



С.Б. Панина

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ОСТЕОАРТРОЗА

*Южный федеральный университет, кафедра биохимии и микробиологии,
344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42; e-mail: tailana@donnetwork.ru*

Известно, что остеоартроз как распространенная форма дегенеративной патологии сустава имеет важный генетический компонент. Проведен анализ литературных источников, касающихся роли различных кандидатных генов в развитии остеоартроза, при этом много внимания уделено полиморфизму генов матриксных металлопротеиназ, их ингибиторов и генов интерлейкинов. Статья детально описывает результаты современных полногеномных анализов и мета-анализов ассоциаций полиморфизмов с данным заболеванием. Также обсуждается вопрос связи эпигенетических изменений и риска развития остеоартроза.

Ключевые слова: остеоартроз, полиморфизмы генов, полногеномный поиск ассоциаций, кандидатные гены, матриксные металлопротеиназы.

S.B. Panina

GENETIC POLYMORPHISMS AS THE RISK FACTOR IN THE DEVELOPMENT OF OSTEOARTHRITIS

*Southern Federal University, Biochemistry and microbiology department,
105/42 B.Sadovaya st, Rostov-on-Don, 344006; e-mail: tailana@donnetwork.ru*

It's well-known that osteoarthritis (OA) is a widespread form of degenerative joint disorder that has the significant genetic component. The studies concerning the role of various candidate genes in the OA development are analyzed; much attention is given to the exploration of matrix metalloproteinases, their inhibitors and interleukin genes polymorphisms. The paper describes the results of up-to-date genome-wide association scanning and meta-analyses of polymorphisms associated with osteoarthritis in detail. The paper also considers the problem of the linkage between epigenetic alterations and the susceptibility to OA.

Key words: osteoarthritis, genetic polymorphisms, GWAS, candidate genes, matrix metalloproteinases.

Генетическая вариабельность, ограниченная одним видом, получила название генетического полиморфизма. Генетический полиморфизм может быть качественным, когда происходят замены нуклеотидов, либо количественным, когда в ДНК варьирует число нуклеотидных повторов различной протяженности. Тот и другой виды полиморфизма встречаются как в смысловых (белок-кодирующих), так и во внегенных последовательностях молекулы ДНК. Генетический полиморфизм можно определить как менделевский признак, встречающийся в популяции по крайней мере в 2 вариантах с частотой не менее 1% для каждого. Наследуемые полиморфные изменения генов играют решающую роль в определении уникального генетического профиля каждого человека, оценке его наследственной предрасположенности к различным частым мультифакториальным заболеваниям. На сегодняшний день выявлены генетические полиморфизмы, ассоциированные с такими заболеваниями, как бронхиальная астма, сердечно-сосудистые, онкологические заболевания, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, сахарный диабет, остеопороз, иммунные нарушения, ожирение, депрессия и др. [1].

Остеоартроз (ОА) – распространенная форма суставной патологии, дегенеративное заболевание, затрагивающее хрящ и другие суставные ткани, ведущее к потере физической активности и резко снижающее качество жизни населения развитых стран, в основе которого могут лежать различные причины, включая биохимические и механические факторы [2]. Остеоартроз диагностируется у 10-12% населения, при этом заболеваемость увеличивается с возрастом: у людей старше 65 лет ОА встречается в 97% случаев. Наиболее часто поражаемыми участками являются суставы рук, колени, бедра и позвоночник.

Остеоартроз, в том числе ОА коленного сустава, имеет важный генетический компонент, и многие исследования показали роль различных кандидатных генов в развитии ОА коленного и тазобедренного суставов [3]. Тем не менее, отдельные рассматриваемые генетические полиморфизмы не являются мутациями, с большой вероятностью повышающими риск развития ОА. Существуют работы, изучающие, могут ли несколько генетических полиморфизмов, ассоциированных с ОА в отдельности, действительно способствовать риску возникновения данного заболевания. Такие исследования включают анализ



относительно большого числа кандидатных генов, т.е. определенной их сети. В частности, наиболее продуктивный подход к анализу ассоциаций с заболеваниями – полногеномный поиск ассоциаций, GWAS (genome-wide association scanning). Этот метод требует репрезентативных выборок в сотни или тысячи индивидов и обязательного анализа генов чувствительности на других популяциях [4]. Взаимодействие генетической предрасположенности и эпигенетических изменений может выступать как фактор риска развития ОА [5].

Исследования показали, что некоторые гены хондроцитов при ОА находятся в состоянии гипер- или гипоактивации по сравнению с генами хондроцитов в норме, таким образом, можно заключить, что хондроциты при ОА обладают измененным фенотипом [6].

Несмотря на то, что различные группы ученых рассматривали более 80 потенциальных кандидатных генов, ассоциированных с развитием ОА, удалось выявить один повсеместный и надежный аллель чувствительности к ОА, а именно точечный полиморфизм C/T (rs143383), который локализуется в 3'-нетранслируемом регионе гена фактора роста и дифференциации 5 (GDF5) [5]. Фактор роста GDF5 – это экстраклеточная сигнальная молекула, член семейства TGF- β . Она участвует в развитии, поддержании и восстановлении тканей суставов [7]. rs143383, а именно транзигция C $\rightarrow$ T, впервые была отмечена в связи с ОА в 2007 году, и с тех пор множество работ подтвердили, что данная ассоциация истинна [5, 8]. Так, рассматриваемый полиморфизм коррелирует со стадией развития ОА по шкале Келлгрена-Лоуренса ($p=0.0011$) [8].

Генетики сейчас хорошо понимают, что небольшие выборки в полногеномных поисках ассоциаций резко уменьшают их возможности определить вклад индивидуальных локусов в развитие общей патологии [5]. На настоящий момент опубликовано два крупных исследования, посвященных чувствительности к ОА, содержащих анализ достаточно большой группы образцов, более 1000 случаев каждое. Это Роттердамское исследование и первая стадия британского исследования arcOGEN. Первое из них сосредоточилось на ОА тазобедренного и коленного суставов, а также суставов рук, в то время как второе было посвящено ОА только тазобедренного и коленного суставов. Роттердамское исследование включило в полногеномный поиск ассоциаций 1341 больного ОА и 3496 здоровых людей в качестве контроля. Поиск обнаружил с вероятностью ошибки $p=8.0 \cdot 10^{-8}$ аллели чувствительности к ОА, локализованные на участке хромосомы 7q22 в составе блока неравновесного сцепления длиной более 500 кб; дополнительные исследования увеличили значимость данного результата [9,10]. Работа [10] содержит самый большой на момент публикации объем изученных образцов по исследованию ОА коленного сустава, а именно почти 8000 случаев. Блок неравновесного сцепления на участке 7q22 включает 6 генов: PRKAR2B (протеинкиназа, cAMP-зависимая, регуляторная, тип β); HRPB1 (HMG-бокс транскрипционный фактор 1), COG5 (компонент олигомерного комплекса 5), GPR22 (рецептор, сопряженный с G-белком 22), DUS4L (дигидроуридин-синтаза 4-подобная) и BCAR29 (В-клеточный рецептор-ассоциируемый белок 29) [10]. Патологическая активность любого из генов региона 7q22 может привести к развитию ОА коленного сустава, поскольку в данном регионе наблюдается сильное неравновесное сцепление.

Интересно, что из перечисленных шести ключевых белков белок GPR22 был обнаружен в хряще и остеобластах мышей с индуцированным ОА, в то время как в нормальном хряще он отсутствовал [9]. Это натолкнуло авторов [9] на предположение, что ген GPR22 является главным геном во всей рассматриваемой группе, способствующим возникновению ОА. До сих пор не обнаружены лиганды, способные связываться с GPR22, поэтому рассматриваемый рецептор относится к группе «сиротских» (класс А). Этот ген является возможной терапевтической мишенью.

Британское исследование arcOGEN включило в анализ 3177 больных ОА и 4894 здоровых людей в качестве контроля [11]. Применение аналитического подхода для изучения аллельной архитектуры ОА показало, что ОА – это высоко-полигенное заболевание с множеством аллелей чувствительности, обладающих слабым эффектом в отдельности.

Исследование выборки из 58 917 независимых европейских образцов определило несколько генетических маркеров ОА коленного и/или тазобедренного суставов; один из них – полиморфизм A/G внутри интрона 32 гена монооксигеназы MICAL1 на хромосоме 22 (rs2277831) [11]. Что касается ОА коленного сустава, то самый вероятный маркер чувствительности к заболеванию – полиморфизм A/G внутри гена C6orf130 (rs11280). Данный ген кодирует уникальный «сиротский» белок-макромомен, отдельно стоящий в филогенетическом древе, катализирующий реакции деацетилирования О-ацил-ADP-рибозы. В то же время для ОА тазобедренного сустава самым вероятным маркером чувствительности был полиморфизм T/G внутри интрона 31 гена COL11A1, коллаген XI типа, $\alpha 1$ (rs2615977) [11].

Генетическое сцепление наблюдается, когда локус, связанный с интересующим признаком (в данном случае возникновение ОА), и аллели соседних маркеров наследуются совместно [12]. Так, Lee Y.H. et al. провели мета-анализ полногеномных исследований сцепления при ОА: согласно их данным, генетические регионы 7q34-7q36.3, 11p12-11q13.4, 6p21.1-6q15, 2q31.1-2q34 и 15q21.3-15q26.1 являются наиболее вероятными регионами, содержащими гены чувствительности к ОА [13].

Было проведено несколько масштабных полногеномных анализов сцепления у семей пациентов с ОА в Финляндии, Британии, Исландии и США [14]. Сообщалось о нескольких обнаруженных полиморфных локусах, при этом в результатах всех перечисленных исследований фигурировала хромосома 2, содержащая данные локусы. Последующие анализы определили ассоциацию с ОА несинонимичной замены в гене MATN3 (2p24.1, ген кодирует структурный белок хряща матрилин-3) в исландской популяции; ассоциацию с ОА двух несинонимичных замен в гене FRZB (2q32.1, ген кодирует секретируемый frizzled-связанный белок 3) в британской популяции, и, наконец, ассоциацию с ОА локусов генного кластера интерлейкина-1 внутри региона сцепления хромосомы 2 в финской популяции [14]. Ген FRZB в составе локуса хромосомы 2q является очень вероятным кандидатным геном, широко обсуждалась его роль в развитии кости и сустава, а также в ингибировании Wnt-сигнального пути, метаболизме кости и возникновении ОА [15]. Несколько работ исследовали связь между развитием ОА и двумя полиморфизмами в гене FRZB: заменами A/G (rs288326) в белке Arg200Trp, и C/G (rs7775) в белке Arg324Gly, при этом были получены противоречивые результаты [15]. Так, Loughlin et al.



установили, что женщины-носительницы аллеля Gly324 гена FRZB обладают повышенным риском необходимости полной замены тазобедренного сустава [16]. С другой стороны, группа [15] изучала полиморфизмы нескольких ключевых участников Wnt-сигнального пути, а именно генов FRZB, LRP5, LRP6 (LRP-белки, связанные с рецептором липопротеина низкой плотности), и не обнаружила ассоциации полиморфизмов данных генов с частотой ОА в двух популяциях. Rodriguez-Lopez et al. также не обнаружили статистически значимых различий в частотах аллелей гена FRZB (rs288326 и rs7775) между контрольной группой и группами пациентов с ОА (перенесших полную замену сустава вследствие ОА: тазобедренного, коленного суставов; суставов рук) в испанской популяции [17].

Согласно PeachC.A. et al., другими хромосомами, содержащими сцепленные локусы, ассоциированные с ОА и отмеченные несколькими исследованиями, являются хромосомы 16 и 6, например, локусы 16p12.3-p12.1 и 16q22.1-q23.1 [14]. Так, группе [18] удалось обнаружить, что полиморфизмы гена рецептора интерлейкина 4 (IL4R), который расположен внутри региона сцепления на хромосоме 16p, ассоциированы с ОА в белокожей популяции. Оба полиморфизма: C/T (rs1805015; S478P) и A/G (rs1801275; Q551R) – приводят к замене аминокислот в функциональном внутриклеточном участке рецептора, тем самым влияя на связывание и фосфорилирование субстратов.

Важнейшим сигнальным каскадом в биологии сустава

являются белки BMP (bone morphogenetic proteins). Костные морфогенетические белки – это члены суперсемейства сигнальных молекул TGF- β , которые опосредуют множество процессов [12]. BMP усиливают клеточные ответы преимущественно через путь Smad, а также с помощью активации митоген-активируемых протеинкиназ (MAPK). Оказалось, что ген BMP2 вовлечен в риск развития ОА коленного сустава в британской популяции [19]. BMP2 – это ростовой фактор, участвует в хондро- и остеогенезе, а также в поддержании минеральной плотности кости (МПК). Обнаружено, что полиморфизмы гена BMP2 ассоциированы с возникновением гонартроза (ОА коленного сустава) в британской популяции, однако их роль в развитии ОА бедренного сустава или в других популяциях еще предстоит тщательно изучить [12].

Генетические вариации могут влиять на чувствительность к ОА различными путями и на различных стадиях (рис.1). Суставный хрящ – это биомеханическое целое, он совместно с субхондральной костью ослабляет силы, действующие на сустав, преимущественно толчковой нагрузки [12]. Полиморфизмы генов молекул, вовлеченных в развитие и/или ремоделирование кости, также могут способствовать чувствительности к ОА. Так, например, костные морфогенетические белки (BMP, bone morphogenetic proteins) и Wnt-сигнальные гены (контролирующие развитие кости в модельных системах на животных) действительно ассоциированы с риском развития ОА у животных и человека [12].

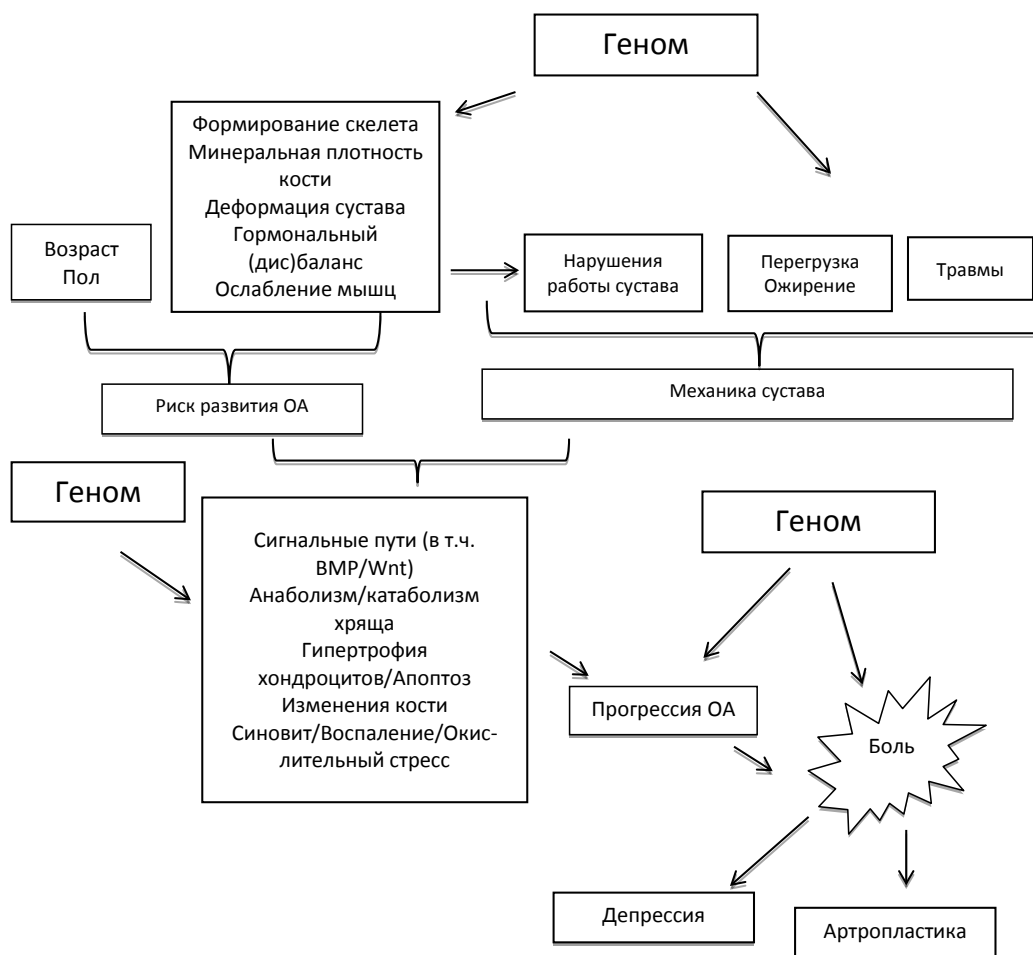


Рис. 1. Роль генетических полиморфизмов в развитии остеоартроза [12, с изм.]



ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИНТЕРЛЕЙКИНОВ. ЭПИГЕНЕТИКА И ОА

Матриксные металлопротеиназы (ММП) – семейство цинк-зависимых эндопептидаз, которые способны к деградации всех белковых компонентов экстраклеточного матрикса (ЭКМ). Важно, что два семейства класса металлопротеиназ: дизинтегрин и металлопротеиназа с тромбоспондиновыми мотивами (ADAMTS, аггреканызы) и матриксные металлопротеиназы (ММП) – являются главными медиаторами деструкции хряща при артропатологиях [6].

ММП влияют на клеточную пролиферацию, дифференциацию, миграцию и гибель, а также на межклеточные взаимодействия. После открытия первой ММП (ММП-1) их семейство значительно расширилось: на настоящий момент известно 28 металлопротеиназ. Различные воспалительные процессы почти всегда характеризуются нарушенными, обычно увеличенными активностями матриксных металлопротеиназ [20]. Многие металлопротеиназы (ММП-1, -2, -3, -7, -8, -9, -10, -11, -12, -13) в норме экспрессируются на низком уровне в суставной ткани, в то время как эта экспрессия значительно увеличивается при артрите. При развитии ОА провоспалительные цитокины (TNF- α и IL-1 β), связываясь с соответствующими рецепторами хондроцитов, активируют сигнальные пути с привлечением транскрипционных факторов NF-kB и AP-1, приводя к гиперактивации экспрессии матриксных металлопротеиназ [20].

Неравномерный характер распределения матриксных металлопротеиназ может отражать тот факт, что ММП-1 и -8 преимущественно продуцируются клетками синовиальной оболочки и нейтрофилами, соответственно, в то время как экспрессия ММП-13 преобладает в хондроцитах [6]. Из множества ММП уровень ММП-3 был чрезвычайно высоким в синовиальной жидкости пациентов и с ОА, и с ревматоидным артритом [21].

Хотя ингибиторы ММП используются как средства терапии для остановки деструкции ткани при таких воспалительных патологиях, как артрит, точная роль ММП в воспалении еще не совсем ясна.

Гены ММП-1, -3, -7, -8, -10, -12, -13 локализованы единым кластером на длинном плече хромосомы 11 [22]. Показано, что полиморфизмы генов матриксных металлопротеиназ влияют на уровни экспрессии этих генов и могут быть связаны с теми или иными дегенеративными патологиями.

Промоторы генов матриксных металлопротеиназ на настоящий момент хорошо охарактеризованы, и ключевым регулятором транскрипции генов ММП является связывающий сайт для транскрипционного фактора AP-1 (activator protein 1) в позиции -73 [6]. Промоторы ММП-1, -3, -9, -13 содержат такой AP-1-сайт, критичный для экспрессии. Экспрессия ММП-1, ММП-3, ММП-9 и ММП-13 индуцируется IL-1 β и TNF α через сигнал-передающие пути, такие как митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК). Кроме того, промоторы генов ММП-1, -3, -9 включают канонические связывающие сайты для транскрипционного фактора NF-kB, и активация NF-kB необходима для индукции транскрипции этих генов [6]. Другой регулятор экспрессии ММП – это трансформирующий ростовой фактор β (TGF β). Сигналы TGF β ак-

тивируют белки-медиаторы SMAD, кофакторы, которые транслируются в ядро и регулируют экспрессию генов. Эти белки контролируют экспрессию ММП, напрямую связываясь с промоторами, или через взаимодействия с другими транскрипционными факторами. Промоторы ММП-1 и ММП-3 содержат TGF β -ингибиторный элемент (TIE), ответственный за репрессию с помощью TGF β , а взаимодействия между белками Smad и AP-1 регулируют экспрессию ММП-13. Таким образом, важнейшую роль в регуляции генной экспрессии ММП играют транскрипционные факторы AP-1, Ets, NF-kB и белки Smad [6]. Любопытно, что авторы [23] подтвердили, что полиморфизм A/G, локализуемый в интроне 1 гена SMAD3 (rs12901499), является маркером предрасположенности к ОА коленного и бедренного сустава (данная мутация сопровождалась более высокой экспрессией ММП-2, -9).

Для гена ММП-1 (коллагеназа-1) известен полиморфизм -1607(1G/2G) в области промотора (rs1799750). Наличие 2G создает дополнительный сайт (5'-GGA-3') для транскрипционных факторов семейства Ets и ведет к значительному усилению транскрипционной активности и, как следствие, повышенной продукции про-MMP-1 [24]. Наоборот, при 1G варианте инсерция гуанинового остатка в промоторе не наблюдается, в данном случае отмечается транскрипционный уровень ниже основного.

Местная продукция и активация ММП-1 и ее последующее влияние на субстраты, вовлеченные в процессы воспаления и васкуляризации, например про-TNF α , могут свидетельствовать о роли этой металлопротеиназы в развитии глубокого сепсиса и инфекции после артропластики бедра [25]. Была показана ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов гена ММП-1 и неудачной асептики после артропластики [25].

В то же время некоторые работы содержат противоречивые данные об ассоциации полиморфизмов ММП-1 с суставными заболеваниями: так, группа Taskin N. et al. не нашли взаимосвязи упоминавшегося выше полиморфизма -1607(1G/2G) в промоторе гена ММП-1 и частоты заболеваний височно-нижнечелюстного сустава, в то время как исследователи Planello A.C. et al. показали, что генотип 2G/2G является маркером повышенного риска возникновения этой патологии относительно генотипов 1G/2G и 1G/1G [26,27]. Возможными причинами этих противоречий могут быть гетерогенная природа генетических заболеваний и отдаленность изучаемых популяций.

Некоторые результаты свидетельствуют о том, что генетические полиморфизмы в промоторе гена ММП-1 способны влиять на процессы, происходящие в результате воздействия различных изоформ ER (эстрогенового рецептора) [28]. Как известно, ОА и остеопороз более часто встречается у женщин, чем у мужчин, особенно в постменопаузальный период, когда уровень эстрогена в организме значительно снижается. Транскрипционная активность 2G-аллеля оказалась выше, чем активность 1G-аллеля независимо от изоформ ER. Согласно [28], Ets и AP-1 сайты в локусах -1602 и -1607 являются двумя из важнейших регуляторных сайтов, вовлеченных в регуляцию активности ММП-1 в ответ на изоформы ER. Кроме того, показана ассоциация полиморфизма 1G/2G с сывороточными уровнями циркулирующей ММП-1 у



пациентов с ревматоидным артритом [24].

Эстрогены действуют посредством связывания с двумя типами специфических эстрогеновых рецепторов (ER), кодирующихся разными генами: α (ER1) и β (ER2). Многие авторы предполагают, что эстрогены могут серьезно влиять на развитие ОА, а эстрогеновая заместительная терапия может играть протективную роль при ОА, однако эти протективные эффекты эстрогенов были продемонстрированы не во всех исследованиях [29]. В работе [29] изучалось влияние полиморфизмов двух генов, связанных с эстрогеновым обменом: C/G в гене CYP19A1 (rs1062033), кодирующем фермент ароматазу, который превращает андрогеновые предшественники в эстрогены в периферических тканях; и -397C/T в гене ESR1, эстрогенового рецептора 1 (rs2234693). Оказалось, что оба изученных полиморфизма являются маркерами повышенного риска развития ОА. Генотип чувствительности приводит к уменьшению экспрессии CYP19A1 в костных препаратах пациентов с ОА [29]. Стратификационный анализ показал, что влияние полиморфизмов гена CYP19A1 более важно для женщин, чем для мужчин, и в случае ОА коленного сустава более, чем в случае ОА тазобедренного сустава.

MMP-3 (стромелизин-1) имеет широкую субстратную специфичность в отношении ламинина, фибронектина и нефибриллярных коллагенов. MMP-3 участвует не только в деградации широкого ряда экстраклеточных матричных белков, но и, что очень важно, в активации других членов семейства MMP, а именно, MMP-1, -8, -13, вероятно, это ключевой регулятор ремоделирования и деградации экстраклеточного матрикса, который также может инактивировать PAI1 (ингибитор активатора плазминогена I), расщеплять FasL и E-кадгерин [29,30]. Роль MMP-3 в деструкции ткани, связанная с воспалением, хорошо известна.

Полиморфизм -1612(5A/6A) в промоторе гена MMP-3 (rs3025058) обусловлен вариацией в длине последовательности аденозинов, относящейся к сайту начала транскрипции. Исследования показали, что концентрация белка MMP-3 в ткани тесно связана с данным полиморфизмом: генотип 5A/5A способствует наибольшей экспрессии данного белка по сравнению с генотипами 5A/6A и 6A/6A [30]. Промотор MMP-3 содержит SIRE-сайт (stromelysin IL-1 responsive element), который является репрессорным элементом и сайтом связывания транскрипционных факторов, индуцируемых IL-1. Согласно результатам исследований, полиморфизм -1612(5A/6A) не связан с частотой заболеваний височно-нижнечелюстного сустава в турецкой популяции [28,29]. Авторы [30] предполагают, что NF- κ B действует как репрессор через SIRE-сайт промотора MMP-3, таким образом играя важнейшую роль в проявлении полиморфизма гена *in vivo*.

Известно большое количество полиморфизмов в гене MMP-9 (желатиназы B), при этом два важнейших – в промоторе гена [31]. Первый – это (CA) $_n$ -микросателлитный полиморфизм -90(CA)13-25 (rs3222264); второй – точечная замена нуклеотида -1562C/T (rs3918242). MMP-9 обладает протеолитической активностью в отношении коллагена IV типа, основного компонента базальной мембраны. Была показана ассоциация полиморфизма -1562C/T с тяжестью коронарного атеросклероза и некоторых других сердечно-сосудистых патологий [31], но не суставных заболеваний. Удалось показать, что одно-

нуклеотидный полиморфизм -82G/A промотора гена MMP12 (rs2276109) – макрофагальной металлоэстеразы – является маркером повышенного риска развития коронарной болезни сердца, диабета, а также системного склероза.

MMP-13, или коллагеназа 3, – это фермент, который преимущественно экспрессируется суставными хондроцитами и расщепляет в первую очередь коллаген II типа. MMP-13 играет ключевую роль в деградации хряща, поскольку очень многие катаболические пути повышают активность MMP-13 в хряще.

Существует тонкая субстратная специфичность ферментов класса металлопротеиназ: так, MMP-13 имеет в 5-10 раз большую активность в отношении коллагена II типа, чем MMP-1 [6]. Продукция коллагеназ (в том числе MMP-13, MMP-1) и простагландина E2 (в результате работы циклооксигеназы-2, COX-2) в хондроцитах усиливается под действием провоспалительных цитокинов (например, IL-1), что наблюдается при развитии ОА, и блокируется ингибиторами p38-протеинкиназы. Интересно, что полиморфизмы гена COX-2 также связаны с повышенным риском возникновения ОА коленного и тазобедренного суставов: так, промотор гена COX-2 имеет однонуклеотидный полиморфизм 765G/C (rs20417), при этом аллель C ассоциирован с низким, а G – с более высоким риском развития ОА [32].

Исследование атеросклеротических бляшек привело к открытию двух полиморфных вариантов в промоторе гена MMP-13. Первый полиморфизм – инсерция дополнительного аденинового остатка -291 (11A/12A). Второй полиморфизм – транзиция -77G/A в регуляторном элементе промотора (rs17860523). Интересные исследования *in vitro* были проведены авторами [28]. Согласно их данным, наличие эстрогеновых рецепторов типа ER- α повышало экспрессионную активность всех перечисленных полиморфных вариантов MMP-13 (12AA, 12AG, 11AA, 11AG), и добавление эстрогенового лиганда 17- β эстрадиола не влияло на экспрессию. Однако при наличии рецепторов типа ER- β экспрессия всех вариантов повышалась в отсутствие данного лиганда и снижалась при его внесении. Эти результаты могут иметь отношение к изменению функций суставов и целостности кости, ведущим к развитию ОА или остеопороза в группе женщин менопаузального периода.

Обнаружен перспективный факт: цитокин-подобный пептид-гормон белой жировой ткани лептин контролирует активность MMP-13 в хондроцитах [33]. При этом экспрессия лептина (ген *ob*) при ОА может регулироваться посредством эпигенетических механизмов (например, метилированием ДНК, модификациями гистонов). Так, в нормальных хондроцитах ген лептина метилирован, и данный белок практически не производится, а в хондроцитах при ОА ген имеет низкие уровни метилирования, и белок продуцируется значительно. Изменяется также и характер ацетилирования гистонов в промоторном регионе гена. Далее, эти же авторы установили, что введение siРНК (малых интерферирующих РНК), взаимодействующих с геном лептина, в хондроциты с помощью липосом, снижает экспрессию MMP-13 при ОА и не влияет на другие металлопротеиназы [33, рис. 2]. Такая специфичность представляет возможный терапевтический потенциал использования siРНК, мишенью которых является ген лептина, для лечения ОА.

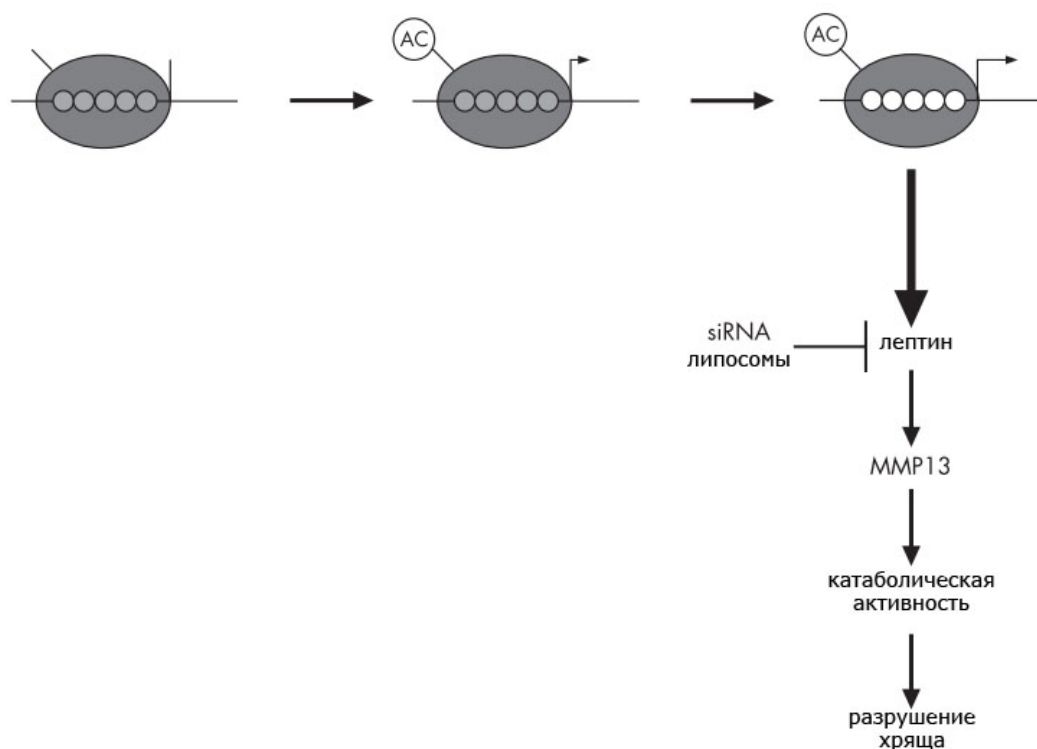


Рис. 2. Модель эпигенетической и siРНК-модуляции экспрессии в хондроцитах. В норме ген может «молчать» вследствие метилирования ДНК (серые круги) или деацетилирования гистонов. Когда гистоны в области промотора ацетируются, хроматин «открывается», и происходит экспрессия генов. В дополнение гипометилирование ДНК (белые круги) вносит вклад в повышение экспрессии. Так, высокая экспрессия лептина в хондроцитах при ОА индуцирует сигнальные пути и особенно катаболическую активность. Уровень MMP-13 повышается, приводя к деструкции хряща. Ингибирование экспрессии MMP-13 с помощью siРНК, мишенью которых является ген лептина, в составе липосом предотвращает деградацию хряща. [33].

Регуляция активности MMP опосредуется специфическими тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (TIMP). В отличие от других эндогенных ингибиторов MMP, TIMP ингибируют MMP специфично и производятся теми же клетками, которые продуцируют MMP [6]. На настоящий момент идентифицировано 4 главных семейства TIMP (TIMP-1, -2, -3, -4). Ингибируя MMP-мишень, TIMP нековалентно связывается с ней в стехиометрическом соотношении 1:1. Экспрессия TIMP-1 в клетках соединительных тканей регулируется цитокинами и факторами роста. Экспрессию TIMP-1 индуцируют такие факторы, как TGF β , IL-6, IL-11 и другие.

Существуют свидетельства того, что нарушение баланса между активированными матриксными протеиназами и TIMP играет важную роль в разрушении и ремоделировании суставного хряща у пациентов с артропатологиями. Баланс между количествами MMP и TIMP в синовиальной жидкости и прилегающих тканях может быть мерой повреждения хрящевого матрикса в результате деятельности матриксных металлопротеиназ.

Группа Lee H.J. et al. изучала роль полиморфизмов генов TIMP-2 и TIMP-4 в развитии риска ОА в корейской популяции [34]. TIMP-2 связывается с про MMP-2 через гемопексиновый домен последней и ингибирует ее активацию с помощью MT-MMP-1 (MMP мембранного типа). TIMP-4 – это член семейства генов TIMP, идентифицированный позже остальных, ингибирует основные матриксные металлопротеиназы, вовлеченные в развитие артрит-

та, в частности, как и TIMP-2, связывает MMP-2. Удалось показать роль полиморфизма C/T в 3'-нетранслируемом регионе (rs17035945) гена TIMP-4, но не полиморфизма A/G (rs2277698) гена TIMP-2 в развитии ОА в корейской популяции [34]. Механизм влияния названного полиморфизма C/T гена TIMP-4 основывается на том, что он изменяет правильный фолдинг мРНК: при экспрессии гена с C-аллелем образуются новые структуры РНК типа стебель-петля, которые могут являться сайтами взаимодействия с РНК-связывающими белками. Кроме того, в результате полногеномного поиска ассоциаций был найден полиморфизм G/A в интроне гена TIMP-2 (rs4789934), который являлся маркером предрасположенности к ОА в корейской популяции (аллель G способствовал повышенному риску возникновения патологии).

Синовиальное воспаление, как один из важнейших факторов патогенеза ОА, опосредуется цитокинами; существуют убедительные свидетельства того, что хондроциты вносят свой вклад в продукцию цитокинов, приводя к деградации матрикса хряща; кроме того, установлено, что множество полиморфизмов в генах, кодирующих цитокины (особенно кластер генов IL-1, IL-6, IL-10) ассоциированы с повышенным риском развития ОА [12]. Хондроциты отвечают на воздействие IL-1 α , IL-1 β уменьшением синтеза компонентов матрикса и увеличением синтеза матриксных металлопротеиназ. Антагонист рецептора IL-1 может препятствовать эффектам IL-1 α и IL-1 β . Очень многие исследования пытаются оценить роль



полиморфизмов гена IL-1 в развитии ОА коленного или бедренного суставов, но результаты зачастую противоречивы.

IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra (антагонист рецептора IL-1) и два рецептора IL-1, тип 1 и 2 (IL-1RI, IL-1RII) кодируются единым кластером генов (соответственно гены IL1A, IL1B, IL1RN, IL1R1, IL1R2), локализованными на хромосоме 2 [35]. Группа [35] установила сцепление между девятью полиморфными локусами в промоторе гена IL1, R1, восемью локусами в генном комплексе IL1A-IL1B-IL1RN, и их ассоциацию с ОА коленного сустава. Исследование британских популяций показало, что один из распространенных гаплотипов кластера IL1A-IL1B-IL1RN в 2-4 раза повышает риск развития ОА (2C-CTG-1TT); другой (протективный) – в 4-5 раз его снижает (CCA-1TT). С другой стороны, мета-анализ результатов нескольких исследований, проведенный группой [36], не показал влияния различных гаплотипов кластера IL-1 на риск развития гонартроза (ОА коленного сустава).

Что касается роли эпигенетических изменений при ОА, то известно лишь довольно ограниченное количество исследований по этой теме [5]. Эпигенетические изменения – это наследуемые изменения генной экспрессии (в ряду поколения клетки или даже организма) или стабильные длительные изменения транскрипционного потенциала, которые не обязательно наследуются (US National Institutes of Health, 2009). Эпигенетические изменения не затрагивают первичную последовательность нуклеотидов ДНК. Эпигенетические изменения включают: ДНК-метилирование, посттрансляционные модификации гистонов и негистоновых белков, ремоделирование хроматина, изменения экспрессии с помощью микроРНК и др.

ДНК-метилирование – это присоединение метильной группы к остатку цитозина внутри CpG-динуклеотида; катализируется ферментами ДНК-метилтрансферазами DNMT1, DNMT3A, DNMT3B и приводит к транскрипционной репрессии. CpG-динуклеотиды концентрируются внутри так называемых CpG-островков и локализируются в промоторах множества генов [5]. Некоторые авторы сообщают о гипометилировании специфических CpG-

сайтов в промоторах генов, кодирующих определенные металлопротеиназы (MMP-9, MMP-13, ADAMTS4), и это гипометилирование ведет к увеличенной экспрессии этих ферментов в хондроцитах на поздних стадиях ОА [37]. При этом клетки, экспрессирующие эти ферменты («деградирующие хондроциты»), располагаются в регионах истощения протеогликанов, т.е. в поверхностной зоне хряща на ранних стадиях ОА или во всем тонком волокнистом хряще на поздних стадиях ОА, особенно в типичных кластерах хондроцитов [37]. Исследования показывают, что промотор гена SOD2 (митохондриальная супероксиддисмутаза) характеризуется значительными изменениями паттерна ДНК-метилирования в хряще при ОА в сторону общего увеличения количества метилированных CpG-сайтов, что может значительно снизить уровень экспрессии этого антиоксидантного фермента и усугублять состояние окислительного стресса, типичного в случае данной артропатологии [38]. Интересно, что точечный полиморфизм C/T, в белке Pro199 Leu (rs1050450) другого антиоксидантного фермента – глутатионпероксидазы-1 – тесно ассоциирован с эндемичной болезнью Кашина–Бека (системный ОА, сопровождающийся деформацией скелета) [39]. При этом патологический аллель способствует значительному снижению активности глутатионпероксидазы-1.

Важна также роль эпигенетических модификаций гистонов при ОА; стоит отметить интересную работу группы Mansouri F.E.E. et al. [40], которой удалось показать, что индукция экспрессии iNOS (индуцибельной NO-синтазы) и COX-2 (циклооксигеназы-2) интерлейкином-1 в культивируемых хондроцитах сопровождается увеличением H3K4 ди- и триметилирования в промоторах генов iNOS и COX-2. Метилирование гистона H3 в лизиновом остатке K4 – это метка транскрипционно активного хроматина [5]. При этом увеличение экспрессии перечисленных ферментов коррелировало с перемещением гистоновой метилтрансферазы SET-1A к промоторам данных генов. Таким образом, этот путь может быть потенциальной мишенью терапевтического вмешательства для лечения ОА и, возможно, других артропатологий [40].

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
2. Krasnokutsky S., Attur M., Palmer G. et al. Current concepts in the pathogenesis of osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2008. Vol. 16. S1-S3.
3. Valdes A.M., Hart D.J., Jones K.A. et al. Association study of candidate genes for the prevalence and progression of knee osteoarthritis // *Arthritis Rheum*. 2004. Vol. 50. P. 2497-507.
4. Valdes A.M., Doherty M., Spector T.D. The additive effect of individual genes in predicting risk of knee osteoarthritis // *Ann. Rheum. Dis*. 2008. Vol. 67. P. 124-127.
5. Reynard L.N., Louhlin J. Genetics and epigenetics of osteoarthritis // *Maturitas*. 2012. Vol. 71. No. 3. P. 200-204.
6. Burrage P.S., Mix K.S., Brinckerhoff C.E. Matrix metalloproteinases: Role in arthritis // *Front. Biosci*. 2006. Vol. 11. P. 529-543.
7. Khan I.M., Redman S.N., Williams R. et al. The development of synovial joints // *Curr. Top. Dev. Biol*. 2007. Vol. 79. P. 1-36.
8. Valdes A.M., Doherty S., Muir K.R. et al. Genetic contribution to radiographic severity in osteoarthritis of the knee // *Ann. Rheum. Dis*. 2012. Vol. 71. No. 9. P. 1537-1540.
9. Kerkhof H.J.M., Lories R.J., Meulenbelt I. et al. A genome-wide association study identifies an osteoarthritis susceptibility locus on chromosome 7q22 // *Arthritis Rheum*. 2010. Vol. 62. No. 2. P. 499-510.
10. Evangelou E., Valdes A.M., Kerkhof H.J.M. Meta-analyses of genome-wide association studies confirms a susceptibility locus for knee osteoarthritis on chromosome 7q22 // *Ann. Rheum. Dis*. 2011. Vol. 70. P. 349-355.
11. Panoutsopoulou K., Southam L., Elliott K.S. et al. Insights into the genetic architecture of osteoarthritis from stage 1 of the arcOGEN study // *Ann. Rheum. Dis*. 2011. Vol. 70. P. 864-867.
12. Valdes A.M., Spector T.D. The clinical relevance of genetic susceptibility to osteoarthritis // *Best Pract. Res. Clin. Rh*. 2010. Vol. 24. P. 3-14.
13. Lee Y.H., Rho Y.H., Choi S.J. et al. Osteoarthritis susceptibility loci defined by genome scan meta-analysis // *Rheumatol. Int*. 2006. Vol. 26. No. 11. P. 996-1000.



14. Peach C.A., Carr A.J., Loughlin J. Recent advances in the genetic investigation of osteoarthritis // *Trends Mol. Med.* 2005. Vol. 11. No. 4. P. 186-191;
15. Kerkhof J.M., Uitterlinden A.G., Valdes A.M. et al. Radiographic osteoarthritis at three joint sites and FRZB, LRP5 and LRP6 polymorphisms in two population-based cohorts // *Osteoarthr. Cartil.* 2008. Vol. 16. P. 1141-1149.
16. Loughlin J., Dowling B., Chapman K. et al. Functional variants within the secreted frizzled-related protein 3 gene are associated with hip osteoarthritis in females // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101. No. 26. P. 9757-62.
17. Rodriguez-Lopez J., Pombo-Suarez M., Liz M. et al. Further evidence of the role of frizzled-related protein gene polymorphisms in osteoarthritis // *Ann. Rheum. Dis.* 2007. Vol. 66. P. 1052-1055.
18. Forster T., Chapman K., Loughlin J. Common variants within the interleukin 4 receptor α gene (IL4R) are associated with susceptibility to osteoarthritis // *Hum. Genet.* 2004. Vol. 114. P. 391-395.
19. Valdes A.M., Hart D.J., Jones K.A. et al. Association study of candidate genes for the prevalence and progression of knee osteoarthritis // *Arthritis Rheum.* 2004. Vol. 50. No. 8. P. 2497-2507.
20. Parks W.C., Wilson C.L., Lopez-Boado Y.S. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity // *Nat. Rev. Immunol.* 2004. Vol. 4. P. 617-629.
21. Yoshihara Y., Nakamura H., Obata K. et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis // *Ann. Rheum. Dis.* 2000. Vol. 59. P. 455-461.
22. Chen Y., Nixon N.B., Dawes P.T., Matthey D.L. Influences of variations across the MMP-1 and MMP-3 genes on the serum levels of MMP-1 and -3 and disease activity in rheumatoid arthritis // *Genes Immun.* 2012. Vol. 13. P. 29-37.
23. Valdes A.M., Spector T.D., Tamm A. et al. Genetic variation in the SMAD3 gene is associated with hip and knee osteoarthritis // *Arthritis Rheum.* 2010. Vol. 62. No. 8. P. 2347-2352.
24. Rutter J.L., Mitchell T.I., Buttice G. et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58. P. 5321-5325.
25. Malik M.H.A., Jury F., Bayat A. et al. Genetic susceptibility to total hip arthroplasty failure: a preliminary study on the influence of matrix metalloproteinase 1, interleukin 6 polymorphisms and vitamin D receptor // *Ann. Rheum. Dis.* 2007. Vol. 66. P. 1116-1120.
26. Taskin N., Ulucan K., Degin K. et al. Investigation of the MMP1 and MMP3 promoter polymorphisms in temporomandibular joint disorder // *J. Cell Mol. Biol.* 2011. Vol. 9. No. 1. P. 63-68.
27. Planello A.C., Campos M.I.G., Meloto C.B. et al. Association of matrix metalloproteinase gene polymorphism with temporomandibular joint generation // *Eur. J. Oral Sci.* 2011. Vol. 119. P. 1-6.
28. Achari Y., Lu T., Hart D.A. Polymorphisms in the promoter regions for human MMP-1 and MMP-13 lead to differential responses to the alpha and beta isoforms of estrogen receptor and their ligand in vitro // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease.* 2008. Vol. 1782. No. 6. P. 391-400.
29. Riancho J.A., Garcia-Ibarbia C., Gravani A. et al. Common variations in estrogen-related genes are associated with severe large-joint osteoarthritis: a multicenter genetic and functional study // *Osteoarthr. Cartil.* 2010. Vol. 18. P. 927-933.
30. Borghaei R.C., Gorski G., Javadi M. et al. NF- κ B and ZBP-89 regulate MMP-3 expression via a polymorphic site in the promoter // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. Vol. 382. No. 2. P. 269-273.
31. Ye S. Polymorphism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases // *Matrix Biol.* 2000. Vol. 19. P. 623-629.
32. Schneider E.M., Du W., Fiedler J. et al. The (-765 G $\rightarrow$ C) promoter variant of the COX-2/PTGS2 gene is associated with a lower risk for end-stage hip and knee osteoarthritis // *Ann. Rheum. Dis.* 2011. Vol. 70. P. 1458-1460.
33. Iliopoulos D., Malizos K.N., Tsezou A. Epigenetic regulation of leptin affects MMP-13 expression in osteoarthritic chondrocytes: possible molecular target for osteoarthritic therapeutic intervention // *Ann. Rheum. Dis.* 2007. Vol. 66. P. 1616-1621.
34. Lee H.J., Lee G.H., Nah S. et al. Association of TIMP-4 gene polymorphism with the risk of osteoarthritis in the Korean population // *Rheumatol. Int.* 2008. Vol. 28. No. 9. P. 845-50.
35. Smith A.J.P., Keen L.J., Billingham M.J. et al. Extended haplotypes and linkage disequilibrium in the IL1R1-IL-1A-IL-1B-IL-1RN gene cluster // *Genes Immun.* 2004. Vol. 5. P. 451-460.
36. Moxley G., Meulenbelt I., Chapman K. et al. Interleukin-1 region met-analysis with osteoarthritis phenotypes // *Osteoarthr. Cartil.* 2009. Vol. 18. P. 200-207.
37. Roach M.I., Yamanda N., Cheung K.S. et al. Association between the abnormal expression of matrix degrading enzymes by human osteoarthritic chondrocytes and demethylation of specific CpG sites in the promoter regions // *Arthritis Rheum.* 2005. Vol. 52. P. 3110-24.
38. Scott J.L., Gabrielides C., Davidson R.K. et al. Superoxide dismutase downregulation in osteoarthritis progression and end-stage disease // *Ann. Rheum. Dis.* 2010. Vol. 69. P. 1502-1510.
39. Xiong Y.M., Zou X.Z., Song R.X. et al. Association study between polymorphisms in selenoprotein genes and susceptibility to Kashin-Beck disease // *Osteoarthr. Cartil.* 2010. Vol. 18. No. 6. P. 817-24.
40. Mansouri F.E.E., Chabane N., Zayed N. et al. Contribution of H3K4 methylation by SET-1A to interleukin-1-induced cyclooxygenase 2 and inducible nitric oxide synthase expression in human osteoarthritic chondrocytes // *Arthritis Rheum.* 2011. Vol. 63. No. 1. P. 168-179.

ПОСТУПИЛА 20.12.2013