерен гиперостоз длинных костей, черепа, позвоночника и таза, сопровождающийся сильной болью в конечностях; контрактуры суставов; мышечная слабость и склонность к переломам. Поскольку клинические проявления у пациентки не вполне удовлетворяли наиболее типичным критериям данного синдрома, было проведено полное прочтение генома. Был идентифицирован редкий рекуррентный вариант с.148C>T (p.Arg50Ter) в гене *SGMS2*, который ассоциирован с клиническими проявлениями заболевания у нашего пациента. Таким образом, выявлена клиническая вариабельность НО, а молекулярно-генетические исследования показали, что под диагнозом НО могут наблюдаться пациенты с другими заболеваниями, имеющими схожие клинические проявления.

Также нами были исследованы 43 пациента с синдромом Элерса-Данло, согласно классификационным критериями у всех имелись признаки классического типа СЭД. У всех пациентов отмечалась гипермобильность суставов и гиперэластичность кожи различной степени выраженности, для 26 пациентов были доступны клинические данные о наличии дополнительных фенотипических проявлений, которые представлены в таблице 35.

Таблица 35 – Клиническая характеристика пациентов с синдромом Элерса-Данло

Пациент	Возраст, лет	Дополнительные фенотипические проявления
1	33	Вывихи головки плечевой кости, остеопения, хруст и подвывих ВЧС, плоскостопие, ПМК, миопия, изогнутый желчный пузырь

Продолжение таблицы 35

Пациент	Возраст, лет	Дополнительные фенотипические проявления
2	35	Вывихи плечевых суставов, плоскостопие, голубые склеры, геморрагический синдром, хруст и подвывих ВЧС, частичная атрофия зрительных нервов, варикозная болезнь вен, двусторонняя нейросенсорная тугоухость, парадонтит
3	35	Вывихи плечевых и коленных суставов, сферулы, атрофия зрительного нерва, плоскостопие, голубые склеры, геморрагический синдром, хруст и подвывих ВЧС, вальгусная установка стоп, ПМК, двусторонняя нейросенсорная тугоухость, перегиб желчного пузыря, варикозная болезнь вен н/к, парадонтит
4	29	Вывихи плечевых суставов, остеопения, деформация тазового кольца за счет вывиха обеих бедер, психический инфантилизм, центральная хориоретинальная дистрофия, килевидная деформация грудной клетки, кифосколиоз, грыжи в анамнезе, миопия легкой степени.
5	25	Сколиоз, миопия
6	20	Разрывы связок
7	10	МАРС, спинальная нестабильность
8	39	Перелом лучевой кости
9	9	Перелом плечевой кости, подвывихи суставов
10	29	Остеохондроз
11	13	Гиперлордоз, геморрагии, эквиноварусная установка стоп
12	13	Грыжи, деформация грудной клетки, плоскостопие
13	35	Тонкая, ранимая кожа
14	50	Атрофические стрии, вывихи суставов
15	18	Келлоидные рубцы, вальгусная установка стоп

Продолжение таблицы 35

Пациент	Возраст, лет	Дополнительные фенотипические проявления
16	39	Псевдоопухоли, папиросная бумага
17	19	Тонкая кожа, атрофические стрии, гиперлордоз
18	53	Вывих пальца стопы
19	12	Геморрагии, аксональная полинейропатия
20	41	Растяжение связок стопы
21	59	Прессбиопия, остеохондроз
22	7	Вывихисуставов
23	8	Плоскостопие, паховая грыжа, частые раны кожи
24	46	Геморрагии, долихостеномелия, воронковидная деформация ГК, ВБВ нижних конечностей, выраженная миопия
25	57	Рецидивирующие вывихи крупных и мелких суставов, сферулы, голубые склеры, парадонтит, кифосколиоз, плоскостопие, геморрагический синдром, нефроптоз с обеих сторон, киста Беккера, двусторонняя нейросенсорная тугоухость
26	43	Паховая грыжа, атрофические стрии

*Примечание: МАРС – малые аномалии развития сердца, ПМК – пролапс митрального клапана*

Спектр клинических проявлений, помимо ГМС и ГЭК достаточно широк, что свидетельствует о системном характере процесса. Часто встречаются фенотипические проявления недифференцированной дисплазии соединительной ткани, такие как геморрагический синдром, грыжи, нарушения архитектуры скелета, атрофические стрии и кожные сферулы.

Более детальное клиническое обследование прошли 5 пациентов с синдромом Элерса-Данло. Клиническая картина у пациентов не отличалась

значительным разнообразием. Основными клиническими проявлениями, а также и диагностическими критериями, были ГМС и гиперэластичность кожи. Выраженность ГМС варьировала от 7 до 9 баллов, гиперэластичности от 2 до 4 сантиметров. Также у пациентов встречались такие дополнительные диагностические критерии, как подвывихи суставов, искривления позвоночника, грудной клетки, выраженный геморрагический синдром с легким образованием синяков, гематом и носовыми кровотечениями. Примеры клинических проявлений представлены на рисунке 12.



Рисунок 12 – Клинические проявления СЭД – гипермобильный и геморрагический синдромы.

Согласно классификационным критериям, все пациенты относились к 1 (классическому) типу СЭД. Всем было проведено исследование ЭхоКГ, ультразвуковое исследование вен нижних конечностей и брахиоцефальных артерий. Практически у всех пациентов был выявлен гемодинамически незначимый пролапс митрального клапана 1 степени. У 2 пациентов-сибсов выявлено варикозная болезнь нижних конечностей. Обращает на себя внимание повышенная диспластическая стигматизация, еще более выраженная, по сравнению с пациентами с НО – средний балл количественной оценки составил  $22,6 \pm 3,44$  балла. Сводные данные о клинических характеристиках пациентов представлены в таблице 36.

Таблица 36 – Основные характеристики пациентов с СЭД, прошедших углубленное обследование

№	Возраст	Пол	Большие критерии	Малые критерии	Счет ДСТ	Z-критерий	МПКТ
1	32	Ж	ГМС 7 баллов ГЭК (2-2-2)	Вывихи Плоскостопие Гематомы	25	0,6	1,168
2	32	Ж	ГМС 7 баллов ГЭК (3-2-2)	Вывихи Плоскостопие Гематомы Сферулы	26	0,2	1,123
3	45	Ж	ГМС 9 баллов ГЭК (4-2,5-2)	Гематомы ВДГК ВБВНК	28	0,4	1,138
4	27	М	ГМС 7 баллов ГЭК (2-3-2)	Вывихи Деформация ГК	16	-1,8	1,066
5	31	М	ГМС 9 баллов ГЭК (3-4-4)	Вывихи Кифосколиоз	18	-1,1	0,988

*Примечание: ГК – грудная клетка, ВДГК – воронкообразная деформация грудной клетки, ВБВНК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, ГЭК – гиперэластичность кожи (кисть-локоть-плечо)*

Уровни МПКТ были в пределах нормальных значений у 3 обследованных пациентов, у 2 пациентов отмечалось снижение МПКТ до уровня остеопении. Также не было отмечено болевого синдрома со стороны опорно-двигательного аппарата, несмотря на выраженную ГМС. Проведение сравнительного анализа клинических и лабораторных параметров невозможно ввиду малого размера выборки пациентов с СЭД, прошедших углубленное клиническое обследование.



Обсуждение. Хрупкость костей и остеопения при НО приводят к рецидивирующим переломам, переломам в нетипичных местах и малотравматичным переломам, включая внутриутробные переломы при тяжелых формах [478]. По крайней мере, при более распространенной и легкой форме НО типа I частота переломов наиболее высока в педиатрической популяции и снижается с возрастом [577]. Низкий рост является распространенной особенностью, особенно при тяжелых формах НО, и в меньшей степени при более легкой форме НО типа I [317]. Аномалии кранио-цервикального перехода встречаются у 37% пациентов и могут вызывать серьезные осложнения [504], [182]. Вследствие структурных и функциональных аномалий скелета часто возникает боль в костях. Доказательства этой хронической боли также были получены в мышинной модели *Colla1JRT/+*, которая является доминантной моделью заболевания [130]. НО является системным заболеванием соединительной ткани, и внескелетные проявления могут возникать в тканях, экспрессирующих коллаген I типа, или развиваться вторично по отношению к скелетным изменениям. К ним относятся голубовато-серые склеры, аномалии зубов, гипермобильность суставов, потеря слуха, мышечная слабость, сердечно-сосудистые осложнения, а также легочные или респираторные проблемы [415; 478; 577]. Результаты проведенных исследований демонстрируют высокую распространенность скелетно-мышечных болей у взрослых с НО и значительное влияние болевого синдрома на качество жизни. Боль в суставах тела является ключевым признаком, отмечаемым среди взрослого населения, и результаты показывают, что не было корреляции между типом НО, возрастом и отмечаемой болью. Более половины пациентов сообщили о постоянной боли в соответствии с определением Международной ассоциации по изучению боли (IASP) [346]. По данным исследования состояния здоровья, проведенного в 2017 году компанией Versus Arthritis, 34% населения Англии страдают от хронической боли, и наиболее распространенной причиной боли являются заболевания опорно-двигательного аппарата [243]. Это позволяет предположить, что у взрослых с НО частота хронической боли выше, чем в общей популяции. Несмотря на сообщения

о новых переломах в клинике, частота постоянной боли не может быть полностью объяснена текущими переломами, о чем ранее сообщали Lafage-Proust & Courtois [387]. Наиболее распространенным участком боли был позвоночник, что может быть объяснено высокой распространенностью деформации позвоночника, такой как сколиоз или переломы позвонков, у пациентов с НО [487]. Несущие суставы в нижних конечностях также были обычными местами боли, и исследование предполагает, что нестабильность суставов и остеоартрит могут быть факторами этих симптомов [420; 606]

В нескольких исследованиях проводилось измерение МПКТ у детей и взрослых с НО [193; 523]. Хотя данный параметр не имеет существенного значения для установления диагноза НО, он, по-видимому, является показателем тяжести заболевания и может предсказывать долгосрочный функциональный исход [286]. Показатели МПКТ при НО зачастую не выходят за рамки нормальных значений для общей популяции. Используя критерии ВОЗ, около 30% от общей популяции больных НО имели остеопению, а 10% – остеопороз. Примечательно, что только 4% пациентов с НО I типа соответствовали денситометрическим критериям остеопороза (Т-критерий  $< -2,5$ ) на основании общего МПКТ тела, в то время как 25% были классифицированы как остеопоротические по общему МПКТ бедра [647]. Результаты наших исследований в целом согласуются с приведенными данными.

Первые упоминания о фенотипических особенностях НО V типа, в частности о гипертрофической мозоли, появились в литературе еще в 1908 году [441] и периодически появлялись в последующих публикациях. В серии из 60 пациентов V типа, у 10 (17%) развилась по крайней мере одна гиперпластическая мозоль в возрасте до 20 лет [80; 415]. В то время еще не был выявлен молекулярный маркер для этого типа заболевания, как и не был выделен V тип. Один из первых обзоров по НО V типа содержится в статье F.H. Glorieux и F. Rauch от 2004 года, где была предпринята попытка систематизировать имеющуюся на тот момент информацию [226]. Семейное возникновение гиперпластической мозоли при НО с аутосомно-доминантным типом

наследования было описано в некоторых случаях, когда дополнительные признаки, такие как кальцифицированная межкостная мембрана и неравномерный диаметр коллагеновых фибрилл, связаны с образованием гиперпластической мозоли [290]. В нескольких публикациях описаны отдельные клинические случаи пациентов с НО типа V. Fleming et al. описали случай пациента с классическими клиническими проявлениями и отметили положительный эффект терапии бисфосфонатами в раннем возрасте [599]. Первое описание 12 пациентов с НО типа V в азиатских популяциях было сделано в 2006 году [445]. НО V типа имеет некоторые уникальные клинические особенности, однако они развиваются не у всех пациентов. Большинство литературных данных указывает на то, что у пациентов с НО типа V отсутствуют типичные признаки НО, такие как голубые склеры и несовершенный дентиногенез. Однако имеются единичные сообщения о пациентах с этими фенотипическими признаками. В нашем исследовании голубые склеры у 2 из 3 пациентов. Частота внеклеточных признаков (несовершенный дентиногенез, потеря слуха) в нашем исследовании была в целом схожа с предыдущими исследованиями. Вывих головки лучевой кости встречается в литературе с частотой от 36% до 100% пациентов; у обследованных нами пациентов вывих не был выявлен. Гиперпластическая мозоль описана в литературе в 65-77% случаев, в нашем исследовании гиперпластическая мозоль была обнаружена только у 1 пациента, хотя такой же небольшой процент указан в Dong et al. (2006). Частота деформации длинных трубчатых костей, сколиоза и компрессионных переломов позвонков была сопоставима с результатами других исследований [227]

Клиническая картина различных типов СЭД достаточно полиморфна. Зачастую в ней есть общие черты с другими наследственными заболеваниями соединительной ткани, такими как НО. Исследователи отметили, что все случаи синдрома хрупкой роговицы и большинство случаев кифосколиотического СЭД имели голубую/серую склеру и тонкую роговицу. Синдром хрупкой роговицы обусловлен биаллельными вариантами в генах *ZNF469* или *PRDM5*. Эти гены кодируют белки, которые играют решающую роль в нормальном развитии

сегмента передней камеры и роговицы [147]. Таким образом, патогенные варианты приводят к истончению склеры, создавая голубоватый вид. В ряде случаев наблюдается нейросенсорная и кондуктивная глухота, а также гипермобильность барабанных перепонки, что в сочетании с офтальмологическими осложнениями может привести к полисенсорной потере чувствительности [147; 645]. Гипермобильность суставов и повышенные показатели по шкале Бейтона были связаны с большинством подтипов СЭД, при этом многие его подтипы демонстрируют различную степень гипермобильности в клинической картине [580]. Это также преобладает в более редких подтипах, таких как кифосколиотический и дерматоспараксисный типы. При кифосколиотическом типе, связанном с *PLOD1*, дефицит коллаген-лизилгидроксилазы 1 вызывает недостаточное гидроксилирование остатков лизила в коллагенах и нарушает образование поперечных связей с последующей механической нестабильностью суставных связок [494]. Ряд исследователей отметили остеопению/остеопороз как общее осложнение среди всех подтипов СЭД. Недавние исследования показали различные роли коллагенов в остеобластогенезе в составе экстрацеллюлярного матрикса [561; 627]. По оценкам, 90% матрикса в костной ткани состоит из коллагена, в основном коллаген I типа, в меньшем количестве V типа (~10%), который служит в качестве тканевого каркаса, а также обеспечивает основу для крепления клеток и регулирует биодоступность факторов роста и цитокинов [627]. Именно фибриллы коллагена, содержащие молекулы коллагена I и V типов, сшиваются в процессе остеогенеза кости. Поэтому, как и ожидалось, варианты, вызывающие изменение или снижение коллагена I и V, приводят к нарушению минерализации кости [266]. Кроме того, коллаген III типа экспрессируется на высоком уровне во время эмбрионального развития скелета и экспрессируется остеобластами для развития трабекулярной кости. Таким образом, варианты потери функции в *COL3A1* (сосудистый тип) могут нарушать дифференцировку остеобластов [138]. Боль в суставах часто встречается у пациентов с СЭД (80,4%), особенно у пациентов с гипермобильным типом (94,7%). Следовательно, боль в суставах, особенно

связанная с гипермобильностью, является одним из ведущих факторов, определяющих инвалидность при нарушениях, связанных с гипермобильностью суставов [220]. Естественная история боли при гипермобильности суставов и связанных с ней нарушениях показывает, что в начале заболевания боль обычно носит ноцицептивный характер (физическая боль, вызванная структурной дисфункцией) [320]. Более того, исследования показывают, что пациенты с СЭД могут испытывать нейропатическую боль, в то время как другие предполагают, что боль в суставах распространяется за пределы суставов, вызывая усталость и напоминая фибромиалгию [162; 642]. Напротив, пилотное исследование 24 пациентов с СЭД продемонстрировало наличие нейропатии мелких волокон, что подтверждает дополнительные признаки парестезий, дизестезий, нейропатической боли и вегетативных симптомов, которые часто наблюдаются у пациентов с СЭД [265; 556].

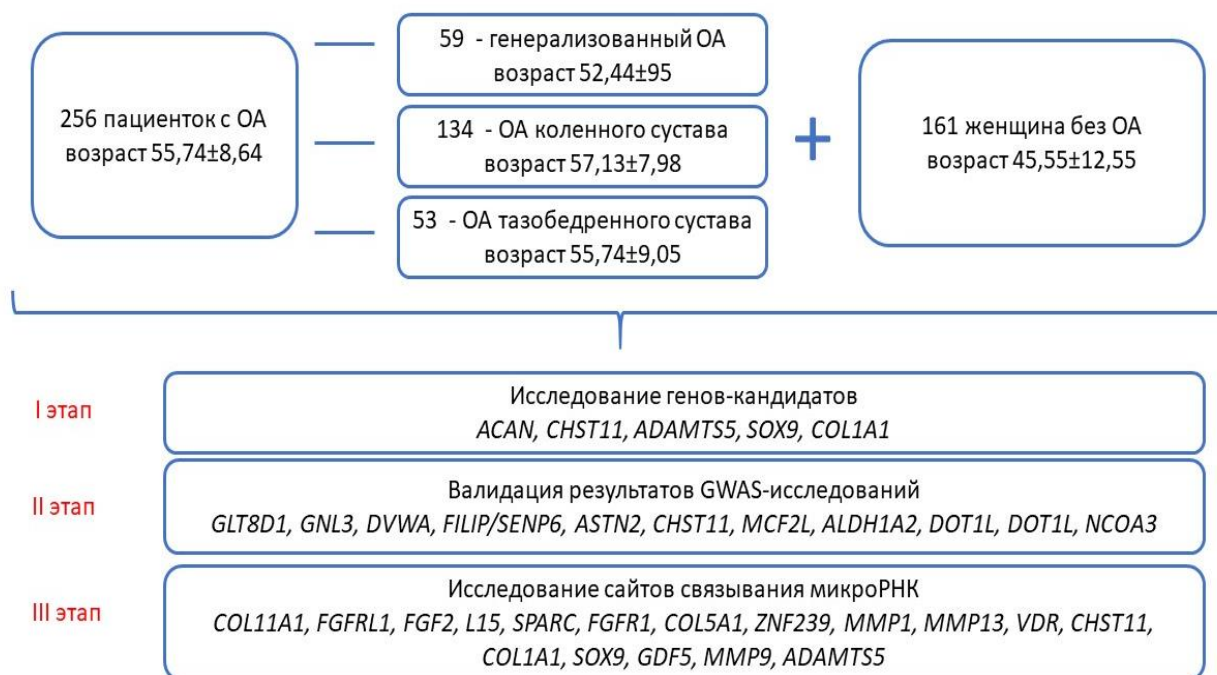
**Заключение.** Таким образом, мы получили новую информацию о клинических проявлениях НО и СЭД у пациентов из Республики Башкортостан. Оба заболевания характеризуются высокой клинической вариабельностью, в том числе – внутрисемейной. И для НО, и для СЭД характерны системное вовлечение соединительной ткани у высокая частота встречаемости фенотипических проявлений дисплазии соединительной ткани. Для взрослых пациентов с НО типичен болевой синдром в суставах и конечностях, не связанный с переломами. Показано, что сцинтиграфия является потенциальным методом оценки активности патологического процесса у пациентов с НО, в том числе – с нормальным уровнем МПКТ. Описаны редкие клинические случаи с фенотипом несовершенного остеогенеза – 3 пациента с V типом заболевания и кольцевые поражения свода черепа с хрупкостью костей.

### **3.3 Поиск молекулярно-генетических маркеров многофакторных заболеваний соединительной ткани**

#### **3.3.1 Поиск молекулярных маркеров остеоартрита**

Был осуществлен поиск генетических маркеров у женщин из Волго-Уральского региона с ОА в целом и различными его локализациями (ОА

коленного сустава, тазобедренного сустава, генерализованный ОА) без учета этнической принадлежности. Генерализованный ОА диагностирован у 59 женщин (24,52 %), ОА коленного сустава – у 134 (52,26 %), ОА тазобедренного сустава – у 53 женщин (23,22 %), в контрольную группу были включены 161 женщина без признаков ОА. Поиск генетических маркеров был проведен в несколько этапов, дизайн представлен на рисунке 13.



Риснок 13 – Схема фрагмента исследования по поиску молекулярных маркеров ОА

На I этапе проведено исследование полиморфных вариантов кандидатных генов на основе знаний о их вовлеченности в патогенез остеоартрита. Были включены локусы агрекана (*ACAN*) – основного протеогликана хряща, углеводной сульфотрасферазы-11 (*CHST11*), транскрипционного фактора-9 (*SOX9*) и агреканызы-2 (*ADAMTS5*), коллагена 1 типа (*COL1A1*), кодирующем  $\alpha 1$ -цепь-коллагена 1 типа, поскольку изменения структуры субхондральной кости может быть одним из начальных этапов развития ОА. Характеристика исследованных полиморфных вариантов представлена в Приложении В.

По всем локусам поддерживалось равновесие Харди-Вайнберга. Частота минорного аллеля варьирована от 1% в локусе VNTR гена *ACAN* до 48,3% в

локусе *rs7217932* гена *SOX9*. Был проведен анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов локуса VNTR гена агрекана, который расположен в 12-м экзоне и представлен варьирующим числом tandemных повторов протяженностью 57 нуклеотидов, кодирующих 19 аминокислот. В литературе описаны аллели в диапазоне от 13 до 34 повторов. В своей структуре молекула агрекана имеет специфические домены связывания с хондроитинсульфатом, что обеспечивает его пространственную конфигурацию. Одним из важных параметров является длина белка, которая регулируется числом повторов в данном полиморфном варианте, и представляет интерес для исследования у пациентов с патологией хряща и соединительной ткани. По результатам сравнительного анализа частот аллелей и генотипов была выявлена ассоциация аллеля \*27 у женщин с ОА в целом, ОА коленного сустава и генерализованным ОА относительно группы контроля, при этом они не сохранили статистическую значимость после поправки на множественность сравнений (таблица 37).

Таблица 37 – Анализ ассоциаций аллелей и генотипов полиморфного варианта VNTR гена *ACAN* у пациентов с различными вариантами ОА

Группа пациентов	Аллель	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	$p_{FDR}$
ОА в целом	27	VNTR, <i>ACAN</i>	$\chi^2=7,819$ $p=0,022$ OR=1,48 (1,11–2,16)	$p_{FDR}=0,115$
ОА коленного сустава			$\chi^2=3,255$ $p=0,029$ OR=1,60 (1,21–2,97)	$p_{FDR}=0,512$
Генерализованный ОА			$\chi^2=4,181$ $p=0,04$ OR=1,82 (1,14–3,12)	$p_{FDR}=0,554$

**Примечание:** здесь и далее  $\chi^2$  – точный критерий Фишера, p – уровень статистической значимости,  $p_{FDR}$  – уровень статистической значимости после поправки на множественность сравнений, OR – отношение шансов, CI – доверительный интервал

Дегградация агрекана происходит преимущественно под действием ферментов – агреканиз, который кодируются соответствующими генами. Наиболее значимыми считаются агреканизы 4 и 5 типов (гены *ADAMTS4* и *ADAMTS5*). Мы исследовали два полиморфных локуса *rs226794* и *rs2830585* гена *ADAMTS5* среди пациентов с ОА в целом, а также с различной локализацией патологического процесса, различий в частоте аллелей и генотипов выявлено не было. Также не было выявлено статистически значимых различий в частоте распределения аллелей и генотипов локуса *rs6539153* (*CHST11*), , локусов *rs1042667*, *rs2229989* и *rs7217932* гена *SOX9*, локусов *rs1107946* и *rs1800012* гена *COL1A1*. Таким образом, из всех исследованных маркеров статистически значимые ассоциации были выявлены только для аллеля \*27 и генотипа \*27\*27 VNTR локуса гена *ACAN* с ОА в целом, коленного сустава и генерализованным остеоартритом.

Также в сформированной выборке пациентов с остеоартритом было проведено исследование частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов, показавших ассоциации по результатам полногеномных (GWAS) исследований с высокой степенью статистической значимости. Зачастую это участки ДНК с не до конца установленной биологической функцией, что делает данный метод привлекательным в поиске новых молекулярных маркеров развития заболевания. Для репликационного исследования у женщин с остеоартритом в целом и его различных локализаций у женщин из Республики Башкортостан были отобраны полиморфные варианты генов гистоновой метилтрансферазы (*DOT1L*), альдегиддегидрогеназы (*ALDH1A2*), активатора транскрипции (*GNL3*), глюкозилтрансферазы (*GLT8D1*), астротактина (*ASTN2*), белка, взаимодействующего с филамином-А (*FILIP1/SENP6*), коактиватора ядерного рецептора (*NCOA3*), фактора обмена гуаниновых нуклеотидов (*MCF2L*), коллагена VI типа (*DVWA*), углеводной сульфотрансферазы (*CHST11*). Основные характеристики исследованных полиморфных вариантов представлены в Приложении В.



Была выявлена ассоциация генотипа \*CG полиморфного варианта rs3204689 гена *ALDH1A2* с генерализованным ОА. Данный ген кодирует альдегиддегидрогеназу – фермент участвующий в метаболизме ретиноевой кислоты, у носителей аллеля \*С данного локуса, расположенного в 3' нетранслируемой области гена, снижена его экспрессия. Были выявлены ассоциации аллеля \*А локуса rs7639618, гена двойного домена фактора фон Виллебранда (*DVWA*), который экспрессируется в суставной ткани независимо от наличия патологического процесса, что подтверждает функциональную роль белкового продукта во внутриклеточном транспорте хондроцитов. Генотип \*GA также показал ассоциацию с ОА тазобедренного сустава. Ассоциации с ОА коленного и тазобедренного суставов сохранили статистическую значимость после введения поправки на множественность сравнений. Были выявлены ассоциации аллеля \*G и генотипа \*GG полиморфного варианта rs835487 гена углеводной сульфотрансферазы (*CHST11*) с ОА тазобедренного сустава. Частоты аллелей и генотипов остальных исследованных локусов были сопоставимы в группах с ОА и контрольной группе у женщин без учета этнической принадлежности. Полученные ассоциации, а также значения  $\chi^2$ , OR, доверительные интервалы и уровни статистической значимости до и после коррекции FDR представлены в таблице 38.

Таблица 38 – Анализ результатов репликативного исследования результатов GWAS-исследований у пациентов с различными типами ОА

Группа пациентов	Аллель/ Генотип	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
Генерализованный ОА	GC	rs3204689, <i>ALDH1A2</i>	$\chi^2=6,225$ p=0,032 OR=3,17 (1,09-3,55)	p <sub>FDR</sub> =0,224
ОА в целом	A	rs7639618	$\chi^2=4,706$ p=0,030 OR=1,54 (1,04-2,27)	p <sub>FDR</sub> =0,131
ОА коленного сустава	A	<i>DVWA</i>	$\chi^2=5,976$ p=0,014 OR=1,75 (1,11-2,76)	p <sub>FDR</sub> =0,022

Продолжение таблицы 38

Группа пациентов	Аллель/ Генотип	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
ОА тазобедренного сустава	GA	rs835787	$\chi^2=6,300$ p=0,012 OR=2,55 (1,2-5,39)	p <sub>FDR</sub> =0,024
	G	<i>CHST11</i>	$\chi^2=5,205$ p=0,033 OR=3,14 (1,24-4,88)	p <sub>FDR</sub> =0,411

Было проведено исследование распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов сайтов связывания микроРНК. В исследование были включены 22 локуса в генах регулирующих строение или метаболизм костной и соединительной ткани с использованием баз данных Национального центра биотехнологических информаций (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Ensembl genome browser ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)), базы полиморфизмов сайтов связывания микроРНК (<http://compbio.uthsc.edu/miRSNP>). Основные характеристики представлены в Приложении В.

Генотип \*AA полиморфного варианта rs13317 (*FGFR1*) был ассоциирован с ОА в целом, генотип \*GC полиморфного варианта rs229069 (*ADAMTS5*) – с генерализованным ОА. Частоты аллелей и генотипов остальных исследованных полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК были сопоставимы в группах с ОА различной локализации и контрольной группой женщин. Все полученные ассоциации утратили статистическую значимость после введения поправки на множественность сравнений (таблица 39).

Таблица 39 – Анализ результатов репликативного исследования результатов GWAS-исследований у пациентов с различными сайтах связывания микроРНК

Группа пациентов	Аллель/ Генотип	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
ОА в целом	AA	rs13317 <i>FGFR1</i>	$\chi^2=5,455$ p=0,014 OR=1,88 (1,22-2,66)	p <sub>FDR</sub> =0,748

Продолжение таблицы 39

Группа пациентов	Аллель/ Генотип	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
ОА коленного сустава	GC	rs229069	$\chi^2=3,128$ p=0,028 OR=1,56 (1,14-3,21)	$p_{FDR}=0,311$
Генерализованный ОА		<i>ADAMTS5</i>	$\chi^2=7,313$ p=0,022 OR=2,65 (1,18-4,25)	$p_{FDR}=0,412$

Обсуждение. Первым из доступных методов исследования генетики ОА было изучение близнецов, а также членов семей в ряду поколений на наличие ОА и его фенотипических признаков. Впервые результаты подобных исследований появились в литературе в 1941 году, когда Stecher показал, что частота возникновения узловой формы ОА в три раза выше у близнецов первой линии, нежели у контроля. Следующим этапом изучения молекулярных основ ОА стало исследование генов-кандидатов. Ограничение этого типа анализа заключается в том, что необходимо априорное знание об этиологии заболевания. Другим ограничением является то, что только очень маленькие участки генома могут быть исследованы за один раз. Это означает, что важные гены могут быть пропущены при использовании этого метода. С помощью ген-кандидатного подхода удалось идентифицировать несколько ассоциированных с развитием ОА локусов. Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) стал важным генетическим инструментом, который позволил исследователям понять полигенную природу ОА. На сегодняшний день до 124 однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), охватывающих 95 независимых локусов, были связаны с ОА [301]. Помимо исследования кодирующих областей, все большую актуальность приобретают эпигенетические исследования. Возможным механизмом эпигенетической регуляции развития ОА является деятельность микроРНК (miRNA). За последние десятилетия у пациентов с ОА была продемонстрирована аномальная экспрессия miRNA по сравнению со здоровыми лицами [435]. Более того, было показано, что miRNA могут играть как защитную, так и деструктивную роль в патогенезе ОА

[588]. Например, сообщалось, что экспрессия miRNA-140 была снижена в хряще пациентов с ОА по сравнению со здоровым хрящом, а внутрисуставное введение miRNA-140 значительно облегчало прогрессирование ОА, поддерживая гомеостаз хряща [427].

Результаты исследований влияния аллельных вариантов локуса *VNTR* гена *ACAN* на состояние хряща и соединительной ткани немногочисленны и противоречивы. Длина основного белка изменяется прямо пропорционально количеству повторов, и вариация этой длины может привести к нарушению функции хряща при ОА, внося свой вклад в структуру внеклеточного матрикса и его механические свойства (Doege et al., 1997; de Souza et al., 2008). Молекулы агрекана, обладающие более длинными доменами ХС, будут обладать повышенной плотностью и, предположительно, лучшими осмотическими свойствами. Поэтому можно прогнозировать, что ткань, содержащая агрекан с более короткими доменами ХС, может функционально уступать и быть более восприимчивой к механическому воздействию. Однако такая закономерность соблюдается не всегда.

Исследования *VNTR* полиморфизма в популяциях России ранее не проводились. В числе первых нозологий, при которых изучена роль *VNTR* полиморфизма гена *ACAN*, были боль в спине и дегенеративные поражения межпозвоночных дисков. Результаты этих исследований обобщены в двух мета-анализах. В одном из них, проведенном J. Gu с коллегами (2013) использованы данные 965 больных с дегенеративными поражениями межпозвоночных дисков и 982 человек контрольной группы из восьми исследований. Все обследованные были разделены на три группы в зависимости от количества повторов локуса *VNTR* – «короткие» аллели (13–25 повторов), «нормальные» (26–27 повторов) и «длинные» (28–32 повторов). Короткие аллели увеличивали риск развития заболевания на 56 % в целом (OR 1,54;  $p = 0,03$ ) и до 65 % у пациентов азиатской этнической группы (OR = 1,65;  $p = 0,004$ ). Анализ европеоидов не выявил статистически значимых ассоциаций. В другом метаанализе, опубликованном годом ранее, G. Xu с коллегами (2012) проводили сравнение между пациентами с

малым (менее 23 и 25) и большим числом повторов. Короткие аллели увеличивали риск развития заболевания как в целом по популяции, так и при делении в зависимости от этнической принадлежности.

Изучение влияния локуса *VNTR* гена *ACAN* на развитие ОА началось в конце 20-го века. По результатам работ W.E. Horton с коллегами (1998), в выборке из 93 мужчин (от 60 лет и старше) наличие аллеля \*27 было ассоциировано с ОА кистей (OR = 3,23), но не было обнаружено статистически значимой связи между аллелем \*27 и ОА других локализаций, что частично согласуется с полученной нами ассоциацией аллеля \*27 с ОА в целом, а также с ОА коленных суставов и полиостеоартрозом.

В исследовании O.P. Kämäräinen с коллегами (2006), включавшем 630 женщин финской популяции от 45 до 60 лет, напротив, аллель \*27 был протективным в развитии ОА кистей рук. Аллельные варианты с большим количеством повторов (28–34) в гомозиготном состоянии увеличивали риск развития патологии ( $p = 0,036$ ; OR = 1,73), что противоречит результатам наших исследований [97]. P.J. Roughley с коллегами (2006) не обнаружили статистической связи между аллелем \*27 и ОА у 63 мужчин и женщин европейского происхождения с ОА тазобедренных суставов, что подтверждают и наши результаты [537].

Исследование 134 близнецов K.M. Kirk с коллегами (2003) показало незначительный протективный эффект аллелей \*25 и \*26 для развития гонартроза и \*28 для развития коксартроза, что также не противоречит нашим данным [470].

По результатам секвенирования и сравнения с результатами K.J. Doege с коллегами (1997), нами был обнаружен уже известный полиморфизм в 17-м и 18-м [537] кодонах каждого повтора, встречающийся во всех трех гомозиготных исследованных образцах, содержащих 19 и 26 повторов внутри каждого аллеля. Наши исследования подтверждают также описанный ранее аминокислотный полиморфизм, поскольку замена первого или последнего нуклеотида 18-го или 19-го кодона приводит к чередованию аминокислот Thr/Ser/Ala [82].

Таким образом, полученные нами результаты являются ценным вкладом в представления о роли полиморфного локуса *VNTR* гена *ACAN* при нарушении структуры и функции соединительной ткани и хряща. Ассоциация аллеля \*27 и его гомозиготного генотипа с развитием патологии суставов демонстрирует неоднозначность суждения о влиянии длины белковой молекулы на морфофункциональные характеристики суставного хряща и соединительной ткани в целом. Вероятно, этот аллельный вариант и его белковый продукт могут обладать повышенным сродством к воздействию протеолитических ферментов, отвечающих за катаболизм межклеточного матрикса соединительной ткани. Для окончательного установления роли *VNTR* полиморфизма гена *ACAN* в развитии заболеваний соединительной ткани в целом и ОА в частности необходимы проведение исследований в популяциях разных регионов и различного происхождения, а также анализ гено-фенотипических корреляций и морфофункциональных особенностей хряща у лиц с переменными аллелями *VNTR* полиморфизма гена *ACAN* [57].

Заключение. Выявлены ассоциации полиморфных вариантов различных генов с ОА в целом, а также отдельными его локализациями. В выборке женщин с остеоартритом полиморфный вариант *VNTR* (*ACAN*) был ассоциирован с ОА в целом, а также генерализованным ОА и патологией коленного сустава. Полиморфный вариант rs7639618 (*DVWA*) ассоциирован с ОА в целом, с ОА коленного и тазобедренного суставов. Полиморфный вариант rs13317 (*FGFR1*) ассоциирован с развитием ОА в целом и патологией коленного сустава. Также ассоциации выявлены у пациентов с генерализованным ОА и локусами rs3204689 (*ALDH1A2*) и rs229069 (*ADAMTS5*), ОА тазобедренного сустава и локусом rs835787 (*CHST11*). После введения поправки на множественность сравнения статистическую значимость сохранили ассоциации локуса rs7639618 (*DVWA*) с ОА коленного и тазобедренного суставов.

### 3.2.2 Поиск молекулярных маркеров остеопороза

Снижение МПКТ и переломы являются основными клиническими проявлениями остеопороза, которые возникают в результате взаимодействия

большого количества генетических, эпигенетических и средовых факторов. Проведено значительное количество исследований полиморфных вариантов в кодирующих областях генов регуляторов строения и метаболизма костной ткани, однако их вклад не может полностью объяснить формирование клинических фенотипов остеопороза, поскольку роль каждого отдельного маркера незначительна. Вместе с тем, выявление генетических ассоциаций может открыть новые звенья патогенеза, которые потенциально смогут стать мишенями для разработки таргетной терапии. Усложняет задачу генетических исследований остеопороза его гетерогенность, в том числе по этническому признаку, а также, вероятно, существование различных маркеров для остеопороза и переломов различной локализации. Поэтому исследование генетических предикторов остеопороза требует не только формирования стандартизованных выборок и включения большого количества предикторов, но и исследование каждого эндотипа. Исходя из этого, нами был проведен поиск молекулярных маркеров остеопороза в целом, а также его отдельных фенотипических проявлений – снижения минеральной плотности костной ткани и переломов различных локализаций, как у мужчин, так и у женщин. Дизайн данного фрагмента исследования представлен на рисунке 14.



Рисунок 14 – Алгоритм поиска молекулярных маркеров остеопороза

Ряд генетических маркеров отличаются особенной ценностью, поскольку они кодируют основные структурные компоненты костной ткани. Одним из таких

является остеопротегерин (*OPG*). Существует несколько однонуклеотидных вариантов (SNP) данного гена, которые связаны с переломами и низкой МПКТ. Остеопротегерин является ключевым элементом RANK-RANKL-*OPG* регуляторной системы, которая является первым звеном в регуляции ремоделирования костной ткани. Эта система отвечает за активацию и пролиферацию остеокластов – клеток резорбции костной ткани. *OPG* защищает костную ткань от чрезмерной резорбции путем конкурентного связывания с рецептором RANK и поэтому является фактором повышения МПКТ. Было установлено, что повышенный риск остеопоротических переломов у женщин в постменопаузе связан с изменениями в экспрессии гена *OPG* и с однонуклеотидными вариантами в промоторе, интроне и экзоне этого гена. В связи с этим, нами было проведено исследование по выявлению ассоциаций полиморфных вариантов rs3102735 (с.-10A>G), rs3134069 (с.-928T>G), rs2073617 (с.-223C>T), rs2073618 (с.9C>G, р.Asn3Lys), rs3102734 (с.30+15C>T) и rs7844539 (с.817 +8A>C) гена остеопротегерина (*OPG*, *TNFRSF11B*) и основным клинических проявлений остеопороза у женщин и мужчин. Характеристики исследованных локусов представлены в Приложении В. Исследование включало 828 постменопаузальных женщин (61,9±7 лет) и 496 мужчин старше 45 лет (62±10,8 лет). Дизайн данного фрагмента исследования представлен на рисунке 17.

В выборку вошли 68% русских женщин, 30% татарских женщин, 2% женщин других национальностей и метисов, а также 73% русских мужчин, 27% – мужчин метисов (русских и татар). Выборки были разделены на группы сравнения в зависимости от наличия переломов, остеопороза и остеопении, а также нормальных показателей МПКТ. Пациенты с переломами были разделены на несколько групп сравнения в зависимости от их локализации: группа 1 – с переломами поясничного отдела позвоночника, группа 2 – с переломами периферических костей, включая шейку бедра, голени, кисти, бедренную кость и т.д., группа 3 – с комбинированными переломами поясничного отдела позвоночника и периферических костей скелета, и группа 4 – с атипичными



переломами в местах, которые обычно наименее подвержены переломам при остеопорозе (пальцы ног, лодыжки, ребра и т.д.).

В результате сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных вариантов в группах сравнения был получен ряд ассоциаций (таблица 40).

Таблица 40 – Анализ ассоциаций аллелей и генотипов исследуемых локусов с остеопоретическими и переломами и низким уровнем МПКТ

Фенотип	Пол	Аллель/ генотип	Локус	$\chi^2$ , p, OR, CI	$p_{FDR}$
Переломы в целом	Ж	T	rs3134069	11,463, 0,0007, 1,968 (1,322-2,929)	0,0125
	Ж	T	rs3102734	8,797, 0,003, 1,789 (1,213-2,639)	0,0130
	Ж	TT	rs3102734	11,003, 0,0009, 2,002 (1,321-3,033)	0,010
Переломы периферических костей	Ж	TT	rs3134069	8,676, 0,003, 1,957 (1,245-3,076)	0,0129
	Ж	T	rs3102734	6,424, 0,011, 1,724 (1,127-2,638)	0,045
Снижением МПКТ в поясничных позвонках	Ж	C	rs7844539	5,071, 0,024, 1,981 (1,084-3,623)	0,073
	М	CG+GG	rs2073618	4,201, 0,040, 1,732 (1,021-2,937)	0,120

Установлено, что аллель \*T полиморфного варианта rs3134069, а также аллель \*T и генотип \*T\*T полиморфного варианта rs3102734 статистически значимо ассоциированы с остеопоретическими переломами у женщин в целом по сравнению с контролем, однако различия не достигают статистической значимости у мужчин. При рассмотрении переломов по группам, мы обнаружили, что генотип \*T\*T полиморфного варианта rs3134069 (с.-928T>G) и Аллель T

полиморфного варианта rs3102734 (1217 C>T) у женщин ассоциируются с переломами периферических костей скелета. Однако мы не обнаружили статистически значимой ассоциации аллелей и генотипов этих локусов с другими группами переломов.

Далее мы проанализировали распределение частот аллелей и генотипов в группах сравнения в зависимости от уровня МПКТ по Т-критерию. В результате было установлено, что аллель С полиморфного варианта rs7844539 (с. 817+8A>C) у женщин и сумма генотипов CG+GG полиморфного варианта rs2073618 (с. 9C>G, р.Asn3Lys) у мужчин значимо ассоциированы с низким уровнем МПКТ в поясничном отделе позвоночника и по сравнению с контролем, но ассоциации не сохранили статистическую значимость после введения поправки на множественность сравнений Бенджамина-Хохберга.

Аллель С локуса rs3102734 (с.30+15C>T) значимо ассоциирован с остеопенией бедра у женщин ( $\chi^2=3,988$ , OR=1,946, CI=1,003-3,776,  $p=0,046$  (0,137 FDR)), генотип CG rs2073618 (с.9 C>G, р.Asn3Lys) полиморфного варианта с остеопенией бедра ( $\chi^2=4,543$ , OR=1,644, CI=1,039-2,599,  $p=0,033$  (0,099 FDR)), но обе ассоциации были утрачены после коррекции FDR. Кроме того, мы провели сравнительный анализ связи полиморфных вариантов гена OPG в зависимости от коморбидных состояний с уровнем МПКТ. При этом контрольная группа испытуемых с нормальным МПКТ сравнивалась с группой, в которой остеопороз или остеопения были диагностированы одновременно в поясничном отделе позвоночника и в шейке бедра. Статистически значимых различий у этой категории пациентов обнаружено не было.

Особенностью клинико-эпидемиологических характеристик первичного остеопороза является его выраженная гетерогенность, многофакторность и значительный наследственный компонент, а патогенетические механизмы этого заболевания могут существенно различаться в зависимости от пола и локализации переломов. Обнаруженная дифференциальная связь изученных полиморфных локусов с эндофенотипами остеопороза указывает на эти различия, однако необходимо продолжать исследования в этом направлении.

Помимо исследования генов-кандидатов, на сегодняшний день актуальным является проведение эпигенетических исследований, в частности – микроРНК и их сайтов связывания, а также оценка уровней метилирования. Мы провели поиск ассоциаций аллелей и генотипов полиморфных локусов связывания микроРНК в мРНК генов, детерминирующих структуру и метаболизм кости и соединительной ткани в целом, а именно генов коллагена I и XI типов (*COL1A1*, *COL11A1*), рецептора витамина Д (*VDR*), фактора роста фибробластов (*FGF2*), транскрипционного фактора 9 (*SOX9*), белка «цинковых пальцев» (*ZNF239*), опухолевого белка D54 (*TPD52*), остеоонектина (*SPARK*), белка ингибитора митоза (*FBXO5*) и матриксной металлопротеиназы 1 (*MMP1*), а также локусов самих генов микроРНК (*miR-146-a*, *miR-196-a-2*) с различными клиническими проявлениями остеопороза (переломы, снижением минеральной плотности костной ткани, их сочетание). Характеристики локусов представлены в Приложении В.

Была выявлена ассоциация аллеля \*А полиморфного варианта rs11540149 гена *VDR* с переломами в целом в общей когорте женщин, ассоциация утратила статистическую значимость после введения поправки на множественность сравнений. Были выявлены статистически значимые ассоциации аллеля \*G и суммы генотипов \*G\*G+\*G\*Т полиморфного варианта rs6854081 гена *FGF2* с переломами шейки бедренной кости, уровень статистической значимости был сохранен после проведения поправки на множественность сравнений. Ассоциации аллеля \*А полиморфного локуса rs11540149 гена *VDR* и генотипа \*Т\*С локуса rs5854 гена *MMP1* были выявлены у женщин с переломами поясничного отдела позвоночника, генотипа \*G\*Т полиморфного варианта rs6854081 (*FGF2*) – с переломом лучевой кости, аллеля \*Т полиморфного варианта rs1712 (*FBXO5*) – со сниженным уровнем минеральной плотности костной ткани в поясничном отделе позвоночника. Полученные ассоциации, а также значения  $\chi^2$ , OR, доверительные интервалы и уровни статистической значимости до и после коррекции FDR представлены в таблице 41.

Таблица 41 – Результаты поиска ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК с различными проявлениями остеопороза у женщин

Группа пациентов	Аллель	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
Переломы в целом	A	rs11540149, <i>VDR</i>	$\chi^2=4,095$ , p=0,043, OR=1,463 (1,100-2,119)	p <sub>FDR</sub> =0,215
Переломы шейки бедра	G	rs6854081, <i>FDF2</i>	$\chi^2=7,457$ , p=0,006, OR=2,250, (1,239-4,086)	p <sub>FDR</sub> =0,036
	GG+GT		$\chi^2=7,131$ , p=0,008, OR=2,252 (1,253-5,097)	p <sub>FDR</sub> =0,048
Переломы позвоночника	A	rs11540149, <i>VDR</i>	$\chi^2=5,796$ p=0,016, OR=2,199, (1,140-4,242)	p <sub>FDR</sub> =0,048
	T	rs5854, <i>MMP1</i>	$\chi^2=4,244$ , p=0,04, OR=2,105, (1,023-4,333)	p <sub>FDR</sub> =0,12
Переломы лучевой кости	G	rs6854081, <i>FGF2</i>	$\chi^2=8,056$ , p=0,005, OR=12, (2,067-69,680)	p <sub>FDR</sub> =0,035
Низкий уровень МПКТ в ПОП	T	rs1712, <i>FBXO5</i>	$\chi^2=4,554$ p=0,033, OR=1,575, (1,345-1,960)	p <sub>FDR</sub> =0,460

Примечание: ПОП – поясничный отдел позвоночника

При анализе распределения частот аллелей и генотипов в группах с фенотипическими проявлениями остеопороза и группой контроля у мужчин были выявлены статистически значимые ассоциации. Аллель \*G и генотип \*G\*G локуса rs1031820 гена *COL11A1* был ассоциирован с переломами в целом, статистическая значимость сохранилась после введения поправки на множественность сравнений. Также обнаружена ассоциация аллеля \*A локуса rs11540149 гена *VDR* с переломами в целом, но она утратила статистическую значимость после коррекции FDR. Аллель \*G локуса rs1031820 гена *COL11A1* был ассоциирован с переломами позвоночника в выборке мужчин без учета этнического происхождения, также для этой группы выявлены ассоциации аллеля

\*Т и генотипа \*Т\*С полиморфного варианта rs10098470 гена *TPD52*. Все эти ассоциации сохраняют статистическую значимость после коррекции FDR. У мужчин с переломами в лучевой кости было обнаружено статистически значимое повышение частоты встречаемости аллеля \*А и генотип \*А\*G локуса rs11540149 гена *VDR* с данным фенотипом, статистическую значимость сохранила ассоциация аллеля \*А. Снижение минеральной плотности костной ткани в области шейки бедренной кости у мужчин было ассоциировано с аллелем \*Т локуса rs5854 гена *MMP1*, но не сохранила статистическую значимость после коррекции FDR. Полученные ассоциации в выборках мужчин без учета этнической принадлежности, а также значения  $\chi^2$ , OR, доверительные интервалы и уровни статистической значимости представлены в таблице 42.

Таблица 42 – Результаты поиска ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК с различными проявлениями остеопороза у мужчин

Группа пациентов	Аллель	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	$p_{FDR}$
Переломы в целом	G	rs1031820, <i>COL11A1</i>	$\chi^2=20,20$ , $p=8*10^{-6}$ , OR=0,457 (1,323-1,646)	$p_{FDR}=9*10^{-5}$
	GG		$\chi^2=12,633$ , $p=3*10^{-5}$ , OR=2,736 (1,553-4,820)	$p_{FDR}=0,003$
	A	rs11540149, <i>VDR</i>	$\chi^2=4,476$ , $p=0,034$ , OR=1,736, (1,036-2,907)	$p_{FDR}=0,1$
Переломы шейки бедренной кости	G	rs6854081, <i>FGF2</i>	$\chi^2=5,046$ , $p=0,025$ , OR=2,800, (1,098-7,141)	$p_{FDR}=0,1$
	GG		$\chi^2=7,563$ , $p=0,006$ , OR=4,254, (1,393-12,985)	$p_{FDR}=0,03$
Переломы позвоночника	G	rs1031820, <i>COL11A1</i>	$\chi^2=8,72$ , $p=0,003$ , OR=2,08, (1,268-3,417)	$p_{FDR}=0,02$
	T	rs10098470, <i>TPD52</i>	$\chi^2=18,1$ , $p=2*10^{-5}$ , OR=5,74, (2,332-14,11)	$p_{FDR}=2*10^{-4}$

Продолжение таблицы 42

Группа пациентов	Аллель	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	$p_{FDR}$
Переломы лучевой кости	A	rs11540149, VDR	$\chi^2=8,406$ , p=0,004, OR=2,974, (1,376-6,426)	$p_{FDR}=0,045$
	AG		$\chi^2=5,843$ , p=0,016, OR=3,068, (1,184-7,949)	$p_{FDR}=0,08$
Низкий уровень МПКТ в ШБ	T	rs5854, MMP1	$\chi^2=4,427$ , p=0,035, OR=1,383, (1,022-1,872)	$p_{FDR}=0,115$

*Примечание: ШБ – шейка бедренной кости*

Обсуждение. Vonfa A. C. и его коллеги показали, что генотип TT полиморфного варианта rs3134069 (245 T>G) гена *OPG* значимо ассоциирован с низким уровнем МПКТ [639], что согласуется с нашими результатами. Однако в то же время в другой работе обсуждается противоречивость результатов в различных исследованиях, где в одних исследованиях в качестве риска указывается аллель G, а в других – аллель T [517]. У постменопаузальных женщин из Китая была обнаружена связь между аллелем G гена *OPG* (полиморфные варианты A163G и T245G) и риском развития остеопороза [105]. В исследовании Simona Mencej-Bedrac и коллег в европейских популяциях постменопаузальных женщин было обнаружено, что генотипы GG и TG полиморфного варианта rs3134069 (245 T>G) значимо ассоциированы с низким ИМТ [483]. Однако эти ассоциации не наблюдались в исследовании большой группы австралийских женщин [422]. Данные о влиянии полиморфного локуса rs3102734 на риск развития остеопороза и остеопоретических переломов достаточно малы, однако в работе Sheng X. и его коллег была обнаружена положительная ассоциация аллеля риска этого локуса с остеопоретическими переломами (p=0,004), что также согласуется с результатами нашего исследования [456]. В научной литературе мало информации об ассоциации полиморфного варианта rs7844539 с эндофенотипами остеопороза, однако этот

полиморфный вариант изучался в нескольких работах. Например, Christopher V. и коллеги провели работу по секвенированию гена *OPG* и поиску функциональных связей полиморфных вариантов с клиническими проявлениями заболевания, но авторы не обнаружили статистически значимой связи [173]. В гене рецептора витамина D локализован полиморфный вариант rs11540149, который находится в 3'-нетранслируемой области. Этот ген играет важную роль в регуляции метаболизма кальция и фосфора, а также в контроле экспрессии генов. Исследования показали, что ассоциация данного полиморфизма с переломами может быть связана с нарушением сродства микроРНК с мРНК гена, что приводит к снижению его экспрессии. В базе данных PolymiRTS было обнаружено, что микроРНК *hsa-miR-1260a* и *hsa-miR-1260b*, имеющие комплементарность к данному сайту связывания с вариантом нуклеотида А, регулируют экспрессию в остеобластах [351]. Ген *FGFR2* играет важную роль в регенерации соединительной ткани, включая костную и кровеносную системы. Вариант rs6854081, находящийся в 3'-нетранслируемой области гена *FGFR2*, представляет собой однонуклеотидную замену, которая может влиять на активацию внутриклеточного сигналинга фактора роста фибробластов второго типа. Механизм активации внутриклеточного сигналинга *FGFR2* включает фосфорилирование тирозина в тирозинкиназном домене рецептора. Это приводит к активации многочисленных сигнальных путей, которые контролируют клеточную дифференциацию и пролиферацию.

Полиморфный вариант rs5854, расположенный в гене матричной металлопротеиназы 1 типа (*MMP1*), связан с риском асептического расшатывания и его неудачной заменой тазобедренного сустава. *MMP1* кодирует внутритканевую коллагеназу, которая играет важную роль в регуляции различных биологических процессов. Исследование Yan et al. (2014) проводилось с целью выяснить связь генотипа rs5854 с повышенным риском асептического расшатывания. В результате исследования было обнаружено, что генотип \*Т\*Т связан со значительно большим риском этого осложнения после операции по замене тазобедренного сустава. На данный момент нет непосредственных

научных данных, которые бы указывали на роль микроРНК *hsa-miR-517-5p*, *hsa-miR-5684*, *hsa-miR-6508-5p* и *hsa-miR-8067* в развитии остеопатии. Однако эти микроРНК были связаны с различными заболеваниями и могут играть важную роль в патологических процессах. Например, в исследовании была обнаружена связь между циркулирующей микроРНК *hsa-miR-5684* и выживаемостью пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, получающих лечение акситинибом [299]. Это указывает на возможное влияние *miR-5684* на онкологические процессы. Также микроРНК *hsa-miR-8067* рекомендована в качестве потенциальной терапевтической мишени для лечения глиобластомы [285]. Полиморфный вариант *rs1712* гена расположен в не-кодирующей области гена *FBXO5*. Ген *FBXO5* кодирует белок F-бокса 5, который является субъединицей убиквитинового протеин-лигазного комплекса SCF(SKP1-cullin-F-box). SCF комплекс участвует в процессе убиквитинирования, который зависит от фосфорилирования.

Анализ базы данных PolymiRTS показал, что для полиморфизма *rs1712* спрогнозировано взаимодействие только с микроРНК *hsa-miR-549a*. Уровень этой микроРНК повышен при Хорее Генгтингтона [228] и снижен в фибробластах при несиндромальной расщелине нёба [217]. Полиморфный вариант *rs1031820* расположен в 3'-нетранслируемой области гена *COL11A1*. Эта область гена обычно не содержит кодирующих последовательностей, но может играть роль в регуляции экспрессии гена. *COL11A1* кодирует  $\alpha$ -1-цепь коллагена 11 типа, который является важным компонентом строительных белков в хрящевой ткани, включая хрящи суставов. Исследование Shi et al. [509] показало, что вариант *rs1031820* ассоциирован с увеличенным риском закрытоугольной первичной глаукомы у китайской популяции ханьцев. Это может быть связано с влиянием варианта на экспрессию гена *COL11A1*. Примечательно, что микроРНК *hsa-miR-103a-3p*, *hsa-miR-107*, *hsa-miR-4310*, *hsa-miR-7157-5p* имеют сходство к данному сайту только для варианта с аллелем \*А. МикроРНК могут играть роль в регуляции функции генов, связанных с этим сайтом.



Закключение. Таким образом, аллели Т и генотипы \*ТТ локусов rs3134069 и rs3102734 гена *OPG* идентифицированы как маркеры риска переломов в целом и периферических костей, аллель \*G и генотип \*GC локуса rs6854081 гена *FDF2* – переломов шейки бедра и лучевой кости, аллель \*А локуса гена *VDR* – с переломов позвоночника у женщин. Аллель \*С локуса rs7844539 был ассоциирован со снижением МПКТ поясничных позвонков. У мужчин сочетание генотипов \*GC+\*GG локуса rs2073618 гена *OPG* являлось маркером снижения МПКТ поясничных позвонков, аллель \*G локуса rs1031820 гена *COL11A1* – переломов в целом и переломов позвоночника, также с переломами позвоночника был ассоциирован аллель \*Т локуса rs10098470 гена *TPD52*.

### 3.4 Исследование молекулярной архитектуры наследственных заболеваний соединительной ткани

#### 3.4.1 Молекулярно-генетическое исследование несовершенного остеогенеза у пациентов из Республики Башкортостан

Для определения генетической архитектуры НО в Республике Башкортостан и уточнения диагнозов пациентов мы провели молекулярное исследование для всех 64 пациентов, включенных в данную когорту. Исследование проходило в несколько этапов, последовательность представлена на рисунке 15.



Рисунок 15 – Алгоритм поиска патогенных вариантов у пациентов с НО

На первом этапе было проведено целевое NGS-секвенирование генов коллагена I типа (*COL1A1*, *COL1A2*) в соответствии с высокой частотой (85-90 %)

мутаций в этой локализации. Для анализа мутаций в генах *COL1A1* и *COL1A2* была разработана панель праймеров для секвенирования полной последовательности генов с помощью массового параллельного секвенирования на платформе Illumina (MiSeq). На данном этапе у 26 пациентов было обнаружено в общей сложности 38 мутаций. На втором этапе было проведено целевое NGS секвенирование 13 генов, продукты которых участвуют в модификации коллагена у пациентов без мутаций в генах коллагена I типа. Молекулярно-генетическая диагностика пациентов проводилась в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии" Минздрава России, г. Москва. Для ДНК-диагностики использовалась авторская панель праймеров для мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования по технологии Ion Ampliseq™ Custom DNA Panel (Life Technologies, США). На этом этапе были обнаружены мутация в гене *P3H1*. На третьем этапе было проведено целевое NGS секвенирование 166 генов, участвующих в костном метаболизме соединительной ткани у пациентов с отсутствием патогенных изменений на предыдущих этапах исследования. Анализ проводился в Медико-генетическом научном центре (МГНЦ), Москва, на приборе ION S5 (Thermo Fisher Scientific, США). На этом этапе была обнаружена мутация в гене *IFITM5*. На четвертом этапе было проведено целевое NGS-секвенирование 664 генов, участвующих в метаболизме соединительной ткани, у пациентов с отсутствием мутаций в генах целевых панелей предыдущих этапов исследования. Молекулярно-генетическая диагностика пациентов проводилась в лаборатории молекулярной патологии "Геномед", Москва с использованием платформы MGISEQ-200 (KHP). Для молекулярно-генетического анализа использована панель "Болезни соединительной ткани". На этом этапе у 6 пациентов было обнаружено всего 6 мутаций в генах *CLCN7*, *ALOX12B*, *PLEKHM1*, *ERCC4*, *ARSB*, *PTH1R*. Одному пациенту было проведено полногеномное секвенирование на базе МГНЦ и выявлена 1 мутация в гене *SGMS2*. Все выявленные мутации были подтверждены секвенированием по методу Сэнгера для пациентов и ближайших родственников, также осуществляли

аннотацию выявленных вариантов в соответствии с каноническим транскриптом каждого гена и их приоритезацию с учетом рекомендаций ACMG версии 3.0.

В результате проведенного исследования мы выявили 31 мутацию в 5 генах (*COL1A1*, *COL1A2*, *IFITM5*, *P3H1*, *SGMS2*), ответственных за развитие НО у 45 пациентов из 35 семей. Так, 16 мутаций находятся в гене *COL1A1*, 10 – в гене *COL1A2*, 3 – в гене *P3H1*, 1 – в *IFITM5* и 1 в гене *SGMS2*. У 6 пациентов имелись генетические дефекты, характерные для других заболеваний, а у 13 пациентов не было выявлено патогенных мутаций.

В нашей выборке пациентов основное количество мутаций было в генах коллагена I типа, на долю которых пришлось 43,2% (16/37). Мутации в генах коллагена I типа, приводящие к НО, обычно делят на две группы: мутации, приводящие к уменьшению количества белка (количественные мутации или мутации гаплонедостаточности), и мутации, вызывающие структурно аномальные белковые цепи (качественные или структурные мутации, в основном замены глицина в тройной спирали коллагена I типа). Большинство мутаций (87,5%, n = 14/16) в гене *COL1A1*, обнаруженных у обследованных нами пациентов, оказались мутациями гаплонедостаточности, что приводит к легкому течению заболевания. Напротив, структурные мутации в основном были обнаружены в гене *COL1A2* и составили 90% (n = 9/10) (таблица 43).

Таблица 43 – Клинико-генетические характеристики пациентов с мутациями в генах *COL1A1* и *COL1A2*

Семья	Пациент	Мутация	Тип наследования	Тип НО	Пол	Возраст	ГС	Переломы
<i>COL1A1</i>								
1	1	c.358C>T, p. Arg120X	de novo	1	Ж	68	+	18
2	2	c.375dupC, p. Ala126fs	de novo	1	Ж	54	+	11
<i>COL1A1</i>								

Продолжение таблицы 43.

Семья	Пациент	Мутация	Тип наследования	Тип НО	Пол	Возраст	ГС	Переломы
3	3	c.407dupGG136fs	de novo	1	Ж	5	+	3
4	4	c.579delT, p.Gly194valfsX71	de novo	1	М	19	+	33
5	5	c.579delT, p.Gly194valfsX71	АД	1	М	26	+	15
	6			1	Ж	59	-	3
6	7	c.658C>T, p.Arg220X	не определен	1	М	9	+	11
7	8	c.858+1G>A	не определен	1	М	32	+	15
8	9	c.967G>T, p.Gly323X	АД	1	Ж	30	+	8
	10			1	Ж	52	+	20
9	11	c.1081C>T, p.Arg361X	АД	3	М	29	+	19
	12			3	М	52	-	-
10	13	c.1243C>T, p.Arg415Ter	de novo	1	Ж	28	+	10
11	14	c.2444delG, p.Gly815AlafsX293	не определен	1	Ж	27	+	13
12	15	c.2461G>A, p.Gly821Ser	не определен	3	Ж	28	+	15
13	16	c.2569G>T, p.Gly857Cys	не определен	3	Ж	12	+	50
14	17	c.2869C>T, p.Gln957X	АД	1	Ж	17	+	14
	18			1	М	46	-	-
15	19	c.3076C>T, p.Arg1026X	de novo	1	М	9	+	7
16	20	c.3076C>T, p.Arg1026X	не определен	1	М	17	+	12

Продолжение таблицы 43

Семья	Пациент	Мутация	Тип наследования	Тип НО	Пол	Возраст	ГС	Переомы
17	21	c.3792delG, p.Met1264fs	de novo	4	М	6	-	4
18	22	c.1354-12G>A	АД	1	М	10	+	6
	23			1	Ж	36	-	3
<i>COL1A2</i>								
19	24	c.647G>A, p. Arg216His	не определен	4	М	12	-	3
20	25	c.874G>A, p. Gly292Ser	не определен	1	М	20	+	7
21	26	c.1826G>A, p. Arg609Gln	АД	1	М	11	+	5
	27			1	М	41	-	-
22	28	c.1897_1902dupGC TGGT, p.Ala633_Gly634dup	не определен	1	Ж	20	+	5
<i>COL1A2</i>								
23	29	c.2341G>C, p. Gly781Arg	de novo	1	М	4	+	5
24	30	c.2756G>A, p. Gly919Asp	АД	3	М	23	+	10
	31			3	Ж	52	-	-
25	32	c.2971G>C, p. Gly991Arg	АД	4	М	34	-	7
	33			4	М	58	-	-
26	34	c.3034G>A, p. Gly1012Ser	АД	3	Ж	6	+	5
	35			3	F	32	+	7
27	36	c.3277G>A, p. Gly1093Ser	de novo	1	Ж	14	+	90
28	37	c.3977A>G, p. Lys1326Arg	АД	4	М	4	-	4
	38			4	М	45	-	-

Примечание: здесь и далее ГС – голубые склеры, АД – аутосомно-доминантный

Поскольку альфа2-цепи составляют только 1/3 белка коллагена I типа, эффект мутаций аналогичен количественным мутациям в гене *COL1A1*. Патогенные изменения в генах *COL1A1* и *COL1A2* в основном происходили в одном варианте, за исключением мутаций с.579delT и с.3076C>T в *COL1A1*, каждая из которых была обнаружена в двух неродственных семьях татарской национальности. В *COL1A1* мы выявили 7 нонсенс-мутаций, 2 мутации сайта сплайсинга, 5 мутаций сдвига рамки считывания и 2 миссенс-мутации, три из которых ранее не были описаны в литературе. В *COL1A2* мы обнаружили 8 миссенс-мутаций, 1 мутацию со сдвигом рамки считывания и 1 мутацию сайта сплайсинга. 7 мутаций были обнаружены впервые и не встречаются в существующих базах данных (gnomAD, Ensemble, Clinvar и др.). Также мутации были выявлены в неколлагеновых генах, ассоциированных с развитием НО: в гене *P3H1*, участвующем в посттрансляционной модификации коллагена, в гене *IFITM5*, участвующем в регуляции минерализации соединительной ткани и в гене *SGMS2*, катализирующий синтез сфингомиелина на клеточной мембране (таблица 44).

Данные мутации являются ультра-редкими среди пациентов с несовершенным остеогенезом. Мутации в генах *IFITM5* и *SGMS2* проявляются фенотипом, отличным от классического НО, и зачастую диагноз может быть установлен на основании совокупности клинических проявлений. В гене *IFITM5* мы выявили мутацию с.-14C>T сразу у трех неродственных пациентов. У двух пациентов мы наблюдали все клинические признаки НО, характерные для этого типа: кальцификация межкостной мембраны, смещение головки лучевой кости, деформации голеней, бедер и коленных суставов. У одного пациента мы выявили одновременно 2 мутации – одну в гене *IFITM5*, которая является причинной мутацией V типа, и другую – с.1903C>T (p. Arg635X) в гене *LAMB3*, ответственную за проявление буллезного эпидермолиза. У этого пациента было выявлено 15 переломов, голубые склеры, бочкообразная грудная клетка, треугольное лицо, кифосколиотическая деформация позвоночника, деформация голеней и незавершенный дентиногенез.

Таблица 44 – Клинико-генетические характеристики пациентов с мутациями в генах *P3H1*, *IFITM5* и *SGMS2*

Семья	Пациент	Мутация	Тип наследования	Тип НО	Пол	Возраст	ГС	Пере-ломы
<i>P3H1</i>								
29	39	с.1051G>T, р. Glu351X	АР	8	М	24	-	12
30	40	с.1051G>T, р. Glu351X; 1948G>A (р.Gly650Arg)	АР	8	М	25	-	25
31	41	с.1051G>T, р. Glu351X; 1720+4G>A	АР	8	М	24	-	35
<i>IFITM5</i>								
32	42	с.-14C>T	АД	5	Ж	27	+	15
33	43	с.-14C>T	АД	5	Ж	26	+	50
34	44	с.-14C>T	АД	5	М	10	+	10
<i>SGMS2</i>								
35	45	с.148C>T (р.Arg50Ter)	de novo	-	Ж	29	+	17

*Примечание:* АР – аутосомно-рецессивный

Мутации в гене *P3H1* является единственным примером аутосомно-рецессивного типа наследования, причем проявление заболевания возможно как при наличии гомозиготы по мутантному аллелю, так и при наличии компаунд-гетерозиготы двух мутаций. Отличительной особенностью выявленных нами изменений в данном гене является то, что все пациенты имели башкирское происхождение.

В первой семье идентифицирован ранее неописанный вариант с.1051G>T, приводящий к образованию стоп кодона в позиции p.Glu351\* белка с вероятно патогенным клиническим значением. Пробанд мужского пола был гомозиготным по данному варианту, родители – гетерозиготными носителями. Клиническая картина заболевания соответствует НО типа VIII. Во второй семье вариант с.1051G>T (p.Glu351Ter) сочетался с вариантом 1948G>A (p.Gly650Arg), родители пациента и сибс были гетерозиготными носителями. Пробанд мужского пола был рожден в близкородственном браке и характеризовался белыми склерами, круглым лицом, деформациями нижних конечностей и неспособностью к самостоятельному хождению (передвигается на инвалидном кресле с раннего детства). Родители пробанда и сибс здоровы. В третьей семье вариант с.1051G>T (p.Glu351Ter) выявлен в компаунд-гетерозиготном состоянии с вариантом сайта сплайсинга с.1720+4G>A. Это изменение последовательности находится в интроне 11 гена *P3H1*. Он напрямую не изменяет аминокислотную последовательность белка P3H1 и влияет на нуклеотид в консенсусном сайте сплайсинга. Этот вариант присутствует в базах данных (rs371232413, gnomAD – 0.0001385), выявлен в популяциях евреев ашкенази, финнов и других европейцев (<https://www.ensembl.org>), не описан в литературе у лиц, страдающих заболеваниями, связанными с *P3H1*. У пациента мужского пола, 1999 г.р. в анамнезе более 5 переломов, зубы с прозрачной эмалью. На рентгеновских снимках визуализируются тонкие, избыточно минерализованные ребра и длинные трубчатые кости.

С учетом вероятной этнической специфичности данных мутаций, нами были проанализированы более 558 неродственных людей башкирского происхождения – коренного населения при- и зауральских районов Республики Башкортостан, и 62 неродственных индивидов татарского происхождения из Республики Татарстан. Обнаружено, что 1,29% изученных популяций являются носителями варианта 1720+4G>A, это на несколько порядков выше, чем зарегистрировано в базах данных. Варианты 1948G>A (p.Gly650Arg) и



c.1051G>T (p.Glu351Ter) обнаружены у одного практически здорового человека башкирского происхождения с частотой носительства 0,16% (таблица 45).

Таблица 45 – Частота носительства вариантов гена P3H1 в популяциях башкир

Популяционные группы	Протестировано	Выявлено	Частота
c.1051G>T (p.Glu351Ter)			
Абзелиловский район Республики Башкортостан	93	1	1,08%
Архангельский район Республики Башкортостан	110	0	0
Аскинский район Республики Башкортостан	80	0	0
Баймакский район Республики Башкортостан	93	0	0
Белорецкий район Республики Башкортостан	93	0	0
Самарская/Саратовская/Курганская области России	89	0	0
Татары Республики Татарстан	62	0	0
Всего	620	1	0,16%
1948 G>A (p.Gly650Arg)			
Абзелиловский район Республики Башкортостан	93	0	0
Архангельский район Республики Башкортостан	110	0	0
Аскинский район Республики Башкортостан	80	1	1,25
Баймакский район Республики Башкортостан	93	0	0
1948 G>A (p.Gly650Arg)			

Продолжение таблицы 45

Популяционные группы	Протестировано	Выявлено	Частота
Белорецкий район Республики Башкортостан	93	0	0
Самарская/Саратовская/Курганская области России	89	0	0
Татары Республики Татарстан	62	0	0
Всего	620	1	0,16%
1720+4G>A			
Абзелиловский район Республики Башкортостан	93	1	1,08%
Архангельский район Республики Башкортостан	110	4	3,64%
Аскинский район Республики Башкортостан	80	0	0
Баймакский район Республики Башкортостан	93	2	2,15%
Белорецкий район Республики Башкортостан	93	1	1,08%
Самарская/Саратовская/Курганская области России	89	0	0
Татары Республики Татарстан	62	0	0
Всего	620	8	1,29%

Таким образом, нами обнаружены три варианта гена *P3H1* только у пациентов башкирского происхождения среди когорты.

У шести пациентов мы выявили мутации в гетерозиготном состоянии в генах *CLCN7*, *ALOX12B*, *PLEKHM1*, *ERCC4*, *ARSB*, *PTH1R*, которые связаны с другими заболеваниями соединительной ткани и костей. У всех пациентов были

низкотравматические переломы. У пациентов с мутациями с.141+4A>G в гене *CLCN7* и с.2902-9C>T в гене *PLEKHM1* наблюдались множественные переломы, а также нейросенсорная тугоухость, близорукость, артропатии и поражения связочного аппарата. У пациента с мутацией с.526G>A в гене *ALOX12B*, помимо переломов, наблюдалась кератинизация кожи и врожденный гидронефроз. У носителя мутации с.2395C>T в гене *ERCC4*, ассоциированной с развитием анемии Фанкони, не было выраженных клинических проявлений, что, скорее всего, связано с юным возрастом пациентки (5 лет). У пациента с мутацией с.342C>A в гене *PTH1R* наблюдались множественные проявления поражения соединительной ткани, такие как разрыв связок коленного сустава, врожденные пороки клапанов сердца, остеопороз и сколиоз, что в целом характерно для хондродисплазии. У пациента с мутацией с.454C>T в гене *ARSB*, характерной для мукополисахаридоза VI типа, наблюдался остеопороз и множественные переломы периферических костей. В настоящее время эти мутации не признаны ответственными за развитие НО, но при этом ухудшают качество костной ткани и вызывают переломы – вторичные проявления основного заболевания (таблица 46).

Среди 13 пациентов, не имевших мутаций, у двух больных были вторичные поражения костей при эндокринологической патологии – заболеваниях щитовидной железы и сахарном диабете I типа, еще у двух – признаки ювенильного остеопороза без системного поражения соединительной ткани. У пяти пациентов при динамическом наблюдении диагноз НО не подтвердился. У четырех пациентов с яркой клинической картиной поражения необходимо продолжить исследования для выявления молекулярной причины заболевания. Таким образом, среди 64 пациентов из 54 семей, обследованных в данном исследовании, у 9 пациентов диагноз НО был исключен в результате ретроспективного клинического наблюдения, а также отсутствия патогенных изменений в целевых генах костного метаболизма. Учитывая, что у 6 пациентов мы выявили изменения в генах, не являющихся причинными генами НО, они также находятся под динамическим наблюдением клинических генетиков без

диагноза НО. Это свидетельствует о необходимости более детального подхода к клиническому этапу диагностики.

Таблица 46 – Клинико-генетические характеристики пациентов с мутациями в генах, не ассоциированных с НО

Семья	Пациент	Мутация	Тип наследования	Возраст	Пол	ГС	Переломы
36	46	<i>ALOX12B</i> : с.526G>A, р. Glu176Lys	de novo	12	М	-	4
37	47	<i>PLEKHM1</i> : с.2902-9C>T	de novo	15	Ж	+	>9
38	48	<i>ERCC4</i> : с.2395C>T, р. Arg799Trp	de novo	5	Ж	+	1
38	49	<i>ARSB</i> : с.454C>T, р. Arg152Trp	de novo	12	М	+	18
40	50	<i>PTH1R</i> : с.342C>A, р. His114Gln	de novo	8	М	+	>5
41	51	<i>CLCN7</i> : с.141+4A>C	de novo	31	М	+	>11

По результатам исследования клинический диагноз был подтвержден у 45 пациентов из 35 семей без родства, а у 4 пациентов поиск патогенных изменений будет продолжен. В 89,7% семей с НО мы выявили молекулярную причину заболевания (35/39). В нашей выборке обследованных пациентов из Республики Башкортостан в 77,8% (35/45) семей больных были выявлены мутации в генах, ответственных за развитие НО, у 13,4% пациентов были структурные изменения в

других генах и у 8,8% пациентов изменений не было. Дальнейшие расчеты были проведены для 45 пациентов из 35 семей.

Всего в когорте наших пациентов с НО было выявлено 26 мутаций в генах *COL1A1/COL1A2*. 10 из них не были ранее описаны в литературе, что составляет 38,5% (10/26) от всех выявленных мутаций в этих двух генах. По нашим данным, на долю структурных изменений в генах *COL1A1/COL1A2* пришлось 38,5% мутаций (10/26), 61,5% мутаций (16/26) оказались по типу гаплонедостаточности. 7 из 26 мутаций в генах *COL1A1/COL1A2* были вызваны заменой глицина (2 мутации в гене *COL1A1* и 5 мутаций в гене *COL1A2*). Наиболее распространенными в нашей выборке пациентов были замены серина (n=4, 44,4%), за ними следуют замены аргинина (n=2, 22,2%), аспарагина (n=1, 11,1%) и цистеина (n=1, 11,1%). Три миссенс-мутации в гене *COL1A2* представляли собой замены аргинина на гистидин в позиции 216 и на глутамин в позиции 609 белка, а также замену лизина на аргинин в позиции 1326. Мутации с.874G>A (с. Gly292Ser), с.647G>A (с. Arg216His), с.2341G>C (с. Gly781Arg) гена *COL1A2* привели к легкому течению заболевания с I типом ОИ; с.2461G>A (с. Gly821Ser), с.2569 G>T (с. Gly857Cys) мутации гена *COL1A1* и с.2756G>A (с. Gly919Asp), с.3277G>A (с. Gly1093Ser) гена *COL1A2* – к III типу, а мутация с.2971G>C (с. Gly991Arg) гена *COL1A2* – к IV типу НО.

В нашей выборке семейные случаи составляют 28,5% (10 семей, 10/35). В китайской популяции семейные случаи составляют 33%, у итальянцев -32% [210] и 53% – у вьетнамцев [476]. Согласно нашим результатам, в семьях с мутациями с.579delT, с.967G>T, с.1354-12G>A гена *COL1A1* фенотипы пробандов и родителей совпадали и приводили к I типу НО. Мутация с.3034G>A гена *COL1A2* была обнаружена у пробанда и ее матери с III типом НО. Мутация с.3977A>G привела к IV типу НО, как у пробанда, так и у одного из родителей. Однако у пациентов с мутациями с.1081C>T, с.2869C>T в гене *COL1A1* и у пациентов с мутациями с.1826G>A, с.2756G>A, с.2971G>C гена *COL1A2* клинические признаки заболевания различались в пределах одной семьи. У пробанда эта же мутация привела к тяжелым фенотипическим признакам заболевания, в отличие

от родителей, не имеющих признаков НО, что, скорее всего, свидетельствует о неполной пенетрантности родителей. Все выявленные мутации в генах коллагена I типа были уникальными для каждой семьи, за исключением двух мутаций с.579delT и с.3076C>T в гене *COL1A1*, каждая из которых была обнаружена в двух неродственных семьях татарской этнической принадлежности.

Мутации с.579delT, с.2869C>T гена *COL1A1* и с.1197+5G>A гена *COL1A2* были ранее описаны у пациентов с НО и являются патогенными [28; 297]. Мутация с.579delT (р. Gly194valfsX71) была обнаружена у двух неродственных пробандов 2002 и 1995 годов рождения. У обоих пациентов были голубые склеры, множественные деформации конечностей, гипермобильность суставов. Данное изменение последовательности создает сигнал преждевременной остановки трансляции (с. Gly194valfsX71) в гене *COL1A1*. Эта мутация с.579delT была описана 25 раз в базе данных НО и выявлена в популяциях испанцев, итальянцев, шведов, украинцев, китайцев и тайваньцев [125; 564]. Эта мутация приводит к I типу НО с относительно легким течением заболевания. Мутация с.3076C>T была также обнаружена у двух неродственных пациентов. Оба пациента были мужчинами с I типом НО, который характеризовался голубыми склерами и легкими деформациями костной системы. Эта мутация была описана 14 раз у пациентов из США, Великобритании, Италии, Бразилии, Китая, Финляндии с I типом НО [89], [293]. Мутации с.358C>T, с.579delT, с.658C>T, с.967G>T, с.1081C>T, с.1243C>T, с.2869C>T, с.2444delG, с.3076C>T, с.858+1G>A, с.1354-12G>A, с.2461G>A, с.2569 G>T гена *COL1A1* и мутации с.874G>A, с. 1197+5G>A, с.2756G>A, с.3034G>A гена *COL1A2* были опубликованы ранее в базах данных [www.hgvs.org].

У 2 пациентов мы выявили сочетанные мутации. У пациента российского происхождения с IV типом НО была обнаружена комбинированная мутация с.2971G>C в гене *COL1A1* и с. 212G>C (р. Ser71Thr) в гене *FGF23*, а так же у уже описанного пациента с мутацией с.-14C>T в гене *IFITM5* было выявлено сочетание с мутацией с.1903C>T в гене *LAMB3*, что, вероятно, объясняет особенности клинической картины у данного пациента (таблица 47).

Таблица 47 – Клинико-генетические характеристики пациентов с комбинированными мутациями

Семья	Пациент	Мутация 1	Мутация 2	Тип наследования	Возраст	Тип НО	Пол	ГС	Переломы
25	33	с.2971G>C, р. Gly991Arg ( <i>COL1A2</i> )	с.212G>C, р. S71T ( <i>FGF23</i> )	АД	58	4	М	-	5
33	42	с.-14C>T ( <i>IFITM5</i> )	с.1903C>T, р. Arg635X ( <i>LAMB3</i> )	de novo	27	5	Ж	-	15

Обсуждение. Подсчитано, что изменения в генах, отличных от тех, которые кодируют коллаген типа I, ответственны примерно за 15-25% случаев НО, при этом патогенные аллели демонстрируют различное географическое распространение. В нашем исследовании мы выявили структурные изменения в 4 генах из 23, ассоциированных с НО. На сегодняшний день известно более 1000 структурных изменений в гене *COL1A1*. Структурные мутации в этом гене составляют около 45%, остальное количество мутаций приходится на другие варианты (нонсенс-мутации, мутации со сдвигом рамки считывания, мутации сайта сплайсинга, делеции всего гена). Согласно литературным данным, процент новых патогенных мутаций в двух генах коллагена I типа (*COL1A1/COL1A2*) у украинцев с НО составил 42,85%, у китайцев – 40,98%, у шведов – 31,53% [28], [293]. В китайской популяции на структурные изменения приходится 54%, а на гаплонедостаточные мутации – 46%, в украинской популяции соотношение составляет ровно 49% / 51% [293], что отличается от нашей выборки пациентов. Мутации с.358C>T, с.658C>T, с.1243C>T, с.2869C>T, с.3076C>T, с.858+1G>A,

c.1354-12G>A, c.3208-1G>C были обнаружены у пациентов с I типом НО. Пациенты из других популяций имели те же клинические признаки, что и пациенты из Республики Башкортостан. Исключение составили мутации c.1081C>T, c.2461G>A и c.2569G>T, обнаруженные в гене *COL1A1*, которые привели к различным фенотипам у пациентов с НО. Так, замена цитозина на тимин в позиции 1081 кДНК, приводящая к стоп-кодону у пробанда из Республики Башкортостан, привела к тяжелым клиническим проявлениям заболевания с III типом НО. У него были множественные переломы, что привело к деформации конечностей и инвалидности. У отца с той же мутацией был I тип НО. Это изменение было описано 11 раз, и авторы сообщают о легком течении заболевания с I типом НО [28; 107; 132; 261; 293; 480]. Мутация c.2461G>A была зарегистрирована в базе данных 31 раз и описана у пациентов с I, II, III и IV типами НО [28; 125; 297; 475; 597]. Клоен и соавторы подробно описали пациента с этой мутацией, у которого были множественные переломы с плохим заживлением, в результате этого прогрессирующая деформация нижних и верхних конечностей, компрессионные переломы позвоночника. Пациент не мог самостоятельно передвигаться [307]. У нашего пациента также имеются множественные переломы и деформации конечностей, что коррелирует с III типом НО. Мутация c.2569G>T в гене *COL1A1* была описана 8 раз [297; 444]. Фенотипы пациентов также различались (II, III, IV типы НО). У нашей пациентки это изменение привело к III типу НО. У пациента были множественные переломы, низкий рост и деформации костной системы.

В гене *COL1A2* описано около 600 мутаций. Согласно международной базе данных по несовершенному остеогенезу, подавляющее большинство мутаций в гене *COL1A2* являются миссенс-мутациями, на долю которых приходится около 74%. Отмечается, что наиболее частыми структурными дефектами коллагена I типа, вызывающими НО, являются глициновые замены в спиральном домене. Замены глицина замедляют сворачивание спирали, увеличивая время доступа для ферментной модификации. Таким образом, в нашей выборке пациентов с НО наиболее частыми миссенс-мутациями были глициновые замены, на долю



которых пришлось 73% всех структурных изменений, выявленных в генах коллагена. Мутация с.874G>A, обнаруженная в гене *COL1A2*, была опубликована 6 раз [28; 169; 489] и привела к I типу у 5 пациентов из Швеции и Германии [28; 169], а также у пациента из Беларуси. Однако Duу описал, что это изменение привело к III типу НО у пациента из Вьетнама [489]. Мутация с.2756G>A гена *COL1A2* была ранее опубликована у пациента с внутриутробными переломами и различными аномалиями с II типом НО [492]. У нашего пациента был низкий рост, голубые склеры, множественные переломы, которые привели к инвалидности пациента и прогрессирующим деформациям нижних конечностей с III типом НО. Мутация с.3034G>A была опубликована 26 раз в базе данных по НО [28; 273; 289; 297; 353; 445; 489; 546]. Пациенты с этим изменением имели III и IV типы заболевания. По клиническим признакам наш пациент был отнесен к III типу НО с голубыми склерами и множественными переломами конечностей. Фенотип нашего пациента похож на пациентов, описанных Baldrige et al., 2008, которые отметили, что мутации в этом гене приводят к другим клиническим характеристикам по сравнению с пациентами с мутациями в генах коллагена I типа [190]. Для пациентов характерны белые склеры, круглое лицо, деформации нижних конечностей. Как отмечают исследователи, нулевые мутации в гене *P3H1* вызывают НО III типа, являются тяжелыми или летальными и приводят к чрезмерной модификации всего спирального участка коллагена, фактически отменяя 3-гидроксилирование коллагена I типа. Отсутствие гидроксилирования  $\alpha 1(I)$  Pro986 и/или прямого шаперонного эффекта *P3H1* приводит к задержке сворачивания коллагеновой спирали [510]. Пациенты с мутациями в этом гене были описаны у афроамериканцев, африканцев, пакистанцев и арабов. Исследователи отмечают, что мутации в этом гене чаще всего возникали у кровнородственных пациентов. Perin et al. 2013 описали мутации с эффектом основателя в африканской популяции [93; 190; 510]. Нулевые мутации в *P3H1* или *CRTAP* приводят к отсутствию обоих белков в мутантных клетках, поскольку эти белки являются взаимодополняющими в комплексе, и в итоге приводят к сходным клиническим признакам у пациентов с НО.

Тип V НО является уникальным среди всех типов несовершенного остеогенеза: большинство пациентов (приблизительно 95%) с типом V имеют одну и ту же гетерозиготную мутацию в *IFITM5*, точечную мутацию в 5'-UTR (с.-14C>T). Пациенты с этим типом имеют умеренную костную дисплазию с различным сочетанием отличительных признаков, включая оссификацию межкостной мембраны предплечья (76-100%), вывих головки лучевой кости (36-88%) и ее смещение (86%) [493]. Более чем у половины пациентов с типом V во время заживления перелома развивается гиперпластическая мозоль. Оттенок склеры изменяется, а зубы остаются нормальными. У всех пациентов с типом V при гистологическом исследовании костей обнаруживается отчетливая сетчатая пластинка [93; 94; 477; 510; 599].

Заключение. Таким образом, патогенные мутации, ответственные за развитие НО, были обнаружены в 33 неродственных семьях из Республики Башкортостан. Нами выявлено 16 патогенных изменений в гене *COL1A1*, 11 патогенных мутаций в гене *COL1A2*, по одной мутации в генах *P3H1* и *IFITM5*. 55,2% (16/29) выявленных мутаций приходится на ген *COL1A1*, 37,9% (11/29) – на ген *COL1A2* и по 3,45% (1/29) на гены *IFITM5* и *P3H1*. Структурные изменения в генах, характерные для других заболеваний, были выявлены у 13,20% (7/53) пациентов, а отсутствие изменений – у 24,5% (13/53) пациентов. Среди пациентов из Республики Башкортостан с выявленными мутациями в 10 семьях выявлено аутосомно-доминантное наследование, в 16 семьях мутации произошли *de novo* и в 7 семьях не удалось установить тип наследования. У пациентов из Республики Башкортостан мы обнаружили 11 ранее не описанных патогенных изменений: 3 в гене *COL1A1*, 7 в *COL1A2* и 1 мутация в гене *P3H1*. Выявленные мутации оказались уникальными, за исключением мутаций с.579delT и с.3076C>T в гене *COL1A1*, обнаруженных в двух неродственных семьях, а также мутаций с.-14C>T в гене *IFITM5*, обнаруженной у трех неродственных пробандов и мутации с.1051G>T, р. Glu351X в гене *P3H1*, обнаруженной у двух неродственных пробандов. Впервые в России проведена комплексная оценка генетической архитектуры НО с анализом гено-фенотипических корреляций, определением

типа наследования и формы заболевания с учетом этнической принадлежности у всех доступных пациентов с клиническим диагнозом «несовершенный остеогенез».

### **3.4.2 Исследование молекулярной архитектуры синдрома Элерса-Данло у пациентов из Республики Башкортостан**

Для определения генетической архитектуры СЭД были использованы образцы ДНК 43 пациентов (средний возраст  $28,6 \pm 7,44$  лет) из 37 семей с синдромом Элерса-Данло, проживающих на территории Республики Башкортостан (Россия). У всех имелись клинические проявления, характерные для СЭД: гипермобильность суставов в сочетании с кожной гиперэластичностью, а также малые критерии, такие как геморрагический синдром, деформации грудной клетки и позвоночника, подвывихи суставов. Согласно классификационным критериям, у пациентов имелись признаки I (классического) типа СЭД. 6 случаев были семейными, 37 – спорадическими. Не во всех семьях была возможность определить характер наследования, в тех случаях, когда это было возможно – характер наследования был аутосомно-доминантным. У 8 пациентов отмечалось тяжелое мультисистемное течение заболевания, которое привело к ранней инвалидизации.

Исследование было проведено в 2 этапа. На 1 этапе был проведен поиск структурных изменений методом SSCP в гене *COL5A1* у 7 пациентов с наиболее выраженной клинической симптоматикой.

Было исследовано 20 экзонов, в 14 из них были обнаружены несколько типов изменения подвижности одноцепочечной ДНК у пациентов с синдромом Элерса-Данло. Все образцы с измененной подвижностью были секвенированы (по Сэнгера) с прямого и обратного праймера и выявлены несколько изменений нуклеотидной последовательности ДНК, которые были идентифицированы с использованием различных баз данных и предсказательных программ. Идентифицированы несколько полиморфных вариантов без патогенной значимости. У двух пациентов в 58 экзоне гена *COL5A1* был обнаружен полиморфный вариант rs2228560 в положении с.4869 G>C, представляющий

собой синонимичный вариант без изменения аминокислотной последовательности белка. Частота встречаемости в популяции достаточно высока – 0,408; по литературным данным выявлены клинические ассоциации с кардиоваскулярным фенотипом, а так же синдромом Элерса-Данло 1 и 7 типов. У одного пациента в 39 экзоне был выявлен полиморфный вариант rs762810181 в положении с.3469C>T, представляющий собой миссенс-вариант p.Leu1028Phe (NP\_001265003.1). Вариант встречается в популяции с частотой  $8.62195e-06$ , ассоциирован с классическим типом синдрома Элерса-Данло. Также нами были выявлены изменения нуклеотидной последовательности во фланкирующих регионах гена в пределах 100 нуклеотидов от кодирующей области, что не исключает вероятности влияния данных вариантов на развитие клинических проявлений заболевания. Данные изменения были выявлены в области 21 экзона в позиции с.2449-47 G>C и в области 8 экзона в позиции С.1746+25 C>T. Данные изменения не описаны в имеющихся базах данных.

Полученные результаты не могут в полной мере объяснить генетическую природу развития фенотипических проявлений у включенных в исследование пациентов, поэтому в качестве основного метода поиска структурных изменений в генах, участвующих в развитии заболеваний был использован метод массового параллельного секвенирования или секвенирование следующего поколения (NGS). Учитывая, что большинство семей с СЭД имели классическую картину заболевания, мы сосредоточили свое внимание на анализе двух генов коллагена 5 типа.

У пациентов с СЭД было проведено таргетное секвенирование генов альфа1 и альфа 2 цепей генов коллагена V типа (*COL5A1*, *COL5A2*). Молекулярно-генетическая диагностика пациентов проводилась в Центре молекулярной медицины (Башкирский государственный университет, Уфа) с использованием панели, разработанной авторами (ParSeq Lab, Санкт-Петербург). Анализ ДНК проводился по методу парного чтения. Среднее покрытие целевых участков секвенирования в исследуемых генах составляло не менее 70×. Обработка данных секвенирования проводилась с использованием автоматизированного алгоритма,

включающего выравнивание считываний с референсной последовательностью генома человека (hg19), постобработку выравнивания, идентификацию вариантов и фильтрацию вариантов по качеству. Аннотацию выявленных вариантов в соответствии с каноническим транскриптом каждого гена и их приоритизацию проводили с учетом рекомендаций ACMG версии 3.0. Для описания вариантов нуклеотидной последовательности использовали стандартную номенклатуру. Геномные координаты определяли в соответствии со стандартом геномной сборки (GRCh37 и GRCh38). Клиническое значение и фенотипические проявления вариантов нуклеотидных последовательностей определяли с использованием баз данных СЭД и на основании данных Exome Aggregation Consortium, а также литературных данных.

В результате проведенного исследования мы выявили 8 мутаций в 2 генах (*COL5A1*, *COL5A2*), ответственных за развитие СЭД у 8 пациентов из 6 семей. В гене *COL5A1* в ходе секвенирования образцов ДНК были идентифицированы 5 структурных изменений у 7 больных из 5 семей – с.212delC, с.3184C>T, с.4050dupC, с.4135C>T и с.4465G>A. Три мутации были выявлены в гене *COL5A2* у трех неродственных пациентов – с.4113+3A>G, с.1081A>C и с.3385G>A (таблица 48).

Вариант с.212delC, (p.Pro71ArgfsTer33) не описан в доступной литературе, определяется предсказательными программами как патогенный. Однонуклеотидная делеция цитозина приводит к сдвигу рамки считывания и образованию укороченного белка альфа цепи коллагена V типа. У пациента отмечались множественные подвывихи суставов, а также низкотравматический перелом плечевой кости. Родители не были доступны для ДНК диагностики, тип наследования не определен.

Мутация с.3184C>T (p.Arg1062Ter, rs387906606) в гене *COL5A1* идентифицирована у мамы и ребенка, приводила к аутосомно-доминантному классическому типу СЭД. Представляет собой нонсенс-вариант с образованием стоп-кодона, что приводит к усечению белка и потере функции. Ранее подобная

мутация была описана у пациентов с СЭД и патологией грудного отдела аорты [113].

В нашем исследовании у матери были выявлены только основные признаки СЭД – гипермобильность суставов и гиперэластичность кожи, тогда как у ребенка наблюдались также келлоидные рубцы, вальгусная установка стоп и задержка психомоторного развития.

Таблица 48 – Патогенные изменения ДНК, выявленные у пациентов с СЭД

Семья	Пациент	Мутация	Экзон	Тип наследования	Возраст (лет)	Пол
<i>COL5A1</i>						
1	1	c.212delC, p.Pro71ArgfsTer33	2	н/о	9	Ж
2	2	c.3184C>T p.Arg1062Ter	40	АД	49	Ж
	3				17	М
3	4	c.4050dupC p.Gly1351fs	51	АД	8	М
	5				46	Ж
4	6	c.4135C>T, p.Pro1379Ser	53	н/о	20	Ж
5	7	c.4465G>A (p. Gly1489Arg)	58	н/о	20	М
<i>COL5A2</i>						
6	8	c.1081A>C p.Met361Leu	17	АД	27	М
7	9	c.3385G>A p.Asp1129Asn-	48	н/о	39	Ж
8	10	c.4113+3A>G g.189901339T>C	52	АД	36	М

Примечание: н/о – не определен

Патогенный вариант с.4050dupC (p.Gly1351fs, rs758337699) выявлен у пробанда и ее сына, расположен в кодирующем 51 экзоне, возникает в результате дубликации C в положении нуклеотида 4050, вызывая трансляционный сдвиг рамки с предсказанным альтернативным стоп-кодоном (p.G1351Rfs\*14). В дополнение к клиническим данным, представленным в литературе, ожидается, что это изменение приведет к потере функции из-за преждевременного усечения белка или нонсенс-опосредованного распада мРНК. Таким образом, это изменение интерпретируется как мутация, вызывающая трансляционный сдвиг рамки с образованием альтернативного стоп-кодона. Он ранее был описан у пациентов с классическим типом СЭД [165]. В нашем случае мутация с.4050dupC (p.Gly1351fs) в гене *COL5A1* приводила к аутосомно-доминантному классическому типу СЭД (идентифицирована у отца и ребенка), у отца, помимо гипермобильности суставов и кожной гиперэластичности, выявлен геморрагический синдром с легким образованием гематом, долихостеномелия, воронковидная деформация грудной клетки, варикозная болезнь вен нижних конечностей и миопия. У сына наблюдался более мягкий фенотип с наличием плоскостопия, паховой грыжи и тонкой, ранимой кожи.

Обнаружен ранее описанный в литературе вариант с.4135C>T (p.Pro1379Ser). Происходит изменение консервативного нуклеотида, что приводит к миссенс-замене, четыре из пяти инструментов *in silico* предсказывают патогенную значимость для этого варианта, однако эти прогнозы еще не подтверждены функциональными исследованиями. Этот вариант был обнаружен в 900 из 121304 контрольных хромосомах (7 гомозигот) с частотой 0,007, что примерно в 5935 раз превышает расчетную максимальную ожидаемую частоту аллелей патогенного варианта гена *COL5A1* (0,0000013), что позволяет предположить, что он является доброкачественным полиморфизмом. Клиническая значимость данного варианта окончательно не установлена, в базе данных ClinVar он обозначается, как вероятно доброкачественный, однако подобные изменения описаны у пациентов с мягкими формами СЭД, что согласуется с нашими наблюдениями [400]. У пациента с вариантом в анамнезе

зафиксированы множественные повреждения связочного аппарата в виде разрывов связок при малой нагрузке.

Идентифицирован описанный в литературе вариант с вероятно патогенным клиническим значением p.Gly1489Arg (c.4465G>A, rs1838935159) в 58 экзоне гена *COL5A1* (NM\_000093.5) в гетерозиготном состоянии. Это изменение последовательности заменяет глицин на аргинин в кодоне 1489 белка COL5A1 (p.Gly1489Arg). Остаток глицина высоко консервативен и между глицином и аргинином существует умеренная физико-химическая разница. Этот вариант отсутствует в базе данных экзомного секвенирования ExAC, частота в популяциях не определена. Это миссенс-изменение наблюдалось у людей с классическим синдромом Элерса-Данлоса (СЭД) (PMID: 19370768, 22696272). Этот вариант разрушает домен тройной спирали COL5A1. Остатки глицина в повторах Gly-Хаа-Уаа домена тройной спирали необходимы для структуры и стабильности фибриллярных коллагенов (PMID: 7695699, 8218237, 19344236), однако, клиническое значение этого наблюдения остается неопределенным, поскольку на сегодняшний день описано лишь ограниченное число больных. Этот вариант разрушает аминокислотный остаток p.Gly1489 в белке COL5A1, что позволяет предположить клинически значимую патогенность данного изменения. Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные указывают на то, что этот вариант является патогенным, но для убедительного доказательства этого необходимы дополнительные данные. Поэтому этот вариант был классифицирован как вероятно патогенный. У пациента с вариантом c.4465G>A, помимо основных фенотипических признаков, наблюдались двусторонний вывих тазобедренных суставов, пупочная грыжа, геморрагический синдром, миопия и сколиоз 4 степени.

Таким образом, в гене *COL5A1* выявлено 5 изменений нуклеотидной последовательности, три с установленной патогенной значимостью, одно вероятно патогенное и одно изменение – с неустановленной клинической значимостью. По типу изменений 2 мутации приводят к сдвигу рамки считывания (c.212delC (p.Pro71ArgfsTer33), c.4050dupC (p.Gly1351fs)), 1 нонсенс-мутация



(c.3184C>T (p.Arg1062Ter)) и 2 миссенс-варианта (c.4135C>T (p.Pro1379Ser), c.4465G>A (p.Gly1489Arg), две из них (c.212delC, (p.Pro71ArgfsTer33) и c.4135C>T (p.Pro1379Ser)) не описаны в литературе.

В гене *COL5A2* выявлено одно вероятно патогенное изменения и два варианта с неустановленной клинической значимостью.

Вариант c.1081A>C (p.Met361Leu, rs76148000) описан в базе ExAC с частотой 0,018, что превышает предполагаемую максимальную частоту для патогенного варианта, что говорит о том, что этот вариант, вероятно, является доброкачественным полиморфизмом. По литературным данным данное изменение неоднократно выявлен при 1, 2 и 7 типах СЭД ([https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Phenotype?db=core;r=2:189074916-189075916;v=rs76148000;vdb=variation;vf=196346932](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Phenotype?db=core;r=2:189074916-189075916;v=rs76148000;vdb=variation;vf=196346932)). У нашего пациента диагностирована паховая грыжа, атрофические стрии, а также семейный анамнез заболевания. Около 5 родственников первой линии родства имели подобные симптомы, однако молекулярный диагноз на момент исследования не был подтвержден. В настоящее время клиническая значимость данного изменения не определена из-за отсутствия функциональных исследований.

Вариант c.3385G>A (p.AspD1129Asn, rs199802059), расположенный в кодирующем экзоне 48 гена *COL5A2*, является результатом замены гуанина на аденин. Аспарагиновая кислота в кодоне 1129 заменена аспарагином с очень похожими свойствами. Об этом изменении сообщалось в когорте с синдромом Смита-Магениса, которые подверглись полногеномному секвенированию, а также у пациентов с классическим I типом СЭД. Это аминокислотное положение высоко консервативно у доступных видов позвоночных. Анализ *in silico* показывает, что этот миссенс-вариант оказывает патогенное воздействие на структуру/функцию белка. Однако, подтверждающие данные в настоящее время ограничены и клиническое значение этого изменения остается неясным. При этом у пациента в нашем исследовании наблюдался широкий перечень клинических проявлений, включавший вывихи плечевых и тазобедренных суставов, килевидную

деформацию грудной клетки, кифосколиотическую деформацию грудного отдела позвоночника, множественные грыжи и миопию.

Вариант с.4113+3A>G расположен в 52 интроне и напрямую не изменяет закодированную аминокислотную последовательность белка, при этом влияя на нуклеотид в сайте сплайсинга интрона. Этот вариант отсутствует в базах данных ExAC, частота в популяциях не определена, описана у пациента с СЭД тип I. Варианты, нарушающие консенсусный сайт сплайсинга, являются относительно распространенной причиной абберантного сплайсинга (PMID: 17576681, 9536098). Алгоритмы, разработанные для прогнозирования влияния изменений последовательности на сплайсинг РНК, предполагают, что этот вариант может нарушать консенсусный сайт сплайсинга. Таким образом, имеющихся данных в настоящее время недостаточно, чтобы определить роль этого варианта в заболевании. Поэтому он был классифицирован как вариант неопределенного значения. В нашем исследовании у пациента наблюдались рецидивирующие вывихи плечевых суставов, пупочная грыжа и сколиоз 2 степени.

Таким образом, среди 43 пациентов из 37 семей, включенных в данное исследование, в 21,6% семей (8/37) выявлены изменения нуклеотидной последовательности в двух генов коллагена V типа. В гене *COL5A1* выявлено 5 изменений нуклеотидной последовательности, три с установленной патогенной значимостью, одно вероятно патогенное и одно изменение – с неустановленной клинической значимостью. По типу изменений 2 мутации приводят к сдвигу рамки считывания (с.212delC (p.Pro71ArgfsTer33), с.4050dupC (p.Gly1351fs)), 1 нонсенс-мутация (с.3184C>T (p.Arg1062Ter)) и 2 миссенс-варианта (с.4135C>T (p.Pro1379Ser), с.4465G>A (p.Gly1489Arg), две из них (с.212delC, (p.Pro71ArgfsTer33) и с.4135C>T (p.Pro1379Ser)) не описаны в литературе. В гене *COL5A2* обнаружены три ранее известных изменения нуклеотидной последовательности с неустановленной клинической значимостью, две из них относятся к миссенс-вариантам, один – вариант изменения сайта сплайсинга.

Среди пациентов с установленным молекулярным диагнозом семейные случаи составляют 25% (2/8), фенотипы родителей и пробандов совпадают в

части основных классификационных признаков, однако в целом выраженность клинических проявлений имеет семейную вариабельность. Все выявленные изменения уникальные, каждый из которых обнаружен только в однойотягощенной СЭД семье.

Обсуждение. В литературе одно из наиболее крупных исследований молекулярных маркеров СЭД описывает данные о 40 пациентах из 28 семей, из них 14 педиатрических пациентов и 26 взрослых. У 9 пациентов был отмечен семейный анамнез. Большинство пациентов соответствовали всем основным диагностическим критериям классического типа СЭД, но при этом наблюдалась широкая меж- и внутрисемейная фенотипическая гетерогенность. Были выявлены причинные мутации с частотой обнаружения около 93%. У 25/28 пробандов были обнаружены мутации в генах *COL5A1* или *COL5A2*. Двадцать одна мутация была в гене *COL5A1*, из них 18 были новыми мутациями, 2 из которых были обнаружены дважды (с.2988del и с.3769C>T), а 3 были описаны ранее (с.2988dup, с.3413G>A и с.3769C>T) [[179]]. Две новые сплайс-мутации были обнаружены в гене *COL5A2*. Анализ родителей показал, что 14 из 23 мутаций *COL5A* возникли de novo; для двух мутаций анализ de novo был невозможен, поскольку родители были недоступны, но семейный анамнез был отрицательным. Восемь мутаций были обнаружены в семьях с несколькими пораженными членами. У двух пациентов с классическим типом СЭД не было обнаружено причинных мутаций в генах *COL5A1*, *COL5A2*, хотя клинически эти пациенты не отличались от пациентов с положительной мутацией [166].

Другой группой исследователей были получены результаты, согласно которым половина мутаций гена *COL5A1* являются мутациями гаплонедостаточности, которые вызывают снижение производства коллагена V типа [439; 602]. Кроме того, было выявлено 36 "структурных" мутаций *COL5A1/COL5A2*, из которых приблизительно две трети расположены в гене *COL5A1*, а одна треть – в гене *COL5A2*. В то время, как *COL5A1* мутации разбросаны по всему гену, все мутации *COL5A2* расположены в домене тройной спирали, за исключением одной мутации С-пропептида. В соответствии с

предыдущими результатами, все мутации *COL5A2*, выявленные в данном исследовании, приводят к образованию мутантных  $\alpha 2(V)$ -цепей, которые, как ожидается, будут включены в состав *COL5A2*. Еще одно крупное исследование молекулярного патогенеза СЭД включало 59 пациентов из 56 семей. Патогенные изменения последовательности ДНК в гене *COL5A1* были обнаружены у 20 обследованных. Один пациент был носителем патогенного варианта гена *COL5A2*. Кроме того, три пациента были носителями изменений в гене *COL1A1*, а шесть пациентов – носителями вариантов гена *COL1A2*. У 29 пациентов вариантов в исследуемых генах обнаружено не было. У пациента 1 (11-летняя девочка) было выявлено изменение сайта сплайсинга (с.1989+1G>T). Этот вариант был описан ранее Митчеллом и др.; однако у их пациента гуанин был заменен аденином в позиции с.1989 (с.1989+1G>A) [439]. У данного пациента гуанин был заменен на тимин (с.1989+1G>T). В обоих случаях замена произошла в месте, критическом для процесса сплайсинга, поэтому в программе Varsome, вариант с.1989+1G>T обозначается как патогенный.

Вариант с.1273\_1276dupAGTC (p.Ser426Ter), обнаруженный у 6-летней девочки (пациентка 2), до сих пор не был описан у пациентов с СЭД, в программе Varsome также обозначается патогенным. У пациентов 3, 4 и 5 был обнаружен вариант со сдвигом рамки с.5021\_5021delC (p.Thr1674Lysfs\*55). Эта альтерация еще не была описана у пациентов с СЭД. Биоинформатический анализ подтвердил его патогенность. У пациентки 6 (мать) и пациентки 7 (дочь) был обнаружен вариант со сдвигом рамки с.4050dupC (p.Gly1351Argfs\*814). Это известный патогенный вариант, описанный Symoens et al. [[179]]. У пациента 8, 56-летней женщины, был обнаружен вариант с.1726C>T (p.Pro576Ser) в *COL5A1*, вероятно доброкачественный, и второй вариант сайта сплайсинга с.6930+5G>A в *COL6A3*. Другие варианты, обнаруженные в *COL5A1*, были доброкачественными. У пациентки 21, женщины 23 лет, был обнаружен вероятно патогенный вариант с.2555G>A (p.Gly852Asp) в *COL5A2*. Этот вариант не был зарегистрирован в базе данных LOVD и до сих пор не был обнаружен у пациентов с СЭД. Молекулярные изменения в генах *COL1A1* и *COL1A2* были обнаружены у девяти пациентов. Трое

из них были носителями вариантов в гене *COL1A1* и шесть вариантов в гене *COL1A2*. Пациентка 22 – 18-летняя женщина с вариантом с.2451T>C (p.Pro817=) в гене *COL1A1*. Этот вариант был обозначен Varsome как вероятно патогенный, он не был обнаружен в базе данных LOVD и не был описан у пациентов с синдромом Элерса-Данлоса или НО. Отец пациентки 22, у которой наблюдались клинические симптомы, похожие на симптомы его дочери, но в более легкой форме, также был носителем с.2451T>C. Пациентка 23 была 20-летней женщиной с вариантом с.517G>A (p.Gly173Arg) в *COL1A1* [[438]]. Мать и брат пациента имели схожие симптомы, но молекулярное тестирование на вариант с.517G>A у них не проводилось. У пациента 24 был обнаружен вариант с.1984-5C>A, описанный в LOVD как непатогенный.

Также следует учитывать вероятный вариант гипермобильного типа СЭД. Гипермобильные пациенты с фенотипом, сходным с классическим СЭД, были описаны Castori et al. [562]. Авторы представили пациентов с гипермобильным типом СЭД с кожно-слизистыми аномалиями, сходными с кожными аномалиями, описанными в классификации сEDS (атрофические рубцы, гиперрастяжимость, бархатистая кожа). Сходство фенотипа классического и гипермобильного типов СЭД у некоторых пациентов может привести к неточной классификации пациентов. Этот факт также может прояснить причину более низкого процента мутаций *COL5A1* / *COL5A2* в результатах итальянских исследователей по сравнению с оценкой Symoens et al. [179] и Ritelli [452], где процент патогенных вариантов был определен как 90 и 93 соответственно [454].

**Заключение.** Таким образом, мутации, ответственные за развитие синдрома Элерса-Данло, обнаружены в 8 неродственных семьях из Республики Башкортостан. Выявлено пять изменений нуклеотидной последовательности в гене *COL5A1* и три – в гене *COL5A2*. Среди пациентов из Республики Башкортостан с выявленными мутациями в 4 семьях выявлен аутосомно-доминантный тип наследования, в 4 случае тип наследования установить не удалось. Обнаружены патогенные варианты (с.212delC, (p.Pro71ArgfsTer33) и с.4135C>T (p.Pro1379Ser) в гене *COL5A1*, ранее не описанные в литературе.

### 3.5 Анализ молекулярных маркеров с учетом популяционных особенностей региона

#### 3.5.1 Поиск этноспецифических маркеров у пациентов с остеоартритом и остеопорозом

Помимо поиска ассоциаций полиморфных вариантов локусов кандидатных генов, сайтов связывания микроРНК и репликации полногеномных исследований с заболеваниями в целом и различными локализациями патологического процесса, был проведен поиск ассоциаций с учетом этнической принадлежности пациентов Республики Башкортостан. По этническому составу выборка пациентов с ОА состояла из 139 (33,3 %) женщин русского происхождения, 148 (35,4 %) – татарского происхождения, 53 (12,7 %) – башкир, 77 (18,6%) – метисов и представительниц других этносов. Этническая принадлежность определялась на основании информации о предках до третьего поколения.

По результатам анализа частот аллелей и генотипов была выявлена ассоциация аллеля С и генотипа СС полиморфного варианта rs4836732 гена *ASTN2* с остеоартритом у женщин татарской этнической принадлежности. Была обнаружена ассоциация аллеля \*А полиморфного варианта rs7639618 гена *DVWA* с ОА в целом у русских женщин по сравнению с группой контроля того же этноса. Также была обнаружена ассоциация аллеля \*G и генотипа \*GG полиморфного варианта rs835487 гена *CHST11* у женщин татарской этнической принадлежности с ОА в целом. Аллель \*С локуса rs11177 гена *GNL3* ассоциирован с ОА в целом в выборке метисов, а также отмечается тенденция к преобладанию частоты данного аллеля у пациентов с генерализованным остеоартритом, но различия носили характер тенденции. Была выявлена ассоциация аллеля \*Т полиморфного варианта rs1061237 гена *COL1A1* с остеоартритом у женщин русской этнической принадлежности. Аллель \*G полиморфного варианта rs6854081 гена *FGF2* статистически значимо чаще встречался у женщин татарской этнической принадлежности с остеоартритом. Были выявлены ассоциации аллеля С локуса rs229069 (*ADAMTS5*) и аллеля Т локуса rs73611720 (*GDF5*) у женщин с ОА в группах смешанного происхождения

и малых этнических группах. Характеристики выявленных ассоциаций представлены в таблице. Часть ассоциаций утратила статистическую значимость после поправки Беньямина-Хохберга на множественность сравнений. Характеристика выявленных ассоциаций, степени значимости до и после поправки на множественность сравнений представлены в таблице 49.

Таблица 49 – Анализ ассоциаций аллелей и генотипов исследуемых локусов с ОА в различных этнических группах

Группа пациентов	Аллель/ Генотип	Локус, ген	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
ОА в целом у татар	C	rs4836732 <i>ASTN2</i>	$\chi^2=6,813$ p=0,022 OR=1,14 (1,2-2,88)	0,233
	G	rs835487 <i>CHST11</i>	$\chi^2=3,556$ p=0,028 OR=1,65 (1,14-3,48)	0,521
ОА в целом у русских	A	rs7639618 <i>DVWA</i>	$\chi^2=4,869$ p=0,027 OR=3,56 (1,09-11,58)	0,115
ОА в целом у метисов	C	rs11177 <i>GNL3</i>	$\chi^2=7,147$ p=0,022 OR=3,01 (1,47-3,20)	0,336
ОА в целом у русских	T	rs1061237 <i>COL1A1</i>	$\chi^2=5,335$ p=0,017 OR=4,78 (1,89-12,02)	0,0002
ОА в целом у татар	G	rs6854081 <i>FGF2</i>	$\chi^2=7,148$ p=0,0001 OR=4,78 (1,89-12,02)	0,034
ОА в целом у метисов	C	rs229069 <i>ADAMTS5</i>	$\chi^2=8,648$ p=0,0002 OR=2,2 (1,30-3,89)	0,0004
	T	rs73611720 <i>GDF5</i>	$\chi^2=6,288$ p=0,004 OR=3,02 (1,38-6,60)	0,008

Впоследствии мы провели мета-анализ локусов, имевших ассоциации в отдельных этнических группах, для проверки собранных данных и выявления общих и этноспецифических тенденций (таблица 50).

Таблица 50 – Мета-анализ этнической гетерогенности исследованных локусов у пациентов с ОА

№	SNP	Модель с фиксированным эффектом		Модель со случайным эффектом		Q	I <sup>2</sup>
		P	OR	P(R)	OR(R)		
1	rs7639618	0,006	1,430	0,015	1,450	0,330	43,19
2	rs1061237	0,481	0,927	0,890	1,027	0,037	79,99
3	rs6854081	0,074	1,427	0,454	1,329	0,045	58,85
4	rs4836732	0,042	0,813	0,297	0,848	0,126	41,78
5	rs835787	0,044	0,793	0,044	0,793	0,942	0
6	rs11177	0,002	0,730	0,002	0,730	0,464	0
7	rs73611720	0,145	0,791	0,225	0,760	0,192	72,97
8	rs229069	0,001	0,705	0,026	0,667	0,082	79,67

*Примечание: P – p-значение фиксированное; P(R)- p-значение случайное; Q – критерий гетерогенности Кохрена; I<sup>2</sup> – гетерогенность Хиггинса, Рус – русские, Там – татары, Мет – метисы и другие этнические группы*

При проведении мета-анализа для большинства локусов, ассоциированных с ОА в отдельных этнических группах, выявлена этническая гетерогенность, за исключением полиморфных вариантов rs835787 и rs11177. Соответственно, данные локусы могут быть рассмотрены в качестве этноспецифических для определенных групп населения. С учетом поправки на множественность сравнений и результатов мета-анализа, локус rs1061237 является маркером риска развития ОА у женщин русской этнической группы, rs6854081 – у женщин татарской этнической группы, rs73611720 и rs229069 – у метисов и представителей других этнических групп. Заслуживает внимания ассоциация локусов rs229069 и rs7639618, которые, помимо этноспецифичности, были ассоциированы с развитием ОА в общей выборке.



Также помимо поиска ассоциаций с развитием ОП и его фенотипов в общей выборке, был проведен поиск ассоциаций в отдельных этнических группах. Среди включенных в исследование женщин преобладали русские (67%), татар было 33%, у мужчин также преобладали русские пациенты (72%), 28% пациентов составили метисы от браков русских и татар.

Была выявлена ассоциация аллеля Т локуса rs10098470 гена *TPD52* и аллеля А полиморфного варианта rs11540149 гена *VDR* с переломами в целом у женщин русской этнической принадлежности. Аллель G полиморфного варианта rs6854081 гена *FGF2* статистически значимо чаще встречался у женщин русской этнической принадлежности с переломами шейки бедренной кости по сравнению с контрольной группой женщин той же национальности. Данная ассоциация оказалась справедлива и для генотипа GT данного полиморфного варианта. Аллель Т полиморфного варианта rs10098470 гена *TPD52* был ассоциирован с переломами шейки бедренной кости у женщин русского этнического происхождения. Частота аллеля А локуса rs10793442 гена *ZNF239* статистически значимо преобладала у пациентов со сниженной минеральной плотностью костной ткани русского происхождения.

Также у русских женщин со сниженной минеральной плотностью костной ткани статистически значимо чаще встречался аллель Т полиморфного варианта rs1712 гена *FBXO5*. По результатам анализа распределения частот аллелей и генотипов у русских женщин были выявлены ассоциации аллеля G локуса rs1042673 (*SOX9*) и генотипа AG локуса rs11540149 (*VDR*) со снижением МПКТ в поясничном отделе позвоночника. У русских женщин выявлена ассоциация аллеля Т полиморфного варианта rs11614913 (*miR-196-a-2*) со снижением минеральной плотности костной ткани в шейке бедра. У татарских женщин аллель \*С локуса rs2910164 (*miR-146-a*) ассоциирован с переломами шейки бедра. При этом уровень статистической значимости после коррекцию на множественность сравнений сохранила только ассоциации локусов rs10098470 и rs6854081 у русских женщин и rs10098470 у татарских женщин (таблица 51).

Таблица 51 – Анализ ассоциаций аллелей и генотипов исследуемых локусов у женщин с ОП различного этнического происхождения

Этнос	Фенотип	Локус, ген	Аллель/ Генотип	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
Русские	Переломы в целом	rs10098470 <i>TPD52</i>	T	$\chi^2=5,934$ , p=0,015, OR=5,492, (1,180-25,55)	$P_{FDR}=0,045$
		rs11540149 VDR	A	$\chi^2=4,769$ , p=0,029, OR=1,631, (1,048-2,537)	$P_{FDR}=0,087$
	Переломы бедра	rs6854081 <i>FGF2</i>	G	$\chi^2=9,820$ , p=0,002, OR=2,793, (1,433-5,444)	$P_{FDR}=0,024$
Татары	Низкий уровень МПКТ	rs10098470 <i>TPD52</i>	T	$\chi^2=9,425$ , p=0,002, OR=6,396, (1,649-24,81)	$P_{FDR}=0,030$
		rs10793442 <i>ZNF239</i>	A	$\chi^2=4,710$ , p=0,030, OR=1,861, (1,054-3,285)	$P_{FDR}=0,420$
		rs1712 <i>FBXO5</i>	T	$\chi^2=4,703$ , p=0,030, OR=1,539, (1,306-1,948)	$P_{FDR}=0,12$
		rs1042673 <i>SOX9</i>	G	$\chi^2=3,924$ , p=0,048, OR=1,34, (1,365-1,997)	$P_{FDR}=0,192$
		rs11540149 VDR	AG	$\chi^2=5,575$ , p=0,018, OR=2,557, (1,153-5,67)	$P_{FDR}=0,072$
		rs11614913 <i>miR-196-a-2</i>	T	$\chi^2=4,549$ , p=0,033, OR=1,684, (1,041-2,726)	$P_{FDR}=0,132$
	Переломы шейки бедра	rs2910164 <i>miR-146-a</i>	C	$\chi^2=5,167$ , p=0,023, OR=2,761, (1,114-6,842)	$P_{FDR}=0,092$

Для ассоциированных локусов мы также провели мета-анализ для проверки собранных данных и выявления общих и этноспецифических тенденций (таблица 52).

Таблица 52 – Мета-анализ этнической гетерогенности исследованных локусов у женщин с ОП

№	SNP	Модель с фиксированным эффектом		Модель со случайным эффектом		Q	I
		P	OR	P(R)	OR(R)		
1	rs6854081	0,373	1,113	0,373	1,113	0,979	0
2	rs2910164	0,174	1,125	0,174	1,125	0,635	0
3	rs1712	0,932	1,010	0,932	1,010	0,696	0
4	rs10793442	0,032	1,269	0,033	1,269	0,813	0
5	rs11540149	0,005	1,459	0,005	1,459	0,626	0
6	rs11614913	0,170	1,121	0,170	1,121	0,936	0
7	rs1042673	0,376	1,084	0,376	1,082	0,787	0
8	rs10098470	0,269	1,424	0,446	1,515	0,088	58,72

По результатам мета-анализа, этническая гетерогенность была выявлена только для локуса rs198470. С учетом того, что данная ассоциация сохранила уровень статистической значимости после введения поправки на множественность сравнений (таблица 51), она может считаться маркером ОП у женщин русской этнической группы. Ряд этноспецифических ассоциаций был выявлен и у мужчин с остеопорозом. Так, аллель А локуса rs10793442 гена *ZNF239* и аллель А локуса rs11540149 гена *VDR* были ассоциированы с переломами шейки бедренной кости у пациентов русской этнической принадлежности. Генотип ТС локуса rs5854 гена матриксной металлопротеиназы 1 типа (*MMP-1*) и аллель С полиморфного варианта rs11614913 гена *miR-196-a-2* статистически значимо чаще встречался у русских пациентов со сниженной

минеральной плотностью костной ткани поясничного отдела позвоночника (таблица 53).

Таблица 53 – Анализ ассоциаций аллелей и генотипов исследуемых локусов у мужчин с ОП русской этнической принадлежности

Этнос	Фенотип	Локус, ген	Аллель/ Генотип	$\chi^2$ , p, OR, CI	p-FDR
Русские	Переломы шейки бедра	rs10793442 <i>ZNF239</i>	*A	$\chi^2=5,022$ , p=0,025 OR=2,995, (1,097-8,175)	$p_{FDR}=0,25$
		rs11540149 VDR	*A	$\chi^2=7,221$ , p=0,007 OR=3,907, (1,345-11,35)	$p_{FDR}=0,035$
	Низкий МПКТ	rs5854 MMP-1	*T*C	$\chi^2=6,038$ , p=0,01 OR=1,888, (1,134-3,140)	$p_{FDR}=0,04$
		rs11614913 <i>miR-196-a-2</i>	*C	$\chi^2=3,882$ , p=0,049 OR=1,42, (1,001-2,213)	$p_{FDR}=0,586$

Для ассоциированных локусов у мужчин также был проведен мета-анализ, результаты которого представлены в таблице 54.

Таблица 54 – Мета-анализ гетерогенности исследованных локусов у мужчин с ОП

№	SNP	Модель с фиксированным эффектом		Модель со случайным эффектом		Q	I
		P	OR	P(R)	OR(R)		
1	rs10793442	0,4087	1,129	0,4087	1,129	0,892	0
2	rs5854	0,9919	1,001	0,9919	1,001	0,544	0
3	rs11540149	0,006301	1,593	0,006301	1,593	0,989	0
4	rs11614913	0,001181	1,394	0,001181	1,394	0,869	0

По результатам мета-анализа, среди локусов, которые имели ассоциации при в отдельных этнических группах, не было выявлено этнической гетерогенности, что вероятнее всего объясняется преобладанием русских в исследуемой когорте.

Обсуждение. Общеизвестно, что ОА и ОП являются сложными, многофакторными заболеваниями, при этом значимость этнического компонента в молекулярном патогенезе исследована не до конца. Выявленные нами ассоциации являются первой попыткой исследования этнических молекулярных маркеров у пациентов с ОА и ОП в Республике Башкортостан. В предыдущих исследованиях данные локусы были ассоциированы с некоторыми патологиями, в том числе – соединительной ткани и опорно-двигательного аппарата. Так, rs1061237 гена *COL1A1* представлен в литературе достаточно скудно. Среди 276 пациентов из США с тяжелой близорукостью (-9,5 D) была выявлена ассоциация с этим локусом. выявлена, но она не осталась статистически значимой после поправки на множественность сравнений [38]. Была обнаружена сильная статистическая корреляция между аллелем С в локусе rs1061237 и кожным лейшманиозом у пациентов из Корте-де-Педрас, штат Баия, Бразилия [39]. В другом исследовании группа специалистов из Онкологического госпиталя Китайской академии медицинских наук исследовала этот локус, чтобы оценить заболеваемость кожным лейшманиозом. Hospital исследовала этот локус для оценки риска развития рака легких у 430 пациентов, но статистически значимых результатов получено не было [40]. Аллель Т в локусе rs1061237 потенциально может иметь множество взаимодействий с рядом миРНК: miR-1226-5p, miR1304-5p, miR-1914-3p, тогда как аллель С может потенциально взаимодействовать с miR-1275, miR-328-5p, miR-4260, miR-450a-2-3p, miR-4665-5p, miR-5572. Фактор роста фибробластов является одним из ключевых звеньев метаболизма костной ткани. Он экспрессируется в большинстве мезенхимальных и связанных с костью клеток, включая хондроциты, остеобласты, адипоциты и остеокласты. FGF2 экспрессируется в эмбрионах конечностей на стадии развития и контролирует рост и формирование узоров конечностей. В костных клетках, регулируя образование костной ткани, индуцируемое паратиреоидным гормоном (PTH) и костным морфогенетическим протеином 2 (BMP2) способствует дифференцировке стромальных клеток костного мозга в остеобласты [31-33]. Было обнаружено, что rs6854081 и rs1048201 в 3'-UTR гена *FGF2* связаны с

костной минеральной плотностью (МПКТ). Минорный аллель G локуса rs6854081 был связан с низким уровнем МПКТ в когорте белых женщин (n = 2725). Подавление *FGF2* снижает остеокластогенез, что, в свою очередь, приведет к увеличению МПКТ [34]. В другом исследовании минорный аллель T гена rs1048201 был значительно связан с ИМТ позвоночника у людей народности Хань (n = 2339), он может действовать путем влияния на связывание hsa-miR-196a-3p [35]. Изучение rs6854081, rs1048201 и rs7683093 гена *FGF2* в еще одной китайской этнической когорте – Жуань, показало, значимую связь этих локусов с плотностью костной ткани шейки бедра [36]. Однако исследование только азиатов не смогло воспроизвести связь между целевыми локусами и BMD, предполагая, что эффекты rs6854081, rs1048201, rs7683093 на костную регуляцию может быть этнически специфичным [37]. В связи с этим, результаты нашего исследования по ассоциациям rs6554081 в конкретных этнических группах особенно важны. По полиморфному варианту rs229069 гена *ADAMTS5* также имеется ограниченное количество литературы. Аллель G нарушает взаимодействие miR-3144-3p и miR-875-5p с целевой мРНК, в то время как аллель C создает новый сайт связывания для миРНК let-7d-3p и let-7e-3p, что предполагает изменение в регуляции экспрессии гена *ADAMTS5*.

Волго-Уральский регион России характеризуется значительным этническим разнообразием. Коренное население региона относится к различным языковым группам, наиболее широко представлены славянская группа (русские) и тюркская ветвь алтайской языковой семьи (татары), далее по частоте встречаемости следуют финно-угорские народы. Предыдущие исследования, в том числе проведенные в Институте биохимии и генетики УФИЦ РАН, показали наличие межпопуляционных различий по данным маркеров митохондриальной ДНК, Y-хромосомы и аутосомной ДНК. Наши выводы относительно ассоциации этого локуса с развитием ОА являются существенным вкладом в понимание молекулярного патогенеза этого заболевания.

Заключение. Таким образом, при поиске этноспецифических маркеров остеоартрита и остеопороза у пациентов из Республики Башкортостан было

выявлено, что локус rs1061237 (*COL1A1*) является маркером риска развития ОА у женщин русской этнической группы, rs6854081 (*FGF2*) – у женщин татарской этнической группы, rs73611720 (*GDF5*) и rs229069 (*ADAMTS5*) – у метисов и представителей других этнических групп. Локус rs198470 (*TPD52*) является маркером риска развития остеопороза у женщин русской этнической принадлежности.

### **3.5.2 Поиск этноспецифических маркеров у пациентов с несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло**

Этноспецифические маркеры наследственных заболеваний чаще всего представляют собой уникальные нарушения структуры ДНК, выявляемые только у одной этнической группы или жителей замкнутого ареала (изолята). Критерием уникальности мутации для конкретной популяции является отсутствие ее упоминания у пациентов, относящихся к другим этническим группам. По результатам нашего исследования, в генах коллагена 1 и 2 типов не было обнаружено мутаций, которые отвечали бы критериям этноспецифических маркеров. Однако в гене *P3H1*, участвующем в посттрансляционной модификации коллагена, мы обнаружили мутацию с.1051G>T (р. Glu351X) у 2 неродственных пациентов мужского пола башкирской национальности. Эта мутация была обнаружена впервые. Обращает на себя внимание, что пациенты роживают в регионе Башкирское Зауралье, в Учалинском районе республики. Данная местность является географическим и культурным изолятом, где основную часть населения составляют башкиры. Таким образом, данная мутация отвечает критериям этноспецифического маркера и потенциально может быть уникальной именно для башкирской этнической группы, с образованием эффекта основателя в Учалинском районе Республики Башкортостан.

Обсуждение. Литературных данных по этноспецифическим мутациям в целом и при заболеваниях соединительной ткани немного. По мнению исследователей из Швейцарии, нет популяционных исследований генетической эпидемиологии мутаций коллагена I в большинстве любых популяций НО, поскольку доступные всесторонние исследования распространенности

предшествуют молекулярным анализам или являются зарегистрированными исследованиями [297].

Близкий по типу и характеру наследования к НО буллезный дистрофический эпидермолиз (ДЭБ) вызывается мутациями в гене, кодирующем коллаген типа VII (*COL7A1*). Хотя большинство мутаций *COL7A1* уникальны для отдельных семей, небольшое количество мутаций повторяется. Рецидивирующие мутации R578X, 7786delG и R2814X, по-видимому, присущи только определенной этнической группе, британскому населению. С другой стороны, мутации 425A → G и G2043R были обнаружены в нескольких различных этнических группах [213]. Исследователи из Китая определили распространенность генов *GJB2* и *SLC26A4* и мутаций 1555A>G и проанализировали этническую специфичность несиндромальной нейросенсорной тугоухости уникальных этнических групп в провинции Ганьсу. Мутация гена *GJB2* была результатом взаимодействия этнического происхождения и демонстрировала типичный эффект основателя. Мутация гена *SLC26A4* была связана с европеоидным происхождением, а выбор целевых экзонов, т.е. этническое происхождение, и пенетрантность этнической специфичности вызвали низкую частоту мутаций 1555A>G. В качестве примера исследования этноспецифических мутаций в России можно привести данные Бадуковой и соавторов, которые исследовали наследственную тирозинемию. В Российской Федерации наиболее распространенной мутацией, ассоциированной с наследственной тирозинемией (32,5% всех мутантных аллелей), является с.1025C>T (p.Pro342Leu), что характерно для чеченского этноса. У больных якутской, бурятской и ненецкой национальности выявлена гомозиготная мутация с.1090G>C (p.Glu364Gln). Высокая частота этих этнически специфических мутаций, скорее всего, связана с эффектом основателя. У пациентов из Центральной России преобладали мутации сайта сплайсинга с.554-1G>T и с.1062+5G>A, что сходно с данными, полученными в странах Восточной и Центральной Европы [613]. В популяциях России также были отмечены накопления мутаций, в частности – в Якутской популяции. Некоторые



заболевания и мутации встречались с частотой, значительно превышающей общемировые, в частности, вызывающие спиноцеребеллярную атаксию I типа, митотоническую дистрофию, наследственную энзимопеническую метгемоглобинемию. Данные представлены в таблице 55.

Таблица 55 – Наследственные заболевания и мутации, характерные для популяции якутов

Название	Тип наследования	Ген	Мутация у якутов	Частота на 100 тысяч человек	
				У якутов	В мире
Спиноцеребеллярная атаксия I типа	АД	<i>ATXN1</i>	Экспансия CAG-повторов	36,8	1,0-2,0
Миотоническая дистрофия	АД	<i>DMPK</i>	Экспансия CTG-повторов	21,3	4,0-5,0
Наследственная энзимопеническая метгемоглобинемию	АР	<i>DIA1</i>	Pro269Leu	14,9	1,0

Для пациентов чувашской этнической принадлежности характерна высокая частота встречаемости остеопетроза. Единственная мутация с.807+5G>A в гене *TCIRG1* является причиной развития всех случаев аутосомно-рецессивного остеопетроза среди чувашей. Популяционная частота данной мутации среди чувашей составляет 1,68%, а расчетная частота заболевания – 1 : 3500 новорожденных [292].

Заключение. По результатам наших исследований не было выявлено этноспецифических маркеров в генах коллагенов, как и каких-либо «горячих точек». Патогенный вариант с.1051G>T (р. Glu351X) в гене *P3H1* потенциально может быть этноспецифическим маркером НО у пациентов башкирской этнической группы.

### 3.6 Разработка методов диагностики и прогнозирования риска развития заболеваний соединительной ткани

#### 3.6.1 Разработка прогностических моделей развития остеоартрита

Для оценки взаимного влияния клинических и молекулярно-генетических предикторов на риск развития ОА и создания инструментов диагностики мы провели многомерную обработку полученных результатов методами множественного регрессионного и ROC-анализа.

Первым этапом было построение прогностической модели развития остеоартрита в целом. По результатам регрессионного анализа была получена модель, характеризующаяся меньшей чувствительностью (68,6%), но высокими показателями специфичности (91,1%). Предсказательная ценность модели была на хорошем уровне ( $AUC=0,874$ ), наиболее значимыми клиническими предикторами являлись наличие дисплазии соединительной ткани в целом и возраст пациентов генетическими – полиморфные варианты *rs13317 (FGFR1)*, *VNTR (ACAN)*, *rs1061237 (COL1A1)*. Поскольку рассмотренные нами клинические предикторы являются проявлениями дисплазии соединительной ткани, для оценки вклада генетических предикторов мы рассмотрели модели, где все клинические признаки объединили как наличие или отсутствие дисплазии соединительной ткани. Для каждой локализации остеоартрита были получены прогностические модели (таблица 56).

Таблица 56 – Генетические предикторы различных вариантов ОА

ОА коленного сустава	ОА тазобедренного сустава	Генерализованный ОА
<i>rs13317 (FGFR1)</i> <i>rs11540149 (VDR)</i> <i>rs229069 (ADAMTS5)</i> <i>rs7217932 (SOX9)</i>	<i>rs1061237 (COL1A1)</i> <i>rs1107946 (COL1A1)</i> <i>rs11540149 (VDR)</i> <i>rs835787 (CHST11)</i>	<i>rs11540149 (VDR)</i> генотип 27/27 ( <i>VNTR</i> , <i>ACAN</i> )

Наличие дисплазии соединительной ткани было включено в итоговые уравнения моделей для ОА коленного сустава ( $AUC=0,880$ ;  $p=0,020$ ; 95% ДИ

0,838-0,915) и генерализованного ОА. При анализе генетических предикторов можно отметить наличие локуса rs11540149 гена *VDR* во всех моделях ОА, что может говорить о наличии универсальных механизмов регуляции метаболизма хряща в зависимости от уровней витамина Д. При этом в модель генерализованного ОА (AUC=0,806;  $p=0,036$ ; 95% ДИ 0,747-0,855) были включены только два предиктора, в отличие от моделей для опорных суставов (ОА тазобедренного сустава AUC=0,866;  $p=0,033$ ; 95% ДИ 0,813-0,909). Это может быть объяснено тем, что большинство генетических маркеров, вошедших в предсказательные модели для ОА крупных суставов, относятся к генам структурных белков или регуляторов метаболизма соединительной ткани. В патогенезе же генерализованного ОА в последние годы все больше рассматривают значение воспаления, которое может регулироваться генами *VDR* и *ACAN*.

Обсуждение. Исследователями были предприняты многочисленные попытки разработки прогностических моделей ОА на основании различных предикторов. Одним из наиболее масштабных исследования является анализ на основе включения 35 835 участников (17 153 мужчины и 18 682 женщины) без признаков ОА в начале исследования. Средний возраст в выборке составил  $51,0 \pm 9,7$  лет, ИМТ  $26,6 \pm 4,0$ , средний период наблюдения  $20,6 \pm 4,5$  лет. По завершению наблюдения ОА кисти наблюдался у 1,2% мужчин и 3,9% женщин. Предикторы были выбраны на основе модели для оценки риска развития ОА кистей [501] и включали физически тяжелую работу, физическую активность в свободное время, образование, статус курения, употребление алкоголя, диабет, тревогу и депрессию, состояние здоровья и проблемы со сном. Для женщин также были включены возраст наступления менопаузы и заместительная гормональная терапия в качестве потенциальных предикторов. Дискриминационная способность полученных прогностических моделей для ОА кисти в итоге оказалась скромной, но сопоставимой с той, что была получена ранее для ОА тазобедренного и коленного суставов [91; 208; 498]. На сегодняшний день хороший показатель AUC ( $>0,75$ ) в моделях прогнозирования ОА был достигнут

только в исследованиях, которые включали структурные изменения, визуализируемые на рентгенограмме, как в качестве предиктора, так и в качестве результата. Керкхоф и др. сообщили о умеренной предсказательной ценности (AUC=0,66) в модели, разработанной для ОА коленного сустава в выборке из 2 628 человек из Роттердамского исследования [498]. Добавление генетической оценки риска не улучшило предсказательную ценность, однако включение базовой оценки по шкале Kellgren & Lawrence (KL) увеличило AUC до 0,79 [498]. Прогнозирование ОА тазобедренного сустава также было выполнено в когорте I Роттердамского исследования (AUC 0,67) с внешней валидацией во II Роттердамском исследовании (AUC 0,60) и когортном исследовании тазобедренного сустава и коленного сустава CHECK (AUC 0,54) [208]. В попытке выявить предикторы, которые могли бы предсказать будущий ОА кистей рук так же хорошо, как курение – рак легких [574], были включены генетические предикторы. Однако использование изолированных генетических предикторов показало плохой уровень предсказательности, как в моделях для мужчин, так и для женщин (AUC=0,53), и не добавил предсказательной ценности полученным моделям. К настоящему времени выявлено всего несколько генетических предикторов ОА кисти [303; 549]. Были использованы строгие критерии при отборе SNP для генетической оценки риска, как в отношении порога р-значения, так и в том, что не включали SNP с высоким уровнем неравновесия по сцеплению. Таким образом, оценка генетического риска включала только три генетических варианта: один из гена *ALDH1A2*, ген Matrix Gla Protein (*MGP*), и один редкий вариант на *1p31*. Невысокий уровень предсказательной ценности у полученных моделей может быть связан с небольшим количеством генетических маркеров, а также с тем, что они объясняют лишь небольшую часть заболевания [654]. В другом исследовании добавление в модель репродуктивных и гормональных факторов также лишь незначительно повлияло на эффективность итоговой модели развития ОА [457]. По сравнению с приведенными результатами, полученные нами модели используют не типичные патогенетические факторы развития ОА в качестве предикторов, а

фенотипические проявления ДСТ и ее наличие в целом, а так же высокозначимые генетические маркеры, которые были получены при исследовании популяции пациентов из Республики Башкортостан, а также валидации результатов полногеномного поиска ассоциаций, в связи с чем демонстрируют большую чувствительности, специфичность и предсказательную ценность, чем полученные зарубежными авторами [206].

Заключение. Разработаны прогностические модели для оценки риска развития ОА в целом, а также его отдельных локализаций, на основании клинических маркеров, в первую очередь – фенотипических проявлений ДСТ, и генетических маркеров с высокой предсказательной ценностью. В модель прогнозирования ОА в целом вошли такие маркеры, как наличие нДСТ, возраст, ИМТ, наличие гиперкифоза/гиперлордоза, долихостенмелия, варикозная болезнь вен нижних конечностей и этническая принадлежность, а также полиморфные варианты *rs13317* гена *FGRF*, *VNTR* гена *ACAN*, *rs1061237* гена *COL1A1*, *rs226794* гена *ADAMTS5*. Благодаря высоким показателям чувствительности, специфичности и прогностической ценности они могут использоваться для оценки риска развития ОА в повседневной клинической практике в рамках реализации концепции персонализированной профилактической медицины.

### **3.6.2 Разработка прогностических моделей развития остеопороза**

Многомерный статистический анализ взаимодействия предикторов был применен также для создания прогностических моделей для различных клинических фенотипов остеопороза. В нашем исследовании предикторами, вошедшими в уравнение регрессии, стали индекс массы тела (ИМТ), длительность менопаузы и возраст ее наступления (для женщин), минеральная плотность костной ткани в области шейки бедренной кости и поясничного отдела позвоночника, а также локусы генов, вовлеченных в регуляцию метаболизма соединительной ткани.

В исследование были включены 701 женщина в периоде постменопаузы (средний возраст =  $61,95 \pm 7,94$ ) с первичным остеопорозом и сопоставимые по возрасту женщины контрольной группы без переломов и с нормальным уровнем

МПКТ. Также были сформированы группы, включающие 294 женщины с переломами и 407 без переломов. Уровень МПКТ был измерен у 496 женщин, включая шейку бедра у 270 женщин и поясничный отдел позвоночника у 281 женщины. Клинические характеристики групп представлены в таблице 57.

Таблица 57 – Характеристики исследуемых подгрупп

Группа	Женщины		
	N	Возраст, лет,	ИМТ, кг/м <sup>2</sup>
С переломами	294	62,16 ± 7,95	27,00 ± 3,60
Без переломов	407	60,14 ± 8,01	27,80 ± 3,81
Со сниженной МПКТ	324	62,17 ± 7,95	27,04 ± 3,60
С нормальной МПКТ	172	60,23 ± 7,97	28,10 ± 4,90
Со сниженной МПКТ и переломами	177	60,15 ± 7,43	27,00 ± 2,40
С нормальной МПКТ и без переломов	260	61,76 ± 7,96	28,90 ± 3,70

На первом этапе были использованы только клинические предикторы и алгоритм с пошаговым включением, исключением предикторов, а также с одномоментным анализом для получения наилучшего результата и предсказательной модели. Для женщин модель предсказания переломов включала низкий уровень МПКТ шейки бедра, у мужчин – уровень МПКТ поясничного отдела позвоночника, при этом после оценки диагностической ценности сформированных моделей методом ROC-анализа, для каждого из вариантов она была невысокой (рисунок 16).

При включении в перечень предикторов полиморфных вариантов исследованных генов, ни одна из сформированных моделей не достигла уровней статистической значимости, что может свидетельствовать о гетерогенности этого фенотипа остеопороза. При этом были получены предсказательные модели для переломов различных локализаций у мужчин и женщин.

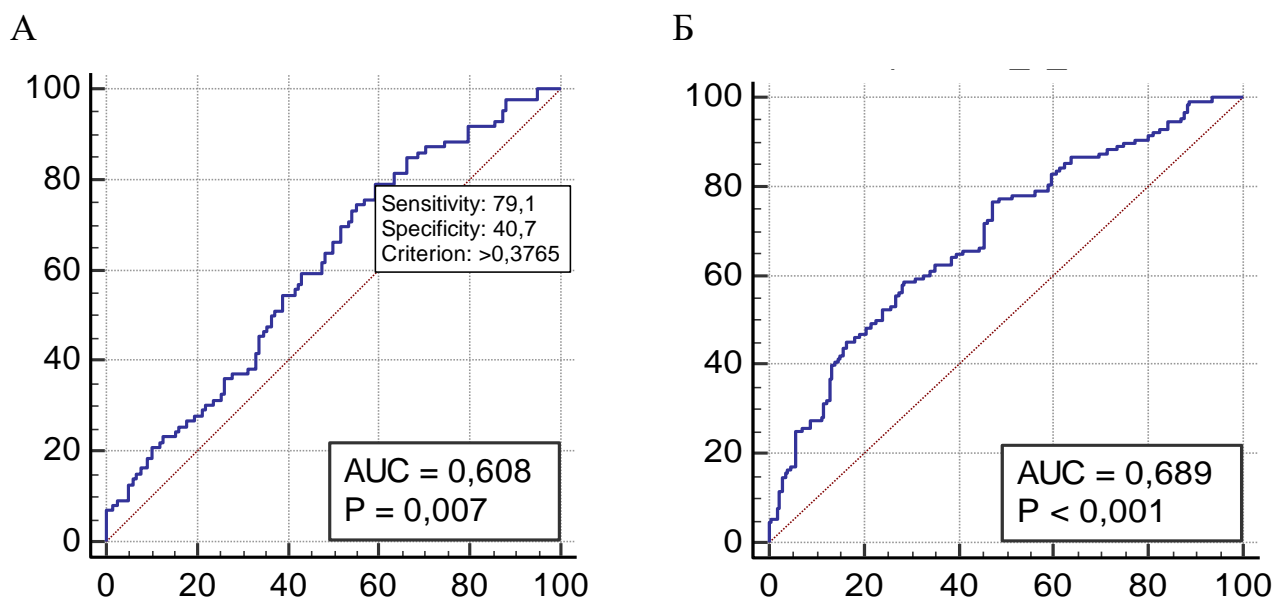


Рисунок 16 – ROC-кривая оценки предсказательной ценности моделей переломов на основании клинических предикторов у женщин (А) и мужчин (Б)

В модель прогнозирования риска переломов шейки бедренной кости у женщин включены варианты rs1054204 (*SPARC*) и rs2073617 (*OPG*) и длительность менопаузы. Для мужчин сформирована предсказательная модель риска переломов шейки бедренной кости, в которую включены такие предикторы, как полиморфные локусы *OPG*, *SOX9*, *ZNF239* и уровень МПКТ шейки бедра (рисунок 17).

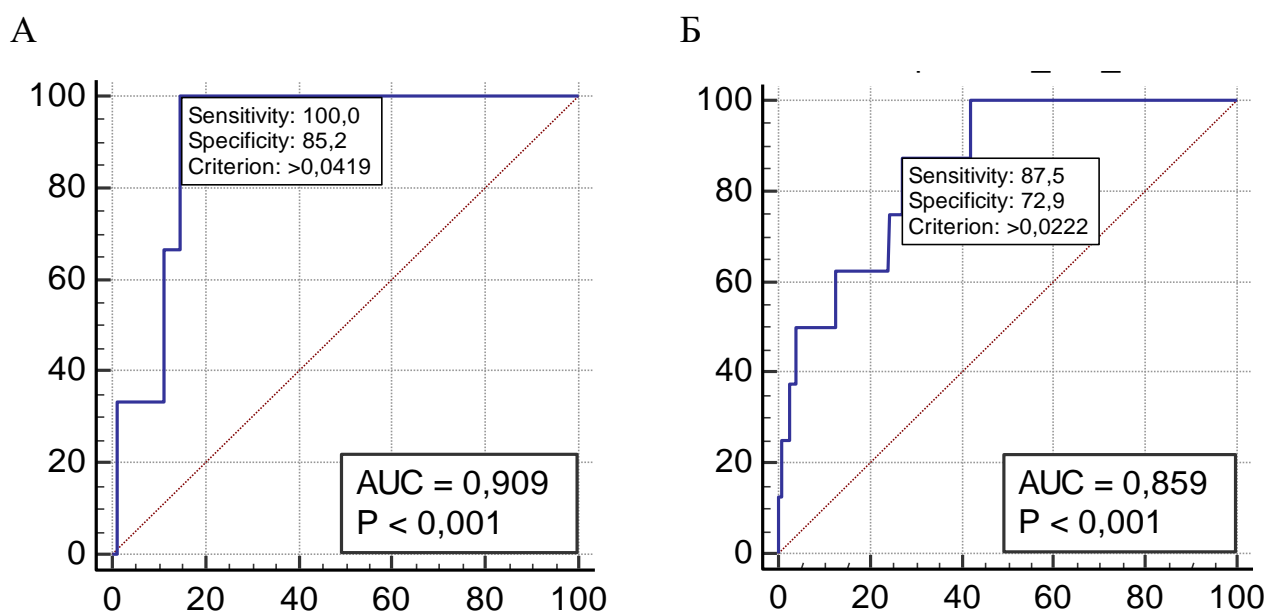


Рисунок 17 – ROC-кривая оценки предсказательной ценности моделей переломов шейки бедра у женщин (А) и мужчин (Б)

Полученные результаты, несмотря на статистическую значимость, имеют ряд потенциальных ограничений для практического применения. В частности, модели ограничены локусами, по которым было проведено генотипирование исследуемых выборок, без соотнесения с результатами полногеномных анализов ассоциаций (GWAS). Одним из методов, применяемых для оценки вклада большого числа локусов в риск заболевания, является метод полигенной оценки риска (polygenic risk score, PRS). В этом методе эффекты ассоциированных аллелей риска вариантов объединяются в модель, отражающую часть индивидуальной восприимчивости к заболеванию в изучаемой популяции. Более конкретно, PRS основывается на сумме эффектов независимых вариантов риска, ассоциированных с заболеванием, с использованием текущих данных крупнейших и наиболее информативных исследований геномных ассоциаций. Эти эффекты суммируются для каждого индивидуума по количеству аллелей риска и взвешиваются по величине эффекта (отношение шансов, OR) для бинарных признаков или коэффициенту  $\beta$  (бета) для количественных признаков. В результате получается единая оценка генетического бремени каждого индивидуума для заболевания или непрерывного признака. Актуальным представляется использование PRS для разработки прогностических моделей переломов и низкого МПКТ отдельно и в сочетании, а также поиск наиболее чувствительных и специфичных моделей риска первичного остеопороза.

Нами была проведена оценка полигенного риска переломов и низкого МПКТ на основе анализа изученных нами локусов, а так же 140 полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК, полиморфных вариантов генов-кандидатов, ассоциированных с первичным остеопорозом, результатов GWAS исследований, проведенных ранее для женщин с постменопаузальным первичным остеопорозом.

Диапазон частот минорных аллелей этих локусов составлял от 1% до 49%, что соответствовало необходимым требованиям контроля качества для PRS. Мы рассчитали PRS для каждого человека и оценили связь между PRS и остеопоротическим переломом. Полигенный индекс риска линейно возрастает с



увеличением частоты переломов. ROC-анализ продемонстрировал высокую предсказательную ценность (0,748; 95% CI=0,75 (0,71-0,78), чувствительность = 0,79 и специфичность = 0,57 модели; рисунок 18).

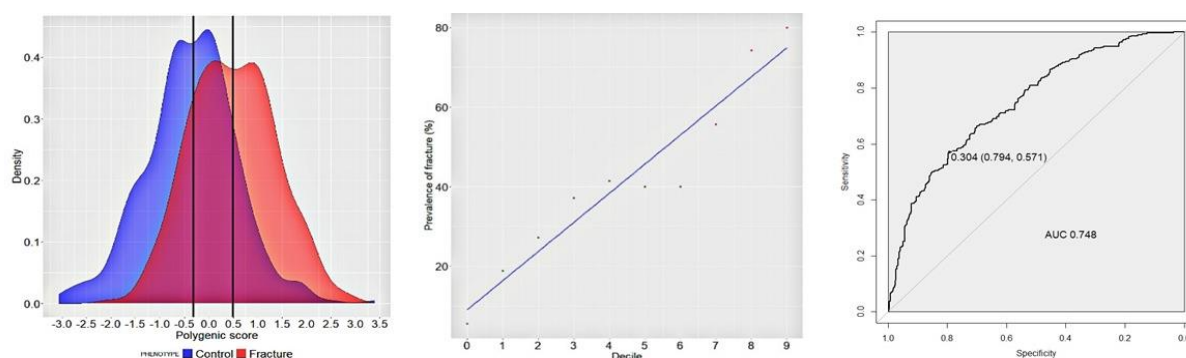


Рисунок 18 – График плотности распределения баллов PRS в опытной и контрольной группах (А), децильные графики по PRS в пределах каждого дециля для опытной и контрольной групп (Б), ROC-кривая, оценивающая прогностическую ценность модели переломов у женщин без учета уровня МПКТ.

Анализ ассоциации был статистически значимым и показал, что вероятность перелома в экспериментальной группе была в 2,9 раза выше по сравнению с контрольной группой (95% CI=2,35-3,53; p-value=2,37×10<sup>-16</sup>).

Установлено, что низкий уровень минеральной плотности костной ткани может быть отдельным эндотипом остеопороза, независимым от остеопоротических переломов. Поэтому представляет интерес изучение вклада полигенного риска этого фенотипа в развитие остеопороза. Анализ показал, что генетически детерминированная вероятность низкого уровня минеральной плотности костной ткани была в 3,94 раза выше в группе с низкой минеральной плотностью костной ткани по сравнению с контролем (95% ДИ=2,99-5,34), данная модель имела достаточно высокие уровни предсказательной ценности (AUC=0,791; p-value=2,54×10<sup>-16</sup>, чувствительности (0,605) и специфичности (0,836)) модели. Была проведена оценка различий в распределении полигенных баллов между группой больных и контрольной группой с помощью программы R (рис. 21). Основные значения у женщин с низким индексом массы тела (среднее значение=0,35) превышала таковую у женщин с нормальным индексом массы

тела (среднее значение=-0,65). Кроме того, мы построили график децилей полигенных баллов в зависимости от частоты переломов (рисунок 19).

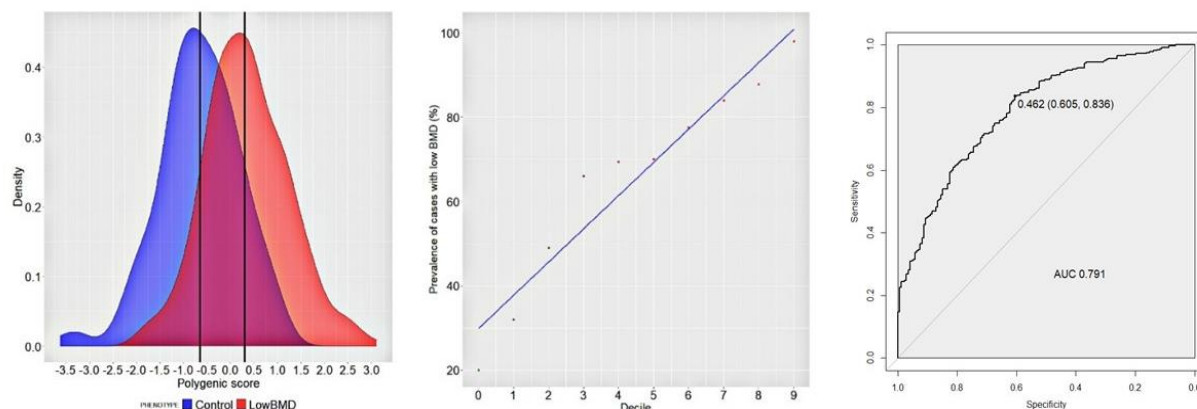


Рисунок 19 – График плотности распределения баллов PRS в опытной и контрольной группах (А), децильные графики по PRS в пределах каждого дециля для опытной и контрольной групп (Б), ROC-кривая, оценивающая прогностическую ценность модели снижения МПКТ у женщин.

Ассоциативный анализ разработанной модели для сочетания низкого уровня минеральной плотности костной ткани и переломов подтвердил 6,6-кратное (95%CI: 4,411-10,608) повышение вероятности перелома по сравнению с контрольной группой ( $p=2e,76-16$ ). (рисунок 20).

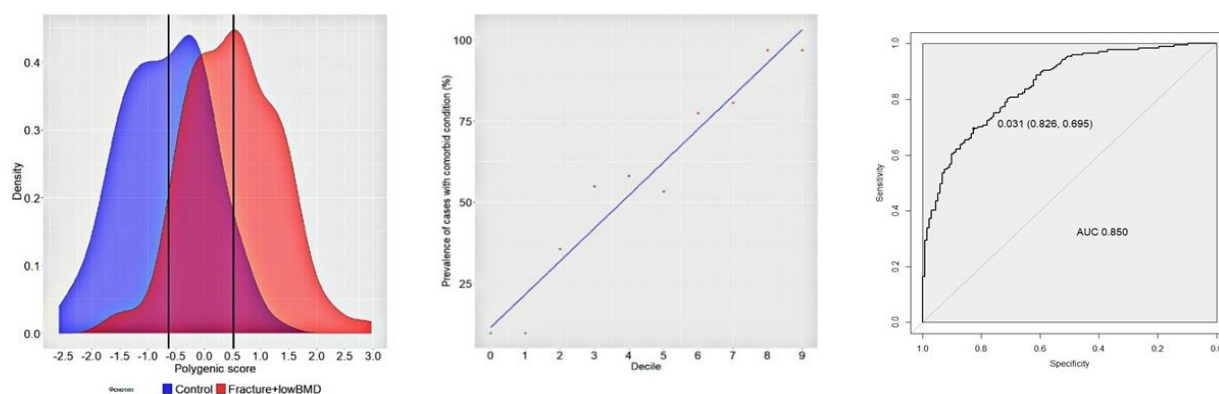


Рисунок 20 – График плотности распределения баллов PRS в опытной и контрольной группах (А), децильные графики по PRS в пределах каждого дециля для опытной и контрольной групп (Б), ROC-кривая, оценивающая прогностическую ценность модели переломов у женщин со сниженной МПКТ.

Модель имеет самый высокий прогностический потенциал в общей выборке женщин. Для сравнительного анализа отношения шансов и доверительных интервалов полученных моделей и оценки их статистической мощности был построен график forrest-plot (рисунок 21)

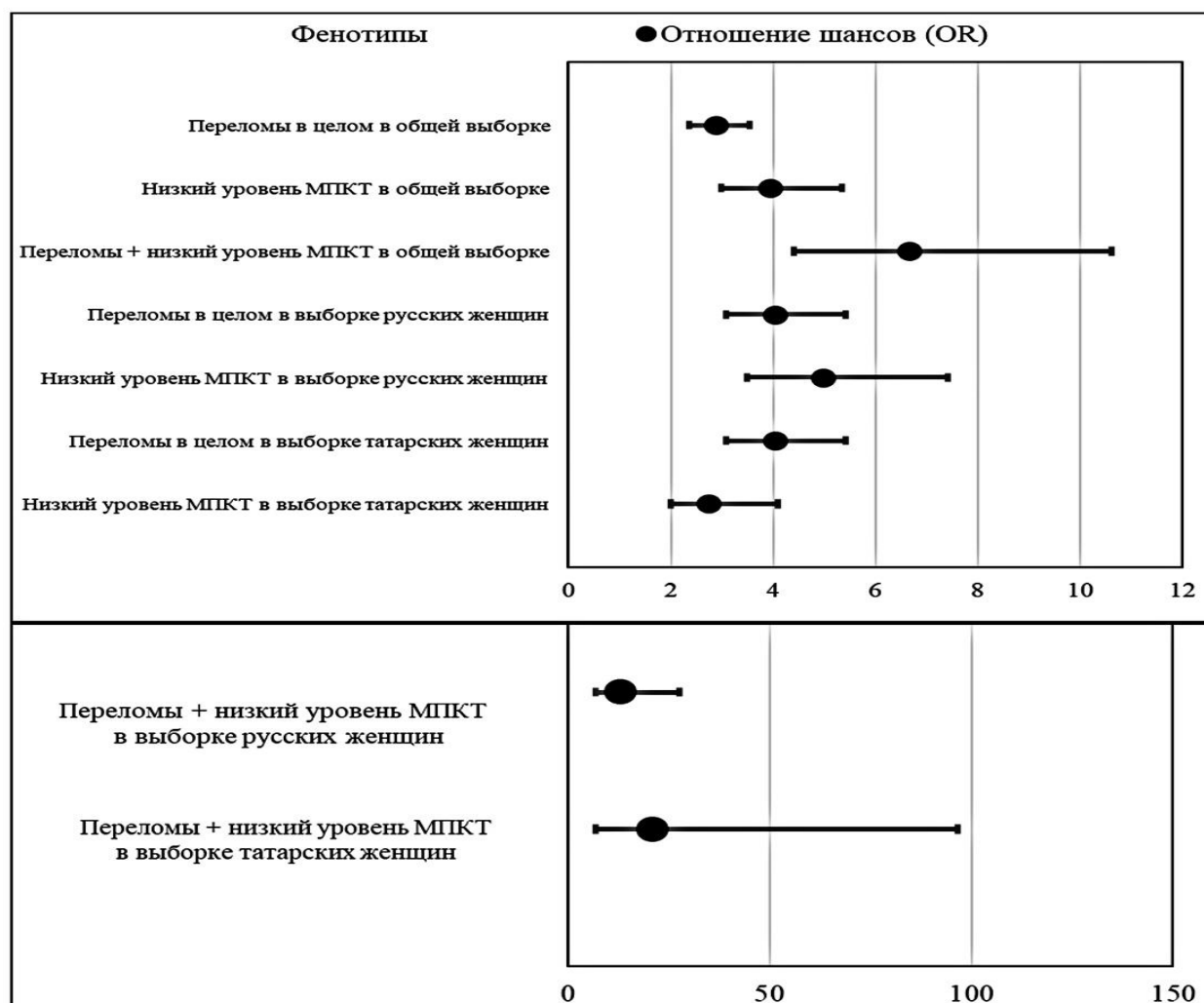


Рисунок 21 – Сравнительный анализ статистических характеристик (отношение шансов, доверительный интервал) разработанных прогностических моделей для различных вариантов остеопороза

Показателем максимальной предсказательной ценности модели является высокий уровень отношения шансов при небольшом диапазоне доверительного интервала. Мы видим для ряда моделей высокие значения OR, в некоторых случаях превышающие 10, но при этом и большой размах доверительных интервалов, что снижает точность. Как было отмечено, наибольшей предсказательной ценностью характеризовались модели, сочетающие переломы и

низкий уровень МПКТ, однако такая модель для женщин русской этнической принадлежности, при несколько меньшем показателе отношения шансов, отличалась большей точностью, модель для женщин татарской этнической принадлежности, что требует ее дальнейшей валидации с расширением выборок и учетом этноспецифичности частот аллелей и генотипов полиморфных локусов, включенных в данные предсказательные модели.

Обсуждение. Основываясь на результатах, полученных в данной работе, а также на данных репликации GWAS в рамках консорциума GEFOS, мы впервые попытались разработать модели PRS, предсказывающие низкий уровень МПКТ и риск остеопоротических переломов отдельно и в коморбидном состоянии у женщин из Республики Башкортостан. В целом, результаты нашего исследования таковы: в каждой полученной модели верхний процентиль учитывал людей с высоким риском остеотравматических переломов и низким уровнем МПКТ. Самые высокие показатели чувствительности и специфичности продемонстрировали модели риска переломов и низкого уровня МПКТ в сочетанном состоянии ( $AUC > 0,800$ ). Эти результаты являются новыми и интересными, учитывая, что модели, полученные в предыдущих исследованиях, имели меньшую прогностическую ценность. Например, при использовании алгоритма Лассо для построения генетической шкалы риска в работе Li et al. (2019) было установлено, что площадь AUC уменьшилась с 0,653 до 0,587 и 0,588 в моделях, включавших клинические факторы, способствующие снижению МПКТ шейки бедра [[490]]. Авторы подчеркнули ограниченную эффективность текущих генетических исследований, ориентированных на людей европейского происхождения, при попытке улучшить прогноз многофакторных заболеваний и призвали к проведению все более масштабных исследований, ориентированных на другие этнические группы [490]. Используя данные Британского биобанка, Tianyuan Lu и др. (2021) разработали полигенную шкалу риска, включающую 21 717 генетических вариантов, объясняющих 25% общей дисперсии риска переломов [359]. Это значительно превысило предыдущую оценку 22 886 SNPs, которая объясняла 17,2% общей дисперсии и достигла значения AUC 0,570 при

изучении пациентов с любым типом перелома [380]. Для сравнения, клинические кофакторы риска FRAX, возраст, пол и их комбинация объяснили только 4% дисперсии полигенного риска. Было показано, что PRS не зависит от других общепринятых клинических факторов риска и значительно связан с риском переломов [568]. Однако признано, что полигенные маркеры риска, актуальные для популяций европейского происхождения, не вполне эффективны для прогностических моделей переломов и формирования низкой минеральной плотности костной ткани в китайских популяциях.

Согласно нашим данным, малотравматичные переломы встречаются на верхнем процентиле, что согласуется с результатами, полученными Tian-Yuan Lu et al. (2021), которые пояснили, что лица с распространенными переломами относились к группе ниже третьего перцентиля (2,5%) (95%≈1,5-3,6%). В то же время, частота тяжелых остеопоротических переломов и переломов бедра составила всего 0,7% (95% ДИ 0,2-1,4%) и 0,3% (95% ДИ 0-0,7%), соответственно, среди лиц с PRS выше 99-го перцентиля. Таким образом, оценка полигенного риска эффективно прогнозирует кумулятивный риск переломов, при этом малотравматичные переломы характеризуются повышенным полигенным риском [359]. Kim (2018) проанализировал когорту из Британского биобанка, в которой была проведена полигенная оценка риска формирования низкого МПКТ на основе LASSO-анализа. Была выявлена тенденция к резкому снижению риска развития остеопороза с увеличением баллов LASSO. Например, у лиц с низким баллом LASSO 4 (2,2% лиц) риск развития остеопороза был в 19 раз выше, чем в средней группе (95%CI (6,18-6,20)). У тех, кто имел самый высокий риск развития остеопороза, этот показатель составлял 0,221 (95%CI (0,218-0,224)) относительно медианы [380].

Эффективность прогнозирования остеопороза с помощью полигенной оценки возросла. Вероятно, это связано с отсутствием ошибки измерения, присущей обычному расчету риска с помощью FRAX. Кроме того, PRS не зависит от других клинических факторов риска FRAX, и, наконец, генотипы измеряются с очень высокой точностью. В настоящее время не определено, какие методы

биоинформатического анализа лучше всего подходят для прогнозирования остеопороза.

**Заключение.** Мы разработали клинико-генетические модели риска развития переломов у мужчин и женщин. В модель прогнозирования риска переломов шейки бедренной кости у женщин вошли полиморфные локусы генов *SPARC*, *OPG* и продолжительность менопаузы, у мужчин – полиморфные локусы *OPG*, *SOX9*, *ZNF239* и уровень МПКТ шейки бедра. Помимо этого, мы впервые осуществили полигенную оценку риска первичного остеопороза, которая последовательно ассоциируется с риском переломов и низким ИМТ у женщин постменопаузального возраста из Волго-Уральского региона России. Хотя эта оценка дает более точную оценку риска переломов, чем многие оценки, основанные только на клинических факторах риска, она все еще нуждается в более широкой выборке и анализе в других когортах. Тем не менее, PGS следует изучать как инструмент для более точной стратификации риска с целью выявления лиц с высоким риском переломов, особенно учитывая, что полигенные оценки риска могут быть получены с помощью эффективных методов ранней диагностики.

### **3.6.3 Разработка алгоритма клинической диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло**

При диагностике наследственных вариантов заболеваний соединительной ткани врачи зачастую испытывают ряд сложностей. Во-первых, это часто меняющиеся классификации, которые берут за основу как клинические проявления, так и генетические дефекты. Во-вторых, в отсутствие возможности осуществления молекулярной диагностики высок шанс постановки неверного диагноза у пациентов с нетипичным или стертым вариантом патологии. В-третьих, наследственные формы патологии соединительной ткани в целом характеризуются достаточно большей фенотипической вариабельностью. Зачастую врачи первого контакта испытывают затруднение в обобщении симптомов наследственной патологии, что может привести как к

гипердиагностике, так и к пропущенным, дедиагностированным случаям заболевания.

В связи с этим, на основании нашего клинического опыта и современных генетических классификаций были разработаны клинические алгоритмы диагностики НО и СЭД для врачей первичного контакта. Наиболее типичными проявлениями НО, помимо низкотравматических переломов, являются патология эмали (несовершенный дентиногенез) и голубая окраска склер. Помимо этого у взрослых пациентов следует обращать внимание на нарушение слуха и наличие ГМС. Отдельно стоит выделить V тип НО, который характеризуется наличием гипертрофической мозоли, которая зачастую представляет трудности в диагностике и может быть расценена как опухолевой заболеваний кости (Остеома или остеосаркома), привести к излишней инвазивной диагностике – биопсии, в то время как правильно собранный анамнез в сочетании с данным диагностическим алгоритмом поможет этого избежать. Алгоритм диагностики НО представлен на рисунке 22.

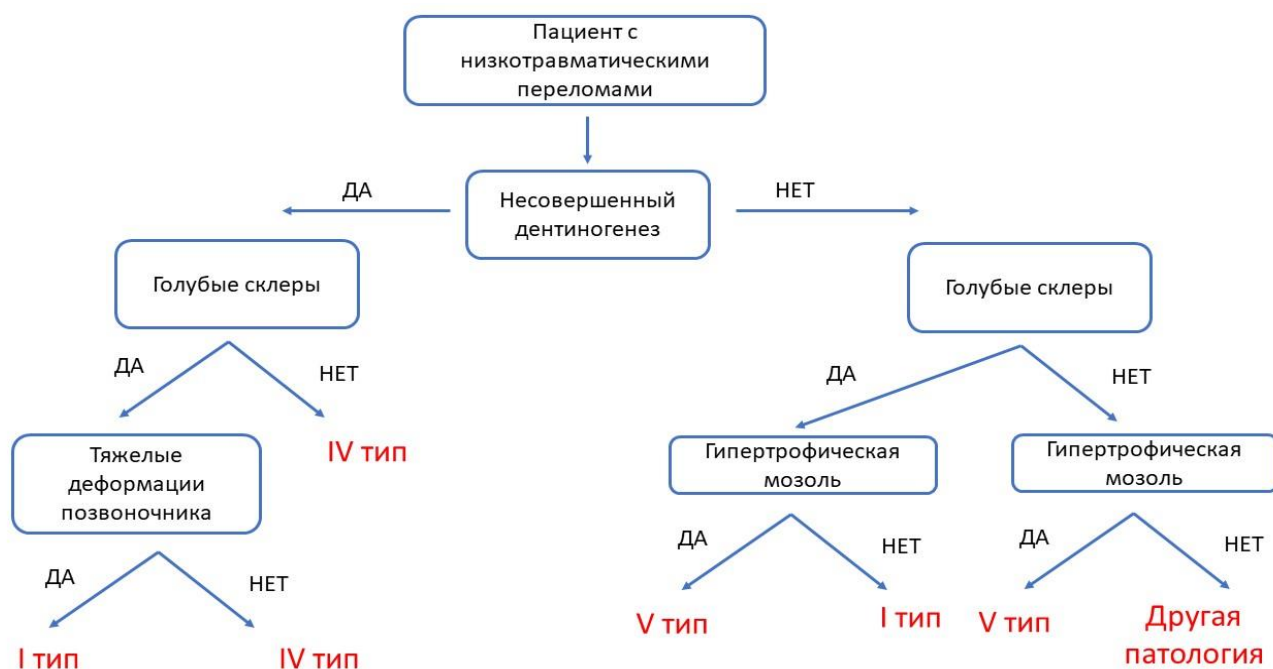


Рисунок 22 – Алгоритм клинической диагностики различных типов несовершенного остеогенеза (собственная разработка)

Наиболее типичными клиническими проявлениями синдрома Элерса-Данло является гипермобильность суставов и кожная гиперэластичность, несколько типов имеют эти основные признаки. Чаще встречается классический (первый) тип синдрома Элерса-Данло, характеризующийся сочетанием двух классических признаков. Также следует обращать внимание на наличие моллюсковидных псевдоопухолей, эпиканта, грыж различной локализации, легкое образование синяков, которые являются малыми диагностическими критериями данного типа. Второй тип – «подобный классическому» характеризуется теми же большими признаками с отсутствием атрофических стрий на коже. Малыми диагностическими признаками, которые могут оказать помощь в постановке диагноза, являются гипотрофия и слабость проксимальных мышечных групп конечностей, аксональная полинейропатия, брахидактилия, пролапсы тазового дна. 3 тип – сердечно-сосудистый – сочетает в себе признаки классического типа и тяжелых поражений клапанов сердца с развитием недостаточности. Малыми признаками будут деформация грудной клетки, подвывихи суставов и паховые грыжи. При наличии сочетанного вывиха тазобедренных суставов наиболее вероятным является 6 тип синдрома, называемый артрохалазийным. Чрезвычайная ранимость кожи в сочетании с краниофасциальными фенотипами типичная для 7 типа синдрома Элерса-Данло, называемого дерматоспараксисным. Сочетание гипермобильности суставов и гиперэластичности кожи с выраженным врожденным кифосколиозом типично для VIII типа синдрома, называемого кифосколиотическим. Следует отметить, что частота встречаемости последних трех в популяции крайне невысокая. Существуют подтипы синдрома Элерса-Данло, при которых отсутствует сочетание типичных признаков в виде ГМС и ГЭК. К таким относится IV тип (сосудистый), IX тип (синдром хрупкой роговицы), X-XII типы, объединенные более существенным вовлечением костно-мышечной системы (спондилодиспластический, мышечно-контрактурный и миопатический, соответственно) и XIII тип, характеризующийся ранним развитием пародонтоз

а.



Клинический алгоритм диагностики синдромом Элерса-Данло и представлен на рисунке 23.

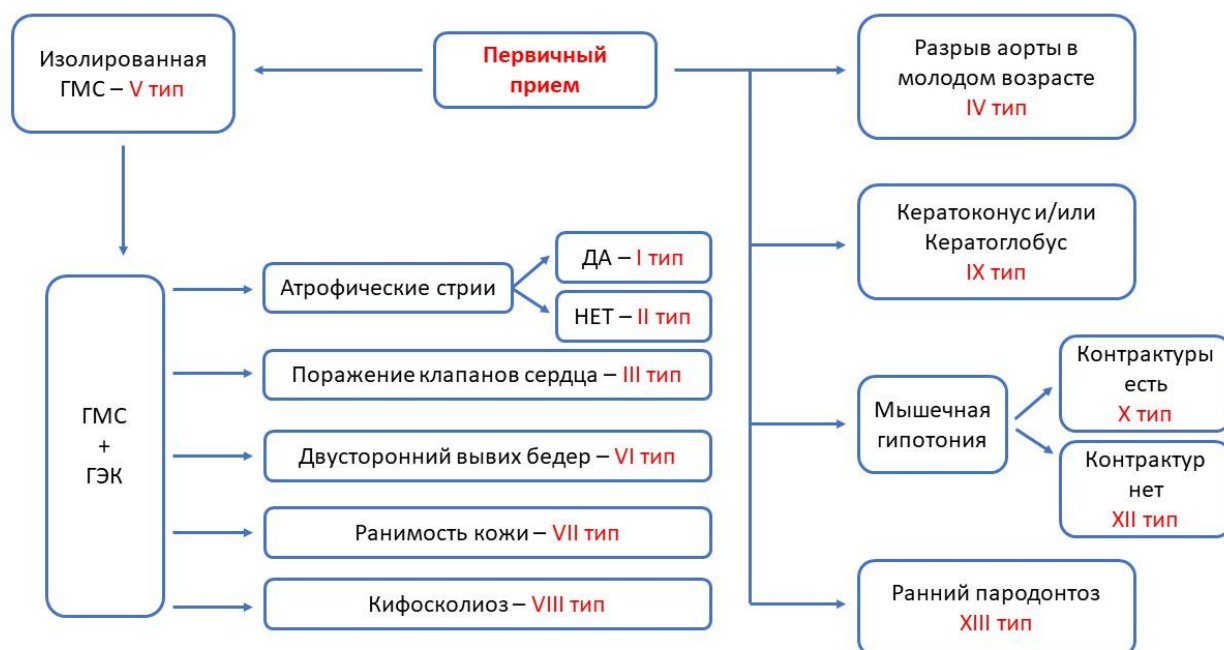


Рисунок 23 – Алгоритм клинической диагностики различных типов синдрома Элерса-Данло (собственная разработка)

Обсуждение. Редкие заболевания всегда имеют широкий спектр сложных и разнообразных фенотипов. Врачам первичного контакта не всегда хватает знаний о редких заболеваниях или клинического опыта. Поэтому многие редкие заболевания не могут быть точно и своевременно диагностированы, и пациенты не получают точный диагноз и последующее эффективное лечение. Более того, из-за гетерогенности редких заболеваний усложняется выбор более таргетного генетического тестирования, расширяя диагностический поиск и, таким образом, стоимость и длительность исследования [95]. В связи с этим является чрезвычайно актуальным создание алгоритмов клинической диагностики для применения в практическом здравоохранении.

Первым этапом в создании системы клинической диагностики наследственных заболеваний стало появление диагностических критериев. Были разработаны Гентские критерии для синдрома Марфана, Вильфраншские критерии синдрома Эдерса-Данло и ряд других. Тем не менее, клиническая

диагностика зачастую представляет сложность вследствие высокой клинической гетерогенности заболевания, большого количества критериев и малой осведомленности врачей первичного контакта о них. Помимо этого, данные классификационные критерии зачастую являлись перечислением фенотипических особенностей, с той или иной частотой встречающихся при наследственных синдромах [518], без попытки оптимизировать диагностический поиск [4]. Вместе с тем, алгоритм – это совокупность точно заданных правил решения некоторого класса задач или набор инструкций, описывающих порядок действий исполнителя для решения определённой задачи. Соответственно, диагностический алгоритм должен содержать не только описание клинических проявлений заболеваний, но и максимально оптимизированные пошаговые инструкции по обследованию пациентов. Есть алгоритмы диагностики многофакторных заболеваний, таких как риносинусит [38], старческая астения [60], однако для НО и СЭД они не разработаны. Помимо удобства применения в практическом здравоохранении, разработанные нами алгоритмы могут быть использованы для создания технологий машинного обучения. Компьютерные инструменты поддержки принятия решений были введены с 1960-х годов, после чего было введено множество алгоритмов, таких как байесовские классификаторы, нейронные сети, системы, основанные на правилах [520]. Как пример базы данных для реализации таких алгоритмов можно привести систему аннотаций редких заболеваний «Энциклопедия аннотаций и болезней для точной медицины», которая является ценным ресурсом для проведения исследований в области редких заболеваний [251].

**Заключение.** Разработанные нами алгоритмы клинической диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло являются простым и доступным инструментом для использования в практическом здравоохранении врачами первого контакта, и также представляют основу для создания более широких алгоритмов диагностики наследственных заболеваний, в том числе с применением методов машинного обучения. Внедрение их может оптимизировать

информацию о фенотипе пациентов и лучше определить целевое заболевание, а также принять решение об объеме генетического исследования.

### **3.6.4 Разработка алгоритма ДНК-диагностики несовершенного остеогенеза и СЭД**

По результатам наших исследований, молекулярные дефекты в генах коллагена первого (*COL1A1* и *COL1A2*) и пятого (*COL5A1* и *COL5A2*) типов являются наиболее распространенными причинами развития несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан. Поэтому создание таргетных панелей праймеров для этих генов позволяет более эффективно обнаруживать и анализировать генетические варианты, связанные с этими заболеваниями. Таргетные панели праймеров являются авторскими и содержат клинически-значимые варианты, а также редкие и ранее неизвестные варианты. Они также имеют ссылки на внешние источники аннотации, что обеспечивает дополнительную информацию о генетических вариантах. Кроме того, таргетные панели праймеров обеспечивает автоматический контроль качества образца, включая определение пола и контаминацию, что помогает гарантировать точность и надежность результатов секвенирования. Их гибкий поиск позволяет исследователям легко находить и анализировать интересующие их генетические варианты.

Панель праймеров Prep&Seq™ U-panel OI300-1 (гены *COL1A1* и *COL1A2*) предназначена для амплификации целевых регионов генома, включающих CDS и сайты сплайсинга генов *COL1A1* и *COL1A2*, для последующего высокопроизводительного секвенирования на совместимых платформах и включает все кодирующие регионы и сайты сплайсинга генов *COL1A1* и *COL1A2* (таблица 58). Характеристики данной панели определены по результатам *in vitro* валидации. Для *in vitro* валидации использованы референсные образцы ДНК Национального Института стандартизации США1 HG002, HG003 (образцы полногеномной ДНК мужского пола с диким типом) и HG004 (образец женского пола). Библиотеки для *in vitro* валидации приготовлены с помощью набора

реагентов Prep&Seq™ U-target (ООО «ПАРСЕК ЛАБ») с последующим секвенированием на платформе MiSeq Illumina.

Таблица 58 – Панель праймеров Prep&Seq™ U-panel OI300

Панель	Prep&Seq™ U-panel OI300-1
Целевые регионы	CDS и сайты сплайсинга генов <i>COL1A1</i> и <i>COL1A2</i>
Число генов	2
ПО для дизайна панели	TOR v1.3-dev
Число пулов	2
Число ампликонов (пул 1 + пул 2)	129 (64 + 65)
Диапазон длин ампликонов	125–324 п.н.
Диапазон длин ампликонов VID	242–324 п.н.
Геном	Homo sapiens (hg38)
Совместимые платформы	Illumina, Ion Torrent, MGI

*Примечание: здесь и далее п.н. – пар нуклеотидов*

Установленные аналитические характеристики панели праймеров соответствуют критериям качества (рисунок 24).

Образец	Доля целевых прочтений	Однородность покрытия
HG002-1	89,59%	97,67%
HG002-2	90,56%	97,67%
HG003	86,51%	98,45%
HG004	87,86%	95,35%

Рисунок 24 – Критерии качества панели OI300-1

Показатели точности генотипирования рассчитаны для секвенирования образцов с использованием реагентов линейки Prep&Seq™ на приборах платформы Illumina MiSeq и анализа данных с помощью программного обеспечения VariFind™ Software (рисунок 25).

Показатель	Значение
<b>Аналитическая чувствительность</b>	100% (95%CI: 92,29–100%)
<b>Аналитическая специфичность</b>	100% (95%CI: 92,29–100%)
<b>Общая точность</b>	100% (95%CI: 99,99–100%)

Рисунок 25 – Показатели точности панели OI300-1

Панель праймеров Prep&Seq™ U-panel OI300-2 (гены *COL5A1* и *COL5A2*) предназначена для амплификации целевых регионов генома, включающих CDS и сайты сплайсинга генов *COL5A1* и *COL5A2*, для последующего секвенирования на совместимых платформах и включает все кодирующие регионы и сайты сплайсинга генов *COL5A1* и *COL5A2* (таблица 59).

Таблица 59 – Панель праймеров Prep&amp;Seq™ U-panel OI300

Панель	Prep&Seq™ U-panel OI300-2
Целевые регионы	CDS и сайты сплайсинга генов <i>COL251</i> и <i>COL5A2</i>
Число генов	2
ПО для дизайна панели	TOR v1.3-dev
Число пулов	2
Число ампликонов (пул 1 + пул 2)	163 (81 + 82)
Диапазон длин ампликонов	181–324 п.н.
Диапазон длин ампликонов VID	242–324 п.н.
Геном	Homo sapiens (hg38)
Совместимые платформы	Illumina, Ion Torrent, MGI

Характеристики данной панели определены по результатам *in vitro* валидации, аналогично предыдущей. Данные представлены на рисунке 26.

Образец	Доля целевых прочтений	Однородность покрытия
HG002-1	88,83%	98,77%
HG002-2	88,89%	98,77%
HG003	88,61%	98,77%
HG004	87,05%	96,32%

Рисунок 26 – Критерии качества панели OI300-2

Показатели точности генотипирования представлены на рисунке 27.

Показатель	Значение
Аналитическая чувствительность	100% (95%CI: 93,98-100%)
Аналитическая специфичность	100% (95%CI: 93,98-100%)
Общая точность	100% (95%CI: 99,99-100%)

Рисунок 27 – Показатели точности панели OI300-2

Данное ПО исполнено в виде web-приложения. Доступ к ПО осуществляется путем авторизации на сайте <https://varifind.parseq.pro>. Учетные данные пользователя указываются в сопроводительных документах к договору на поставку панели праймеров.

ПО обладает следующими функциональными возможностями:

- импорт “сырых” прочтений и метаданных секвенирования;
- удаление последовательностей адаптеров и низкокачественных оснований по краям прочтений;
- удаление из прочтений последовательностей праймеров для таргетного обогащения;
- выравнивание прочтений на референсный геном GRCh37 (hg19);
- автоматическая оценка метрик качества;
- идентификация пола образца;
- идентификация контаминации;
- идентификация и аннотация генетических вариантов;
- экспорт результатов.

Аннотация включает номенклатуру HGVS, ссылки на общие и популяционные базы данных.

Результаты анализа, доступные для экспорта, включают следующие файлы:

- выравнивания на референсный геном в формате BAM и индекс в формате BAI,
- идентифицированные варианты в формате VCF,
- результаты анализа покрытия в форматах TSV и JSON,
- отчет в формате PDF.

Анализ и хранение данных осуществляются в “облачной” вычислительной инфраструктуре. Обновление ПО для актуализации компонентов выполняется автоматически в виде установки, после чего пользователи получают уведомление об изменениях

ДНК для амплификации с панелью праймеров Prep&Seq™ U-panel OI300-1 должна быть выделена с использованием наборов, гарантирующих отсутствие ингибирующих и интерферирующих веществ в образце. Использование частично деградированных образцов ДНК может привести к ухудшению характеристик решения. Аналитом для амплификации является геномная ДНК, выделенная из цельной крови и буккального эпителия. Минимальное количество ДНК для анализа – 1 нг на пул. При отсутствии ограничений в материале рекомендуется использовать 10 нг ДНК в реакцию (на пул). Для подготовки библиотек подходит как свежевыделенная ДНК, так и замороженная или частично деградированная ДНК. Взятие, предобработку и хранение биоматериала проводят в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и согласно пользовательской инструкции набора для экстракции ДНК. Выделение ДНК должно проводиться с использованием специализированных коммерческих наборов, позволяющих получать ДНК без примесей

Для оценки степени чистоты выделенного образца ДНК предлагается использовать значение соотношения поглощения света образцом ДНК на длинах волн 260 нм и 280 нм ( $A_{260}/A_{280}$ ). Рекомендуемое значение соотношения – 1.8. Для проведения реакции мультиплексной таргетной амплификации рекомендуется брать 1–10 нг ДНК (от количества входной ДНК зависит количество циклов ПЦР таргетного обогащения – см. Раздел 2.3). Минимально допустимая концентрация – 0,33 нг/мкл. Измерение концентрации ДНК рекомендуется проводить на флуориметре Qubit® с использованием набора Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Q32851 или Q32854, Thermo Fisher Scientific).

После приведения ДНК к нужной концентрации, проводится реакция таргетного обогащения методом мультиплексной ПЦР с использованием панелей урацил-содержащих праймеров Prep&Seq™ U-panel. Далее необходимо проиндексировать, то есть отметить уникальным кодом, образцы ДНК, чтобы в конце пути иметь возможность идентифицировать хозяина каждого отдельного результата анализа. Индексирование осуществляется при помощи индексированных праймеров Prep&Seq™ Oligos IL CD, которые предоставляют 384 уникальных сочетаний индексов. В каждый набор входят праймеры для двойного индексирования (один праймер – буква; другой – цифра, одинаковые сочетания не используются). Очистка библиотек осуществляется модулем очистки Prep&Seq™ Beads MultiClean. Модуль очистки содержит магнитные частицы и реагент, позволяющий экономить расход магнитных частиц при повторной очистке образца. Проверка качества библиотек осуществлялась 2 способами:

1) электрофоретический – полученные очищенные библиотеки наносились на полиакриламидный гель и ставились в электрофоретическую камеру. Готовые образцы просматривались в гельдокументирующей системе – QUANTUM-CX5 (Vilber, Франция).

2) измерение на флуориметре Qubit (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием набора «Qubit DNA HS Assay Kit» (Thermo Fisher Scientific, США) – концентрация библиотек должна быть равна от 1000 до 10000 нг/мкл, в зависимости от качества исходного материала ДНК.

После проверки качества образцы нужно привести к единой концентрации, например, 1000 нг, и далее образцы считаются готовыми к секвенированию. Секвенирование нового поколения осуществляется на приборе MiSeq (Illumina, Inc., США). Длина прочтения – 300 циклов в режиме одно-концевых прочтений и не менее 193500 прочтений на один образец. Доля ампликонов покрытая с искомой глубиной – 97%.

Данный набор показал свою высокую чувствительность и специфичность при анализе контрольных образцов с идентифицированными мутациями и будет



использоваться для ДНК диагностики незавершенного остеогенеза. В целом, использование таргетной панели праймеров для генов коллагена первого типа является важным инструментом для исследований несовершенного остеогенеза и других нарушений костной ткани, а также для клинической практики в диагностике и лечении пациентов с подобными заболеваниями. Также преимуществом наборов является возможность использовать их в одну постановку, что актуально для диагностики редких заболеваний.

Обсуждение. Клинические лаборатории по всему миру внедряют секвенирование следующего поколения (NGS) для выявления наследственных заболеваний и, в итоге, улучшения результатов лечения пациентов. Возможность массивного секвенирования всего генома или экзона имеет решающее значение для выявления молекулярной причины заболеваний. Однако глубина информации, полученной этими методами, требует больших усилий для обработки в клинических условиях, что делает их в настоящее время сложными для широкого применения. Вместо этого целевое (таргетное) секвенирование, как правило, при котором осуществляется выбор клинически значимых генов, представляет собой более оптимальный подход, который лучше всего сочетает точную идентификацию геномных вариантов с высокой чувствительностью и хорошим соотношением затрат и эффективности [203]. Информация, полученная в результате таргетного секвенирования, может помочь в диагностической классификации, направить терапевтические решения и дать прогностическую информацию. Использование целевых генных панелей ускоряет обработку образцов, включая анализ данных, интерпретацию результатов и создание медицинских отчетов, что напрямую влияет на ведение пациентов. Ключевые факторы, влияющие на выбор методов секвенирования и размера панели в рутинном тестировании, должны включать диагностическую ценность и клиническую полезность, доступность образца и время обработки. Именно в связи с этим мы разработали и протестировали собственную NGS-панель для диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло. Она рассчитана для определения нуклеотидной последовательности четырех генов –

*COL1A1*, *COL1A2*, *COL5A1*, *COL5A2*. Ограничение именно этим набором генов связан с рядом причин. База данных вариантов несовершенного остеогенеза содержит генетические варианты 19 генов (<http://www.le.ac.uk/ge/collagen>). Гены, кодирующие цепи альфа-1 и -2 коллагена типа I, ответственны за более чем 90% всех случаев [128]. Кроме того, гены коллагенов содержат многочисленные кодирующие экзоны, что наряду с большим количеством целевых геномных областей и отсутствие горячих точек мутаций приводят к тому, что молекулярный анализ требует очень много времени и средств, когда диагноз устанавливается с помощью классического секвенирования по Сэнгеру [453]. Не существует универсальных NGS-панелей для диагностики наследственных заболеваний соединительной ткани, каждая является уникальным продуктом со своими преимуществами и недостатками. Анализируя данные литературы, мы можем найти несколько примеров использования и создания панелей. Так, Anna Junkiert-Czarnecka использовала панель из 35 генов для обследования пациентов с СЭД. Среди 59 обследованных пациентов патологические изменения были выявлены только в генах *COL5A1*, *COL5A2*, *COL1A1* и *COL1A2* [454]. Исследователи из Японии разработали панель для секвенирования 15 генов-кандидатов НО и 19 генов-кандидатов, которые связаны с хрупкостью костей или передачей сигналов Wnt. Они обследовали 53 японских пациента с НО из неродственных семей и выявили патогенные мутации выявлены у 43 из 53 человек. Все мутации были гетерозиготными. Среди 43 человек было идентифицировано 40 вариантов, включая 15 новых мутаций в генах *COL1A1* (n = 30, 69,8%), *COL1A2* (n = 12, 27,9%) и *IFITM5* (n = 1, 2,3%) [178]. Таким образом, мы видим, что даже при использовании расширенных панелей, основные патогенные варианты при НО и СЭД выявляются в генах коллагена 1, 5 типов. На сегодняшний день, поскольку не существует универсального решения для малых и средних или больших панелей NGS, гибкость остается ключевым моментом.

**Заключение.** Созданные нами панели продемонстрировали высокую диагностическую способность наряду с умеренными материальными и временными затратами, что делает их оптимальными для молекулярной

диагностики пациентов с НО и СЭД не только из Республики Башкортостан, но и пациентов из других регионов.

### **3.7 Разработка фармакологических подходов к лечению заболеваний соединительной ткани**

#### **3.7.1 Разработка персонализированных подходов к лечению многофакторных заболеваний соединительной ткани**

Наряду с разработкой новых групп лекарственных препаратов, одним из перспективных подходов является определение индивидуальных параметров к назначению терапии конкретными группами препаратов. Особенно это актуально для терапии остеопороза, поскольку метаболизм костной ткани медленный и отсутствие или наличие эффекта от лечения возможно оценить только по прошествии длительного времени, что имеет как экономический, так и клинический негативный эффект. Для оценки индивидуальной чувствительности к бисфосфонатам провели оценку изменения уровня минеральной плотности костной ткани и сывороточных концентраций витамина Д в группе женщин с постменопаузальным остеопорозом из г. Уфы, которые принимали терапию с 2019 по 2021 годы. Объем выборки составил 295 человек, средний возраст –  $68,45 \pm 11,87$  лет, ИМТ –  $27,16 \pm 3,6$ . Каждая пациентка проходила ежегодное обследование, включавшее в себя осмотр ортопеда-травматолога, измерение минеральной плотности костной ткани, определение уровня витамина Д в сыворотке крови. Исходный уровень витамина Д составлял  $14,88 \pm 13,52$  нг/мл, динамика составила  $16,52 \pm 11$  нг/мл. Исходный уровень МПКТ шейки бедренной кости по Т-критерию был  $0,603 \pm 1,52$ , динамика составила  $0,03 \pm 0,018$ . Исходный уровень МПКТ поясничного отдела позвоночника был  $0,714 \pm 0,12$ , динамика составила  $0,029 \pm 0,014$ . Пациентки получали терапию согласно клиническим рекомендациям – алендроновая кислота 70 мг 1 раз в неделю + колекальциферол 2000 Ме и кальций 1000 мг ежедневно. Был осуществлен анализ частоты распределения аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs 2297480 (*FDPS*, синтаза фарнезил дифосфата), rs2282679 (*DBP*, витамин D-связывающий белок), rs1544410 (*VDR*, рецептор витамина D), rs1801197 (*CALCR*, рецептор

кальцитонина). Данные локусы участвуют в метаболизме витамина Д, и, по литературным данным, могут являться маркерами ответа на антирезорбтивную терапию, но валидация этих результатов для пациентов из России не проводилась. При оценке результатов терапии в целом отмечается статистически значимые изменения минеральной плотности костной ткани через год лечения препаратами из группы бисфосфонатов (указать значения до и после  $V=3403$ ,  $p=3,729e-15$ ). Однако при оценке влияния генетических полиморфизмов на данные изменения методом *did*-регрессии не было выявлено статистически значимого влияния на изменение минеральной плотности костной ткани бедренной кости или поясничных позвонков (таблицы 60 и 61).

Таблица 60 – Динамика уровней МПКТ шейки бедра

Параметры	Коэффициент	Стандартная ошибка	t	p
Модель в целом	-4,7303	11,4081	-0,415	0,682
ИМТ	0,2189	0,3615	0,606	0,55
<i>FDPS</i> , rs2297480	-2,5643	2,6321	-0,974	0,339
<i>VDR</i> , rs1544410	2,1681	2,1594	1,004	0,325
<i>CALCR</i> , rs18011972	-1,3188	3,3357	-0,395	0,696
<i>DBP</i> , rs22826792	2,2324	3,6928	0,605	0,551

Таблица 61 – Динамика уровней МПКТ поясничного отдела позвоночника

Параметры	Коэффициент	Стандартная ошибка	t	p
Модель	7,3351	6,5687	1,117	0,2748
ИМТ	0,1901	0,2111	-0,901	0,3764
<i>FDPS</i> , rs2297480	-0,6748	1,6273	-0,415	0,6819
<i>VDR</i> , rs1544410	-0,5497	1,2465	-0,441	0,6630
<i>CALCR</i> , rs18011972	-1,3175	1,9374	-0,680	0,5027
<i>DBP</i> , rs22826792	-3,6961	2,1226	-1,741	0,0939

Были проведены попарные сравнения динамики изменения минеральной плотности костной ткани различных отделов скелета (рисунок 28).

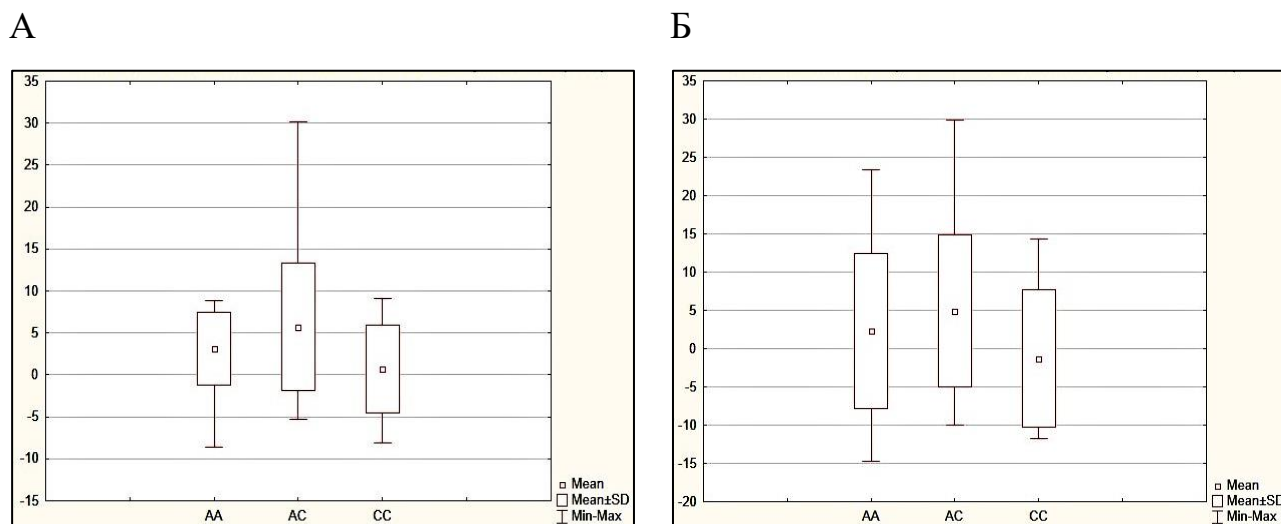


Рисунок 28 – Динамика уровня МПКТ поясничного отдела позвоночника (А) и шейки бедренной кости (Б) в зависимости от генотипов локуса rs2297480.

Не было выявлено не только статистически значимых различий, но и каких-либо тенденций по влиянию генотипов на прирост МПКТ. Графические изображения попарных сравнений изменений МПКТ поясничного отдела позвоночника и шейки бедренной кости в зависимости от генотипов локуса rs2297480 гена *FDPS*.

Полиморфный вариант rs2297480 гена *FDPS* был выявлен как маркер эффективности ответа на терапию бисфосфонатами в исследованиях ряда авторов, однако мы не смогли воспроизвести полученные результаты. Вероятно, это может быть связано с коротким временем наблюдения за пациентами, поскольку Marini et al. выявили прирост минеральной плотности костной ткани только через 2 года после начала исследования, при этом увеличение МПКТ было статистически значимо менее выражено у пациентов с генотипом CC, чем с генотипами AA и AC.

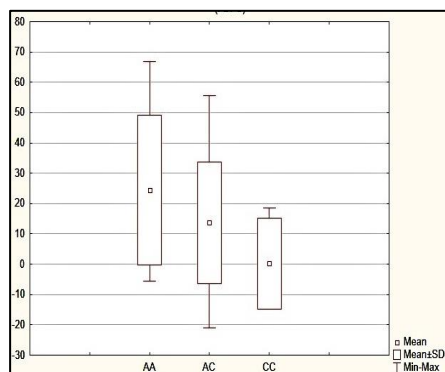
При оценке изменения сывороточных концентрация витамина Д отмечается статистически значимое увеличение уровней на фоне проводимой терапии. При анализе вклада отдельных предикторов так же не было выявлено статистических значимых эффектов со стороны включенных в исследование полиморфных вариантов (таблица 62).

Таблица 62 – Динамика уровня витамина Д

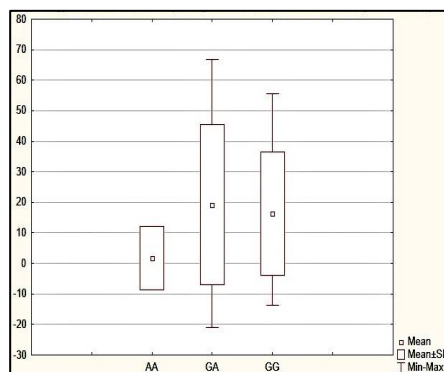
Параметры	Коэффициент	Стандартная ошибка	t	p
Модель	-877,90	392,22	-2,238	0,155
ИМТ	26,16	13,04	2,006	0,183
<i>FDPS</i> , rs2297480	43,21	69,41	0,623	0,597
<i>VDR</i> , rs1544410	143,62	93,01	1,544	0,263
<i>CALCR</i> , rs18011972	282,20	134,39	2,100	0,171
<i>DBP</i> , rs22826792	-128,77	46,70	-2,757	0,110

Не было выявлено статистически значимых различий в изменениях сывороточных концентраций витамина Д при проведении попарных сравнений методом Манна-Уитни в зависимости от генотипов исследованных полиморфных вариантов. Отмечена тенденция к увеличению темпов прироста концентрации витамина Д у пациентов с носительством аллеля \*А локуса rs2297480 гена *FDPS* ( $U=5$ ,  $p=0,052$ ), при этом динамика изменений относительно генотипов носит линейный характер, что может свидетельствовать о влиянии данного полиморфного варианта на лекарственный ответ при терапии витамином Д. Графики распределения динамики уровней витамина Д в зависимости от генотипов исследованных полиморфных вариантов представлены на рисунке 29.

А



Б



В

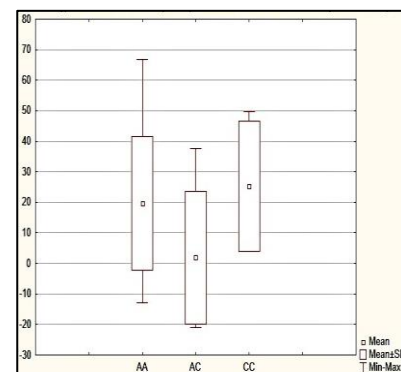


Рисунок 29 – Изменение сывороточных концентраций витамина Д у носителей различных вариантов локуса rs2297480 (А), rs1544410 (Б), rs2282679 (В).

При анализе других локусов не было выявлено тенденций к изменению уровней витамина Д при различных вариантах генетических маркеров.

Обсуждение. В литературе приводятся результаты исследований о влиянии генетических факторов на эффективность прием и введение БФ. По данным разных авторов, анализ динамики МПКТ на фоне введения или приема антирезорбтивных препаратов выявил, что от 5 до 28% исследуемых не отвечают на терапию ОП, что обнаруживается, впрочем, только через год лечения дорогостоящими препаратами. Как и в случае применения эстрогена и гормонозаместительной терапии, не все пациенты реагируют на терапию БФ [34].

В исследовании S. Palomba et al. (2003) показано, что среди 68 женщин постменопаузального возраста, проходящих лечение алендронатом (10 мг/сут) в течение года, носители аллеля *b* полиморфного варианта *VDR BsmI* (rs1544410) в 8 интроне имели значимо более высокий прирост МПКТ в поясничном отделе позвоночника в отличие от носителей *B* аллеля [515]. Ген кодирует рецептор витамина D – один из важнейших метаболических факторов костной ткани, повышающий всасывание кальция в тонком кишечнике и минерализацию костной ткани, и помимо этого, являющийся фактором регуляции экспрессии генов. Эта же группа ученых повторила эксперимент на расширенной выборке и получила аналогичные результаты [148]. Однако в другом исследовании группа ученых J. Marc et al. (1999) показали противоположный результат, продемонстрировав, что у носителей генотипа *BB* rs1544410 наблюдается более высокий прирост МПКТ в ответ на терапию другим БФ – этидронатом [636]. Сообщается также, что *BsmI* (rs1544410), *TaqI* (rs731236) и полиморфизм -511 *C/T* (rs16944) *IL1B* (интерлейкин 1, бета) были достоверно связаны с приобретенной устойчивостью к БФ у пациентов с болезнью Педжета [[641],[77]].

Более широкое исследование в 2010 году провела группа ученых Choi H.J. et al. на выборке 144 корейских женщин с остеопорозом, исследовав вместе с геном *FDPS* ген *GGPS1*, кодирующий геранилгеранил-дифосфат синтазу, которая катализирует синтез соответствующего названию белка (GGPP) из

фарнезилдифосфата и изопентенилдифосфата. GGPP является важной молекулой, ответственной за C20-пренилирование белков и регуляцию активности рецептора ядерного гормона. GGPP также ингибируется бисфосфонатными соединениями. Команда провела скрининг генетических вариаций в генах *FDPS* и *GGPS1*, включая промоторные области (2 кб) с использованием прямого секвенирования 24 контрольных образцов и, из 13 обнаруженных, отобрала 4 SNP для анализа связи с динамикой МПКТ при бисфосфонатной терапии. Оказалось, что женщины с вариантом двух делеций полиморфного варианта *GGPS1-8188A ins/del* (rs3840452) имели значительно более высокие исходные уровни МПКТ в шейке бедра по сравнению с безделеционным и одноделеционным вариантом ( $0.768 \pm 0.127$  против  $0.695 \pm 0.090$  соответственно;  $p = 0,041$ ). При этом ответ на антирезорбтивную терапию у женщин с двумя делециями был значительно ниже, чем у женщин с другими упомянутыми аллельными вариантами. Кроме того, было подсчитано, что первые имели 7-кратно более высокий риск отрицательного ответа на терапию. Среди прочих исследованных локусов аналогичных ассоциаций обнаружено не было. Авторы исследования утверждают, что по данным результатам трудно дать механистическое представление о функциональных связях *GGPS1-8188A ins/del* (rs3840452) с молекулярными механизмами изменения ответа на терапию БФ, тем не менее, они предположили, что данный полиморфизм, будучи расположенный в промоторном регионе гена, может быть связан с изменением экспрессии гена [298].

Songpatanasilp T. et al. (2011) провели исследование, в котором они искали связь аллельных вариантов данного полиморфного варианта с динамикой МПКТ у тайских женщин в постменопаузе, не принимавших каких-либо противоостеопоротических препаратов, и также не нашли каких-либо значимых ассоциаций с изменениями МПКТ [559].

**Заключение.** Таким образом, локус rs2297480 гена *FDPS* идентифицирован как потенциальный маркер ответа на терапию витамином Д у женщин с постменопаузальным остеопорозом.



### **3.7.2 Разработка персонализированных подходов к лечению моногенных заболеваний соединительной ткани**

На сегодняшний день актуальной проблемой является фармакотерапия наследственных заболеваний соединительной ткани, так как отсутствуют клинические рекомендации и большинство препаратов назначается в режиме «off label». Кроме того, лечение получают в основном пациенты детского возраста, поскольку считается, что у больных, в частности, несовершенным остеогенезом, происходит прекращение переломов или значительное снижение их количества после пубертатного периода. Практика показывает, что у данной категории пациентов переломы могут продолжаться, кроме того, их часто беспокоит болевой синдром, не связанный с переломами и поражениями суставов, боли в костях скелета различной локализации. Основной группой лекарственных препаратов, применяемых для лечения НО, являются бисфосфонаты. Данная группа препаратов замедляют процессы ремоделирования костной ткани и снижение уровня МПКТ. На сегодняшний день применение бисфосфонатов у детей с НО является клинической практикой, однако о применении у взрослых имеются отрывочные сведения. В связи с этим мы провели анализ динамики МПКТ и уровня болевого синдрома у 7 взрослых пациентов с НО, получавших лечение препаратами группы бисфосфонатов в терапевтическом отделении Клиники БГМУ с 2020 по 2022 годы. Показаниями к назначению терапии были продолжающиеся переломы в возрасте старше 18 лет, признаки остеопороза по данным рентгеновской денситометрии ( $Z$ -критерий менее  $-2,0$ ) и уровень болевого синдрома в костях, не связанный с переломами или травмами, более 5 баллов по ВАШ. Применялась памидроновая кислота в дозе 4 мг однократно 1 раз в 12 месяцев или золендроновая кислота в дозе 30 мг в течение трех дней каждые 4 месяца. Также все пациенты получали терапию препаратами кальция и витамина Д в соответствии с Клиническими рекомендациями МЗ РФ по лечению остеопороза. Динамика уровней МПКТ и болевого синдрома представлена в таблице 63.

Таблица 63 – Динамика результатов денситометрии и уровня болевого синдрома у пациентов с НО на фоне терапии бисфосфонатами

Пациент	Возраст	Препарат	Z-критерий		Уровень боли, ВАШ	
			2020	2022	2020	2022
1	32	П	-2,4	1,4	5	2
2	28	З	-3,0	-1,1	5	2
3	22	П	-0,6	-0,5	7	5
4	30	З	-0,7	0,5	6	2
5	24	З	0,9	0,9	5	4
6	18	П	-0,8	0,5	2	1
7	56	З	-2,9	-1,6	6	5

*Примечание: П- памидроновая кислота, З – золендроновая кислота*

У трех пациентов исходно уровень МПКТ соответствовал остеопорозу, у 6 пациентов присутствовал болевой синдром более 5 баллов по ВАШ. На фоне проведенного лечения у всех пациентов отмечается повышение уровня МПКТ и уменьшение выраженности болевого синдрома, различия бали статистически значимые ( $p=0,0012$  и  $p=0,002$ , соответственно).

Помимо описанных динамических изменений МПКТ, следует привести несколько клинических примеров, иллюстрирующих особенности и эффективность терапии бисфосфонатами у взрослых пациентов с НО. Пациентка №2. 28 лет имела низкие показатели МПКТ при начале терапии. Помимо этого, при проведении сцинтиграфии костей скелета были выявлены специфические очаги накопления радиофармпрепарата. В проекции грудного и пояснично-крестцового отделов позвоночника, плечевых, локтевых, лучезапястных, грудино-ключичных суставов, крестцово-подвздошных сочленений, тазобедренных, коленных суставов определяется диффузное, умеренное повышение накопления РФП, соответствующее дегенеративно-дистрофическим изменениям. Фиксация РФП в проекции: средних третей плечевых костей справа составила 1130 (Mean –  $18\pm 6$ ); слева – 948 (Mean –  $14\pm 6$ ); средних третей локтевых костей справа 683

(Mean – 11±3); слева – 616 (Mean – 9±4); средних третей бедренных костей справа – 562 (Mean – 9±3); слева – 525 (Mean – 8±3); средних третей большеберцовых костей справа – 903 (Mean – 13±5); слева – 797 (Mean – 12±4); тел грудных позвонков (Th7) – 7420 (Mean – 50±12); тел поясничных позвонков (L5) – 4980 (Mean – 34±8). Через 12 месяцев на фоне терапии бисфосфонатами было проведено исследование в динамике, которое показало снижение интенсивности фиксации РФП во всех локализациях. Фиксация РФП в проекции средних третей плечевых костей справа составила 261 (Mean – 6,69±3,23); слева – 247 (Mean – 6,18±2,97); средних третей локтевых костей справа – 195 (Mean – 4,76±2,14); слева – 201 (Mean – 5,29±2,76); средних третей бедренных костей справа – 234 (Mean – 5,71±2,67); слева – 216 (Mean – 5,27±2,43); средних третей большеберцовых костей справа – 264 (Mean – 6,6±2,28); слева – 253 (Mean – 6,32±2,43); тел грудных позвонков (Th7) – 685 (Mean – 16,71±5,09); тел поясничных позвонков (L5) – 610 (Mean – 14,88±4,04). Таким образом, у пациентки не только повысилась МПКТ и уменьшилась интенсивность болевого синдрома, но и уменьшилась патологическая метаболическая активность в костной ткани. Результаты сканирования представлены на рисунке 30.

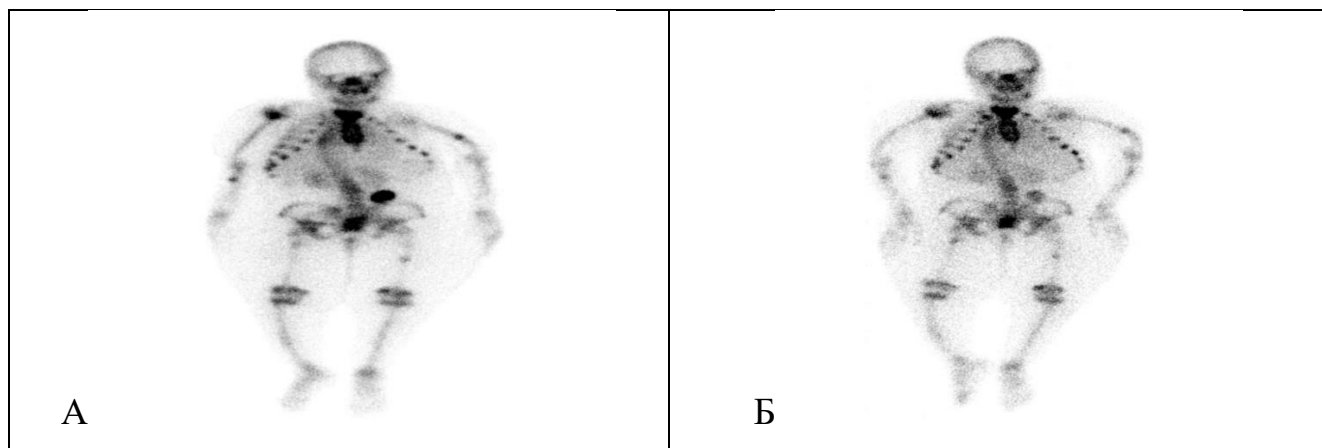


Рисунок 30 – Результат сцинтиграфии пациентки №2 до (А) и после (Б) лечения.

В другом случае у пациентки была выявлена редкая мутация в гене *SGMS1*, которая приводит к повышенной хрупкости костей и переломам, а также сопровождается специфическими изменениями костной структуры черепа с очагами гиперплазии. Данное заболевание не имеет собственного кода в МКБ-10, и его принято считать НО-подобным состоянием. В течение жизни

зарегистрированы множественные переломы верхних и нижних конечностей (около 20), с 17 до 20 лет получала курсовое лечение бисфосфонатами. На фоне перерыва в терапии бисфосфонатами отмечает нарастание болевого синдрома в костях, не связанного с физической нагрузкой. В 2019 году возобновлена терапия памидроновой кислотой, на тот момент выраженность болевого синдрома была максимальная, показатель Z-критерия поясничного отдела позвоночника по данным денситометрии составил -2,4. На фоне терапии пациентка отмечала уменьшение выраженности болевого синдрома, также в динамике нарастает МПКТ, в различные периоды показатель Z-критерия варьировал от 0,3 до 1,4. Помимо бисфосфонатов, в период с ноября 2019 по ноябрь 2020 пациентка получала Тирепаратид в стандартной дозировке. После ноября 2021 года был перерыв в лечении бисфосфонатами, связанный с пандемией коронавирусной инфекции. С начала 2022 года пациентка отмечает рецидив болевого синдрома, несмотря на сохранившиеся нормальные показатели МПКТ ( $Z=0,8$ ). Лечение памидроновой кислотой было возобновлено, с положительным терапевтическим эффектом. При этом зон гиперфиксации РФП при проведении сцинтиграфии выявлено не было. Динамика показателей болевого синдрома и уровней МПКТ на фоне проводимой терапии представлена на рисунке 31.

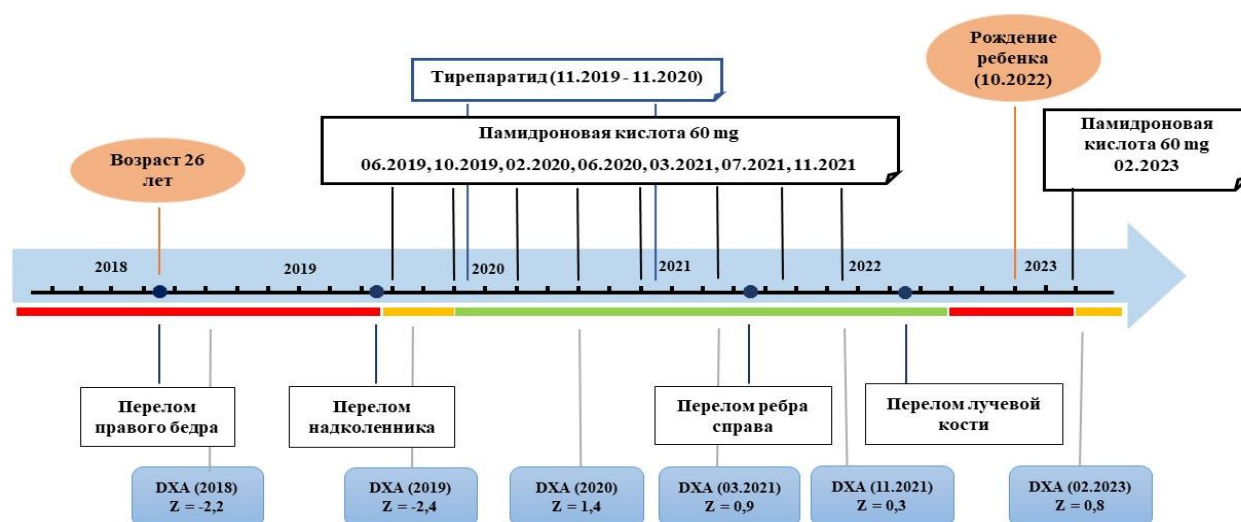


Рисунок 31 – Динамика болевого синдрома на фоне лечения у пациента с синдромом кольцевидных деформаций черепа

Таким образом, на основании полученных нами результатов лечения взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом, а также на основании данных литературы, разработан алгоритм принятия решения для лекарственной терапии данной категории пациентов (рисунок 32).



Рисунок 32 – Алгоритм лечения взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом (собственная разработка).

Обсуждение. Существуют показания к применению данной терапии у больных НО, такие как частота переломов, степень нарушения минеральной плотности костной ткани, наличие деформаций скелета, болевой синдром. Было доказано, что применение бисфосфонатов способствуют снижению частоты переломов и боли в костях (Deguchi M. и др., 2021). В 2015 году был проведен метаанализ плацебо-контролируемых исследований, в котором наблюдали за влиянием бисфосфанатов на предотвращение возникновения переломов. Он показал ограниченные доказательства в поддержку использования бисфосфонатов для профилактики переломов при НО, и возможность побочных эффектах при длительном приёме препарата – атипичные подвертельные переломы бедренной кости и остеонекроз челюсти (Hald J.D. и др., 2015). Существует больше исследований по применению бисфосфонатов в педиатрии, чем в популяции взрослых больных НО, и некоторые из положительных результаты, наблюдаемые у детей, было трудно продемонстрировать у взрослых пациентов [142], хотя

общие цели лечения схожи: уменьшение количества переломов и интенсивности хронического болевого синдрома в костях и увеличение МПКТ в качестве суррогатного маркера оценки эффекта лечения. В исследовании Chevrel и др. [234], с участием 64 взрослых пациентов с НО в 3-летнем рандомизированном плацебоконтролируемом исследовании лечения алендронатом показало значительное увеличение общей МПКТ бедра и поясничного отдела позвоночника, но без значительной разницы в частоте переломов. Адами и др. [371] исследовали 46 взрослых с НО, из которых 31 получали неридронат внутривенно, по сравнению с 15 пациентами, которые не получали лечения. Общее время наблюдения составило 24 месяца, и тенденция к статистической значимости при объединении показателей частоты переломов до набора и в период исследования свидетельствовала в пользу лечения. В проспективном нерандомизированном исследовании золедроновой кислоты у десяти пациентов с остеопорозом или тяжелой остеопенией, связанных с НО, которые не переносили пероральные бисфосфонаты, Павон де Пас и др. [232] обнаружили увеличение МПКТ поясничного отдела позвоночника через 24 и 36 месяцев и увеличение МПКТ шейки бедра в те же сроки. Переломов у пациентов за период исследования не отмечалось. Шапиро и др. провели наблюдательное нерандомизированное исследование 90 взрослых пациентов с НО, получавших либо внутривенно памидронат (n=28), либо перорально алендронат (n=10) или ризедронат (n=17). Контрольная группа без лечения состояла из 35 пациентов [142]. При НО I типа все бисфосфонаты вызвали увеличение МПКТ в поясничном отделе позвоночника, а для пероральных бисфосфонатов наблюдалось увеличение общей МПКТ бедренной кости. Снижение частоты переломов было отмечено только для памидроната внутривенно у пациентов III/IV типа [142]. В ретроспективном исследовании 16 взрослых пациентов с НО в Ирландии, O'Sullivan и др. показали значительное увеличение МПКТ у пациентов, получавших лечение бисфосфонатами (медиана увеличения 15,1%; n=10), и у двух пациентов, получавших лечение паратгормоном (40,3 и 27,2 % увеличение соответственно) [479]. Никаких выводов о снижении частоты переломов не было

сделано. В проспективном исследовании Брэдбери и др. [529], 27 пациентов с НО I типа, получавших лечение пероральным ризедронатом 35 мг еженедельно, оценивались в течение 24 месяца. МПКТ значительно увеличился в поясничном отделе позвоночника (3,9%), без изменений в тазобедренном суставе. Частота переломов осталась на уровне контрольной группы, не получавшей терапию [615].

Заключение. Таким образом, препараты из группы бисфосфонатов показали эффективность в терапии не только детей, но и взрослых пациентов. Показанием к их назначению может быть как снижение МПКТ, так и болевой синдром в костях. На основании собственного клинического опыта и данных литературы сформирован алгоритм фармакотерапии НО у взрослых пациентов, который включен в проект Клинических рекомендаций по лечению несовершенного остеогенеза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение длительного времени медицинские исследования касались преимущественно наблюдения за клинической картиной заболеваний, которая не претерпела значительных изменений за эти годы. Современная медицинская наука основывается на внедрении высокотехнологических методов исследования и современных средств биоинформатической обработки данных. Мы провели комплексное исследование заболеваний – остеоартрита, остеопороза, несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло, ключевым звеном патогенеза которых являются структурные нарушения соединительной ткани.

Поскольку данные об частоте встречаемости этих заболеваний противоречивы как в мире, так и в России, мы провели анализ распространенности исследуемых заболеваний в различных регионах Республики Башкортостан. Выявленная частота встречаемости остеоартрита в республике составила 36,55 случаев на 1000 населения, что сопоставимо со средней распространенностью по стране (35,7‰). Частота встречаемости остеопороза составила 0,54 на 1000 населения, что также соответствует распространенности по данным других исследований. Среди пациентов как с ОА, так и с ОП преобладали женщины. При анализе распространенности в районах республики отмечается выраженная территориальная неоднородность. В совокупности это свидетельствует о необходимости введения унифицированного подхода к диагностике и регистрации случаев ОА и ОП для возможности оценить его истинную распространенность в различных популяциях. Общая распространенность НО в Республике Башкортостан составила 5,031 случаев на 100 тыс. населения, СЭД – 3,362 случаев на 100 тыс. населения. Среди пациентов обеих патологий отмечается незначительное преобладание мужчин (56,2% и 53,3%, соответственно). Пациенты с НО чаще находятся на активном наблюдении, по сравнению с СЭД (48,6% и 22,5% соответственно), что объясняется более длительным периодом работы с этой группой больных. Как и для многофакторных заболеваний соединительной ткани, отмечается выраженная



территориальная неоднородность, связанная как с накоплением семейных случаев, так и с особенностями оказания медицинской помощи.

Вопрос о клинической коморбидности и общих звеньях патогенеза структурных заболеваний соединительной ткани является актуальным и требует дальнейшего изучения из-за разнородности имеющихся данных. Гипотеза о том, что ОА и ОП имеют обратную зависимость, была впервые выдвинута в 1970-х годах, но окончательный ответ на этот вопрос на сегодняшний день не получен. Мы провели исследование частоты встречаемости ОА и ОП по отдельности, а также в сочетанном состоянии. Не было выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости ОА у пациентов со сниженной МПКТ как среди мужчин, так и среди женщин, при этом боль в спине чаще встречалась у мужчин со сниженной МПКТ. У женщин уровень МПКТ шейки бедренной кости ассоциирован с риском развития переломов в целом, МПКТ поясничного отдела позвоночника – только с развитием переломов данной локализации. У мужчин уровень МПКТ как поясничного отдела позвоночника, так и шейки бедренной кости ассоциирован с повышенным риском развития переломов различной локализации. У женщин с ОА коленных суставов были выявлены повышенный уровень МПКТ поясничного отдела позвоночника и высокий ИМТ, а у мужчин низкий ИМТ был ассоциирован с остеопорозом. Были выявлены ассоциации ИМТ и переломов различных локализаций, однако значение данного параметра как патогенетического фактора перелома и маркера риска нуждается в дальнейшем исследовании. Одним из вероятных общих звеньев патогенеза ОА и ОП может быть наличие фонового состояния – недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Мы провели оценку частоты встречаемости данного состояния среди исследованных пациентов. Выявлены клинические признаки нДСТ, ассоциированные с различными вариантами остеоартрита. Избыточный вес тела и хруст в суставах ассоциированы с остеоартритом, птозы ассоциированы с остеоартритом тазобедренных суставов, венозная недостаточность, плоскостопие, гиперлордозы – с остеоартритом коленных суставов, гиперэластичность кожи, выраженная миопия, хруст ВЧС, вальгусная деформация – с множественными

поражениями суставов у женщин. При этом ассоциации фенотипических проявлений нДСТ с изменением МПКТ и развитием ассоциированных клинических состояний у мужчин немногочисленны, что не позволяет рассматривать их в качестве прогностических инструментов оценки риска развития остеоартрита и остеопороза. При этом нДСТ влияет на метаболизм соединительной ткани, что может быть выявлено методами биохимической диагностики.

Проведено исследование клинических проявлений НО и СЭД у пациентов из Республики Башкортостан. Оба заболевания характеризуются высокой клинической вариабельностью, в том числе – внутрисемейной. Для НО и СЭД характерны системное вовлечение соединительной ткани и высокая частота встречаемости фенотипических проявлений дисплазии соединительной ткани. Для взрослых пациентов с НО типичен болевой синдром в суставах и конечностях, не связанный с переломами. Показано, что сцинтиграфия является потенциальным методом оценки активности патологического процесса у пациентов с НО, в том числе – с нормальным уровнем МПКТ. Описаны редкие клинические случаи с фенотипом несовершенного остеогенеза – 3 пациента с V типом заболевания и кольцевые поражения свода черепа с хрупкостью костей.

Молекулярные методы исследования являются ключевым способом получения новых знаний о патогенезе заболеваний. Проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование остеоартрита и остеопороза с применением различных подходов. Выявлены ассоциации полиморфных вариантов различных генов с ОА в целом, а также отдельными его локализациями. В выборке женщин с остеоартритом полиморфный вариант VNTR (*ACAN*) был ассоциирован с ОА в целом, а также генерализованным ОА и патологией коленного сустава. Полиморфный вариант rs7639618 (*DVWA*) ассоциирован с ОА в целом, с ОА коленного и тазобедренного суставов. Полиморфный вариант rs13317 (*FGFR1*) ассоциирован с развитием ОА в целом и патологией коленного сустава. Также ассоциации выявлены у пациентов с генерализованным ОА и локусами rs3204689 (*ALDH1A2*) и rs229069 (*ADAMTS5*),

ОА тазобедренного сустава и локусом rs835787 (*CHST11*). После введения поправки на множественность сравнения статистическую значимость сохранили ассоциации локуса rs7639618 (*DVWA*) с ОА коленного и тазобедренного суставов. Локусы rs3134069 и rs3102734 гена *OPG* идентифицированы как маркеры риска переломов в целом и периферических костей, локус rs6854081 гена *FDF2* – переломов шейки бедра и лучевой кости, локус rs11540149 гена *VDR* – с переломов позвоночника у женщин. Локус rs7844539 гена *OPG* был ассоциирован со снижением МПКТ поясничных позвонков. У мужчин локус rs2073618 гена *OPG* являлось маркером снижения МПКТ поясничных позвонков, аллель локус rs1031820 гена *COL11A1* – переломов в целом и переломов позвоночника, также с переломами позвоночника был ассоциирован локус rs10098470 гена *TPD52*. При проведении молекулярно-генетического исследования пациентов с несовершенным остеогенезом патогенные мутации были обнаружены в 33 неродственных семьях из Республики Башкортостан. Нами выявлено 16 патогенных изменений в гене *COL1A1*, 11 патогенных мутаций в гене *COL1A2*, по одной мутации в генах *P3H1* и *IFITM5*. 55,2% (16/29) выявленных мутаций приходится на ген *COL1A1*, 37,9% (11/29) – на ген *COL1A2* и по 3,45% (1/29) на гены *IFITM5* и *P3H1*. Структурные изменения в генах, характерные для других заболеваний, были выявлены у 13,46% (7/52) пациентов, а отсутствие изменений – у 25% (13/52) пациентов. Среди пациентов из Республики Башкортостан с выявленными мутациями в 10 семьях наблюдалось аутосомно-доминантное наследование, в 15 семьях мутации произошли *de novo* и в 7 семьях не удалось установить тип наследования. У пациентов из Республики Башкортостан мы обнаружили 11 ранее неописанных патогенных изменений: 3 в гене *COL1A1*, 7 в *COL1A2* и 1 мутация в гене *P3H1*. Выявленные мутации оказались уникальными, за исключением мутаций с.579delT и с.3076C>T в гене *COL1A1*, каждая из которых обнаружена в двух неродственных семьях, а также мутации с.-14C>T в гене *IFITM5*, обнаруженной у трех неродственных пробандов. Мутации, ответственные за развитие СЭД, обнаружены в 8 неродственных семьях из Республики Башкортостан. Выявлено пять изменений нуклеотидной

последовательности в гене *COL5A1* и три – в гене *COL5A2*. Среди пациентов из Республики Башкортостан с выявленными мутациями в 4 семьях выявлен аутосомно-доминантный тип наследования, в 4 случае тип наследования установить не удалось. Обнаружены патогенные варианты (с.212delC, (p.Pro71ArgfsTer33) и с.4135C>T (p.Pro1379Ser) в гене *COL5A1*, ранее не описанные в литературе. Было проведено также исследование молекулярных маркеров с учетом популяционных особенностей региона. Лocus rs1061237 (*COL1A1*) является маркером риска развития ОА у женщин русской этнической группы, rs6854081 (*FGF2*) – у женщин татарской этнической группы, rs73611720 (*GDF5*) и rs229069 (*ADAMTS5*) – у метисов и представителей других этнических групп. Лocus rs198470 (*TPD52*) является маркером риска развития остеопороза у женщин русской этнической принадлежности.. Патогенный вариант с.1051G>T (p. Glu351X) в гене *P3H1* потенциально может быть этноспецифическим маркером НО у пациентов башкирской этнической группы.

Для интеграции полученных результатов клинических и молекулярно-генетических исследований в медицинскую практику мы разработали прогностические модели риска развития остеопороза и остеоартрита с применением различных вариантов биоинформатической обработки. Разработаны прогностические модели для оценки риска развития ОА в целом, а также его отдельных локализаций, на основании клинических маркеров, в первую очередь – фенотипических проявлений нДСТ, и генетических маркеров с высокой предсказательной ценностью. В модель прогнозирования ОА в целом вошли такие маркеры, как наличие нДСТ, возраст, ИМТ, наличие гиперкифоза/гиперлордоза, долихостенмелия, варикозная болезнь вен нижних конечностей и этническая принадлежность, а также полиморфные варианты rs13317 гена *FGRF*, VNTR гена *ACAN*, rs1061237 гена *COL1A1*, rs226794 гена *ADAMTS5*. Благодаря высоким показателям чувствительности, специфичности и прогностической ценности они могут использоваться для оценки риска развития ОА в повседневной клинической практике в рамках реализации концепции персонализированной профилактической медицины. Мы разработали клинико-

генетические модели риска развития переломов у мужчин и женщин. В модель прогнозирования риска переломов шейки бедренной кости у женщин вошли полиморфные локусы генов *SPARC*, *OPG* и продолжительность менопаузы, у мужчин – полиморфные локусы *OPG*, *SOX9*, *ZNF239* и уровень МПКТ шейки бедра. Помимо этого, мы впервые осуществили полигенную оценку риска первичного остеопороза, которая последовательно ассоциируется с риском переломов и низким ИМТ у женщин постменопаузального возраста из Волго-Уральского региона России с высоким уровнем предсказательной ценности.

На основании анализа клинической вариабельности несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло нами были разработаны алгоритмы диагностики этих заболеваний. Данные алгоритмы являются простым и доступным инструментом для использования в практическом здравоохранении врачами первого контакта, и также представляют основу для создания более широких алгоритмов диагностики наследственных заболеваний, в том числе с применением методов машинного обучения. Внедрение их может оптимизировать информацию о фенотипе пациентов и лучше определить целевое заболевание, а также принять решение об объеме генетического исследования. На основании анализа молекулярной архитектуры несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло у пациентов из Республики Башкортостан нами были созданы панели для секвенирования нового поколения, которые продемонстрировали высокую диагностическую способность наряду с умеренными материальными и временными затратами, что делает их оптимальными для ДНК-диагностики НО и СЭД не только в Республике Башкортостан, но и для пациентов из других регионов.

Проведены исследования для внедрения персонализированного подхода в лечение остеопороза. Локус rs2297480 гена *FDPS* идентифицирован как потенциальный маркер ответа на терапию витамином Д у женщин с постменопаузальным остеопорозом. Для лечения несовершенного остеогенеза впервые проанализирован опыт применения антирезорбтивной терапии. Препараты из группы бисфосфонатов показали эффективность в терапии не

только детей, но и взрослых пациентов с НО. Показанием к их назначению может быть как снижение МПКТ, так и болевой синдром в костях. На основании собственного клинического опыта и данных литературы сформирован алгоритм фармакотерапии НО у взрослых пациентов, который включен в проект Клинических рекомендаций по лечению несовершенного остеогенеза.

Таким образом, проведенное комплексное клинико-генетическое исследование заболеваний соединительной ткани вносит вклад в познание всех аспектов формирования обширной патологии наиболее распространенной ткани в организме человека и является основой для дальнейших исследований с учетом полученных результатов.

## ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости остеоартрита в Республике Башкортостан составила 36,55 случаев на 1000 населения, остеопороза – 0,54 на 1000 населения, несовершенного остеогенеза – 5,031 случаев на 100 тыс. населения, синдрома Элерса-Данло – 3,362 случаев на 100 тыс. населения. Для всех исследованных патологий отмечается выраженная территориальная неоднородность.
2. Выявлена повышенная диспластическая стигматизация у женщин с остеоартритом и не обнаружено ассоциаций нДСТ с остеопорозом. Выявлены ассоциации повышенного уровня МПКТ поясничного отдела позвоночника и высокого ИМТ у женщин с остеоартритом коленных суставов. МПКТ поясничного отдела позвоночника ассоциирована с переломами различной локализации у мужчин, МПКТ шейки бедра – у женщин.
3. Выявлена высокая диспластическая стигматизация и клиническая вариабельность у пациентов с несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло. Для пациентов с несовершенным остеогенезом типичен болевой синдром в суставах и конечностях, не связанный с переломами. Риск переломов не зависит от уровня МПКТ у пациентов с несовершенным остеогенезом и синдроме Элерса-Данло. Показана эффективность сцинтиграфия костей для оценки активности заболевания при несовершенном остеогенезе.
4. Выявлена ассоциация локуса rs7639618 (*DVWA*) с остеоартритом коленного и тазобедренного суставов, локусов rs3134069 и rs3102734 (*OPG*), rs6854081 (*FDF2*), rs11540149 (*VDR*) – с переломами, локуса rs7844539 (*OPG*) со снижением МПКТ у женщин. У мужчин локусы rs1031820 (*COL11A1*) и rs10098470 (*TPD52*) ассоциированы с переломами, rs2073618 (*OPG*) – со снижением уровня МПКТ.
5. У пациентов с несовершенным остеогенезом выявлено 15 патогенных изменений в гене *COL1A1*, 10 – в гене *COL1A2*, по одной мутации в генах *P3H1*, *SGMS2* и *IFITM5*, в том числе 13 ранее неописанных патогенных изменений: 3 в гене *COL1A1*, 7 в *COL1A2* и 3 мутация в гене *P3H1*. У 6 пациентов идентифицированы мутации в генах, характерных для других заболеваний. У

пациентов с синдромом Элерса-Данло выявлено 5 патогенных изменений в гене *COL5A1* и 3 – в гене *COL5A2*.

6. Локус rs1061237 (*COL1A1*) является маркером риска развития остеоартрита у русских женщин, rs6854081 (*FGF2*) – у татарских женщин, rs229069 (*ADAMTS5*) и rs73611720 (*GDF5*) – у метисов и других этнических групп. Локус rs198470 (*TPD52*) является маркером риска развития остеопороза у русских женщин. Патогенный вариант с.1051G>T (р. Glu351X) в гене *P3H1* потенциально может быть этноспецифическим маркером несовершенного остеогенеза у пациентов башкирского происхождения.

7. Оптимизирован алгоритм диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло, включающий клинический протокол и алгоритм ДНК-анализа генов коллагена I и V типов на основе таргетных NGS-панелей. Разработаны клиничко-генетические модели развития остеоартрита и остеопороза в целом, а также различных локализаций.

8. Разработан индивидуальный подход к назначению антирезорбтивной терапии у взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом. Локус rs2297480 гена *FDPS* идентифицирован как потенциальный маркер ответа на терапию витамином Д у женщин с постменопаузальным остеопорозом.



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется интегрировать стандартизированные методы диагностики остеоартрита и остеопороза в информационно-аналитическую информационную систему региона для объективной оценки эпидемиологических параметров данных заболеваний.
2. Рекомендуется распространить алгоритмы клинической диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло среди врачей первичного контакта.
3. Рекомендуется проводить оценку диспластической стигматизации у лиц женского возраста для оценки риска развития остеоартрита.
4. Рекомендуется использовать алгоритм генетической диагностики и панель для таргетного NGS-секвенирования нашей разработки для подтверждающей ДНК-диагностики у пациентов с НО и СЭД
5. Рекомендовано исследование полиморфного варианта rs2297480 гена *FDPS* витамином Д у женщин с постменопаузальным остеопорозом
6. Рекомендуется использовать препараты группы бисфосфонатов у взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом при сниженном уровне МПКТ и/или наличии болевого синдрома.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

AUC – area under curve – площадь под кривой

COMP – cartilage oligomeric matrix protein – хрящевой олигомерный белок

FDR – false discovery rate – поправка на множественность сравнений

FN – femur neck – шейка бедренной кости

LS – lumbar spine – поясничный отдел позвоночника

NGS – next generation sequence – секвенирование нового поколения

OR – odds ratio – отношение шансов

PRS – polygenic risk scores – полигенная оценка риска

ROC – receiver operating characteristic – рабочая характеристика приемника

SSCP – single-strand conformation polymorphism – анализ одноцепочечных конформационных полиморфизмов

UTR – untranslated region – нетранслируемый регион гена

ВЧС – височно-нижнечелюстной сустав

ГМС – гипермобильность суставов

ГЭК – гиперэластичность кожи

ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

ДИ – доверительный интервал

ДНК (DNA) – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДСТ – дисплазия соединительной ткани

ИМТ – индекс массы тела

МКБ – международная классификация болезней

МПКТ – минеральная плотность костной ткани

НО – несовершенный остеогенез

ОА – остеоартрит

ОП – остеопороз

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК (RNA) – рибонуклеиновая кислота

СЭД – синдром Элерса-Данло

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аверкиева Ю. В. Минеральная плотность кости у женщин пожилого и старческого возраста с остеоартритом коленных и тазобедренных суставов / Ю. В. Аверкиева, И. И. Григорьева, Т. А. Раскина // Современная ревматология. – 2020. – Т. 14. – № 1. – С. 62-66.
2. Алексеева Л. И. Остеоартрит: эпидемиология, классификация, факторы риска и прогрессирования, клиника, диагностика, лечение / Л. И. Алексеева, Е. А. Таскина, Н. Г. Кашеварова // Современная ревматология. – 2019. – Т. 13. – № 2. – С. 9-21.
3. Алексеева Л. И. Ранний остеоартрит: разработка критериев диагностики / Л. И. Алексеева, К. А. Тельшев // Современная ревматология. – 2020. – Т. 14. – № 3. – С. 140-145.
4. Алгоритмы диагностики распространенных диспластических синдромов и фенотипов. / Э. В. Земцовский, С. В. Реева, Э. Г. Малев [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2009. – Т. 15. – № 2. – С. 162-165.
5. Алексеева Л.И. Н. А. В. Ведение остеоартрита с коморбидностью в общей врачебной практике (клинические рекомендации) / Н. А. В. Алексеева Л.И. // Доктор.Ру. – 2017. – № 5. – С. 51-69.
6. Антипова В. Н. Распространенность остеопороза среди населения Республики Мордовии / В. Н. Антипова, О. Г. Радайкина // Тезисы II Всероссийской конференции ревматологов «Социальные аспекты ревматических заболеваний) – 2006. – С. 74.
7. Ахмеджанов Ф. М. Алгоритм лучевого исследования при закрытой травме нижнешейного отдела позвоночника / Ф. М. Ахмеджанов, У. В. Карякина, А. А. Гринь // Нейрохирургия. – 2007. – № 3. – С. 43-49.

8. Борисова О. А. Иммунологическая диагностика системных заболеваний соединительной ткани / О. А. Борисова // Клиническая медицина и фармакология. – 2020. – Т. 6. – № 2. – С. 25-39.
9. Викторова И. А. Остеоартроз у пациентов с семейной гипермобильностью суставов: стратификация риска возникновения и типа прогрессирования / И. А. Викторова, Н. В. Коншу // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2014. – Т. 9. – № 4. – С. 310-314.
10. Викторова И. А. Дисплазия соединительной ткани: Распространенность, фенотипические признаки, ассоциации с другими заболеваниями / И. А. Викторова, Н. И. Друк, Г. Н. Нечаева // Врач. – 2006. – № 1. – С. 19-23.
11. Вьюшкова Н. В. Дисплазия соединительной ткани как фоновое состояние при пиелонефрите / Н. В. Вьюшкова // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 6(111). – С. 27-30.
12. Генетико-эпидемиологическое изучение Ростовской области / С. С. Амелина, Р. А. Шокарев, Н. В. Кривенцова [и др.] // Медицинская генетика. – 2005. – Т. 4. – № 8. – С. 371-377.
13. Генетические маркеры остеоартрита у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Р. И. Хусаинова, А. В. Тюрин, Д. А. Шаповалова, Э.К. Хуснутдинова // Генетика. – 2017. – № 7. – С. 816-826.
14. Гинтер Е. К. Медицинская генетика: национальное руководство / Е. К. Гинтер, В. П. Пузырев, С. И. Куцев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022.
15. Гистология, эмбриология, цитология: учебник / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина, Е. Ф. Котовский, [и др.] – 6. – 2012.
16. Глотов О. С. Генетический полиморфизм и старение / О. С. Глотов, В. С. Баранов // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20. – С. 35-55.
17. Головахина А. В. Система FRAX в диагностике остеопороза / А. В. Головахина // Интеграция наук. – 2018. – № 4(19). – С. 250.

18. Гринь А. А. Лечение и профилактика переломов позвоночника у больных с остеопорозом / А. А. Гринь, М. А. Некрасов, А. К. Кайков // Нейрохирургия. – 2013. – № 3. – С. 72-75.
19. Грубер Н. М. Клинические аспекты вертебропластики / Н. М. Грубер // Практическая медицина. – 2008. – № 1 (25). – С. 59-61.
20. Дедов Д. В. Вторичный остеопороз у больных с ревматоидным артритом, профилактика осложнений с помощью препаратов Остеомед, Остеомед Форте, Остео-Вит D3 / Д. В. Дедов // Фармация. – 2022. – Т. 71. – № 3. – С. 5-9.
21. Джинджихадзе Р. С. Перкутанная вертебропластика (обзор литературы) / Р. С. Джинджихадзе, В. А. Лазарев, А. В. Горожанин // Нейрохирургия. – 2005. – № 1. – С. 36-40.
22. Дзукаев Д. Н. Новая технология в лечении патологических переломов позвоночника / Д. Н. Дзукаев, В. И. Семченко, О. Н. Древаль // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 2009. – № 3. – С. 19-22.
23. Дисплазия соединительной ткани: фактор риска остеопении у детей и подростков / И. Н. Захарова, Т. М. Творогова, Е. А. Соловьева [и др.] // Медицинский совет. – 2020. – Т. 2020. – № 1. – С. 30-40.
24. Дисплазия соединительной ткани у женщин с первичным остеоартрозом коленных и тазобедренных суставов / Н. В. Изможерова, Н. А. Гетманова, А. А. Попов, Т. Ф. Перетолчина // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99. – № 2. – С. 194-200.
25. Дифференциация этнических групп России по генам наследственных болезней / Р. А. Зинченко, Г. И. Ельчинова, В. А. Галкина [и др.] // Медицинская генетика. – 2007. – Vol. 6. – № 2. – Р. 29-37.
26. Евстигнеева Л. П. Клиническая диагностика переломов позвонков при остеопорозе (обзор литературы) / Л. П. Евстигнеева // Медицинский алфавит. – 2021. – № 16. – С. 20-25.

27. Зайко Н. Н. Патологическая физиология / Н. Н. Зайко. – Москва : Медицина, 1996. – 751 с.
28. Зарипова А. Р. Современная классификация и молекулярно-генетические аспекты незавершенного остеогенеза / А. Р. Зарипова, Р. И. Хусаинова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. – № 2. – С. 219-227.
29. Земцовский Э. В. Диспластические синдромы и фенотипы как предикторы пароксизмов фибрилляции предсердий у пациентов со стабильным течением ишемической болезни сердца / Э. В. Земцовский, М. Ю. Лобанов, К. У. Давтян // Вестник аритмологии. – 2009. – № 56. – С. 14-19.
30. Зинченко Р. А. Наследственные болезни в популяциях человека / Р. А. Зинченко, Е. К. Гинтер // «Национальное руководство. Наследственные болезни» / eds. Н. П. Бочков [и др.]. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – С. 662-704.
31. Зинченко Р. А. Особенности медико-генетического консультирования в различных популяциях и этнических группах / Р. А. Зинченко, Е. К. Гинтер // Медицинская генетика. – 2008. – Т. 7. – № 10. – С. 20-29.
32. Изменения минеральной плотности кости при прогрессировании остеоартрита коленных суставов / Н. Г. Кашеварова, Е. А. Таскина, Л. И. Алексеева [и др.] // Терапевтический архив. – 2019. – Т. 91. – № 5. – С. 61-67.
33. К унификации выполнения и интерпретации результатов остеоденситометрии / Л. А. Низовцова, С. П. Морозов, А. В. Петряйкин [и др.] // Вестник рентгенологии и радиологии. – 2018. – Т. 99. – № 3. – С. 158-163.
34. Кабалык М. А. Оценка изменений субхондральной кости при остеоартрите / М. А. Кабалык // Медицинский альманах. – 2017. – № 5 (50). – С. 181-184.
35. Клиническое течение варикозной болезни у больных с различной степенью выраженности дисплазии соединительной ткани / Свистунов А.А., О. А. Царев, Г. Н. Маслякова, Ю. В. Мащенко // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5. – № 2. – С. 261-266.

36. Котельникова Н. Ю. Сравнительная оценка состояния минеральной плотности костной ткани при дифференцированной и недифференцированной дисплазии соединительной ткани у практически здоровых детей астенического типа конституции / Н. Ю. Котельникова, Е. Г. Бакулина // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2007. – № 1. – С. 16-18.
37. Кравец Л. Я. Малоинвазивные технологии в лечении вертеброгенных болевых синдромов различной этиологии / Л. Я. Кравец, А. К. Истрелов, А. Е. Боков // Нижегородские ведомости медицины. – 2008. – № 8. – С. 17-21.
38. Лечебно-диагностический алгоритм при разных фенотипах полипозного риносинусита / Е. Л. Савлевич, М. Е. Дынева, Л. Е. Гаганов [и др.] // Российский аллергологический журнал. – 2019. – Т. 16. – № 2. – С. 50-60.
39. Медико- и популяционно-генетическое описание Архангельской области / Р. А. Мамедова, Г. И. Ельчинова, Е. А. Старцева [и др.] // Генетика. – 1996. – Т. 32. – № 6. – С. 837-841.
40. Минеральная плотность костной ткани у женщин в постменопаузе с остеоартритом коленного сустава / Е. В. Усова, Ю. В. Аверкиева, Т. А. Раскина [и др.] // Medical alphabet. – 2021. – № 16. – С. 53-58.
41. Нагаева Т. А. Клиническая оценка нарушений структурно-метаболического статуса эритроцитов периферической крови при дисплазии соединительной ткани у детей / Т. А. Нагаева, И. И. Балашева, Д. А. Пономарева // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 6(111). – С. 57-60.
42. Насонова В. А. Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани в России: динамика статистических показателей за 5 лет (1994-1998г.г.) / В. А. Насонова, О. М. Фоломеева, В. Н. Амирджанова // Научно-практическая ревматология. – 2000. – № 38 (2). – С. 8-12.

43. Наумова Л. А. Клиникоморфологические варианты атрофического поражения слизистой оболочки желудка / Л. А. Наумова, А. И. Пальцев, Я. Ю. Беляева // Терапевтический архив. – 2009. – Т. 81. – С. 17-23.
44. Некоторые формы дисплазии соединительной ткани сердца в кардиохирургической клинике / А. М. Караськов, С. П. Мироненко, А. М. Ченрнявский [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2009. – № 2. – С. 68-72.
45. Несовершенный остеогенез у детей в Российской Федерации: результаты аудита федерального регистра / Г. Т. Яхяева, Л. С. Намазова-Баранова, Т. В. Маргиева, О. В. Чумакова // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13. – № 1. – С. 44-48.
46. Никитинская О. А. В помощь практикующему врачу: возможность мониторинга лечения остеопороза при исследовании минеральной плотности кости на разных аксиальных денситометрах / О. А. Никитинская, Н. В. Торопцова // Медицинский алфавит. – 2020. – Т. 2. – № 37. – С. 22-28.
47. Нурлыгаянов Р. З. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов с развитием постменопаузального остеопороза / Р. З. Нурлыгаянов, Р. И. Хусаинова // Остеопороз и заболевания костей. – 2016. – Т. 19. – № 2. – С. 35-35.
48. Нуруллина Г. М. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе: значение маркеров костного ремоделирования / Г. М. Нуруллина, Г. И. Ахмадуллина // Архив внутренней медицины. – 2018. – Т. 8. – № 2. – С. 100-110.
49. Объективность и адекватность гормонального лечения девочек с маточными кровотечениями в пубертатном периоде / Е. В. Уварова, Н. М. Веселова, И. П. Белоконь, И. А. Сальникова // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2008. – № 5. – С. 53-65.



50. Остеопороз в Саратовской области: распространенность и профилактика / Г. А. Блувштейн, Н. В. Чупахин, В. А. Шульдяков, Т. А. Князькова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т 6. – С. 415-419.
51. Остеопороз как проявление дисплазии соединительной ткани / В. П. Конев, С. Н. Московский, А. Е. Кривошеин [и др.] // Терапия. – 2019. – Т. 7\_2019. – С. 74-80.
52. Остеопороз позвоночника: эпидемиология, современные методы диагностики и принципы лечения / А. В. Яриков, И. И. Смирнов, С. В. . Павлинов [и др.] // Врач. – 2020. – Т. 31. – № 11. – С. 21-28.
53. Патологическая физиология системы соединительной ткани // Большая медицинская энциклопедия. – 1984. – С. 481.
54. Попов А. А. Клинические особенности остеоартрита, развившегося на фоне дисплазии соединительной ткани / А. А. Попов, Н. В. Изможерова, Н. А. Гетманова // Остеопороз и остеопатии. – 2020. – № 23 (2). – С. 131.
55. Распространенность диабетической нефропатии и хронической болезни почек при сахарном диабете в Российской Федерации / О. В. Маслова, Ю. И. Сунцов, М. В. Шестакова [и др.] // Клиническая нефрология. – 2010. – № 3. – С. 45-50.
56. Распространенность синдрома Элерса-данло в ряде популяций России / А. Х. Макаов, Г. И. Ельчинова, В. А. Галкина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. – С. 2-8
57. Роль полиморфного локуса VNTR гена агреккана в развитии остеоартроза у женщин / Д. А. Шаповалова, А. В. Тюрин, С. С. Литвинов [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – № 7. – С. 865-872.
58. Руденко С. И. Башкиры. Опыт этнологической монографии / С. И. Руденко. – Петроград, 1916. – 264-268 с.

59. Санеева Г. А. Состояние минеральной плотности костной ткани при синдроме гипермобильности суставов / Г. А. Санеева, А. В. Ягода // Архив внутренней медицины. – 2014. – № 5. – С. 62-65.
60. Старческая астения: что необходимо знать о ней врачу первичного звена? / Т. О.Н., Ткачева, К. Ю.В. [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2017. – № 25. – С. 1820-1822.
61. Степура О. Б. Аномально расположенные хорды как проявление синдрома дисплазии соединительной ткани сердца / О. Б. Степура // Кардиология. – 1997. – № 12. – С. 74-76.
62. Т.И. Кадурина. Дисплазия соединительной ткани / Т.И. Кадурина. – Санкт-Петербург : ЭЛБИ-СПб, 2009. – 702 с.
63. Т.И. Кадурина. Современные представления о дисплазии соединительной ткани / Т.И. Кадурина, В. Н. Горбунова // Казанский медицинский журнал. – 2007. – Т. LXXXVIII. – С. 2-5.
64. Тагаев Т. Ж. Распространенность остеопенического синдрома и остеопороза у лиц пожилого и старческого возраста Кыргызстана / Т. Ж. Тагаев // Наука и инновации в медицине. – 2021. – Т. 7. – № 1. – С. 26-29.
65. Течение беременности и исходы родов у женщин с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани / Н.М.Шибельгут, В. Г. Мозес, И. С. Захаров, Р. Б. Колесникова // Научно-медицинский журнал. – 2009. – № 4. – С. 27-29.
66. Ткачук Е. А. Классификация наследственных заболеваний (лекция) / Е. А. Ткачук, И. Ж. Семинский // Байкальский медицинский журнал. – 2023. – Т. 2. – № 2. – С. 77-86.
67. Тюрин А. В. Роль фенотипов дисплазии соединительной ткани в оценке риска развития соматической патологии / А. В. Тюрин, Р. А. Давлетшин, Р. М. Муратова // Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т. 95. – № 4. – С. 501-505.

68. Тябут Т. Д. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани / Т. Д. Тябут, О. М. Каратыш // Современная ревматология. – 2009. – № 2. – С. 19-23.
69. Фадеев Р. А. Этиология и патогенез заболеваний височно-нижнечелюстного сустава и жевательных мышц / Р. А. Фадеев, К. А. Овсянников // Вестник Новгородского государственного университета. – 2020. – Т. 4. – № 120. – С. 50-59.
70. Федосеев А. В. Роль дисплазии соединительной ткани в этиопатогенезе грыжевой болезни / А. В. Федосеев, Д. С. Пуяшов, С. Ю. Муравьев // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2008. – № 2. – С. 63-66.
71. Хилажева Г. Ф. Города Зауралья Республики Башкортостан: особенности этнодемографического развития / Г. Ф. Хилажева // Феномен евразийства в материальной и духовной культуре, этнологии и антропологии башкирского народа: материалы Всероссийской научно-практической конференции. – 2009. – С. 102-103.
72. Хорошков Ю. А. Соединительнотканые структуры скелетной мышцы человека и их значения в биомеханике этого органа / Ю. А. Хорошков, Н. А. Одинцова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1988. – № 95(12). – С. 41-48.
73. Хусаинова Р.И. Молекулярно-генетические основы метаболических остеопатий: дис. ... докт. биол. наук 03.02.07 / Хусаинова Р.И. – Уфа, 2015. – 482 с.
74. Царегородцев А. Г. Дисплазия соединительной ткани: патология сосудов, причины внезапной смерти / А. Г. Царегородцев // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 23. – № 1. – С. 55-57.

75. Чемоданов В. В. Соединительнотканная дисплазия – на пути к решению проблемы / В. В. Чемоданов, Е. Е. Краснова // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2009. – Т. 14. – № 2. – С. 5-9.
76. Шаповалова Д.А. Изучение молекулярно-генетических основ остеоартрита у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани: дис. ... канд. биол. наук 03.02.07 / Шаповалова Д.А. – Уфа, 2020. – 269 с.
77. - 511 C/T IL1B gene polymorphism is associated to resistance to bisphosphonates treatment in Paget disease of bone / L. Corral-Gudino, J. Del Pino-Montes, J. García-Aparicio [et al.] // Bone. – 2006. – Vol. 38. – № 4. – P. 589-594.
78. 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Function, and Translation / P. M. Visscher, N. R. Wray, Q. Zhang [et al.] // American Journal of Human Genetics. – 2017. – Vol. 101. – № 1. – P. 5-22.
79. A comprehensive meta-analysis of association between genetic variants of GDF5 and osteoarthritis of the knee, hip and hand / R. Zhang, J. Yao, P. Xu [et al.] // Inflammation Research. – 2015. – Vol. 64. – № 6. – P. 405-414.
80. A founder mutation in LEPRE1 carried by 1.5% of West Africans and 0.4% of African Americans causes lethal recessive osteogenesis imperfecta / W. A. Cabral, A. M. Barnes, A. Adeyemo [et al.] // Genetics in Medicine. – 2012. – Vol. 14. – № 5. – P. 543-551.
81. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis / Y. Miyamoto, A. Mabuchi, D. Shi [et al.] // Nature Genetics. – 2007. – Vol. 39. – № 4. – P. 529-533.
82. A human-specific polymorphism in the coding region of the aggrecan gene: Variable number of tandem repeats produce a range of core protein sizes in the general population / K. J. Doege, S. N. Coulter, L. M. Meek [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 1997. – Vol. 272. – № 21. – P. 13974-13979.

83. A meta-analysis of European and Asian cohorts reveals a global role of a functional SNP in the 5' UTR of GDF5 with osteoarthritis susceptibility / K. Chapman, A. Takahashi, I. Meulenbelt [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2008. – Vol. 17. – № 10. – P. 1497-1504.
84. A meta-analysis of sex differences prevalence, incidence and severity of osteoarthritis / V. K. Srikanth, J. L. Fryer, G. Zhai [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2005. – Vol. 13. – № 9. – P. 769-781.
85. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program / Z. Li, M. Q. Hassan, S. Volinia [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2008. – Vol. 105. – № 37. – P. 13906-13911.
86. A Multicenter Observational Cohort Study to Evaluate the Effects of Bisphosphonate Exposure on Bone Mineral Density and Other Health Outcomes in Osteogenesis Imperfecta / J. S. Bains, E. M. Carter, K. P. Citron [et al.] // *JBMR Plus*. – 2019. – Vol. 3. – № 5.
87. A mutation in the 5'-UTR of IFITM5 creates an in-frame start codon and causes autosomal-dominant osteogenesis imperfecta type v with hyperplastic callus / O. Semler, L. Garbes, K. Keupp [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2012. – Vol. 91. – № 2. – P. 349-357.
88. A New Form of Ehlers-Danlos Syndrome: Fibronectin Corrects Defective Platelet Function / M. A. Arneson, D. E. Hammerschmidt, L. T. Furcht, R. A. King // *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. – 1980. – Vol. 244. – № 2. – P. 144-147.
89. A novel DHPLC-based procedure for the analysis of COL1A1 and COL1A2 mutations in osteogenesis imperfecta / A. Fuccio, M. Iorio, F. Amato [et al.] // *Journal of Molecular Diagnostics*. – 2011. – Vol. 13. – № 6. – P. 648-656.

90. A novel variant in GLIS3 is associated with osteoarthritis / E. Casalone, I. Tachmazidou, E. Zengini [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2018. – Vol. 77. – № 4. – P. 620-623.
91. A prediction model for the 40-year risk of knee osteoarthritis in adolescent men / K. Magnusson, A. Turkiewicz, S. Timpka, M. Englund // *Arthritis Care and Research*. – 2019. – Vol. 71. – № 4. – P. 558-562.
92. A Recessive Form of the Ehlers–Danlos Syndrome Caused by Tenascin-X Deficiency / J. Schalkwijk, M. C. Zweers, P. M. Steijlen [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2001. – Vol. 345. – № 16. – P. 1167-1175.
93. A recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type V / M. Takagi, S. Sato, K. Hara [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part A*. – 2013. – Vol. 161. – № 8. – P. 1980-1982.
94. A single recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type v / T. J. Cho, K. E. Lee, S. K. Lee [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2012. – Vol. 91. – № 2. – P. 343-348.
95. A Visual Phenotype-Based Differential Diagnosis Process for Rare Diseases / J. Yang, L. Shu, H. Duan, H. Li // *Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences*. – 2022. – Vol. 14. – № 2. – P. 331-348.
96. Abramson S. B. Nitric oxide in inflammation and pain associated with osteoarthritis / S. B. Abramson // *Arthritis Research and Therapy*. – 2008. – Vol. 10. – № SUPPL. 2.
97. Aggrecan core protein of a certain length is protective against hand osteoarthritis / O. P. Kämäräinen, S. Solovieva, T. Vehmas [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2006. – Vol. 14. – № 10. – P. 1075-1080.
98. Aggrecan analysis in human osteoarthritis: confocal localization and biochemical characterization of ADAMTS5-hyaluronan complexes in articular cartilages / A. Plaas,

B. Osborn, Y. Yoshihara [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2007. – Vol. 15. – № 7. – P. 719-734.

99. Altman R. D. Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis, revised / R. D. Altman, G. E. Gold // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2007. – Vol. 15. – № SUPPL. 1. – P. 1-56.

100. An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogenesis and increases susceptibility to osteoarthritis / H. Kizawa, I. Kou, A. Iida [et al.] // *Nature Genetics*. – 2005. – Vol. 37. – № 2. – P. 138-144.

101. An Atlas of Human and Murine Genetic Influences on Osteoporosis / J. A. Morris, J. P. Kemp, S. E. Youlten [et al.] // *bioRxiv*. – 2018. – P. 338863.

102. An in-depth study of the associations between osteoarthritis- and osteoporosis-related phenotypes at different skeletal locations / M. Kasher, F. M. K. Williams, M. B. Freidin [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2020. – Vol. 31. – № 11. – P. 2197-2208.

103. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome / I. Dunham, A. Kundaje, S. F. Aldred [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 489. – № 7414. – P. 57-74.

104. An SNP in the 5'-UTR of GDF5 is associated with osteoarthritis susceptibility in Europeans and with in vivo differences in allelic expression in articular cartilage / L. Southam, J. Rodriguez-Lopez, J. M. Wilkins [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2007. – Vol. 16. – № 18. – P. 2226-2232.

105. Analysis of OPG Gene Polymorphism T245G ( rs3134069 ) in Slovak Postmenopausal Women / I. Boro, J. Bernasovská, J. K [et al.]. – 2014. – Vol. 8. – № 9. – P. 600-603.

106. Analysis of serum metabolomics in rats with osteoarthritis by mass spectrometry / J. Zhao, M. Liu, T. Shi [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 23.

107. Analysis of the COL1A1 and COL1A2 genes by PCR amplification and scanning by conformation-sensitive gel electrophoresis identifies only COL1A1 mutations in 15 patients with osteogenesis imperfecta type I: Identification of common sequences of

null-allele / J. Körkkö, L. Ala-Kokko, A. De Paepe [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 1998. – Vol. 62. – № 1. – P. 98-110.

108. Andersen P. E. Osteogenesis imperfecta: a genetic, radiological, and epidemiological study / P. E. Andersen, M. Hauge // *Clinical Genetics*. – 1989. – Vol. 36. – № 4. – P. 250-255.

109. Anderson G. P. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease / G. P. Anderson // *The Lancet*. – 2008. – Vol. 372. – № 9643. – P. 1107-1119.

110. Animal models for osteoarthritis: the effect of ovariectomy and estrogen treatment – a systematic approach / Y. H. Sniekers, H. Weinans, S. M. Bierma-Zeinstra [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2008. – Vol. 16. – № 5. – P. 533-541.

111. Arceo-Mendoza R. M. Prediction of fracture risk in patients with osteoporosis: A brief review / R. M. Arceo-Mendoza, P. Camacho // *Women's Health*. – 2015. – Vol. 11. – № 4. – P. 477-484.

112. Arner E. C. Aggrecanase-mediated cartilage degradation / E. C. Arner // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2002. – Vol. 2. – № 3. – P. 322-329.

113. Arterial rupture in classic Ehlers-Danlos syndrome with COL5A1 mutation / G. Borck, P. Beighton, C. Wilhelm [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part A*. – 2010. – Vol. 152. – № 8. – P. 2090-2093.

114. Assessment of fracture risk / J. A. Kanis, F. Borgstrom, C. De Laet [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2005. – Vol. 16. – № 6. – P. 581-589.

115. Assessment of osteoarthritis candidate genes in a meta-analysis of nine genome-wide association studies / C. Rodriguez-Fontenla, M. Calaza, E. Evangelou [et al.] // *Arthritis and Rheumatology*. – 2014. – Vol. 66. – № 4. – P. 940-949.

116. Association Between Overweight and Obesity and Risk of Clinically Diagnosed Knee, Hip, and Hand Osteoarthritis: A Population-Based Cohort Study / C. Reyes, K.



M. Leyland, G. Peat [et al.] // *Arthritis and Rheumatology*. – 2016. – Vol. 68. – № 8. – P. 1869-1875.

117. Association between SMAD3 gene polymorphisms and osteoarthritis risk: A systematic review and meta-analysis / J. qiao Hong, Y. xin Wang, S. hao Li [et al.] // *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. – 2018. – Vol. 13. – № 1.

118. Association between the abnormal expression of matrix-degrading enzymes by human osteoarthritic chondrocytes and demethylation of specific CpG sites in the promoter regions / H. I. Roach, N. Yamada, K. S. C. Cheung [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2005. – Vol. 52. – № 10. – P. 3110-3124.

119. Association between weight or body mass index and hand osteoarthritis: A systematic review / E. Yusuf, R. G. Nelissen, A. Ioan-Facsinay [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2010. – Vol. 69. – № 4. – P. 761-765.

120. Association of ESR $\alpha$  gene Pvu II T > C, XbaI A > G and BtgI G > A polymorphisms with knee osteoarthritis susceptibility: A systematic review and meta-analysis based on 22 case-control studies / M. M. Yazdi, M. H. Jamalaldini, M. R. Sobhan [et al.] // *Archives of Bone and Joint Surgery*. – 2017. – Vol. 5. – № 6. – P. 351-362.

121. Association of Matrix Metalloproteinase (MMP) Gene Polymorphisms With Knee Osteoarthritis: A Review of the Literature / C. Milaras, P. Lepetsos, D. Dafou [et al.] // *Cureus*. – 2021.

122. Association of Polymorphisms in the Promoter Region of NOS2A Gene with Primary Knee Osteoarthritis in the Greek Population / A. Leonidou, P. Lepetsos, E. Kenanidis [et al.] // *Cureus*. – 2020.

123. Association of reduced type IX collagen gene expression in human osteoarthritic chondrocytes with epigenetic silencing by DNA hypermethylation / I. K., D. A. M.C., H. K. [et al.] // *Arthritis and Rheumatology*. – 2014. – Vol. 66. – № 11. – P. 3040-3051.

124. Associations of work activities requiring pinch or hand grip or exposure to hand-arm vibration with finger and wrist osteoarthritis: A meta-analysis / P. E. C. Hammer, R. Shiri, A. I. Kryger [et al.] // *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*. – 2014. – Vol. 40. – № 2. – P. 133-145.
125. Audiometric, surgical, and genetic findings in 15 ears of patients with osteogenesis imperfecta / F. K. R. Swinnen, E. M. R. De Leenheer, P. J. Coucke [et al.] // *Laryngoscope*. – 2009. – Vol. 119. – № 6. – P. 1171-1179.
126. Autosomal-Recessive Mutations in MESD Cause Osteogenesis Imperfecta / S. Moosa, G. L. Yamamoto, L. Garbes [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2019. – Vol. 105. – № 4. – P. 836-843.
127. Barter M. J. Epigenetic mechanisms in cartilage and osteoarthritis: DNA methylation, histone modifications and microRNAs / M. J. Barter, C. Bui, D. A. Young // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2012. – Vol. 20. – № 5. – P. 339-349.
128. Basel D. Osteogenesis imperfecta: Recent findings shed new light on this once well-understood condition / D. Basel, R. D. Steiner // *Genetics in Medicine*. – 2009. – Vol. 11. – № 6. – P. 375-385.
129. Battle W. H. A remarkable Case of Diffuse Cancellous Osteoma of the Femur following a Fracture, in which similar growths afterwards developed in connection with other bones / W. H. Battle, S. G. Shattock // *Journal of the Royal Society of Medicine*. – 1908. – Vol. 1. – № Pathol\_Sect. – P. 83-115.
130. Behavioral signs of pain and functional impairment in a mouse model of osteogenesis imperfecta / D. M. Abdelaziz, S. Abdullah, C. Magnussen [et al.] // *Bone*. – 2015. – Vol. 81. – P. 400-406.
131. Beighton P. Ehlers-Danlos syndrome. / P. Beighton // *Annals of the rheumatic diseases*. – 1970. – Vol. 29. – № 3. – P. 332-333.

132. Benušienė E. COL1A1 mutation analysis in Lithuanian patients with osteogenesis imperfecta / E. Benušienė, V. Kučinskas // *Journal of Applied Genetics*. – 2003. – Vol. 44. – № 1. – P. 95-102.
133. Bhagavan N. V. Essentials of Medical Biochemistry / N. V. Bhagavan, C. E. Ha // *Essentials of Medical Biochemistry*. – 2011. – Essentials Med. Biochem.
134. Birth prevalence rates of skeletal dysplasias / C. Stoll, B. Dott, M. -P Roth, Y. Alembik // *Clinical Genetics*. – 1989. – Vol. 35. – № 2. – P. 88-92.
135. BMD-related genetic risk scores predict site-specific fractures as well as trabecular and cortical bone microstructure / M. Nethander, U. Pettersson-Kymmer, L. Vandenput [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2020. – Vol. 105. – № 4. – P. E1344-E1357.
136. Body mass index as a predictor of fracture risk: A meta-analysis / C. De Laet, J. A. Kanis, A. Odén [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2005. – Vol. 16. – № 11. – P. 1330-1338.
137. Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. / J. A. Buckwalter, M. J. Glimcher, R. R. Cooper, R. Recker // *Instructional course lectures*. – 1996. – Vol. 45. – P. 371-386.
138. Bone involvement in adult patients affected with Ehlers-Danlos syndrome / C. Eller-Vainicher, A. Bassotti, A. Imeraj [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2016. – Vol. 27. – № 8. – P. 2525-2531.
139. Bone Marrow Stromal Stem Cells: Nature, Biology, and Potential Applications / P. Bianco, M. Riminucci, S. Gronthos, P. G. Robey // *Stem Cells*. – 2001. – Vol. 19. – № 3. – P. 180-192.
140. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study / J. Richards, F. Rivadeneira, M. Inouye [et al.] // *The Lancet*. – 2008. – Vol. 371. – № 9623. – P. 1505-1512.

141. Bone mineral density and bone turnover markers in women with connective tissue dysplasia / M. Y. Smetanin, S. Y. Nurgalieva, N. Y. Kononova [et al.] // *Practical medicine*. – 2019. – Vol. 17. – № 4. – P. 102-106.
142. Bone mineral density and fracture rate in response to intravenous and oral bisphosphonates in adult osteogenesis imperfecta / J. R. Shapiro, C. B. Thompson, Y. Wu [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 2010. – Vol. 87. – № 2. – P. 120-129.
143. Bone mineral density response rates are greater in patients treated with abaloparatide compared with those treated with placebo or teriparatide: Results from the ACTIVE phase 3 trial / P. D. Miller, G. Hattersley, E. Lau [et al.] // *Bone*. – 2019. – Vol. 120. – P. 137-140.
144. Boschitsch E. P. Age-related prevalence of osteoporosis and fragility fractures: real-world data from an Austrian Menopause and Osteoporosis Clinic / E. P. Boschitsch, E. Durchschlag, H. P. Dimai // *Climacteric*. – 2017. – Vol. 20. – № 2. – P. 157-163.
145. Boyce A. M. Denosumab: an Emerging Therapy in Pediatric Bone Disorders / A. M. Boyce // *Current Osteoporosis Reports*. – 2017. – Vol. 15. – № 4. – P. 283-292.
146. Braun H. J. Diagnosis of osteoarthritis: Imaging / H. J. Braun, G. E. Gold // *Bone*. – 2012. – Vol. 51. – № 2. – P. 278-288.
147. Brittle cornea syndrome: Recognition, molecular diagnosis and management / E. M. M. Burkitt Wright, L. F. Porter, H. L. Spencer [et al.] // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2013. – Vol. 8. – № 1.
148. BsmI vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial / S. Palomba, F. Orio, T. Russo [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2005. – Vol. 16. – № 8. – P. 943-952.

149. Budd E. Extracellular genomic biomarkers of osteoarthritis / E. Budd, G. Nalesso, A. Mobasher // *Expert Review of Molecular Diagnostics*. – 2018. – Vol. 18. – № 1. – P. 55-74.
150. Burguera E. F. Hydrogen Sulfide and Inflammatory Joint Diseases / E. F. Burguera, R. Mejjide-Failde, F. J. Blanco // *Current Drug Targets*. – 2016. – Vol. 18. – № 14.
151. Calcification of vascular smooth muscle cells is induced by secondary calciprotein particles and enhanced by tumor necrosis factor- $\alpha$  / P. Aghagolzadeh, M. Bachtler, R. Bijarnia [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2016. – Vol. 251. – P. 404-414.
152. Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use / V. B. Kraus, F. J. Blanco, M. Englund [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2015. – Vol. 23. – № 8. – P. 1233-1241.
153. Canalis E. Skeletal Growth Factors / E. Canalis // *Osteoporosis: Fourth Edition*. – 2013. – P. 391-410.
154. Carter D. R. Modelling cartilage mechanobiology / D. R. Carter, M. Wong // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2003. – Vol. 358. – № 1437. – P. 1461-1471.
155. Cavalli G. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease / G. Cavalli, E. Heard // *Nature*. – 2019. – Vol. 571. – № 7766. – P. 489-499.
156. Cawston T. E. Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and disease / T. E. Cawston, A. J. Wilson // *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*. – 2006. – Vol. 20. – № 5. – P. 983-1002.
157. Chan S. J. Hydrogen sulfide in stroke: Protective or deleterious? / S. J. Chan, P. T. H. Wong // *Neurochemistry International*. – 2017. – Vol. 105. – P. 1-10.
158. Changes of circulating MicroRNAs in response to treatment with teriparatide or denosumab in postmenopausal osteoporosis / A. D. Anastasilakis, P. Makras, M.

Pikilidou [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2018. – Vol. 103. – № 3. – P. 1206-1213.

159. Chen D. Bone morphogenetic proteins / D. Chen, M. Zhao, G. R. Mundy // *Growth Factors*. – 2004. – Vol. 22. – № 4. – P. 233-241.

160. Choice of lumbar spine bone density reference database for fracture prediction in men and women: A population-based analysis / W. D. Leslie, L. Langsetmo, W. Zhou [et al.] // *Journal of Clinical Densitometry*. – 2014. – Vol. 17. – № 2. – P. 295-300.

161. Chromatin-based mechanisms of temperature memory in plants / T. Friedrich, L. Faivre, I. Bäurle, D. Schubert // *Plant Cell and Environment*. – 2019. – Vol. 42. – № 3. – P. 762-770.

162. Chronic pain in patients with the hypermobility type of Ehlers–Danlos syndrome: evidence for generalized hyperalgesia / L. Rombaut, M. Scheper, I. De Wandele [et al.] // *Clinical Rheumatology*. – 2015. – Vol. 34. – № 6. – P. 1121-1129.

163. Chronic pain is a manifestation of the Ehlers-Danlos syndrome / A. Sacheti, J. Szemere, B. Bernstein [et al.] // *Journal of Pain and Symptom Management*. – 1997. – Vol. 14. – № 2. – P. 88-93.

164. Clinical and molecular analysis in families with autosomal recessive osteogenesis imperfecta identifies mutations in five genes and suggests genotype-phenotype correlations / J. A. Caparrós-Martin, M. Valencia, V. Pulido [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part A*. – 2013. – Vol. 161. – № 6. – P. 1354-1369.

165. Clinical and molecular characteristics of 168 probands and 65 relatives with a clinical presentation of classical Ehlers–Danlos syndrome / M. Colman, D. Syx, I. De Wandele [et al.] // *Human Mutation*. – 2021. – Vol. 42. – № 10. – P. 1294-1306.

166. Clinical and molecular characterization of 40 patients with classic Ehlers-Danlos syndrome: Identification of 18 COL5A1 and 2 COL5A2 novel mutations / M. Ritelli, C. Dordoni, M. Venturini [et al.] // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2013. – Vol. 8. – № 1.

167. Clinical and ultrastructural heterogeneity of type IV Ehlers-Danlos syndrome / P. H. Byers, K. A. Holbrook, B. McGillivray [et al.] // *Human Genetics*. – 1979. – Vol. 47. – № 2. – P. 141-150.
168. Cognitive impairment in women with joint hypermobility syndrome/Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type / C. Baeza-Velasco, C. Bourdon, R. Polanco-Carrasco [et al.] // *Rheumatology International*. – 2017. – Vol. 37. – № 6. – P. 937-939.
169. COL1A1/2 pathogenic variants and phenotype characteristics in Ukrainian osteogenesis imperfecta patients / L. Zhytnik, K. Maasalu, A. Pashenko [et al.] // *Frontiers in Genetics*. – 2019. – Vol. 10. – № JUL.
170. COL3A1 haploinsufficiency results in a variety of Ehlers-Danlos syndrome type IV with delayed onset of complications and longer life expectancy / D. F. Leistriz, M. G. Pepin, U. Schwarze, P. H. Byers // *Genetics in Medicine*. – 2011. – Vol. 13. – № 8. – P. 717-722.
171. Collaborative Meta-analysis: Associations of 150 Candidate Genes With Osteoporosis and Osteoporotic Fracture / J. P. A. Ioannidis, N. Soranzo, C. M. van Duijn [et al.] // *Annals of Internal Medicine*. – 2009. – Vol. 151. – № 8. – P. 528-537.
172. Collins J. A. Targeting aging for disease modification in osteoarthritis / J. A. Collins, B. O. Diekman, R. F. Loeser // *Current Opinion in Rheumatology*. – 2018. – Vol. 30. – № 1. – P. 101-107.
173. Common variants in OPG confer risk to bone mineral density variation and osteoporosis fractures / X. Sheng, G. Cai, X. Gong [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – № 1.
174. COMP acts as a catalyst in collagen fibrillogenesis / K. Halász, A. Kassner, M. Mörgelin, D. Heinegård // *Journal of Biological Chemistry*. – 2007. – Vol. 282. – № 43. – P. 31166-31173.
175. Comparison of the Prevalence of Knee Osteoarthritis between the Elderly Chinese Population in Beijing and Whites in the United States: The Beijing

Osteoarthritis Study / Y. Zhang, L. Xu, M. C. Nevitt [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2001. – Vol. 44. – № 9. – P. 2065-2071.

176. Comparison of three sets of clinical classification criteria for knee osteoarthritis: a cross-sectional study of 13,459 patients treated in primary care / S. T. Skou, B. W. Koes, D. T. Grønne [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2020. – Vol. 28. – № 2. – P. 167-172.

177. Complex heterozygous WNT1 mutation in severe recessive osteogenesis imperfecta of a Chinese patient / Y. Lu, Y. Dai, Y. Wang [et al.] // *Intractable and Rare Diseases Research*. – 2018. – Vol. 7. – № 1. – P. 19-24.

178. Comprehensive genetic analyses using targeted next-generation sequencing and genotype-phenotype correlations in 53 Japanese patients with osteogenesis imperfecta / Y. Ohata, S. Takeyari, Y. Nakano [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2019. – Vol. 30. – № 11. – P. 2333-2342.

179. Comprehensive molecular analysis demonstrates type V collagen mutations in over 90% of patients with classic EDS and allows to refine diagnostic criteria / S. Symoens, D. Syx, F. Malfait [et al.] // *Human Mutation*. – 2012. – Vol. 33. – № 10. – P. 1485-1493.

180. Compston J. Obesity and fractures in postmenopausal women / J. Compston // *Current Opinion in Rheumatology*. – 2015. – Vol. 27. – № 4. – P. 414-419.

181. Compston J. E. Osteoporosis / J. E. Compston, M. R. McClung, W. D. Leslie // *The Lancet*. – 2019. – Vol. 393. – № 10169. – P. 364-376.

182. Cone-Beam Computed Tomography of Osteogenesis Imperfecta Types III and IV: Three-Dimensional Evaluation of Craniofacial Features and Upper Airways / N. Reznikov, D. Dagdeviren, F. Tamimi [et al.] // *JBMR Plus*. – 2019. – Vol. 3. – № 6.

183. Consensus statement on physical rehabilitation in children and adolescents with osteogenesis imperfecta / B. Mueller, R. Engelbert, F. Baratta-Ziska [et al.] // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2018. – Vol. 13.



184. Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters / R. P. Nagarajan, C. Hong, X. Xing [et al.] // *Nature*. – 2010. – Vol. 466. – № 7303. – P. 253-257.
185. Correlation between growth differentiation factor 5 (rs143383) gene polymorphism and knee osteoarthritis: an updated systematic review and meta-analysis / B. Jia, Y. Jiang, Y. Xu [et al.] // *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. – 2021. – Vol. 16. – № 1.
186. Cortical and trabecular bone microarchitecture as an independent predictor of incident fracture risk in older women and men in the Bone Microarchitecture International Consortium (BoMIC): a prospective study / E. J. Samelson, K. E. Broe, H. Xu [et al.] // *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. – 2019. – Vol. 7. – № 1. – P. 34-43.
187. Cortini F. Ehlers-Danlos syndromes and epilepsy: An updated review / F. Cortini, C. Villa // *Seizure*. – 2018. – Vol. 57. – P. 1-4.
188. Cross-calibration of dual-energy X-ray densitometers for a large, multi-center genetic study of osteoporosis / D. M. Reid, I. Mackay, S. Wilkinson [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2006. – Vol. 17. – № 1. – P. 125-132.
189. Cross-sectional associations between adipose tissue depots and areal bone mineral density in the UK Biobank imaging study / V. L. Bland, Y. C. Klimentidis, J. W. Bea [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2022. – Vol. 33. – № 2. – P. 391-402.
190. CRTAP and LEPRE1 mutations in recessive osteogenesis imperfecta / D. Baldrige, U. Schwarze, R. Morello [et al.] // *Human Mutation*. – 2008. – Vol. 29. – № 12. – P. 1435-1442.
191. Current Epidemiology and Risk Factors for the Development of Hand Osteoarthritis / B. Plotz, F. Bomfim, M. A. Sohail, J. Samuels // *Current Rheumatology Reports*. – 2021. – Vol. 23. – № 8.

192. Current evidence on risk factors for knee osteoarthritis in older adults: A systematic review and meta-analysis / V. Silverwood, M. Blagojevic-Bucknall, C. Jinks [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2015. – Vol. 23. – № 4. – P. 507-515.
193. Cyclic Administration of Pamidronate in Children with Severe Osteogenesis Imperfecta / F. H. Glorieux, N. J. Bishop, H. Plotkin [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 1998. – Vol. 339. – № 14. – P. 947-952.
194. Cyclic bisphosphonate therapy reduces pain and improves physical functioning in children with osteogenesis imperfecta / M. D. Garganta, S. S. Jaser, M. A. Lazow [et al.] // *BMC Musculoskeletal Disorders*. – 2018. – Vol. 19. – № 1.
195. Cystathionine  $\gamma$ -Lyase-Hydrogen Sulfide Induces Runt-Related Transcription Factor 2 Sulfhydration, Thereby Increasing Osteoblast Activity to Promote Bone Fracture Healing / Y. Zheng, F. Liao, X. Lin [et al.] // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2017. – Vol. 27. – № 11. – P. 742-753.
196. Daghestani H. N. Soluble macrophage biomarkers indicate inflammatory phenotypes in patients with knee osteoarthritis / H. N. Daghestani, C. F. Pieper, V. B. Kraus // *Arthritis and Rheumatology*. – 2015. – Vol. 67. – № 4. – P. 956-965.
197. Dayer J. M. The process of identifying and understanding cytokines: From basic studies to treating rheumatic diseases / J. M. Dayer // *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*. – 2004. – Vol. 18. – № 1. – P. 31-45.
198. Decreased chondrocyte proliferation and dysregulated apoptosis in the cartilage growth plate are key features of a murine model of epiphyseal dysplasia caused by a *matn3* mutation / M. P. Leighton, S. Nundlall, T. Starborg [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2007. – Vol. 16. – № 14. – P. 1728-1741.
199. Deficiency of Cartilage-Associated Protein in Recessive Lethal Osteogenesis Imperfecta / A. M. Barnes, W. Chang, R. Morello [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2006. – Vol. 355. – № 26. – P. 2757-2764.

200. Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: Observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients / K. Shimizu, N. Okamoto, N. Miyake [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part A.* – 2011. – Vol. 155. – № 8. – P. 1949-1958.
201. Demonstration of insulin receptors and modulation of alkaline phosphatase activity by insulin in rat osteoblastic cells / J. R. Levy, E. Murray, S. Manolagas, J. M. Olefsky // *Endocrinology.* – 1986. – Vol. 119. – № 4. – P. 1786-1792.
202. Dempster E. R. Heritability of Threshold Characters / E. R. Dempster, I. M. Lerner // *Genetics.* – 1950. – Vol. 35. – № 2. – P. 212-236.
203. Demystifying the Discussion of Sequencing Panel Size in Oncology Genetic Testing / C. Durães, C. Pereira Gomes, J. L. Costa, L. Quagliata // *European Medical Journal.* – 2022. – P. 68-77.
204. Description of Normative Spine TBS Data for Men and Women in Mexican Population / M. Á. Guagnelli, R. Winzenrieth, M. Deleze [et al.] // *Journal of Clinical Densitometry.* – 2021. – Vol. 24. – № 1. – P. 129-134.
205. Detection of transcripts for the receptor for macrophage colony-stimulating factor, c-fms, in murine osteoclasts / W. Hofstetter, A. Wetterwald, M. C. Cecchini [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 1992. – Vol. 89. – № 20. – P. 9637-9641.
206. Development and validation of a prediction model for incident hand osteoarthritis in the HUNT study / M. B. Johnsen, K. Magnusson, S. Børte [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage.* – 2020. – Vol. 28. – № 7. – P. 932-940.
207. Development of a clinical prediction algorithm for knee osteoarthritis structural progression in a cohort study: Value of adding measurement of subchondral bone density / M. P. LaValley, G. H. Lo, L. L. Price [et al.] // *Arthritis Research and Therapy.* – 2017. – Vol. 19. – № 1.

208. Development of a prediction model for future risk of radiographic hip osteoarthritis / F. Saberi Hosnijeh, M. Kavousi, C. G. Boer [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2018. – Vol. 26. – № 4. – P. 540-546.
209. Diagnostic accuracy of FRAX in predicting the 10-year risk of osteoporotic fractures using the USA treatment thresholds: A systematic review and meta-analysis / X. Jiang, M. Gruner, F. Trémollières [et al.] // *Bone*. – 2017. – Vol. 99. – P. 20-25.
210. Diagnostic strategies and genotype-phenotype correlation in a large Indian cohort of osteogenesis imperfecta / J. Mrosk, G. S. L. Bhavani, H. Shah [et al.] // *Bone*. – 2018. – Vol. 110. – P. 368-377.
211. Differences in manifestations of Marfan syndrome, Ehlers-Danlos syndrome, and Loeys-Dietz syndrome / J. A. N. Meester, A. Verstraeten, D. Schepers [et al.] // *Annals of Cardiothoracic Surgery*. – 2017. – Vol. 6. – № 6. – P. 582-594.
212. Differences in MRI features between two different osteoarthritis subpopulations: Data from the Osteoarthritis Initiative / R. H. Roze, S. M. A. Bierma-Zeinstra, R. Agricola [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2016. – Vol. 24. – № 5. – P. 822-826.
213. Differences in recurrent COL7A1 mutations in dystrophic epidermolysis bullosa: Ethnic-specific and worldwide recurrent mutations / T. Murata, T. Masunaga, A. Ishiko [et al.] // *Archives of Dermatological Research*. – 2004. – Vol. 295. – № 10. – P. 442-447.
214. Differences in skeletal microarchitecture and strength in African-American and white women / M. S. Putman, E. W. Yu, H. Lee [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2013. – Vol. 28. – № 10. – P. 2177-2185.
215. Different effects of age, adiposity and physical activity on the risk of ankle, wrist and hip fractures in postmenopausal women / M. E. G. Armstrong, B. J. Cairns, E. Banks [et al.] // *Bone*. – 2012. – Vol. 50. – № 6. – P. 1394-1400.

216. Differential effects of interleukin-6 receptor activation on intracellular signaling and bone resorption by isolated rat osteoclasts / B. S. Moonga, O. A. Adebajo, H. J. Wang [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 2002. – Vol. 173. – № 3. – P. 395-405.
217. Differential microRNA expression in cultured palatal fibroblasts from infants with cleft palate and controls. / S. C, G. JC, A. S [et al.] // *European journal of orthodontics*. – 2018. – Vol. 40. – № 1. – P. 90-96.
218. Digital X-ray radiogrammetry better identifies osteoarthritis patients with a low bone mineral density than quantitative ultrasound / G. W. Goerres, D. Frey, T. F. Hany [et al.] // *European Radiology*. – 2007. – Vol. 17. – № 4. – P. 965-974.
219. Direct in vivo demonstration by radioautography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and renal tissues of the rat / H. Warshawsky, D. Goltzman, M. F. Rouleau, J. J. M. Bergeron // *Journal of Cell Biology*. – 1980. – Vol. 85. – № 3. – P. 682-694.
220. Disability in Adolescents and Adults Diagnosed With Hypermobility-Related Disorders: A Meta-Analysis. / S. M.C., J. B., R. L. [et al.] // *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. – 2016. – Vol. 97. – № 12. – P. 2174-2187.
221. Distinct DNA methylation profiles in bone and blood of osteoporotic and healthy postmenopausal women / S. Reppe, T. G. Lien, Y. H. Hsu [et al.] // *Epigenetics*. – 2017. – Vol. 12. – № 8. – P. 674-687.
222. Distinctive expression pattern of cystathionine- $\beta$ -synthase and cystathionine- $\gamma$ -lyase identifies mesenchymal stromal cells transition to mineralizing osteoblasts / L. Gambari, G. Lisignoli, E. Gabusi [et al.] // *Journal of Cellular Physiology*. – 2017. – Vol. 232. – № 12. – P. 3574-3585.
223. Djuranovic S. A parsimonious model for gene regulation by miRNAs / S. Djuranovic, A. Nahvi, R. Green // *Science*. – 2011. – Vol. 331. – № 6017. – P. 550-553.

224. DNA methylation and noncoding RNA in OA: Recent findings and methodological advances / V. Izda, J. Martin, C. Sturdy, M. A. Jeffries // *Osteoarthritis and Cartilage Open*. – 2021. – Vol. 3. – № 4. – P. 100208.
225. DNA methylation regulates sclerostin (SOST) expression in osteoarthritic chondrocytes by bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) induced changes in Smads binding affinity to the CpG region of SOST promoter / I. Papathanasiou, F. Kostopoulou, K. N. Malizos, A. Tsezou // *Arthritis Research and Therapy*. – 2015. – Vol. 17. – № 1.
226. DNA sequence analysis in 598 individuals with a clinical diagnosis of osteogenesis imperfecta: diagnostic yield and mutation spectrum / G. Bardai, P. Moffatt, F. H. Glorieux, F. Rauch // *Osteoporosis International*. – 2016. – Vol. 27. – № 12. – P. 3607-3613.
227. Does the c.-14C>T Mutation in the IFITM5 Gene Provide Identical Phenotypes for Osteogenesis Imperfecta Type V? Data from Russia and a Literature Review / A. Tyurin, E. Merkuryeva, A. Zaripova [et al.] // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10. – № 10.
228. Dong X. Bioinformatic analysis of microRNA expression in Huntington's disease / X. Dong, S. Cong // *Molecular Medicine Reports*. – 2018. – Vol. 18. – № 3. – P. 2857-2865.
229. Downregulation of microRNA-152 contributes to high expression of DKK1 in multiple myeloma / Y. Xu, B. Chen, S. K. George, B. Liu // *RNA Biology*. – 2015. – Vol. 12. – № 12. – P. 1314-1322.
230. Eagleton M. J. Arterial complications of vascular Ehlers-Danlos syndrome / M. J. Eagleton // *Journal of Vascular Surgery*. – 2016. – Vol. 64. – № 6. – P. 1869-1880.
231. Early diagnosis to enable early treatment of pre-osteoarthritis / C. R. Chu, A. A. Williams, C. H. Coyle, M. E. Bowers // *Arthritis Research and Therapy*. – 2012. – Vol. 14. – № 3.

232. Efectos del tratamiento con ácido zoledrónico en pacientes adultos con osteogénesis imperfecta / S. P. De Paz, P. I. Bolaños, M. D. Martínez [et al.] // *Endocrinología y Nutrición*. – 2010. – Vol. 57. – № 6. – P. 245-250.
233. Effects of intensive diet and exercise on knee joint loads, inflammation, and clinical outcomes among overweight and obese adults with knee osteoarthritis: The IDEA randomized clinical trial / S. P. Messier, S. L. Mihalko, C. Legault [et al.] // *JAMA – Journal of the American Medical Association*. – 2013. – Vol. 310. – № 12. – P. 1263-1273.
234. Effects of oral alendronate on BMD in adult patients with osteogenesis imperfecta: A 3-year randomized placebo-controlled trial / G. Chevrel, A. M. Schott, E. Fontanges [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2006. – Vol. 21. – № 2. – P. 300-306.
235. Effects of total and regional fat loss on plasma CRP and IL-6 in overweight and obese, older adults with knee osteoarthritis / K. M. Beavers, D. P. Beavers, J. J. Newman [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2015. – Vol. 23. – № 2. – P. 249-256.
236. Efficacy of teriparatide vs neridronate in adults with osteogenesis imperfecta type I: A prospective randomized international clinical study / P. T. Leali, M. Balsano, G. Maestretti [et al.] // *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. – 2017. – Vol. 14. – № 2. – P. 153-156.
237. Ehlers-Danlos syndrome type IV: A multi-exon deletion in one of the two COL3A1 alleles affecting structure, stability, and processing of type III procollagen / A. Superti-Furga, E. Gugler, R. Gitzelmann, B. Steinmann // *Journal of Biological Chemistry*. – 1988. – Vol. 263. – № 13. – P. 6226-6232.
238. Ehlers-Danlos syndrome type VII: Clinical features and molecular defects / C. Giunta, A. Superti-Furga, S. Spranger [et al.] // *Journal of Bone and Joint Surgery*. – 1999. – Vol. 81. – № 2. – P. 225-238.

239. Ehlers-Danlos syndrome type VIIA and VIIB result from splice-junction mutations or genomic deletions that involve exon 6 in the COL1A1 and COL1A2 genes of type I collagen / P. H. Byers, M. Duvic, M. Atkinson [et al.] // *American Journal of Medical Genetics*. – 1997. – Vol. 72. – № 1. – P. 94-105.
240. Ehlers-Danlos Syndromes: Revised Nosology, Villefranche, 1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK) / B. P, D. P. A, S. B [et al.] // *American journal of medical genetics*. – 1998. – Vol. 77. – № 1.
241. Ehlers-Danlos syndromes: state of the art on clinical practice guidelines. / S. A, T. R, S. CA [et al.] // *RMD open*. – 2018. – Vol. 4. – P. e000790.
242. Elastic fiber abnormalities in hypermobility type Ehlers-Danlos syndrome patients with tenascin-X mutations / M. C. Zweers, W. B. Dean, T. H. van Kuppevelt [et al.] // *Clinical Genetics*. – 2005. – Vol. 67. – № 4. – P. 330-334.
243. Ellis B. Versus Arthritis: Chronic Pain in England / B. Ellis, M. Ly, S. Steinberger. – 2021.
244. Elmardi A. S. Electron microscopy of developing calvaria reveals images that suggest that osteoclasts engulf and destroy osteocytes during bone resorption / A. S. Elmardi, M. V. Katchburian, E. Katchburian // *Calcified Tissue International*. – 1990. – Vol. 46. – № 4. – P. 239-245.
245. Endogenous nitric oxide production in canine osteoarthritis: Detection in urine, serum, and synovial fluid specimens / D. Spreng, N. Sigrist, A. Schweighauser [et al.] // *Veterinary Surgery*. – 2001. – Vol. 30. – № 2. – P. 191-199.
246. Epidemiology of fractures in the United Kingdom 1988-2012: Variation with age, sex, geography, ethnicity and socioeconomic status / E. M. Curtis, R. van der Velde, R. J. Moon [et al.] // *Bone*. – 2016. – Vol. 87. – P. 19-26.
247. Epidemiology of lumbar osteoporosis and osteoarthritis and their causal relationship-is osteoarthritis a predictor for osteoporosis or vice versa?: The miyama



study / N. Yoshimura, S. Muraki, H. Oka [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2009. – Vol. 20. – № 6. – P. 999-1008.

248. Epigenetic regulation of chondrocyte catabolism and anabolism in osteoarthritis / H. Kim, D. Kang, Y. Cho, J. H. Kim // *Molecules and Cells*. – 2015. – Vol. 38. – № 8. – P. 677-684.

249. Epigenetics in osteoarthritis: Novel spotlight / A. Fathollahi, S. Aslani, A. Jamshidi, M. Mahmoudi // *Journal of Cellular Physiology*. – 2019. – Vol. 234. – № 8. – P. 12309-12324.

250. Epigenome-wide Association of DNA Methylation in Whole Blood With Bone Mineral Density / J. A. Morris, P. C. Tsai, R. Joehanes [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2017. – Vol. 32. – № 8. – P. 1644-1650.

251. ERAM: Encyclopedia of rare disease annotations for precision medicine / J. Jia, Z. An, Y. Ming [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2018. – Vol. 46. – № D1. – P. D937-D943.

252. Estimated epidemiology of osteoporosis diagnoses and osteoporosis-related high fracture risk in Germany: a German claims data analysis / P. Hadji, F. Hardtstock, T. Wilke [et al.] // *Archives of Osteoporosis*. – 2020. – Vol. 15. – № 1.

253. Estrogen Decreases Osteoclast Formation by Down-regulating Receptor Activator of NF- $\kappa$ B Ligand (RANKL)-induced JNK Activation / S. Srivastava, G. Toraldo, M. N. Weitzmann [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – Vol. 276. – № 12. – P. 8836-8840.

254. Estrogen inhibits bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone-resorbing osteoclasts / T. Kameda, H. Mano, T. Yuasa [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 1997. – Vol. 186. – № 4. – P. 489-495.

255. EULAR/EFORT recommendations for management of patients older than 50 years with a fragility fracture and prevention of subsequent fractures / W. F. Lems, K.

E. Dreinhöfer, H. Bischoff-Ferrari [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2017. – Vol. 76. – № 5. – P. 802-810.

256. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of hand osteoarthritis: report of a task force of ESCISIT / W. Zhang, M. Doherty, B. F. Leeb [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2009. – Vol. 68. – № 1. – P. 8-17.

257. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women / J. A. Kanis, C. Cooper, R. Rizzoli, J. Y. Reginster // *Osteoporosis International*. – 2019. – Vol. 30. – № 1. – P. 3-44.

258. Evaluation of teriparatide treatment in adults with osteogenesis imperfecta / E. S. Orwoll, J. Shapiro, S. Veith [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2014. – Vol. 124. – № 2. – P. 491-498.

259. Evidence for Progesterone Receptors in Human Osteoblast-like Cells / L. L. Wei, M. W. Leach, R. S. Miner, L. M. Demers // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1993. – Vol. 195. – № 2. – P. 525-532.

260. Evidence supporting dual, IGF-I-independent and IGF-I-dependent, roles for GH in promoting longitudinal bone growth / J. Wang, J. Zhou, C. M. Cheng [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 2004. – Vol. 180. – № 2. – P. 247-255.

261. Evidence that abnormal high bone mineralization in growing children with osteogenesis imperfecta is not associated with specific collagen mutations / P. Roschger, N. Fratzl-Zelman, B. M. Misof [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 2008. – Vol. 82. – № 4. – P. 263-270.

262. Excessive transforming growth factor- $\beta$  2 signaling is a common mechanism in osteogenesis imperfecta / I. Grafe, T. Yang, S. Alexander [et al.] // *Nature Medicine*. – 2014. – Vol. 20. – № 6. – P. 670-675.

263. Experimental pain phenotyping in community-dwelling individuals with knee osteoarthritis / J. S. Cardoso, J. L. Riley, T. Glover [et al.] // *Pain*. – 2016. – Vol. 157. – № 9. – P. 2104-2114.

264. Expression of bone resorption genes in osteoarthritis and in osteoporosis / D. B. Logar, R. Komadina, J. Preželj [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. – 2007. – Vol. 25. – № 4. – P. 219-225.
265. Extracutaneous features and complications of the Ehlers-Danlos syndromes: A systematic review / B. J. Doolan, M. E. Lavalley, I. Hausser [et al.] // *Frontiers in Medicine*. – 2023. – Vol. 10.
266. Eyre D. R. Bone collagen: New clues to its mineralization mechanism from recessive osteogenesis imperfecta / D. R. Eyre, M. A. Weis // *Calcified Tissue International*. – 2013. – Vol. 93. – № 4. – P. 338-347.
267. Factors influencing lumbar spine bone mineral density assessment by dual-energy X-ray absorptiometry: Comparison with lumbar spinal radiogram / H. Kinoshita, T. Tamaki, T. Hashimoto, F. Kasagi // *Journal of Orthopaedic Science*. – 1998. – Vol. 3. – № 1. – P. 3-9.
268. FAM46A mutations are responsible for autosomal recessive osteogenesis imperfecta / D. M., B. S., H. C. [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. – 2018. – Vol. 55. – № 4. – P. 278-284.
269. Fatigue Is a Frequent and Clinically Relevant Problem in Ehlers-Danlos Syndrome / N. C. Voermans, H. Knoop, N. van de Kamp [et al.] // *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. – 2010. – Vol. 40. – № 3. – P. 267-274.
270. Faustino A. Osteoarthritis in the 21st century – a new paradigm: Osteoarthritis and Osteoarthrosis / A. Faustino // *Acta Reumatologica Portuguesa*. – 2021. – Vol. 46. – № 3. – P. 205-207.
271. Feigenbaum. Echocardiography / Feigenbaum, Harvey. – 5. – Москва : Видар, 1999.
272. Felson D. T. Epidemiologic studies for osteoarthritis: New versus conventional study design approaches / D. T. Felson, M. C. Nevitt // *Rheumatic Disease Clinics of North America*. – 2004. – Vol. 30. – № 4. – P. 783-797.

273. Fetal skeletal dysplasias in a tertiary care center: Radiology, pathology, and molecular analysis of 112 cases / E. Barkova, U. Mohan, D. Chitayat [et al.] // *Clinical Genetics*. – 2015. – Vol. 87. – № 4. – P. 330-337.
274. Fetal stem cell transplantation and gene therapy / R. Sagar, C. Götherström, A. L. David, M. Westgren // *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. – 2019. – Vol. 58. – P. 142-153.
275. Fibromodulin-null mice have abnormal collagen fibrils, tissue organization, and altered lumican deposition in tendon / L. Svensson, A. Aszódi, F. P. Reinholt [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – Vol. 274. – № 14. – P. 9636-9647.
276. Finding the missing heritability of complex diseases / T. A. Manolio, F. S. Collins, N. J. Cox [et al.] // *Nature*. – 2009. – Vol. 461. – № 7265. – P. 747-753.
277. Five freely circulating miRNAs and bone tissue miRNAs are associated with osteoporotic fractures / C. Seeliger, K. Karpinski, A. T. Haug [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2014. – Vol. 29. – № 8. – P. 1718-1728.
278. FKBP14 Kyphoscoliotic Ehlers-Danlos Syndrome / C. Giunta, M. Rohrbach, C. Fauth, M. Baumann // *GeneReviews®*. – 1993.
279. Foss M. V. Bone density, osteoarthritis of the hip, and fracture of the upper end of the femur. / M. V. Foss, P. D. Byers // *Annals of the rheumatic diseases*. – 1972. – Vol. 31. – № 4. – P. 259-264.
280. Fracture Patterns Differ between Osteogenesis Imperfecta and Routine Pediatric Fractures / P. K.V., S. B.T., M. A., S. P.D. // *Journal of Pediatric Orthopaedics*. – 2018. – Vol. 38. – № 4. – P. e207-e212.
281. FRAX updates 2016 / E. V. McCloskey, N. C. Harvey, H. Johansson, J. A. Kanis // *Current Opinion in Rheumatology*. – 2016. – Vol. 28. – № 4. – P. 433-441.
282. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK / J. A. Kanis, O. Johnell, A. Oden [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2008. – Vol. 19. – № 4. – P. 385-397.

283. FRI0545 Risk factors predicting radiological progression of knee osteoarthritis / L. Alekseeva, S. Anikin, N. Kashevarova [et al.]. – 2018. – P. 797.3-798.
284. Frost H. M. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's law: The bone modeling problem / H. M. Frost // *Anatomical Record*. – 1990. – Vol. 226. – № 4. – P. 403-413.
285. Function and regulation of the PEA3 subfamily of ETS transcription factors in cancer. / T. Qi, Q. Qu, G. Li [et al.] // *American journal of cancer research*. – 2020. – Vol. 10. – № 10. – P. 3083-3105.
286. Functional Significance of Bone Density Measurements in Children With Osteogenesis Imperfecta / R. P. HUANG, C. G. AMBROSE, E. SULLIVAN, R. J. HAYNES // *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*. – 2006. – Vol. 88. – № 6. – P. 1324-1330.
287. Further delineation of FKBP14-related Ehlers–Danlos syndrome: A patient with early vascular complications and non-progressive kyphoscoliosis, and literature review / C. Dordoni, C. Ciaccio, M. Venturini [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part A*. – 2016. – Vol. 170. – № 8. – P. 2031-2038.
288. Gasotransmitters in health and disease: a mitochondria-centered view / K. D. Hendriks, H. Maassen, P. R. van Dijk [et al.] // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2019. – Vol. 45. – P. 87-93.
289. Gene mutation analysis of a Chinese family with osteogenesis imperfecta / Z. Wang, D. L. Xu, J. Y. Hu [et al.] // *Chinese Journal of Medical Genetics*. – 2006. – Vol. 23. – № 2. – P. 192-194.
290. Gene mutation spectrum and genotype-phenotype correlation in a cohort of Chinese osteogenesis imperfecta patients revealed by targeted next generation sequencing / Y. Liu, Asan, D. Ma [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2017. – Vol. 28. – № 10. – P. 2985-2995.

291. General joint laxity in 1845 Swedish school children of different ages: Age- and gender-specific distributions / A. Jansson, T. Saartok, S. Werner, P. Renström // *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*. – 2004. – Vol. 93. – № 9. – P. 1202-1206.
292. Genetic analysis of autosomal recessive osteopetrosis in Chuvashiya: The unique splice site mutation in TCIRG1 gene spread by the founder effect / E. A. Bliznetz, S. M. Tverskaya, R. A. Zinchenko [et al.] // *European Journal of Human Genetics*. – 2009. – Vol. 17. – № 5. – P. 664-672.
293. Genetic and biochemical analyses of Israeli osteogenesis imperfecta patients. / L. Ries-Levavi, T. Ish-Shalom, M. Frydman [et al.] // *Human mutation*. – 2004. – Vol. 23. – № 4. – P. 399-400.
294. Genetic and developmental disorders of the oral mucosa: Epidemiology; molecular mechanisms; diagnostic criteria; management / R. Pinna, F. Cocco, G. Campus [et al.] // *Periodontology 2000*. – 2019. – Vol. 80. – № 1. – P. 12-27.
295. Genetic biomarkers in osteoarthritis: a quick overview / I. Rego-Pérez, A. Durán-Sotuela, P. Ramos-Louro, F. J. Blanco // *Faculty Reviews*. – 2021. – Vol. 10.
296. Genetic effects on gene expression across human tissues / F. Aguet, A. A. Brown, S. E. Castel [et al.] // *Nature*. – 2017. – Vol. 550. – № 7675. – P. 204-213.
297. Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfecta / K. Lindahl, E. Åström, C. J. Rubin [et al.] // *European Journal of Human Genetics*. – 2015. – Vol. 23. – № 8. – P. 1042-1050.
298. Genetic polymorphism of geranylgeranyl diphosphate synthase (GGSP1) predicts bone density response to bisphosphonate therapy in Korean women / H. J. Choi, J. Y. Choi, S. W. Cho [et al.] // *Yonsei Medical Journal*. – 2010. – Vol. 51. – № 2. – P. 231-238.

299. Genetic susceptibility to total hip arthroplasty failure: A case-control study on the influence of MMP 1 gene polymorphism / Y. Yan, J. Hu, H. Lu, W. Wang // *Diagnostic Pathology*. – 2014. – Vol. 9. – № 1.
300. Genetic variation in the SMAD3 gene is associated with hip and knee osteoarthritis / A. M. Valdes, T. D. Spector, A. Tamm [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2010. – Vol. 62. – № 8. – P. 2347-2352.
301. Genetics of osteoarthritis / G. Aubourg, S. J. Rice, P. Bruce-Wootton, J. Loughlin // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2022. – Vol. 30. – № 5. – P. 636-649.
302. Genome-wide analyses using UK Biobank data provide insights into the genetic architecture of osteoarthritis / E. Zengini, K. Hatzikotoulas, I. Tachmazidou [et al.] // *Nature Genetics*. – 2018. – Vol. 50. – № 4. – P. 549-558.
303. Genome-wide association and functional studies identify a role for matrix Gla protein in osteoarthritis of the hand / W. Den Hollander, C. G. Boer, D. J. Hart [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2017. – Vol. 76. – № 12. – P. 2046-2053.
304. Genome-wide association with bone mass and geometry in the framingham heart study / D. P. Kiel, S. Demissie, J. Dupuis [et al.] // *BMC Medical Genetics*. – 2007. – Vol. 8. – № SUPPL. 1.
305. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture / K. Estrada, U. Styrkarsdottir, E. Evangelou [et al.] // *Nature Genetics*. – 2012. – Vol. 44. – № 5. – P. 491-501.
306. Genome-wide profiling of bone reveals differentially methylated regions in osteoporosis and osteoarthritis / J. Delgado-Calle, A. F. Fernández, J. Sainz [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2013. – Vol. 65. – № 1. – P. 197-205.
307. Genotype-phenotype correlation among Malaysian patients with osteogenesis imperfecta / N. Mohd Nawawi, N. M. Selveindran, R. Rasat [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2018. – Vol. 484. – P. 141-147.

308. GH in combination with bisphosphonate treatment in osteogenesis imperfecta / F. Antoniazzi, E. Monti, G. Venturi [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2010. – Vol. 163. – № 3. – P. 479-487.
309. Global, regional and national burden of osteoarthritis 1990-2017: A systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2017 / S. Safiri, A. A. Kolahi, E. Smith [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2020.
310. Global estimates of the need for rehabilitation based on the Global Burden of Disease study 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 / A. Cieza, K. Causey, K. Kamenov [et al.] // *The Lancet*. – 2020. – Vol. 396. – № 10267. – P. 2006-2017.
311. Globus R. K. Cultured bovine bone cells synthesize basic fibroblast growth factor and store it in their extracellular matrix / R. K. Globus, J. Plouet, D. Gospodarowicz // *Endocrinology*. – 1989. – Vol. 124. – № 3. – P. 1539-1547.
312. Glycoprotein 130 regulates bone turnover and bone size by distinct downstream signaling pathways / N. A. Sims, B. J. Jenkins, J. M. W. Quinn [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2004. – Vol. 113. – № 3. – P. 379-389.
313. Goldring M. B. Cartilage homeostasis in health and rheumatic diseases / M. B. Goldring, K. B. Marcu // *Arthritis Research and Therapy*. – 2009. – Vol. 11. – № 3.
314. Goldring S. R. The Role of Bone in Osteoarthritis Pathogenesis / S. R. Goldring // *Rheumatic Disease Clinics of North America*. – 2008. – Vol. 34. – № 3. – P. 561-571.
315. Grandi F. C. Epigenetic Therapies for Osteoarthritis / F. C. Grandi, N. Bhutani // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2020. – Vol. 41. – № 8. – P. 557-569.
316. Greally J. M. A user's guide to the ambiguous word "epigenetics" / J. M. Greally // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2018. – Vol. 19. – № 4. – P. 207-208.
317. Growth characteristics in individuals with osteogenesis imperfecta in North America: results from a multicenter study / M. Jain, A. Tam, J. R. Shapiro [et al.] // *Genetics in Medicine*. – 2019. – Vol. 21. – № 2. – P. 275-283.



318. Growth factors regulate the synthesis of insulin-like growth factor-i in bone cell cultures / E. Canalis, J. Pash, B. Gabbitas [et al.] // *Endocrinology*. – 1993. – Vol. 133. – № 1. – P. 33-38.
319. Growth hormone (Gh) receptors in clonal osteoblast- like cells mediate a mitogenic response to gh / R. Barnardt, K. W. Ng, T. J. Martin, M. J. Waters // *Endocrinology*. – 1991. – Vol. 128. – № 3. – P. 1459-1464.
320. Guarnieri V. Clinical Relevance of Joint Hypermobility and Its Impact on Musculoskeletal Pain and Bone Mass / V. Guarnieri, M. Castori // *Current Osteoporosis Reports*. – 2018. – Vol. 16. – № 4. – P. 333-343.
321. Guidelines of the russian scientific medical society of internal medicine on the diagnosis, treatment and rehabilitation of patients with the connective tissue dysplasia (First edition) // *Medical News of North Caucasus*. – 2018. – Vol. 13. – № 1. – P. 137-209.
322. Gujar H. The roles of human DNA methyltransferases and their isoforms in shaping the epigenome / H. Gujar, D. J. Weisenberger, G. Liang // *Genes*. – 2019. – Vol. 10. – № 2.
323. GYY4137 stimulates osteoblastic cell proliferation and differentiation via an ERK1/2-dependent anti-oxidant mechanism / M. Lv, Y. Liu, T. H. Xiao [et al.] // *American Journal of Translational Research*. – 2017. – Vol. 9. – № 3. – P. 1183-1192.
324. H. Z. Body mass index and risk of knee osteoarthritis: Systematic review and meta-analysis of prospective studies / Z. H., C. C. // *BMJ Open*. – 2015. – Vol. 5. – № 12.
325. Haas A. V. Osteoanabolic agents for osteoporosis / A. V. Haas, M. S. LeBoff // *Journal of the Endocrine Society*. – 2018. – Vol. 2. – № 8. – P. 922-932.
326. Hadjidakis D. J. Bone remodeling / D. J. Hadjidakis, I. I. Androulakis // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 1092. – P. 385-396.

327. Hanagata N. IFITM5 mutations and osteogenesis imperfecta / N. Hanagata // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. – 2016. – Vol. 34. – № 2. – P. 123-131.
328. Hand osteoarthritis: clinical phenotypes, molecular mechanisms and disease management / M. Marshall, F. E. Watt, T. L. Vincent, K. Dziedzic // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2018. – Vol. 14. – № 11. – P. 641-656.
329. Harvey N. Osteoporosis: A lifecourse approach / N. Harvey, E. Dennison, C. Cooper // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2014. – Vol. 29. – № 9. – P. 1917-1925.
330. Hausser I. Differential ultrastructural aberrations of collagen fibrils in Ehlers-Danlos syndrome types I-IV as a means of diagnostics and classification / I. Hausser, I. Anton-Lamprecht // *Human Genetics*. – 1994. – Vol. 93. – № 4. – P. 394-407.
331. Helical mutations in type I collagen that affect the processing of the amino-propeptide result in an Osteogenesis Imperfecta/Ehlers-Danlos Syndrome overlap syndrome / F. Malfait, S. Symoens, N. Goemans [et al.] // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2013. – Vol. 8. – № 1.
332. Heritability and Genetic Correlations for Bone Microarchitecture: The Framingham Study Families / D. Karasik, S. Demissie, Y. Zhou [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2017. – Vol. 32. – № 1. – P. 106-114.
333. Hidalgo-Bastida L. A. Mesenchymal stem cells, osteoblasts and extracellular matrix proteins: Enhancing cell adhesion and differentiation for bone tissue engineering / L. A. Hidalgo-Bastida, S. H. Cartmell // *Tissue Engineering – Part B: Reviews*. – 2010. – Vol. 16. – № 4. – P. 405-412.
334. High weight or body mass index increase the risk of vertebral fractures in postmenopausal osteoporotic women / M. Pirro, G. Fabbriani, C. Leli [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. – 2010. – Vol. 28. – № 1. – P. 88-93.
335. Hippisley-Cox J. Derivation and validation of updated QFracture algorithm to predict risk of osteoporotic fracture in primary care in the United Kingdom: Prospective

- open cohort study / J. Hippisley-Cox, C. Coupland // *BMJ (Online)*. – 2012. – Vol. 345. – № 7864.
336. Hirsch R. Osteoarthritis and risk of falls, rates of bone loss, and osteoporotic fractures / R. Hirsch // *Journal of the American Geriatrics Society*. – 2000. – Vol. 48. – № 4. – P. 461-462.
337. Histopathological subgroups in knee osteoarthritis / L. A. Wyatt, B. J. Moreton, P. I. Mapp [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2017. – Vol. 25. – № 1. – P. 14-22.
338. HM F. Dynamics of bone remodeling / F. HM // *Bone biodyn*. – 1964. – P. 315-333.
339. Hofbauer L. C. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases / L. C. Hofbauer, M. Schoppet // *Journal of the American Medical Association*. – 2004. – Vol. 292. – № 4. – P. 490-495.
340. How hip and whole-body bone mineral density predict hip fracture in elderly women: The EPIDOS prospective study / A. M. Schott, C. Cormier, D. Hans [et al.] // *Osteoporosis International*. – 1998. – Vol. 8. – № 3. – P. 247-254.
341. Human ehlers-danlos syndrome type VII C and bovine dermatosparaxis are caused by mutations in the procollagen I N-proteinase gene / A. Colige, A. L. Sieron, S. W. Li [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 1999. – Vol. 65. – № 2. – P. 308-317.
342. Hunter D. J. Osteoarthritis / D. J. Hunter, S. Bierma-Zeinstra // *The Lancet*. – 2019. – Vol. 393. – № 10182. – P. 1745-1759.
343. Hydrogen sulfide as potential regulatory gasotransmitter in arthritic diseases / F. Sunzini, S. De Stefano, M. S. Chimenti, S. Melino // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 4.
344. Hydrogen sulfide attenuates calcification of vascular smooth muscle cells via KEAP1/NRF2/NQO1 activation / P. Aghagolzadeh, R. Radpour, M. Bachtler [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2017. – Vol. 265. – P. 78-86.

345. Hydrogen sulfide attenuates homocysteine-induced osteoblast dysfunction by inhibiting mitochondrial toxicity / Y. Zhai, J. Behera, S. C. Tyagi, N. Tyagi // *Journal of Cellular Physiology*. – 2019. – Vol. 234. – № 10. – P. 18602-18614.
346. I.R. W. Management of chronic pain through pain management programmes / W. I.R. // *British Medical Bulletin*. – 2017. – Vol. 124. – № 1. – P. 55-64.
347. Identification and characterization of the insulin-like growth factor I receptor in mature rabbit osteoclasts / P. Hou, T. Sato, W. Hofstetter, N. T. Foged // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 1997. – Vol. 12. – № 4. – P. 534-540.
348. Identification of genetic causes of inherited peripheral neuropathies by targeted gene panel sequencing / S. H. Nam, Y. Bin Hong, Y. S. Hyun [et al.] // *Molecules and Cells*. – 2016. – Vol. 39. – № 5. – P. 382-388.
349. Identification of miR-194-5p as a potential biomarker for postmenopausal osteoporosis / J. Meng, D. Zhang, N. Pan [et al.] // *PeerJ*. – 2015. – Vol. 2015. – № 5.
350. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data / I. Tachmazidou, K. Hatzikotoulas, L. Southam [et al.] // *Nature Genetics*. – 2019. – Vol. 51. – № 2. – P. 230-236.
351. Identification of novel genes in aging osteoblasts using nextgeneration sequencing and bioinformatics / Y. J. Chen, W. A. Chang, M. S. Huang [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 69. – P. 113598-113613.
352. Identification of the specific microRNAs and competitive endogenous RNA mechanisms in osteoporosis / J. Hong, F. Ye, B. Yu [et al.] // *Journal of International Medical Research*. – 2020. – Vol. 48. – № 10.
353. Identification of type I collagen gene (COL1A2) mutations in nonlethal osteogenesis imperfecta / R. Sztrolovics, F. H. Glorieux, M. Van Der Rest, P. J. Roughley // *Human Molecular Genetics*. – 1993. – Vol. 2. – № 8. – P. 1319-1321.
354. Identifying Patient-Specific Pathology in Osteoarthritis Development Based on MicroCT Analysis of Subchondral Trabecular Bone / M. J. Steinbeck, P. T. Eisenhauer,

M. G. Maltenfort [et al.] // *Journal of Arthroplasty*. – 2016. – Vol. 31. – № 1. – P. 269-277.

355. Im G. Il. The relationship between osteoarthritis of the knee and bone mineral density of proximal femur: A cross-sectional study from a Korean population in women / G. Il Im, O. J. Kwon, C. H. Kim // *CiOS Clinics in Orthopedic Surgery*. – 2014. – Vol. 6. – № 4. – P. 420-425.

356. Immunocytochemical identification of androgen receptor in mouse osteoclast-like multinucleated cells / Y. Mizuno, T. Hosoi, S. Inoue [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 1994. – Vol. 54. – № 4. – P. 325-326.

357. Implementation of an NGS-based sequencing and gene fusion panel for clinical screening of patients with suspected hematologic malignancies / M. A. Levy, S. Santos, J. Kerkhof [et al.] // *European Journal of Haematology*. – 2019. – Vol. 103. – № 3. – P. 178-189.

358. Implementing core NICE guidelines for osteoarthritis in primary care with a model consultation (MOSAICS): a cluster randomised controlled trial / K. S. Dziedzic, E. L. Healey, M. Porcheret [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2018. – Vol. 26. – № 1. – P. 43-53.

359. Improved prediction of fracture risk leveraging a genome-wide polygenic risk score / T. Lu, V. Forgetta, J. Keller-Baruch [et al.] // *Genome Medicine*. – 2021. – Vol. 13. – № 1.

360. Incidence and risk factors for radiographic knee osteoarthritis and knee pain in Japanese men and women: A longitudinal population-based cohort study / S. Muraki, T. Akune, H. Oka [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2012. – Vol. 64. – № 5. – P. 1447-1456.

361. Incident fracture is associated with a period of accelerated loss of hip BMD: the Study of Osteoporotic Fractures / B. A. Christiansen, S. L. Harrison, H. A. Fink, N. E. Lane // *Osteoporosis International*. – 2018. – Vol. 29. – № 10. – P. 2201-2209.

362. Increased interleukin-1 $\beta$  gene expression in peripheral blood leukocytes is associated with increased pain and predicts risk for progression of symptomatic knee osteoarthritis / M. Attur, I. Belitskaya-Lévy, C. Oh [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2011. – Vol. 63. – № 7. – P. 1908-1917.
363. Inhibition of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 degradation of cartilage oligomeric matrix protein by alpha-2-macroglobulin / Y. Luan, L. Kong, D. R. Howell [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2008. – Vol. 16. – № 11. – P. 1413-1420.
364. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids potential mechanisms of their deleterious effects on bone / R. S. Weinstein, R. L. Jilka, A. Michael Parfitt, S. C. Manolagas // *Journal of Clinical Investigation*. – 1998. – Vol. 102. – № 2. – P. 274-282.
365. Insights on molecular mechanisms of chondrocytes death in osteoarthritis / E. Charlier, B. Relic, C. Deroyer [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17. – № 12.
366. Insulin receptor expression in primary and cultured osteoclast-like cells / D. M. Thomas, N. Udagawa, D. K. Hards [et al.] // *Bone*. – 1998. – Vol. 23. – № 3. – P. 181-186.
367. Integrative analysis of 111 reference human epigenomes / Roadmap Epigenomics Consortium, A. Kundaje, W. Meuleman [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol. 518. – № 7539. – P. 317-329.
368. Inter-examiner reproducibility of tests and criteria for generalized joint hypermobility and benign joint hypermobility syndrome / J.-K. B., R. H., J. D.V., R. L. // *Rheumatology*. – 2007. – Vol. 46. – № 12. – P. 1835-1841.
369. Interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$ , but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells / L. C. Hofbauer, D. L. Lacey, C. R. Dunstan [et al.] // *Bone*. – 1999. – Vol. 25. – № 3. – P. 255-259.

370. International nosology of heritable disorders of connective tissue, Berlin, 1986 / P. Beighton, A. De Paepe, D. Danks [et al.] // American Journal of Medical Genetics. – 1988. – Vol. 29. – № 3. – P. 581-594.
371. Intravenous neridronate in adults with osteogenesis imperfecta / S. Adami, D. Gatti, F. Colapietro [et al.] // Journal of Bone and Mineral Research. – 2003. – Vol. 18. – № 1. – P. 126-130.
372. Inverse relationship between vertebral fractures and spine osteoarthritis in postmenopausal women with osteoporosis / C. Roux, J. Fechtenbaum, K. Briot [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2008. – Vol. 67. – № 2. – P. 224-228.
373. Jesudas R. An update on the new classification of Ehlers-Danlos syndrome and review of the causes of bleeding in this population / R. Jesudas, A. Chaudhury, C. M. Laukaitis // Haemophilia. – 2019. – Vol. 25. – № 4. – P. 558-566.
374. Joint hypermobility, anxiety and psychosomatics: Two and a half decades of progress toward a new phenotype / A. Bulbena, G. Pailhez, A. Bulbena-Cabré [et al.] // Advances in Psychosomatic Medicine. – 2015. – Vol. 34. – P. 143-157.
375. Joint hypermobility syndrome: Problems that require psychological intervention / C. Baeza-Velasco, M. C. Gély-Nargeot, A. B. Vilarrasa, J. F. Bravo // Rheumatology International. – 2011. – Vol. 31. – № 9. – P. 1131-1136.
376. Kabalyk M. A. Prevalence of osteoarthritis in Russia: Regional aspects of trends in statistical parameters during 2011-2016 / M. A. Kabalyk // Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya. – 2018. – Vol. 56. – № 4. – P. 416-422.
377. KELLGREN J. H. Radiological assessment of osteo-arthritis. / J. H. KELLGREN, J. S. LAWRENCE // Annals of the rheumatic diseases. – 1957. – Vol. 16. – № 4. – P. 494-502.
378. Khosla S. Regulation of bone metabolism by sex steroids / S. Khosla, D. G. Monroe // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. – 2018. – Vol. 8. – № 1.

379. Kim K. Il. Changes in the epigenetic status of the SOX-9 promoter in human osteoarthritic cartilage / K. Il Kim, Y. S. Park, G. Il Im // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2013. – Vol. 28. – № 5. – P. 1050-1060.
380. Kim S. K. Identification of 613 new loci associated with heel bone mineral density and a polygenic risk score for bone mineral density, osteoporosis and fracture / S. K. Kim // *PLoS ONE*. – 2018. – Vol. 13. – № 7.
381. Kim Y. H. Association between bone mineral density and knee osteoarthritis in Koreans: the Fourth and Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Surveys / Y. H. Kim, J. S. Lee, J. H. Park // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2018. – Vol. 26. – № 11. – P. 1511-1517.
382. Knee loading repairs osteoporotic osteoarthritis by relieving abnormal remodeling of subchondral bone via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling / W. Zheng, B. Ding, X. Li [et al.] // *FASEB Journal*. – 2020. – Vol. 34. – № 2. – P. 3399-3412.
383. Kosho T. CHST14/D4ST1 deficiency: New form of Ehlers-Danlos syndrome / T. Kosho // *Pediatrics International*. – 2016. – Vol. 58. – № 2. – P. 88-99.
384. Kühn K. Mechanisms of sodium nitroprusside-induced death in human chondrocytes / K. Kühn, M. Lotz // *Rheumatology International*. – 2003. – Vol. 23. – № 5. – P. 241-247.
385. Kumar K. R. Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies / K. R. Kumar, M. J. Cowley, R. L. Davis // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 2019. – Vol. 45. – № 7. – P. 661-673.
386. Kurrat H. J. The thickness of the cartilage in the hip joint. / H. J. Kurrat, W. Oberländer // *Journal of anatomy*. – 1978. – Vol. 126. – № Pt 1. – P. 145-55.
387. Lafage-Proust M. H. The management of osteogenesis imperfecta in adults: state of the art / M. H. Lafage-Proust, I. Courtois // *Joint Bone Spine*. – 2019. – Vol. 86. – № 5. – P. 589-593.



388. Large-scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis / J. B. J. Van Meurs, T. A. Trikalinos, S. H. Ralston [et al.] // *Jama*. – 2008. – Vol. 299. – № 11. – P. 1277-1290.
389. Large replication study and meta-analyses of DVWA as an osteoarthritis susceptibility locus in European and Asian populations / I. Meulenbelt, K. Chapman, R. Dieguez-Gonzalez [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2009. – Vol. 18. – № 8. – P. 1518-1523.
390. LAWRENCE J. S. Rheumatism in cotton operatives / J. S. LAWRENCE // *British journal of industrial medicine*. – 1961. – Vol. 18. – P. 270-276.
391. Li M. Hydrogen Sulfide: a Novel Immunoinflammatory Regulator in Rheumatoid Arthritis / M. Li, J. C. Mao, Y. Z. Zhu // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2021. – Vol. 1315. – P. 161-179.
392. Lifetime body mass index, other anthropometric measures of obesity and risk of knee or hip osteoarthritis in the GOAL case-control study / K. L. Holliday, D. F. McWilliams, R. A. Maciewicz [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2011. – Vol. 19. – № 1. – P. 37-43.
393. Lifetime risk and age at diagnosis of symptomatic knee osteoarthritis in the US / E. Losina, A. M. Weinstein, W. M. Reichmann [et al.] // *Arthritis Care and Research*. – 2013. – Vol. 65. – № 5. – P. 703-711.
394. Liu J. Association between the MMP-1-1607 1G/2G Polymorphism and Osteoarthritis Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis / J. Liu, G. Wang, Z. Peng // *BioMed Research International*. – 2020. – Vol. 2020.
395. Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment / O. H. Jeon, C. Kim, R. M. Laberge [et al.] // *Nature Medicine*. – 2017. – Vol. 23. – № 6. – P. 775-781.

396. Loeser R. F. Molecular mechanisms of cartilage destruction: Mechanics, inflammatory mediators, and aging collide / R. F. Loeser // *Arthritis and Rheumatism*. – 2006. – Vol. 54. – № 5. – P. 1357-1360.
397. Lomas J. P. Pollard, B.J. and Kitchen, G. (2018) *Handbook of Clinical Anaesthesia*. Boca Raton, FL: CRC Press.
398. Loss of methylation in CpG sites in the NF- $\kappa$ B enhancer elements of inducible nitric oxide synthase is responsible for gene induction in human articular chondrocytes / M. C. De Andrés, K. Imagawa, K. Hashimoto [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2013. – Vol. 65. – № 3. – P. 732-742.
399. Loss of TET2 in hematopoietic cells leads to DNA hypermethylation of active enhancers and induction of leukemogenesis / K. D. Rasmussen, G. Jia, J. V. Johansen [et al.] // *Genes and Development*. – 2015. – Vol. 29. – № 9. – P. 910-922.
400. Low penetrance COL5A1 variants in a young patient with intracranial aneurysm and very mild signs of Ehlers-Danlos syndrome / E. Errichiello, A. Malara, G. Grimod [et al.] // *European Journal of Medical Genetics*. – 2021. – Vol. 64. – № 1.
401. Lower prevalence of hand osteoarthritis among Chinese subjects in Beijing compared with white subjects in the United States: The Beijing osteoarthritis study / Y. Zhang, L. Xu, M. C. Nevitt [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2003. – Vol. 48. – № 4. – P. 1034-1040.
402. Lumican regulates collagen fibril assembly: Skin fragility and corneal opacity in the absence of lumican / S. Chakravarti, T. Magnuson, J. H. Lass [et al.] // *Journal of Cell Biology*. – 1998. – Vol. 141. – № 5. – P. 1277-1286.
403. Lund A. M. Anthropometry of patients with osteogenesis imperfecta / A. M. Lund, J. Müller, F. Skovby // *Archives of Disease in Childhood*. – 1999. – Vol. 80. – № 6. – P. 524-528.

404. M. L. Ehlers–Danlos syndrome in a young woman with anorexia nervosa and complex somatic symptoms / L. M., S. M. // *International Journal of Eating Disorders*. – 2018. – Vol. 51. – № 3. – P. 281-284.
405. M.V. Putilina and N.V. Teplova. Pathogenesis-based and Symptomatic Approaches in the Treatment of Osteoarthritis from the Perspective of Evidence-based Medicine / M.V. Putilina and N.V. Teplova // *Nervous Diseases*. – 2021. – № 2. – P. 48-52.
406. Malfait F. Molecular genetics in classic Ehlers-Danlos syndrome / F. Malfait, A. De Paepe // *American Journal of Medical Genetics – Seminars in Medical Genetics*. – 2005. – Vol. 139 C. – № 1. – P. 17-23.
407. Malfait F. The Ehlers-Danlos syndrome / F. Malfait, A. De Paepe // *A Clinician’s Pearls and Myths in Rheumatology*. – 2009. – P. 467-475.
408. Malfait F. Clinical and genetic aspects of Ehlers-Danlos syndrome, classic type / F. Malfait, R. J. Wenstrup, A. De Paepe // *Genetics in Medicine*. – 2010. – Vol. 12. – № 10. – P. 597-605.
409. Management of osteogenesis imperfecta: A multidisciplinary comprehensive approach / T. J. Cho, J. M. Ko, H. Kim [et al.] // *CiOS Clinics in Orthopedic Surgery*. – 2020. – Vol. 12. – № 4. – P. 417-429.
410. Manolagas S. C. Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis\* / S. C. Manolagas // *Endocrine Reviews*. – 2000. – Vol. 21. – № 2. – P. 115-137.
411. Mao J. R. The Ehlers-Danlos syndrome: On beyond collagens / J. R. Mao, J. Bristow // *Journal of Clinical Investigation*. – 2001. – Vol. 107. – № 9. – P. 1063-1069.
412. Marini F. Pharmacogenetics of osteoporosis: What is the evidence? / F. Marini, M. L. Brandi // *Current Osteoporosis Reports*. – 2012. – Vol. 10. – № 3. – P. 221-227.

413. Marini F. Pharmacogenetics of osteoporosis / F. Marini, M. L. Brandi // *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2014. – Vol. 28. – № 6. – P. 783-793.
414. Marini F. Epigenetic mechanisms in bone biology and osteoporosis: Can they drive therapeutic choices? / F. Marini, L. Cianferotti, M. L. Brandi // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17. – № 8.
415. Marom R. Osteogenesis imperfecta: An update on clinical features and therapies / R. Marom, B. M. Rabenhorst, R. Morello // *European Journal of Endocrinology*. – 2020. – Vol. 183. – № 4. – P. R95-R106.
416. Marques M. Vascular Ehlers-Danlos syndrome / M. Marques // *Revista Portuguesa de Cardiologia*. – 2022. – Vol. 41. – № 5. – P. 431-432.
417. Marr C. Managing the patient with osteogenesis imperfecta: A multidisciplinary approach / C. Marr, A. Seasman, N. Bishop // *Journal of Multidisciplinary Healthcare*. – 2017. – Vol. 10. – P. 145-155.
418. Martin E. Osteogenesis imperfecta: Epidemiology and pathophysiology / E. Martin, J. R. Shapiro // *Current Osteoporosis Reports*. – 2007. – Vol. 5. – № 3. – P. 91-97.
419. MBTPS2 mutations cause defective regulated intramembrane proteolysis in X-linked osteogenesis imperfecta / U. Lindert, W. A. Cabral, S. Ausavarat [et al.] // *Nature Communications*. – 2016. – Vol. 7.
420. McKiernan F. E. Musculoskeletal manifestations of mild osteogenesis imperfecta in the adult / F. E. McKiernan // *Osteoporosis International*. – 2005. – Vol. 16. – № 12. – P. 1698-1702.
421. Measures of Physical Performance and Muscle Strength as Predictors of Fracture Risk Independent of FRAX, Falls, and aBMD: A Meta-Analysis of the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study / H. N.C., O. A., O. E. [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2018. – Vol. 33. – № 12. – P. 2150-2157.

422. Mencej-Bedrač S. TNFRSF11B gene polymorphisms 1181G > C and 245T > G as well as haplotype CT influence bone mineral density in postmenopausal women / S. Mencej-Bedrač, J. Preželj, J. Marc // *Maturitas*. – 2011. – Vol. 69. – № 3. – P. 263-267.
423. Meta-analysis of genome-wide scans provides evidence for sex- and site-specific regulation of bone mass / J. P. A. Ioannidis, M. Y. Ng, P. C. Sham [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2007. – Vol. 22. – № 2. – P. 173-183.
424. Methylation of bone SOST, its mRNA, and serum sclerostin levels correlate strongly with fracture risk in postmenopausal women / R. S., N. A., G. R.M. [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2015. – Vol. 30. – № 2. – P. 249-256.
425. Methylation quantitative trait locus analysis of osteoarthritis links epigenetics with genetic risk / M. D. Rushton, L. N. Reynard, D. A. Young [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2015. – Vol. 24. – № 25. – P. 7432-7444.
426. Microarray analysis reveals age-related differences in gene expression during the development of osteoarthritis in mice / R. F. Loeser, A. L. Olex, M. A. McNulty [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2012. – Vol. 64. – № 3. – P. 705-717.
427. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis / S. Miyaki, T. Sato, A. Inoue [et al.] // *Genes and Development*. – 2010. – Vol. 24. – № 11. – P. 1173-1185.
428. MicroRNA-193b-3p regulates matrix metalloproteinase 19 expression in interleukin-1 $\beta$ -induced human chondrocytes / Z. K. Chang, F. G. Meng, Z. Q. Zhang [et al.] // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2018. – Vol. 119. – № 6. – P. 4775-4782.
429. microRNA-96 promotes osteoblast differentiation and bone formation in ankylosing spondylitis mice through activating the Wnt signaling pathway by binding to SOST / S. Ma, D. D. Wang, C. Y. Ma, Y. D. Zhang // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2019. – Vol. 120. – № 9. – P. 15429-15442.
430. Miklovic T. and V. C. S. Ehlers danlos syndrome, in StatPearls / T. and V. C. S. Miklovic. – 2020.

431. Mineralization of collagen may occur on fibril surfaces: Evidence from conventional and high-voltage electron microscopy and three-dimensional imaging / W. J. Landis, K. J. Hodgens, M. J. Song [et al.] // *Journal of Structural Biology*. – 1996. – Vol. 117. – № 1. – P. 24-35.
432. MiR-133a in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis. / W. Y, L. L, M. BT [et al.] // *PloS one*. – 2012. – Vol. 7. – № 4. – P. e34641.
433. miR-30e reciprocally regulates the differentiation of adipocytes and osteoblasts by directly targeting low-density lipoprotein receptor-related protein 6 / J. Wang, X. Guan, F. Guo [et al.] // *Cell Death and Disease*. – 2013. – Vol. 4. – № 10.
434. miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2 / H. Wang, Z. Sun, Y. Wang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6.
435. Miyaki S. Macro view of microRNA function in osteoarthritis / S. Miyaki, H. Asahara // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2012. – Vol. 8. – № 9. – P. 543-552.
436. Moderators and mediators of effects of unloading shoes on knee pain in people with knee osteoarthritis: an exploratory analysis of the SHARK randomised controlled trial / K. L. Paterson, J. Kasza, K. L. Bennell [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2018. – Vol. 26. – № 2. – P. 227-235.
437. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families / T. Suda, N. Takahashi, N. Udagawa [et al.] // *Endocrine Reviews*. – 1999. – Vol. 20. – № 3. – P. 345-357.
438. Molecular diagnosis of hypophosphatasia and differential diagnosis by targeted Next Generation Sequencing / A. Taillandier, C. Domingues, C. De Cazanove [et al.] // *Molecular Genetics and Metabolism*. – 2015. – Vol. 116. – № 3. – P. 215-220.

439. Molecular mechanisms of classical Ehlers-Danlos syndrome (EDS) / A. L. Mitchell, U. Schwarze, J. F. Jennings, P. H. Byers // *Human Mutation*. – 2009. – Vol. 30. – № 6. – P. 995-1002.
440. Morello R. Osteogenesis imperfecta and therapeutics / R. Morello // *Matrix Biology*. – 2018. – Vols. 71-72. – P. 294-312.
441. Multiple Bone Morphogenetic Protein 1-related Mammalian Metalloproteinases Process Pro-lysyl Oxidase at the Correct Physiological Site and Control Lysyl Oxidase Activation in Mouse Embryo Fibroblast Cultures / M. I. Uzel, I. C. Scott, H. Babakhanlou-Chase [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – Vol. 276. – № 25. – P. 22537-22543.
442. Multiple Genetic Loci for Bone Mineral Density and Fractures / U. Styrkarsdottir, B. V. Halldorsson, S. Gretarsdottir [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2008. – Vol. 358. – № 22. – P. 2355-2365.
443. Murphy G. Reappraising metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: Destruction or repair? / G. Murphy, H. Nagase // *Nature Clinical Practice Rheumatology*. – 2008. – Vol. 4. – № 3. – P. 128-135.
444. Mutation analysis of the COL1A1 and COL1A2 genes in Vietnamese patients with osteogenesis imperfecta / B. Ho Duy, L. Zhytnik, K. Maasalu [et al.] // *Human genomics*. – 2016. – Vol. 10. – № 1. – P. 27.
445. Mutational spectrum of type I collagen genes in Korean patients with osteogenesis imperfecta. / K. S. Lee, H. R. Song, T. J. Cho [et al.] // *Human mutation*. – 2006. – Vol. 27. – № 6. – P. 599.
446. Mutations in FKBP14 cause a variant of Ehlers-Danlos syndrome with progressive kyphoscoliosis, myopathy, and hearing loss / M. Baumann, C. Giunta, B. Krabichler [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2012. – Vol. 90. – № 2. – P. 201-216.

447. National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation; 2014. / F. Cosman, R. Lindsay, M. S. LeBoff [et al.] // National Osteoporosis Foundation. – 2014. – Vol. 1. – № 202. – P. 55.
448. Neurological and spinal manifestations of the Ehlers–Danlos syndromes / F. C. Henderson, C. Austin, E. Benzel [et al.] // American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics. – 2017. – Vol. 175. – № 1. – P. 195-211.
449. Neutrophils-derived peroxynitrite contributes to acute hyperalgesia and cell influx in zymosan arthritis / M. M. Bezerra, S. D. Brain, V. C. C. Girão [et al.] // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. – 2007. – Vol. 374. – № 4. – P. 265-273.
450. New criteria for connective tissue dysplasia severity degree diagnosis in pediatric patients / D. A. N. Dakuko, K. L. A. Krivtsova, P. M. A. Plekhanova, K. V. P. Konev // Therapy. – 2019. – Vol. 7\_2019. – P. 102-107.
451. New sequence variants associated with bone mineral density. / S. U, H. BV, G. S [et al.] // Nature genetics. – 2009. – Vol. 41. – № 1.
452. New variants in COL5A1 gene among Polish patients with Ehlers-Danlos syndrome: Analysis of nine cases / J.-C. A., P.-D. M., B. A. [et al.] // Postepy Dermatologii i Alergologii. – 2019. – Vol. 36. – № 1. – P. 29-33.
453. Next-generation sequencing of common osteogenesis imperfecta-related genes in clinical practice / K. Árvai, P. Horváth, B. Balla [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6.
454. Next-Generation Sequencing of Connective Tissue Genes in Patients with Classical Ehlers-Danlos Syndrome / A. Junkiert-Czarnecka, M. Pilarska-Deltow, A. Bąk [et al.] // Current Issues in Molecular Biology. – 2022. – Vol. 44. – № 4. – P. 1472-1478.



455. Next generation sequencing methods for diagnosis of epilepsy syndromes / P. Dunn, C. L. Albury, N. Maksemous [et al.] // *Frontiers in Genetics*. – 2018. – Vol. 9. – № FEB.
456. No associations between OPG gene polymorphisms or serum levels and measures of osteoporosis in elderly Australian women / T. Ueland, J. Bollerslev, S. G. Wilson [et al.] // *Bone*. – 2007. – Vol. 40. – № 1. – P. 175-181.
457. No clear association between female hormonal aspects and osteoarthritis of the hand, hip and knee: A systematic review / B. M. de Klerk, D. Schiphof, F. P. M. J. Groeneveld [et al.] // *Rheumatology*. – 2009. – Vol. 48. – № 9. – P. 1160-1165.
458. Nonsense mutation in the LGR4 gene is associated with several human diseases and other traits / U. Stykarsdottir, G. Thorleifsson, P. Sulem [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 497. – № 7450. – P. 517-520.
459. Nottingham knee osteoarthritis risk prediction models / W. Zhang, D. F. McWilliams, S. L. Ingham [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2011. – Vol. 70. – № 9. – P. 1599-1604.
460. Obesity and osteoarthritis in knee, hip and/or hand: An epidemiological study in the general population with 10 years follow-up / M. Grotle, K. B. Hagen, B. Natvig [et al.] // *BMC Musculoskeletal Disorders*. – 2008. – Vol. 9.
461. Ocular manifestations in rheumatoid arthritis, connective tissue disease, and vasculitis: A systematic review and metaanalysis / M. A. Turk, J. L. Hayworth, T. Nevskaya, J. E. Pope // *Journal of Rheumatology*. – 2021. – Vol. 48. – № 1. – P. 25-34.
462. Official Positions for FRAX® Clinical Regarding Glucocorticoids: The impact of the Use of Glucocorticoids on the Estimate by FRAX® of the 10 Year Risk of Fracture. From Joint Official Positions Development Conference of the International Society for Clinici / E. S. Leib, K. G. Saag, J. D. Adachi [et al.] // *Journal of Clinical Densitometry*. – 2011. – Vol. 14. – № 3. – P. 212-219.

463. Oliveira M. C. Osteoporosis and osteoarthritis are two sides of the same coin paid for obesity / M. C. Oliveira, J. Vullings, F. A. J. van de Loo // *Nutrition*. – 2020. – Vol. 70.
464. OMIM.org: Leveraging knowledge across phenotype-gene relationships / J. S. Amberger, C. A. Bocchini, A. F. Scott, A. Hamosh // *Nucleic Acids Research*. – 2019. – Vol. 47. – № D1. – P. D1038-D1043.
465. Onlined Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders / A. Hamosh, A. F. Scott, J. Amberger [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2002. – Vol. 30. – № 1. – P. 52-55.
466. Oo W. M. Disease modification in osteoarthritis: are we there yet? / W. M. Oo, D. J. Hunter // *Clinical and experimental rheumatology*. – 2019. – Vol. 37. – № 5. – P. 135-140.
467. Optical coherence tomography / D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin [et al.] // *Science*. – 1991. – Vol. 254. – № 5035. – P. 1178-1181.
468. Orioli I. M. The birth prevalence rates for the skeletal dysplasias / I. M. Orioli, E. E. Castilla, J. G. Barbosa-Neto // *Journal of Medical Genetics*. – 1986. – Vol. 23. – № 4. – P. 328-332.
469. Osteoarthritis / J. Martel-Pelletier, A. J. Barr, F. M. Cicuttini [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2016. – Vol. 2.
470. Osteoarthritis of the hands, hips and knees in an Australian twin sample – Evidence of association with the aggrecan VNTR polymorphism / K. M. Kirk, K. J. Doege, J. Hecht [et al.] // *Twin Research*. – 2003. – Vol. 6. – № 1. – P. 62-66.
471. Osteoarthritis of the Knee Is Associated With Vertebral and Nonvertebral Fractures in the Elderly: The Rotterdam Study / A. P. Bergink, M. Van der Klift, A. Hofman [et al.] // *Arthritis Care and Research*. – 2003. – Vol. 49. – № 5. – P. 648-657.

472. Osteoblasts are a new target for prolactin: Analysis of bone formation in prolactin receptor knockout mice / P. Clément-Lacroix, C. Ormandy, L. Lepscheux [et al.] // *Endocrinology*. – 1999. – Vol. 140. – № 1. – P. 96-105.
473. Osteoclasts in normal and adjuvant arthritis bone tissues express the mRNA for both type I and II interleukin-1 receptors / L. X. Xu, T. Kukita, Y. Nakano [et al.] // *Laboratory Investigation*. – 1996. – Vol. 75. – № 5. – P. 677-687.
474. Osteogenesis Imperfecta: A Pediatric Orthopedic Perspective / J. M. Franzone, S. A. Shah, M. J. Wallace, R. W. Kruse // *Orthopedic Clinics of North America*. – 2019. – Vol. 50. – № 2. – P. 193-209.
475. Osteogenesis Imperfecta: A Review with Clinical Examples / A. Kariminejad, F. S. van Dijk, P. G. J. Nikkels [et al.] // *Molecular Syndromology*. – 2011. – P. 1-20.
476. Osteogenesis imperfecta: Clinical, biochemical and molecular findings / G. Venturi, E. Tedeschi, M. Mottes [et al.] // *Clinical Genetics*. – 2006. – Vol. 70. – № 2. – P. 131-139.
477. Osteogenesis Imperfecta: Search for Mutations in Patients from the Republic of Bashkortostan (Russia) / D. Nadyrshina, A. Zaripova, A. Tyurin [et al.] // *Genes*. – 2022. – Vol. 13. – № 1.
478. Osteogenesis imperfecta / J. C. Marini, A. Forlino, H. P. Bächinger [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2017. – Vol. 3.
479. Osteogenesis imperfecta in adults: Phenotypic characteristics and response to treatment in an Irish cohort / O. E.S., V. D. K. S., K. M., M. M. // *Irish Journal of Medical Science*. – 2014. – Vol. 183. – № 2. – P. 225-230.
480. Osteogenesis imperfecta missense mutations in collagen: Structural consequences of a glycine to alanine replacement at a highly charged site / J. Xiao, H. Cheng, T. Silva [et al.] // *Biochemistry*. – 2011. – Vol. 50. – № 50. – P. 10771-10780.

481. Osteoporotic fractures and obesity affect frailty progression: a longitudinal analysis of the Canadian multicentre osteoporosis study / O. Gajic-Veljanoski, A. Papaioannou, C. Kennedy [et al.] // *BMC geriatrics*. – 2018. – Vol. 18. – № 1. – P. 4.
482. Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density / W. S. Simonet, D. L. Lacey, C. R. Dunstan [et al.] // *Cell*. – 1997. – Vol. 89. – № 2. – P. 309-319.
483. Osteoprotegerin gene polymorphism and therapeutic response to alendronate in postmenopausal women with osteoporosis / C. Wang, J. W. He, Y. J. Qin [et al.] // *National Medical Journal of China*. – 2009. – Vol. 89. – № 42. – P. 2958-2962.
484. Paepe A. De. The Ehlers-Danlos syndrome, a disorder with many faces / A. De Paepe, F. Malfait // *Clinical Genetics*. – 2012. – Vol. 82. – № 1. – P. 1-11.
485. Pain and functional trajectories in symptomatic knee osteoarthritis over up to 12 weeks of exercise exposure / A. C. Lee, W. F. Harvey, X. Han [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2018. – Vol. 26. – № 4. – P. 501-512.
486. Pain in Ehlers-Danlos Syndrome Is Common, Severe, and Associated with Functional Impairment / N. C. V. MD, H. K. PhD, G. B. PhD, B. G. van Engelen MD PhD // *Journal of Pain and Symptom Management*. – 2010. – Vol. 40. – № 3. – P. 370-378.
487. Pain Phenotypes in Rare Musculoskeletal and Neuromuscular Diseases / A. Tucker-Bartley, J. Lemme, A. Gomez-Morad [et al.] // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. – 2021. – Vol. 124. – P. 267-290.
488. Partial COL1A2 gene duplication produces features of osteogenesis imperfecta and Ehlers-Danlos syndrome type VII / M. L. Raff, W. J. Craigen, L. T. Smith [et al.] // *Human Genetics*. – 2000. – Vol. 106. – № 1. – P. 19-28.
489. Pauwels Osteotomy for Femoral Neck Nonunion in Two Adult Siblings with Osteogenesis Imperfecta / P. Kloen, J. C. E. Donders, E. M. W. Eekhoff, R. C. Hamdy // *Hip & Pelvis*. – 2018. – Vol. 30. – № 1. – P. 53.

490. Pepe M. S. The potential of genes and other markers to inform about risk / M. S. Pepe, J. W. Gu, D. E. Morris // *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. – 2010. – Vol. 19. – № 3. – P. 655-665.
491. Pharmacological and biological therapeutic strategies for osteogenesis imperfecta / R. Marom, Y. C. Lee, I. Grafe, B. Lee // *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*. – 2016. – Vol. 172. – № 4. – P. 367-383.
492. Phenotypic comparison of an osteogenesis imperfecta type IV proband with a de novo  $\alpha 2(I)$  Gly922  $\rightarrow$  Ser substitution in type I collagen and an unrelated patient with an identical mutation / A. Forlino, E. D'Amato, M. Valli [et al.] // *Biochemical and Molecular Medicine*. – 1997. – Vol. 62. – № 1. – P. 26-35.
493. Phenotypic variability of osteogenesis imperfecta type v caused by an IFITM5 mutation / J. R. Shapiro, C. Lietman, M. Grover [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2013. – Vol. 28. – № 7. – P. 1523-1530.
494. Phenotypic variability of the kyphoscoliotic type of Ehlers-Danlos syndrome (EDS VIA): Clinical, molecular and biochemical delineation / M. Rohrbach, A. Vandersteen, U. Yi [et al.] // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2011. – Vol. 6. – № 1.
495. Physical and mechanical therapies for lower limb symptoms in children with Hypermobility Spectrum Disorder and Hypermobility Ehlers-Danlos Syndrome: A systematic review / B. Peterson, A. Coda, V. Pacey, F. Hawke // *Journal of Foot and Ankle Research*. – 2018. – Vol. 11. – № 1.
496. Plasma miRNA levels correlate with sensitivity to bone mineral density in postmenopausal osteoporosis patients / H. Li, Z. Wang, Q. Fu, J. Zhang // *Biomarkers*. – 2014. – Vol. 19. – № 7. – P. 553-556.
497. Positive linear growth and bone responses to growth hormone treatment in children with types III and IV osteogenesis imperfecta: High predictive value of the carboxyterminal propeptide of type I procollagen / J. C. Marini, E. Hopkins, F. H.

Glorieux [et al.] // Journal of Bone and Mineral Research. – 2003. – Vol. 18. – № 2. – P. 237-243.

498. Prediction model for knee osteoarthritis incidence, including clinical, genetic and biochemical risk factors / H. J. M. Kerkhof, S. M. A. Bierma-Zeinstra, N. K. Arden [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2014. – Vol. 73. – № 12. – P. 2116-2121.

499. Prediction of altered 3'- UTR miRNA-binding sites from RNA-Seq data: the swine leukocyte antigen complex (SLA) as a model region. / M. L. Endale Ahanda, E. R. Fritz, J. Estellé [et al.] // PloS one. – 2012. – Vol. 7. – № 11.

500. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles / N. A. Morrison, J. C. Qi, A. Tokita [et al.] // Nature. – 1994. – Vol. 367. – № 6460. – P. 284-287.

501. Prediction of midlife hand osteoarthritis in young men. / M. K, T. A, T. S, E. M // Osteoarthritis and cartilage. – 2018. – Vol. 26. – № 8. – P. 1027-1032.

502. Prevalence, incidence and progression of hand osteoarthritis in the general population: The Framingham Osteoarthritis Study / I. K. Haugen, M. Englund, P. Aliabadi [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2011. – Vol. 70. – № 9. – P. 1581-1586.

503. Prevalence and incidence of osteoarthritis: A population-based retrospective cohort study / R. Hamood, M. Tirosh, N. Fallach [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10. – № 18.

504. Prevalence and natural course of craniocervical junction anomalies during growth in patients with osteogenesis imperfecta / H. Arponen, O. Mäkitie, J. Haukka [et al.] // Journal of Bone and Mineral Research. – 2012. – Vol. 27. – № 5. – P. 1142-1149.

505. Prevalence and trends in low femur bone density among older US adults: NHANES 2005-2006 compared with NHANES III / A. C. Looker, L. J. Melton, T. B. Harris, J. A. Shepherd // Journal of Bone and Mineral Research. – 2010. – Vol. 25. – № 1. – P. 64-71.

506. Prevalence of hip symptoms and radiographic and symptomatic hip osteoarthritis in African Americans and Caucasians: The Johnston County osteoarthritis project / J. M. Jordan, C. G. Helmick, J. B. Renner [et al.] // *Journal of Rheumatology*. – 2009. – Vol. 36. – № 4. – P. 809-815.
507. Prevalence of symptomatic knee, hand, and hip osteoarthritis in Greece. The ESORDIG study / A. A. Andrianakos, L. K. Kontelis, D. G. Karamitsos [et al.] // *Journal of Rheumatology*. – 2006. – Vol. 33. – № 12. – P. 2507-2514.
508. Prevention of Hand Osteoarthritis by Hemiparesis / F. Droz-Bartholet, F. Verhoeven, C. Prati, D. Wendling // *Arthritis and Rheumatology*. – 2016. – Vol. 68. – № 3. – P. 647.
509. Primary Angle Closure and Sequence Variants within MicroRNA Binding Sites of Genes Involved in Eye Development / H. Shi, J. Zhang, R. Zhu [et al.] // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11. – № 11.
510. Prolyl 3-hydroxylase 1 deficiency causes a recessive metabolic bone disorder resembling lethal/severe osteogenesis imperfecta / C. W.A., C. W., B. A.M. [et al.] // *Nature Genetics*. – 2007. – Vol. 39. – № 3. – P. 359-365.
511. Proximal hip geometry is linked to several chromosomal regions: Genome-wide linkage results from the Framingham Osteoporosis Study / S. Demissie, J. Dupuis, L. A. Cupples [et al.] // *Bone*. – 2007. – Vol. 40. – № 3. – P. 743-750.
512. Race/ethnic differences in associations between bone mineral density and fracture history in older men / M. H. Shin, J. M. Zmuda, E. Barrett-Connor [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2014. – Vol. 25. – № 3. – P. 837-845.
513. Race/ethnic differences in bone mineral density in men / A. B. Araujo, T. G. Travison, S. S. Harris [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2007. – Vol. 18. – № 7. – P. 943-953.

514. Rahmati M. Inflammatory mediators in osteoarthritis: A critical review of the state-of-the-art, current prospects, and future challenges / M. Rahmati, A. Mobasheri, M. Mozafari // *Bone*. – 2016. – Vol. 85. – P. 81-90.
515. Raloxifene administration in post-menopausal women with osteoporosis: Effect of different BsmI vitamin D receptor genotypes / S. Palomba, F. G. Numis, G. Mossetti [et al.] // *Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 18. – № 1. – P. 192-198.
516. Ralston S. H. Genetics of Osteoporosis / S. H. Ralston // *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. – 2001. – Vol. 2. – № 1. – P. 13-21.
517. RANKL and OPG gene polymorphisms: associations with vertebral fractures and bone mineral density in premenopausal systemic lupus erythematosus / A. C. Bonfá, L. P. C. Seguro, V. Caparbo [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2015. – Vol. 26. – № 5. – P. 1563-1571.
518. Rare childhood diseases: How should we respond? / Y. Zuryski, K. Frith, H. Leonard, E. Elliott // *Archives of Disease in Childhood*. – 2008. – Vol. 93. – № 12. – P. 1071-1074.
519. Rauch F. Osteogenesis imperfecta / F. Rauch, F. H. Glorieux // *Lancet*. – 2004. – Vol. 363. – № 9418. – P. 1377-1385.
520. RDAD: A Machine Learning System to Support Phenotype-Based Rare Disease Diagnosis / J. Jia, R. Wang, Z. An [et al.] // *Frontiers in Genetics*. – 2018. – Vol. 9.
521. Recent trends in hip fracture rates by race/ethnicity among older US adults / N. C. Wright, K. G. Saag, J. R. Curtis [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2012. – Vol. 27. – № 11. – P. 2325-2332.
522. Reduced cell proliferation and increased apoptosis are significant pathological mechanisms in a murine model of mild pseudoachondroplasia resulting from a mutation in the C-terminal domain of COMP / K. A. Piróg-Garcia, R. S. Meadows, L. Knowles [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2007. – Vol. 16. – № 17. – P. 2072-2088.



523. Reduced iliac cancellous osteocyte density in patients with osteoporotic vertebral fracture / S. Qiu, D. S. Rao, S. Palnitkar, A. M. Parfitt // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2003. – Vol. 18. – № 9. – P. 1657-1663.
524. Regulated transcription of human matrix metalloproteinase 13 (MMP13) and interleukin-1 $\beta$  (IL1B) genes in chondrocytes depends on methylation of specific proximal promoter CpG sites / K. Hashimoto, M. Otero, K. Imagawa [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288. – № 14. – P. 10061-10072.
525. Relationship between osteoporosis and osteoarthritis based on DNA methylation. / Y. Li, B. Xie, Z. Jiang, B. Yuan // *International journal of clinical and experimental pathology*. – 2019. – Vol. 12. – № 9. – P. 3399-3407.
526. Relationship between spine osteoarthritis, bone mineral density and bone turn over markers in post menopausal women / L. Ichchou, F. Allali, S. Rostom [et al.] // *BMC Women's Health*. – 2010. – Vol. 10.
527. Rengel Y. Proteinases in the joint: Clinical relevance of proteinases in joint destruction / Y. Rengel, C. Ospelt, S. Gay // *Arthritis Research and Therapy*. – 2007. – Vol. 9. – № 5.
528. Reynard L. N. Analysis of genetics and DNA methylation in osteoarthritis: What have we learnt about the disease? / L. N. Reynard // *Seminars in Cell and Developmental Biology*. – 2017. – Vol. 62. – P. 57-66.
529. Risedronate in adults with osteogenesis imperfecta type I: Increased bone mineral density and decreased bone turnover, but high fracture rate persists / L. A. Bradbury, S. Barlow, F. Geoghegan [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2012. – Vol. 23. – № 1. – P. 285-294.
530. Risk factors for the incidence and progression of radiographic knee osteoarthritis / C. Cooper, S. Snow, T. E. Mcalindon [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2000. – Vol. 43. – № 5. – P. 995-1000.

531. Ritelli M. Molecular genetics and pathogenesis of ehlers–danlos syndrome and related connective tissue disorders / M. Ritelli, M. Colombi // *Genes*. – 2020. – Vol. 11. – № 5.
532. Rizzoli R. Nuclear thyroid hormone receptors in cultured bone cells / R. Rizzoli, J. Poser, U. Bürgi // *Metabolism*. – 1986. – Vol. 35. – № 1. – P. 71-74.
533. Robinson M. E. Mendelian bone fragility disorders / M. E. Robinson, F. Rauch // *Bone*. – 2019. – Vol. 126. – P. 11-17.
534. Role of Epigenomics in Bone and Cartilage Disease / J. B. J. van Meurs, C. G. Boer, L. Lopez-Delgado, J. A. Riancho // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2019. – Vol. 34. – № 2. – P. 215-230.
535. Role of miRNA in the Development and Progression of Osteoarthritis and Osteoporosis- A Review Article / R. Nath Srivastava, R. Yadav, S. Pant [et al.] // *Acta Scientific Orthopaedics*. – 2023. – Vol. 6. – № 3. – P. 11-20.
536. Rossi V. Osteogenesis imperfecta: Advancements in genetics and treatment / V. Rossi, B. Lee, R. Marom // *Current Opinion in Pediatrics*. – 2019. – Vol. 31. – № 6. – P. 708-715.
537. Roughley P. J. The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage / P. J. Roughley, J. S. Mort // *Journal of Experimental Orthopaedics*. – 2014. – Vol. 1. – № 1. – P. 1-11.
538. Rushfeldt P. D. Improved techniques for measuring in vitro the geometry and pressure distribution in the human acetabulum-II. Instrumented endoprosthesis measurement of articular surface pressure distribution / P. D. Rushfeldt, R. W. Mann, W. H. Harris // *Journal of Biomechanics*. – 1981. – Vol. 14. – № 5. – P. 315-323.
539. Rydziel S. Platelet-derived growth factor-aa and -bb (pdgf-aa and -bb) enhance the synthesis of pdgf-aa in bone cell cultures / S. Rydziel, S. Shaikh, E. Canalis // *Endocrinology*. – 1994. – Vol. 134. – № 6. – P. 2541-2546.

540. S-propargyl-cysteine attenuates inflammatory response in rheumatoid arthritis by modulating the Nrf2-ARE signaling pathway / W. J. Wu, W. W. Jia, X. H. Liu [et al.] // *Redox Biology*. – 2016. – Vol. 10. – P. 157-167.
541. Safety and efficacy of denosumab in children with osteogenesis imperfecta – A first prospective trial / H.-K. H., A. G., K. M. [et al.] // *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*. – 2016. – Vol. 16. – № 1. – P. 24-32.
542. Sandy J. D. A contentious issue finds some clarity: On the independent and complementary roles of aggrecanase activity and MMP activity in human joint aggrecanolysis / J. D. Sandy // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2006. – Vol. 14. – № 2. – P. 95-100.
543. Sato T. Study of androgen action in bone by analysis of androgen-receptor deficient mice / T. Sato, H. Kawano, S. Kato // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. – 2002. – Vol. 20. – № 6. – P. 326-330.
544. Sclerostin antibody reduces long bone fractures in the oim/oim model of osteogenesis imperfecta / M. Cardinal, J. Tys, T. Roels [et al.] // *Bone*. – 2019. – Vol. 124. – P. 137-147.
545. Senescent cells and osteoarthritis: A painful connection / O. H. Jeon, N. David, J. Campisi, J. H. Elisseeff // *Journal of Clinical Investigation*. – 2018. – Vol. 128. – № 4. – P. 1229-1237.
546. Serine for glycine substitutions in type I collagen in two cases of type IV osteogenesis imperfecta (OI). Additional evidence for a regional model of OI pathophysiology / J. C. Marini, M. B. Lewis, Q. Wang [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1993. – Vol. 268. – № 4. – P. 2667-2673.
547. Serum Circulating MicroRNAs as Biomarkers of Osteoporotic Fracture / L. Panach, D. Mifsut, J. J. Tarín [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 2015. – Vol. 97. – № 5. – P. 495-505.

548. Serum microRNAs in osteoporotic fracture and osteoarthritis: a genetic and functional study / C. Pertusa, J. J. Tarín, A. Cano [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1.
549. Severe osteoarthritis of the hand associates with common variants within the ALDH1A2 gene and with rare variants at 1p31 / U. Styrkarsdottir, G. Thorleifsson, H. T. Helgadottir [et al.] // *Nature Genetics*. – 2014. – Vol. 46. – № 5. – P. 498-502.
550. Sex hormones and structural changes in osteoarthritis: A systematic review / S. K. Tanamas, P. Wijethilake, A. E. Wluka [et al.] // *Maturitas*. – 2011. – Vol. 69. – № 2. – P. 141-156.
551. Sillence D. O. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta / D. O. Sillence, A. Senn, D. M. Danks // *Journal of Medical Genetics*. – 1979. – Vol. 16. – № 2. – P. 101-116.
552. Simon T. C. The Epigenomic Landscape in Osteoarthritis / T. C. Simon, M. A. Jeffries // *Current Rheumatology Reports*. – 2017. – Vol. 19. – № 6.
553. Simulation of subject-specific progression of knee osteoarthritis and comparison to experimental follow-up data: Data from the osteoarthritis initiative / M. K. Liukkonen, M. E. Mononen, O. Klets [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – № 1.
554. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety / J. L. Vahle, M. Sato, G. G. Long [et al.] // *Toxicologic Pathology*. – 2002. – Vol. 30. – № 3. – P. 312-321.
555. Slatko B. E. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies / B. E. Slatko, A. F. Gardner, F. M. Ausubel // *Current Protocols in Molecular Biology*. – 2018. – Vol. 122. – № 1.

556. Small fiber neuropathy is a common feature of Ehlers-Danlos syndromes / D. Cazzato, M. Castori, R. Lombardi [et al.] // *Neurology*. – 2016. – Vol. 87. – № 2. – P. 155-159.
557. Smith M. G. Treatment of osteoporosis: Missed opportunities in the hospital fracture clinic / M. G. Smith, P. Dunkow, D. M. Lang // *Annals of the Royal College of Surgeons of England*. – 2004. – Vol. 86. – № 5. – P. 344-346.
558. SNPs in 3'UTR miRNA Target Sequences Associated with Individual Drug Susceptibility / E. Rykova, N. Ershov, I. Damarov, T. Merkulova // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 22.
559. Songpatanasilp T. Effects of differences in polymorphism of gene encoding enzyme faenesyl diphosphate synthase (FDPS), rs2297480, on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in thai postmenopausal women / T. Songpatanasilp, S. Chanprasertyothin // *Journal of the Medical Association of Thailand*. – 2011. – Vol. 94. – № 10 SUPPL.
560. Sousa A. M. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception / A. M. Sousa, W. A. Prado // *Brain Research*. – 2001. – Vol. 897. – № 1-2. – P. 9-19.
561. Sp7/Osterix induces the mouse pro- $\alpha$ 2(I) collagen gene (Colla2) expression via the proximal promoter in osteoblastic cells / H. Yano, R. Hamanaka, M. Nakamura-Ota [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2014. – Vol. 452. – № 3. – P. 531-536.
562. Spectrum of mucocutaneous manifestations in 277 patients with joint hypermobility syndrome/Ehlers-Danlos syndrome, hypermobility type / M. Castori, C. Dordoni, S. Morlino [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*. – 2015. – Vol. 169. – № 1. – P. 43-53.
563. Splenic Rupture Secondary to Vascular Ehlers–Danlos Syndrome Managed by Coil Embolization of the Splenic Artery / K. C. Kamalanathan, A. M. Barnacle, C.

Holbrook, C. Rees // *European Journal of Pediatric Surgery Reports*. – 2019. – Vol. 07. – № 01. – P. e83-e85.

564. Splice site mutation causing deletion of exon 21 sequences from the Pro $\alpha$ 2(I) chain of type I collagen in a patient with severe dentinogenesis imperfecta but very mild osteogenesis imperfecta / A. C. Nicholls, J. Oliver, S. McCarron [et al.] // *Human Mutation*. – 1996. – Vol. 7. – № 3. – P. 219-227.

565. Stage related metabolic profile of synovial fluid in patients with acute flares of knee osteoarthritis / D.-C. Bocsa, C. Socaciu, S. D. Iancu [et al.] // *Medicine and Pharmacy Reports*. – 2022. – Vol. 95. – № 4. – P. 438-445.

566. State of the art in osteoporosis risk assessment and treatment / J. Liu, E. M. Curtis, C. Cooper, N. C. Harvey // *Journal of Endocrinological Investigation*. – 2019. – Vol. 42. – № 10. – P. 1149-1164.

567. Structural correlates of pain in joints with osteoarthritis / D. J. Hunter, A. Guermazi, F. Roemer [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2013. – Vol. 21. – № 9. – P. 1170-1178.

568. Sugrue L. P. What Are Polygenic Scores and Why Are They Important? / L. P. Sugrue, R. S. Desikan // *JAMA – Journal of the American Medical Association*. – 2019. – Vol. 321. – № 18. – P. 1820-1821.

569. Sustained Modeling-Based Bone Formation during Adulthood in Cynomolgus Monkeys May Contribute to Continuous BMD Gains with Denosumab / M. S. Ominsky, C. Libanati, Q. T. Niu [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2015. – Vol. 30. – № 7. – P. 1280-1289.

570. Synovial fluid nitric oxide levels in patients with knee osteoarthritis / A. Karan, M. A. Karan, P. Vural [et al.] // *Clinical Rheumatology*. – 2003. – Vol. 22. – № 6. – P. 397-399.

571. Synovitis and the risk of knee osteoarthritis: The MOST Study / D. T. Felson, J. Niu, T. Neogi [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2016. – Vol. 24. – № 3. – P. 458-464.
572. Systematic Localization of Common Disease-Associated Variation in Regulatory DNA / E. Matthew T. Maurano, Richard Humbert, Eric Rynes<sup>1</sup>, Robert E. Thurman, J. Haugen, Hao Wang, Alex P. Reynolds, Richard Sandstrom, Hongzhu Qu, S. S.- Brody, Anthony Shafer, Fidencio Neri, Kristen Lee, Tanya Kuttyavin [et al.] // *Science*. – 2012. – Vol. 337. – № 6099. – P. 1190-1195.
573. Systematic review of the effect of denosumab on children with osteogenesis imperfecta showed inconsistent findings / G. Li, Y. Jin, M. A. H. Levine [et al.] // *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*. – 2018. – Vol. 107. – № 3. – P. 534-537.
574. Tanoue L. T. Lung Cancer Risk Prediction: Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial Models and Validation / L. T. Tanoue // *Yearbook of Pulmonary Disease*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 64-67.
575. Targeted disruption of decorin leads to abnormal collagen fibril morphology and skin fragility / K. G. Danielson, H. Baribault, D. F. Holmes [et al.] // *Journal of Cell Biology*. – 1997. – Vol. 136. – № 3. – P. 729-743.
576. Targeted disruption of the c-src proto-oncogene leads to osteopetrosis in mice / P. Soriano, C. Montgomery, R. Geske, A. Bradley // *Cell*. – 1991. – Vol. 64. – № 4. – P. 693-702.
577. Tauer J. T. Osteogenesis Imperfecta: New Perspectives From Clinical and Translational Research / J. T. Tauer, M. E. Robinson, F. Rauch // *JBMR Plus*. – 2019. – Vol. 3. – № 8.
578. Teitelbaum S. L. Bone resorption by osteoclasts / S. L. Teitelbaum // *Science*. – 2000. – Vol. 289. – № 5484. – P. 1504-1508.

579. Teti A. Parathyroid hormone binding to cultured avian osteoclasts / A. Teti, R. Rizzoli, A. Z. Zallone // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1991. – Vol. 174. – № 3. – P. 1217-1222.
580. The 2017 international classification of the Ehlers–Danlos syndromes / F. Malfait, C. Francomano, P. Byers [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*. – 2017. – Vol. 175. – № 1. – P. 8-26.
581. The accuracy of osteoporotic fracture risk prediction tools: A systematic review and meta-analysis / M. A.A., F. R., S. E. [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2015. – Vol. 74. – P. 531.
582. The aetiological significance of work-load in the development of osteoarthritis of the distal interphalangeal joint / R. Nakamura, Y. Ono, E. Horii [et al.] // *Journal of Hand Surgery*. – 1993. – Vol. 18. – № 4. – P. 540-542.
583. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hand / R. Altman, G. Alarcon, D. Appelrouth [et al.] // *Arthritis & Rheumatism*. – 1990. – Vol. 33. – № 11. – P. 1601-1610.
584. The association between fracture and obesity is site-dependent: A population-based study in postmenopausal women / P.-A. D., P. M.O., F. A. F. [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2012. – Vol. 27. – № 2. – P. 294-300.
585. The burden of osteoporotic fractures: A method for setting intervention thresholds / J. A. Kanis, A. Oden, O. Johnell [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2001. – Vol. 12. – № 5. – P. 417-427.
586. The cell biology of osteoclast function / H. K. Väänänen, H. Zhao, M. Mulari, J. M. Halleen // *Journal of Cell Science*. – 2000. – Vol. 113. – № 3. – P. 377-381.
587. The challenge of the definition of early symptomatic knee osteoarthritis: a proposal of criteria and red flags from an international initiative promoted by the Italian Society for Rheumatology / A. Migliore, C. A. Scirè, L. Carmona [et al.] // *Rheumatology International*. – 2017. – Vol. 37. – № 8. – P. 1227-1236.



588. The complex landscape of microRNAs in articular cartilage: biology, pathology, and therapeutic targets / H. Endisha, J. Rockel, I. Jurisica, M. Kapoor // *JCI insight*. – 2018. – Vol. 3. – № 17.
589. The effect of osteoarthritis definition on prevalence and incidence estimates: A systematic review / D. Pereira, B. Peleteiro, J. Araújo [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2011. – Vol. 19. – № 11. – P. 1270-1285.
590. The Ehlers–Danlos syndromes, rare types / A. F. Brady, S. Demirdas, S. Fournel-Gigleux [et al.] // *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*. – 2017. – Vol. 175. – № 1. – P. 70-115.
591. The Ehlers–Danlos syndromes / F. Malfait, M. Castori, C. A. Francomano [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2020. – Vol. 6. – № 1.
592. The epidemiology of wrist fractures in older men: the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) study / N. C. Wright, E. R. Hooker, C. M. Nielson [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2018. – Vol. 29. – № 4. – P. 859-870.
593. The expression of thyroid hormone receptors in human bone / E. O. Abu, S. Bord, A. Horner [et al.] // *Bone*. – 1997. – Vol. 21. – № 2. – P. 137-142.
594. The gasotransmitter hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) prevents pathologic calcification (pc) in cartilage / S. Nasi, D. Ehirchiou, J. Bertrand [et al.] // *Antioxidants*. – 2021. – Vol. 10. – № 9.
595. The GDF5 rs143383 polymorphism is associated with osteoarthritis of the knee with genome-wide statistical significance / A. M. Valdes, E. Evangelou, H. J. M. Kerkhof [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2011. – Vol. 70. – № 5. – P. 873-875.
596. The heritability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneus and hip axis length: A study of postmenopausal twins / N. K. Arden, J. Baker, C. Hogg [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 1996. – Vol. 11. – № 4. – P. 530-534.

597. The identification of novel mutations in COL1A1, COL1A2, and LEPRE1 genes in Chinese patients with osteogenesis imperfecta / Z. L. Zhang, H. Zhang, Y. H. Ke [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. – 2012. – Vol. 30. – № 1. – P. 69-77.
598. The Identification of Trans-acting Factors That Regulate the Expression of GDF5 via the Osteoarthritis Susceptibility SNP rs143383 / C. M. Syddall, L. N. Reynard, D. A. Young, J. Loughlin // *PLoS Genetics*. – 2013. – Vol. 9. – № 6.
599. The IFITM5 mutation c.-14C > T results in an elongated transcript expressed in human bone; And causes varying phenotypic severity of osteogenesis imperfecta type v / S. Lazarus, A. M. McInerney-Leo, F. A. McKenzie [et al.] // *BMC Musculoskeletal Disorders*. – 2014. – Vol. 15. – № 1.
600. The IL-1 $\beta$ /AP-1/miR-30a/ADAMTS-5 axis regulates cartilage matrix degradation in human osteoarthritis / Q. Ji, X. Xu, Q. Zhang [et al.] // *Journal of Molecular Medicine*. – 2016. – Vol. 94. – № 7. – P. 771-785.
601. The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly, the framingham osteoarthritis study / D. T. Felson, Y. Zhang, M. T. Hannan [et al.] // *Arthritis & Rheumatism*. – 1995. – Vol. 38. – № 10. – P. 1500-1505.
602. The molecular basis of classic Ehlers-Danlos syndrome: A comprehensive study of biochemical and molecular findings in 48 unrelated patients / F. Malfait, P. Coucke, S. Symoens [et al.] // *Human Mutation*. – 2005. – Vol. 25. – № 1. – P. 28-37.
603. The molecular landscape of osteogenesis imperfecta in a Brazilian tertiary service cohort / A. M. Fernandes, M. G. M. Rocha-Braz, M. M. França [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2020. – Vol. 31. – № 7. – P. 1341-1352.
604. The natural history, including orofacial features of three patients with ehlers-danlos syndrome, dermatosparaxis type (EDS type VIIC) / F. Malfait, P. De Coster, I. Hausser [et al.] // *American Journal of Medical Genetics*. – 2004. – Vol. 131 A. – № 1. – P. 18-28.

605. The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. the framingham osteoarthritis study / D. T. Felson, A. Naimark, J. Anderson [et al.] // *Arthritis & Rheumatism*. – 1987. – Vol. 30. – № 8. – P. 914-918.
606. The prevalence of musculoskeletal pain and therapy needs in adults with Osteogenesis Imperfecta (OI) a cross-sectional analysis / S. Barlow, L. Dove, A. Jaggi [et al.] // *BMC Musculoskeletal Disorders*. – 2022. – Vol. 23. – № 1.
607. The protective role of the 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST)-hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) pathway against experimental osteoarthritis / S. Nasi, D. Ehrchiou, A. Chatzianastasiou [et al.] // *Arthritis Research and Therapy*. – 2020. – Vol. 22. – № 1.
608. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis in the general population: The Chingford study / D. J. Hart, I. Mootosamy, D. V. Doyle, T. D. Spector // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 1994. – Vol. 53. – № 3. – P. 158-162.
609. The role of metabolism in the pathogenesis of osteoarthritis / A. Mobasheri, M. P. Rayman, O. Gualillo [et al.] // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2017. – Vol. 13. – № 5. – P. 302-311.
610. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption / L. C. Hofbauer, S. Khosla, C. R. Dunstan [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2000. – Vol. 15. – № 1. – P. 2-12.
611. The Saturation Effect of Body Mass Index on Bone Mineral Density for People Over 50 Years Old: A Cross-Sectional Study of the US Population / M. Ma, Z. Feng, X. Liu [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2021. – Vol. 8.
612. The temporal order of DNA replication shaped by mammalian DNA methyltransferases / S. I. Takebayashi, T. Ryba, K. Wimbish [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – № 2. – P. 1-18.

613. The unique spectrum of mutations in patients with hereditary tyrosinemia type 1 in different regions of the Russian Federation / G. V. Baydakova, T. A. Ivanova, S. V. Mikhaylova [et al.] // *JIMD Reports*. – 2019. – Vol. 45. – P. 89-93.
614. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women / J. A. Kanis, A. Oden, O. Johnell [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2007. – Vol. 18. – № 8. – P. 1033-1046.
615. Therapy of endocrine disease: Treatment of osteogenesis imperfecta in adults / K. Lindahl, B. Langdahl, Ö. Ljunggren, A. Kindmark // *European Journal of Endocrinology*. – 2014. – Vol. 171. – № 2.
616. Torkamani A. The personal and clinical utility of polygenic risk scores / A. Torkamani, N. E. Wineinger, E. J. Topol // *Nature Reviews Genetics*. – 2018. – Vol. 19. – № 9. – P. 581-590.
617. Total absence of the alpha2(I) chain of collagen type I causes a rare form of Ehlers-Danlos syndrome with hypermobility and propensity to cardiac valvular problems. / F. Malfait, S. Symoens, P. Coucke [et al.] // *Journal of medical genetics*. – 2006. – Vol. 43. – № 7.
618. Trabecular Bone Response to Mechanical and Parathyroid Hormone Stimulation: The Role of Mechanical Microenvironment / C. H. Kim, E. Takai, H. Zhou [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2003. – Vol. 18. – № 12. – P. 2116-2125.
619. Trait-associated SNPs are more likely to be eQTLs: Annotation to enhance discovery from GWAS / D. L. Nicolae, E. Gamazon, W. Zhang [et al.] // *PLoS Genetics*. – 2010. – Vol. 6. – № 4.
620. Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF-2 $\alpha$  during skeletal growth and osteoarthritis development / T. Saito, A. Fukai, A. Mabuchi [et al.] // *Nature Medicine*. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 678-686.

621. Transcriptome and genome sequencing uncovers functional variation in humans / T. G. Consortium, T. Lappalainen, M. Sammeth [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 501. – № 7468. – P. 506-511.
622. Trejo P. Hypercalcemia and hypercalciuria during denosumab treatment in children with osteogenesis imperfecta type VI / P. Trejo, F. Rauch, L. Ward // *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*. – 2018. – Vol. 18. – № 1. – P. 76-80.
623. Trends in incidence and prevalence of osteoarthritis in the United Kingdom: findings from the Clinical Practice Research Datalink (CPRD) / S. Swain, A. Sarmanova, C. Mallen [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2020. – Vol. 28. – № 6. – P. 792-801.
624. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand / H. Hsu, D. L. Lacey, C. R. Dunstan [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1999. – Vol. 96. – № 7. – P. 3540-3545.
625. Two Rare Mutations in the COL1A2 Gene Associate with Low Bone Mineral Density and Fractures in Iceland / U. Styrkarsdottir, G. Thorleifsson, B. Eiriksdottir [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2016. – Vol. 31. – № 1. – P. 173-179.
626. Type III collagen mutations in Ehlers Danlos Syndrome type IV and other related disorders / F. M. POPE, A. C. NICHOLLS, P. NARCISI [et al.] // *Clinical and Experimental Dermatology*. – 1988. – Vol. 13. – № 5. – P. 285-302.
627. Type III collagen regulates osteoblastogenesis and the quantity of trabecular bone / S. W. Volk, S. R. Shah, A. J. Cohen [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 2014. – Vol. 94. – № 6. – P. 621-631.
628. Ultrasonographic assessment of the femoral cartilage in osteoarthritis patients with and without osteoporosis / A. B. Çarlı, S. Akarsu, L. Tekin [et al.] // *Aging Clinical and Experimental Research*. – 2014. – Vol. 26. – № 4. – P. 411-415.

629. Underlying molecular mechanisms of DIO2 susceptibility in symptomatic osteoarthritis / N. Bomer, W. Den Hollander, Y. F. M. Ramos [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2015. – Vol. 74. – № 8. – P. 1571-1579.
630. Undifferentiated connective tissue dysplasia (the project of guidelines) // *Therapy*. – 2019. – Vol. 7\_2019. – P. 9-42.
631. Unexpected association between joint hypermobility syndrome/Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type and obsessive-compulsive personality disorder / P. M., C. C., B. I. [et al.] // *Rheumatology International*. – 2014. – Vol. 34. – № 5. – P. 631-636.
632. Universal standardization for dual X-ray absorptiometry: Patient and phantom cross-calibration results / H. K. Genant, S. Grampp, C. C. Glüer [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 1994. – Vol. 9. – № 10. – P. 1503-1514.
633. Up-to-date classification and multidisciplinary symptoms of Ehlers-Danlos syndromes / F. V. Ralovich, N. Kiss, K. Horváth [et al.] // *Orvosi Hetilap*. – 2019. – Vol. 160. – № 16. – P. 603-612.
634. Vanderby R. Collagen in connective tissue: From tendon to bone / R. Vanderby, P. P. Provenzano // *Journal of Biomechanics*. – 2003. – Vol. 36. – № 10. – P. 1523-1527.
635. Vascular type Ehlers-Danlos Syndrome with fatal spontaneous rupture of a right common iliac artery dissection: Case report and review of literature / A. Abayazeed, E. Hayman, M. Moghadamfalahi, D. Cain // *Journal of Radiology Case Reports*. – 2014. – Vol. 8. – № 2. – P. 63-69.
636. VDR genotype and response to etidronate therapy in late postmenopausal women / J. Marc, J. Prezelj, R. Komel, A. Kocijancic // *Osteoporosis International*. – 1999. – Vol. 10. – № 4. – P. 303-306.
637. Vertebral bone attenuation in Hounsfield Units and prevalent vertebral fractures are associated with the short-term risk of vertebral fractures in current and ex-smokers with and without COPD: a 3-year chest CT follow-up study / M. J. van Dort, J. H. M.

Driessen, P. Geusens [et al.] // *Osteoporosis International*. – 2019. – Vol. 30. – № 8. – P. 1561-1571.

638. Very low prevalence of hip osteoarthritis among Chinese elderly in Beijing, China, compared with Whites in the United States: The Beijing osteoarthritis study / M. C. Nevitt, L. Xu, Y. Zhang [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2002. – Vol. 46. – № 7. – P. 1773-1779.

639. Vidal M. Interactome networks and human disease / M. Vidal, M. E. Cusick, A. L. Barabási // *Cell*. – 2011. – Vol. 144. – № 6. – P. 986-998.

640. Vitamin D 3 and Calcium to Prevent Hip Fractures in Elderly Women / M. C. Chapuy, M. E. Arlot, F. Duboeuf [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 1992. – Vol. 327. – № 23. – P. 1637-1642.

641. Vitamin D receptor gene polymorphisms predict acquired resistance to clodronate treatment in patients with paget's disease of bone / G. Mossetti, L. Gennari, D. Rendina [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 2008. – Vol. 83. – № 6. – P. 414-424.

642. Voermans N. C. Both pain and fatigue are important possible determinants of disability in patients with the Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type / N. C. Voermans, H. Knoop // *Disability and Rehabilitation*. – 2011. – Vol. 33. – № 8. – P. 706-707.

643. Volumetric bone mineral density of the tibia is not increased in subjects with radiographic knee osteoarthritis / M. Abdin-Mohamed, K. Jameson, E. M. Dennison [et al.] // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2009. – Vol. 17. – № 2. – P. 174-177.

644. Waddington C. H. *An Introduction to Modern Genetics* / C. H. Waddington // *An Introduction to Modern Genetics*. – 2016. – An Introd. to Mod. Genet.

645. Walkden A. Brittle cornea syndrome: Current perspectives / A. Walkden, E. Burkitt-Wright, L. Au // *Clinical Ophthalmology*. – 2019. – Vol. 13. – P. 1511-1516.

646. Weatherholt A. M. Specialized connective tissue: Bone, the structural framework of the upper extremity / A. M. Weatherholt, R. K. Fuchs, S. J. Warden // *Journal of Hand Therapy*. – 2012. – Vol. 25. – № 2. – P. 123-132.
647. Wekre L. L. Bone mass, bone markers and prevalence of fractures in adults with osteogenesis imperfecta / L. L. Wekre, E. F. Eriksen, J. A. Falch // *Archives of Osteoporosis*. – 2011. – Vol. 6. – № 1-2. – P. 31-38.
648. What is new in genetics and osteogenesis imperfecta classification? / E. R. Valadares, T. B. Carneiro, P. M. Santos [et al.] // *Jornal de Pediatria*. – 2014. – Vol. 90. – № 6. – P. 536-541.
649. Whole-genome sequencing identifies rare genotypes in COMP and CHADL associated with high risk of hip osteoarthritis / U. Styrkarsdottir, H. Helgason, A. Sigurdsson [et al.] // *Nature Genetics*. – 2017. – Vol. 49. – № 5. – P. 801-805.
650. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs / M. Selbach, B. Schwanhäusser, N. Thierfelder [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 455. – № 7209. – P. 58-63.
651. Y Y. Association of BMP-14 rs143383 polymorphism with its susceptibility to osteoarthritis: A meta-analysis and systematic review according to PRISMA guideline. / Y. Y, W. Y // *Medicine*. – 2017. – Vol. 96. – № 42. – P. e7447.
652. Yeowell H. N. PLOD1-Related Kyphoscoliotic Ehlers-Danlos Syndrome / H. N. Yeowell, B. Steinmann // *GeneReviews®*. – 1993.
653. Yunus M. H. M. Pathophysiological perspective of osteoarthritis / M. H. M. Yunus, A. Nordin, H. Kamal // *Medicina (Lithuania)*. – 2020. – Vol. 56. – № 11. – P. 1-13.
654. Zengini E. The genetic epidemiological landscape of hip and knee osteoarthritis: Where are we now and where are we going? / E. Zengini, C. Finan, J. M. Wilkinson // *Journal of Rheumatology*. – 2016. – Vol. 43. – № 2. – P. 260-266.



655. Zhang Z. Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB stimulates osteoclastic bone resorption directly: The role of receptor  $\beta 1$  / Z. Zhang, J. Chen, D. Jin // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1998. – Vol. 251. – № 1. – P. 190-194.
656. Zhou Z. Management of chronic pain in Ehlers-Danlos syndrome / Z. Zhou, A. Rewari, H. Shanthanna // *Medicine (United States)*. – 2018. – Vol. 97. – № 45.
657. Zoledronic acid versus alendronate in the treatment of children with osteogenesis imperfecta: A 2-year clinical study / F. Lv, Y. Liu, X. Xu [et al.] // *Endocrine Practice*. – 2018. – Vol. 24. – № 2. – P. 179-188.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение А.

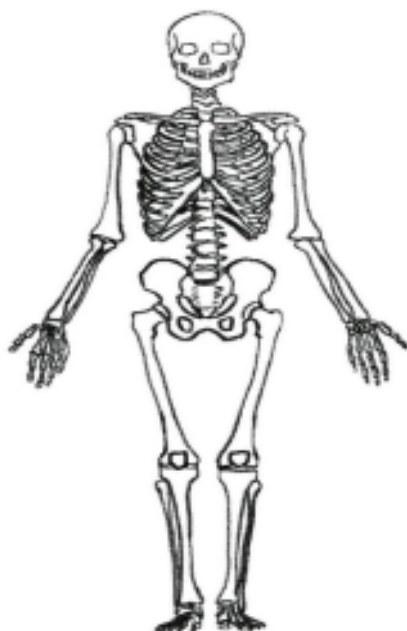
#### Анкета пациента с несовершенным остеогенезом

ФИО \_\_\_\_\_

Дата рождения \_\_\_\_\_ Национальность \_\_\_\_\_ Статус \_\_\_\_\_

Генеалогическая карта

--



Забор биоматериала (дата)

	Цельная кровь	Сыворотка
Пробанд		
Мать		
Отец		

Денситометрия

Дата	Z критерий	МПКТ

Терапия

Дата	Препарат

Клинические проявления

Голубые склеры	
Нарушение слуха	
ГМС	
Гиперэластичность кожи	
Патология эмали	

Диагностика

Номер ДНК	
Панель СДТ	
Ген	Результат

Анамнез по переломам

	Переломы (да/нет)
Мать	
Отец	

Рисунок А1 – Анкета пациента с несовершенным остеогенезом

## Приложение Б.

## Анкета пациента с синдромом Элерса-Данло

## Диагностическая карта больного синдромом Элерса-Данло

ФИО \_\_\_\_\_ Возраст \_\_\_\_\_  
 Национальность матери \_\_\_\_\_ отца \_\_\_\_\_ Семейный анамнез \_\_\_\_\_ (да/нет)  
 Гипермобильность по Beighton \_\_\_\_\_ баллов  
 Гиперэластичность кожи: кисть \_\_\_\_\_ см локоть \_\_\_\_\_ см плечо \_\_\_\_\_ см

Основные критерии:

Большие критерии	Малые критерии

Дополнительные критерии:

---



---



---



---



---



---



---

Генеалогическое дерево

Заключение:

---



---



---

Рекомендации:

---



---



---



---



---



---

Рисунок Б1 – Анкета пациента с синдромом Элерса-Данло

## Приложение В.

## Характеристики исследованных локусов

Таблица В1 – Характеристика полиморфных вариантов в генах – кандидаты развития остеоартрита

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>VNTR</i>	<i>ACAN</i> – кодирует агрекан	15q26	интронный вариант
<i>rs226794</i>	<i>ADAMTS5</i> – кодирует агреканазу	21q21.3	миссенс-вариант
<i>rs2830585</i>			миссенс-вариант
<i>rs1042667</i>	<i>SOX9</i> – кодирует фактор транскрипции	17q24	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs2229989</i>			миссенс-вариант
<i>rs7217932</i>			миссенс-вариант
<i>rs6539153</i>	<i>CHST11</i> – кодирует углеводную сульфотрансферазу	12q23.3	upstream transcript variant
<i>rs1107946</i>	<i>COL1A1</i> – кодирует коллаген I типа	17q22.1-22.3	промоторная область
<i>rs1800012</i>			интронный вариант

Таблица В2 – Характеристика полиморфных вариантов в генах репликации GWAS-исследований остеоартрита

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>rs4836732</i>	<i>ASTN2</i> – кодирует белок астротактин	9q33	интронный вариант
<i>rs7639618</i>	<i>DVWA (COL6A4P1)</i> – кодирует коллаген VI типа	3p24.3	интронный вариант
<i>rs11842874</i>	<i>MCF2L</i> – кодирует фактор обмена гуаниновых нуклеотидов	13q34	интронный вариант

Продолжение таблицы В2

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>rs6976</i>	<i>GLT8D1</i> – кодирует белок глюкозилтрансферазу	3p21.2	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs2302061</i>	<i>DOT1L</i> – кодирует белок гистоновую метилтрансферазу	19p13.3	миссенс-вариант
<i>rs12982744</i>			интронный вариант
<i>rs3204689</i>	<i>ALDH1A</i> – кодирует белок альдегиддегидрогеназу	9q21.13	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs11177</i>	<i>GLN3</i> – кодирует активатор транскрипции	1q18.13	миссенс-вариант
<i>rs9350591</i>	<i>FILIP1/ SENP6</i> – кодирует белок, взаимодействующий с филамином-А	6q14.1	межгенный вариант
<i>rs6094710</i>	<i>NCOA3</i> – кодирует коактиватор ядерного рецептора	20q13.12	межгенный вариант
<i>rs835487</i>	<i>CHST11</i> – кодирует углеводную сульфотрансферазу	12q23.3	интронный вариант

Таблица В3 – Характеристика полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК в мРНК таргетных генов при ОА

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>rs9978597</i>	<i>ADAMTS5</i> – кодирует агрекканазу	21q21.3	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs229069</i>			3'-нетранслируемая область гена
<i>rs229077</i>			3'-нетранслируемая область гена

## Продолжение таблицы В3

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>rs1042673</i>	<i>SOX9</i> – кодирует фактор транскрипции	17q24	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs13317</i>	<i>FGFR1</i> – кодирует рецептор фактора роста фибробластов	8p11.23	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs4647940</i>	<i>FGFRL1</i> – кодирует лиганд рецептора фактора роста фибробластов	4p16.3	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs9659030</i>	<i>COL11A1</i> – кодирует коллаген XI типа	1p21.1	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs3128575</i>	<i>COL5A2</i> – кодирует коллаген V типа	2q32.2	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs1061947</i>	<i>COL1A1</i> – кодирует коллаген I типа	17q 21.3	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs1061237</i>			3'-нетранслируемая область гена
<i>rs73611720</i>	<i>GDF5</i> – кодирует фактор роста и дифференцировки	20q11.11	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs9509</i>	<i>MMP9</i> – кодирует матриксную протеиназу 9 типа	20q13.12	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs1042840</i>	<i>MMP13</i> – кодирует матриксную протеиназу 13 типа	11q22.2	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs5854</i>	<i>MMP1</i> – кодирует матриксную протеиназу 1 типа	11q22	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs470215</i>			3'-нетранслируемая область гена

## Продолжение таблицы В3

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>rs2239008</i>	<i>MMP1</i> – кодирует матриксную протеиназу 1 типа	11q22	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs2463018</i>	<i>CHST11</i> – кодирует углеводную сульфотрансферазу	12q23.3	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs1057972</i>	<i>IL15</i> – кодирует интерлейкин 5 типа	4q31.21	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs6854081</i>	<i>FGF2</i> – кодирует фактор роста фибробластов	4q25-27	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs10793442</i>	<i>ZNF239</i> – кодирует белок цинковых пальцев	10q11.21	3'-нетранслируемая область гена
<i>rs1054204</i>	<i>SPARC</i> – кодирует белок базальной мембраны	5q31-33	3'-нетранслируемая область гена

Таблица В4 – Характеристика полиморфных вариантов генов чувствительности к терапии аминобисфосфонатами и витамином Д

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
<i>rs1544410</i>	<i>VDR</i> – кодирует рецептор витамина D	12q13.11	интронный вариант
<i>rs2297480</i>	<i>FDPS</i> – кодирует фермент фарнезилпиро-фосфатсинтазу	1q22	интронный вариант
<i>rs1801197</i>	<i>CALCR</i> – кодирует рецептор кальцитонина	7q21.3	миссенс-мутация

Продолжение таблицы В4

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
rs2282679	<i>DBP</i> – кодирует альфа-глобулин, связывающий витамин D	19q13.33	интронный вариант

Таблица В5 – Характеристика полиморфных вариантов генов микроРНК

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
rs2910164	<i>miR-146-a</i> – кодирует одноименную микроРНК	5q33.3	некодирующий транскрипт в экзоне гена микроРНК
rs11614913	<i>miR-196-a-2</i> – кодирует одноименную микроРНК	12p38.1/141	некодирующий транскрипт в экзоне гена микроРНК

Таблица В6 – Характеристика полиморфных вариантов гена *OPG*

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
rs3102735	<i>TNFRSF11B</i> – ( <i>OPG</i> ) – кодирует рецептор остеопротегерин	8q24	межгенный вариант
rs3134069			промоторный регион
rs2073617			промоторный регион
rs2073618			миссенс-вариант
rs3102734			интронный вариант
rs7844539			область сплайсинга



Таблица В7 – Характеристика полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК при ОП

Локус	Ген	Хромосома	Функциональная значимость
rs1061947	<i>COL1A1</i> – кодирует альфа-1 цепь коллагена 1 типа	17q 21.3	3'-нетранслируемая область гена
rs1031820	<i>COL11A1</i> – кодирует альфа-1 цепь коллагена 11 типа	1p21.1	3'-нетранслируемая область гена
rs9659030	<i>COL11A1</i> – кодирует альфа-1 цепь коллагена 11 типа	1p21.1	3'-нетранслируемая область гена
rs11540149	<i>VDR</i> – кодирует рецептор витамина D	12q13.11	3'-нетранслируемая область гена
rs6854081	<i>FGF2</i> – кодирует фактор роста фибробластов 2 типа	4q28.1	3'-нетранслируемая область гена
rs1042673	<i>SOX9</i> – кодирует фактор транскрипции	17q24.3	3'-нетранслируемая область гена
rs5854	<i>MMP1</i> – кодирует матриксную металлопротеиназу	11q22.2	3'-нетранслируемая область гена
rs10793442	<i>ZNF239</i> – ген белка 239 «цинковых пальцев»	10q11.21	3'-нетранслируемая область гена
rs10098470	<i>TPD52</i> – ген опухолевого белка D52	8q21.13	3'-нетранслируемая область гена
rs1054204	<i>SPARC</i> – кодирует остеоонектин	5q33.1	3'-нетранслируемая область гена
rs1712	<i>FBXO5</i> – кодирует белок ингибитор митоза	6q25.2	3'-нетранслируемая область гена