



<https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.077>

ISSN 2070-4909 (print)

ISSN 2070-4933 (online)

# Перспективы персонификации профилактики и терапии остеоартрита на основании анализа коморбидного фона, генетических полиморфизмов и микроэлементного статуса

Торшин И.Ю.<sup>1,2</sup>, Лиля А.М.<sup>3,4</sup>, Наумов А.В.<sup>5</sup>, Сардарян И.С.<sup>6</sup>, Богачева Т.Е.<sup>7</sup>, Гришина Т.Р.<sup>7</sup>, Гоголева И.В.<sup>7</sup>, Лиманова О.А.<sup>7</sup>, Громова О.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт фармакоинформатики Федерального исследовательского центра «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 4, Москва 2119333, Россия)

<sup>2</sup> Центр хранения и анализа больших данных Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» (Ленинские Горы, д. 1, Москва 119991, Россия)

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (Каширское ш., д. 34А, Москва 115522, Россия)

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, Москва 125993, Россия)

<sup>5</sup> Российский геронтологический научно-клинический центр Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. 1-я Леонова, д. 16, Москва 129226, Россия)

<sup>6</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Литовская, д. 2, Санкт-Петербург 194100, Россия)

<sup>7</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Шереметевский пр-т, д. 8, Иваново 153012, Россия)

Для контактов: Громова Ольга Алексеевна, e-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

## РЕЗЮМЕ

**Цель:** анализ коморбидности остеоартрита (ОА) с учетом микроэлементного статуса и генетических полиморфизмов обследованных пациентов, определение перспектив профилактики и терапии ОА.

**Материал и методы.** Проведено кросс-секционное исследование мультиэтнической когорты (n=655, средний возраст 43±14 лет, 95% ДИ 29–70), сформированной на основании базы данных Института микроэлементов. Для всех участников было определено содержание профиля 62 элементов таблицы Д.И. Менделеева в волосах и установлены варианты 120 нуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с различными патологиями.

**Результаты.** Исследование показало, что с ОА были коморбидны 18 из 27 исследованных диагнозов по МКБ-10. Коморбидными остеоартриту были патологии с выраженным компонентом воспаления (язвенный колит, атеросклероз, энцефалопатия неуточненная, ожирение, сахарный диабет, эссенциальная (первичная) гипертензия, камни почки и мочеточника, острый инфаркт миокарда, желчнокаменная болезнь и др.). Установлено ядро коморбидности ОА, включающее патологии: хроническая ишемия мозга, сахарный диабет, тромбоз, атеросклероз, желчнокаменная болезнь. Определены 7 профилей наиболее частых сочетаний этих диагнозов. Наличие 2 из 5 этих патологий было зафиксировано у 92% больных ОА (n=50) и только у 2% пациентов в контроле (n=600), чему соответствовало чрезвычайное повышение риска ОА (ОШ 56,3; 95% ДИ 17,4–181,6; p<10–20). Анализ профилей содержания 62 элементов таблицы Д.И. Менделеева в волосах показал, что с ОА достоверно ассоциированы сниженные уровни кремния, молибдена, ванадия и кальция. В результате изучения данных по 120 нуклеотидным полиморфизмам ОА был достоверно ассоциирован с генотипами LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS3 E298D GG и MTHFR 677 CC, регулирующими обмен липидов и воспаление.

**Заключение.** Показаны перспективы применения хондроитина сульфата и глюкозамина сульфата у пациентов с повышенным риском развития ОА, установленным на основании полученных результатов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА**

Остеоартрит, коморбидность, микроэлементы, генетические полиморфизмы, хондропротекторы.

**Статья поступила:** 22.12.2020 г.; **в доработанном виде:** 23.12.2020 г.; **принята к печати:** 12.01.2021 г.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия конфликта интересов в отношении данной публикации.

**Вклад авторов**

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Финансирование**

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-07-00537.

**Для цитирования**

Торшин И.Ю., Лиля А.М., Наумов А.В., Сардарян И.С., Богачева Т.Е., Гришина Т.Р., Гоголева И.В., Лиманова О.А., Громова О.А. Перспективы персонификации профилактики и терапии остеоартрита на основании анализа коморбидного фона, генетических полиморфизмов и микроэлементного статуса. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2021; 14 (1): 29–40. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2021.077>.

**Perspectives of osteoarthritis prevention and therapy personification based on the analysis of comorbid background, genetic polymorphisms and microelement status**

Torshin I.Yu.<sup>1,2</sup>, Lila A.M.<sup>3,4</sup>, Naumov A.V.<sup>5</sup>, Sardaryan I.S.<sup>6</sup>, Bogacheva T.E.<sup>7</sup>, Grishina T.R.<sup>7</sup>, Gogoleva I.V.<sup>7</sup>, Limanova O.A.<sup>7</sup>, Gromova O.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center "Informatics and Management", Russian Academy of Sciences (4 Vavilov Str., Moscow 2119333, Russia)

<sup>2</sup> Big Data Storage and Analysis Center, Lomonosov Moscow State University (1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia)

<sup>3</sup> Nasonov Research Institute of Rheumatology (34A Kashirskoye Shosse, Moscow 115522, Russia)

<sup>4</sup> Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (2/1bld1 Barrikadnaya Str., Moscow 125993, Russia)

<sup>5</sup> Russian Gerontological Research and Clinical Center, Pirogov Russian National Research Medical University (16 Pervaya Leonov Str., Moscow 129226, Russia)

<sup>6</sup> Saint Petersburg State Pediatric Medical University (2 Litovskaya Str., Saint Petersburg 194100, Russia)

<sup>7</sup> Ivanovo State Medical Academy (8 Sheremetevskiy Prospect, Ivanovo 153012, Russia)

**Corresponding author:** Olga A. Gromova, e-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

**SUMMARY**

**Objective:** analysis of the osteoarthritis (OA) comorbidity taking into account the microelement status and genetic polymorphisms of the examined patients, determination of the prospects for the OA prevention and therapy.

**Material and methods.** A cross-sectional study of a multiethnic cohort (n=655, mean age 43±14 years, 95% CI 29–70) formed on the basis of the Institute of Microelements database, was carried out. For all participants, the content of the 62 elements of the Element Periodic Table profile in hair was identified and variants of 120 nucleotide polymorphisms associated with various pathologies were defined

**Results.** The study found that 18 of the 27 ICD-10 diagnoses examined were comorbid with OA. Osteoarthritis was comorbid with pathologies with a pronounced component of inflammation (ulcerative colitis, atherosclerosis, unspecified encephalopathy, obesity, diabetes mellitus, essential (primary) hypertension, urine calculus, acute myocardial infarction, cholelithiasis, etc.). The core of OA comorbidity was established, which included following pathologies: chronic cerebral ischemia, diabetes mellitus, thrombophlebitis, atherosclerosis, cholelithiasis. Seven profiles of the most frequent combinations of these diagnoses were identified. The presence of 2 out of 5 of these pathologies was recorded in 92% of patients with OA (n=50) and only in 2% of control patients (n=600), which corresponded to an extreme increase in the risk of OA (OR 56.3, 95% CI 17.4–181.6, p<10–20). Analysis of the 62 elements profile of the Element Periodic Table content in hair showed that reduced levels of silicon, molybdenum, vanadium and calcium are significantly associated with OA. As a result of studying data on 120 nucleotide polymorphisms, OA was significantly associated with the LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS3 E298D GG, and MTHFR 677 CC genotypes, which regulate lipid metabolism and inflammation.

**Conclusion.** Based on the obtained results the prospects for the use of chondroitin sulfate and glucosamine sulfate in patients with an increased risk of OA development are shown.

**KEYWORDS**

Osteoarthritis, comorbidity, microelements, genetic polymorphisms, chondroprotective agents.

**Received:** December 22, 2020; **in the revised form:** December 23, 2020; **accepted:** January 12, 2021

**Conflict of interests**

The authors declare they have nothing to disclose regarding conflict of interests with respect to this manuscript.

**Authors' contribution**

The authors contributed equally to this article.

**Funding**

The work was supported by the RFBR grant No. 20-07-00537.

**For citation**

Torshin I.Yu., Lila A.M., Naumov A.V., Sardaryan I.S., Bogacheva T.E., Grishina T.R., Gogoleva I.V., Limanova O.A., Gromova O.A. Perspectives of osteoarthritis prevention and therapy personification based on the analysis of comorbid background, genetic polymorphisms and microelement status. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2021; 14 (1): 29–40 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2021.077>.

**Основные моменты****Что уже известно об этой теме?**

- ▶ В большинстве случаев остеоартрит (ОА) сопровождается коморбидными патологиями, которые существенно утяжеляют течение ОА
- ▶ Риск развития коморбидных состояний зависит от генетических факторов
- ▶ Исследования взаимосвязи коморбидности ОА с другими хроническими патологиями с одновременным учетом микроэлементного статуса и генетических полиморфизмов ранее не проводились

**Что нового дает статья?**

- ▶ Установлено ядро коморбидности ОА, включающее хроническую ишемию мозга, сахарный диабет, тромбоз, атеросклероз, желчнокаменную болезнь, определены 7 профилей наиболее частых сочетаний этих диагнозов
- ▶ С ОА достоверно ассоциированы сниженные уровни кремния, молибдена, ванадия и кальция в волосах
- ▶ ОА достоверно ассоциирован с генотипами LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS3

**Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?**

- ▶ Профилактика желчнокаменной болезни, атеросклероза и тромбоза, относящихся к ядру коморбидности ОА, может начинаться на несколько лет раньше ОА, что следует расценивать как временной резерв для предотвращения патологий
- ▶ Комплексная профилактика ОА должна включать кинезотерапию, диетотерапию, компенсацию микронутриентных дефицитов (витамина D, омега-3, кальция, магния и др.), восстановление здоровой флоры (микробиома), снижение риска инсулинорезистентности, ожирения
- ▶ Применение препаратов хондроитина сульфата и глюкозамина сульфата является важным ресурсом повышения эффективности программ комплексной профилактики ОА

**Highlights****What is already known about the subject?**

- ▶ In most cases, osteoarthritis (OA) is accompanied by comorbid pathologies that significantly aggravate the course of OA
- ▶ The risk of developing comorbid conditions depends on genetic factors
- ▶ Studies of the relationship of OA comorbidity with other chronic pathologies, while taking into account the microelement status and genetic polymorphisms, have not been previously conducted

**What are the new findings?**

- ▶ The core of OA comorbidity including chronic cerebral ischemia, diabetes mellitus, thrombophlebitis, atherosclerosis, cholelithiasis, and 7 profiles of the most frequent combinations of these diagnoses were established
- ▶ Decreased hair levels of silicon, molybdenum, vanadium and calcium are significantly associated with OA
- ▶ OA is significantly associated with LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS3 E298D GG, and MTHFR 677 CC genotypes, which regulate lipid metabolism and inflammation

**How might it impact the clinical practice in the foreseeable future?**

- ▶ Prophylaxis of cholelithiasis, atherosclerosis and thrombophlebitis, belonging to the core of OA comorbidity, may start several years earlier, which should be regarded as a time reserve for prevention
- ▶ Comprehensive OA prevention should include kinesiotherapy, diet therapy, compensation of micronutrient deficiencies (vitamin D, omega-3, calcium, magnesium, etc.), restoration of healthy flora (microbiome), reducing the risk of insulin resistance, and obesity
- ▶ The use of chondroitin sulfate and glucosamine sulfate preparations is an important resource for increasing the effectiveness of comprehensive OA prevention programs

**ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION**

Остеоартрит (ОА) подразумевает поражение всех компонентов сустава (хряща, субхондрального участка кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы, периартикулярных мышц) и характеризуется деградацией внеклеточного матрикса вследствие усиления воспалительных реакций, макро- и микротравматизации тканей. По разным оценкам, ОА встречается у 2–5% населения моложе 45 лет, у 30–35% в возрасте 45–65 лет и у 63–85% старше 65 лет [1].

В большинстве случаев ОА сопровождается коморбидными патологиями. Например, в крупномасштабном клинико-эпидемиологическом исследовании с участием 7714 человек метаболический синдром обнаружен у 59% пациентов с ОА и только у 23%

больных без ОА. Наличие каждого дополнительного компонента метаболического синдрома повышало риск ОА в 2,3 раза (95% ДИ 1–5,7), а наличие трех и более компонентов соответствовало 10-кратному повышению риска ОА (95% ДИ 3,6–27,1) [2]. Почти 90% пациентов многопрофильных стационаров жалуются на хроническую боль в суставах, а 60% – на выраженные функциональные ограничения подвижности суставов [3].

Коморбидные состояния существенно утяжеляют течение ОА. По результатам анализа когорты из 845 больных, наличие сахарного диабета 2-го типа (СД2) или ишемической болезни сердца (ИБС) при ОА кистей рук снижало шансы положительной динамики ОА [4]. Лонгитюдное исследование другой когорты (3857 пациентов), проводившееся в течение 18 лет, показало, что боль-

шему числу коморбидных состояний (ожирение, СД2, ИБС и др.) соответствует более тяжелое течение ОА колена [5].

Коморбидность, включая избыточный индекс массы тела, наряду с возрастом, синовитом и степенью тяжести при первичном обращении выделена в основные факторы риска прогрессирования ОА [6].

Совместная встречаемость ОА, ИБС, СД2 и ряда других заболеваний вполне ожидаема, т.к. в основе их патогенеза лежит хроническое неспецифическое воспаление. Например, развитие атеросклероза при ИБС сопровождается не только дислипидемией, но и 1) дисфункцией эндотелия сосудов, 2) избыточным перекисным окислением липидов на фоне дефицита эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот, 3) аутоиммунным компонентом (нарушение функции макрофагов), 4) микробиологическими факторами (вирусы герпеса, цитомегаловирус, бактерии и др.) [7]. Инсулинорезистентность при СД2 приводит к образованию избыточных количеств продуктов гликирования, которые также стимулируют воспаление хряща и т.д.

Воспаление играет важную роль в формировании трех основных фенотипов ОА, которые рассматриваются в настоящее время: 1) посттравматический, 2) метаболический и 3) ассоциированный со старением [8]. При посттравматическом ОА формируется порочный круг хронического воспаления: механические повреждения суставов вызывают повышение концентраций медиаторов воспаления (цитокинов и др.), которые стимулируют дальнейшую деградацию тканей сустава, что вновь повышает уровни медиаторов воспаления. Взаимосвязь между ожирением, метаболическим синдромом, СД2 при метаболическом ОА обусловлена не только избыточной физической нагрузкой на суставы, но и воспалением, стимулируемым адипокинами и бактериальными липополисахаридами [9]. При ОА, ассоциированном со старением, повышенные уровни провоспалительных цитокинов в первую очередь негативно влияют на так называемые сенесцентные (т.е. стареющие) клетки тканей суставов, что замедляет регенерацию хрящевой ткани.

Таким образом, анализ патологий, сопровождающих ОА, имеет принципиальное значение для ведения таких пациентов. Учет коморбидности прежде всего необходим для разработки наиболее эффективных и безопасных курсов фармакотерапии, которые позволяют существенно снизить вызываемую полипрагмазией нагрузку на печень и почки, а также риски нежелательных эффектов на желудочно-кишечный тракт и сердечно-сосудистую систему, которые представляют наибольшие трудности в планировании терапии ОА при необходимости назначения обезболивающих препаратов. Кроме того, учет патологий, коморбидных ОА, до начала прогрессии позволит спланировать наиболее эффективную программу профилактики заболеваний суставов.

В настоящей работе представлены результаты кросс-секционного исследования коморбидности ОА с другими хроническими патологиями с учетом микроэлементного статуса и генетических полиморфизмов. Содержание микроэлементов в различных биосубстратах и нуклеотидные полиморфизмы генов человека являются перспективными биомаркерами, описывающими долгосрочную предрасположенность пациентов к хронически повышенному уровню воспаления (микроэлементы – месяцы, нуклеотидные полиморфизмы – пожизненно).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

### Данные о пациентах / Patient data

В рамках исследовательских программ Российского центра Института микроэлементов ЮНЕСКО<sup>1</sup> обследованы несколько тысяч

пациентов, информация о которых содержится в базе данных института. На основании указанной базы мы сформировали мультиэтническую когорту россиян (n=655, средний возраст 43±14 лет, 95% ДИ 29–70 лет). Для всех участников были определены содержания профиля 62 элементов таблицы Д.И. Менделеева в волосах и установлены варианты 120 нуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с различными патологиями. Собранные информация о каждом больном была представлена в виде 340 различных признаков описаний: демографических и клинических данных, профиля микроэлементного состава волос (62 числовых признака) и профиля нуклеотидных полиморфизмов (120 тринарных признаков, обозначающих генотип пациента).

### Определение микроэлементного состава волос / Determining the microelement composition of hair

Образцы волос были высушены при t=105 °С в течение 6 ч в сушильном шкафу. После этого было проведено взвешивание на аналитических весах Perkin-Elmer AD-6 Autobalance с точностью до 0,1 мг. Навески материала переносили в автоклав (тефлоновый сосуд Весселя) и добавляли 1 мл 70% HNO<sub>3</sub> (ОСЧ), прошедшей вторичную перегонку, затем автоклав помещали в систему сверхвысокочастотного (СВЧ) излучения MD-2000 (СЕМ, США), обеспечивающую высокое давление и температуру кипения HNO<sub>3</sub>. После охлаждения полученных растворов в течение 60 мин от них были отобраны образцы в объеме 1 мл в пластиковые сосуды и разбавлены в 5 раз бидистиллированной и деионизированной водой. Для контроля чистоты анализа отдельно был приготовлен раствор «холостой пробы» с содержанием HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O в пропорциях, идентичных содержанию этих реагентов в исследуемых образцах.

Описанная методика пробоподготовки с использованием СВЧ-нагрева в тефлоновых «бомбах» позволяет проводить быстрое «вскрытие» биопробы, с высокой эффективностью разложить биологическую матрицу, влияющую на результаты анализа. В качестве внутреннего стандарта в растворы вводили индий в концентрации 25 мкг/л. Калибровочные растворы были приготовлены из стандартных растворов с известным содержанием в диапазоне 5–1000 мкг/л (10–7%). Полученные растворы анализировались на масс-спектрометре с ионизацией в индуктивно-связанной плазме VG Plasma Quad PQ2 Turbo (Англия) с рабочей мощностью СВЧ-генератора 1,3 кВт, расходом плазмообразующего газа (аргон) 14 л/мин, расходом транспортирующего газа 0,89 мл/мин. Проводили три экспозиции каждого образца, время интегрирования сигнала 60 с. Результаты анализа «холостой пробы» автоматически вычитались в анализе. Единицы измерения – мкг/кг.

Элементный анализ волос выполнен на базе кафедры клинической и лабораторной диагностики ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» [10].

### Определение генетических полиморфизмов / Determining the genetic polymorphisms

Установление вариантов генетических полиморфизмов обследованных пациентов в виде так называемых однонуклеотидных полиморфизмов (англ. single nucleotide polymorphism, SNP) проводили с помощью реакции минисеквенирования с последующим анализом продуктов на аппарате матрично-активированной лазерной десорбционно-ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-ToF) Bruker Daltoniks (Genolink Systems,

<sup>1</sup> www.trace-elements.ru.

Германия). Изучение генетического материала пациентов выполняли на коммерческой основе в компании «Постгеномные и нанотехнологические инновации» (Москва, Россия).

Определение вариантов полиморфизмов включало четыре этапа: 1) применение полимеразной цепной реакции (ПЦР) для амплификации фрагмента ДНК, содержащего исследуемый полиморфизм; 2) деактивация фосфатазой нуклеотидов в ПЦР-продукте, полученном на этапе 1; 3) проведение реакции минисеквенирования с использованием ПЦР-продукта; 4) идентификация продуктов минисеквенирования методом масс-спектрометрии.

Ключевым этапом в данной методике является проведение реакции минисеквенирования, т.е. амплификации ДНК с использованием олигонуклеотидного зонда, 3'-конец которого находится непосредственно перед нуклеотидом, в котором происходит точечный полиморфизм. Применяется определенный набор 2'-дезоксидри- (dNTP) и 2', 3'-дидезокситри- (ddNTP), каждый из которых является «терминатором» амплификации (т.к. в ddNTP отсутствует атом кислорода, необходимый для формирования фосфодиэфирной связи со следующим нуклеотидом). Например, для последовательности ACCGATGGCCGATGCATC [C→T] GTC (полиморфизм C→T) при использовании зонда 5'-ACCGATGGCCGATGCATC-3' и набора из реагентов dT, ddC, ddG продуктом реакции при наличии аллеля C будет ACCGATGGCCGATGCATC+ddC, а в случае аллеля T – ACCGATGGCCGATGCATC+dT+ddG. При гетерозиготном генотипе образуются оба продукта. Таким образом, масс-спектр образца после проведения реакции минисеквенирования позволяет определить генотип SNP для любого генетического полиморфизма [11]. Детальная медико-биологическая классификация исследованных полиморфизмов подробно описана в монографии I.Yu. Torshin [12].

### Статистический анализ / Statistical analysis

Для стандартной обработки результатов исследования применяли методы математической статистики, включающие расчет числовых характеристик случайных величин, проверку статистических гипотез с использованием параметрических и непараметрических критериев, корреляционного и дисперсионного анализа. Сравнение прогнозируемых и наблюдаемых частот встречаемости исследуемых признаков проводили с помощью критерия  $\chi^2$ , t-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни и t-теста Стьюдента. Использовали прикладную программу Statistica 10.0 и электронные таблицы Microsoft Excel.

Помимо стандартных подходов были применены новейшие методы анализа информативных значений численных параметров, нахождения метрических сгущений в пространстве параметров биомедицинского исследования и построения метрических карт [13, 14]. Эта методология анализа данных подробно описана в работах И.Ю. Торшина и др. [15] и О.А. Лимановой [16].

Как было отмечено выше, в ходе исследования каждый пациент описывался массивом из 340 параметров. Такой массив данных соответствует  $340 \times 339 / 2 = 57630$  парных корреляций параметров,  $6,5 \times 10^6$  тройственных взаимодействий и т.д. При использовании только стандартных статистических подходов невозможно компактно описать все взаимодействия между изученными параметрами. Методы анализа метрических сгущений и метрических карт позволили наглядно представить весь массив коморбидных взаимодействий остеоартрита на диаграмме, называемой метрической картой исследования.

Анализ метрической карты выявил три уровня предикторов ОА: наиболее информативные, включающие в основном коморбидные ОА патологии (1-й уровень); предикторы средней информа-

тивности, отражающие по большей части микроэлементный статус пациентов (2-й уровень); и слабые предикторы – как правило, варианты различных генетических полиморфизмов (3-й уровень).

## РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

### Коморбидный фон / Comorbid background

Пациенты с ОА отличались существенно большим количеством коморбидных диагнозов ( $10,5 \pm 4,1$  диагноза) по сравнению с контрольной группой ( $1,8 \pm 0,89$  диагноза,  $p(\chi^2) = 4,19E-07$ ). При этом число диагнозов более 5 было отмечено у 76% больных ОА и только у 1,7% пациентов контрольной группы (ОШ 186,8; 95% ДИ 75,9–460,0;  $p(\chi^2) = 4,4E-83$ ). Таким образом, очевидна высокая коморбидная нагрузка типичного пациента с ОА.

Хорошо известно, что саркопения отчетливо коррелирует с тяжестью остеоартрита [17]. Однако в настоящем исследовании выборка ограничивалась 70-летним возрастом пациентов, в связи с чем достоверной связи ОА и саркопении не было установлено.

В результате анализа предикторов всех трех уровней были получены оценки коморбидного вклада каждой из исследованных патологий во взаимосвязи с ОА (табл. 1).

Анализ метрической диаграммы показал, что в соответствии со статистическим критерием  $\chi^2$  с ОА были достоверно ассоциированы 24 патологии. При этом 18 из них были коморбидны ОА (т.е. встречались совместно с ним) – язвенный колит, атеросклероз, камни почки и мочеточника, острый инфаркт миокарда, желчнокаменная болезнь, энцефалопатия неуточненная, ожирение, флебит и тромбоз флебит и др.), а 6 патологий были «антикоморбидны» (т.е. практически не встречались у пациентов с ОА) – врожденные пороки развития сердца, фиброз и цирроз печени, железодефицитная анемия и др. У больных старше 50 лет ОА был дополнительно ассоциирован с диагнозами «сахарный диабет», «эссенциальная (первичная) гипертензия».

Построение регрессионных алгоритмов прогнозирования ОА позволило установить вклад, или вес, каждой из патологий в коморбидность ОА с аккуратностью около 80% (площадь под кривой 0,82). Наибольшие значения были установлены для перечисленных ранее воспалительных патологий (язвенный колит, атеросклероз, желчнокаменная болезнь и др.).

С помощью построения алгоритмов логических правил для прогнозирования ОА выявлено ядро коморбидных патологий (энцефалопатия неуточненная, атеросклероз, желчнокаменная болезнь, флебит и тромбоз флебит), которые в разных сочетаниях встречались практически у каждого пациента с ОА. В результате получены 7 профилей больных остеоартритом (табл. 2), учет которых, на наш взгляд, весьма важен для разработки персонализированных программ терапии и профилактики ОА.

Наиболее типичным профилем пациентов с ОА было сочетание следующих патологий: энцефалопатия неуточненная, или хроническая ишемия головного мозга (ХИГМ), желчнокаменная болезнь (ЖКБ), атеросклероз и тромбоз флебит. В группе пациентов в возрасте 50–70 лет профиль коморбидности ОА увеличивался – дополнялся диагнозами «сахарный диабет» и «эссенциальная (первичная) гипертензия». Данный профиль был найден у 27% больных ОА. Следующий по частоте встречаемости профиль (17% пациентов с ОА) включал ЖКБ и атеросклероз при отсутствии ХИГМ и тромбоза флебита. Третий профиль был определен у 14% больных ОА: ХИГМ, атеросклероз и тромбоз флебит при отсутствии ЖКБ. Остальным профилям, встречавшимся с частотой 8–12%, соответствовали другие комбинации четырех патологий ядра коморбидности ОА. В целом по всем логическим правилам наличие 2 из 4 патологий

Таблица 1. Наиболее сильные (информативные) предикторы остеоартрита – коморбидные патологии  
Table 1. The strongest (informative) predictors of osteoarthritis – comorbid pathologies

МКБ-10 / ICD-10	Предиктор ОА / OA predictor	Наличие ОА, % / Presence of OA,%	Отсутствие ОА, % / Absence of OA,%	ОШ / OR	p( $\chi^2$ )	Вес, у.е. / Weight, cu
K51	Язвенный колит / Ulcerative colitis	43	1	91,29	0,00432	0,792
I70	Атеросклероз / Atherosclerosis	86	7	13,04	8,4E-07	0,696
N20	Камни почки и мочеточника / Urine calculus	43	1	68,46	0,00442	0,618
I21	Острый инфаркт миокарда / Acute myocardial infarction	29	2	15,21	0,02689	0,595
K80	Желчнокаменная болезнь / Cholelithiasis	57	1	40,57	0,00069	0,547
G93.4	Энцефалопатия неуточненная / Unspecified encephalopathy	43	1	54,77	0,00452	0,444
E66	Ожирение / Obesity	21	1	68,46	0,04319	0,308
F48	Другие невротические расстройства / Other neurotic disorders	57	4	15,88	0,00091	0,232
I80	Флебит и тромбоз / Phlebitis and thrombophlebitis	64	1	45,64	0,00020	0,228
I20	Стенокардия / Cardiac angina	71	6	12,01	8,1E-05	0,219
K29	Гастрит и дуоденит / Gastritis and duodenitis	21	1	15,21	0,05110	0,115
I10	Эссенциальная гипертензия / Essential hypertension	86	14	6,15	2,3E-06	0,081
	Избыточный вес / Overweight	5	2	22,82	0,00220	0,052
I63	Инфаркт мозга / Cerebral infarction	21%	<1	45,64	0,04425	0,027
–	Частые и длительные болезни / Frequent and long-lasting illnesses	29	4	7,30	0,03550	0,016
G93.3	Синдром утомляемости после перенесенной вирусной болезни / Fatigue syndrome after a viral illness	57	23	2,50	0,01379	0,013
F45.3	Соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы / Somatoform dysfunction of the autonomic nervous system	43	4	11,41	0,00701	0,002
Q20	Врожденные аномалии (пороки развития) сердечных камер и соединений / Congenital anomalies (malformations) of heart chambers and joints	<0,1	1	<0,01	0,00710	0,000
K74	Фиброз и цирроз печени / Fibrosis and cirrhosis of the liver	<0,1	1	<0,01	0,02271	0,000
D50	Железодефицитная анемия / Iron-deficiency anemia	<0,1	1	<0,01	0,02272	0,000
K25	Язва желудка / Stomach ulcer	<0,1	1	<0,01	0,02300	0,000
K26	Язва двенадцатиперстной кишки / Duodenal ulcer	<0,1	5	<0,01	3,1E-09	0,000
K29.8	Дуоденит / Duodenitis	<0,1	0,2	<0,01	0,04163	0,000
E03	Другие формы гипотиреоза / Other forms of hypothyroidism	21	<0,1	136,93	0,04215	–0,103

**Примечание.** МКБ-10 – Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра; ОА – остеоартрит; ОШ – отношение шансов; p( $\chi^2$ ) – статистическая значимость по критерию  $\chi^2$ . Вес – коморбидный вклад патологии как признака в регрессионном алгоритме прогнозирования остеоартрита (патологии расположены по убыванию весов).

**Note.** ICD-10 – International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th revision; OA – osteoarthritis; OR – odds ratio; p( $\chi^2$ ) – statistical significance according to the  $\chi^2$  test. Weight is the comorbid contribution of pathology as a sign in the regression algorithm for predicting osteoarthritis (pathologies are arranged in descending order of weights).

ядра коморбидности отмечено у 92% пациентов с ОА и только в 2% случаев в группе контроля, что означает чрезвычайное повышение риска ОА (ОШ 56,3; 95% ДИ 17,4–181,6; p<10–20).

Отметим, что первые три профиля коморбидности, описывающие до 60% пациентов с ОА, были характерны именно для этих больных и крайне редко встречались у пациентов без ОА (0,1%).

Иными словами, наличие у больного любого из представленных в таблице 2 профилей коморбидности (особенно первых трех) соответствует или наличию у него пока еще не диагностированного ОА, или высокому риску развития данного заболевания.

Как было отмечено ранее, коморбидные патологии являлись наиболее сильными предикторами ОА (1-й уровень). В рамках на-

Таблица 2. Профили коморбидности пациентов с остеоартритом (результаты анализа методом логических правил)

Table 2. Comorbidity profiles of patients with osteoarthritis (results of the analysis by the method of logical rules)

№	K80	G93.4	I70	I80	v1, %	v2, %	$\chi^2$	ИП ОА, % / ТР ОА, %	ЛП ОА, % / ФП ОА, %
1	+	+	+	+	27	0,0	86,9	27	0,0
2	+	–	+	–	17	0,1	37,3	44	0,1
3	–	+	+	+	14	0,1	28,8	58	0,2
4	+	–	+	+	12	0,8	13,5	7	1,0
5	–	–	+	+	14	0,5	8,4	84	1,5
6	–	+	+	–	8	0,5	8,3	92	2,0
7	+	–	–	–	8	2,0	8,3	100	4,0

**Примечание.** K80 – желчнокаменная болезнь; G93.4 – энцефалопатия неуточненная; I70 – атеросклероз; I80 – флебит и тромбоз; v1 – частота встречаемости профиля у пациентов с ОА; v2 – частота встречаемости профиля в контроле; ОШ – отношение шансов; ИП ОА – истинно позитивные определения остеоартрита; ЛП ОА – ложнопозитивные определения остеоартрита

**Note.** K80 – gallstone disease; G93.4 – unspecified encephalopathy; I70 – atherosclerosis; I80 – phlebitis and thrombophlebitis; v1 – the profile occurrence frequency in patients with OA; v2 – the profile occurrence frequency in the control; OR – odds ratio; TP OA – true positive definitions of osteoarthritis; FP OA – false positive definitions of osteoarthritis

стоящего исследования проанализированы и более слабые предикторы ОА – содержание микроэлементов в волосах и генетические нуклеотидные полиморфизмы, представляющие большой интерес с точки зрения развития персонализированной медицины.

#### Микроэлементный статус / Microelement status

Макро- и микроэлементы играют ключевую роль в сложных биохимических процессах всех тканей организма [16]. Нарушения микроэлементного статуса (дефицит эссенциальных микроэлементов, избыток токсических) являются комплексным, интегральным индикатором состояния окружающей среды и особенностей метаболизма конкретного пациента. Поэтому детальное изучение макро- и микроэлементного состава тканей человека весьма перспективно в клинической практике.

Анализ собранных данных позволил выявить ряд достоверных отличий в содержании химических элементов в волосах у пациентов с ОА и без него, а также установить вес каждого из микроэлементов в соответствии с регрессионной моделью прогнозирования ОА (табл. 3). Следует отметить, что для больных ОА преимущественно был характерен сниженный уровень кальция и 7 микроэлементов (титана, цезия, теллура, германия, кремния,

молибдена, ванадия) и достоверно повышенный уровень только одного микроэлемента – бария. Наибольшими абсолютными значениями весов характеризовались кремний, молибден, ванадий и кальций, повышенные уровни которых были достоверно ассоциированы со сниженным риском ОА (ОШ 0,74–0,88; значения веса 0,005...–0,076). Наиболее информативным предиктором являлось содержание кальция: при его повышении в волосах на каждые 100 мкг/кг риск ОА снижался на 8% ( $p < 0,05$ ).

#### Генетический полиморфизм / Genetic polymorphism

Генетические факторы интересны прежде всего тем, что принадлежат к основным немодифицируемым факторам риска и поэтому получают больше внимания в клинических исследованиях предрасположенности к различным заболеваниям. Изученные нами полиморфизмы генома человека взяты из базы данных MedSNP, детально описанной в монографии I.Yu. Torshin [12], и ассоциированы с хроническим воспалением, нарушениями гемостаза и обмена липидов.

Повышению риска ОА соответствовало наличие у пациентов генетических вариантов LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS E298D GG и MTHFR 677 CC (значения веса в регрессионной модели прогно-

Таблица 3. Достоверные различия в содержании химических элементов в волосах пациентов с остеоартритом и без него

Table 3. Significant differences in the content of chemical elements in the hair of patients with and without osteoarthritis

Химический элемент / Chemical element	Наличие ОА, мкг/кг / Presence of OA, µg/kg	Отсутствие ОА, мкг/кг / Absence of OA, µg/kg	Отношение / Ratio	$p(\chi^2)$	Вес, у.е. / Weight, cu
Ba	5,281±2,282	3,091±2,133	1,71	0,01003	0,001
Ti	0,012±0,004	0,061±0,383	0,20	0,0049	–0,001
Cs	0,002±0,002	0,153±0,141	0,01	0,00149	–0,001
Te	0,005±0,005	0,023±0,122	0,23	0,00237	–0,001
Ge	0,000±0,001	0,003±0,003	0,32	9,4E-06	–0,004
Si	17,271±4,18	19,67±9,65	0,88	0,05261	–0,005
Mo	0,012±0,002	0,016±0,015	0,74	0,00234	–0,006
V	0,012±0,004	0,015±0,014	0,80	0,02959	–0,025
Ca	686,1±178,2	787,3±204,2	0,87	0,05638	–0,076

**Примечание.** ОА – остеоартрит;  $p(\chi^2)$  – статистическая значимость по критерию  $\chi^2$ . Отношение – соотношение содержания элемента у пациентов с остеоартритом и без него. Вес – коморбидный вклад патологии как признака в регрессионном алгоритме прогнозирования остеоартрита.

**Note.** OA – osteoarthritis;  $p(\chi^2)$  – statistical significance according to the  $\chi^2$  test. Ratio – the proportion of the element content in patients with and without osteoarthritis. Weight – a comorbid contribution of pathology as a sign in the regression algorithm for predicting osteoarthritis.

зирования 0,017...0,099), а снижению риска ОА – наличие варианта полиморфизма AGTR1 AA (вес 0,059). Отметим, что ассоциации между повышенным риском ОА и генотипами LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS3 E298D GG, AGTR1 AA были впервые установлены в настоящей работе. Связь между предрасположенностью к ОА и генотипом MTHFR 677 CC была известна ранее.

Хотя данные генетические варианты являлись предикторами 3-го уровня, указанные в **таблице 4** ассоциации с ОА статистически достоверны ( $p < 0,05$ ).

Наибольший вклад в оценку риска ОА вносил генотип LPL Ser447Stop CC, соответствующий полиморфизму 1595 C/G гена LPL, кодирующего липопротеиновую липазу. Данный фермент активируется аполипопротеином C2, его основная функция – гидролиз триглицеридов при внутриклеточной переработке липидов, активируемой рецепторами липопротеинов [12]. Генотип LPL Ser447Stop CC соответствует повышению риска атеросклероза [17], включая повышенные уровни триглицеридов, липопротеина очень низкой плотности и сниженные уровни аполипопротеина APOAI [18] в различных европейских и азиатских популяциях. Преобладание данного генотипа у пациентов с ОА очевидным образом коррелирует с повышенным риском развития патологий установленного ядра коморбидности ОА: ЖКБ, ХИГМ, атеросклероза и тромбозов.

Варианты других генов (NOS3, AGTR1, MTHFR) модулируют атеросклеротические процессы, ассоциированные с генотипом LPL Ser447Stop CC.

Нуклеотидные варианты гена NOS3, кодирующего эндотелиальную синтазу окиси азота (NO), влияют на вазодилатацию, агрегацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов [19].

Полиморфизмы гена AGTR1, кодирующего ангиотензиновый рецептор 1, ассоциированы с изменениями риска ИБС и артериальной гипертензии [20].

Полиморфизмы гена MTHFR связаны с изменениями риска атеросклероза, воспалительных поражений сосудистого эндотелия и тромбозов, поскольку кодируют фермент, необходимый для метаболизма фолатов и обезвреживания гомоцистеина [12, 21].

Исследование пациентов с ОА ( $n=221$ ) и без данной патологии ( $n=200$ ) показало, что генотип MTHFR 677 CC может использоваться как генетический маркер ОА [22].

## ОБСУЖДЕНИЕ / DISCUSSION

Клинический дебют остеоартрита в возрасте 45–50 лет, за исключением посттравматического ОА, чаще всего возникает на фоне других патологий. В то же время ЖКБ, атеросклероз и тромбозов, относящиеся к ядру коморбидности ОА, могут стартовать на несколько лет раньше, и этот период следует расценивать как временной резерв для проведения профилактики. Указанные кластеры могут быть основанием для персонализированного назначения препаратов хондроитина сульфата (ХС) и глюкозамина сульфата (ГС) с целью торможения развития ОА.

Эндогенные ХС синтезируются из глюкозамина и формируют все виды соединительной ткани. Нарушения структуры и функции гликозаминогликанов на основе ХС не только вызывают негативные изменения в соединительной ткани, но и способствуют усилению патофизиологических процессов, приводящих к атеросклерозу [5].

Экзогенные ХС и ГС проявляют специфические фармакологические свойства. Фармацевтически стандартизированные субстанции ХС и ГС оказывают выраженное противовоспалительное действие, способствуя репарации эндогенных ХС в составе хряща и синовиальной жидкости. Поэтому ХС и ГС чаще всего используются при ОА как симптоматические препараты замедленного действия. Кроме того, экзогенные ХС проявляют потенциальные антибактериальные, противовирусные, регенеративные, противоопухолевые [23], антикоагулянтные и антиагрегантные эффекты [24] и не стимулируют формирования или прогрессирования инсулинорезистентности [25].

С молекулярной точки зрения ХС взаимодействуют с рецепторами CD44, TLR4 и ICAM1 на поверхности хондроцитов. Связь с рецептором CD44 мышц запускает синтез специфических гиалуронидаз, которые конвертируют ХС в более короткие цепи (олигосахариды) посредством особых ферментов, секретируемых фибробластами мышц. Короткие фрагменты ХС (молекулярная масса 500–1500 Да), взаимодействуя с рецептором хондроцитов CD44, интернализируются внутрь клетки, транспортируются в ядро и ингибируют участки генома, регулирующие провоспалительный сигнальный путь NF- $\kappa$ B, а также цитокиновый сигнальный путь JAK/STAT, который влияет на миграцию лейкоцитов [26].

Наличие у стандартизированных экстрактов ХС противовоспалительных, антикоагулянтных, антиагрегантных свойств весьма важно для снижения фармакологической нагрузки у пациентов с коморбидными патологиями, т.е. во избежание риска нежелательных эффектов, в частности при применении нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Некоторые НПВП могут увеличивать риск сердечно-сосудистых событий вследствие негативного влияния на тромбообразование. Метаанализ 87 исследований показал, что сердечно-сосудистый риск достоверно повышался при использовании таких НПВП, как рофекоксиб (ОР 1,39; 95% ДИ 1,31–1,47), диклофенак (ОР 1,34; 95% ДИ 1,26–1,42) и эторикоксиб (ОР 1,27; 95% ДИ 1,12–1,43) [27], что привело

**Таблица 4.** Достоверные различия в частоте встречаемости вариантов генетических полиморфизмов у пациентов с остеоартритом и без него  
**Table 4.** Significant differences in the frequency of occurrence of variants of genetic polymorphisms in patients with and without osteoarthritis

Полиморфизм / Polymorphism	Наличие ОА, % / Presence of OA, %	Отсутствие ОА, % / Absence of OA, %	ОШ / OR	$p(\chi^2)$	Вес, у.е. / Weight, cu
LPL Ser447Stop CC	100	87	1.15	0,00011	0,099
LPL N291S AA	100	95	1.05	0,01229	0,088
NOS3 E298D GG	100	52	1.92	2,3E-15	0,054
MTHFR 677 CC	70	45	1.55	0.05223	0,017
AGTR1 AA	100	64	1.56	3,E-11	–0,059

**Примечание.** ОА – остеоартрит; ОШ – отношение шансов;  $p(\chi^2)$  – статистическая значимость по критерию  $\chi^2$ . Отношение – соотношение содержания элемента у пациентов с остеоартритом и без него. Вес – коморбидный вклад патологии как признака в регрессионном алгоритме прогнозирования остеоартрита.

**Note.** OA – osteoarthritis; OR – odds ratio;  $p(\chi^2)$  – statistical significance according to the  $\chi^2$  test. Ratio – the proportion of the element content in patients with and without osteoarthritis. Weight – a comorbid contribution of pathology as a sign in the regression algorithm for predicting osteoarthritis.



к ограничению назначения данной группы препаратов пациентам с высоким и очень высоким кардиоваскулярным риском.

Заметим, что описанные выше эффекты ХС и ГС как специфических ингибиторов NF-κB относятся исключительно к фармацевтическим субстанциям ХС с высокой степенью очистки от органических примесей («пересульфатированные» формы ХС, другие глюкозаминогликаны, белки и т.п.) и неорганических загрязнителей (токсические металлы – кадмий, свинец, ртуть, уран и др.). Поскольку ХС экстрагируют из природных источников (различные виды рыб, птиц, свиные хрящи, трахея быка и др.), то в результате использования разных технологий производства полученные ХС могут различаться не только по степени очистки, но и по молекулярной массе и паттернам сульфатирования цепей ХС. Примеси в субстанциях ХС способны, наоборот, провоцировать воспалительные реакции.

Фармацевтическая субстанция ХС CS-Bioactive® (Bioibérica, Испания), являющаяся действующим началом препарата Хондрогард® (ЗАО «ФармФирма «Сотекс», Россия), отличается высокой степенью очистки (99,9% ХС без белковых примесей) и стандартизации по молекулярной массе (15–17 кДа), а также высоким содержанием моносульфатированных форм ХС (хондроитин-4-сульфат 62,8–72,7%, хондроитин-6-сульфат 21,3–31,5%) [28]. Безопасность Хондрогарда подтверждена результатами 5 клинических исследований, одобренных Минздравом России [29], а также 8-летним опытом его клинического применения [30].

Использование препаратов ХС и ГС является важным ресурсом повышения эффективности программ комплексной профилактики ОА, поскольку стандартизированные формы ХС и ГС характеризуются высокой безопасностью и могут применяться длительно (годами) без каких-либо побочных эффектов. В результате их приема происходит снижение интенсивности потерь хрящевой ткани суставов. Более того, ХС и ГС, являясь специфическими ингибиторами каскада NF-κB, снижают интенсивность усиливающегося

с возрастом хронического воспаления, тем самым способствуя уменьшению рисков коморбидных с остеоартритом патологий.

Комплексная профилактика ОА должна включать кинезотерапию, диетотерапию, компенсацию имеющихся у пациента микронутриентных дефицитов (прежде всего, витамина D, омега-3, кальция, магния и др.), восстановление здоровой флоры (микробиома) пищеварительного тракта, профилактические меры по снижению риска инсулинорезистентности, ожирения и т.д.

Дальнейшие исследования коморбидности ОА, в т.ч. с целью повышения аккуратности алгоритмов выявления пациентов с высоким риском ОА, следует проводить в рамках парадигмы постгеномных исследований по двум основным направлениям: 1) установление комплекса биохимических и метаболомных маркеров для прогноза ОА и 2) транскриптомный анализ хондроцитов и других видов клеток от больных ОА. Такие исследования позволят разработать алгоритмы, с высокой аккуратностью выявляющие пациентов с предрасположенностью к ОА в рамках донозологического тестирования и персонализированного назначения хондропротекторных лекарственных препаратов на основе постгеномных данных о пациенте.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

Настоящее исследование позволило сделать несколько выводов, важных для планирования стратегий профилактики и лечения ОА:

1. Пациенты, имеющие в анамнезе не менее 2 из 4 патологий (желчнокаменная болезнь, хроническая ишемия мозга, атеросклероз, тромбоз), характеризуются очень высоким риском ОА (ОШ 56,3; 95% ДИ 17,4–181,6).
2. С ОА достоверно ассоциированы сниженные уровни кремния, молибдена, ванадия и кальция в волосах.
3. Риск ОА достоверно повышен при наличии у пациента генотипов LPL Ser447Stop CC, LPL N291S AA, NOS3 E298D GG и MTHFR 677 CC.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Hootman J.M., Helmick C.G., Barbour K.E., et al. Updated projected prevalence of self-reported doctor-diagnosed arthritis and arthritis-attributable activity limitation among US adults, 2015–2040. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68 (7): 1582–7. <https://doi.org/10.1002/art.39692>.
2. Puenpatom R.A., Victor T.W. Increased prevalence of metabolic syndrome in individuals with osteoarthritis: an analysis of NHANES III data. *Postgrad Med.* 2009; 121 (6): 9–20. <https://doi.org/10.3810/pgm.2009.11.2073>.
3. Наумов А.В., Шамуилова М.М., Коцелапова Э.Ю. Остеоартроз в современной клинической практике: анализ факторов и рекомендации. *Терапевт.* 2009; 11: 4–15.
4. Scherzer Z.A., Alvarez C., Renner J.B., et al. Effects of comorbid cardiovascular disease and diabetes on hand osteoarthritis, pain, and functional state transitions: the Johnston county osteoarthritis project. *J Rheumatol.* 2020; 47 (10): 1541–9. <https://doi.org/10.3899/jrheum.191075>.
5. Alvarez C., Cleveland R.J., Schwartz T.A., et al. Comorbid conditions and the transition among states of hip osteoarthritis and symptoms in a community-based study: a multi-state time-to-event model approach. *Arthritis Res Ther.* 2020; 22 (1): 12. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-2101-x>.
6. Bastick A.N., Runhaar J., Belo J.N., Bierma-Zeinstra S.M. Prognostic factors for progression of clinical osteoarthritis of the knee: a systematic review of observational studies. *Arthritis Res Ther.* 2015; 17 (1): 152. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0670-x>.
7. Лиля А.М., Торшин И.Ю., Громова О.А. Стоит ли переосмыслить полученный полвека назад положительный опыт применения хондроитинсульфатов при атеросклерозе? *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13 (2): 184–91. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.043>.
8. Berenbaum F., Walker C. Osteoarthritis and inflammation: a serious disease with overlapping phenotypic patterns. *Postgrad Med.* 2020; 132 (4): 377–84. <https://doi.org/10.1080/00325481.2020.1730669>.
9. de Munter W., Blom A.B., Helsen M.M., et al. Cholesterol accumulation caused by low density lipoprotein receptor deficiency or a cholesterol-rich diet results in ectopic bone formation during experimental osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2013; 15 (6): R178. <https://doi.org/10.1186/ar4367>.
10. Торшин И.Ю., Громова О.А. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. М.: МЦНМО; 2012.
11. Treweek A.L., Moustafa J.S., de Smith A.J., et al. Accurate single-nucleotide polymorphism allele assignment in trisomic or duplicated regions by using a single base-extension assay with MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Chem.* 2011; 57 (8): 1188–95. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.159558>.
12. Torshin I.Yu. Sensing the change: from molecular genetics to personalized medicine. N.Y.: Nova Biomedical Books; 2009.
13. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs: Part 2. Local

- completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability. *Pattern Recognit Image Anal.* 2014; 24: 196–208. <https://doi.org/10.1134/S1054661814020151>.
14. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognit Image Anal.* 2015; 25: 577–87. <https://doi.org/10.1134/S1054661815040252>.
15. Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Сардарян И.С. и др. Обеспеченность витамином D детей и подростков 7–14 лет и взаимосвязь дефицита витамина D с нарушениями здоровья детей: анализ крупномасштабной выборки пациентов посредством интеллектуального анализа данных. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2015; 94 (2): 175–84.
16. Лиманова О.А., Торшин И.Ю., Сардарян И.С. и др. Обеспеченность микронутриентами и женское здоровье: интеллектуальный анализ клинико-эпидемиологических данных. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2014; 13 (2): 5–15.
17. Wearing J., Konings P., de Bie R.A., et al. Prevalence of probable sarcopenia in community-dwelling older Swiss people – a cross-sectional study. *BMC Geriatr.* 2020; 20: 307. <https://doi.org/10.1186/s12877-020-01718-1>.
18. Shimo-Nakanishi Y., Urabe T., Hattori N., et al. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese. *Stroke.* 2001; 32 (7): 1481–6. <https://doi.org/10.1161/01.str.32.7.1481>.
19. Sobstyl J., Dzida G., Puzniak A., et al. Analiza związku polimorfizmu genu śródbłonkowej syntetazy tlenku azotu z zawałem mięśnia sercowego [Analysis of association of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with myocardial infarction]. *Pol Merkur Lekarski.* 2002; 13 (73): 10–3 (in Polish).
20. Canavy I., Henry M., Morange P.E., et al. Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the south of France. *Thromb Haemost.* 2000; 83 (2): 212–6.
21. Kim R.J., Becker R.C. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am Heart J.* 2003; 146 (6): 948–57. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(03\)00519-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(03)00519-2).
22. Inanir A., Yigit S., Tural S., et al. MTHFR gene C677T mutation and ACE gene I/D polymorphism in Turkish patients with osteoarthritis. *Dis Markers.* 2013; 34 (1): 17–22. <https://doi.org/10.3233/DMA-2012-00939>.
23. Yamada S., Sugahara K. Potential therapeutic application of chondroitin sulfate/dermatan sulfate. *Curr Drug Discov Technol.* 2008; 5 (4): 289–301. <https://doi.org/10.2174/157016308786733564>.
24. Торшин И.Ю., Лиля А.М., Громова О.А. и др. Об антикоагулянтных и антиагрегантных свойствах молекулы глюкозамина сульфата. *Современная ревматология.* 2019; 13 (3): 135–41. <https://doi.org/10.14412.1996-7012-2019-3-135-141>.
25. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиля А.М. и др. О безопасности применения глюкозамина сульфата у пациентов с резистентностью к инсулину. *Consilium Medicum.* 2019; 21 (4): 75–83. <https://doi.org/10.26442/20751753.2019.4.190309>.
26. Лиля А.М., Громова О.А. Торшин И.Ю. и др. Молекулярные эффекты хондрогада при остеоартрите и грыжах межпозвоночного диска. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2017; 9 (3): 88–97. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2017-3-88-97>.
27. Martín Arias L.H., Martín González A., Sanz Fadrique R., Vazquez E.S. Cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and classical and selective cyclooxygenase-2 inhibitors: a meta-analysis of observational studies. *J Clin Pharmacol.* 2019; 59 (1): 55–73. <https://doi.org/10.1002/jcph.1302>.
28. Martel-Pelletier J., Farran A., Montell E., et al. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate. *Molecules.* 2015; 20 (3): 4277–89. <https://doi.org/10.3390/molecules20034277>.
29. Золотовская И.А., Давыдкин И.Л., Повереннова И.Е. Терапия неспецифической боли в нижней части спины у пациентов с высоким кардиоваскулярным риском. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019; 119 (8): 18–23. <https://doi.org/10.17116/jnevro201911908118>.
30. Торшин И.Ю., Лиля А.М., Наумов А.В. и др. Метаанализ клинических исследований эффективности лечения остеоартрита препаратом Хондрогад. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13 (4): 18–29. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.066>.

## REFERENCES:

1. Hootman J.M., Helmick C.G., Barbour K.E., et al. Updated projected prevalence of self-reported doctor-diagnosed arthritis and arthritis-attributable activity limitation among US adults, 2015–2040. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68 (7): 1582–7. <https://doi.org/10.1002/art.39692>.
2. Puenpatom R.A., Victor T.W. Increased prevalence of metabolic syndrome in individuals with osteoarthritis: an analysis of NHANES III data. *Postgrad Med.* 2009; 121 (6): 9–20. <https://doi.org/10.3810/pgm.2009.11.2073>.
3. Naumov A.V., Shamuilova M.M., Kotselapova A.U. Osteoarthritis in modern clinical practice: analysis of factors and recommendations. *Therapist.* 2009; 11: 4–15 (in Russ.).
4. Scherzer Z.A., Alvarez C., Renner J.B., et al. Effects of comorbid cardiovascular disease and diabetes on hand osteoarthritis, pain, and functional state transitions: the Johnston county osteoarthritis project. *J Rheumatol.* 2020; 47 (10): 1541–9. <https://doi.org/10.3899/jrheum.191075>.
5. Alvarez C., Cleveland R.J., Schwartz T.A., et al. Comorbid conditions and the transition among states of hip osteoarthritis and symptoms in a community-based study: a multi-state time-to-event model approach. *Arthritis Res Ther.* 2020; 22 (1): 12. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-2101-x>.
6. Bastick A.N., Runhaar J., Belo J.N., Bierma-Zeinstra S.M. Prognostic factors for progression of clinical osteoarthritis of the knee: a systematic review of observational studies. *Arthritis Res Ther.* 2015; 17 (1): 152. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0670-x>.
7. Liля А.М., Торшин И.Ю., Громова О.А. Is it worthwhile rethinking the positive experience of the last 50 years of using chondroitin sulfates against atherosclerosis? *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmaco-economic and Pharmacoepidemiology.* 2020; 13 (2): 184–91 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.043>.
8. Berenbaum F., Walker C. Osteoarthritis and inflammation: a serious disease with overlapping phenotypic patterns. *Postgrad Med.* 2020; 132 (4): 377–84. <https://doi.org/10.1080/00325481.2020.1730669>.
9. de Munter W., Blom A.B., Helsen M.M., et al. Cholesterol accumulation caused by low density lipoprotein receptor deficiency or a cholesterol-rich diet results in ectopic bone formation during experimental osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2013; 15 (6): R178. <https://doi.org/10.1186/ar4367>.
10. Торшин И.Ю., Громова О.А. Expert data analysis in molecular pharmacology. Moscow; 2012 (in Russ.).
11. Treweek A.L., Moustafa J.S., de Smith A.J., et al. Accurate single-nucleotide polymorphism allele assignment in trisomic or duplicated regions by using a single base-extension assay with MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Chem.* 2011; 57 (8): 1188–95. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.159558>.

12. Torshin I.Yu. Sensing the change: from molecular genetics to personalized medicine. N.Y.: Nova Biomedical Books; 2009.
13. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs: Part 2. Local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability. *Pattern Recognit Image Anal.* 2014; 24: 196–208. <https://doi.org/10.1134/S1054661814020151>.
14. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognit Image Anal.* 2015; 25: 577–87. <https://doi.org/10.1134/S1054661815040252>.
15. Torshin I.Yu., Limanova O.A., Sardaryan I.S., et al. Provision of vitamin D in children and adolescents aged 7 to 14 years and the relationship of deficiency of vitamin D with violations of children's health: the analysis of a large-scale sample of patients by means of data mining. *Journal "Pediatria" named after G.N. Speransky.* 2015; 94 (2): 175–84 (in Russ.).
16. Limanova O.A., Torshin I.Yu., Sardaryan I.S., et al. Micronutrient provision and women's health: intellectual analysis of clinicoepidemiological data. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology.* 2014; 13 (2): 5–15 (in Russ.).
17. Wearing J., Konings P., de Bie R.A., et al. Prevalence of probable sarcopenia in community-dwelling older Swiss people – a cross-sectional study. *BMC Geriatr.* 2020; 20: 307. <https://doi.org/10.1186/s12877-020-01718-1>.
18. Shimo-Nakanishi Y., Urabe T., Hattori N., et al. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese. *Stroke.* 2001; 32 (7): 1481–6. <https://doi.org/10.1161/01.str.32.7.1481>.
19. Sobstyl J., Dzida G., Puzniak A., et al. Analiza związku polimorfizmu genu śródbłonkowej syntetazy tlenu azotu z zawalem mieśnia sercowego [Analysis of association of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with myocardial infarction]. *Pol Merkur Lekarski.* 2002; 13 (73): 10–3 (in Polish).
20. Canavy I., Henry M., Morange P.E., et al. Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the south of France. *Thromb Haemost.* 2000; 83 (2): 212–6.
21. Kim R.J., Becker R.C. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am Heart J.* 2003; 146 (6): 948–57. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(03\)00519-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(03)00519-2).
22. Inanir A., Yigit S., Tural S., et al. MTHFR gene C677T mutation and ACE gene I/D polymorphism in Turkish patients with osteoarthritis. *Dis Markers.* 2013; 34 (1): 17–22. <https://doi.org/10.3233/DMA-2012-00939>.
23. Yamada S., Sugahara K. Potential therapeutic application of chondroitin sulfate/dermatan sulfate. *Curr Drug Discov Technol.* 2008; 5 (4): 289–301. <https://doi.org/10.2174/157016308786733564>.
24. Torshin I.Yu., Lila A.M., Gromova O.A., et al. On the anticoagulant and antiaggregatory properties of a glucosamine sulfate molecule. *Sovremennaya revmatologiya (Modern Rheumatology).* 2019; 13 (3): 135–41 (in Russ.). <https://doi.org/10.14412.1996-7012-2019-3-135-141>.
25. Gromova O.A., Torshin I.Yu., Lila A.M., et al. On the safety of glucosamine sulfate in patients with insulin resistance. *Consilium Medicum.* 2019; 21 (4): 75–83 (in Russ.). <https://doi.org/10.26442/20751753.2019.4.190309>.
26. Lila A.M., Gromova O.A., Torshin I.Yu., et al. Molecular effects of chondrogard in osteoarthritis and herniated discs. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2017; 9 (3): 88–97 (in Russ.). <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2017-3-88-97>.
27. Martín Arias L.H., Martín González A., Sanz Fadrique R., Vazquez E.S. Cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and classical and selective cyclooxygenase-2 inhibitors: a meta-analysis of observational studies. *J Clin Pharmacol.* 2019; 59 (1): 55–73. <https://doi.org/10.1002/jcph.1302>.
28. Martel-Pelletier J., Farran A., Montell E., et al. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate. *Molecules.* 2015; 20 (3): 4277–89. <https://doi.org/10.3390/molecules20034277>.
29. Zolotovskaya I.A., Davydkin I.L., Poverennova I.E. Therapy for nonspecific lower back pain in patients with high cardiovascular risk. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2019; 119 (8): 18–23 (in Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro201911908118>.
30. Torshin I.Yu., Lila A.M., Naumov A.V., et al. Meta-analysis of clinical trials of osteoarthritis treatment effectiveness with Chondrogard. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoeconomika / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2020; 13 (4): 18–29 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.066>.

#### Сведения об авторах

Торшин Иван Юрьевич – к.ф.м.н., к.х.н., старший научный сотрудник Института фармакоинформатики ФИЦ «Информатика и управление» Российской академии наук; Центр хранения и анализа больших данных ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова». ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; Scopus Author ID: 7003300274; ResearcherID: C-7683-2018; РИНЦ SPIN-код: 1375-1114.

Лила Александр Михайлович – д.м.н., профессор, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», заведующий кафедрой ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>; Scopus Author ID: 6602550827; ResearcherID: W-3334-2017; РИНЦ SPIN-код: 7287-8555.

Наумов Антон Вячеславович – д.м.н., профессор, заведующий лабораторией заболеваний костно-мышечной системы Российского геронтологического научно-клинического центра ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-621X>; РИНЦ SPIN-код: 4763-9738.

Сардарян Иван Суменович – к.м.н., доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии и фармакоэкономики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1528-411X>; Scopus Author ID: 572006721; РИНЦ SPIN-код: 9522-9761.

Богачева Татьяна Евгеньевна – к.м.н., ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>; Scopus Author ID: 57188826213; РИНЦ SPIN-код: 8970-6270.

Гришина Татьяна Романовна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1665-1188>; РИНЦ SPIN-код: 1241-0701.

Гоголева Ирина Викторовна – к.м.н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2178-8285>; Scopus Author ID: 35773149200; РИНЦ SPIN-код: 6599-7955.

*Лиманова Ольга Адольфовна* – к.м.н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2342-3036>; РИНЦ AuthorID: 367989.

*Громова Ольга Алексеевна* – д.м.н., профессор, научный руководитель Института фармакоинформатики ФИЦ «Информатика и управление» Российской академии наук, ведущий научный сотрудник Центра хранения и анализа больших данных ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова». ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; Scopus Author ID: 7003589812; ResearcherID: J-4946-2017; РИНЦ SPIN-код: 6317-9833. E-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com).

#### About the authors

*Ivan Yu. Torshin* – Cand. Phys. Math. Sc., Cand. Chem. Sc., Senior Researcher, Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center “Informatics and Management”, Russian Academy of Sciences; Big Data Storage and Analysis Center, Lomonosov Moscow State University. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; Scopus Author ID: 7003300274; ResearcherID: C-7683-2018; RSCI SPIN-code: 1375-1114.

*Aleksandr M. Lila* – Dr. Med. Sc., Professor, Director, Nasonova Research Institute of Rheumatology; Chief of Chair of Rheumatology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>; Scopus Author ID: 6602550827; ResearcherID: W-3334-2017; RSCI SPIN-code: 7287-8555.

*Anton V. Naumov* – Dr. Med. Sc., Professor, Head of Laboratory of Musculoskeletal System Diseases, Russian Gerontological Research and Clinical Center, Pirogov Russian National Research Medical University. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-621X>; RSCI SPIN-code: 4763-9738.

*Ivan S. Sardaryan* – Cand. Med. Sc., Associate Professor, Chair of Pharmacology with a Course in Clinical Pharmacology and Pharmacoeconomics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1528-411X>; Scopus Author ID: 572006721; RSCI SPIN-code: 9522-9761.

*Tatyana E. Bogacheva* – Cand. Med. Sc., Assistant Professor, Chair of Pharmacology, Ivanovo State Medical Academy. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>; Scopus Author ID: 57188826213; RSCI SPIN-code: 8970-6270.

*Tatyana R. Grishina* – Dr. Med. Sc., Professor, Chief of Chair of Pharmacology, Ivanovo State Medical Academy. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1665-1188>; RSCI SPIN-code: 1241-0701.

*Irina V. Gogoleva* – Cand. Med. Sc., Associate Professor, Chair of Pharmacology, Ivanovo State Medical Academy. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2178-8285>; Scopus Author ID: 35773149200; RSCI SPIN-code: 6599-7955.

*Olga A. Limanova* – Cand. Med. Sc., Associate Professor, Chair of Pharmacology, Ivanovo State Medical Academy. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2342-3036>.

*Olga A. Gromova* – Dr. Med. Sc., Professor, Research Supervisor, Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center “Informatics and Management”, Russian Academy of Sciences; Leading Researcher, Big Data Storage and Analysis Center, Lomonosov Moscow State University. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; Scopus Author ID: 7003589812; ResearcherID: J-4946-2017; RSCI SPIN-code: 6317-9833. E-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com).