



(51) МПК

G01N 33/58 (2006.01)

C12Q 1/6806 (2018.01)

C12Q 1/6827 (2018.01)

C12Q 1/686 (2018.01)

C12Q 1/6876 (2018.01)

C12Q 1/6883 (2018.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/58 (2023.02); C12Q 1/6806 (2023.02); C12Q 1/6827 (2023.02); C12Q 1/686 (2023.02); C12Q 1/6876 (2023.02); C12Q 1/6883 (2023.02)

(21)(22) Заявка: 2023106402, 17.03.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.03.2023Дата регистрации:
29.05.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 17.03.2023

(45) Опубликовано: 29.05.2023 Бюл. № 16

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ
"БелГУ", Шевцова Ирина Владимировна

(72) Автор(ы):

Новакова Ольга Николаевна (RU),
Новаков Виталий Борисович (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Чурносов Михаил Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2008049225 A1, 02.05.2008. JP
2020178585 A, 05.11.2020. НОВАКОВ В.Б. и др.
Полногеномные исследования остеоартроза
коленного сустава: обзор литературы.
Травматология и ортопедия России. 2021;
27(4): 131-144. AUBOURG G. et al. Genetics of
osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2022 May;
30(5): 636-649. Epub 2021 Mar 17.

(54) Способ прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин на основе молекулярно-генетического тестирования

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к медицинской диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья России. Осуществляют забор венозной крови, выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных локусов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3. При выявлении комбинации генотипов GG rs143384 гена GDF5 и GG rs11177

гена GNL3 прогнозируют высокий риск развития остеоартроза коленного сустава у женщин. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья России и не имеющих родства между собой, на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных вариантов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3. 2 ил., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 33/58 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)
C12Q 1/6827 (2018.01)
C12Q 1/686 (2018.01)
C12Q 1/6876 (2018.01)
C12Q 1/6883 (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/58 (2023.02); *C12Q 1/6806* (2023.02); *C12Q 1/6827* (2023.02); *C12Q 1/686* (2023.02); *C12Q 1/6876* (2023.02); *C12Q 1/6883* (2023.02)

(21)(22) Application: **2023106402, 17.03.2023**

(24) Effective date for property rights:
17.03.2023

Registration date:
29.05.2023

Priority:

(22) Date of filing: **17.03.2023**

(45) Date of publication: **29.05.2023** Bull. № 16

Mail address:

**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",
Shevtsova Irina Vladimirovna**

(72) Inventor(s):

**Novakova Olga Nikolaevna (RU),
Novakov Vitalii Borisovich (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Churnosov Mikhail Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD OF PREDICTING THE RISK OF OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE JOINT IN WOMEN
BASED ON MOLECULAR GENETIC TESTING**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; medical diagnostics.

SUBSTANCE: invention can be used to predict the risk of developing osteoarthritis of the knee joint in women of Russian nationality, who are natives of the Central Black Earth Region of Russia. Venous blood sampling, DNA extraction from peripheral venous blood, analysis of polymorphic loci rs143384 of the GDF5 gene and rs11177 of the GNL3 gene are carried out. When a combination of genotypes GG rs143384 of the GDF5 gene and GG rs11177 of the GNL3 gene

is detected, a high risk of developing osteoarthritis of the knee joint in women is predicted.

EFFECT: method provides for obtaining new criteria for assessing the risk of developing osteoarthritis of the knee joint in women of Russian nationality, who are natives of the Central Black Earth Region of Russia and are not related to each other, based on data on interlocus interaction of polymorphic variants rs143384 of GDF5 gene and rs11177 of GNL3 gene.

1 cl, 2 dwg, 4 ex

C 1
2 7 9 6 8 9 7
R U

R U
2 7 9 6 8 9 7
C 1

Изобретение относится к области медицинской диагностики и предназначено для прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин по генетическим данным.

Остеоартроз (ОА) – это гетерогенная группа заболеваний различной этиологии, имеющих сходные биологические, морфологические и клинические проявления, при которых в патологический процесс вовлечены все структуры сустава, такие как хрящ, связки, субхондральная кость, синовиальная оболочка, периартикулярные мышцы, суставная капсула [Насонов Е.Л., Насонова В.А. Ревматология: национальное руководство. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. 752 с.]. Среди остеоартроза крупных суставов одну из актуальных проблем современного здравоохранения представляет собой ОА коленного сустава [Матвеев Р.П., Брагина С.В. Остеоартроз коленного сустава: проблемы и социальная значимость Экология человека. 2012;9:53-62]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения 9,6% мужчин и 18,0% женщин старше 60 лет во всем мире имеют симптоматический ОА. Следует отметить, что рентгенологические признаки ОА встречаются у большинства лиц старше 65 лет. Считается, что коленные суставы чаще других поражаются остеоартрозом [Deshpande V.R., Katz J.N., Solomon D.H. et al. Number of Persons With Symptomatic Knee Osteoarthritis in the US: Impact of Race and Ethnicity, Age, Sex, and Obesity. Arthritis Care Res. (Hoboken). 2016;68(12):1743-1750].

Среди взрослого населения России у ревматологических больных основную часть составляют пациенты с остеоартрозом (более 4 млн. на 2012-2013 гг.), причем свыше половины из них (около 2,5 млн. человек) приходится на лиц старше трудоспособного возраста [Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Распространенность ревматических заболеваний в России в 2012-2013 гг. Научно-практическая ревматология. 2015;53(2):120-124]. Почти у 80% больных ОА имеются некоторые ограничения в движениях, а 25% пациентов отмечают невозможность выполнения повседневных движений. Остеоартроз коленного сустава приводит к существенному снижению работоспособности и инвалидизации людей трудоспособного возраста [Матвеев Р.П., Брагина С.В. Остеоартроз коленного сустава: проблемы и социальная значимость Экология человека. 2012;9:53-62]. Следует также отметить, что пациенты с прогрессирующим ОА коленного сустава находятся в группе риска тотального эндопротезирования, являющегося, несомненно, эффективным методом лечения, но достаточно дорогостоящим [Weinstein A.M., Rome V.N., Reichmann W.M. et al. Estimating the burden of total knee replacement in the United States. J. Bone Joint Surg. Am. 2013;95(5):385-392]. Согласно регистру эндопротезирования РНИИТО им. Р. Вредена наблюдается ежегодный прирост больных младше 55 лет, которые получают эндопротезирование коленного сустава [Корнилов Н.Н., Куляба Т.А., Филь А.С. и др. Данные регистра эндопротезирования коленного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2011–2013 годы. 2015;1:137-152.].

Ранее считалось, что ОА коленного сустава является следствием возрастного «износа» суставов [Millerand M., Berenbaum F., Jacques C. Danger signals and inflammaging in osteoarthritis. Clin. Exp. Rheumatol. 2019;37:48-56]. В настоящее время ОА рассматривают как сложное дегенеративное заболевание суставов, возникающее в результате взаимодействия местных и системных факторов риска [Abramoff B., Caldera F.E. Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. Med. Clin. North.Am. 2020;104(2):293-311]. Среди системных факторов риска ОА выделяют женский пол [Zhang Y., Jordan J.M. Epidemiology of osteoarthritis. Clin. Geriatr. Med. 2010;26(3):355-69]. Женщины чаще мужчин страдают ОА, особенно после 50 лет, и имеют более тяжёлое течение заболевания [Litwic A., Edwards M.H., Dennison E.M. et al. Epidemiology and burden of

osteoarthritis. Br. Med. Bull. 2013;105:185-99]. Также женщины чаще подвержены эндопротезированию тазобедренного или коленного суставов по сравнению с мужчинами [Maradit Kremers H., Larson D.R., Crowson C.S. et al. Prevalence of Total Hip and Knee Replacement in the United States. J. Bone Joint Surg. Am. 2015;97(17):1386-97], однако мужской пол имеет большие риски ревизионных операций после артропластики коленного сустава [Santaguida P.L., Hawker G.A., Hudak P.L. et al. Patient characteristics affecting the prognosis of total hip and knee joint arthroplasty: a systematic review. Can. J. Surg. 2008;51(6):428-36]. Причины таких различий в проявлении и развитии ОА коленного сустава у разных полов скорее всего имеют многофакторную природу и могут определяться различиями в анатомическом строении суставов у мужчин и женщин, предшествующей травмой, гормональным статусом, генетическими факторами, [Name S.L., Alexander R.A. Knee osteoarthritis in women. Curr. Rev. Musculoskelet Med. 2013;6(2): 182-7].

ОА коленного сустава является полиэтиологическим заболеванием, обусловленным влиянием ряда факторов, среди которых особо выделяют генетические (наследственные) факторы [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;43(2):260-266]. Генетические основы ОА на основе полногеномного поиска ассоциаций, активно изучаются различными научными коллективами. За период с 2008 года по настоящее время (декабрь 2022 года) выполнено более 20 полногеномных исследований ОА, в результате которых установлено 124 GWAS-значимых полиморфных локусов, ассоциированных с риском развития ОА [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=osteoarthritis,%20knee>]. При этом стоит отметить, что проведённые репликативные исследования ОА коленного сустава подтвердили связь с заболеванием лишь для единичных локусов. А в Российской Федерации выполнено только одно репликативное исследование ОА у женского населения Башкортостана [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;7(33):91–96].

Согласно каталогу GWAS (на момент обращения – декабрь 2022 года) полиморфный генетический маркер rs143384 гена GDF5 показал связь ОА в трёх ранее проведённых полногеномных исследованиях ($p \leq 5 \times 10^{-08}$). В двух GWAS исследованиях установлено, что аллельный вариант А имеет рисковое значение в развитии гонартроза (OR=1,1) [Tachmazidou I., Hatzikotoulas K. et al. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data. Nat. Genet. 2019;51(2):230-236], (OR=1,10) [Styrkarsdottir U., Lund S.H., Thorleifsson G., Zink F. et al. Meta-analysis of Icelandic and UK data sets identifies missense variants in SMO, IL11, COL11A1 and 13 more new loci associated with osteoarthritis. Nat. Genet. 2018;50(12):1681-1687] у европейцев. В мета-анализе GWAS данных C.G. Voer et al. (2021) на смешанных выборках из Европы и Азии (изучались девять популяций) также установлена связь аллеля А rs143384 гена GDF5 с развитием гонартроза (OR=1,07) [Voer C.G., Hatzikotoulas K., Southam L. et al. Deciphering osteoarthritis genetics across 826,690 individuals from 9 populations. Cell. 2021;184(18):4784-4818.e17].

Ассоциации локуса rs11177 гена GNL3 с ОА были установлены в двух ранее опубликованных GWAS у европейцев [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=osteoarthritis,%20knee>]. Согласно результатам, полученным в этих полногеномных исследованиях, аллель А rs11177 гена GNL3 является фактором риска развития ОА в целом (OR=1,09) [Zeggini E., Panoutsopoulou K., Southam L., et al. Identification of new susceptibility loci for osteoarthritis (arcOGEN): a genome-wide association study. Lancet. 2012;

380(9844):815-823] и ОА тазобедренного сустава (OR=1,07) [Styrkarsdottir U., Lund S.H., Thorleifsson G., Zink F. et al. Meta-analysis of Icelandic and UK data sets identifies missense variants in SMO, IL11, COL11A1 and 13 more new loci associated with osteoarthritis. Nat. Genet. 2018;50(12):1681-1687].

5 В Российской Федерации исследования вовлеченности генов GDF5 и GNL3 в формирование предрасположенности к ОА единичны и фрагментарны, а данные о роли комбинации генотипов генов GDF5 и GNL3 в развитии ОА коленного сустава у женщин отсутствуют. Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охранным документам за период с 1990 по 2022 гг. Анализ документов производился
10 по направлению: способ прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин на основе молекулярно-генетических данных о полиморфных маркерах генов GDF5 и GNL3. Источники информации: сайт Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

В изученной патентной и научно-медицинской литературе авторами не было
15 обнаружено способа прогнозирования риска развития ОА коленного сустава у женщин на основе данных о межлокусном взаимодействии и на основе данных о комбинации генотипов генов GDF5 и GNL3.

Известен патент RU № 2600860 (опубл. 27.10.2016), который описывает способ прогнозирования предрасположенности к развитию посттравматического остеоартроза
20 коленного сустава, заключающийся в том, что выделяют ДНК из периферической венозной крови и анализируют полиморфизм гена rs2276109 (A-82G) гена MMP-12. При выявлении генотипа GG диагностируют генетическую предрасположенность к развитию посттравматического остеоартроза коленного сустава. Недостатками данного способа является возможность его использования только для определения риска
25 развитию только посттравматического ОА коленного сустава, при оценке риска развития ОА включают данные только об одном полиморфном локусе, половая специфичность не учитывается.

Известен патент № 2558990 (опубл. 10.08.2015), в котором описан Способ прогнозирования риска возникновения остеоартроза у лиц с гипермобильностью
30 суставов. Данный способ основан на определении объема движений в суставах кистей (при проведении 9 тестов). Дополнительно выявляют из анамнеза жизни возраст дебюта суставных болей и определяют наличие симптома «щелкающего» бедра (чувство щелчка в тазобедренном суставе, систематически возникающее при вставании, ходьбе или вращательных движениях ног). Далее определяют процент риска развития
35 остеоартроза (высокий, средний, низкий риск) у лиц с гипермобильностью суставов. При наличии у лиц с гипермобильностью суставов дебюта суставных болей в возрасте до 38 лет и четырех и более выполненных тестов на объем движений в суставах кистей риск развития остеоартроза составляет 100%. У лиц с гипермобильностью суставов, дебютом суставных болей в возрасте 38 лет и более, наличием двух и более выполненных
40 тестов на объем движений в суставах кистей риск развития остеоартроза составляет 69,6%. У лиц с гипермобильностью суставов, дебютом суставных болей в возрасте 38 лет и более, выполнением менее двух тестов на объем движений в суставах кистей и наличием симптома «щелкающего» бедра риск развития остеоартроза составляет 25%. У лиц с гипермобильностью суставов, дебютом суставных болей в возрасте 38 лет и
45 более, выполнением менее двух тестов на объем движений в суставах кистей при отсутствии симптома «щелкающего» бедра риск развития остеоартроза составляет 0%. Существенными недостатками данного способа являются: 1) Большое число включаемых параметров, что определяет низкую воспроизводимость предложенного

способа, а также сложность в проведении большого числа требуемых манипуляций; 2) Данный способ не предусматривает включение в расчет оценки риска развития ОА генетических маркеров, вклад которых в формирование заболевания более 50%.

Известен патент RU №2249210 (опубл. 27.03.2005), в котором описан «Способ прогнозирования предрасположенности к развитию и тяжести течения деформирующего остеоартроза коленного сустава у взрослых». С помощью выявления генотипа, гомозиготного по функционально неполноценному аллелю t гена рецептора 1,25-дигидроксивитамина D3, VDR позволяет прогнозировать предрасположенность к развитию деформирующего остеоартроза коленного сустава. Данный способ осуществляется путем смешивания компонентов реакционной смеси и добавления олигопраймеров, путем полимеразной цепной реакции с последующей рестрикцией полученного продукта и визуализацией электрофореграммы в вертикальном полиакриламидном геле. В данном способе генетическую предрасположенность определяют путем анализа полиморфизма Taq I гена VDR методом полимеразной цепной реакции с использованием следующих праймеров: 5'-GATGATCCAGAAGCTAGCCGACCT-3' и 5'-GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCT-3'. На основании результата анализа электрофореграммы составляют клиническую интерпретацию, при этом наличие функционально неполноценного генотипа tt по полиморфизму Taq I гена VDR интерпретируют как предрасположенность к высокому риску развития тяжелой формы деформирующего остеоартроза коленного сустава. (в популяции Северо-Западного региона Российской Федерации). Недостатками данного способа является: 1) Возможность его использования только для определения предрасположенности к развитию деформирующего ОА коленного сустава; 2) При оценке риска развития ОА включают данные только об одном полиморфном локусе; 3) Не учитывается половая специфичность.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава, т.е. разработка способа прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных вариантов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3.

Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья России и не имеющих родства между собой, на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных вариантов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3;
- прогнозирование высокого риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин русской национальности, уроженок Центрального Черноземья России при выявлении комбинации генотипов rs143384 GG гена GDF5 x rs11177 GG гена GNL3.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития остеоартроза коленного сустава у женщин русской национальности уроженок Центрального Черноземья России на основе данных о комбинации генотипов rs143384 GG гена GDF5 x rs11177 GG гена GNL3.

Способ осуществляют следующим образом:

Геномную ДНК из периферической крови выделяют методом фенольно-хлороформной экстракции [Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic. Acids. Res. 1988;16(3):1215]

в два этапа. На первом этапе к 4 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320 мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5 мМ МДС1 г, ЮмМ трис-НСl (рН=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об/мин. в течение 20 минут. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (рН=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспендируют. Затем прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10 мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК равными объемами фенола, фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с центрифугированием при 4000 об/мин. в течение 10 минут. После каждого центрифугирования производят отбор водной фазы. ДНК осаждают из раствора двумя объемами охлажденного 96% этанола. После лиофилизации полученную ДНК растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20°C.

Анализ полиморфных маркеров rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3 осуществляют методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на термоциклере CFX-96 Real-Time System (Bio-Rad) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов (синтезированы в ООО «Тест -Ген» (Ульяновск)).

Аmplification геномной ДНК производят в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для ПЦР LOXL1 или CDKN2B-AS1 - 4 мкл, Taq-полимеразу - 2 мкл, исследуемый образец (-30 нг ДНК/мкл) - 1 мкл, деионизованная вода - 3 мкл.

Генотипирование исследуемых образцов осуществляли с использованием программного обеспечения «CFX-Manager™» методом дискриминации аллелей по величинам относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) (фиг. 1, фиг. 2).

Изобретение характеризуется фигурами:

Фиг. 1. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs143384 гена GDF5: ■-GG, ●-AA, ▲-AG, ◆-отрицательный контроль.

Фиг. 2. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs11177 гена GNL3: ■-GG, ●-AA, ▲-AG, ◆-отрицательный контроль.

Анализ ассоциации изучаемых полиморфных локусов с риском развития ОА коленного сустава у населения русской национальности проведен на основе расчета показателей отношения шансов (OR) и его 95% доверительного интервала (95% CI). Методом логистической регрессии проведены расчёты в программе PLINK (электронный ресурс <http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>) согласно четырех генетических моделей с введением поправок на ковариаты (возраст, пол, индекс массы тела, наследственная отягощённость, наличие заболеваний сердечно-сосудистой, опорно-двигательной, эндокринной систем) и множественные сравнения (применялся адаптивный пермутационный тест). Для изучения SNP x SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием ОА коленного сустава, использовалась модификация метода MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) – MB-MDR. Выполнение MB-MDR проводилось в одноименной программе (версия 2.6) в среде R [Calle M.L., Urrea V., Malats N. et al. Mbmdr: an R package for exploring gene-gene interactions associated with binary or quantitative traits. *Bioinformatics*. 2010;26(17):2198-2199].

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития ОА коленного сустава у женщин подтверждает анализ результатов

наблюдений 590 лиц женского пола, из которых 292 больных ОА коленного сустава и 298 женщин контрольной группы (ОА отсутствовал). Среди больных средний возраст $53,33 \pm 5,46$ лет, в контрольной группе – $52,87 \pm 6,79$ лет. Изучаемые группы включали женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой. В группу больных были включены женщины с диагнозом ОА коленного сустава, подтвержденного необходимыми методами исследования в клинических условиях. Критерии включения: 1) возраст от 40 лет; 2) диагностированный первичный ОА коленного сустава II-IV стадии по J. Kellgren – J. Lawrence; 3) наличие добровольного информированного согласия на исследование.

Критерии исключения: 1) не русская национальность, проживание и/или рождение вне Центрально-Чернозёмного региона России; 2) наличие тяжелых форм артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, сахарного диабета, почечно-печеночной недостаточности, онкологических заболеваний, системных заболеваний соединительной ткани, травм суставов в анамнезе, воспалительные заболевания суставов, врожденных пороков развития опорно-двигательной системы; 3) отказ от участия в исследовании.

Больные обследовались на базе травматологических отделений №1 и №2 ОГБУЗ «Городская больница №2 г. Белгорода». Все необходимые процедуры по осмотру и обследованию больных и индивидов контрольной группы проводили с их информированного согласия. Исследование проводили под контролем этического комитета медицинского института НИУ «БелГУ».

Типирование молекулярно-генетических маркеров осуществляли на кафедре медико-биологических дисциплин медицинского института НИУ «БелГУ». При изучении SNP x SNP взаимодействий наиболее значимой двухлокусной моделью, вовлеченной в формирование ОА коленного сустава у женщин, является rs143384 гена GDF5 x rs11177 гена GNL3 ($P_{perm}=0,007$). С развитием ОА коленного сустава ассоциирована комбинация генотипов rs143384 GG гена GDF5 x rs11177 GG гена GNL3 ($\beta=0,90$, $p=0,026$), которая определяет риск развития заболевания.

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа проведено генетическое обследование женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой проведено генетическое обследование по локусам rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3:

У пациентки Д. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3 была выявлена комбинации rs143384 GG гена GDF5 x rs11177 GG гена GNL3, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития ОА коленного сустава. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз остеоартроз коленного сустава у пациентки.

У пациента У. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3 была выявлена комбинации генотипов rs143384 AA гена GDF5 x rs11177 AG гена GNL3, что позволило отнести пациентку в группу с низким риском развития ОА коленного сустава. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз остеоартроз коленного сустава у пациентки.

У пациентки Ж. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3 была выявлена комбинации генотипов rs143384 AA гена GDF5 x rs11177 AA гена GNL3, что позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития ОА коленного сустава. Дальнейшее наблюдение пациентки не

подтвердило диагноз остеоартроз коленного сустава.

У пациентки З. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3 была выявлена комбинация rs143384 GG гена GDF5 x rs11177 GG гена GNL3, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития ОА коленного сустава. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз остеоартроз коленного сустава у пациентки.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди женщин группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития остеоартроза коленного сустава.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья России, включающий забор венозной крови, выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных локусов rs143384 гена GDF5 и rs11177 гена GNL3, прогноз высокого риска развития остеоартроза коленного сустава у женщин осуществляют при выявлении комбинации генотипов rs143384 GG гена GDF5 x rs11177 GG гена GNL3.

20

25

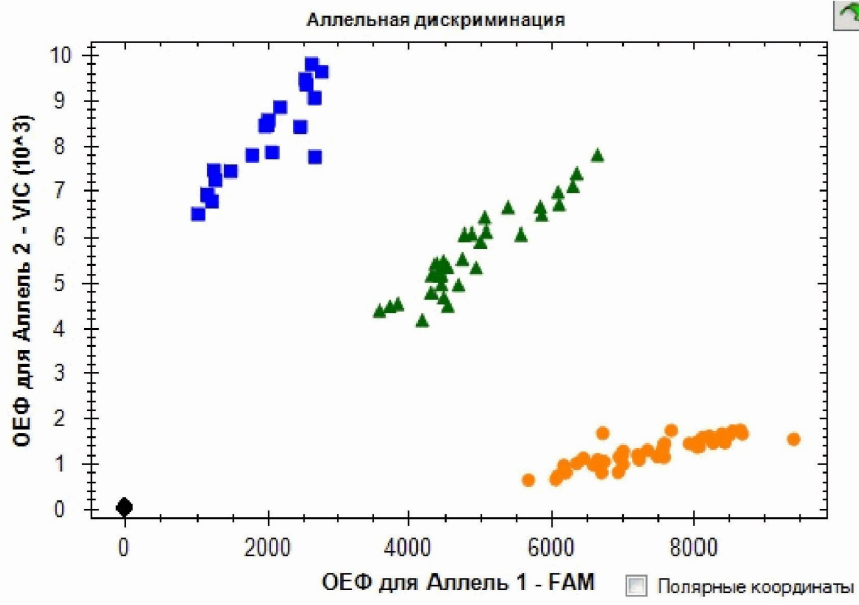
30

35

40

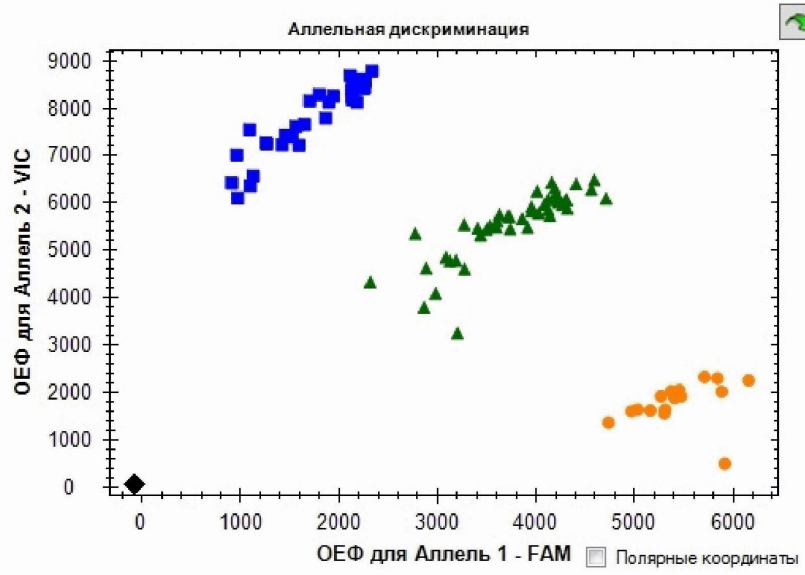
45

1



Фигура 1

2



Фигура 2