

## Современные представления о генетике остеоартроза

Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Хуснутдинова Э.К., Хусаинова Р.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук; г.Уфа; e-mail: daria.ibg@mail.ru

В представленном обзоре отражены современные достижения в исследовании генетики остеоартроза — широко распространенного прогрессирующего заболевания суставов неизвестной этиологии, характеризующегося поражением всех компонентов сустава и приводящего к затруднению движения, снижению качества жизни и инвалидизации больных. Рассматриваются ключевые вопросы молекулярного патогенеза заболевания, включая генетические и эпигенетические аспекты, а также существующие проблемы в данной области исследований.

**Ключевые слова:** остеоартроз, остеоартрит, микроРНК, ДНК-маркер, генетическая предрасположенность.

**Информация о конфликте интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-01487\_a.

### Recent advances in genetics of osteoarthritis

Shapovalova D.A., Tyurin A.V., Khusnutdinova E.K., Khusainova R.I.

The Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia; e-mail: daria.ibg@mail.ru

This review describes recent advances on genetic investigations of osteoarthritis. It is most common worldwide, progressive joint disease, of unknown etiology. Osteoarthritis is characterized by the destruction of all components of joint tissue, and leads to limitations in movements, disability and reduced quality of life. Key issues of molecular pathogenesis of the disease are considered, including genetic and epigenetic aspects, as well as the existing problems in this field of research.

**Key words:** osteoarthritis, microRNA, DNA-marker, genetical predisposition.

#### Введение

Остеоартроз (ОА) (МКБ-10: M15-M19, «остеоартрит» в международной классификации) — гетерогенная группа заболеваний различной этиологии со сходными биологическими, морфологическими, клиническими проявлениями и исходом, в основе которых лежит поражение всех компонентов сустава, в первую очередь хряща, а также субхондральной кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы, околоуставных мышц, приводящее к потере функции суставов [1]. Более 20% населения мира страдают ОА, 80% этих людей испытывают затруднения в движении, а 25% — ограничения повседневной жизненной активности [2]. До 30% лиц, получивших инвалидность в связи с заболеваниями суставов, составляют больные ОА [3]. В связи с увеличением частоты ожирения и старением населения, заболеваемость ОА, по прогнозам, удвоится в течение следующих 15—20 лет [4]. Распространенность ОА возрастает с увеличением возраста, достигая пика в промежутке 65—74 лет, при этом до 45-летнего возраста заболевание чаще встречается у мужчин, а после 54 лет — у женщин [5].

Несмотря на то, что ОА является наиболее распространенным, приводящим к инвалидности, заболеванием суставов, до сих пор, нет доступного и эффективного

лечения кроме дорогостоящей хирургической замены сустава на терминальной стадии болезни. ОА чаще всего диагностируется при наличии клинических проявлений, характерных для выраженных морфологических изменений в хряще, и существует проблема раннего выявления дегенеративно-дистрофических поражений сустава. В связи с этим необходимы новые подходы к диагностике заболевания и чрезвычайно важен поиск предиктивных маркеров, чтобы выявить предрасположенность к заболеванию, возможно, на самых ранних этапах жизни человека.

ОА является многофакторным заболеванием с выраженным генетическим компонентом, который варьирует в пределах от 40% до 65% в зависимости от локализации пораженного сустава [6,7]. Идентификация основных молекулярных патофизиологических механизмов ОА будет способствовать разработке таргетных препаратов, способных остановить деструктивно-дистрофические процессы и восстановить утраченные функции суставных компонентов [8].

*Целью данной работы* является обобщение и систематизация результатов молекулярно-генетических исследований предрасположенности к ОА и оценка перспектив ранней диагностики заболевания.

### Поиск генетических маркеров остеоартроза

В настоящее время имеются убедительные доказательства существования генетической предрасположенности к заболеванию [9]. Эпидемиологические и генетические исследования показали, что ОА обладает сложной полигенной природой, в патогенез которого вовлечено множество генетических маркеров риска, каждый из которых оказывает небольшой эффект на формирование фенотипа заболевания [10, 11]. Генетические факторы вносят свой вклад в частоту и тяжесть заболевания, а также в развитие ОА конкретной локализации [12].

последнее десятилетие, благодаря достижениям в области геномных технологий, достигнут значительный прогресс в выявлении генетических основ многофакторных заболеваний в целом и ОА в том числе. Проведен ряд полногеномных исследований ассоциаций (GWAS) сотен тысяч однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) с развитием ОА в целом и различных суставов в отдельности в рамках международных консорциумов, таких, как TREAT-OA и ArcOGEN [13, 14].

До эпохи GWAS генетика ОА была ограничена рамками большого количества исследований с использованием ген-кандидатного подхода и анализа сцепления. Наиболее патогенетически обоснованные кандидатные гены риска развития ОА описаны в предыдущем обзоре [15]. За некоторыми исключениями, большинство этих исследований проводились на небольших выборках, обладали недостаточной мощностью, зачастую приводили к спорным и невоспроизводимым результатам. Сейчас с помощью GWAS подхода можно без ограничений исследовать различные гипотезы.

На сегодняшний день при GWAS-исследованиях определены 15 распространенных полиморфных вариантов, ассоциированных с гонартрозом (ОА коленного сустава) и коксартрозом (ОА тазобедренного сустава) в европейских и азиатских популяциях, которые превзошли или достигли полногеномного уровня значимости ( $p \leq 5 \times 10^{-8}$ ) [16, 17]. Однако обнаруженные аллели риска имеют умеренное влияние и оказывают малый эффект на предрасположенность к развитию ОА, в целом [8, 17].

Комплексный анализ результатов исследования кандидатных генов и GWAS обнаружил 14 локусов предрасположенности к ОА, 11 из которых достигли полногеномного уровня значимости [11]. Среди них локусы 13q34 вблизи гена, регулирующего фактор роста нервов (*MCF2L*) [17], 7q22 [19, 20] с неидентифицированным геном, полиморфизм *rs143383* в гене фактора роста и дифференцировки 5 *GDF5* [21, 22]. В развитие гонартроза и коксартроза вовлечены гены белка межклеточного матрикса, взаимодействующего с тубулином (*DVWA*), главного комплекса гистосовместимости (*HLA*) класса II/III, бутирофиллино-подобного белка типа 2 (*BTNL2*), относящегося к регуляторам иммунитета [23, 24], астротактина (*ASTN2*, 9q33), филамин А-связывающего белка (*FILIP*, 6q14), центрин-специфичной протеиназы 6

(*SENP6*, 6q14.1), субстрат-специфичного адаптера убиквитинового протеинлигазы (*KLHDC5*, 12p11), белка, подобного паратиреоидному гормону (*PTH1LH*, 12p11.22), карбогидрат-сульфотрансферазы 11 (*CHST11*, 12q23) [25]. Кроме того, локус *rs12982744* в области 19q13 вблизи гена *DOTIL* (белка гистоновой лизин-метилтрансферазы) был ассоциирован с коксартрозом и плотностью хрящевой ткани [26, 27]. При метаанализе выявлено, что функциональный полиморфизм в гене йодотрионин деиодиназы 2 (*DIO2*) является фактором риска ОА ( $p = 2,02 \times 10^{-5}$ ) [28]. В другом исследовании, с участием 13 013 чел., идентифицированы 5 новых локусов в генах трансформирующего фактора роста альфа (*TGF-α*), транскрипционного фактора-2 (*RUNX-2*), фактора роста фибробластов-3 (*FGF3*) и его рецептора (*FGFR3*), ассоциированных с толщиной хряща и минимальной шириной суставной щели (мШСЩ), с уровнем значимости  $p < 10^{-4}$  [29]. Авторы предполагают, что показатель мШСЩ может быть использован для оценки риска коксартроза.

Кроме того, метаанализ результатов исследований ассоциаций генов-кандидатов ОА показал, что несколько ОНП, ассоциированных с уровнем минеральной плотности костной ткани (МПКТ), были связаны с риском ОА коленного сустава. Самый сильный маркер был локализован в области 12q3, которая содержит ген, кодирующий фактор транскрипции *SP7c* ( $OR = 1,22$ ,  $p = 9 \times 10^{-4}$ ) [29]. Локусы 7p14.1, вблизи гена, кодирующего белок тиоредоксин (*TXNDC3*), и 11q13.2, вблизи белка-5, родственного рецептору липопротеидов низкой плотности (*LRP5*) а также вблизи гена, кодирующего С-гомолог белка *lin-7* (*LIN7C*) в *11p14.1*, вовлеченные в формирование уровня МПКТ, были ассоциированы с более высоким риском ОА, поддерживая гипотезу о том, что уровень МПКТ может быть фактором риска развития ОА [30].

Метаанализ 9 GWAS, включающий 5636 пациентов с ОА коленного сустава и 16 972 чел. в контроле, а также 4349 пациентов с ОА тазобедренного сустава и 17 836 чел. в качестве контроля, подтвердил значимость только двух из 199 проанализированных генов-кандидатов — коллагена 11 типа (*COL11A1*) и эндотелиального фактора роста (*VEGF*), ассоциированных с коксартрозом в европейских популяциях [31]. При этом были найдены две независимые ассоциации двух локусов гена *COL11A1*: *rs4907986* ( $OR = 1,12$ , 95% ДИ (1,06—1,17) и  $p = 1,29 \times 10^{-5}$ ) и *rs1241164* с ( $OR = 0,82$ , 95% ДИ (0,74—0,89) и  $p = 1,47 \times 10^{-5}$ ), в то время как полиморфизм *rs833058* гена *VEGF* оказался значимым для развития ОА только у мужчин ( $OR = 0,85$ , ДИ (0,79—0,91),  $p = 1,35 \times 10^{-5}$ ) [31].

Ряд проведенных метаанализов не подтвердил ранее выявленные ассоциации. Так, при анализе выборки 4417 пациентов с ОА и 3403 чел. в контроле не было найдено ассоциаций между повторами *D13*, *D14*, *D15* гена аспорина (*ASPN*) с гонартрозом и коксартрозом

у представителей европейских и азиатских популяций [32], а также не подтверждена вовлеченность полиморфных вариантов *BSM1*, *Taq1* и *Apal1* гена рецептора витамина *D* (*VDR*) при метаанализе результатов исследований 1626 случаев гонартроза, коксартроза, ОА суставов кистей рук и поясничного отдела позвоночника и 2024 чел. в контроле [33]. Метаанализ, включающий 5409 пациентов с гонартрозом, 4355 пациентов с коксартрозом и 5362 здоровых индивидов в качестве контроля показал, что не существует прямой связи полиморфизма *rs8044769* гена альфа-кетоглутарат зависимой диоксигеназы (*FTO*) с предрасположенностью к ОА, так как он оказался вовлеченным в формирование индекса массы тела (ИМТ) [33, 34].

Полиморфизм *rs11564299* в промоторной области гена *N*-кадгерина (*CDH2*) был ассоциирован с риском ОА при изучении 312 пациентов с ОА и 259 контрольных индивидов из Словакии (OR = 1,14, 95% ДИ 0,49—2,62,  $p = 1,5 \times 10^{-3}$ ), у носителей минорного аллеля оказался повышенный уровень *N*-кадгерина в синовиальной жидкости. Компьютерное моделирование показало, что минорный аллель создает новый сайт связывания для транскрипционного фактора hnRNPК, приводя к повышенной экспрессии гена *CDH2* [35].

Функциональный полиморфизм в экзоне 3 гена рецептора гормона роста (*d3-GHR*) был ассоциирован с коксартрозом, независимо от возраста и ИМТ, при комплексном анализе 2175 больных женщин и 2623 чел. в контроле (OR = 1,17, 95% ДИ 1,04—1,32 и  $p = 8 \times 10^{-3}$ ) [36].

Vidal-Bralo с соавт. идентифицировали новый функциональный микросателлитный локус в гене фактора ингибирования миграции макрофага (*MIF*), ассоциированный с коксартрозом в исследовании случай-контроль, включающий 1775 пациентов с гонартрозом, 1782 пациентов с коксартрозом и 1878 чел. в контроле из трех европейских групп населения со значением  $p = 1,8 \times 10^{-2}$  у женщин и  $p = 2,9 \times 10^{-2}$  у мужчин [37].

Несмотря на достигнутые успехи, для всех выявленных ассоциаций, описанных выше, необходимы репликативные исследования в популяциях различного этнического происхождения, а также функциональные исследования для выявления механизмов, которые формируют повышенный риск ОА. До сих пор, все выявленные локусы, ассоциированные с ОА, объясняют лишь менее 10% доли генетического компонента.

В последние годы начали появляться широкомасштабные исследования с применением полногеномного секвенирования, сфокусированные на полиморфных вариантах с низкой частотой минорного аллеля (MAF 1—5%) и редких вариантах (MAF < 1%), что, безусловно, приведет к появлению новых ДНК-вариантов, ассоциированных с возникновением ОА [8].

При полноэкзомном секвенировании, проведенном у 199 пациентов с коксартрозом и у 1337 людей из контрольной группы, выявлены 761 полиморфных вариантов, ассоциированных с коксартрозом и мШСЦ, распо-

ложенных в генах астротактина (*ASTN2*), йодотрионин деиодиназы 2 (*DIO2*), белка гистоновой лизин-метилтрансферазы (*DOTIL*), рецептора 3 фактора роста фибробластов (*FGFR3*), белка, взаимодействующего с филлаином А (*FILIP1*), гликозилтрансферазы-8 (*GLT8D1*), ядерного G-белка (*GNL3*), регулятора фактор роста нервов (*MCF2L*), коактиватора ядерного рецептора-3 (*NCOA3*), регуляторной субъединицы фосфоинозитид-3-киназы (*PIK3R1*), белка, подобного паратериоидному гормону (*PTH1H*), фактора транскрипции 2 (*RUNX2*), сентрин-специфичной пептидазы-6 (*SEN6*), *TGF-α* [38]. Самая сильная ассоциация с мШСЦ выявлена для редкого варианта гена *FGF3* со значением  $p = 8,6 \times 10^{-5}$  [29]. Как было показано ранее, ген *FGFR3* вовлечен в формирование эндохондральной кости, и мутация в данном гене приводит к ахондроплазии [38]. Недавно идентифицированный ген *DOTIL* также играет роль в развитии костей из хряща (вторичное окостенение) через регулирование *Wnt*-сигнального пути [26]. Необходимо проведение оценки функциональной значимости выявленных вариантов генов в патогенезе ОА.

В настоящее время существует ограниченное количество функциональных исследований, которые изучают возможные механизмы, посредством которых генетические варианты вовлечены в повышенный риск развития ОА.

Таким образом, существует множество результатов исследований ассоциаций генов-кандидатов и GWAS анализов, которые требуют валидации в этнически дифференцированных популяциях и дальнейшего анализа их функциональной значимости в биологии хрящевой ткани и патогенезе ОА.

### Эпигенетические маркеры ОА

В последнее время большое внимание уделяется наследственным изменениям экспрессии генов без первичного изменения ДНК, названными эпигенетическими факторами [39]. Эпигенетические механизмы регулируют экспрессию генов либо путем воздействия на транскрипцию генов, либо посттранскрипционно. Они включают в себя метилирование ДНК, модификацию гистонов и активности некодирующих РНК [40].

В клетках млекопитающих метилирование ДНК происходит преимущественно в CpG динуклеотидах и включает добавление метильной группы к цитозиново-му основанию. Метилирование ДНК регулирует транскрипцию через воздействие на факторы транскрипции и сложное перестраивание хроматина. Метилирование в промоторной области связано с репрессией генов, тогда как метилирование внутри генов положительно коррелирует с экспрессией генов и участвует в сплайсинге и транскрипции с альтернативных промоторов [41, 42].

Существует более чем 150 известных модификаций гистонов. Они включают в себя ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинирование и метилирование

соответствующих гистоновых остатков, и оказывают различные эффекты на транскрипцию [43]. Генные промоторы, энхансеры, транскрипционные регионы и регионы сайленсеров ассоциированы с определенной комбинацией гистонов.

Некодирующая РНК регулирует экспрессию генов путем воздействия на транскрипцию, сплайсинг или трансляцию, включает микроРНК (*miR*) и длинные некодирующие РНК (*lncR*), такие, как *XIST* (X-неактивный специфический транскрипт) [44]. МикроРНК взаимодействует через комплементарные пары оснований в 3'-нетранслируемой области мРНК мишеней и приводит к подавлению трансляции или деградации мРНК [45].

В течение последних 10 лет эпигенетика становится новой и важной областью исследований ОА, главным образом, сосредоточившись на изучении роли микроРНК и метилирования ДНК.

### Роль микроРНК в формировании ОА

МикроРНК являются короткими, 18–24 нуклеотидов в длину, одноцепочечными молекулами, которые подавляют экспрессию генов-мишеней путем связывания со специфическими последовательностями в пределах целевой мишени мРНК [46]. Важность микроРНК в развитии скелета и хондрогенезе впервые была продемонстрирована на мышцах с нокаутом гена хрящ-специфичного фермента процессинга микроРНК — *DICER* [47], и с тех пор было установлено большое количество микроРНК, которые участвуют в развитии хрящей и ОА [48–50].

Масштабный анализ экспрессии 365 микроРНК, с использованием микрочипов, выявил девять микроРНК (*miR-16*, *miR-22*, *miR-23b*, *miR-30b*, *miR-103*, *miR-223*, *miR-377*, *miR-483* и *miR-509*), повышающих, и семь — понижающих (*miR-25*, *miR-26a*, *miR-29a*, *miR-140*, *miR-210*, *miR-337* и *miR-373*) экспрессию целевых генов, потенциально вовлеченных в гомеостаз хряща, у больных ОА, по сравнению с нормальным хрящом [51].

Функциональные исследования идентифицировали *miR-22*, причастную к ожирению и воспалению, *miR-9*, участвующую в регуляции активности гена матриксной металлопротеазы-13 (*MMP13*), *miR-9*, *miR-98* и *miR-146* в контроле экспрессии фактора некроза опухолей (*TNF*), предполагая, что эти микроРНК могут играть протективную роль при ОА [51,52]. Еще одно исследование микроРНК на основе микрочипов показало, что *miR-483-5p* усиливала активность гена в хондроцитах при ОА, в то время как *miR-149*, *miR-582-3p*, *miR-1227*, *miR-634*, *miR-576-5p*, и *miR-641* показали повышенную экспрессию в нормальных хондроцитах [53]. Эти микроРНК, как предполагается, функционируют в суставном хряще через сигнальные пути трансформирующего фактора роста (*TGF*), *Wnt* и рецепторы эпидермального фактора роста *Erb* [53].

*MiR-140* является одной из важнейших микроРНК при развитии ОА, так как она экспрессируется хондроцитами и играет важную роль в хондрогенезе [54]. Нокаут или избыточная экспрессия *miR-140* участвует в развитии ОА посредством влияния на экспрессию гена *MMP13* [55, 56]. В других работах идентифицированы *miR-27a* и *miR-27b*, регулирующие уровень экспрессии *MMP13* в хондроцитах, непрямым или прямым способом соответственно [57], в то время как *miR-146a*, как было предположено, функционирует как отрицательный регулятор экспрессии гена *MMP13*. *MiR-146a* сильно экспрессируется в хряще при умеренном ОА, но её экспрессия постепенно уменьшается с прогрессированием болезни и обратно коррелирует с экспрессией *MMP-13* в хряще при ОА [58].

Исследования Wang с соавт., показали, что ингибиторы гистоновых деацетилаз (HDAC) — увеличивают экспрессию *miR-146a* и усиливают негативную регуляцию передачи сигналов интерлейкина-1b в фибробластоподобных синовиоцитах при ОА [59]. Тем не менее, из-за токсичности и наличия побочных эффектов ингибиторов HDAC, их использование при ОА может быть проблематичным.

Недавние исследования здорового хряща и хряща при ОА коленного сустава показали, что *miR-125b* подавляет экспрессию гена агреканызы-4 (*ADAMTS4*) в хряще при ОА через активацию *IL1b* [60]. Park с соавт. показали, что *miR-558* понижает экспрессию гена, кодирующего субъединицу цитохрома-С оксидазы-2 (*COX2*), через активацию *IL1b*, и стимулирует катаболизм хондроцитов при ОА [61].

Показано, что *miR-127-5p* подавляет *IL1b*-индуцированную экспрессию гена *MMP13*, в то время как *anti-miR-127-5p* значительно увеличивает экспрессию *MMP13*, демонстрируя значимость *miR-127-5p* в качестве важного регулятора экспрессии *MMP13* в хондроцитах [62]. Кроме того, избыточная экспрессия *miR-148a* понижала экспрессию генов *COL10A1*, *MMP-13* и агреканызы-5 (*ADAMTS5*) и увеличивала экспрессию гена *COL2A1* в хондроцитах коленного сустава при ОА, указывая на его роль в качестве потенциального фактора риска ОА [63].

Обнаружена пониженная экспрессия эндогенной *miR-21* в хряще коленного сустава при ОА по сравнению с контролем, показано, что *miR-21* подавляет созревание клеток CH8 в процессе хондрогенеза [64]. Кроме того, избыточная экспрессия *miR-21* приводит к значительному увеличению экспрессии генов матриксных металлопротеаз *MMP1*, *MMP2*, *MMP3*, *MMP9*, в то время как ингибирование *miR-21* уменьшало уровень их экспрессии.

Анализ активности люциферазы показал, что *GDF-5* является непосредственной мишенью *miR-21*, которая вызывает распад мРНК гена *GDF-5*. Предполагается, что этот процесс может быть использован в качестве потенциальной терапевтической мишени [64].

Swingle с соавт., используя хондроциты модельных животных с ОА, а также первичные хондроциты человека, идентифицировали семейство *miR-29*, которые действуют на ранних стадиях развития ОА и регулируют активность важных факторов развития заболевания, таких, как *TGF-β*, транскрипционный фактор (*SOX9*), и имеют функциональное влияние на соответствующие пути, такие, как *NF-κB*, канонический Wnt и Smad каскады [65]. Кроме того, были идентифицированы новые мишени для семейства *miR-29*, такие, как гены агреканаз *ADAMTS5*, *ADAMTS6*, *ADAMTS14*, *ADAMTS17*, *ADAMTS19*, *FZD3* (класс frizzled рецепторов). Необходимо уточнение механизмов, через которые *miR-29* регулируют развитие и прогрессирование ОА [65].

В недавнем исследовании, включающем 816 европеоидов с ОА, выявлена группа людей с необходимостью эндопротезирования, имеющих разную экспрессию циркулирующих микроРНК [66].

Идентифицировано несколько микроРНК (*let-7e*, *miR-454* и *miR-885-5p*) в качестве предикторов развития тяжелого ОА, однако после применения строгих критериев статистического анализа, выявлена значимость *let-7e* для развития тяжелого коксартроза или гонартроза вне зависимости от возраста, пола и индекса массы тела (ИМТ) ( $p = 2,8 \times 10^{-2}$ ) [66].

Поскольку выявляется все больше микроРНК, которые играют роль в хондрогенезе, гомеостазе хряща и патогенезе ОА, необходима идентификация ключевых таргетных целей микроРНК, а также механизмов их регуляции.

### Роль метилирования ДНК в развитии ОА

Метилирование ДНК в настоящий момент является наиболее хорошо изученным эпигенетическим механизмом патогенеза ОА. Выявлены различные профили метилирования геномных регионов, которые содержали гены, связанные с дифференциацией клеток и скелетным эмбриогенезом [67]. Пониженное метилирование специфических CpG сайтов было ассоциировано с увеличением уровня экспрессии генов *MMP3*, *MMP9*, *MMP13* и *ADAMTS4* в хондроцитах на терминальной стадии ОА [68, 69]. Показано, что статус метилирования генов *MMP13* и *iNOS* влияет на их транскрипционную активность при ОА путем изменения их сродства с транскрипционными факторами [70, 71].

Продемонстрировано, что метилирование промотора гена *MMP13* нарушает сайты связывания для факторов транскрипции *CREB* и *HIF2a* [71, 72]. Метилирование CpG сайтов в энхансере гена *iNOS* репрессировало связывание субъединицы p65 фактора транскрипции NF-κB, предполагая эпигенетическую регуляцию экспрессии *iNOS* при ОА [70]. Кроме того, гиперметилирование гена супероксиддисмутазы (*SOD*) и промотора гена *SOX9* было связано со снижением экспрессии этих генов в хряще на модельных животных с ОА [73].

Полногеномный анализ метилирования ДНК из суставных хондроцитов показал различия в статусе метилирования между пациентами с ОА и здоровыми людьми, а полногеномный анализ экспрессии генов выявил существование группы пациентов с ОА, имеющих различную экспрессию генов, связанных с повышенной воспалительной реакцией [74].

Taylor с соавт., определили новый эпигенетический маркер — 5-гидроксиметилцитозин (5hmC), уровень которого в хондроцитах повышен при ОА коленного сустава по сравнению с нормой. Он является промежуточным продуктом деметилирования ДНК 5mC ферментами *TET1,2,3* [75, 76]. Накопление 5hmC в специфических CpG сайтах промоторов генов *MMP1* и *MMP3* коррелировало с повышенной экспрессией генов *MMP* в хондроцитах при ОА, предполагая роль 5hmC в активации деметилирования ДНК [76].

При анализе полногеномного метилирования ДНК, выделенного из суставного хряща пациентов с ОА, показано, что метилирование CpG динуклеотидов существенно различается в тазобедренных и коленных суставах [77]. Кроме того, выявленные изменения метилирования множества CpG динуклеотидов были связаны с экспрессией новых генов в суставном хряще, таких, как ген связывающего белка-7, инсулиноподобного фактора роста (*IGFBP7*), лизил оксидазы-3 (*LOXL3*), белка Т-клеточной дифференциации (*MALL*), ген, кодирующий промежуточный филаментный белок филенин (*BFSPI*), и ген, участвующий аминокислотном обмене и переносе (*SLC7A5*), кроме генов, ранее ассоциированных с ОА, таких, как фактор рецептора цитокина-1 (*CRLF1*), коллаген 6 типа (*COL6A3*), ген, кодирующий гликопротеины клеточной поверхности, участвующие в межклеточных взаимодействиях (*CD44*), ген, кодирующий белок промежуточного слоя хряща, который увеличивается на ранней стадии ОА (*CILP*) и трансформирующий фактор роста бета *TGFβ1* [77].

В другом полногеномном исследовании метилирования в хряще при ОА коленного и тазобедренного суставов Rushton с соавт. обнаружили разные уровни метилирования пораженных и здоровых хрящей, а также хрящей при ОА тазобедренного и коленного суставов. К тому же, были идентифицированы две группы экспрессионных профилей в хряще при ОА коленного и бедренного суставов, подтверждая различия в профиле метилирования при разной локализации ОА [78].

Различия в профиле метилирования при гонартрозе и коксартрозе указывают на разный характер прогрессирования ОА при двух разных суставных локализациях патологического процесса [8].

### Заключение

Таким образом, ОА является одним из самых распространенных заболеваний суставов и глобальной социально значимой проблемой. В настоящее время ве-

дуются разработки новых методов ранней диагностики заболевания до развития деструктивных процессов в различных тканях сустава. Ведущую роль в определении патофизиологии ОА отводится выявлению генетических и эпигенетических механизмов, вовлеченных в формирование ОА. В настоящее время накоплено много данных о генах, метаболических и сигнальных путях, участвующих в патогенезе ОА, о влиянии метилирования ДНК и микроРНК на молекулярные механизмы, приводящие к генетической предрасположенности к ОА.

В представленном обзоре отражены последние результаты в области молекулярно-генетических исследований, таких, как полногеномный анализ ассоциаций (GWAS), полногеномное секвенирование и анализ микроРНК, метилома, а также метаанализ существующих данных, полученных с применением различных подходов.

Однако, несмотря на активные усилия, идентифицировано лишь несколько локусов, ассоциированных с ОА на уровне полногеномной значимости, и даже эти маркеры обладают малым влиянием на формирование заболевания. Необходимо интеграция данных функциональной геномики, исследований экспрессии генов, анализа генных сетей, которые наряду с эпигенетикой имеют важное значение для выявления сигнальных путей, вовлеченных в процесс развития заболевания. Предполагается, что экспрессия генов, ассоциированная с патологическими процессами при ОА, может отражать особенности течения и развития заболевания, и в конечном итоге, прогнозировать начало и характер его прогрессирования.

Проводимая в настоящее время диагностика ОА, основанная на выявлении повышенного содержания маркеров деградациии соединительной ткани, носит скорее экспериментальный характер. Также стандартным методом диагностики ОА остается рентгенография, которая позволяет выявлять характерные изменения лишь на поздней стадии болезни. По этой причине поиск новых подходов диагностики патологии суставов очень важен, чтобы разработать способы раннего выявления заболевания.

### Список литературы

1. Loeser RF, Steven RG, Carla RS, Goldring MB. Osteoarthritis: A Disease of the Joint as an Organ. *Arthritis Rheum.* 2012 Mar;64(6): 1697-1707.
2. Bomer N, den Hollander W, Ramos YF, Meulenbelt I. Translating genomics into mechanisms of disease: Osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology Musculoskeletal Science.* 2015 Dec;29(6):683-691.
3. Котельников ГП, Ларцев ЮВ. Остеоартроз: руководство. Травматология и ортопедия ревматология. Научно-практическое издание. 2009; (1):208.
4. Cross M, Smith E, Hoy D, et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis.* 2014 Jul; 73(7):1323-1330.

5. Алексеева ЛИ. Факторы риска при остеоартрозе. Научно-практическая ревматология. 2000;(2):36-45.
6. Kraus VB, Jordan JM, Doherty M, et al. The genetics of generalized osteoarthritis (GOGO) study: study design and evaluation of osteoarthritis phenotypes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007 Feb;15(2):120-127.
7. Jones SW, Watkins G, Le Good N, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF-alpha and MMP13. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2009 Apr;17(4):464-472.
8. Tsezou A. Osteoarthritis Year in Review 2014: genetics and genomics. *Osteoarthritis Cartilage.* 2014 Dec; 22(12):2017-2024.
9. Haseeb A, Haqqi TM. Immunopathogenesis of Osteoarthritis. *Clin Immunol.* 2013 Mar; 146(3):185-196.
10. Valdes AM, Spector TD. Genetic epidemiology of hip and knee osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2011 Jan;7(1):23-32.
11. Reynard LN. Analysis of genetics and DNA methylation in osteoarthritis: What have we learnt about the disease? *Semin Cell Dev Biol.* 2016 Apr 26; (16)30121-5.
12. Abramson SB, Attur M. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2009 May; 11(3): 227.
13. Zhai G, van Meurs JB, Livshits G, et al. A genome-wide association study suggests that a locus within the ataxin 2 binding protein 1 gene is associated with hand osteoarthritis: the Treat-OA consortium. *Journal of Medical Genetics.* 2009 Sep; 46(9):614-616.
14. Panoutsopoulou K., Southam L, Elliott KS, et al. Insights into the genetic architecture of osteoarthritis from stage 1 of the arcOGEN study. *Ann Rheum Dis.* 2011 May;70(5):864-867.
15. Тюрин АВ, Хусаинова РИ, Давлетшин РА, Хуснутдинова Э.К. Современные представления о патогенезе и генетике остеоартрита. *Медицинская генетика.* 2013;(129):3-10.
16. Evangelou E, Kerkhof HJ, Stykarsdottir U, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies novel variants associated with osteoarthritis of the hip. *Ann Rheum Dis.* 2014 Dec; 73(12): 2130-2136.
17. Panoutsopoulou K, Zeggini E. Advances in osteoarthritis genetics. *J Med Genet.* 2013 Nov; 50(11): 715-724.
18. Day-Williams AG, Southam L, Panoutsopoulou K, et al. A variant in MCF2L is associated with osteoarthritis. *Am J Hum Genet.* 2011 Sep; 89(3):446-50.
19. Evangelou E, Valdes AM, Kerkhof HJ, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies confirms a susceptibility locus for knee osteoarthritis on chromosome 7q22. *Ann Rheum Dis.* 2011 Feb; 70(2): 349-355.
20. Kerkhof HJ, Lories RJ, Meulenbelt I, et al. A genome-wide association study identifies an osteoarthritis susceptibility locus on chromosome 7q22. *Arthritis Rheum.* 2010 Feb; 62(2): 499-510.
21. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, et al. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nat Genet.* 2007 Apr;39(4):529-33.
22. Valdes AM., Evangelou E, Kerkhof HJ, et al. The *GDF5* rs143383 polymorphism is associated with osteoarthritis of the knee with genome-wide statistical significance. *Ann Rheum Dis.* 2011 May; 70(5):873-875.
23. Miyamoto Y, Shi D, Nakajima M, et al. Common variants in DVWA on chromosome 3p24.3 are associated with susceptibility to knee osteoarthritis. *Nat Genet.* 2008 Aug;40(8):994-998.
24. Nakajima M, Takahashi A, Kou I, et al. New sequence variants in HLA class II/III region associated with susceptibility to knee osteoarthritis identified by genome-wide association study. *PLoS One.* 2010 Mar; 5(3): 9723.
25. Zeggini E, Panoutsopoulou K, Southam L, et al. Identification of new susceptibility loci for osteoarthritis (arcOGEN): a genome-wide association study. *Lancet.* 2012 Sep; 380(9844):815-823.

26. Castano Betancourt MC, Cailotto F, Kerkhof HJ, et al. Genome-wide association and functional studies identify the DOT1L gene to be involved in cartilage thickness and hip osteoarthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 May;109(21): 8218-23.
27. Evangelou E, Valdes AM, Castano-Betancourt MC, et al. The DOT1L rs12982744 polymorphism is associated with osteoarthritis of the hip with genome-wide statistical significance in males. *Ann Rheum Dis*. 2013 Jul;72(7):1264-1265.
28. Meulenbelt I, Min JL, Bos S, et al. Identification of DIO2 as a new susceptibility locus for symptomatic osteoarthritis. *Hum Mol Genet*. 2008 Jun;17(12):1867-1875.
29. Castano Betancourt M, Evans D, Liu Y, et al. Novel variants for cartilage thickness and hip osteoarthritis: revealing genes implicated in cartilage and bone development. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014 Apr;22(6):41.
30. Yerges-Armstrong LM, Yau MS, Liu Y, et al. Association analysis of BMD-associated SNPs with knee osteoarthritis. *J Bone Min Res*. 2014 Jun;29(6):1373-1379.
31. Rodriguez-Fontenla C, Calaza M, Evangelou E, et al. Assessment of osteoarthritis candidate genes in a meta-analysis of nine genome-wide association studies. *Arthritis Rheumatol*. 2014 Apr; 66(4): 940-949.
32. Song GG, Kim JH, Lee YH. A meta-analysis of the relationship between aspartic acid (D)-repeat polymorphisms in asporin and osteoarthritis susceptibility. *Rheumatol Int*. 2014 Jun;34(6): 785-792.
33. Liu H, He H, Li S, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of osteoarthritis: a meta-analysis. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2014 May;239(5):559-567.
34. Zhu ZH, Jin XZ, Zhang W, et al. Associations between vitamin D receptor gene polymorphisms and osteoarthritis: an updated meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014 Jun;53(6): 998-1008.
35. Ruedel A, Stark K, Kaufmann S, et al. N-cadherin promoter polymorphisms and risk of osteoarthritis. *FASEB J*. 2014 Feb; 28(2):683-691.
36. Claessen KM, Kloppenburg M, Kroon HM, et al. Relationship between the functional exon 3 deleted growth hormone receptor polymorphism and symptomatic osteoarthritis in women. *Ann Rheum Dis*. 2014 Feb;73(2):433-436.
37. Vidal-Bralo L, Rodriguez-Fontela C, Calaza M, et al. New functional microsatellite associated with osteoarthritis susceptibility. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014 Apr;22(4):232-233.
38. Boer CG, Rooij van J, Peters MJ, Meurs van J. Discovery and analysis of rare coding variants for hip OA by exome-sequencing. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014 Apr;22(4):226-227.
39. Holroyd C, Harvey N, Dennison E, Cooper C. Epigenetic influences in the developmental origins of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2012 Feb; 23(2):401-10.
40. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature*. 2007 May 24; 447(7143):396-398.
41. Lev Maor G, Yearim A, Ast G. The alternative role of DNA methylation in splicing regulation. *Trends Genet*. 2015 May;31(5):274-280.
42. Maunakea AK, Nagarajan RP, Bilenyk M, et al. Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters. *Nature*. 2010 Jul 8;466(7303):253-257.
43. Tessarz P, Kouzarides T. Histone core modifications regulating nucleosome structure and dynamics. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2014 Nov;15(11):703-708.
44. Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nat. Rev. Genet*. 2014 Jan;15(1): 7-21.
45. Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat. Rev. Genet*. 2015 Jul;16(7): 421-433.
46. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function *Cell*. 2004 Jan 23; 116(2):281-297.
47. Kobayashi T, Lu J, Cobb BS, et al. Dicer-dependent pathways regulate chondrocyte proliferation and differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Feb;105(6):1949-1954.
48. Mirzamohammadi F, Papaioannou G, Kobayashi T. MicroRNAs in cartilage development, homeostasis, and disease. *Curr Osteoporos*. 2014 Dec;12(4): 410-419.
49. Nugent M. MicroRNAs: exploring new horizons in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016 Apr; 24(4):573-80.
50. Le LT, Swingle TE, Clark IM. Review: the role of microRNAs in osteoarthritis and chondrogenesis. *Arthritis Rheum*. 2013 Aug;65(8):1963-1974.
51. Iliopoulos D, Malizos KN, Oikonomou P, Tsezou A. Integrative microRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks. *PLoS One*. 2008 Nov; 3(11):3740.
52. Jones SW, Watkins G, Le Good N, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF-alpha and MMP13. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2009 Apr;17(4):464-472.
53. Dhaz-Prado S, Cicione C, Muinos-Lopez E, et al. Characterization of microRNA expression profiles in normal and osteoarthritic human chondrocytes. *BMC Musculoskelet Disord*. 2012 Aug; (13):1-14.
54. Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, et al. MicroRNA-140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin-1 responses. *Arthritis Rheum*. 2009 Sep; 60(9): 2723-2730.
55. Nakamura Y, Inloes JB, Katagiri T, Kobayashi T. Chondrocyte-specific microRNA-140 regulates endochondral bone development and targets Dnpep to modulate bone morphogenetic protein signaling. *Mol Cell Biol*. 2011 Jul; 31(14): 3019-3028.
56. Liang ZJ, Zhuang H, Wang GX, et al. MiRNA-140 is a negative feedback regulator of MMP-13 in IL-1beta-stimulated human articular chondrocyte C28/I2 cells. *Inflamm Res*. 2012 May;61(5):503-509.
57. Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy S, et al. MicroRNA-27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis Rheum*. 2010 May;62(5):1361-1371.
58. Li J, Huang J, Dai L, et al. miR-146a, an IL-1beta responsive miRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4. *Arthritis Res Ther*. 2012 Apr;14(2):1-13.
59. Wang JH, Shih KS, Wu YW, et al. Histone deacetylase inhibitors increase microRNA-146a expression and enhance negative regulation of interleukin-1beta signaling in osteoarthritis fibroblast-like synoviocytes. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2013 Dec;21(12):1987-1996.
60. Matsukawa T, Sakai T, Yonezawa T, et al. MicroRNA-125b regulates the expression of aggrecanase-1 (ADAMTS-4) in human osteoarthritic chondrocytes. *Arthritis Res Ther*. 2013 Feb;15(1):1-11.
61. Park SJ, Cheon EJ, Kim HA. MicroRNA-558 regulates the expression of cyclooxygenase-2 and IL-1β-induced catabolic effects in human articular chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2013 Jul;21(7):981-989.
62. Park SJ, Cheon EJ, Lee MH, Kim HA. MicroRNA-127-5p regulates matrix metalloproteinase 13 expression and interleukin-1beta-induced catabolic effects in human chondrocytes. *Arthritis Rheum*. 2013 Dec;65(12): 3141-3152.
63. Vonk LA, Kragten AH, Dhert WJ, et al. Overexpression of hsa-miR-148a promotes cartilage production and inhibits cartilage degradation by osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014 Jan;22(1): 145-53.

64. Zhang Y, Jia J, Yang S, et al. MicroRNA-21 controls the development of osteoarthritis by targeting GDF-5 in chondrocytes. *Exp Mol Med*. 2014 Feb;28(46):79.
65. Le L, Swingle TE, Crowe N, et al. The microRNA-29 family in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014 Apr;22(64):41-42.
66. Beyer C, Zampetaki A, Lin NY, et al. Signature of circulating microRNAs in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015 Mar;74(3):18.
67. Delgado-Calle J, Fernandez AF, Sainz J, et al. Genome-wide profiling of bone reveals differentially methylated regions in osteoporosis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2013 Jan;65(1):197-205.
68. Cheung KS, Hashimoto K, Yamada N, Roach HI. Expression of ADAMTS-4 by chondrocytes in the surface zone of human osteoarthritic cartilage is regulated by epigenetic DNA de-methylation. *Rheumatol Int*. 2009 Mar;29(5):525-534.
69. da Silva MA, Yamada N, Clarke NM, Roach HI. Cellular and epigenetic features of a young healthy and a young osteoarthritic cartilage compared with aged control and OA cartilage. *J Orthop Res*. 2009 May;27(5):593-601.
70. de Andres MC, Imagawa K, Hashimoto K, et al. Loss of methylation in CpG sites in the NF-kappaB enhancer elements of inducible nitric oxide synthase is responsible for gene induction in human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*. 2013 Mar;65(3):732-742.
71. Hashimoto K, Otero M, Imagawa K, et al. Regulated transcription of human matrix metalloproteinase 13 (MMP13) and interleukin-1beta (IL1B) genes in chondrocytes depends on methylation of specific proximal promoter CpG sites. *J Biol Chem*. 2013 Apr;288(14):10061-72.
72. Bui C, Barter MJ, Scott JL, et al. cAMP response element-binding (CREB) recruitment following a specific CpG demethylation leads to the elevated expression of the matrix metalloproteinase 13 in human articular chondrocytes and osteoarthritis. *FASEB J*. 2012 Jul;26(7):3000-11.
73. Scott JL, Gabrielides C, Davidson RK, et al. Superoxide dismutase downregulation in osteoarthritis progression and end-stage disease. *Ann Rheum Dis*. 2010 Aug;69(8):1502-10.
74. Fernandez-Tajes J, Soto-Hermida A, Vazquez-Mosquera ME, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of articular chondrocytes reveals a cluster of osteoarthritic patients. *Ann Rheum*. 2014 Apr;73(4):668-77.
75. Ito S, Shen L, Dai Q, et al. Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science*. 2011 Sep;333(6047):1300-3.
76. Taylor SE, Smeriglio P, Dhulipala L, et al. A global increase in 5-hydroxymethylcytosine levels marks osteoarthritic chondrocytes. *Arthritis Rheum*. 2014 Jan;66(1):90-100.
77. den Hollander W, Ramos YF, Bos SD, et al. Genome wide DNA methylation profiling of osteoarthritic articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014 Apr;22(61):40-41.
78. Rushton MD, Reynard LN, Barter MJ, et al. Characterisation of the cartilage DNA methylome in knee and hip osteoarthritis using high-density genome-wide analysis. *Arthritis Rheumatol*. 2014 Sep;66(9):2450-60.