

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ COL1A1, MMP12, EPHX1 ПРИ ОСТЕОАРТРИТЕ И КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ КОМОРБИДНОСТИ

М. А. Кабалык — ФГБОУ ВО «Тихоокеанский ГМУ» Минздрава России, ассистент института терапии и инструментальной диагностики, кандидат медицинских наук; **В. А. Невзорова** — ФГБОУ ВО «Тихоокеанский ГМУ» Минздрава России, директор института терапии и инструментальной диагностики, профессор, доктор медицинских наук; **А. Б. Суняйкин** — ФГБОУ ВО «Тихоокеанский ГМУ» Минздрава России, лаборант научно-исследовательской лаборатории.

THE ROLE OF POLYMORPHISM OF THE GENES COL1A1, MMP12, EPHX1 IN OSTEOARTHRITIS AND CARDIOVASCULAR COMORBIDITY

M. A. Kabalyk — Pacific State Medical University, Institute of Therapy and Instrumental Diagnostics, Assistant, Candidate of Medical Sciences; **V. A. Nevzorova** — Pacific State Medical University, Director of Institute of Therapy and Instrumental Diagnostics, Professor, Doctor of Medical Sciences; **A. B. Sunyaykin** — Pacific State Medical University, Central Research Laboratory, Laboratory Assistant.

Дата поступления — 29.05.2018 г.

Дата принятия в печать — 16.08.2018 г.

Кабалык М. А., Невзорова В. А., Суняйкин А. Б. Роль полиморфизма генов COL1A1, MMP12, EPHX1 при остеоартрите и сердечно-сосудистой коморбидности. Саратовский научно-медицинский журнал 2018; 14 (3): 373–379.

Цель: анализ полиморфных вариантов генов соединительнотканного ремоделирования, биотрансформации и их роли в развитии сердечно-сосудистой коморбидности и остеоартрита (ОА). **Материал и методы.** В исследование включены 70 пациентов с ОА. В качестве группы сравнения в исследовании участвовали 30 больных без ОА, сопоставимых по полу и возрасту. У всех больных оценивали суммарный (абсолютный) сердечно-сосудистый риск по шкале SCORE. Боль оценивали по визуальной аналоговой шкале, физическую дисфункцию — по шкале WOMAC. Генетический материал получали из лейкоцитов периферической крови. Исследовали однонуклеотидные полиморфизмы генов COL1A1 (rs1107946), EPHX1 (rs1051740), MMP12 (rs652438) с помощью ПЦР-РВ. **Результаты.** У больных ОА наблюдается двукратное увеличение частоты гетерозиготного генотипа GT гена COL1A1. У больных ОА отмечается четырехкратное увеличение частоты генотипа AG гена MMP12. Группа пациентов с сильной болью значительно отличается по распределению частот аллелей полиморфного локуса G1997T гена COL1A1 от группы сравнения. Больные ОА с выраженной болью значительно отличаются по распределению частот генотипов полиморфного локуса Tg113His гена EPHX1. Частоты гетерозиготных генотипов COL1A1 и MMP12 значительно различались у пациентов с разным сердечно-сосудистым риском. **Заключение.** Полученные результаты отчасти подтверждают интеграционную теорию патогенеза ОА, свидетельствуют о наличии общих механизмов соединительнотканного ремоделирования.

Ключевые слова: остеоартрит, остеоартроз, коморбидность, COL1A1, MMP12, EPHX1.

Kabalyk MA, Nevzorova VA, Sunyaykin AB. The role of polymorphism of the genes COL1A1, MMP12, EPHX1 in osteoarthritis and cardiovascular comorbidity. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2018; 14 (3): 373–379.

Aim: to analyze polymorphic variants of genes of connective tissue remodeling, biotransformation and their role in the development of cardiovascular comorbidity and osteoarthritis (OA). **Material and Methods.** The study included 70 patients with OA. As a control group, 30 patients without OA of comparable sex and age were included in the study. All patients were assessed total (absolute) cardiovascular risk according to the SCORE scale. The pain was assessed by visual analog pain scale. The physical dysfunction was assessed on a WOMAC scale. Single-nucleotide polymorphisms of the genes COL1A1 (rs1107946), EPHX1 (rs1051740), MMP12 (rs652438) were studied by PCR-RT. **Results.** In patients with OA, there is a twofold increase in the frequency of the heterozygous genotype of the GT gene COL1A1. The presence of the T allele of the COL1A1 gene is a risk factor for the development of OA. Patients with OA have a fourfold increase in the frequency of genotype AG of the MMP12 gene. The patients with severe pain significantly present the difference in the distribution of allele frequencies of the polymorphic locus G1997T of the COL1A1 gene from the control sample. The frequencies of heterozygous genotypes COL1A1 and MMP12 differed significantly in patients with different cardiovascular risk. **Conclusion.** The results partially confirm the integration theory of the pathogenesis of OA, suggest the existence of general mechanisms of connective tissue remodeling.

Key words: osteoarthritis, comorbidity, COL1A1, MMP12, EPHX1.

Введение. Остеоартрит (ОА) — гетерогенная группа дегенеративно-воспалительных заболеваний, при которых в результате клеточного стресса и реакций неадаптивной регенерации поражаются синовиальные суставы [1]. Современная концепция патогенеза данного заболевания рассматривает коморбидные факторы в качестве триггеров дегенеративного процесса в суставах. Наиболее часто ОА ассоциирован с сердечно-сосудистой патологией [2]. Предполагается, что сердечно-сосудистые факторы, включая системное сосудистое ремоделирование, атеросклероз, артериальную гипертензию и дислипидемию, запускают реакции неадаптивной репарации в суставном хряще и субхондральной кости [3].

Имеются данные, указывающие на общие молекулярные механизмы ОА и сердечно-сосудистых забо-

леваний. Известна роль сериновых протеаз в деградации тканей суставов при ОА и ремоделировании соединительнотканного матрикса сосудов в рамках сердечно-сосудистого континуума [4]. Так, матриксная металлопротеиназа 12 (MMP12) является непосредственным участником деградации суставного хряща и субхондральной кости [5]. Экспрессия гена MMP12 существенно повышается в синовиальной оболочке и суставном хряще при ОА [6]. Однако нет данных о роли полиморфизма гена MMP12 в развитии дегенеративно-воспалительного процесса в суставах. Нет убедительных данных о факторах, способствующих экспрессии матриксных металлопротеиназ в тканях суставов при ОА. Вместе с тем известна роль полиморфизма MMP12 в развитии ишемической болезни сердца [7, 8]. Эти данные косвенно свидетельствуют об интегральной роли матриксных металлопротеиназ в формировании сердечно-сосудистой коморбидности при ОА.

Ответственный автор — Кабалык Максим Александрович
Тел.: +7 (964) 4397927
E-mail: maxi_maxim@mail.ru

Коллаген I типа является наиболее распространенным белком межклеточного вещества соединительной ткани [9]. Наибольшая его концентрация обнаружена в костной ткани, сосудистой стенке [10]. Молекула коллагена состоит из двух альфа-1 и альфа-2 цепей, которые в процессе посттрансляционной модификации складываются в тройную высокоорганизованную спираль [11]. Мутации в гене коллагена I типа и его альфа-1-цепи (*COL1A1*) ассоциированы с остеопорозом, остеоартритом [12] и сердечно-сосудистыми заболеваниями [13], поскольку приводят к нарушению физико-химических свойств фибрилл коллагена [14]. В 2002 г. Garcia-Giralt N. и соавт. идентифицировали однонуклеотидный полиморфизм промоторной области *COL1A1*-1997G/T (rs1107946) и установили, что T-аллель ассоциирована со сниженной плотностью костной ткани поясничного отдела позвоночника [15]. В последующих исследованиях показано, что G-аллель и GG-полиморфизм -1997G/T связаны с высокими показателями костной плотности [16, 17]. Особое внимание заслуживает тот факт, что при остеоартрите наблюдается увеличение массы субхондральной кости, что может быть связано с генетическими аномалиями *COL1A1*-1997G/T. Однако генетические аспекты костного ремоделирования при ОА остаются недостаточно изученными. Есть основания предполагать, что мутации гена *COL1A1* могут быть общими в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и ОА. Так, доказано, что мутация гена *COL1A1* приводит к синтезу дефектного белка, снижающего продолжительность жизни гладких мышечных клеток сосудов, способствуя ускоренному сосудистому старению за счет стресс-индуцированной гиперактивации бета-галактозидазы [13].

Микросомальная эпоксидгидролаза — чрезвычайно важный метаболический фермент биотрансформации, который катализирует гидролиз ароматических углеводов и аминов [18]. Известны полиморфные участки гена *EPHX1*, расположенные на 1q42 хромосоме, оказывающие влияние на активность микросомальной эпоксидгидролазы [29]. Показана роль полиморфизма гена *EPHX1* в развитии хронической обструктивной болезни легких, некоторых видов рака [21]. *EPHX1* участвует в ремоделировании миокарда путем метаболизма эпоксижасминовых кислот с образованием дигидроксижасминовых кислот [21]. Кроме того, установлена высокая экспрессия эпоксидгидролазы клетками синовиальной оболочки при ревматоидном артрите и остеоартрите [22, 23]. Таким образом, данный фермент принимает участие в гидролизе эпоксидных метаболитов эндо- и ксенобиотиков. Однако значение полиморфизмов гена *EPHX1* остается неизученным при ОА и сердечно-сосудистых заболеваниях.

Цель: анализ полиморфных вариантов генов соединительнотканного ремоделирования, биотрансформации и их роли в развитии сердечно-сосудистой коморбидности и остеоартрита.

Материал и методы. В исследование включены 70 пациентов с ОА. Среди них 58 женщин (82,9%). Диагноз ОА соответствовал критериям Американской коллегии ревматологов (ACR) 1991 г. Суммарный (абсолютный) кардиоваскулярный риск оценивали по шкале SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) на основании оценки уровня общего холестерина, систолического артериального давления, возраста, пола и факта курения. Поскольку все пациенты с ОА, включенные в исследование, имели более чем 5%-ный суммарный сердечно-сосуди-

стый риск, градацию проводили следующим образом: 6–10% соответствовали высокому риску, 11% и более свидетельствовали об очень высоком риске. Больных, принесших в прошлом инфаркт миокарда, нарушение мозгового кровообращения, транзиторную ишемическую атаку, имеющих сахарный диабет, ишемическую болезнь сердца, относили к категории очень высокого риска сердечно-сосудистых событий. Боль оценивали по визуальной (цифровой) аналоговой шкале боли (ВАШ). По уровню боли больных условно разделяли на две группы: умеренная боль (1–5 см из 10); выраженная боль (6–10 см из 10). Физическую дисфункцию оценивали по шкале WOMAC (The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index). По этому параметру больных разделяли на две подгруппы: умеренная дисфункция (при сумме баллов от 1 до 120); выраженная дисфункция (121 балл и выше). В качестве группы сравнения в исследование включены 30 больных без ОА, сопоставимых по полу и возрасту. Все пациенты проживают в Приморском крае и являются этнически русскими. Клинико-лабораторное описание групп пациентов представлено в табл. 1. Исследование одобрено междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России. Все пациенты давали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Генетический материал получали из лейкоцитов периферической крови с помощью выделения ДНК колоночным методом с использованием реактивов «К-Сорб» («Синтол», Россия) в соответствии с инструкцией изготовителя. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP: single nucleotide polymorphism) генов *COL1A1* (rs1107946), *EPHX1* (rs1051740), *MMP12* (rs652438) исследовали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием интеркалирующего красителя и примеров («Синтол», Россия) согласно инструкции изготовителя. Реакцию ПЦР-РВ проводили с использованием термоциклера (амплификатора) PikoReal 96 («Thermo Scientific», Финляндия).

Математическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием статистической программы Statistica 6.0. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди — Вайнберга. Достоверность различий в распределении частот аллелей, генотипов и фенотипов между группами определяли по критерию χ^2 с коррекцией Йетса. В случае попарного сравнения выборок по частоте одного признака использовали точный критерий Фишера. При статистическом анализе результатов определяли частоту встречаемости генотипов, отношение шансов (ОШ), 95%-ный доверительный интервал (ДИ95%). Вычисление ОШ проводили по методу Вульфа — Холдейна.

Результаты. В ходе исследования нами проанализированы полиморфизмы генов соединительнотканного ремоделирования (*COL1A1*, *MMP12*) и первой фазы биотрансформации ксенобиотиков (*EPHX1*) в общей выборке больных с ОА и группе сравнения (табл. 2), а также у больных с различной этиологией заболевания.

По локусам G1997T гена *COL1A1*, Asn356Ser гена *MMP12*, Tyr113His гена *EPHX1* отклонения от равновесия Харди — Вайнберга в изученных группах больных и здоровых индивидов обнаружено не было.

Показано, что группа больных ОА статистически значимо отличается по распределению частот алле-

Таблица 1

Характеристика групп обследуемых

Параметр	Остеоартрит (n=70)	Группа сравнения (n=30)
Возраст, годы, Ме [25%; 75%]	63,1 [55,4; 76,8]	59,4 [51,1; 72,8]
Женщины, n (%)	56 (80%)	20 (70%)
Длительность остеоартрита, годы, Ме [25%; 75%]	8 [5; 10]	–
Длительность анамнеза сердечно-сосудистых заболеваний, годы, Ме [25%; 75%]	10 [6; 20]	8 [4; 15]
Артериальная гипертония, n (%)	62 (88,6%)	14 (46,7%)
Максимальное систолическое артериальное давление, мм рт.ст., Ме [25%; 75%]	175 [165; 210]	155 [145; 165]
Инфаркт миокарда / нарушение мозгового кровообращения, n (%)	13 (18,9%)	2 (6,7%)
Низкий риск, n (%)	0	2 (6,7%)
Средний риск, n (%)	0	9 (30,0%)
Высокий риск, n (%)	37 (52,9%)	7 (60,0%)
Очень высокий риск, n (%)	33 (47,1%)	7 (23,3%)
Уровень боли по ВАШ, мм, Ме [25%; 75%]	5 [4; 6]	–
Физическая функция по WOMAC, баллы, Ме [25%; 75%]	97 [73; 152]	–

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов *COL1A1*, *MMP12*, *EPHX1* у больных остеоартритом и в группе сравнения

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов, n (%)		ОШ (95%ДИ)	p (χ^2)
	Остеоартрит (n=70)	Группа сравнения (n=30)		
<i>COL1A1</i> G1997T				
GG	33 (47,1)	21 (70,1) *	0,38 (0,15–0,95)	0,03 (4,52)
GT	23 (32,9)	5 (16,6) *	2,45 (0,83–7,22)	0,02 (4,69)
TT	14 (20,0)	4 (13,3)	1,62 (0,49–5,42)	0,4 (0,66)
G	89 (56,4)	47 (78,3) *	0,48 (0,24–0,98)	0,03 (4,39)
T	51 (43,6)	13 (21,7)	2,07 (1,02–4,19)	0,03 (4,39)
<i>MMP12</i> Asn356Ser				
AA	23 (32,9)	18 (60,0) *	0,33 (0,13–0,79)	0,01 (6,35)
AG	42 (60,0)	8 (26,7) *	4,12 (1,61–10,56)	0,002 (9,61)
GG	5 (7,1)	4 (13,3)	0,50 (0,12–2,01)	0,3 (0,92)
A	88 (61,1)	44 (13,3)	0,61 (0,31–1,19)	0,15 (2,11)
G	52 (38,9)	16 (26,7)	1,62 (0,83–3,17)	0,15 (2,11)
<i>EPHX1</i> Tyr113His				
TT	60 (85,7)	28 (93,3)	0,43 (0,09–2,09)	0,3 (1,31)
TC	6 (8,6)	2 (6,7)	1,31 (0,25–6,91)	0,7 (0,11)
CC	4 (5,7)	0 (0)	–	1,0 (0,01)
T	124 (88,6)	58 (96,7)	0,55 (0,12–2,55)	0,05 (3,97)
C	16 (11,4)	2 (3,3)	1,81 (0,39–8,31)	0,04 (3,97)

лей полиморфного локуса G1997T гена *COL1A1* от группы сравнения ($\chi^2=4,39$, $p=0,03$). Это обусловлено высокой частотой гомозиготного генотипа GG в группе сравнения (47,1% против 70,1%, $\chi^2=4,52$, $p=0,03$). У больных ОА наблюдается двукратное увеличение частоты гетерозиготного генотипа GT (39,2% против 16,6%, $\chi^2=4,69$, $p=0,02$). Таким образом, установлено, что присутствие аллеля T гена *COL1A1* является фактором риска развития остеоартрита (ОШ=2,1, 95%ДИ 1,02–4,19).

Установлено, что у больных ОА достоверно чаще встречается гетерозиготный генотип AG гена *MMP12* ($\chi^2=9,61$, $p=0,002$). У пациентов без ОА высока частота гомозиготного генотипа AA ($\chi^2=6,35$, $p=0,01$). Таким образом, у больных ОА отмечается четырехкратное увеличение частоты генотипа AG (ОШ=4,12, 95%ДИ 1,61–10,56), что может являться фактором развития ОА.

Распределение частот генотипов полиморфного локуса Tyr113His гена *EPHX1* в группах больных и

здоровых индивидов не имело статистически значимых различий.

Анализ частот генотипов и полиморфизмов изучаемых генов у больных остеоартритом в зависимости от уровня боли (табл. 3) показал, что группа пациентов с сильной болью по ВАШ статистически значимо отличается по распределению частот аллелей полиморфного локуса G1997T гена *COL1A1* от группы сравнения ($\chi^2=4,62$, $p=0,03$). Это обусловлено высокой частотой гомозиготного генотипа GG в группе больных с сильной болью (62,3% против 35,9% в группе с умеренной болью, $\chi^2=4,51$, $p=0,03$). Установлено, что присутствие аллеля G гена *COL1A1* является фактором риска развития сильной боли при ОА (ОШ=0,47, 95%ДИ 0,24–0,94).

Распределение частот генотипов полиморфного локуса Asn356Ser гена *MMP12* в группах больных в зависимости от уровня боли по ВАШ не имело статистически значимых различий.

Показано, что группа больных ОА с выраженной болью значимо отличается по распределению частот генотипов полиморфного локуса Tyr113His гена *EPHX1* от группы с умеренной болью. Это обусловлено высокой частотой гетерозиготного генотипа TC в группе больных с сильной болью (16,1% против 2,6%, $\chi^2=4,26$, $p=0,04$). Таким образом, присутствие аллеля C гена *EPHX1* является фактором риска развития сильной боли при ОА (ОШ=0,14, 95%ДИ 0,01–1,24).

Анализ частот генотипов и аллелей полиморфных локусов G1997T гена *COL1A1*, Tyr113His гена *EPHX1* в группах больных в зависимости от уровня физической дисфункции по WOMAC не показал статистически значимых различий (табл. 4). Однако установлено, что группа больных с выраженной дисфункцией

суставов статистически значимо отличается по распределению частот генотипов полиморфного локуса Asn356Ser гена *MMP12* от группы с умеренной дисфункцией, что было связано с высокой частотой гомозиготного генотипа AA во второй группе (48,3% против 21,9% в группе больных с умеренной дисфункцией, $\chi^2=5,32$, $p=0,02$). В группе пациентов с ОА, имевших умеренную дисфункцию суставов, отмечено двукратное увеличение частоты гетерозиготного генотипа AG (70,7% против 44,8%, $\chi^2=4,76$, $p=0,03$). Можно сделать вывод о том, что носительство генотипа AA локуса Asn356Ser гена *MMP12* является фактором риска выраженного функционального дефицита у больных ОА (ОШ=0,73, 95%ДИ 0,28–1,89).

Изучена частота генотипов и полиморфизмов генов соединительнотканного ремоделирования и биотрансформации у больных ОА в зависимости от сердечно-сосудистого риска (табл. 5). Частоты гетерозиготных генотипов *COL1A1* G1997T и *MMP12* Asn356Ser значимо различались у пациентов с разным кардиоваскулярным риском (соответственно: ОШ=0,33, 95%ДИ, 0,12–0,94; ОШ=3,24, 95%ДИ 1,19–8,79). Это обусловлено тем, что частота гомозиготного генотипа *COL1A1* G1997T в большей степени ассоциирована с высоким сердечно-сосудистым риском ($\chi^2=4,50$, $p=0,03$). Напротив, гетерозиготный вариант локуса Asn356Ser гена *MMP12* ($\chi^2=4,41$, $p=0,03$) и аллель A ассоциированы с низким кардиоваскулярным риском (ОШ=0,83, 95%ДИ, 0,42–1,65).

Обсуждение. Нами изучена роль полиморфных вариантов генов-кандидатов ремоделирования соединительной ткани *COL1A1*, *MMP12* и биотрансформации *EPHX1* в развитии остеоартрита, ассоциированного с кардиоваскулярной патологией. Определены генотипы, ассоциированные с риском

Таблица 3

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов *COL1A1*, *MMP12*, *EPHX1* у больных остеоартритом в зависимости от уровня боли

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов, n (%)		ОШ (95%ДИ)	p (χ^2)
	Умеренная боль (n=39)	Сильная боль (n=31)		
<i>COL1A1</i> G1997T				
GG	14 (35,9)	19 (62,3) *	0,38 (0,15–1,00)	0,03 (4,51)
GT	15 (35,9)	8 (29,0)	1,79 (0,64–5,04)	0,5 (0,37)
TT	10 (28,2)	4 (8,7)	2,33 (0,65–8,31)	0,1 (2,16)
G	42 (53,8)	47 (75,8) *	0,47 (0,24–0,94)	0,03 (4,62)
T	36 (46,2)	19 (24,2) *	2,12 (1,06–4,25)	0,03 (4,62)
<i>MMP12</i> Asn356Ser				
AA	13 (33,3)	10 (32,3)	1,05 (0,38–2,87)	1,0 (0,0)
AG	24 (61,5)	18 (58,1)	1,16 (0,44–3,02)	0,2 (1,40)
GG	2 (5,1)	3 (9,7)	0,50 (0,08–3,23)	0,5 (0,53)
A	50 (64,1)	38 (61,3)	1,13 (0,57–2,25)	0,6 (0,22)
G	28 (35,9)	24 (38,7)	0,89 (0,44–1,77)	0,6 (0,22)
<i>EPHX1</i> Tyr113His				
TT	36 (92,3)	24 (77,4)	3,50 (0,82–14,89)	0,1 (2,09)
TC	1 (2,6)	5 (16,1) *	0,14 (0,01–1,24)	0,04 (4,26)
CC	2 (5,1)	2 (6,5)	0,78 (0,10–5,90)	0,8 (0,08)
T	73 (93,5)	53 (85,5)	2,07 (0,69–6,16)	0,2 (1,74)
C	6 (6,4)	9 (14,5)	0,48 (0,16–1,44)	0,2 (1,74)

Таблица 4

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов *COL1A1*, *MMP12*, *EPHX1* у больных остеоартритом в зависимости от уровня функционального дефицита

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов, n (%)		ОШ (95%ДИ)	p (χ^2)
	Умеренная дисфункция (n=41)	Выраженная дисфункция (n=29)		
<i>COL1A1</i> G1997T				
GG	18 (43,9)	15 (51,7)	0,73 (0,28–1,89)	0,5 (0,42)
GT	15 (36,6)	8 (27,6)	2,21 (0,74–6,65)	0,4 (0,63)
TT	8 (19,5)	6 (20,7)	0,93 (0,28–3,04)	0,6 (0,22)
G	51 (51,3)	38 (65,5)	0,87 (0,43–1,75)	0,7 (0,16)
T	31 (48,7)	20 (34,5)	1,15 (0,57–2,33)	0,7 (0,16)
<i>MMP12</i> Asn356Ser				
AA	9 (21,9)	14 (48,3) *	0,30 (0,11–0,85)	0,02 (5,32)
AG	29 (70,7)	13 (44,8) *	2,97 (1,10–8,04)	0,03 (4,76)
GG	3 (7,4)	2 (6,9)	1,07 (0,17–6,82)	0,6 (0,15)
A	47 (57,3)	41 (70,7)	0,56 (0,27–1,14)	0,1 (2,64)
G	35 (42,7)	17 (29,3)	1,79 (0,88–3,67)	0,1 (2,64)
<i>EPHX1</i> Tyr113His				
TT	33 (80,5)	27 (93,2)	0,31 (0,06–1,56)	0,1 (2,39)
TC	5 (12,2)	1 (3,4)	3,89 (0,43–35,21)	0,2 (1,85)
CC	3 (7,3)	1 (3,4)	2,21 (0,22–22,39)	0,5 (0,50)
T	71 (86,6)	55 (94,8)	0,35 (0,09–1,32)	0,1 (2,76)
C	11 (13,4)	3 (5,2)	2,84 (0,75–10,68)	0,1 (2,76)

Таблица 5

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов *COL1A1*, *MMP12*, *EPHX1* у больных остеоартритом в зависимости от уровня сердечно-сосудистого риска

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов, n (%)		ОШ (95%ДИ)	p (χ^2)
	Средний риск (n=37)	Высокий риск (n=33)		
<i>COL1A1</i> G1997T				
GG	19 (51,4)	14 (42,4)	1,43 (0,56–3,68)	0,4 (0,56)
GT	8 (21,6)	15 (45,5) *	0,33 (0,12–0,94)	0,03 (4,50)
TT	10 (27,0)	4 (12,1)	2,68 (0,75–9,59)	0,1 (1,49)
G	46 (62,2)	43 (65,1)	0,88 (0,44–1,75)	0,7 (0,13)
T	28 (37,8)	23 (48,7)	1,14 (0,57–2,27)	0,7 (0,13)
<i>MMP12</i> Asn356Ser				
AA	9 (24,3)	14 (42,4)	0,44 (0,16–1,21)	0,2 (1,83)
AG	27 (54,8)	15 (45,4) *	3,24 (1,19–8,79)	0,03 (4,41)
GG	1 (2,7)	4 (12,2)	0,20 (0,02–1,90)	0,3 (1,13)
A	45 (60,8)	43 (65,2) *	0,83 (0,42–1,65)	0,9 (0,01)
G	29 (39,2)	23 (34,8)	1,20 (0,60–2,39)	0,9 (0,01)
<i>EPHX1</i> Tyr113His				
TT	33 (89,2)	27 (81,8)	1,83 (0,47–7,17)	0,6 (0,29)
TC	2 (5,4)	4 (12,1)	0,41 (0,07–2,43)	0,6 (0,33)
CC	2 (5,4)	2 (6,1)	0,89 (0,12–6,67)	0,7 (0,15)
T	68 (91,9)	58 (87,9)	1,56 (0,51–4,77)	0,6 (0,26)
C	6 (8,1)	8 (12,1)	0,64 (0,21–1,95)	0,6 (0,26)

развития выраженной боли, функционального дефицита и высокого сердечно-сосудистого риска у больных ОА.

Установлено, что присутствие гетерозиготного генотипа GT и аллеля T гена *COL1A1* является фактором риска развития ОА, что может быть связано с более агрессивной деградацией межклеточного матрикса суставного хряща вследствие нарушения физико-химических свойств альфа-1 цепи коллагена I типа [14]. Вместе с тем установлена высокая частота гомозиготного генотипа GG и аллеля G гена *COL1A1* в группе больных ОА с сильной болью и высоким сердечно-сосудистым риском. Такой диссонанс не является парадоксальным, так как известно, что высокий уровень боли ассоциирован с повышенной плотностью субхондральной кости у больных ОА [24]. Кроме того, показано, что G-аллель и GG-полиморфизм локуса -1997G/T гена *COL1A1* связаны с высокими показателями костной плотности [16, 17]. Таким образом, можно предположить, что гетерозиготное носительство локуса -1997G/T гена *COL1A1* является фактором риска развития ОА, но при наличии гомозиготного генотипа можно прогнозировать более высокий уровень боли. Однако данное утверждение нуждается в уточнении, поскольку генетические аспекты костного ремоделирования при ОА изучены недостаточно.

Известно, что сосудистое ремоделирование сопровождается развитием эндovasкулярного соединительнотканного матрикса вследствие активации фибробластов [25]. Гомозиготный генотип гена *COL1A1* ассоциирован с образованием полноценной альфа-1 цепи коллагена I типа, который принимает участие в развитии соединительной ткани сосудистой стенки, поддерживая тем самым ее ремоделирование [13]. Данное обстоятельство объясняет высокую частоту кардиоваскулярных заболеваний у больных ОА. Таким образом, GG-полиморфизм локуса -1997G/T *COL1A1* является фактором очень высокого сердечно-сосудистого риска у больных остеоартритом.

Показано, что у больных ОА достоверно чаще встречается гетерозиготный генотип AG гена *MMP12*, что может быть связано с более агрессивной деградацией межклеточного матрикса тканей суставов под действием матриксной металлопротеиназы 12. Su L. и соавт. (2006) установили, что полиморфизм Asn356Ser (rs652438) гена *MMP12* приводит к замене аспарагина на серин в кодирующей области *MMP12* домена гемопексина [7]. Гемопексин в домене металлопротеиназы ответствен за ее взаимодействие с различными белками, включая ингибиторы [26]. Поскольку полиморфизм Asn356Ser гена *MMP12* ассоциирован с дефектом гемопексина, это может приводить к нарушению процесса физиологического ингибирования матриксной металлопротеиназы-12 тканевым ингибитором TIMP1. Нарушение равновесия в сторону протеаз, как известно, сопровождается активным ремоделированием и деградацией межклеточного матрикса, что объясняет высокую частоту данного гетерозиготного генотипа у больных ОА.

Вместе с тем установлено, что у больных с выраженной дисфункцией суставов наблюдается высокая частота гомозиготного генотипа AA гена *MMP12*. Напротив, гетерозиготный вариант локуса гена *MMP12* и аллель A ассоциированы с очень высоким кардиоваскулярным риском. Это согласуется с результатами других исследований, показавших, что ОА ассоциирован с экспрессией гена *MMP12* в тканях суставов при остеоартрите [6]. Известно также, что

носители G-аллеля локуса Asn356Ser гена *MMP12* имеют более низкий риск развития ишемической болезни сердца [8]. Таким образом, гомозиготное носительство гена *MMP12* является фактором риска развития остеоартрита и очень высокого сердечно-сосудистого риска.

Результаты исследования показали, что генотип TC и аллеля C гена *EPHX1* является фактором риска развития сильной боли при ОА. Вместе с тем полиморфизм локуса *Tyr113His* не ассоциирован с риском развития остеоартрита и сердечно-сосудистых заболеваний. Однако известно, что замена тирозина на гистидин в 3-м экзоне двукратно снижает активность микросомальной эпоксидгидролазы [18], что может способствовать активации синтеза лейкотриенов и циклооксигеназы-2 хондроцитами [23]. Такой путь активации воспаления объясняет ассоциацию генотипа TC и аллеля C гена *EPHX1* с выраженной болью у больных ОА.

Заключение. Таким образом, установлены роли полиморфизмов генов соединительнотканного ремоделирования в развитии остеоартрита и формировании сердечно-сосудистой коморбидности. Обнаружены общие полиморфные варианты генов *COL1A1* и *MMP12*, принимающие участие в развитии остеоартрита и сердечно-сосудистых заболеваний. Полученные результаты отчасти подтверждают интеграционную теорию патогенеза ОА, свидетельствуют о наличии общих механизмов соединительнотканного ремоделирования. Дальнейшее изучение общих механизмов сосудистого ремоделирования при дегенеративно-воспалительных заболеваниях суставов будет способствовать более глубокому пониманию роли кардиоваскулярных паттернов при ОА.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках диссертационного исследования и не имеет коммерческой заинтересованности, а также заинтересованности иных юридических или физических лиц.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — М. А. Кабалык, В. А. Невзорова; получение и обработка данных — М. А. Кабалык, А. Б. Суняйкин; анализ и интерпретация результатов, написание статьи — М. А. Кабалык, В. А. Невзорова, А. Б. Суняйкин; утверждение рукописи для публикации — М. А. Кабалык.

References (Литература)

1. Kraus VB, Blanco FJ, Englund M, et al. Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use. *Osteoarthritis Cartilage* 2015; 23(8): 1233–41.
2. Findlay DM. Vascular pathology and osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46 (12): 1763–8.
3. Kabalyk MA. Molecular relationships of vascular remodeling in patients with osteoarthritis with arterial hypertension. *Bulletin of modern clinical medicine* 2017; 10 (5): 29–35. Russian (Кабалык МА. Молекулярные взаимосвязи сосудистого ремоделирования у больных остеоартритом с артериальной гипертензией. *Вестник современной клинической медицины* 2017; 10 (5): 29–35).
4. Tanner RM, Lynch AI, et al. Pharmacogenetic associations of MMP9 and MMP12 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension. *PLoS One* 2011; 6 (8): e23609.
5. Lv FJ, Peng Y, Lim FL, et al. Matrix metalloproteinase 12 is an indicator of intervertebral disc degeneration co-expressed with fibrotic markers. *Osteoarthritis Cartilage* 2016; 24 (10): 1826–36.
6. Davidson RK, Waters JG, Kevorkian L, et al. Expression profiling of metalloproteinases and their inhibitors in synovium and cartilage. *Arthritis Res Ther* 2006; 8 (4): R124.
7. Su L, Zhou W, Asomaning K, et al. Genotypes and haplotypes of matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 genes and the risk of lung cancer. *Carcinogenesis* 2006; 27 (5): 1024–9.

8. Białecka M, Kurzawski M, Vlaykova T, et al. Effects of common functional MMP12 gene polymorphisms on PD in a Polish population. *Neurol Neurochir Pol* 2017; 51 (5): 347–53.
9. Xie P, Liu B, Zhang L, et al. Association of COL1A1 polymorphisms with osteoporosis: a meta-analysis of clinical studies. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8 (9): 14764–14781.
10. Prockop DJ, Kivirikko KI. Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 403–34.
11. Blackstock CD, Higashi Y, Sukhanov S, et al. Insulin-like growth factor-1 increases synthesis of collagen type I via induction of the mRNA-binding protein LARP6 expression and binding to the 5' stem-loop of COL1a1 and COL1a2 mRNA. *J Biol Chem* 2014; 289 (11): 7264–74.
12. Tsezou A. Osteoarthritis year in review 2014: genetics and genomics. *Osteoarthritis Cartilage* 2014; 22 (12): 2017–24.
13. Vafaie F, Yin H, O'Neil C, et al. Collagenase-resistant collagen promotes mouse aging and vascular cell senescence. *Aging Cell* 2014; 13 (1): 121–30.
14. Chang SW, Shefelbine SJ, Buehler MJ. Structural and mechanical differences between collagen homo- and heterotrimers: relevance for the molecular origin of brittle bone disease. *Biophys J* 2012; 102 (3): 640–8.
15. Garcia-Giralt N, Nogue's X, Enjuanes A, et al. Two new single-nucleotide polymorphisms in the COL1A1 upstream regulatory region and their relationship to bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 384–93.
16. Jin H, Evangelou E, Ioannidis JPA, Ralston SH. Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies. *Osteoporos Int* 2011; 22 (3): 911–21.
17. Yazdanpanah N, Rivadeneira F, van Meurs JB, et al. The –1997 G/T and Sp1 polymorphisms in the collagen type I alpha1 (COL1A1) gene in relation to changes in femoral neck bone mineral density and the risk of fracture in the elderly: the Rotterdam study. *Calcif Tissue Int* 2007; 81 (1): 18–25.
18. Saini P, Wani SI, Kumar R, et al. Trigger factor assisted folding of the recombinant epoxide hydrolases identified from *C. pelagibacter* and *S. nassauensis*. *Protein Expr Purif* 2014; 104: 71–84.
19. Yang X, Wang Y, Wang G. Quantitative assessment of the influence of EPHX1 gene polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis with 94,213 subjects. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33:82.
20. Akparova A, Abdrakhmanova B, Banerjee N, Bersimbaev R. EPHX1 Y113H polymorphism is associated with increased risk of chronic obstructive pulmonary disease in Kazakhstan population. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2017; 816–817: 1–6.
21. Sirish P, Li N, Liu JY, et al. Unique mechanistic insights into the beneficial effects of soluble epoxide hydrolase inhibitors in the prevention of cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110 (14): 5618–23.
22. Backman JT, Siegel J, Zanger UM, Fritz P. Immunohistochemical detection of microsomal epoxide hydrolase in human synovial tissue. *Histochem J* 1999; 31 (10): 645–49.
23. Amat M, Díaz C, Vila L. Leukotriene A4 hydrolase and leukotriene C4 synthase activities in human chondrocytes: transcellular biosynthesis of Leukotrienes during granulocyte-chondrocyte interaction. *Arthritis Rheum* 1998; 41 (9): 1645–51.
24. Zajceva EM, Smirnov AV, Alekseeva LI. Assessment of bone mineral density of subchondral sections of the hip and tibia in gonarthrosis. *Scientific and Practical Rheumatology* 2005; 1: 27–30. Russian (Зайцева ЕМ, Смирнов АВ, Алексеева ЛИ. Оценка минеральной плотности костной ткани субхондральных отделов бедренной и большеберцовой костей при гонартрозе. *Научно-практическая ревматология* 2005; 1: 27–30).
25. Yu FY, Yang SC, Ji ES. The role of adventitia in hypoxic vascular remodeling. *Sheng Li Xue Bao* 2018; 70 (2): 211–6.
26. Zhang L, Yang M, Yang D, et al. Molecular interactions of MMP-13 C-terminal domain with chondrocyte proteins. *Connect Tissue Res* 2010; 51 (3): 230–9.