



Научная статья

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *NFAT5* КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ОСТЕОАРТРОЗА КОЛЕННОГО СУСТАВА

В.Б. Новаков^{1,2}, О.Н. Новакова¹, М.И. Чурносков¹

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия, 308015,
г. Белгород, ул. Победы, 85

²Городская больница № 2, Россия, 308036, г. Белгород, ул. Губкина, 46

*Остеoarтроз коленного сустава является многофакторным заболеванием, в развитии которого важную роль играют генетические факторы. Изучены ассоциации полиморфных вариантов rs1060105, rs56116847 гена *SBNO1*, rs6499244 гена *NFAT5* и rs34195470 гена *WWP2* с развитием остеоартроза коленного сустава IV стадии у населения Центрального Черноземья России.*

Генотипирование полиморфных локусов генов-кандидатов было выполнено у 95 больных остеоартрозом коленного сустава IV рентгенологической стадии и 500 индивидуумов контрольной группы. Ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов с остеоартрозом коленного сустава оценивали при помощи логистической линейной регрессии в рамках аллельной, аддитивной, рецессивной и доминантной генетических моделей в программе gPLINK.

*В результате исследования реплицирована ассоциация GWAS-значимого полиморфного варианта rs6499244 гена *NFAT5* с остеоартрозом коленного сустава у населения Центрального Черноземья РФ. Установлено, что аллельный вариант А rs6499244 гена *NFAT5* имеет «рисковое» значение для остеоартроза коленного сустава IV стадии в рамках аддитивной ($OR = 1,61$; $p_{perm} = 0,02$) и рецессивной ($OR = 2,07$; $p_{perm} = 0,02$) генетических моделей. Локус rs6499244 гена *NFAT5* расположен в регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1, повышает аффинность ДНК к четырем транскрипционным факторам (*CDP_6*, *RFX5_known1*, *RORalpha1_2*, *TCF4_known1*), локализован в функционально активных промоторах и энхансерах, связан с уровнем экспрессии девяти генов (*CLEC18A*, *COG4*, *EXOSC6*, *NFAT5*, *NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1*, *PDXDC2P*, *SMG1P7*) и альтернативным сплайсингом мРНК трех генов (*NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1*) в различных органах и тканях организма, в том числе патогенетически значимых для остеоартроза (жировая ткань, большеберцовые нервы и артерии, скелетные мышцы).*

Ключевые слова: остеоартроз коленного сустава, ген *NFAT5*, полиморфный локус, ассоциации, гены-кандидаты, фактор риска, ядерный фактор активированных Т клеток 5, оценка функциональных эффектов полиморфизма.

К нозологической единице «остеоартроз (ОА) коленного сустава (гонартроз)» относят комплекс дегенеративно-дистрофических, иногда воспалительных изменений в тканях, образующих коленный сустав (хрящ, мениски, субхондральная кость, синовиальная оболочка, связки, фиброзная капсула), а также во внесуставных тканях, неотрывно связанных с функцией коленного сустава и располагающихся вблизи него (сухожилия, мышцы) [1]. Согласно литературным данным, распространенность ОА отличается в разных популяциях мира [2–5]. В европейских странах частота ОА варьируется

в диапазоне от 1,5 до 29,1 % [2, 3, 6–8], более высокие показатели распространенности данного заболевания наблюдаются в странах Азии – до 44 % [9–12]. По данным официальной статистики, в России от ОА коленных и (или) тазобедренных суставов страдает 13 % населения старше 18 лет [5, 13], что соответствует распространенности заболевания в европейских популяциях. Известно также, что частота гонартроза значительно возрастает в старших возрастных группах и выше у лиц женского пола [6, 14]. Необходимо принимать во внимание, что ОА коленного сустава развивается и поража-

© Новаков В.Б., Новакова О.Н., Чурносков М.И., 2022

Новаков Виталий Борисович – аспирант медицинского института, травматолог-ортопед (e-mail: v.novakov@bk.ru; тел.: 8 (472) 255-85-70; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5337-2156>).

Новакова Ольга Николаевна – кандидат биологических наук, доцент (e-mail: litovkina@bsu.edu.ru; тел.: 8 (472) 230-13-83; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2700-1284>).

Чурносков Михаил Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин (e-mail: churnosov@bsu.edu.ru; тел.: 8 (472) 230-13-83; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1254-6134>).

ет трудоспособное население, приводит к преждевременной инвалидизации [15].

Остеоартроз, как и ряд других заболеваний человека, считается многофакторным, возникающим в результате взаимодействия ряда средовых, эпигенетических и генетических факторов риска [16]. Согласно литературным данным, доля генетической компоненты при развитии ОА может варьироваться от 40 до 65 % [17, 18]. Генетические основы ОА посредством полногеномного поиска ассоциаций активно изучаются различными научными коллективами. Согласно данным каталога GWAS, за период с 2008 г. по настоящее время выполнено 24 полногеномных исследования ОА коленного, тазобедренного суставов и суставов руки¹, в результате которых выявлено более 250 GWAS-значимых однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), ассоциированных с развитием ОА. Стоит отметить, что 13 из 24 исследований посвящены изучению роли генетических факторов в развитии ОА коленного сустава, в результате установлено более 80 полиморфных локусов, ассоциированных с риском развития ОА коленного сустава ($p \leq 5 \cdot 10^{-08}$). Подавляющее большинство этих GWAS-значимых для ОА коленного сустава локусов (более 95 %) выявлено на выборках исследуемых европеоидного происхождения. Но следует также отметить, что в эти полногеномные исследования выборки из Российской Федерации не были включены.

Наряду с полногеномными исследованиями ОА особое значение имеет проведение репликативных исследований, которые позволяют установить роль конкретных GWAS-значимых для ОА полиморфных маркеров в формировании заболевания в отдельных популяциях мира, в том числе и в популяциях России. Согласно имеющимся литературным данным, к настоящему времени в различных популяциях мира проведено ограниченное количество репликативных исследований ОА коленного сустава и ОА других локализаций [19–26]. В результате этих репликативных исследований лишь для единичных GWAS-значимых полиморфных локусов подтверждены ассоциации с данным заболеванием: в целом ОА – 4 SNPs (rs2302061, rs7639618, rs4836732, rs3204689), ОА коленного сустава – 7 SNPs (rs4867568, rs143383, rs3884606, rs10947262, rs7639618, rs6976, rs2302061). При этом три из семи SNPs (rs4867568, rs143383, rs3884606) подтвердили связь с ОА коленного сустава в азиатских популяциях и четыре SNPs (rs10947262, rs7639618, rs6976, rs2302061) – в европейских популяциях или смешанных выборках европейцев и азиатов.

Важно подчеркнуть, что в отечественной литературе представлены результаты лишь одного репликативного исследования ОА у женского населения Башкортостана [26]. Авторы провели анализ ассоциаций девяти GWAS-значимых полиморфных вариантов rs4836732 гена *ASTN2*, rs1298744 и rs2302061

гена *DOTIL*, rs3204689 гена *ALDH1A2*, rs6976 гена *GLT8D1*, rs11177 гена *GNL3*, rs6094710 гена *NCOA3*, rs11841874 гена *MCF2L*, rs7639618 гена *DVWA* с ОА на выборке из 256 больных и 161 человека, вошедшего в контрольную группу. В результате этого исследования только для пяти SNP (rs2302061 *DOTIL*, rs7639618 *DVWA*, rs4836732 *ASTN2*, rs6976 *GLT8D1*, rs3204689 *ALDH1A2*) были подтверждены ассоциации с ОА различных локализаций, в том числе с ОА коленного сустава показали связь только три SNP – rs2302061 *DOTIL*, rs7639618 *DVWA*, rs6976 *GLT8D1*.

Таким образом, к настоящему моменту времени среди известных более 80 GWAS-значимых для ОА коленного сустава полиморфных локусов связь с заболеванием для европейского населения подтверждена в репликативных исследованиях лишь для четырех локусов – rs10947262 гена *BTNL2*, rs7639618 гена *COL6A4P1*, rs2302061 гена *DOTIL*, rs6976 гена *GLT8D1*, что крайне недостаточно. Следует отметить, что для десяти SNP, изученных в этих репликативных исследованиях в европейских популяциях (или смешанных выборках), ассоциации с ОА коленного сустава не были подтверждены. Вышеизложенные факты диктуют необходимость проведения дальнейших репликативных исследований ОА коленного сустава в различных популяциях, в том числе российских.

Цель исследования – изучить ассоциации полиморфных вариантов rs1060105, rs56116847 гена *SBNO1*, rs6499244 гена *NFAT5* и rs34195470 гена *WWP2* с развитием ОА коленного сустава IV стадии у населения Центрального Черноземья России.

Материалы и методы. Для проведения исследования были сформированы выборки из 95 больных ОА коленного сустава (средний возраст – $52,69 \pm 5,67$ г.) и 500 индивидуумов контрольной группы (средний возраст – $52,96 \pm 6,72$ г.). У всех больных была диагностирована IV рентгенологическая стадия заболевания, которая характеризуется наиболее выраженным процессом разрушения различных тканей сустава, прежде всего хрящевой и костной [2]. Клиническое, клинико-инструментальное обследование больных, верификация диагноза проводились сертифицированными врачами травматологического отделения №1 ОГБУЗ «Городская больница №2» г. Белгорода. Критериями включения в исследуемую группу больных были: а) первичный ОА коленного сустава, установленный в соответствии с клинико-рентгенологическими критериями Американской ассоциации ревматологов [27]; б) IV рентгенологическая стадия ОА коленного сустава по шкале Келлгрена – Лоуренса [28]; в) наличие боли в коленном суставе (выраженность болевого синдрома при ходьбе по визуально-аналоговой шкале ≥ 40 мм); г) ограничение движения в суставе. В группу контроля включались лица, у которых отсутствовала какая-либо патология опорно-двигательной системы (обследовались при профилактических ос-

¹GWAS Catalog. The NHGRI-EBI Catalog of human genome-wide association studies [Электронный ресурс] // National Human Genome Research Institute. – URL: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=osteoarthritis> (дата обращения: 20.05.2022).

мотрах). Все участники исследования являлись уроженцами Центрального Черноземья Российской Федерации, имели русскую национальность и не находились в родственных связях друг с другом, предварительно дали согласие на участие в исследовании. Из исследуемых выборок исключались лица с тяжелыми формами артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, сахарного диабета, почечно-печеночной недостаточности, онкологических заболеваний.

Для исследования использовали геномную ДНК, которую выделяли из лейкоцитов методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование образцов ДНК было выполнено с помощью полимеразной цепной реакции с применением TaqMan-зондов.

Отбор полиморфных локусов генов-кандидатов для исследования осуществлен с учетом следующих критериев: 1) наличие ассоциации с ОА коленного сустава в европейских популяциях по результатам ранее проведенных полногеномных исследований (GWAS); 2) выраженное функциональное значение полиморфизма (регуляторный потенциал, связь с экспрессией, альтернативным сплайсингом генов) [29, 30]; 3) частота полиморфизма не менее 5%. В соответствии с этими критериями для настоящего исследования были отобраны четыре SNPs трех генов: rs1060105, rs56116847 гена *SBN1*, rs6499244 гена *NFAT5* и rs34195470 гена *WWP2*.

Для изучаемых выборок были получены данные об эмпирическом распределении генотипов и его соответствии теоретически ожидаемому согласно закономерности Харди – Вайнберга (отклонения принимались за статистически значимые при $p \leq 0,05$). При сравнении частот аллелей и генотипов между группой больных ОА и контрольной применяли критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность, использовали таблицы сопряженности 2×2 , силу ассоциации оценивали показателем отношения шансов (*OR*) с 95%-ным доверительным интервалом (95% *CI*) в программе Statistica for Windows 6.0. Ассоциации изучаемых полиморфных локусов генов-кандидатов с ОА оценивали при помощи логистической линейной регрессии (рассматривались четыре генетические модели: аллельная, аддитивная, рецессивная и доминантная) с учетом ковариат – возраст, ИМТ. Все вычисления выполнялись в программе gPLINK [31]. Проводилась коррекция на множественные сравнения с учетом пермутационного теста (за статистически значимый принимали $p_{perm} < 0,05$) [32].

Оценку функциональных эффектов полиморфизма генов-кандидатов, показавших значимые ассоциации с ОА, проводили с использованием онлайн-ресурсов HaploReg (v4.1)² – изучался регуляторный потенциал [29, 33], GTExPortal³ – исследовались влияние на экспрессию генов и альтернативный сплайсинг [30].

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что для всех рассматриваемых полиморфных локусов

генов-кандидатов в группе больных и контрольной наблюдаемое распределение генотипов соответствовало ожидаемому согласно равновесию Харди – Вайнберга ($p > 0,05$) (табл. 1).

Анализ ассоциаций аллелей и генотипов изученного полиморфизма кандидатных генов с развитием ОА коленного сустава IV стадии позволил установить связь локуса rs6499244 гена *NFAT5* с заболеванием (см. табл. 1). С помощью логистического регрессионного анализа выявлено, что минорный аллель А rs6499244 гена *NFAT5* имеет «рисковое» значение для ОА в рамках аддитивной ($OR = 1,61$; 95% $CI = 1,09-2,38$; $p = 0,02$; $p_{perm} = 0,02$) и рецессивной ($OR = 2,07$; 95% $CI = 1,10-3,90$; $p = 0,02$; $p_{perm} = 0,02$) генетических моделей.

Таким образом, в рамках данной работы выявлен генетический фактор риска развития ОА коленного сустава IV стадии – аллель А rs6499244 гена *NFAT5*.

На следующем этапе работы проведен анализ регуляторных эффектов rs6499244 гена *NFAT5* (с помощью современных биоинформатических ресурсов), который показал важное функциональное значение данного локуса в организме.

Используя онлайн-ресурс HaploReg (v4.1)², установлено, что rs6499244 расположен в 3'-нетранслируемой области гена *NFAT5*, находится в эволюционно консервативном регионе, в области гиперчувствительности к ДНКазе-1 в тканях яичника, в регионе регуляторных мотивов к четырем факторам транскрипции (CDP_6, RFX5_known1, RORalpha1_2, TCF4_known1). Выявлена локализация rs6499244 гена *NFAT5* в области ДНК, связанной с гистоновыми белками (H3K27ac), маркирующими активные энхансеры в культуре клеток хондроцитов, мозга, жировой ткани, в клетках периферической крови, а также в ДНК-регионе, взаимодействующем с белками-гистонами типа H3K9ac, маркирующими функционально активные промоторные участки в клетках жировой ткани, первичных мононуклеарах периферической крови. При этом аллель А, имеющий «рисковое» значение в развитии ОА, повышает аффинность к четырем факторам транскрипции: CDP_6 ($\Delta LOD = 3,3$), RFX5_known1 ($\Delta LOD = 10,9$), RORalpha1_2 ($\Delta LOD = 12$), TCF4_known1 ($\Delta LOD = 5$).

С помощью онлайн-ресурса GTExPortal³ установлено, что локус rs6499244 значимо ассоциирован с уровнем экспрессии девяти генов (*CLEC18A*, *COG4*, *EXOSC6*, *NFAT5*, *NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1*, *PDXDC2P*, *SMG1P7*) и альтернативным сплайсингом мРНК трех генов (*NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1*) в патогенетически значимых для ОА культурах клеток, тканях и органах (жировая ткань, скелетные мышцы, большеберцовые артерии и нервы) (табл. 2). Выявлено, что rs6499244 связан с уровнем экспрессии генов *CLEC18A*, *EXOSC6*, *NPIP14P*, *SMG1P7* и альтернативным сплайсингом

² HaploReg v4.1 [Электронный ресурс]. – URL: <http://compbio.mit.edu/HaploReg> (дата обращения: 18.05.2022).

³ GTExPortal [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.gtexportal.org/> (дата обращения: 18.05.2022).

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов генов-кандидатов у больных остеоартрозом коленного сустава IV стадии и в контрольной группе

Поли-морфизм	Аллели, генотипы	Больные ОА IV стадии (n = 95), абс. (%)	Контрольная группа (n = 500), абс. (%)	OR (95 % CI)	p
rs1060105	C	149 (78,42)	788 (78,80)	0,98 (0,66–1,95)	0,98
	T	41 (21,58)	212 (21,20)	1,02 (0,69–1,52)	
	C/C	58 (61,05)	315 (63,00)	0,92 (0,57–1,48)	0,81
	C/T	33 (34,74)	158 (31,60)	1,15 (0,71–1,87)	0,63
	T/T	4 (4,21)	27 (5,40)	0,77 (0,22–2,39)	0,82
	H _o /H _e (P _{HWE})	0,347/0,338 (1,000)	0,316/0,334 (0,229)		
	Минорный аллель T (модель аллельная)			1,02 (0,70–1,49)	0,91
	C/C vs. C/T vs. T/T (модель аддитивная)			1,24 (0,77–1,98)	0,38
	C/C vs. C/T + T/T (модель доминантная)			1,37 (0,78–2,42)	0,28
C/C + C/T vs. T/T (модель рецессивная)			0,95 (0,25–3,65)	0,94	
rs56116847	G	119 (62,63)	640 (64,26)	0,93 (0,67–1,30)	0,73
	A	71 (37,37)	356 (35,74)	1,07 (0,77–1,50)	
	G/G	37 (38,95)	213 (42,77)	0,85 (0,53–1,37)	0,56
	A/G	45 (47,37)	214 (42,97)	1,19 (0,75–1,90)	0,50
	A/A	13 (13,68)	71 (14,26)	0,95 (0,48–1,87)	1,00
	H _o /H _e (P _{HWE})	0,474/0,468 (1,000)	0,430/0,459 (0,145)		
	Минорный аллель A (модель аллельная)			1,07 (0,78–1,48)	0,67
	G/G vs. A/G vs. A/A (модель аддитивная)			0,84 (0,56–1,28)	0,42
	G/G vs. A/G + A/A (модель доминантная)			0,82 (0,47–1,45)	0,50
G/G + A/G vs. A/A (модель рецессивная)			0,76 (0,33–1,77)	0,53	
rs6499244	T	94 (49,47)	543 (54,30)	0,82 (0,60–1,14)	0,25
	A	96 (50,53)	457 (45,70)	1,21 (0,88–1,68)	
	T/T	26 (27,37)	157 (31,40)	0,82 (0,49–1,38)	0,51
	A/T	42 (44,21)	229 (45,80)	0,94 (0,59–1,49)	0,86
	A/A	27 (28,42)	114 (22,80)	1,34 (0,80–2,26)	0,29
	H _o /H _e (P _{HWE})	0,442/0,500 (0,304)	0,458/0,496 (0,087)		
	Минорный аллель A (модель аллельная)			1,21 (0,89–1,66)	0,22
	T/T vs. A/T vs. A/A (модель аддитивная)			1,61 (1,09–2,38)	0,02
	T/T vs. A/T + A/A (модель доминантная)			1,74 (0,91–3,32)	0,09
T/T + A/T vs. A/A (модель рецессивная)			2,07 (1,10–3,90)	0,02	
rs34195470	G	101 (53,72)	523 (52,40)	1,05 (0,76–1,46)	0,80
	A	87 (46,28)	475 (47,60)	0,95 (0,67–1,31)	
	G/G	24 (25,53)	136 (27,25)	0,92 (0,54–1,56)	0,83
	A/G	53 (56,38)	251 (50,30)	1,28 (0,80–2,04)	0,33
	A/A	17 (18,09)	112 (22,45)	0,76 (0,42–1,39)	0,42
	H _o /H _e (P _{HWE})	0,564/0,497 (0,222)	0,503/0,499 (0,929)		
	Минорный аллель A (модель аллельная)			0,95 (0,69–1,30)	0,74
	G/G vs. A/G vs. A/A (модель аддитивная)			0,97 (0,64–1,47)	0,89
	G/G vs. A/G + A/A (модель доминантная)			1,05 (0,55–2,01)	0,88
G/G + A/G vs. A/A (модель рецессивная)			0,87 (0,42–1,77)	0,69	

Примечание: OR – отношение шансов, 95 % CI – 95%-ный доверительный интервал отношения шансов, p – уровень значимости, H_o/H_e – наблюдаемая / ожидаемая гетерозиготность, P_{HWE} – уровень значимости отклонения от закона Харди – Вайнберга.

Таблица 2

Материалы по ассоциациям rs6499244 гена *NFAT5* с уровнем экспрессии (eQTL) и альтернативным сплайсингом мРНК (sQTL) генов в патогенетически значимых для ОА клетках, тканях и органах

Ген	Ткань / орган / культура клеток	Уровень значимости p	Коэффициент линейной регрессии β
<i>eQTL-анализ</i>			
<i>CLEC18A</i>	Щитовидная железа	1,9e-9	-0,35
	Жировая ткань	2,4e-7	-0,30
	Скелетные мышцы	0,000057	-0,18
<i>COG4</i>	Культура клеток фибробластов	0,000041	-0,10
<i>EXOSC6</i>	Жировая ткань	0,0000038	-0,21
	Щитовидная железа	0,00040	-0,14
<i>NFAT5</i>	Щитовидная железа	9,1e-19	0,18
	Культура клеток фибробластов	0,0000012	0,083
<i>NOB1</i>	Скелетные мышцы	3,9e-10	-0,11
	Щитовидная железа	3,3e-7	-0,14
	Головной мозг	0,000020	-0,33
<i>NPIP14P</i>	Большеберцовые нервы	4,7e-15	-0,31
	Культура клеток фибробластов	1,4e-13	-0,28
	Аорта	3,0e-10	-0,27
	Большеберцовая артерия	3,8e-10	-0,21
	Кровь	1,0e-9	-0,17
	Головной мозг	2,0e-9	-0,42
	Скелетные мышцы	6,7e-9	-0,21
<i>NQO1</i>	Жировая ткань	7,6e-7	-0,17
<i>NQO1</i>	Головной мозг	0,000061	-0,21
<i>PDXDC2P</i>	Кровь	0,000029	0,11
<i>SMG1P7</i>	Жировая ткань	0,00013	-0,16
<i>sQTL-анализ</i>			
<i>NOB1</i>	Скелетные мышцы	3,8e-36	-0,61
	Жировая ткань	8,1e-33	-0,66
	Большеберцовая артерия	2,0e-30	-0,62
	Щитовидная железа	7,9e-30	-0,56
	Культура клеток фибробластов	3,4e-29	-0,68
	Большеберцовые нервы	3,6e-26	-0,63
	Кровь	1,2e-16	0,42
<i>NPIP14P</i>	Кровь	2,8e-9	-0,34
	Жировая ткань	0,0000032	0,29
	Культура клеток фибробластов	0,0000059	-0,28
<i>NQO1</i>	Культура клеток фибробластов	2,9e-8	0,30
	Жировая ткань	1,6e-7	0,31
	Большеберцовые нервы	0,000023	0,25

Примечание: eQTL и sQTL – данные GTExPortal [30].

мРНК трех генов *NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1* в жировой ткани. Известно, что жировая ткань вырабатывает адипокины, которые не только участвуют в обменных процессах, но и способствуют хроническим воспалительным реакциям в организме. Адипокины и ряд других цитокинов, действуя совместно, в итоге приводят к процессам дегенерации хрящевой ткани [34]. В исследовании T.N. Voer et al. (2012) было показано, что уровни адипокинов у больных ОА с четвертой рентгенологической стадией были значительно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$) [35].

Стоит отметить, что *NFAT5* также участвует в регуляции воспалительных реакций в организме за счет активации иммунных клеток, особенно Т-клеток и макрофагов [36].

Выявлено, что аллельный вариант А rs6499244 гена *NFAT5* ассоциирован с низким уровнем экспрессии генов *CLEC18A*, *NOB1*, *NPIP14P* и альтернативным сплайсингом мРНК гена *NOB1* в скелетных мышцах (см. табл. 2). Известно, что состояние мышечной ткани, в том числе и слабость мышц, вносит существенный вклад в развитие и прогресси-

рование ОА [37, 38]. Слабость мышц может быть обусловлена не только отсутствием или низким уровнем физической нагрузки в мышцах, но и происходящими в них воспалительными процессами [38], в регуляции которых может участвовать и *NFAT5* [36]. В работе S. Muraki et al. (2015) показано, что слабость четырехглавой мышцы бедра ассоциирована с болью при ОА коленного сустава [37]. В систематическом обзоре и метаанализе В.Е. Oiestad et al. (2015) получены данные о том, что слабость мышц коленного сустава связана с повышенным риском развития ОА коленного сустава как у мужчин, так и у женщин [38].

В работе S.J. Rice et al. (2019) представлены данные по ассоциациям локуса rs7359336, который находится в неравновесии по сцеплению с изучаемым нами rs6499244 ($r^2 = 0,91$), с повышенным уровнем метилирования ДНК в гене *WWP2* у больных ОА [39]. Авторами также установлено значительное увеличение экспрессии гена *CLEC18A* в хрящевой ткани у пациентов, перенесших артропластику по поводу ОА ($p = 0,02$).

Известно, что ген *NFAT5* кодирует фактор транскрипции, который регулирует экспрессию генов, участвующих у млекопитающих в осмотическом стрессе, наличие последнего может стать основой для развития патологических процессов в различных типах гиперосмолярных тканей и органов (почки, эпителий кишечника, эпидермис роговицы глаза и кожи, скелетные мышцы)⁴ [40, 41]. Имеются данные, свидетельствующие о роли *NFAT5* в формировании врожденного иммунитета путем активации экспрессии генов в макрофагах при лигировании TLR (Toll-like) рецептора [36, 42, 43]. Стоит отметить, что в патогенезе ОА коленного сустава значимая роль отводится иммунным нарушениям и воспалению синовиальной оболочки – синовиту [2, 44, 45], что впоследствии может приводить к «активизации» матриксных металлопротеиназ [46], обладающих выраженными пролиферативными и провоспалительными эффектами. Известно, что *TLR2* и *TLR4* высокоэкспрессируются в макрофагах синовиальной жидкости и отвечают за активацию макрофагов [47]. *NFAT5* также играет важную роль в пролиферации самих синовиоцитов [48]. В воспалительном инфильтрате синовиальной жидкости у пациентов с гонартрозом содержится большое количество мак-

рофагов и Т-лимфоцитов [44]. Согласно литературным данным, в инфильтрате преобладают в основном макрофаги – 65 %, Т-лимфоцитов насчитывается до 22 %, В-лимфоцитов – до 5 % [49].

В доступной литературе имеется ограниченное количество исследований, посвященных изучению вовлеченности локуса rs6499244 гена *NFAT5* (в нашем исследовании ассоциирован с ОА коленного сустава) в развитие заболеваний человека. В каталоге GWAS представлены результаты только двух полногеномных исследований, показавших значимые ассоциации изучаемого локуса с остеоартрозом коленного сустава [50] и возрастом возникновения менархе [51]. Так, в GWAS исследовании I. Tachmazidou et al. (2019), выполненном на выборках из 77 052 больных ОА различных локализаций, в том числе и ОА коленного сустава, и 378 169 индивидуумов контрольной группы, выявлена ассоциация аллеля А rs6499244 гена *NFAT5* с ОА коленного сустава в европейской популяции [50], что полностью согласуется с полученными нами результатами.

Выводы. В результате данного исследования подтверждена ассоциация (реплицирована) GWAS-значимого полиморфного варианта rs6499244 гена *NFAT5* с ОА коленного сустава у населения Центрального Черноземья России. Выявлено, что аллель А rs6499244 *NFAT5* является фактором риска развития ОА коленного сустава IV стадии ($OR = 1,61–2,07$). Полиморфизм rs6499244 гена *NFAT5* обладает выраженными функциональными эффектами (находится в регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1, повышает аффинность ДНК к четырем факторам транскрипции, локализован в функционально активных промоторах и энхансерах, связан с экспрессией девяти генов (*CLEC18A*, *COG4*, *EXOSC6*, *NFAT5*, *NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1*, *PDXDC2P*, *SMG1P7*) и альтернативным сплайсингом мРНК трех генов (*NOB1*, *NPIP14P*, *NQO1*)) в различных органах и тканях (большеберцовые нервы и артерии, жировая ткань, скелетные мышцы и др.), вовлеченных в патофизиологию заболевания.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы

1. Early osteoarthritis of the knee / H. Madry, E. Kon, V. Condello, G.M. Peretti, M. Steinwachs, R. Seil, M. Berruto, L. Engebretsen [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2016. – Vol. 24, № 6. – P. 1753–1762. DOI: 10.1007/s00167-016-4068-3
2. Алексеева Л.И., Таскина Е.А., Кашеварова Н.Г. Остеоартрит: эпидемиология, классификация, факторы риска и прогрессирования, клиника, диагностика, лечение // *Современная ревматология.* – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 9–21. DOI: 10.14412/1996-7012-2019-2-9-21

⁴ GeneCards: The Human Gene Database [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.genecards.org/> (дата обращения: 20.05.2022).

3. Prevalence of rheumatic and musculoskeletal diseases and their impact on health-related quality of life, physical function and mental health in Portugal: results from EpiReumaPt – a national health survey / J.C. Branco, A.M. Rodrigues, N. Gouveia, M. Eusébio, S. Ramiro, P.M. Machado, L.P. da Costa, A.F. Mourão [et al.] // *RMD Open*. – 2016. – Vol. 2, № 1. – P. e000166. DOI: 10.1136/rmdopen-2015-000166
4. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century / I.J. Wallace, S. Worthington, D.T. Felson, R.D. Jurmain, K.T. Wren, H. Maijanen, R.J. Woods, D.E. Lieberman // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. – 2017. – Vol. 114, № 35. – P. 9332–9336. DOI: 10.1073/pnas.1703856114
5. Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Динамика распространенности ревматических заболеваний, входящих в XIII класс МКБ-10, в популяции взрослого населения Российской Федерации за 2000–2010 гг. // *Научно-практическая ревматология*. – 2012. – Т. 50, № 3. – С. 10–12. DOI: 10.14412/1995-4484-2012-702
6. Impact of the distinct diagnostic criteria used in population-based studies on estimation of the prevalence of knee osteoarthritis / M. Comas, M. Sala, R. Roman, X. Castells // *Gac. Sanit.* – 2010. – Vol. 24, № 1. – P. 28–32. DOI: 10.1016/j.gaceta.2009.06.002
7. Bijlsma J.W.J., Berenbaum F., Lafeber F.P.J.G. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377, № 9783. – P. 2115–2126. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60243-2
8. Prevalence of radiographic and symptomatic osteoarthritis in an urban United States community: the Framingham osteoarthritis study / C. Kim, K.D. Linsenmeyer, S.C. Vlad, A. Guermazi, M.M. Clancy, J. Niu, D.T. Felson // *Arthritis Rheumatol.* – 2014. – Vol. 66, № 11. – P. 3013–3017. DOI: 10.1002/art.38795
9. Comparison of the prevalence of knee osteoarthritis between the elderly Chinese population in Beijing and whites in the United States: The Beijing Osteoarthritis Study / Y. Zhang, L. Xu, M.C. Nevitt, P. Aliabadi, W. Yu, M. Qin, L.-Y. Lui, D.T. Felson // *Arthritis Rheum.* – 2001. – Vol. 44, № 9. – P. 2065–2071. DOI: 10.1002/1529-0131(200109)44:9<2065::AID-ART356>3.0.CO;2-Z
10. Prevalence of radiographic osteoarthritis of the knee and its relationship to self-reported pain / L.T. Ho-Pham, T.Q. Lai, L.D. Mai, M.C. Doan, H.N. Pham, T.V. Nguyen // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, № 4. – P. e94563. DOI: 10.1371/journal.pone.0094563
11. Nguyen T.V. Osteoarthritis in southeast Asia [Электронный ресурс] // *Int. J. Clin. Rheumatol.* – 2014. – Vol. 9, № 5. – P. 405–408. – URL: <https://www.openaccessjournals.com/articles/osteoarthritis-in-southeast-asia.pdf> (дата обращения: 20.05.2022).
12. Lee S., Kim S.-J. Prevalence of knee osteoarthritis, risk factors, and quality of life: The Fifth Korean National Health And Nutrition Examination Survey // *Int. J. Rheum. Dis.* – 2017. – Vol. 20, № 7. – P. 809–817. DOI: 10.1111/1756-185X.12795
13. Галушко Е.А., Насонов Е.Л. Распространённость ревматических заболеваний в России // *Альманах клинической медицины*. – 2018. – Т. 46, № 1. – С. 32–39. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-1-32-39
14. Паникар В.И., Щербань Э.А., Павлова И.А. Комплексная гериатрическая оценка остеоартроза коленных суставов в старческом возрасте // *Научные результаты биомедицинских исследований*. – 2019. – Т. 5, № 1. – С. 131–139. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-10
15. Матвеев П.П., Брагина С.В. Остеоартроз коленного сустава: проблемы и социальная значимость // *Экология человека*. – 2012. – Т. 19, № 9. – С. 53–62. DOI: 10.33396/1728-0869-2012-9-53-62
16. Новаков В.Б., Новакова О.Н., Чурносов М.И. Полногеномные исследования остеоартроза коленного сустава: обзор литературы // *Травматология и ортопедия России*. – 2021. – Т. 27, № 4. – С. 131–144. DOI: 10.21823/2311-2905-2021-27-1580
17. Zengini E., Finan C., Wilkinson J.M. The Genetic Epidemiological Landscape of Hip and Knee Osteoarthritis: Where Are We Now and Where Are We Going? // *J. Rheumatol.* – 2016. – Vol. 43, № 2. – P. 260–266. DOI: 10.3899/jrheum.150710
18. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies novel variants associated with osteoarthritis of the hip / E. Evangelou, H.J. Kerkhof, U. Styrkarsdottir, E.E. Ntzani, S.D. Bos, T. Esko, D.S. Evans, S. Metrustry [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2014. – Vol. 73, № 12. – P. 2130–2136. DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-203114
19. Large replication study and meta-analyses of DVWA as an osteoarthritis susceptibility locus in European and Asian populations / I. Meulenbelt, K. Chapman, R. Dieguez-Gonzalez, D. Shi, A. Tsezou, J. Dai, K.N. Malizos, M. Kloppenburg [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. – Vol. 18, № 8. – P. 1518–1523. DOI: 10.1093/hmg/ddp053
20. Association of single-nucleotide polymorphisms in HLA class II/III region with knee osteoarthritis / D. Shi, Q. Zheng, D. Chen, L. Zhu, A. Qin, J. Fan, J. Liao, Z. Xu [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2010. – Vol. 18, № 11. – P. 1454–1457. DOI: 10.1016/j.joca.2010.07.009
21. A large-scale replication study for the association of rs17039192 in HIF-2 α with knee osteoarthritis / M. Nakajima, D. Shi, J. Dai, A. Tsezou, M. Zheng, P.E. Norman, C.-H. Chou, M.T.M. Lee [et al.] // *J. Orthop. Res.* – 2012. – Vol. 30, № 8. – P. 1244–1248. DOI: 10.1002/jor.22063
22. Large scale replication study of the association between HLA class II/BTNL2 variants and osteoarthritis of the knee in European-descent populations / A.M. Valdes, U. Styrkarsdottir, M. Doherty, D.L. Morris, M. Mangino, A. Tamm, S.A. Doherty, K. Kisaand [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 8. – P. e23371. DOI: 10.1371/journal.pone.0023371
23. FTO variant is not associated with osteoarthritis in the Chinese Han population: replication study for a genome-wide association study identified risk loci / J. Dai, P. Ying, D. Shi, H. Hou, Y. Sun, Z. Xu, D. Chen, G. Zhang [et al.] // *J. Orthop. Surg. Res.* – 2018. – Vol. 13, № 1. – P. 65. DOI: 10.1186/s13018-018-0769-2
24. Evaluation of Relationship Between Common Variants in FGF18 Gene and Knee Osteoarthritis Susceptibility / T. Zhao, J. Zhao, C. Ma, J. Wei, B. Wei, J. Liu // *Arch. Med. Res.* – 2020. – Vol. 51, № 1. – P. 76–81. DOI: 10.1016/j.arcmed.2019.12.007
25. A novel variant near LSP1P3 is associated with knee osteoarthritis in the Chinese population / Y. Li, F. Liu, X. Xu, H. Zhang, M. Lu, W. Gao, L. Yin, Z. Yin // *Clin. Rheumatol.* – 2020. – Vol. 39, № 8. – P. 2393–2398. DOI: 10.1007/s10067-020-04995-8
26. Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. Изучение локусов, ассоциированных с остеоартритом, по результатам полногеномных исследований (GWAS) у женщин из Республики Башкортостан // *Терапия*. – 2019. – Т. 5, № 7 (33). – С. 91–96. DOI: 10.18565/therapy.2019.7.91-96
27. Altman R.D. Criteria for classification of clinical osteoarthritis // *J. Rheumatol. Suppl.* – 1991. – Vol. 27. – P. 10–12.

28. Kellgren J.H., Lawrence J.S. Radiological assessment of osteo-arthrosis // *Ann. Rheum. Dis.* – 1957. – Vol. 16, № 4. – P. 494–502. DOI: 10.1136/ard.16.4.494
29. Ward L.D., Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Vol. 44, № D1. – P. D877–D881. DOI: 10.1093/nar/gkv1340
30. GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissues // *Science.* – 2020. – Vol. 369, № 6509. – P. 1318–1330. DOI: 10.1126/science.aaz1776
31. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell, B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M.A.R. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2007. – Vol. 81, № 3. – P. 559–575. DOI: 10.1086/519795
32. An adaptive permutation approach for genome-wide association study: evaluation and recommendations for use / R. Che, J.R. Jack, A.A. Motsinger-Reif, C.C. Brown // *BioData Min.* – 2014. – Vol. 7. – P. 9. DOI: 10.1186/1756-0381-7-9
33. Полоников А.В., Клёсова Е.Ю., Азарова Ю.Э. Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор) // *Научные результаты биомедицинских исследований.* – 2021. – Т. 7, № 1. – С. 15–31. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2
34. Стребкова Е.А., Алексеева Л.И. Остеоартроз и ожирение // *Научно-практическая ревматология.* – 2015. – Т. 53, № 5. – С. 542–552. DOI: 10.14412/1995-4484-2015-542-552
35. Serum adipokines in osteoarthritis; comparison with controls and relationship with local parameters of synovial inflammation and cartilage damage / T.N. de Boer, W.E. van Spil, A.M. Huisman, A.A. Polak, J.W.J. Bijlsma, F.P.J.G. Lafeber, S.C. Mastbergen // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2012. – Vol. 20, № 8. – P. 846–853. DOI: 10.1016/j.joca.2012.05.002
36. Lee N., Kim D., Kim W.-U. Role of NFAT5 in the Immune System and Pathogenesis of Autoimmune Diseases // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 270. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00270
37. Quadriceps muscle strength, radiographic knee osteoarthritis and knee pain: the ROAD study / S. Muraki, T. Akune, M. Teraguchi, R. Kagotani, Y. Asai, M. Yoshida, F. Tokimura, S. Tanaka [et al.] // *BMC Musculoskelet. Dis.* – 2015. – Vol. 16. – P. 305. DOI: 10.1186/s12891-015-0737-5
38. Knee extensor muscle weakness is a risk factor for development of knee osteoarthritis. A systematic review and meta-analysis / B.E. Oiestad, C.B. Juhl, I. Eitzen, J.B. Thorlund // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2015. – Vol. 23, № 2. – P. 171–177. DOI: 10.1016/j.joca.2014.10.008
39. Discovery and analysis of methylation quantitative trait loci (mQTLs) mapping to novel osteoarthritis genetic risk signals / S.J. Rice, K. Cheung, L.N. Reynard, J. Loughlin // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2019. – Vol. 27, № 10. – P. 1545–1556. DOI: 10.1016/j.joca.2019.05.017
40. Potential Role of Gene Regulator NFAT5 in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus / L. Cen, F. Xing, L. Xu, Y. Cao // *J. Diabetes Res.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 6927429. DOI: 10.1155/2020/6927429
41. NFAT5, a constitutively nuclear NFAT protein that does not cooperate with Fos and Jun / C. Lopez-Rodríguez, J. Aramburu, A.S. Rakeman, A. Rao // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96, № 13. – P. 7214–7219. DOI: 10.1073/pnas.96.13.7214
42. Gene expression induced by Toll-like receptors in macrophages requires the transcription factor NFAT5 / M. Buxadé, G. Lunazzi, J. Minguillón, S. Iborra, R. Berga-Bolaños, M. Del Val, J. Aramburu, C. Lopez-Rodríguez // *J. Exp. Med.* – 2012. – Vol. 209, № 2. – P. 379–393. DOI: 10.1084/jem.20111569
43. The xanthine oxidase-NFAT5 pathway regulates macrophage activation and TLR-induced inflammatory arthritis / N.-H. Kim, S. Choi, E.-J. Han, B.-K. Hong, S.-Y. Choi, H. Moo Kwon, S.-Y. Hwang, C.-S. Cho, W.-U. Kim // *Eur. J. Immunol.* – 2014. – Vol. 44, № 9. – P. 2721–2736. DOI: 10.1002/eji.201343669
44. Ширинский В.С., Казыгашева Е.В., Ширинский И.В. Воспаление и иммунитет: роль в патогенезе остеоартрита // *Медицинская иммунология.* – 2019. – Т. 21, № 1. – С. 39–48. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-39-48
45. Новаков В.Б., Новакова О.Н., Чурносков М.И. Факторы риска и молекулярные основы этиопатогенеза остеоартроза коленного сустава (обзор литературы) // *Гений ортопедии.* – 2021. – Т. 27, № 1. – С. 112–120. DOI: 10.18019/1028-4427-2021-27-1-112-120
46. Рогова Л.Н., Липов Д.С. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе остеоартроза // *Волгоградский научно-медицинский журнал.* – 2018. – № 1. – С. 12–16.
47. Huang Q.-Q., Pope R.M. The role of toll-like receptors in rheumatoid arthritis // *Curr. Rheumatol. Rep.* – 2009. – Vol. 11, № 5. – P. 357–364. DOI: 10.1007/s11926-009-0051-z
48. NFAT5 is a critical regulator of inflammatory arthritis / H.-J. Yoon, S. You, S.-A. Yoo, N.-H. Kim, H. Moo Kwon, C.-H. Yoon, C.-S. Cho, D. Hwang, W.-U. Kim // *Arthritis Rheum.* – 2011. – Vol. 63, № 7. – P. 1843–1852. DOI: 10.1002/art.30229
49. A histomorphometric analysis of synovial biopsies from individuals with Gulf War Veterans Illness and joint pain compared to normal and osteoarthritis synovium / F. Pessler, L.X. Chen, L. Dai, C. Gomez-Vaquero, C. Diaz-Torne, M.E. Paessler, C. Scanzello, N. Cakir [et al.] // *Clin. Rheumatol.* – 2009. – Vol. 27, № 9. – P. 1127–1134. DOI: 10.1007/s10067-008-0878-0
50. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data / I. Tachmazidou, K. Hatzikotoulas, L. Southam, J. Esparza-Gordillo, V. Haberland, J. Zheng, T. Johnson, M. Koprulu [et al.] // *Nat. Genet.* – 2019. – Vol. 51, № 2. – P. 230–236. DOI: 10.1038/s41588-018-0327-1
51. Detection and interpretation of shared genetic influences on 42 human traits / J.K. Pickrell, T. Berisa, J.Z. Liu, L. Séguirel, J.Y. Tung, D.A. Hinds // *Nat. Genet.* – 2016. – Vol. 48, № 7. – P. 709–717. DOI: 10.1038/ng.3570

Новаков В.Б., Новакова О.Н., Чурносков М.И. Полиморфизм гена NFAT5 как фактор риска развития остеоартроза коленного сустава // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 4. – С. 137–147. DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.13

UDC 616.728.3-007.248
DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.13.eng



Research article

***NFAT5* GENE POLYMORPHISM AS A RISK FACTOR OF KNEE OSTEOARTHRITIS**

V.B. Novakov^{1,2}, O.N. Novakova¹, M.I. Churnosov¹

¹Belgorod National Research University, 85 Pobedy Str., Belgorod, 308015, Russian Federation

²City Hospital No. 2, 46 Gubkina Str., Belgorod, 308036, Russian Federation

Knee osteoarthritis (OA) is a multifactorial disease with genetic factors playing an important part in its development. Our research goal was to examine associations between polymorphic variants rs1060105 and rs56116847 of SBNO1 gene, rs6499244 of NFAT5 gene and rs34195470 of WWP2 gene and developing stage 4 knee osteoarthritis in people living in the Central Chernozem Region in Russia.

Genotyping of polymorphic loci of candidate genes was accomplished in 95 patients with stage 4 knee osteoarthritis and 500 people without the disease who were included into the reference group. We estimated associations between polymorphic loci of candidate genes and knee OA by using logistic linear regression within the allele, additive, recessive and dominant genetic models with gPLINK software.

*As a result, we replicated an association between a GWAS-significant rs6499244 polymorphism of NFAT5 gene and knee OA in people living in the Central Chernozem Region in Russia. An allele variant A of rs6499244 of NFAT5 gene was established to be “a risk factor” regarding stage 4 knee OA within the additive ($OR = 1.61$, $p_{perm} = 0.02$) and recessive ($OR = 2.07$, $p_{perm} = 0.02$) genetic models. The rs6499244 locus of NFAT5 gene is located in an area of DNase I hypersensitivity; it increases DNA affinity to four transcription factors (*CDP_6*, *RFX5_known1*, *RORalpha1_2*, *TCF4_known1*); it is localized in functionally active promoters and enhancers; it is associated with expression of nine genes (*CLEC18A*, *COG4*, *EXOSC6*, *NFAT5*, *NOB1*, *NPIPBI4P*, *NQO1*, *PDXDC2P*, *SMG1P7*) and alternative mRNA splicing of three genes (*NOB1*, *NPIPBI4P*, *NQO1*) in various organs and tissues in the body including those that are pathogenetically significant for OA (fat tissue, tibial nerves and arteries, and skeletal muscles).*

Keywords: *knee osteoarthritis, NFAT5 gene, polymorphic locus, associations, candidate genes, risk factor, nuclear factor of activated T cells 5, evaluation of functional effects produced by polymorphism.*

References

1. Madry H., Kon E., Condello V., Peretti G.M., Steinwachs M., Seil R., Berruto M., Engebretsen L. [et al.]. Early osteoarthritis of the knee. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 2016, vol. 24, no. 6, pp. 1753–1762. DOI: 10.1007/s00167-016-4068-3
2. Alekseeva L.I., Taskina E.A., Kashevarova N.G. Osteoarthritis: epidemiology, classification, risk factors, and progression, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Sovremennaya Revmatologiya*, 2019, vol. 13, no. 2, pp. 9–21. DOI: 10.14412/1996-7012-2019-2-9-21 (in Russian).
3. Branco J.C., Rodrigues A.M., Gouveia N., Eusébio M., Ramiro S., Machado P.M., da Costa L.P., Mourão A.F. [et al.]. Prevalence of rheumatic and musculoskeletal diseases and their impact on health-related quality of life, physical function and mental health in Portugal: results from EpiReumaPt – a national health survey. *RMD Open*, 2016, vol. 2, no. 1, pp. e000166. DOI: 10.1136/rmdopen-2015-000166
4. Wallace I.J., Worthington S., Felson D.T., Jurmain R.D., Wren K.T., Maijanen H., Woods R.J., Lieberman D.E. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2017, vol. 114, no. 35, pp. 9332–9336. DOI: 10.1073/pnas.1703856114
5. Balabanova R.M., Erdes S.F. Trends in the prevalence of rheumatic diseases in ICD-10 in the adult population of the Russian Federation over 2000–2010. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*, 2012, vol. 50, no. 3, pp. 10–12. DOI: 10.14412/1995-4484-2012-702 (in Russian).
6. Comas M., Sala M., Roman R., Castells X. Impact of the distinct diagnostic criteria used in population-based studies on estimation of the prevalence of knee osteoarthritis. *Gac. Sanit.*, 2010, vol. 24, no. 1, pp. 28–32. DOI: 10.1016/j.gaceta.2009.06.002 (in Spanish).

© Novakov V.B., Novakova O.N., Churnosov M.I., 2022

Vitaliy B. Novakov – postgraduate medical student, traumatologist-orthopedist (e-mail: v.novakov@bk.ru; tel.: +7 (472) 255-85-70; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5337-2156>).

Olga N. Novakova – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor (e-mail: litovkina@bsu.edu.ru; tel.: +7 (472) 230-13-83; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2700-1284>).

Mikhail I. Churnosov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biomedical Disciplines (e-mail: churnosov@bsu.edu.ru; tel.: +7 (472) 230-13-83; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1254-6134>).

7. Bijlsma J.W.J., Berenbaum F., Lafeber F.P.J.G. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet*, 2011, vol. 377, no. 9783, pp. 2115–2126. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60243-2
8. Kim C., Linsenmeyer K.D., Vlad S.C., Guermazi A., Clancy M.M., Niu J., Felson D.T. Prevalence of radiographic and symptomatic osteoarthritis in an urban United States community: the Framingham osteoarthritis study. *Arthritis Rheumatol.*, 2014, vol. 66, no. 11, pp. 3013–3017. DOI: 10.1002/art.38795
9. Zhang Y., Xu L., Nevitt M.C., Aliabadi P., Yu W., Qin M., Lui L.-Y., Felson D.T. Comparison of the prevalence of knee osteoarthritis between the elderly Chinese population in Beijing and whites in the United States: The Beijing Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum.*, 2011, vol. 44, no. 9, pp. 2065–2071. DOI: 10.1002/1529-0131(200109)44:9<2065::AID-ART356>3.0.CO;2-Z
10. Ho-Pham L.T., Lai T.Q., Mai L.D., Doan M.C., Pham H.N., Nguyen T.V. Prevalence of radiographic osteoarthritis of the knee and its relationship to self-reported pain. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 4, pp. e94563. DOI: 10.1371/journal.pone.0094563
11. Nguyen T.V. Osteoarthritis in southeast Asia. *Int. J. Clin. Rheumatol.*, 2014, vol. 9, no. 5, pp. 405–408. Available at: <https://www.openaccessjournals.com/articles/osteoarthritis-in-southeast-asia.pdf> (May 20, 2022).
12. Lee S., Kim S.-J. Prevalence of knee osteoarthritis, risk factors, and quality of life: The Fifth Korean National Health And Nutrition Examination Survey. *Int. J. Rheum. Dis.*, 2017, vol. 20, no. 7, pp. 809–817. DOI: 10.1111/1756-185X.12795
13. Galushko E.A., Nasonov E.L. Prevalence of rheumatic diseases in Russia. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny*, 2018, vol. 46, no. 1, pp. 32–39. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-1-32-39 (in Russian).
14. Panikar V.I., Shcherban E.A., Pavlova I.A. Complex geriatric assessment of osteoarthrosis of knee joints in the senior age. *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskikh issledovaniy*, 2019, vol. 5, no. 1, pp. 131–139. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-10 (in Russian).
15. Matveev R.P., Bragina S.V. Knee joint osteoarthrosis: problems and social significance. *Ekologiya cheloveka*, 2012, vol. 19, no. 9, pp. 53–62. DOI: 10.33396/1728-0869-2012-9-53-62 (in Russian).
16. Novakov V.B., Novakova O.N., Churnosov M.I. Genome-wide studies of knee osteoarthritis: Review. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*, 2021, vol. 27, no. 4, pp. 131–144. DOI: 10.21823/2311-2905-2021-27-1580 (in Russian).
17. Zengini E., Finan C., Wilkinson J.M. The Genetic Epidemiological Landscape of Hip and Knee Osteoarthritis: Where Are We Now and Where Are We Going? *J. Rheumatol.*, 2016, vol. 43, no. 2, pp. 260–266. DOI: 10.3899/jrheum.150710
18. Evangelou E., Kerkhof H.J., Styrkarsdottir U., Ntzani E.E., Bos S.D., Esko T., Evans D.S., Metrustry S. [et al.]. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies novel variants associated with osteoarthritis of the hip. *Ann. Rheum. Dis.*, 2014, vol. 73, no. 12, pp. 2130–2136. DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-203114
19. Meulenbelt I., Chapman K., Dieguez-Gonzalez R., Shi D., Tsezou A., Dai J., Malizos K.N., Kloppenburg M. [et al.]. Large replication study and meta-analyses of DVWA as an osteoarthritis susceptibility locus in European and Asian populations. *Hum. Mol. Genet.*, 2009, vol. 18, no. 8, pp. 1518–1523. DOI: 10.1093/hmg/ddp053
20. Shi D., Zheng Q., Chen D., Zhu L., Qin A., Fan J., Liao J., Xu Z. [et al.]. Association of single-nucleotide polymorphisms in HLA class II/III region with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, vol. 18, no. 11, pp. 1454–1457. DOI: 10.1016/j.joca.2010.07.009
21. Nakajima M., Shi D., Dai J., Tsezou A., Zheng M., Norman P.E., Chou C.-H., Lee M.T.M. [et al.]. A large-scale replication study for the association of rs17039192 in HIF-2 α with knee osteoarthritis. *J. Orthop. Res.*, 2012, vol. 30, no. 8, pp. 1244–1248. DOI: 10.1002/jor.22063
22. Valdes A.M., Styrkarsdottir U., Doherty M., Morris D.L., Mangino M., Tamm A., Doherty S.A., Kisand K. [et al.]. Large scale replication study of the association between HLA class II/BTNL2 variants and osteoarthritis of the knee in European-descent populations. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 8, pp. e23371. DOI: 10.1371/journal.pone.0023371
23. Dai J., Ying P., Shi D., Hou H., Sun Y., Xu Z., Chen D., Zhang G. [et al.]. FTO variant is not associated with osteoarthritis in the Chinese Han population: replication study for a genome-wide association study identified risk loci. *J. Orthop. Surg. Res.*, 2018, vol. 13, no. 1, pp. 65. DOI: 10.1186/s13018-018-0769-2
24. Zhao T., Zhao J., Ma C., Wei J., Wei B., Liu J. Evaluation of Relationship Between Common Variants in FGF18 Gene and Knee Osteoarthritis Susceptibility. *Arch. Med. Res.*, 2020, vol. 51, no. 1, pp. 76–81. DOI: 10.1016/j.arcmed.2019.12.007
25. Li Y., Liu F., Xu X., Zhang H., Lu M., Gao W., Yin L., Yin Z. A novel variant near LSP1P3 is associated with knee osteoarthritis in the Chinese population. *Clin. Rheumatol.*, 2020, vol. 39, no. 8, pp. 2393–2398. DOI: 10.1007/s10067-020-04995-8
26. Shapovalova D.A., Tyurin A.V., Khusainova R.I. Study of locuses associated with osteoarthritis on the basis of the results of full genomic investigations (GWAS) among women from Bashkortostan. *Terapiya*, 2019, vol. 5, no. 7 (33), pp. 91–96. DOI: 10.18565/therapy.2019.7.91-96 (in Russian).
27. Altman R.D. Criteria for classification of clinical osteoarthritis. *J. Rheumatol. Suppl.*, 1991, vol. 27, pp. 10–12.
28. Kellgren J.H., Lawrence J.S. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1957, vol. 16, no. 4, pp. 494–502. DOI: 10.1136/ard.16.4.494
29. Ward L.D., Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease. *Nucleic Acids Res.*, 2016, vol. 44, no. D1, pp. D877–D881. DOI: 10.1093/nar/gkv1340
30. GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissues. *Science*, 2020, vol. 369, no. 6509, pp. 1318–1330. DOI: 10.1126/science.aaz1776
31. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A.R., Bender D., Maller J., Sklar P. [et al.]. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.*, 2007, vol. 81, no. 3, pp. 559–575. DOI: 10.1086/519795
32. Che R., Jack J.R., Motsinger-Reif A.A., Brown C.C. An adaptive permutation approach for genome-wide association study: evaluation and recommendations for use. *BioData Min.*, 2014, vol. 7, pp. 9. DOI: 10.1186/1756-0381-7-9
33. Polonikov A.V., Klyosova E.Yu., Azarova I.E. Bioinformatic tools and internet resources for functional annotation of polymorphic loci detected by genome wide association studies of multifactorial diseases (review). *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskikh issledovaniy*, 2021, vol. 7, no. 1, pp. 15–31. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2 (in Russian).

34. Strebkova E.A., Alekseeva L.I. Osteoarthritis and obesity. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*, 2015, vol. 53, no. 5, pp. 542–552. DOI: 10.14412/1995-4484-2015-542-552 (in Russian).
35. De Boer T.N., van Spil W.E., Huisman A.M., Polak A.A., Bijlsma J.W.J., Lafeber F.P.J.G., Mastbergen S.C. Serum adipokines in osteoarthritis; comparison with controls and relationship with local parameters of synovial inflammation and cartilage damage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2012, vol. 20, no. 8, pp. 846–853. DOI: 10.1016/j.joca.2012.05.002
36. Lee N., Kim D., Kim W.-U. Role of NFAT5 in the Immune System and Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 10, pp. 270. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00270
37. Muraki S., Akune T., Teraguchi M., Kagotani R., Asai Y., Yoshida M., Tokimura F., Tanaka S. [et al.]. Quadriceps muscle strength, radiographic knee osteoarthritis and knee pain: the ROAD study. *BMC Musculoskelet. Dis.*, 2015, vol. 16, pp. 305. DOI: 10.1186/s12891-015-0737-5
38. Oiestad B.E., Juhl C.B., Eitzen I., Thorlund J.B. Knee extensor muscle weakness is a risk factor for development of knee osteoarthritis. A systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, vol. 23, no. 2, pp. 171–177. DOI: 10.1016/j.joca.2014.10.008
39. Rice S.J., Cheung K., Reynard L.N., Loughlin J. Discovery and analysis of methylation quantitative trait loci (mQTLs) mapping to novel osteoarthritis genetic risk signals. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, vol. 27, no. 10, pp. 1545–1556. DOI: 10.1016/j.joca.2019.05.017
40. Cen L., Xing F., Xu L., Cao Y. Potential Role of Gene Regulator NFAT5 in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus. *J. Diabetes Res.*, 2020, vol. 2020, pp. 6927429. DOI: 10.1155/2020/6927429
41. Lopez-Rodríguez C., Aramburu J., Rakeman A.S., Rao A. NFAT5, a constitutively nuclear NFAT protein that does not cooperate with Fos and Jun. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, no. 13, pp. 7214–7219. DOI: 10.1073/pnas.96.13.7214
42. Buxadé M., Lunazzi G., Minguillón J., Iborra S., Berga-Bolaños R., Del Val M., Aramburu J., Lopez-Rodríguez C. Gene expression induced by Toll-like receptors in macrophages requires the transcription factor NFAT5. *J. Exp. Med.*, 2012, vol. 209, no. 2, pp. 379–393. DOI: 10.1084/jem.20111569
43. Kim N.-H., Choi S., Han E.-J., Hong B.-K., Choi S.Y., Moo Kwon H., Hwang S.-Y., Cho C.-S., Kim W.-U. The xanthine oxidase-NFAT5 pathway regulates macrophage activation and TLR-induced inflammatory arthritis. *Eur. J. Immunol.*, 2014, vol. 44, no. 9, pp. 2721–2736. DOI: 10.1002/eji.201343669
44. Shirinsky V.S., Kazygashva E.V., Shirinsky I.V. Inflammation and immunity: a role in the pathogenesis of osteoarthritis. *Meditsinskaya immunologiya*, 2019, vol. 21, no. 1, pp. 39–48. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-39-48 (in Russian).
45. Novakov V.B., Novakova O.N., Churnosov M.I. Risk factors and molecular entities of the etiopathogenesis of the knee osteoarthritis (literature review). *Genii Ortopedii*, 2021, vol. 27, no. 1, pp. 112–120. DOI: 10.18019/1028-4427-2021-27-1-112-120 (in Russian).
46. Rogova L.N., Lipov D.S. The role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of osteoarthrost. *Volgogradskii nauchno-meditsinskii zhurnal*, 2018, no. 1, pp. 12–16 (in Russian).
47. Huang Q.-Q., Pope R.M. The role of toll-like receptors in rheumatoid arthritis. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2009, vol. 11, no. 5, pp. 357–364. DOI: 10.1007/s11926-009-0051-z
48. Yoon H.-J., You S., Yoo S.-A., Kim N.-H., Moo Kwon H., Yoon C.-H., Cho C.-S., Hwang D., Kim W.-U. NFAT5 is a critical regulator of inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2011, vol. 63, no. 7, pp. 1843–1852. DOI: 10.1002/art.30229
49. Pessler F., Chen L.X., Dai L., Gomez-Vaquero C., Diaz-Torne C., Paessler M.E., Scanzello C., Cakir N. [et al.]. Schumacher A histomorphometric analysis of synovial biopsies from individuals with Gulf War Veterans Illness and joint pain compared to normal and osteoarthritis synovium. *Clin. Rheumatol.*, 2009, vol. 27, no. 9, pp. 1127–1134. DOI: 10.1007/s10067-008-0878-0
50. Tachmazidou I., Hatzikotoulas K., Southam L., Esparza-Gordillo J., Haberland V., Zheng J., Johnson T., Koprulu M. [et al.]. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data. *Nat. Genet.*, 2019, vol. 51, no. 2, pp. 230–236. DOI: 10.1038/s41588-018-0327-1
51. Pickrell J.K., Berisa T., Liu J.Z., Ségurel L., Tung J.Y., Hinds D.A. Detection and interpretation of shared genetic influences on 42 human traits. *Nat. Genet.*, 2016, vol. 48, no. 7, pp. 709–717. DOI: 10.1038/ng.3570

Novakov V.B., Novakova O.N., Churnosov M.I. *NFAT5* gene polymorphism as a risk factor of knee osteoarthrosis. *Health Risk Analysis*, 2022, no. 4, pp. 137–147. DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.13.eng

Получена: 11.07.2022

Одобрена: 23.09.2022

Принята к публикации: 01.12.2022