

На правах рукописи

Тюрин Антон Викторович

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОНОГЕННЫХ И
МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

3.1.18. Внутренние болезни

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации кафедры внутренних болезней и клинической психологии

Научные консультанты

Доктор медицинских наук, профессор

Ганцева Халида Ханафиевна

Доктор биологических наук, доцент

Хусаинова Рита Игоревна

Официальные оппоненты

Зинченко Рена Абульфазовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научно-клинической работе, заведующая лабораторией генетической эпидемиологии, заведующая кафедрой Организации здравоохранения, общественного здоровья и медико-генетического мониторинга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Алексеева Людмила Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, начальник отдела метаболических заболеваний костей и суставов Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой"

Лесняк Ольга Михайловна, доктор медицинских наук, профессор кафедры семейной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Полоников Алексей Валерьевич, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ Генетической и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2024 г. в __ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.004 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117292, г. Москва, ул. Вавилова, д. 61, ГБУЗ ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ).

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, доцент

Шаваров Андрей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 (Кадурина Т.И. и др., 2009; Хорошочков и др., 1988; Vanderby R. et al., 2003). В русскоязычной и в зарубежной литературе широко используется термин «системные заболевания соединительной ткани» (Turk M. A. et al. 2021; Borisova O. 2020), 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 развиваются при возникновении мутации в структуре определённого гена и передаются в соответствии с типом наследования (Гинтер Е.К. и др., 2022). 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 и приводящие к развитию ассоциированной патологии (Мартынов А.И. и др., 2018). Данный подтип является многофакторной патологией – имеет генетическую предрасположенность, но зависит также от факторов среды (Ткачук В.А. и др., 2023). 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 (Cieza A. et al., 2020). 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 исследования

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 (Hunter D.J. et al., 2019). Однако данные сильно варьируют как в разных странах, так и в пределах России, что может быть связано с неоптимальной системой учета заболеваемости (Kabalyk M. A. 2018; Felson D.T. et al. 1995; Muraki S. et al. 2012). Остеопороз является причиной более 8,9 млн. переломов ежегодно во всем мире и занимает значимое место среди заболеваний с высокой инвалидизацией и смертностью (Хусаинова Р.И. и др., 2016). Предполагается, что отсутствие ранней диагностики у большинства больных ОП может быть связано с 84% случаев переломов (Smith S. et al. 2004). В России ОП страдают 14 млн человек, что составляет 10% населения (Ахмеджанов Ф.М., 2007; Головяхина А.В., 2018). 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 (Sarragós-Martin J.A. et al., 2013; Ralovich F.V. et al., 2019). Оптимизация систем учета на основании валидированных клинических, лабораторных и молекулярно-генетических критериев позволит разработать более эффективные алгоритмы оказания медицинской помощи.

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 (Faustino A., 2021). 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 (Estrada K. et al., 2012). Изменение классификационных критериев несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло, произошедшие совсем недавно, напрямую связаны с достижениями ДНК-диагностики и определением молекулярного патогенеза данных заболеваний (Khusainova R.I., 2020; Malfait F. et al., 2017; Jesudas R. et al., 2019).

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 (Vocsa D.C. et al., 2022; Chu C.R. et al., 2012; Arceo-Mendoza R.M., 2015). Возможным вариантом решения этой проблемы

может стать разработка клинико-генетических прогностических моделей, с оценкой индивидуального риска, ранней диагностикой и профилактикой (Kanis J.A. et al., 2019).

Фундаментальный научный интерес представляет коморбидность различных вариантов патологии соединительной ткани и наличие общих звеньев патогенеза. Взаимосвязь остеопороза и остеоартрита исследуется в течение длительного времени (Oliveira M.C. et al., 2020; Zheng W. et al., 2020), 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 (Raff M.L. et al., 2000; Symoens S. et al., 2012; Barnes A.M. et al., 2006; Cabral W.A. et al., 2007; Malfait F. et al., 2013; Lu Y. et al., 2018). Актуальным является также поиск общих звеньев патогенеза и молекулярных маркеров моногенных и многофакторных заболеваний (Kasher M., 2020; Oliveira M., 2020).

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 (Marini F., 2014).

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 (Barter M.J., et al., 2012). Анализ микроРНК (miRNA) позволил идентифицировать абберрантно экспрессируемые факторы в жидкостях организма пациентов с ОА, которые могут представлять новые биомаркеры заболевания (Budd E., et al., 2018). Описан повышенный уровень miRNA-497 в сыворотке у женщин с ОА по сравнению с женщинами с остеопоротическим переломом бедра (Panach L. et al., 2015). 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 ОА и ОП по сравнению с контрольной группой (Pertusa C. et al., 2021). 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 (Nath Srivastava R. et al., 2023). При этом объектом исследования могут быть не только уровни

экспрессии микроРНК, а факторы, которые влияют на ее взаимодействие с целевыми генами. Комплементарное взаимодействие микроРНК с их сайтами связывания в 3'-нетранслируемых областях (3'UTR) мРНК целевых генов играет 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 (Rykova E. et al., 2022) путем упразднения, ослабления или создания микроРНК-связывающих сайтов (Endale Ahanda M.L. et al., 2012). Несколько сайтов связывания одной и той же микроРНК в 3'UTR могут значительно усилить степень эпигенетической регуляции (Djuranovic S., et al., 2011; Selbach M. et al., 2008). Исследования молекулярного патогенеза наследственных форм патологии связаны с развитием технологии секвенирования нового поколения (Slatko B.E. et al., 2018; Kumar K.R. et al., 2019). Задача исследователей – разработать оптимальные протоколы секвенирования и алгоритмы ДНК-диагностики для конкретных заболеваний с учетом характера наследуемости, популяционных особенностей, предсказательной ценности и экономической эффективности (Nam S.H. et al., 2016, Dunn P. et al., 2018, Levy M.A. et al., 2019).

Таким образом, в исследовании моногенных и многофакторных заболеваний 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, растет 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.

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. Локус rs7639618 (*DVWA*) ассоциирован с остеоартритом коленного и тазобедренного суставов, локусы rs3134069 и rs3102734 (*OPG*), rs6854081 (*FDF2*), rs11540149 (*VDR*) являются маркерами риска переломов, а локус rs7844539 (*OPG*) является маркером риска снижения МПКТ у женщин. У мужчин локусы rs1031820 (*COL11A1*) и локус rs10098470 (*TPD52*) влияют на риск переломов переломами, локус 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. Локус 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. Локус 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 клинико-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.

Научная новизна

Впервые представлена концепция структурных заболеваний соединительной ткани на основании многолетних клинических и молекулярно-генетических исследований. Сформирован Биобанк материалов с клиническими характеристиками 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 когорте 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 применены 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 с использованием клиничко-инструментальных и молекулярно-генетических методик. В ходе выполнения работы использованы теоретический анализ, наблюдение и сравнение с последующей статистической обработкой полученных данных. Дизайн исследования представляет 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), Института биохимии и генетики УФИЦ РАН (протокол №4 от 15.11.2012) и соответствует требованиям, регламентированным Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы научных медицинских исследований с участием людей».

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). Диссертационное исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол №5 от 17.05.2023), Института биохимии и генетики УФИЦ РАН (протокол №4 от 15.11.2012) и соответствует требованиям, регламентированным Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы научных медицинских исследований с участием людей». 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 опубликовано 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, приложений и списка литературы. 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.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование 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 была проведена оценка 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 структурных и метаболических параметров соединительной ткани, оценку диспластической стигматизации, исследование коморбидности патологий, а также различные варианты исследования изменения структуры ДНК. На III этапе проведена разработка алгоритмов диагностики на основе выявленных клинико-генетических предикторов, а также методов персонализированной терапии.

Когорта лиц для исследования ОА составила 417 женщин, критериями включения женщин в группу больных ОА являлись возраст от 18 до 65 лет, дебют заболевания в возрасте до 55 лет, наличие у пациенток остеоартрита в соответствии с критериями Американской ассоциации ревматологов (1995).



Рисунок 1 – Схема проведения основных этапов исследования.

Критериями исключения были: системные заболевания соединительной ткани, возраст старше 65 лет, активная инфекция, травматическое повреждение суставов в анамнезе, беременные или кормящие женщины. 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 %). По этническому составу выборку в целом составляли женщины: 144 (34,53 %) русского происхождения, 159 (38,13 %) – татарского происхождения, 30 (7,20 %) – башкиры, 84 (20,14%) – метисы и представительниц других этносов.

В когорту с остеопорозом были включены 1463 индивида: 987 женщин постменопаузального возраста (средний возраст $61,9 \pm 7,9$) и 476 мужчин старше 45 лет (средний возраст $62 \pm 10,8$). По этническому составу у женщин преобладали русские (67%), татар было 33%, у мужчин также преобладали русские пациенты (72%), 28% пациентов составили метисы от браков русских и татар. Общая выборка была разделена на группы сравнения, исходя из анамнеза: группы пациентов с переломами и/или низким уровнем МПКТ; группа контроля – пациенты без переломов и с нормальными показателями МПКТ. В исследование были включены пациенты с первичным ОП, при этом были исключены пациенты с системными заболеваниями соединительной ткани, пациенты, принимавшие медикаменты, способные влиять на уровень костного метаболизма, пациенты с активной бактериальной или вирусной инфекцией, а также беременные или кормящие женщины.

В исследование включены 64 пациента с несовершенным остеогенезом (средний возраст $24,6 \pm 15,56$ лет) из 54 семей, проживающих в Республике Башкортостан. 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). 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. В исследование включено 43 пациента с синдромом Элерса-Данло (средний возраст $28,6 \pm 7,44$ лет) из 37 семей, проживающих на территории Республики Башкортостан. Согласно классификационным критериям, все пациенты были отнесены к I (классическому) типу СЭД. 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 СЭД.

Фенотипические признаки и степень тяжести ДСТ оценивали с помощью диагностической таблицы, разработанной Т.И. Кадуриной (2008), в модификации

авторов исследования. Они выявлялись анамнестически, при физикальном исследовании, либо методами рутинной инструментальной диагностики. Каждому признаку была присвоена диагностическая ценность в баллах. 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/воронкообразная деформация грудной клетки оценивали в 3 балла, келлоидные рубцы, атрофические стрии, геморрагический синдром, хруст и подвывих ВЧС, гипермобильность суставов легкой степени, патологический кифоз/гиперлордоз позвоночника, плоскостопие, пролапс митрального клапана регургитацией 0-II, варикозная болезнь нижних конечностей легкой степени, миопия тяжелой степени, деформация желчного пузыря, ГЭРБ – в 2 балла, астенический тип конституции, дефицит массы тела (ИМТ < 15), парадонтит, вальгусная установка стоп, миопия легкой степени, хруст в суставах, артериальная гипотензия – в 1 балл. По сумме баллов давалось заключение, порог диагностики нДСТ был равен 8 баллам.

Биохимические параметры исследовали методом твердофазного иммунного анализа (ELISA) с помощью автоматического анализатора CA-800 (Furuno Electric Co. Ltd., Япония) и реактивов фирм-изготовителей. Для определения концентрации витамина Д использовали диагностические наборы фирмы Immco (США). 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. Сцинтиграфия проводилась в Лаборатории радионуклидной диагностики Клиники БГМУ. После введения радиофармпрепарата (740 МБк Tc-99m) отсроченное изображение было получено через 3–4 часа после введения с использованием двойной гамма-камеры (GE NM/CT Discovery 670, США).

Геномную ДНК обследуемых выделяли из цельной венозной крови методом экстракции фенол-хлороформом. Для определения изменений в последовательности ДНК использовалось несколько методик: полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени по технологии TaqMan, конкурентная аллель-специфичная ПЦР – KASP™ – патентованная технология компании LGC-Genomics, также для генотипирования полиморфных локусов *rs2830585* и *rs226794* гена *ADAMTS5* был использован метод анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Для определения изменений нуклеотидной последовательности у пациентов с наследственными формами патологии соединительной ткани были использованы методы анализа конформационного полиморфизма однонитевой ДНК – SSCP-анализ, секвенирование ДНК по Сэнгеру и массовое параллельное секвенирование

(секвенирование нового поколения, NGS), которое проводилось с использованием различных таргетных панелей. Аннотацию выявленных вариантов в соответствии с рекомендациями ACMG версии 3.0. Для описания вариантов нуклеотидной последовательности использовали стандартную номенклатуру (www.hgvs.org). Для картирования последовательности секвенированных участков при биоинформатической обработке использовали референсную геномную последовательность, расположенную на ресурсе RefSeq. Геномные координаты определялись в соответствии со стандартом геномной сборки (GRCh38). Клиническую значимость и фенотипические проявления определяли с использованием баз данных заболеваний и на основе данных Exome Aggregation Consortium, а также на основании литературных данных. Поиск ранее описанных вариантов проводили в базах данных секвенирования экзонов (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). 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).

Статистическая обработка полученных данных проведена на основании общепринятых методов вариационной статистики с использованием стандартных пакетов Microsoft Excel 2013, Statistica 6,0, MedCalc с применением критерия Колмогорова-Смирнова, параметрических (t-критерий Стьюдента) и непараметрических критериев (χ^2 , критерии Краскелла-Уоллиса и Манна-Уитни). Размер выборки определен на основании анализа мощности теста с применением калькуляторов <http://osse.bii.a-star.edu.sg/calculation2.php> и <http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/gpc/cc2.html>. Степень ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio (OR). Анализ неравновесия по сцеплению проведен с помощью программы Haploview 4.2. Поправку на множественность сравнений осуществляли, вычисляя значение FDR (false discovery rate – Benjamini–Hochberg). Мета-анализ результатов для определения гетерогенности выборки проводили с использованием программы Plink 1.07 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/index.shtml>), уровень гетерогенности определяли при помощи статистического критерия I^2 . Обобщение результатов проводилось с применением метода многофакторной логистической регрессии с построением ROC-кривых и методом расчета полигенной оценки риска (PRS).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ распространенности остеоартрита и остеопороза в Республике Башкортостан

Республика Башкортостан (РБ) является регионом Приволжского Федерального округа и частью Уральского экономического района. Более 60% численности населения республики сконцентрировано в предуральской и южной природно-климатических зонах. Отдельно следует выделить Башкирское Зауралье, которое объединяет городской округ город Сибай, муниципальные районы Абзелиловский, Баймакский, Бурзянский, Зианчуринский, Зилаирский, Учалинский, Хайбуллинский районы Республики Башкортостан. Данный регион был в течение длительного времени географически изолирован от основной части республики, что, в том числе, оказало влияние на распространённость ряда заболеваний. По этническому составу 36,3% населения республики составляют русские, 29,8% – башкиры, 24,1% – татары.

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 1.

Таблица 1 – Динамика распространенности остеоартрита и остеопороза в Республике Башкортостан в 2020-2022 годы.

Год	ОА (M15-M19)			ОП (M80-M85)		
	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 варьирована от 28,95‰ в 2020 году, повышаясь до 36,55‰ в 2022 году. Отдельно был проведен анализ распространенности остеоартрита в районах и городах РБ. 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. Отмечается более высокая распространенность ОА в северной зоне, наименьшая – в предуральской и в западных регионах республики.

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. 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. Как и при анализе распространенности ОА, обращает на себя внимание более высокая распространенность ОП в северной части республики. Карта распространенности ОА и ОП в Республике Башкортостан представлена на рисунке 2.

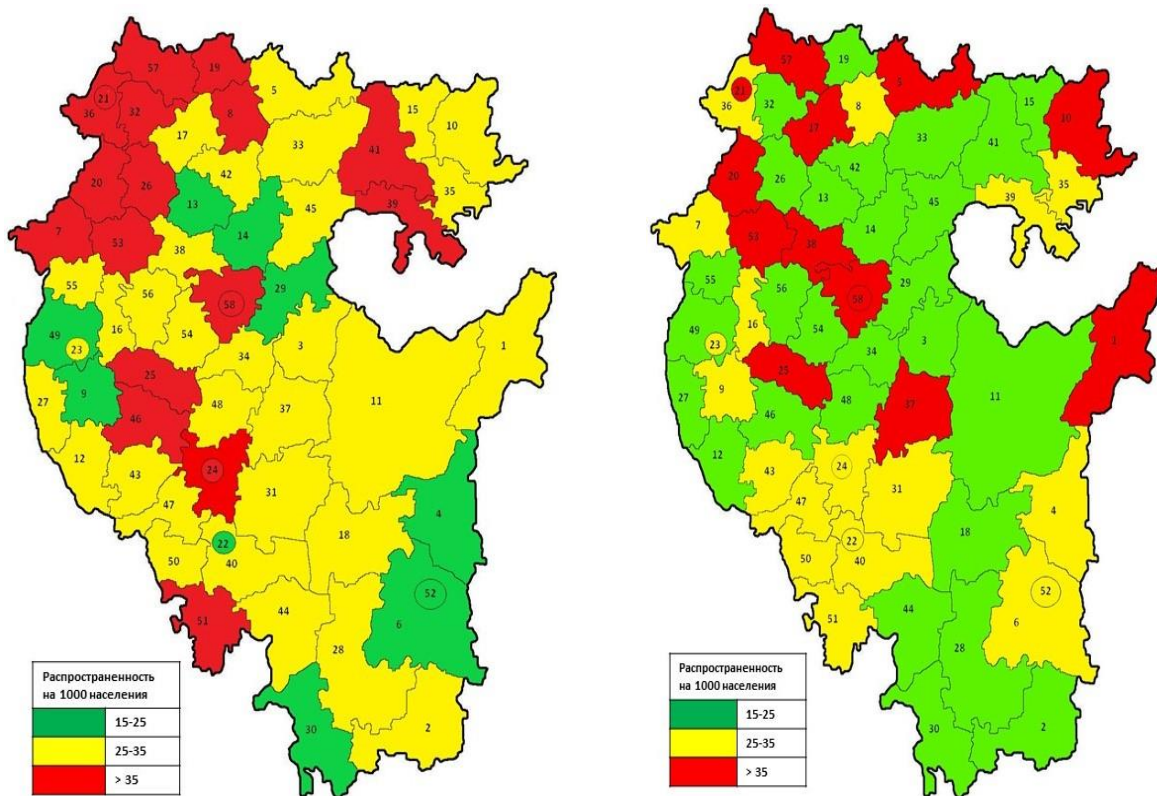


Рисунок 2 – Территориальный анализ распространенности ОА и ОП в РБ.

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, 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. В России частота встречаемости ОА составляет более 35,7‰, ОП – 9,7 %.

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

Был проведен анализ распространенности несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло в Республике Башкортостан. 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 112, женщин 87 человека. Доля пациентов младше 18 лет в целом по республике составила 36,1%.

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 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. Основные характеристики данной выборки представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные демографические характеристики пациентов с НО в РБ

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

Был проведен анализ распространенности несовершенного остеогенеза в различных населенных пунктах республики Башкортостан. В целом частота встречаемости НО по республике Башкортостан составляет 5,031 на 100000 населения, при проведении расчета с учетом всех пациентов. Если объединить семейные случаи заболевания, частота уменьшится до 4,576 на 100000 населения. Регионы с наиболее высокими показателями распространенности являются Кушнаренковский, Аскинский,

Нуримановский, Чишминский, где частота встречаемости была больше 10 на 100000 населения. Анализ распространенности НО и СЭД в зависимости от географических зон республики представлен на рисунке 3.

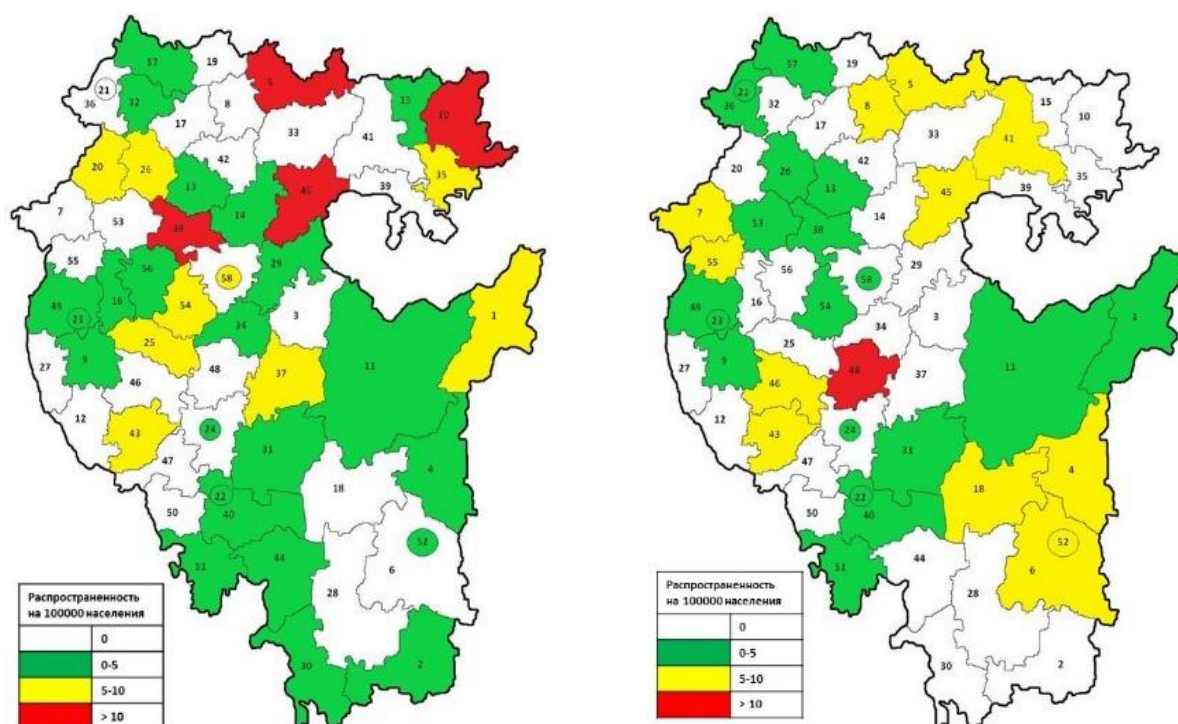


Рисунок 3 – Территориальный анализ распространенности НО и СЭД в РБ.

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 3.

Таблица 3 – Основные демографические характеристики пациентов с СЭД в РБ

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 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 меньше, чем в целом по республике (26,9%). В крупных городах зарегистрировано 16 пациентов с СЭД, 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. Был проведен анализ распространенности синдрома Элерса-Данло в различных населенных пунктах республики Башкортостан. 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. В 26 районах и административных округах не было зарегистрировано ни одного пациента с синдромом Элерса-Данло. При оценке географической распространенности синдрома в республике также не было выявлено зон накопления заболевания. Таким образом, общая распространенность НО в Республике Башкортостан составила 5,03 случаев на 100 тыс. населения, СЭД – 3,36 случаев на 100 тыс. населения. Распространенность НО в России, по данным официального регистра, составляет 4,54 на 100000 населения, по СЭД данные единичные и варьируют от 44 до 3,88 в различных регионах. 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.

Качественные и количественные характеристики костной ткани у пациентов с остеоартритом и остеопорозом

Вопросы коморбидности остеопороза и остеоартрита являются объектом научного исследования в течение длительного времени, и тем не менее до сих пор высоко актуальны. 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. На первом этапе был проведен поиск ассоциаций МПКТ и индекса массы тела (ИМТ) с различными переломами у мужчин и женщин. 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 (7 мужчин и 47 женщин). Контрольную группу составили 345 мужчин и 478 женщин без переломов. Основной локализацией переломов как у женщин, так и мужчин, были кости периферического скелета – в первую очередь, шейка бедренной кости. Результаты измерения МПКТ, Т-критерия и ИМТ у женщин представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Показатели ИМТ, МПКТ и Т-критерия у женщин с различными локализациями переломов

Показатель	Переломы в целом	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Контроль
ИМТ, кг/м ²	26,70±4,52 p=1*10 ⁻⁵	28,20±5,02	26,64±4,59 p=2*10 ⁻⁵	25,63±3,71 p=0,01	28,40±5,18
T-LS	-1,86±1,22	-2,17±1,45	-1,93±1,16	-1,54±1,16	-1,59±1,53
T-FN	-1,89±1,11 p=12*10 ⁻⁵	-2,33±1,04 p=5*10 ⁻⁴	-1,90±1,12 p=38*10 ⁻⁵	-1,80±0,92	-1,34±1,19

У женщин сниженный индекс массы тела был ассоциирован с переломами в целом, а также с переломами периферических костей скелета и сочетанных локализаций. Снижение Т-критерия шейки бедра 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 5.

Таблица 5 – 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 ²	26,54±4,50 p=0,0016	27,02±4,75	27,47±4,89	25,33±3,76 p=13*10 ⁻⁵	28,44±4,67
T-LS	-1,94±1,62 p=1*10 ⁻⁵	-2,40±1,90 p=0,004	-1,23±1,45 p=0,047	-2,90±1,13 p=1*10 ⁻⁵	-0,73±1,89
T-FN	-1,46±1,11 p=1*10 ⁻⁵	-1,42±1,09 p=2*10 ⁻⁴	-1,07±0,98	-2,17±0,86 p=1*10 ⁻⁵	-0,88±1,12

У мужчин были выявлены ассоциации снижения ИМТ с переломами в целом, а также с переломами сочетанных локализаций. Значения Т-критерия поясничного отдела позвоночника были ассоциированы с переломами в целом, а также со всеми основными группами остеопоретических переломов. Значения Т-критерия шейки бедренной кости были ассоциированы 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, наличия ОА в целом и отдельных его локализаций. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – 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 ²	25,57 ± 0,30	27,25 ± 0,79	0,059
Возраст менопаузы, лет	47,68 ± 0,40	49,83 ± 0,86	0,065
МПКТ FN, г/см ²	0,63 ± 0,11	0,76 ± 0,15	0,0001
МПКТ LS, г/см ²	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

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. ОА коленных суставов чаще встречался в группе контроля, хотя различия носили характер тенденции ($p=0,062$). Женщины с сочетанием остеопороза и остеоартрита были статистически значимо старше, чем женщины с изолированным остеопорозом ($67,03 \pm 1,09$ и $63,9 \pm 0,84$, $p=0,021$). 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 $25,43 \pm 0,35$, $p=0,0003$). МПКТ поясничного отдела позвоночника была значительно выше в группе с ОА коленного сустава ($0,86 \pm 0,07$ и $0,76 \pm 0,14$; $p=0,00005$).

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.

Частота ОА была сопоставима как в группе с переломами в целом относительно контрольной группы, так и у пациенток с переломами позвоночника или периферических костей. 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. ИМТ у мужчин с остеопорозом был значимо ниже 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%). Отмечается увеличение частоты дорсопатий у лиц с остеопорозом и остеопенией по сравнению с группой контроля, однако различия не достигли уровня статистической значимости. Также была проведена оценка МПКТ у мужчин с остеоартритом в целом. 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. Таким образом, 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.

Исследование частоты встречаемости фенотипических маркеров нДСТ у пациентов с различными вариантами патологии соединительной ткани

Было проведено исследование частоты встречаемости фенотипических признаков ДСТ у женщин и мужчин в целом, у женщин с остеоартритом в зависимости от локализации патологического процесса и у мужчин с различными уровнями МПКТ, дорсопатиями и остеоартритом. Пациенты были отобраны из общей выборки с применением рандомизации методом случайных чисел.

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 (ВЧС, по 31,8%). У мужчин наиболее часто встречались хруст в суставах (79%), в частности – хруст височно-нижнечелюстного сустава (70,2%), гипермобильность суставов (ГМС, 62,1%), парадонтоз (58,1%) и миопия (34,7%). Мы оценили частоту встречаемости фенотипических признаков ДСТ у женщин с ОА в целом, а также с ОА различных локализаций. Фенотипически признаки, значимо ассоциированные с каждой из локализаций процесса, представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Ассоциации фенотипических признаков нДСТ у женщин с различными локализациями ОА.

ОА в целом	ОА т/б сустава	ОА коленного сустава	Генерализованный ОА
ИМТ < 15, Висцероптозы Варикозная болезнь вен нижних конечностей Парадонтоз Хруст ВЧС Долихостеномелия, Хруст суставов	ИМТ < 15 Висцероптозы Хруст суставов	ИМТ < 15 Варикозная болезнь вен нижних конечностей Плоскостопие Хруст суставов Патологический кифоз/лордоз	Гиперэластичность кожи Геморрагический синдром ИМТ < 15 Хруст ВЧС Плоскостопие Вальгусная установка стоп Хруст 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, пародонтоз, хруст ВЧС, гипермобильность суставов и патологический кифоз/лордоз позвоночника.

Следующим этапом исследования была оценка диспластической стигматизации у мужчин с различными уровнями минеральной плотности костной ткани. Среди включенных в исследование 124 мужчин, остеопороз по данным рентгеновской денситометрии был выявлено у 9 пациентов, остеопения – у 26 пациентов. В группах со снижением уровней МПКТ отмечалось статистически значимые увеличения частоты встречаемости хруста височно-нижнечелюстного сустава и ГМС. Фенотипически признаки, значимо ассоциированные со снижением МПКТ, представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Ассоциации фенотипических признаков ДСТ мужчин со снижением уровнями МПКТ.

Признак	Остеопороз N=9	Остеопения N=26	Остеопороз + Остеопения, N=35	Контроль, N=89
Хруст ВЧС	7 (0,778) p=0,038	22 (0,846)	29 (0,829)	58 (0,652)
ГМС	7 (0,778) p=0,022	18 (0,692)	25 (0,714)	52 (0,584)

Также была проведена сравнительная оценка распространенности фенотипических проявлений нДСТ у мужчин с дорсопатиями и остеоартритом. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Ассоциации фенотипических признаков ДСТ мужчин с дорсопатией и ОА.

Признак	Дорсопатия N=65	Контроль N=59	ОА N=13	Контроль N=111
Грыжевая болезнь	12 (0,185)	14 (0,237)	6 (0,462)	20 (0,180)
			p=0,046	

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.

Таким образом, ряд фенотипических признаков ДСТ могут быть маркерами развития ОА. Среди них повышенная масса тела и хруст в суставах (для ОА в целом), а так же висцероптозы (для ОА тазобедренного сустава), варикозная болезнь нижних конечностей, плоскостопие, деформации позвоночника (для ОА коленного сустава), кожная гиперэластичность, геморрагический синдром, тяжелая миопия, хруст височно-нижнечелюстного сустава, плоскостопие и вальгусная установки стоп (для генерализованного ОА) 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.

Клиническая вариабельность моногенных заболеваний соединительной ткани

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.

Среди 64 обследованных пациентов с НО было 10 семейных случаев заболевания, таким образом, была возможность оценить как межсемейную, так и внутрисемейную

вариабельность клинической картины. Голубая окраска склер встречалась у 36 пациентов из 43 (83,7%), количество переломов варьировало от 3 до 50, в среднем составляя $13,11 \pm 10,85$. 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 ($24,75 \pm 5,31$ лет) прошли углубленное обследование на базе Клиники БГМУ. 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. 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 МПКТ составил $1,045 \pm 0,208$ г/см², показатель Z-критерия составил $-0,375 \pm 1,43$. Боль в спине отмечали 8 пациентов (67%), боль в суставах – 11 (92%). При проведении сравнительного анализа с группой контроля выявлены статистически значимые различия в уровне МПКТ и Z-критерия ($t=2,85$; $p=0,0067$ и $t=4,34$; $p=0,0001$ соответственно), практически двукратное превышение уровня диспластической стигматизации ($t=3,81$; $p=0,0004$), боли в суставах ($\chi^2=5,54$; $p=0,019$). Помимо измерения МПКТ методом рентгеновской денситометрии проводилось исследование метаболической активности костей с применением сцинтиграфии с радиоактивным технецием (рисунок 5). Отмечаются различные уровни гиперфиксации радиофармпрепарата у пациентов с несовершенным остеогенезом.



Рисунок 5 – Сцинтиграфия костей скелета у пациентов с НО.

Следует рассмотреть более подробно редкие типы НО, которые были выявлены в ходе исследования. Одним из таких является V тип НО, который был выявлен у 3 неродственных пациентов.



Рисунок 6 – Клинические проявления НО V типа

Данный тип характеризуется типичными клиническими и рентгенологическими проявлениями, а так же специфическими молекулярным дефектом с.-14C>T в гене *IFITM5*. Во всех случаях клиническая симптоматика была крайне неоднородной, классический фенотип несовершенного остеогенеза V типа мы выявили только у одного пациента (рисунок 6). Сравнительный анализ характеристик представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Клиническая характеристика пациентов с НО V типа

Пациент	1	2	3
Пол	М	Ж	Ж
Возраст постановки клинического диагноза, лет	2,5	25	14
Всего переломов	10	> 15	> 50
Голубые склеры	+	+	-
Гипертрофический каллус	+	-	-
Кальцификация межкостной мембраны	+	+	-

Другой редкой патологией, которая была выявлена в процессе исследования, были кольцевые поражения свода черепа (КПСЧ) с хрупкостью костей с или без спондилометафизарной дисплазии (рисунок 7).

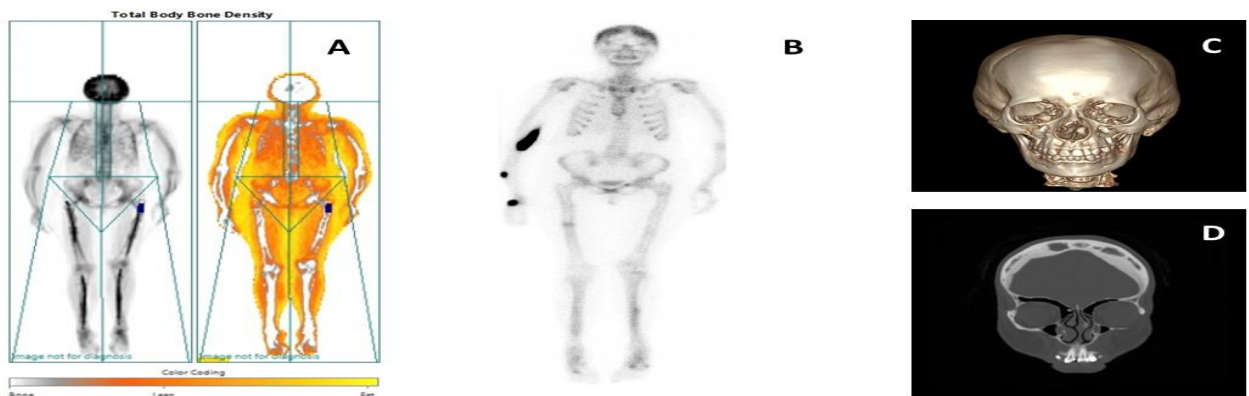


Рисунок 7 – Рентгеновская денситометрия (А), сцинтиграфия (В), компьютерная томография костей черепа (С,Д) пациентки с синдромом КПСЧ.

Пробанд – женщина 30-ти лет с множественными низкотравматическими переломами. При проведении рентгенографии черепа в правой боковой проекции в возрасте 30-ти лет диагностированы склеротические поражения в проекции костей черепа. Эти данные были подтверждены компьютерной томографией костей черепа.

Таргтные панели для секвенирования генов НО и расширенные панели для диагностики патологии соединительной ткани не выявили патогенных вариантов. Только при полногеномном секвенировании был идентифицирован редкий рекуррентный вариант с.148С>Т (р.Arg50Ter) в гене *SGMS2*, который ассоциирован с клиническими проявлениями заболевания у нашего пациента.

Также нами были обследованы 43 пациента с синдромом Элерса-Данло. У всех пациентов отмечалась гипермобильность суставов и гиперэластичность кожи различной степени выраженности, и ряд дополнительных фенотипических проявлений, наиболее частые из которых – вывихи суставов, стрии и ранимость кожи, гематомы, грыжи и миопия. 5 пациентов с синдромом Элерса-Данло прошли углубленное обследование в Клинике БГМУ. Клиническая картина у пациентов не отличалась значительным разнообразием. Основными клиническим 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 (рисунок 8).



Рисунок 8 – Клинические проявления СЭД

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.

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 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.

Поиск молекулярных маркеров остеоартрита и остеопороза

Был осуществлен поиск генетических маркеров у женщин с ОА в целом и различными его локализациями (ОА коленного, тазобедренного сустава, генерализованный ОА), а также с ОП в целом и его фенотипами у мужчин и женщин из Волго-Уральского региона. На I этапе проведено исследование полиморфных вариантов кандидатных генов на основе знаний о их вовлеченности в патогенез остеоартрита. При репликативном исследовании полногеномных (GWAS) ассоциаций выявлена ассоциация локуса rs7639618 (*DVWA*) с ОА коленных и тазобедренных суставов ($\chi^2=5,976$ $p_{FDR}=0,022$, OR=1,75 (1,11-2,76) и $\chi^2=6,300$ $p_{FDR}=0,024$ OR=2,55 (1,2-5,39), соответственно). У женщин локусы rs3134069 и rs3102734 (*OPG*) были статистически значимо ассоциированы с остеопоротическими переломами и переломами периферических костей скелета.

При исследовании сайтов связывания микроРНК была выявлена ассоциация локуса rs11540149 (*VDR*) с переломами позвоночника, полиморфного варианта rs6854081 гена *FGF2* с переломами шейки бедренной кости и переломами лучевой кости у женщин. У мужчин были выявлены статистически значимые ассоциации. Аллель *G и генотип *G*G локуса rs1031820 (*COL11A1*) был ассоциирован с переломами в целом и переломами позвоночника, локус rs10098470 (*TPD52*) – с переломами позвоночника, rs11540149 (*VDR*) – с переломами лучевой кости, rs6854081 (*FGF2*) с переломами шейки бедра.

Был проведен поиск ассоциаций с учетом этнической принадлежности пациентов Республики Башкортостан. Локусы, статистически значимые с ОА и ОП в различных этнических группах, были исследованы на наличие этнической гетерогенности с применением мета-анализа. При уровне коэффициента гетерогенности Хиггинса (I^2) более 40% ассоциации расценивались как этноспецифические. Локус rs1061237 (*COL11A1*) 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.

С целью изучения взаимного влияния клинических и молекулярно-генетических факторов на риск развития ОА и ОП и создания алгоритмов диагностики мы провели статистическую обработку полученных результатов методами множественного регрессионного и ROC-анализа. Модель для диагностики риска развития ОА отличалась меньшей чувствительностью (68,6%), но высокими показателями специфичности (91,1%). Предсказательная ценность модели была на хорошем уровне (AUC=0,874, 95% ДИ 0,838-0,904), наиболее значимыми клиническими предикторами являлись наличие дисплазии соединительной ткани в целом и возраст пациентов генетическими – локусы *rs13317 (FGRF)*, *VNTR (ACAN)*, *rs1061237 (COL1A1)*. Разработаны прогностические модели для ОА различной локализации, параметры представлены на рисунке 9.

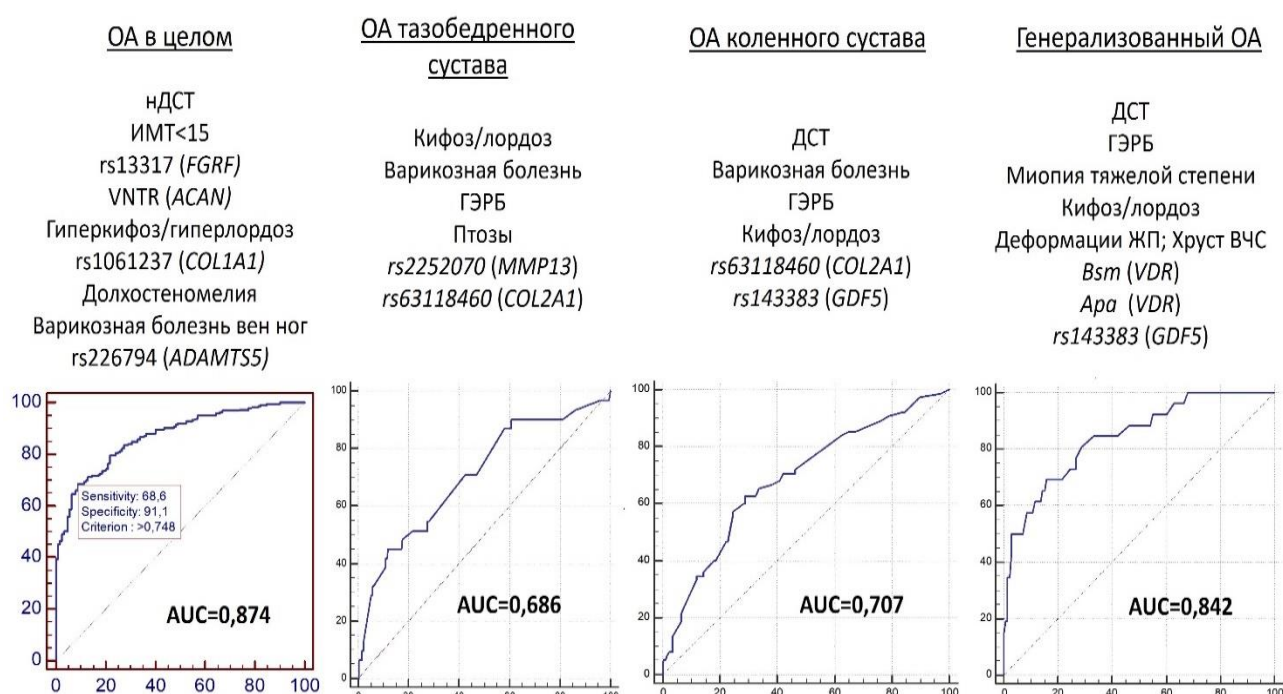


Рисунок 9 – Прогностические модели ОА различной локализации

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.

Многомерный статистический анализ взаимодействия предикторов был применен также для создания прогностических моделей для различных клинических фенотипов остеопороза. Были разработаны модели для оценки риска переломов шейки бедра у женщин и мужчин, а также поясничного отдела позвоночника у мужчин. Характеристики моделей представлены на рисунке 10.

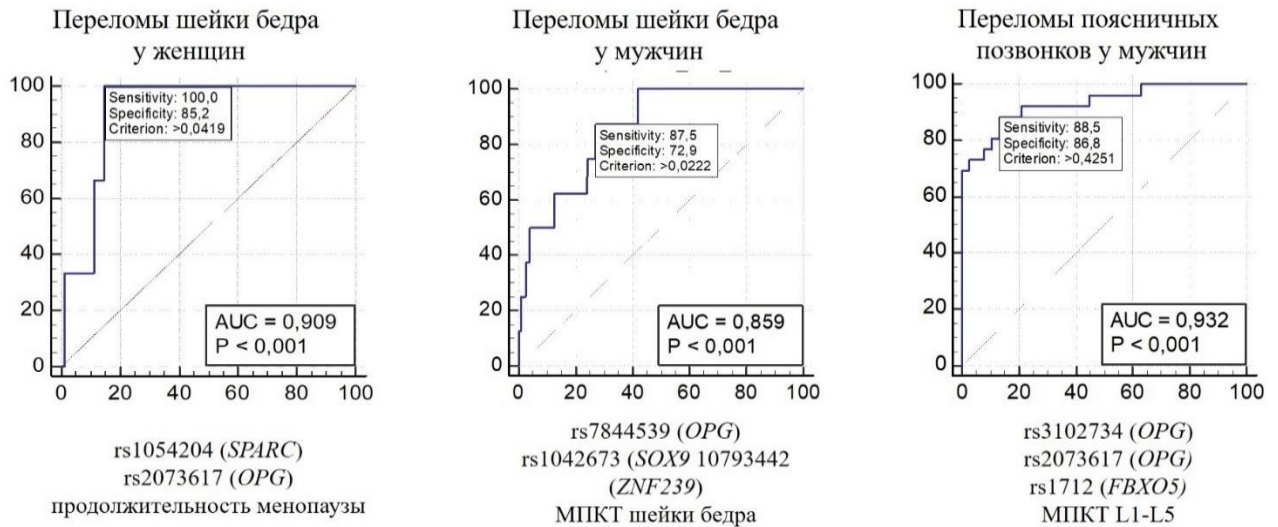


Рисунок 10 – Прогностические модели различных вариантов ОП

Нами была проведена оценка полигенного риска переломов и низкого МПКТ на основе анализа изученных нами локусов, а также 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. Был разработан ряд моделей для различных вариантов ОП. Наибольшей прогностической ценностью обладала модель прогнозирования сочетания переломов и низкой МПКТ. Анализ чувствительности и специфичности модели показал высокие AUC (0,850), чувствительность (0,826) и специфичность (0,695). Ассоциативный анализ модели подтвердил 6,6-кратное (95%CI: 4,411-10,60; $p=2e^{-16}$) повышение вероятности перелома по сравнению с контрольной группой (рисунок 11).

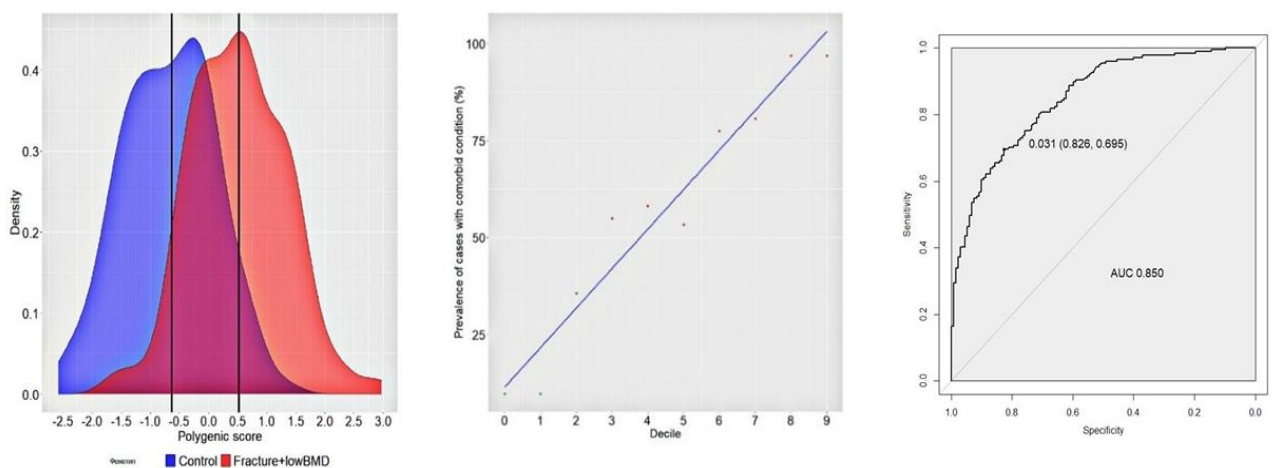


Рисунок 11 – Характеристики PRS-модели диагностики ОП у женщин

При введении такого предиктора, как этническая принадлежность, модель для русских женщин, при несколько меньшем показателе отношения шансов, отличалась большей точностью, чем модель для женщин татарской этнической принадлежности.

Исследование молекулярной архитектуры наследственных заболеваний соединительной ткани

Для определения генетической архитектуры НО в Республике Башкортостан и уточнения диагнозов пациентов мы провели поэтапное молекулярное исследование для всех 64 пациентов, включенных в данную когорту (рисунок 12).

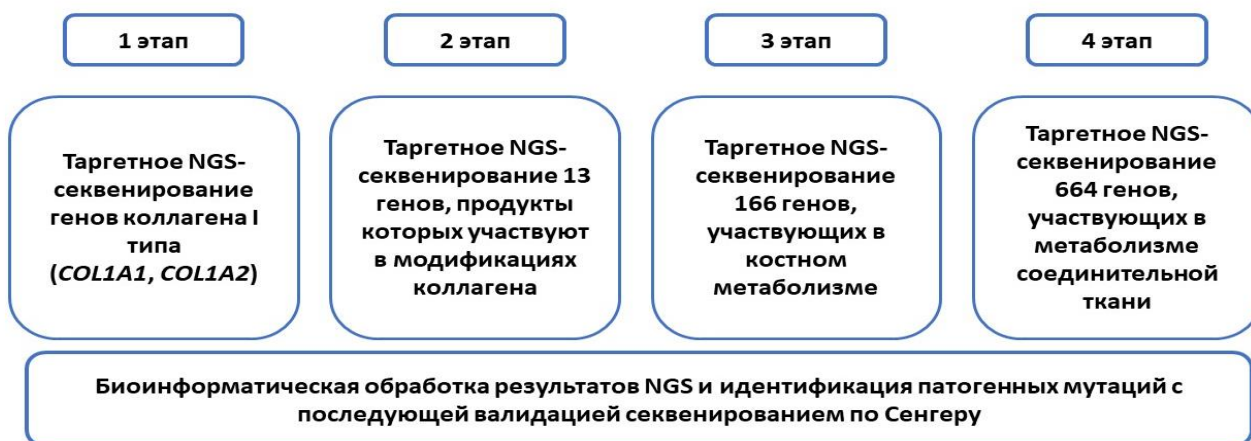


Рисунок 12 – Алгоритм поиска патогенных вариантов у пациентов с НО.

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* (рисунок 13), 10 – в гене *COL1A2* (рисунок 14), 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.

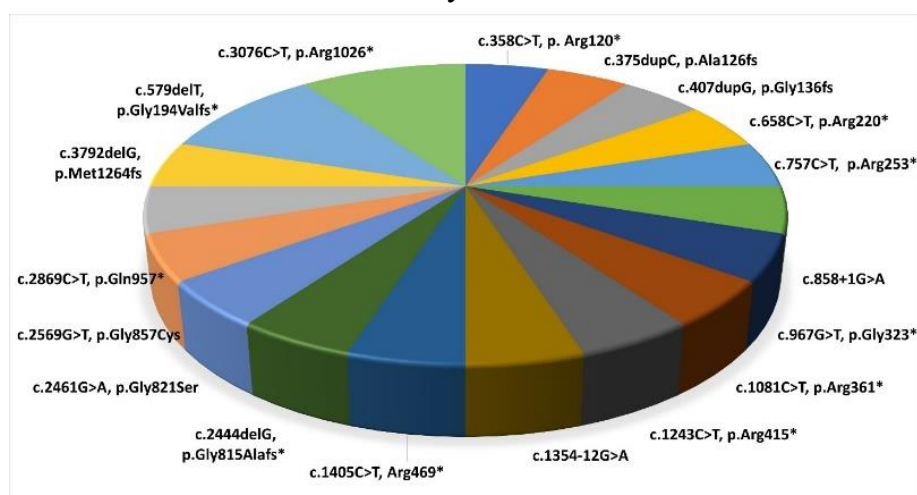


Рисунок 13 – Спектр патогенных изменений в гене *COL1A1* у пациентов с НО

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. Патогенные изменения

в генах *COL1A1* и *COL1A2* в основном происходили в одном варианте, за исключением мутаций c.579delT и c.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 9 миссенс-мутаций, 1 мутацию со сдвигом рамки считывания и 1 мутацию сайта сплайсинга. 7 мутаций были обнаружены впервые.

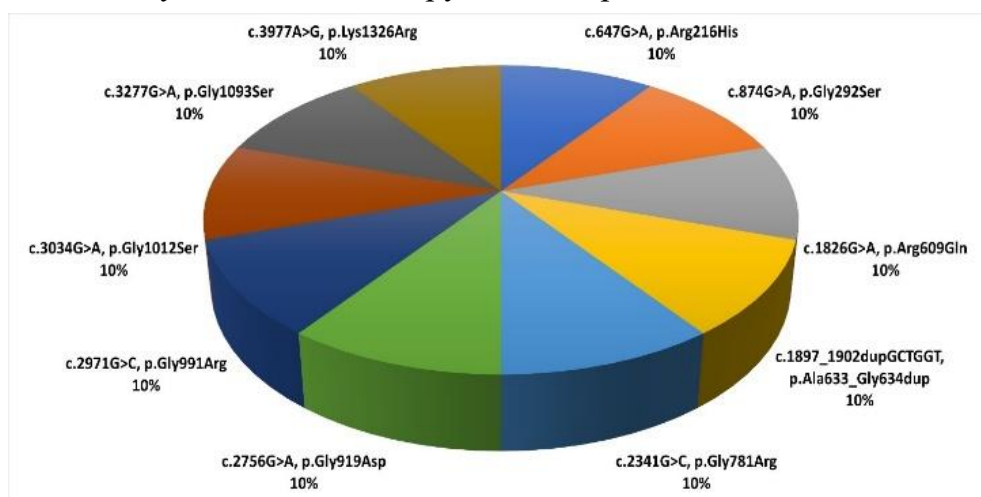


Рисунок 14 – Спектр патогенных изменений в гене *COL1A2* у пациентов с НО

У семи пациентов мы выявили мутации в гетерозиготном состоянии в генах *CLCN7*, *ALOX12B*, *PLEKHM1*, *ERCC4*, *ARSB*, *PTH1R*, *TGFB1*, которые связаны с другими заболеваниями соединительной ткани и костей (табл. 11). У всех пациентов были малотравматичные переломы.

Таблица 11 – Мутации, ассоциированные с другими наследственными заболеваниями

Семья	Пациент	Мутация	Заболевание
1	43	<i>ALOX12B</i> : c.526G>A, p. Glu176Lys	ихтиоз
2	44	<i>PLEKHM1</i> : c.2902-9C>T	остеопетроз
3	45	<i>ERCC4</i> : c.2395C>T, p. Arg799Trp	анемия Фанкони
4	46	<i>ARSB</i> : c.454C>T, p. Arg152Trp	мукополисахаридоз
5	47	<i>PTH1R</i> : c.342C>A, p. His114Gln	хондродисплазия
6	48	<i>CLCN7</i> : c.141+4A>C	остеопетроз

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.

В гене *P3H1*, участвующем в посттрансляционной модификации коллагена, мы обнаружили мутацию с.1051G>T (р. Glu351X) у двух неродственных пациентов мужского пола башкирской национальности. Эта мутация была обнаружена впервые. Первый пробанд родился в кровнородственном браке и характеризовался белыми склерами, круглым лицом, деформациями нижних конечностей и неспособностью самостоятельно ходить (с раннего детства пользовался инвалидной коляской). Родители пробанда, братья и сестры здоровы. Второй пробанд имел порядка 15 переломов в детском и подростковом возрасте, последний перелом в 2009 году. В целом поражение опорно-двигательного аппарата менее выраженное, может ходить самостоятельно. Склеры белые, родители и брат также здоровы. С учетом вероятной этнической специфичности данных мутаций нами были проанализированы более 500 неродственных людей башкирского происхождения – коренного населения при- и зауральских районов (рядом с Уральскими горами) Республики Башкортостан, а также русского и татарского происхождения. Обнаружено, что 1,43% изученной популяции являются носителями варианта 1720+4G>A, это на несколько порядков выше, чем зарегистрировано в базах данных, встречался, частота носительства вариантов 1948 G>A (р.Gly650Arg) и с.1051G>T (р.Glu351Ter) составила 0,18%. Носительства мутаций у русских и татар выявлено не было.

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 (р. 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. Таким образом, 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».

Патогенное изменение с.148C>T (р.Arg50Ter) в гене *SGMS2* было выявлено только при проведении полногеномного секвенирования, поскольку панели генов коллагена и расширенные панели не смогли подтвердить молекулярный диагноз. Характерным клиническим проявлением данного типа НО являются кольцевидные поражения костей черепа. На сегодняшний день, в мировой литературе описано 8 семей с данным заболеванием.

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. 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. 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. У двух пациентов в 58 экзоне гена *COL5A1* был обнаружен полиморфный вариант rs2228560 в положении с.4869 G>C, 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). Выявлены изменения нуклеотидной последовательности во фланкирующих регионах гена 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 (*COL15A1*, *COL5A2*). 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. 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 (рисунок 15).

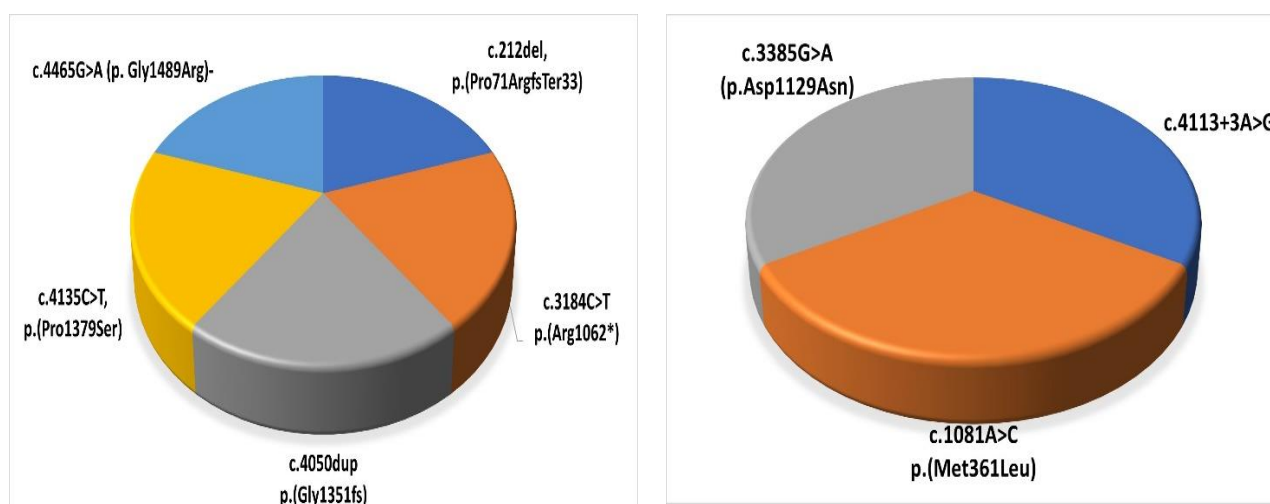


Рисунок 15 – Спектр патогенных изменений в гене коллагена 5 типа у пациентов с СЭД

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 одной отягощенной СЭД семье.

Разработка алгоритма клинической диагностики несовершенного остеогенеза и синдрома Элерса-Данло

На основании нашего клинического опыта и современных генетических классификаций были разработаны клинические алгоритмы диагностики НО и СЭД для врачей первичного контакта. Алгоритм диагностики НО представлен на рисунке 16.

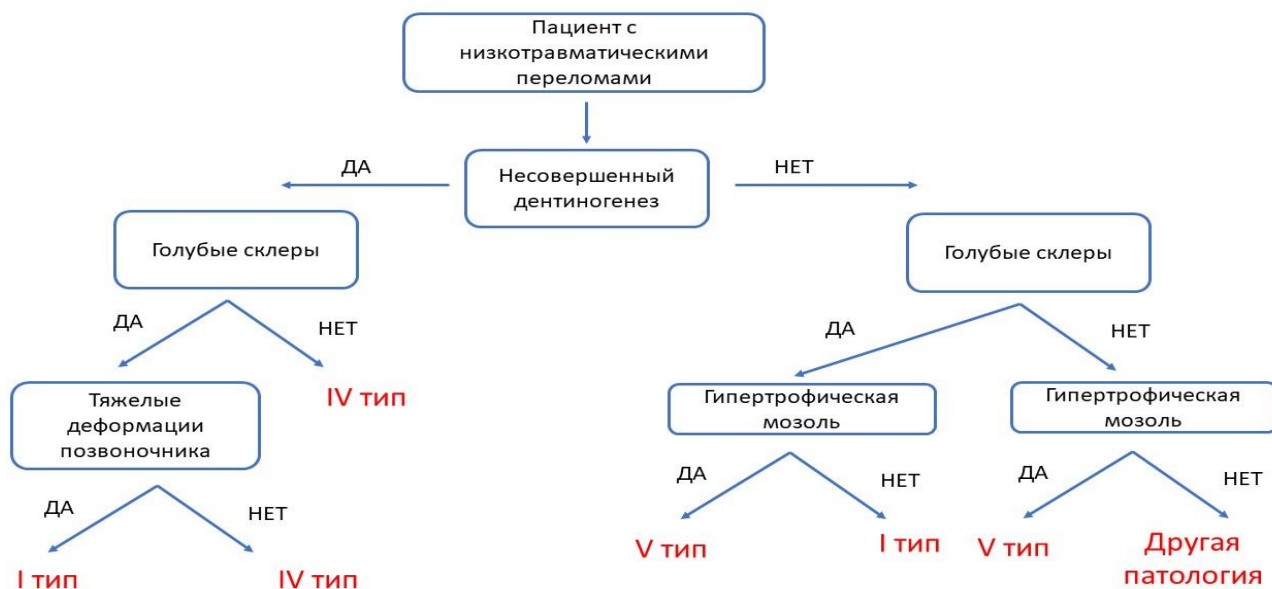


Рисунок 16 – Алгоритм клинической диагностики различных типов несовершенного остеогенеза (собственная разработка).

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 гипермобильности суставов. Отдельно стоит выделить V тип несовершенного остеогенеза, который характеризуется наличием гипертрофической мозоли, которая зачастую представляет трудности в диагностике и может быть расценена как опухолевое заболевание кости.

Клинический алгоритм диагностики синдрома Элерса-Данло и представлен на рисунке 17. Наиболее типичными клиническими проявлениями СЭД является гипермобильность суставов и кожная гиперэластичность, несколько типов имеют эти основные признаки. 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.



Рисунок 17 – Алгоритм клинической диагностики различных типов синдрома Элерса-Данло (собственная разработка)

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

Разработка алгоритма ДНК-диагностики НО 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.

Были созданы панели праймеров Prep&Seq™ U-panel OI300-1 (гены *COL1A1*, *COL1A2*, *COL5A1*, *COL5A1*) предназначенные для амплификации целевых регионов генома, включающих CDS и сайты сплайсинга обозначенных генов, для последующего высокопроизводительного секвенирования на совместимых платформах (табл. 12).

Таблица 12 – Характеристики панелей праймеров для генов коллагена I и V типов

Панель	Prep&Seq™ U-panel OI300-1	Prep&Seq™ U-panel OI300-2
Целевые регионы	CDS и сайты сплайсинга генов <i>COL1A1</i> и <i>COL1A2</i>	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)	129 (64 + 65)	163 (81 + 82)
Диапазон длин ампликонов	125–324 п.н.	181–324 п.н.
Геном	Homo sapiens (hg38)	
Совместимые платформы	Illumina, Ion Torrent, MGI	

Данные наборы показали свою высокую чувствительность и специфичность при анализе контрольных образцов с идентифицированными мутациями. 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.

Разработка фармакологических подходов к лечению заболеваний соединительной ткани

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. Был осуществлен анализ частоты распределения аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs2297480 (*FDPS*), rs2282679 (*DBP*), rs1544410 (*VDR*), rs1801197 (*CALCR*). Не было выявлено каких-либо тенденций по влиянию генотипов на прирост МПКТ. 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 (рисунок 18).

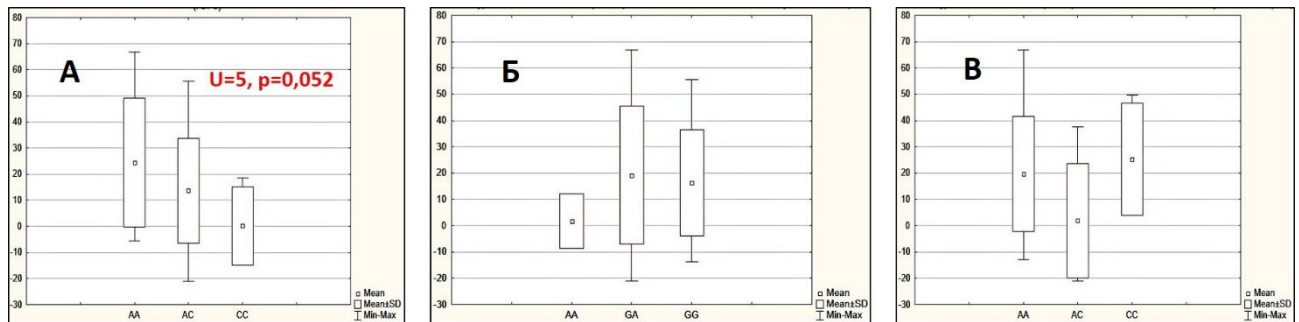


Рисунок 18 – Динамика уровня витамина Д в сыворотке в крови в зависимости от генотипов полиморфных вариантов генов *FDPS* (А), *VDR* (Б), *DBP* (В) .

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

Проведен анализ динамики МПКТ и уровня болевого синдрома (по ВАШ) у 7 взрослых пациентов с НО, получавших лечение препаратами группы бисфосфонатов с 2020 по 2022 годы. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Динамика МПКТ и болевого синдрома у пациентов с НО

Пациент	Z-критерий		Уровень боли, ВАШ	
	2020	2022	2020	2022
M±m	-1,6±0,41	-0,27±0,49	5,14±0,59	3±0,61
	P=0,036		P=0,0034	

На фоне проведенного лечения у всех пациентов отмечается повышение уровня МПКТ и уменьшение выраженности болевого синдрома, различия были статистически значимые ($p=0,036$ и $p=0,0034$, соответственно). Иллюстрацией эффективности применения бисфосфонатов служит также клиническое наблюдение за пациентом с НО в период с 2018 по 2023 годы (рисунок 19).

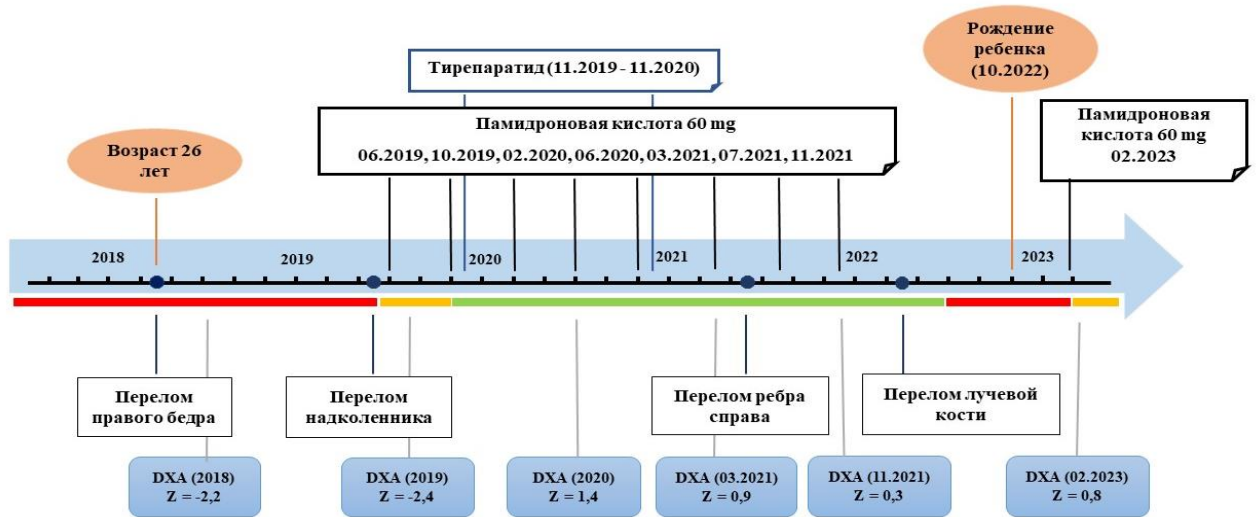


Рисунок 19 – Динамика болевого синдрома и уровня МПКТ у пациента с НО

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 20).



Рисунок 20 – Алгоритм лечения взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом

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.

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. Выявлены ассоциации сывороточной концентрации СОМР с наличием остеоартрита и нДСТ.

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 пола 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 несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло.

5. Рекомендовано исследование полиморфного варианта rs2297480 гена *FDPS* витамином Д перед назначением терапии 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 ПУБЛИКАЦИЙ

Статьи, опубликованные в журналах, входящих в список Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации

1. Тюрин, А.В. Современные представления о генетике остеоартроза / Д. А. Шаповалова, А. В. Тюрин, Э. К. Хуснутдинова, Р. И. Хусаинова // Медицинская генетика. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 3-10.
2. Тюрин, А.В. Роль полиморфных вариантов генов матричных металлопротеиназ в формировании нарушения гомеостаза соединительной ткани и патологии опорно-двигательного аппарата / А. В. Тюрин, Д. А. Шаповалова, Л. З. Лукманова [и др.] // Клиническая медицина. – 2018. – Т. 96, № 8. – С. 754-761. – DOI 10.18821/0023-2149-2018-96-8-754-761.
3. Тюрин, А.В. Недифференцированные дисплазии соединительной ткани (проект клинических рекомендаций) / Е. В. Акатова, В. В. Аникин, В. Г. Арсентьев [и др.] // Терапия. – 2019. – Т. 5, № 7(33). – С. 9-42. – DOI 10.18565/therapy.2019.7.9-42.
4. Тюрин, А.В. Изучение локусов, ассоциированных с остеоартритом, по результатам полногеномных исследований (GWAS) у женщин из Республики Башкортостан / Д. А. Шаповалова, А. В. Тюрин, Р. И. Хусаинова // Терапия. – 2019. – Т. 5, № 7(33). – С. 91-96. – DOI 10.18565/therapy.2019.7.91-96.
5. Тюрин, А.В. Поиск мутаций в гене интерферон-индуцированного трансмембранного белка 5 (IFITM5) у больных несовершенным остеогенезом / А. Р. Зарипова, Л. Р. Нургалиева, А. В. Тюрин [и др.] // Медицинская генетика. – 2019. – Т. 18, № 10(207). – С. 21-29. – DOI 10.25557/2073-7998.2019.10.21-29.
6. Тюрин, А.В. Роль микроРНК при многофакторных заболеваниях соединительной ткани / Б. И. Ялаев, А. В. Тюрин, Р. З. Нурлыгаянов, Р. И. Хусаинова // Терапия. – 2020. – Т. 6, № 6(40). – С. 35-39. – DOI 10.18565/therapy.2020.6.35-39.
7. Тюрин, А.В. Генетическая архитектура несовершенного остеогенеза в Республике Башкортостан / А. Р. Зарипова, И. Р. Миннихметов, Р. И. Хусаинова [и др.] // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19, № 8(217). – С. 57-58. – DOI 10.25557/2073-7998.2020.08.57-58.
8. Тюрин, А.В. Исследование молекулярно-генетических основ остеоартрита у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани из Республики Башкортостан / Д. А. Шаповалова, А. В. Тюрин, Р. И. Хусаинова // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19, № 8(217). – С. 67-69. – DOI 10.25557/2073-7998.2020.08.67-69.
9. Тюрин, А.В. Фармакогенетические основы терапии бисфосфонатами / Б. И. Ялаев, А. В. Тюрин, Р. З. Нурлыгаянов, Р. И. Хусаинова // Молекулярная медицина. – 2020. – Т. 18, № 3. – С. 3-10. – DOI 10.29296/24999490-2020-03-01.
10. Тюрин, А.В. Клинико-генетические параллели классификации и диагностики синдрома Элерса-Данло / Д. Д. Надыршина, А. В. Тюрин, Э. К. Хуснутдинова, Р. И. Хусаинова // Медицинская генетика. – 2021. – Т. 20, № 6(227). – С. 14-26. – DOI 10.25557/2073-7998.2021.06.14-26.

11. Тюрин, А. В. Поиск этноспецифических ассоциаций сайтов связывания микроРНК кандидатных генов остеоартрита у женщин из Республики Башкортостан / А. В. Тюрин, Р. И. Хусаинова // Медицинская генетика. – 2022. – Т. 21, № 8. – С. 64-66. – DOI 10.25557/2073-7998.2022.08.64-66.

12. Тюрин, А.В. Молекулярная диагностика наследственных заболеваний соединительной ткани / Д. Д. Надыршина, А. Р. Зарипова, А. В. Тюрин [и др.] // Медицинская генетика. – 2022. – Т. 21, № 10. – С. 23-27. – DOI 10.25557/2073-7998.2022.10.23-27.

13. Тюрин, А.В. Поиск ассоциаций индекса массы тела и минеральной плотности костной ткани у пациентов с переломами различной локализации / А. В. Тюрин, Б. И. Ялаев, К. Э. Ахиярова [и др.] // Креативная хирургия и онкология. – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 51-57. – DOI 10.24060/2076-3093-2023-13-1-51-57.

Статьи, опубликованные в журналах, входящих в базу данных Scopus:

1. Тюрин, А. В. Генетические маркеры остеоартрита у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Р. И. Хусаинова, А. В. Тюрин, Д. А. Шаповалова, Э. К. Хуснутдинова // Генетика. – 2017. – Т. 53, № 7. – С. 816-826. – DOI 10.7868/S0016675817060078.

2. Тюрин, А. В. Клинические рекомендации российского научного медицинского общества терапевтов по диагностике, лечению и реабилитации пациентов с дисплазиями соединительной ткани (первый пересмотр) / А. И. Мартынов, Г. И. Нечаева, Е. В. Акатова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т. 13, № 1-2. – С. 137-209. – DOI 10.14300/mnnc.2018.13037.

3. Тюрин, А. В. Роль полиморфного локуса VNTR гена агрекана 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. – DOI 10.18699/VJ18.427.

4. Тюрин, А. В. Роль метилирования ДНК в нарушении костного метаболизма / Б. И. Ялаев, А. В. Тюрин, Р. Я. Миргалиева, Р. И. Хусаинова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23, № 1. – С. 67-74. – DOI 10.18699/VJ19.463.

5. Tyurin, A. V. The level of microelements and heterogeneity of joint hypermobility as an endophenotype of undifferentiated connective tissue dysplasia / L. Z. Lukmanova, R. A. Davletshin, R. I. Khusainova, A. V. Tyurin // Russian Open Medical Journal. – 2020. – Vol. 9, No. 1. – P. 106. – DOI 10.15275/rusomj.2020.0106.

6. Tyurin, A. V. Investigating the role of osteoprotegerin gene polymorphic variants in osteoporosis / B. I. Yalaev, A. V. Tyurin, R. I. Mirgalieva [et al.] // Russian Open Medical Journal. – 2021. – Vol. 10, No. 1. – P. 101. – DOI 10.15275/rusomj.2021.0101.

7. Tyurin, A. V. Association between miRNA target sites and incidence of primary osteoarthritis in women from volga-ural region of Russia: A case-control study / A. Tyurin, H.

Gantseva, D. Shapovalova [et al.] // *Diagnostics*. – 2021. – Vol. 11, No. 7. – DOI 10.3390/diagnostics11071222.

8. Tyurin, A. V. 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. V. Tyurin, E. Merkuryeva, A. Zaripova [et al.] // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10, No. 10. – P. 2363. – DOI 10.3390/biomedicines10102363.

9. Тюрин, А.В. Мультиомиксные подходы к поиску молекулярно-генетических предикторов остеопороза / Б. И. Ялаев, А. В. Тюрин, Р. И. Хусаинова // *Гены и Клетки*. – 2022. – Т. 17, № 1. – С. 13-18. – DOI 10.23868/202205002.

10. Tyurin, A. V. 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, No. 1. – DOI 10.3390/genes13010124.

11. Tyurin, A. V. Using a Polygenic Score to Predict the Risk of Developing Primary Osteoporosis / B. Yalaev, A. Tyurin, I. Prokopenko [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, No. 17. – P. 10021. – DOI 10.3390/ijms231710021.

12. Tyurin, A. V. The Role of Gasotransmitter-Dependent Signaling Mechanisms in Apoptotic Cell Death in Cardiovascular, Rheumatic, Kidney, and Neurodegenerative Diseases and Mental Disorders / S. Rodkin, Ch. Nwosu, A. Sannikov [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, No. 7. – P. 6014. – DOI 10.3390/ijms24076014.

13. Tyurin, A. V. Clinical and Genetic Characteristics of Calvarial Doughnut Lesions with Bone Fragility in Three Families with a Recurrent SGMS2 Gene Variant / E. Merkuryeva, T. Markova, A. Tyurin [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, No. 9. – P. 8021. – DOI 10.3390/ijms24098021.

Основные материалы конференций

1. Tyurin A. V. The search for genetic susceptibility markers of osteoarthritis in women with undifferentiated forms of connective tissue disease from Russia / A. Tyurin, R. Khusainova, D. Shapovalova [et al.] // *European Journal of Human Genetics*. – 2018. – Vol. 26, No. S. – P. 872-873. – DOI 10.1038/s41431-018-0248-6.

2. Tyurin A.V. Replicative study of GWAS-associated candidate gene loci in patients with osteoarthritis from the Bashkortostan Republic / A. V. Tyurin, D. Shapovalova, R. Davletshin [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2019. – Vol. 78, No. S2. – P. 1475-1476.

3. Tyurin A. V. Search for clinical and genetic markers of osteoarthritis and connective tissue dysplasia development in an isolated and comorbid state / A. V. Tyurin, D. Shapovalova, R. Khusainova, L. Z. Lukmanova // *Osteoporosis International*. – 2019. – Vol. 30, No. S2. – P. 636.

4. Tyurin, A.V. Polymorphism of miRNA target sites as a risk factor for fractures and osteoporosis / B. Ialaev, A. Tyurin, R. Khusainova // *Osteoporosis International*. – 2020. – Vol. 31, No. S1. – P. 406.

5. Tyurin A.V. Search for associations of Microrna target sites with osteoarthritis of various localization: a case-control study / A. V. Tyurin, D. Shapovalova, B. Yalaev, R. Khusainova // *Osteoporosis International*. – 2020. – Vol. 31, No. S1. – P. S403.
6. Tyurin, A. V. New epigenetic predictors of the various localizations osteoarthritis development / A. V. Tyurin, R. Khusainova // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2022. – Vol. 81, No. S1. – P. 1623. – DOI 10.1136/annrheumdis-2022-eular.4728.
7. Tyurin, A.V. Predictive models for osteoarthritis of various localizations / A. V. Tyurin, D. Shapovalova, R. I. Khusainova // *Aging – Clinical and Experimental Research*. – 2022. – Vol. 34, No. S1. – P. 388. – DOI 10.1007/s40520-022-02147-3.
8. Tyurin, A. V. Improved prediction of primary osteoporosis leveraging a polygenic risk score in women / B. I. Yalaev, A. V. Tyurin, R. I. Khusainova // *Aging – Clinical and Experimental Research*. – 2022. – Vol. 34, No. S1. – P. 226-227. – DOI 10.1007/s40520-022-02147-3.

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
 PRS- polygenic risk scores – полигенная оценка риска
 ROC – receiver operating characteristic – рабочая характеристика приемника
 UTR – untranslated region – нетранслируемый регион гена
 ВЧС – височно-нижнечелюстной сустав
 ГМС – гипермобильность суставов
 ГЭК – гиперэластичность кожи
 ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
 ДИ – доверительный интервал
 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
 СЭД – синдром Элерса-Данло

Тюрин Антон Викторович (Российская Федерация)

Клинико-генетическое исследование моногенных и многофакторных заболеваний соединительной ткани

Проведено комплексное клинико-генетическое исследование пациентов с патологией соединительной ткани – остеоартритом, остеопорозом, несовершенным остеогенезом, синдромом Элерса-Данло. Определена частота встречаемости исследованных патологий в Республике Башкортостан. При клиническом обследовании выявлена повышенная диспластическая стигматизация у женщин с остеоартритом, а также 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. Выявлены генетические маркеры развития остеоартрита и остеопороза (*DVWA, OPG, FDF2, VDR, COL11A1, TPD52*), определена генетическая архитектура пациентов с несовершенным остеогенезом и синдромом Элерса-Данло. 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 клинико-генетические модели развития остеоартрита и остеопороза в целом, а также различных локализаций. Разработан индивидуальный подход к назначению антирезорбтивной терапии у взрослых пациентов с несовершенным остеогенезом.

Anton Viktorovich Tyurin (Russian Federation)

Clinical and genetic study of monogenic and multifactorial connective tissue diseases

A complex clinical and genetic study of patients with connective tissue pathology – osteoarthritis, osteoporosis, osteogenesis imperfecta, Ehlers-Danlo syndrome – was carried out. The frequency of occurrence of the studied pathologies in the Republic of Bashkortostan was determined. Clinical examination revealed increased dysplastic stigmatization in women with osteoarthritis, as well as in patients with osteogenesis imperfecta and Ehlers-Danlo syndrome. Pain syndrome in joints and limbs not associated with fractures is typical for patients with osteogenesis imperfecta. Genetic markers for the development of osteoarthritis and osteoporosis (*DVWA, OPG, FDF2, VDR, COL11A1, TPD52*) were identified, and the genetic architecture of patients with osteogenesis imperfecta and Ehlers-Danlo syndrome was determined. Optimized algorithm for diagnosis of osteogenesis imperfecta and Ehlers-Danlo syndrome including clinical protocol and algorithm for DNA analysis of collagen type I and V genes based on targeting NGS panels. Clinical and genetic models for the development of osteoarthritis and osteoporosis in general, as well as various localizations, have been developed. An individual approach to the prescription of antiresorptive therapy in adult patients with osteogenesis imperfecta has been developed.