



Елгаева Елизавета Евгеньевна

**Исследование причинно-следственных связей
дорсалгии и ассоциированных с ней признаков**

1.5.7. Генетика (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

НОВОСИБИРСК – 2026

Работа выполнена в лаборатории рекомбинационного и сегрегационного анализа ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» и на кафедре цитологии и генетики ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск.

Научный руководитель:

Цепилов Яков Александрович

к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории рекомбинационного и сегрегационного анализа ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск

Официальные оппоненты:

Хуснутдинова Эльза Камилевна

д. б. н., член-корреспондент Российской академии образования, научный руководитель Института биохимии и генетики ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа

Раменский Василий Евгеньевич

к. ф.-м. н., заведующий лабораторией геномной и медицинской биоинформатики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

Ведущее учреждение:

ФГБУН «Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова Российской академии наук», г. Москва

Защита диссертации состоится «__»_____ 2026 г. на утреннем заседании диссертационного совета 24.1.239.01 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», в конференц-зале Института по адресу: пр. академика Лаврентьева 10, г. Новосибирск, 630090, тел.: (383) 363-49-06 (1321); факс: (383) 333-12-78; e-mail: _dissov@bionet.nsc.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте института www.icgbio.ru.

Автореферат разослан «__»_____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор биологических наук

Т. М. Хлебодарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Боли в позвоночнике в течение жизни встречаются с частотой 54 – 80% [Manchikanti и др., 2009] у людей по всему миру. В клинической практике это состояние наиболее часто определяется как «дорсалгия» (от лат. *dorsum* – спина и греч. *algos* – боль) и соответствует медицинскому коду M54 (МКБ-10). Этот диагноз объединяет боли в шейном, грудном и поясничном отделах позвоночника. Наиболее распространенной среди этих болей является боль в спине, а точнее – в пояснице [Breivik и др., 2006; Manchikanti и др., 2009; Thoreson, Aminoff, Parai, 2020]. С 1990 года она возглавляет список причин нетрудоспособности в мире и, согласно прогнозам, число страдающих этим недугом в будущем будет только расти [Cieza и др., 2020]. В этой связи изучение механизмов развития боли в спине и разработка новых эффективных способов ее лечения представляются важной исследовательской задачей.

В современной научной парадигме, возникновение боли объясняется биопсихосоциальной моделью [Crofford, 2015; Gatchel, 2013], согласно которой, боль является результатом взаимодействия биологических, психологических и социальных факторов. Среди биологических причин боли центральное место отводится наследственности. Известно, что боль в спине – это сложный полигенный признак, контролируемый как генетическими, так и средовыми факторами. При этом вклад генетики в изменчивость признака оценивается как значительный – наследуемость этого признака достигает 68% по данным близнецовых исследований [Battie и др., 2007; Junqueira и др., 2014; Macgregor и др., 2004; Numan и др., 2011]. На данный момент известно несколько десятков генов, ассоциированных с болью в спине, и подавляющее большинство из них связано с работой нервной системы. Тем не менее, имеющейся информации о генетике боли в спине недостаточно, чтобы понять механизм ее развития. В последнее время большое внимание уделяется анализу сопутствующих патологий и признаков, влияющих на риск возникновения и течение изучаемой болезни. Для боли в спине этот аспект недостаточно изучен.

Обычно выделяют два уровня связи признаков: генетический – плеiotропные эффекты генома на оба признака, и фенотипический – причинно-следственная связь (прямая и обратная) или наведенная ассоциация из-за связи обоих признаков с неким скрытым фактором. Для воздействия на боль в спине важно выявить как генетические, так и фенотипические факторы риска, которые повышают вероятность ее возникновения и/или усугубляют течение. Особое значение при этом имеют управляемые факторы риска, влияя на которые, можно добиться снижения риска боли в спине и/или облегчить ее. Интерес представляют также признаки, для которых боль в спине является их фактором риска.

К известным факторам риска боли в спине относят наследственность [Battie и др., 2007; Nielsen, Knudsen, Steingrimsdóttir, 2012], женский пол, старший возраст [Manchikanti и др., 2014; Wilson Zingg, Kendall, 2017] и дегенерацию межпозвонковых дисков [Brinjikji и др., 2015]. Природа наблюдаемых ассоциаций и корреляций боли в спине с другими признаками до конца не ясна.

Для изучения связи признаков на уровне генотипов, существует широко применяемый в количественной генетике метод анализа генетических

корреляций. Он позволяет оценить, насколько перекрываются генетические компоненты двух признаков. Для исследования причинно-следственных связей между фенотипами используют метод Менделевской рандомизации (МР), который позволяет определить, является ли один признак причиной другого. Этот подход использует информацию об ассоциации генетических вариантов (обычно представленных однонуклеотидным полиморфизмом – SNP) с парой признаков для оценки причинного эффекта одного фенотипа на другой и поиска факторов риска. Это отличает этот метод от корреляционного анализа, так как дает информацию о причинно-следственном направлении эффекта, то есть позволяет разделить причины боли в спине и ее следствия. Оба этих метода – анализ генетических корреляций и МР – являются неотъемлемыми этапами анализа генетической архитектуры сложных признаков в современной количественной генетике. Благодаря МР можно выявить факторы риска сложных признаков и качественно улучшить модели, оценивающие риск их развития, включив их в список предикторов наряду с полигенным фоном.

Определение факторов, непосредственно влияющих на боль в спине, открывает перспективы перепрофилирования лекарственных средств, то есть использования для лечения боли в спине уже существующих препаратов, исходно предназначенных для других целей. При таком подходе безопасность препарата уже изучена, цены сбалансированы, и препарат уже есть на прилавках [Vondeling и др., 2018]. На данный момент известно несколько удачных примеров перепрофилирования лекарств для анальгезии и профилактики боли, например: антидепрессантов amitriptилина [Driest van den и др., 2017] и дулоксетина для боли в спине [Weng и др., 2020], противоэпилептических средств габапентина и прегабалина для радикулопатии [Robertson и др., 2019] и т. д.

В 2019 году сразу несколько научных групп [Gill и др., 2019; Walker и др., 2020] предложили использовать МР для оценки эффективности перепрофилирования лекарственных средств и показали состоятельность такого подхода. Таким образом, МР является многофункциональным инструментом анализа, который может быть применен не только для исследования факторов риска боли в спине, но и для поиска потенциального лекарства против нее.

Степень разработанности темы исследования. На момент начала работы над текущим исследованием в 2019 году информация об ассоциации боли в спине с различными признаками была накоплена в многочисленных наблюдательных исследованиях [Manchikanti и др., 2009]. Для всех включенных в анализ признаков была показана связь с болью в спине: для уровня образования, курения и потребления алкоголя [Ferreira и др., 2013], для тревожности, депрессии и психологических особенностей личности [Janowski, Steuden, Kuryłowicz, 2010], для расстройств сна [Tagliaferri и др., 2020], уровня физической активности, гипертонии и дислипидемии [Neuch и др., 2010], а также для диабета второго типа и ожирения. О механизмах этой связи было известно немного. Для некоторых признаков была описана генетическая связь с болью в спине: найдены положительные генетические корреляции с депрессией, уровнем тревожности и чертами личности, курением, бессонницей и ожирением, показана отрицательная генетическая корреляция с уровнем образования [Freidin и др., 2019]. Некоторые попытки изучения причинно-следственной связи между болью в спине и

отдельными признаками проводились в рамках лонгитюдных исследований, которые позволяют установить, какое из двух состояний развивается раньше. Так, например, было обнаружено, что большое депрессивное расстройство почти втрое увеличивает вероятность развития хронической боли в спине в последующие два года [Manchikanti и др., 2009]. В группе женщин с хронической или острой болью в пояснице было показано повышение риска сахарного диабета в будущем [Heusch и др., 2018], а в выборке мужчин с диабетом второго типа описано увеличение риска развития хронической боли в пояснице [Heusch и др., 2019]. Однако, результаты лонгитюдных исследований, в отличие от МР, не позволяют сделать надежные выводы о наличии причинного влияния одного признака на другой. По состоянию на осень 2019 года, в базе данных PubMed нами не было обнаружено ни одной работы, в которой методы МР применялись бы для изучения дорсалгии или схожего фенотипа.

Цели и задачи. Целью данной работы является выявление генетических и причинно-следственных связей на уровне фенотипа между дорсалгией и ассоциированными с ней признаками.

Для достижения поставленной цели нами были определены следующие задачи:

- 1) разработать протокол исследования связей между признаками, учитывающий их генетическую общность и причинно-следственную связь, обусловленную фенотипами;
- 2) оценить генетические корреляции между дорсалгией и другими сложными признаками человека, ассоциированными с ней;
- 3) определить, какие из ассоциированных с дорсалгией признаков связаны с ней на уровне фенотипов и являются ее факторами риска;
- 4) выявить, какие из ассоциированных с дорсалгией признаков связаны с ней на уровне фенотипов и являются ее следствием или усугубляются из-за нее;
- 5) оценить с помощью Менделевской рандомизации потенциал использования лекарств, действующих на факторы риска дорсалгии, для ее профилактики и терапии.

Научная новизна. В рамках данного исследования методы МР были впервые применены для изучения причинно-следственных связей между фенотипами дорсалгии и ассоциированных с ней признаков, каждый из которых имеет наследственную причину. Разработанный нами протокол исследования, сочетающий анализ генетических корреляций, три метода МР, проверку их результатов на устойчивость к различным искажениям и оценку ожидаемого эффекта при заданном пороге статистической значимости и мощности анализа, не имеет аналогов.

Применив данный протокол, мы первыми показали положительную генетическую связь дорсалгии с повышенным диастолическим давлением, более частым употреблением алкоголя и диабетом второго типа. Нам впервые в мире удалось получить генетически обоснованные подтверждения причинного эффекта меньшего количества лет обучения, повышенного артериального давления, более частого употребления алкоголя, курения, большого депрессивного расстройства и повышенного индексы массы тела на дорсалгию. Мы также первыми получили доказательства ее положительной обратной связи с нейротизмом, а также причинного влияния дорсалгии на диабет второго типа. Впервые нами были

получены количественные оценки наблюдаемых эффектов, позволяющие прогнозирование динамики состояния здоровья пациентов.

Наконец, наша исследовательская группа была первой, кто применил МР для оценки потенциала перепрофилирования известных лекарственных средств для профилактики и лечения дорсалгии.

Теоретическая и практическая значимость. Мы разработали уникальный протокол для проведения анализа генетических и причинно-следственных связей на уровне фенотипа в паре признаков, охватывающий все этапы исследования от оценки генетических корреляций и ожидаемого эффекта МР при заданном уровне статистической мощности и пороге значимости, до проверки результатов на устойчивость к возможным искажениям. Предложенный нами протокол соответствует международным стандартам проведения МР [Skrivankova и др., 2021] и выгодно отличается от существующих подходов, поскольку оптимально комбинирует методы МР, обходя большинство причин смещенных оценок.

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработанный протокол исследования, включающий методы Менделевской рандомизации и анализа генетических корреляций, позволяет выявлять генетическую и причинно-следственную связь, обусловленную фенотипами, для пары признаков.
2. Наличие дорсалгии (боли в позвоночнике) у человека положительно генетически коррелирует с такими сложными признаками, как повышенное диастолическое давление, более частое употребление алкоголя и сахарный диабет второго типа; первые являются факторами риска дорсалгии, а сахарный диабет второго типа – ее следствием или усугубляется ею.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов анализа МР обеспечивается особенностями разработанного нами протокола, требующего сходимости оценок, полученных разными методами МР, и предполагающего проверку результатов на устойчивость к различным искажениям, применением поправок на множественное тестирование, а также большими размерами выборок, использовавшихся для проведения полногеномного анализа ассоциаций – GWAS. Полученные нами данные хорошо согласуются со сведениями из наблюдательных и лонгитюдных исследований на независимых выборках. Более того, отмечается высокий уровень соответствия между нашими оценками генетических корреляций и эффектов МР и результатами других исследований боли в спине и сходных с ней фенотипов.

Апробация результатов. Работа была представлена лично автором на трех международных научных конференциях в виде двух устных (14-я и 13-я Международная Мультиконференция «Биоинформатика регуляции и структуры геномов/системная биология», Новосибирск, Россия, 2024 и 2022 г., соответственно) и одного стендового доклада (European Human Genetics Conference, Глазго, Шотландия, Великобритания, 2023 г.). Другой член исследовательской группы также представлял ее на международной научной конференции в формате стендового доклада (18th International Forum for Back and Neck Pain Research in Primary Care, Гронинген, Нидерланды, 2023 г.).

Работа была удостоена престижной премии Международного сообщества по изучению поясничного отдела позвоночника в области клинической науки (International Society for the Study of the Lumbar Spine Prize in Clinical Science 2020).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы

Обзор литературы содержит четыре раздела. В разделе 1 приводится определение и классификация дорсалгии, информация об ее эпидемиологии и этиологии, физиологических и генетических механизмах развития. Раздел 2 содержит описание метода GWAS и примеры GWAS боли в спине. Раздел 3 посвящен МР: идеи метода и основным понятиям, существующим методам, причинам искажений результатов МР и методам борьбы с ними, а также применению МР для оценки потенциала перепрофилирования лекарств. Раздел 4 представлен аналитическим заключением, обобщающим обзор литературы.

Материалы и методы

Материалы. В качестве материалов для данной работы были использованы публично доступные результаты наиболее крупных GWAS, выполненных на выборках людей европейского происхождения с целью изучения дорсалгии и ассоциированных с ней признаков. Всего в анализе использовались 26 наборов данных GWAS для 24 признаков (боль в спине, ментальные расстройства, черты личности, признаки, отражающие здоровье сердечно-сосудистой системы, ожирение и связанные с ним состояния, образ жизни человека и уровень его образования). Размер выборок варьировал от 17,375 до 1,028,947 человек. Данные подбирались таким образом, чтобы перекрытие выборки GWAS дорсалгии с другими признаками отсутствовало или было минимальным. Поиск данных проводился по таким ресурсам, как: GWAS Catalog [Sollis и др., 2023], OpenGWAS [Elsworth и др., 2020], PubMed, каталогу UK Biobank – Neale lab [Sudlow и др., 2015] и сайтам отдельных консорциумов. Контроль качества, предобработка и унификация данных проводились с помощью инструментов платформы GWAS-MAP [Shashkova и др., 2021], после чего данные были загружены в одноименную базу.

Методы. В данном исследовании мы разработали протокол по оценке генетических и причинно-следственных связей на уровне фенотипа между ассоциированными признаками. Этот протокол ориентирован на работу с данными GWAS и предполагает проведение двух основных типов анализа: анализа наследуемости и парных генетических корреляций между признаками методом LD Score регрессии и анализа причинно-следственных связей между фенотипами с помощью МР.

Анализ наследуемости и парных генетических корреляций. Этот тип анализа позволяет оценить вклад генетических факторов в изменчивость признаков и в их взаимосвязь. Для его проведения мы использовали метод LD Score регрессии [Bulik-Sullivan и др., 2015a], который использует результаты GWAS для набора SNP и оценивает по ним коэффициент наследуемости признака (h^2) и коэффициент парной генетической корреляции (rg).

Данный метод представляет z-статистику (отношение размера эффекта SNP на признак к стандартной ошибке эффекта) для каждого SNP как функцию от корреляции данного варианта с другими SNP в регионе. При рассмотрении квадрата z-статистики в качестве зависимой переменной, LD Score регрессия оценивает регрессионный коэффициент, который пропорционален наследуемости признака (h^2) и размеру выборки, но обратно пропорционален количеству анализируемых SNP. Если же в качестве зависимой переменной рассмотреть произведение z-статистик для пары признаков, то метод оценит регрессионный коэффициент, который пропорционален корреляции их генетических факторов (r_g).

Полученные таким образом оценки h^2 и r_g называют SNP-основанными. Они всегда ниже, чем оценки, полученные в близнецовых исследованиях, так как для их вычисления используется ограниченный набор SNP и, в отличие от близнецового метода, в оценке учитываются только аддитивные эффекты генома. Тем не менее, метод LD Score регрессии широко используется в количественной генетике, поскольку не требует использования персональных данных, но дает оценки, с высокой точностью совпадающие с теми, что получаются при работе с фенотипами и генотипами индивидов по набору SNP [Lee и др., 2013]. Он также в равной степени эффективен при работе с признаками, имеющими множество ассоциированных локусов, и с признаками, не имеющими статистически значимых сигналов ассоциации [Bulik-Sullivan и др., 2015].

Анализ причинно-следственных связей между фенотипами. Для выполнения этой части работы мы использовали подход Менделевской рандомизации (MR), позволяющий получить генетически обоснованные доказательства причинного влияния одного признака на другой. Для дальнейшего понимания сути работы введем несколько определений и разберем методологию MR более подробно.

В MR для ассоциированных признаков есть особые названия: признак, предположительно являющийся причиной другого, принято называть exposure (в переводе с английского «воздействие»), а его следствие — outcome (с английского «результат» или «исход»).

Дизайн MR похож на рандомизированное контролируемое исследование – РКИ, и MR можно рассматривать как его «естественный аналог», в котором также происходит распределение, но не лекарства между испытуемыми, как в случае с РКИ, а ассоциированного с exposure аллеля в популяции. Рандомизация – то есть случайность этого распределения достигается за счёт законов Менделя о сегрегации и независимом наследовании признаков, а также случайной рекомбинации аллелей во время кроссинговера и слияния гамет. Важной деталью дизайна как РКИ, так и MR, является сбалансированность действия внешних факторов между группами индивидов. Это позволяет получить несмещенные оценки при сравнении исходов между группами.

Классическая MR предполагает, что для того, чтобы установить причинный эффект одного фенотипа на другой, нам не нужны сами фенотипы, достаточно знать эффекты генетических вариантов (SNP) на exposure и outcome. Если предположить, что фенотипический эффект exposure на outcome (β_{MR}) не зависит от эффекта генотипа на exposure (β_e), то эффект генотипа на outcome (β_o) равен $\beta_e \times \beta_{MR}$. В MR величина β_{MR} является искомой, а β_e и β_o известны. То есть задача

сводится к нахождению отношения β_o / β_e . В случае, когда эффекты генотипа на exposure и outcome оценены на индивидуальных данных в пределах одной выборки, говорят об одновыборочной МР, а когда β_e и β_o берутся из данных GWAS для exposure и outcome из независимых выборок, речь идет о двухвыборочной МР. В нашем исследовании мы использовали методы двухвыборочной МР (Рисунок 1).

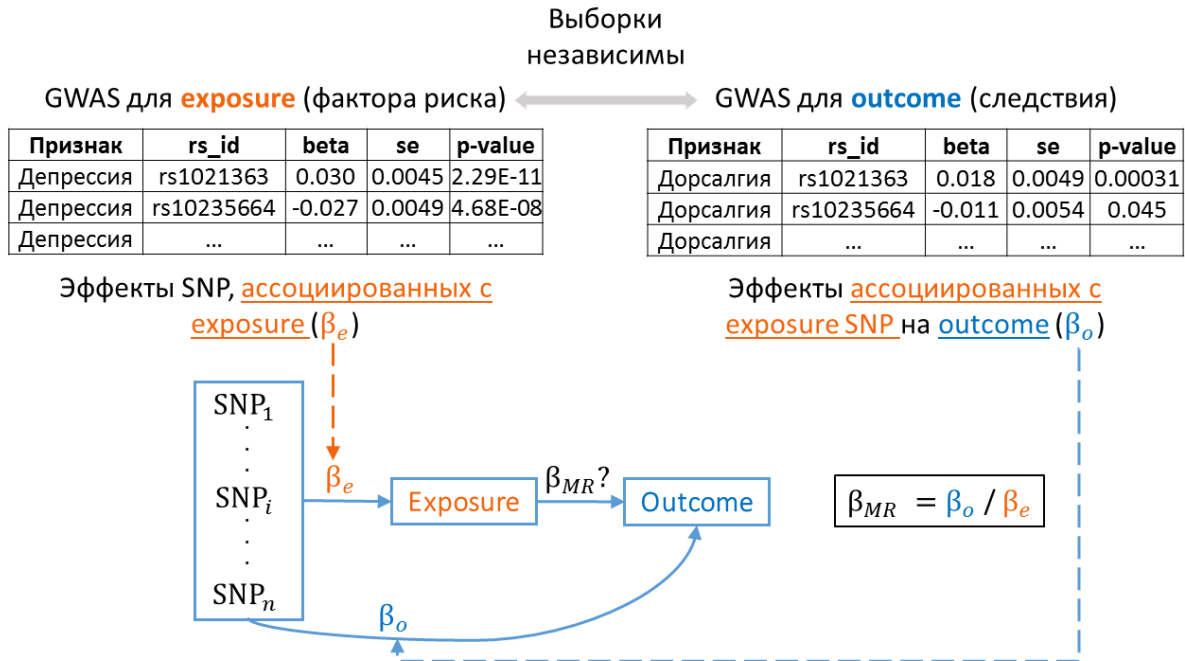


Рисунок 1. Схема двухвыборочной МР

Данный протокол предполагает использование двух наборов данных GWAS из независимых выборок. В анализе используются ассоциированные с exposure SNP. Оценки их эффектов на exposure (β_e) и outcome (β_o) берутся из соответствующих GWAS, и на их основании вычисляется эффект exposure на outcome (β_{MR})

В классической МР для того, чтобы равенство $\beta_{MR} = \beta_o / \beta_e$ выполнялось, важно, чтобы включенные в анализ SNP удовлетворяли ряду критериев. Во-первых, они должны быть связаны с exposure. Во-вторых, они не должны влиять на outcome иначе как через exposure (запрет на горизонтальную плеiotропию). В-третьих, они не должны быть связаны с внешним фактором, влияющим одновременно на exposure и outcome (так называемый confounder), то есть не должно быть вертикальной плеiotропии. Во всех трех критериях проверка на наличие связи между SNP и признаком обычно проводится по p-value ассоциации. Проверка на вертикальную плеiotропию требует знания потенциального confounder и наличия для него информации об ассоциации с SNP из анализа. Для каждого i -го SNP, удовлетворяющего условиям, можно вычислить β_{MRi} как β_{oi} / β_{ei} и стандартную ошибку этой величины (se_{MRi}) как отношение стандартной ошибки его эффекта на outcome (se_{oi}) к его эффекту на exposure (β_{ei}). Проведя мета-анализ β_{MRi} и se_{MRi} по всем отобраннным SNP, можно получить итоговую оценку β_{MR} и ее стандартную ошибку se_{MR} , на основании которых вычисляется $p - value_{MR}$. Если $p - value_{MR}$ оказывается меньше заданного уровня статистической значимости,

то нулевая гипотеза об отсутствии эффекта exposure на outcome отклоняется. Статистически незначимый результат MR при этом не указывает на отсутствие причинного эффекта (Рисунок 2).

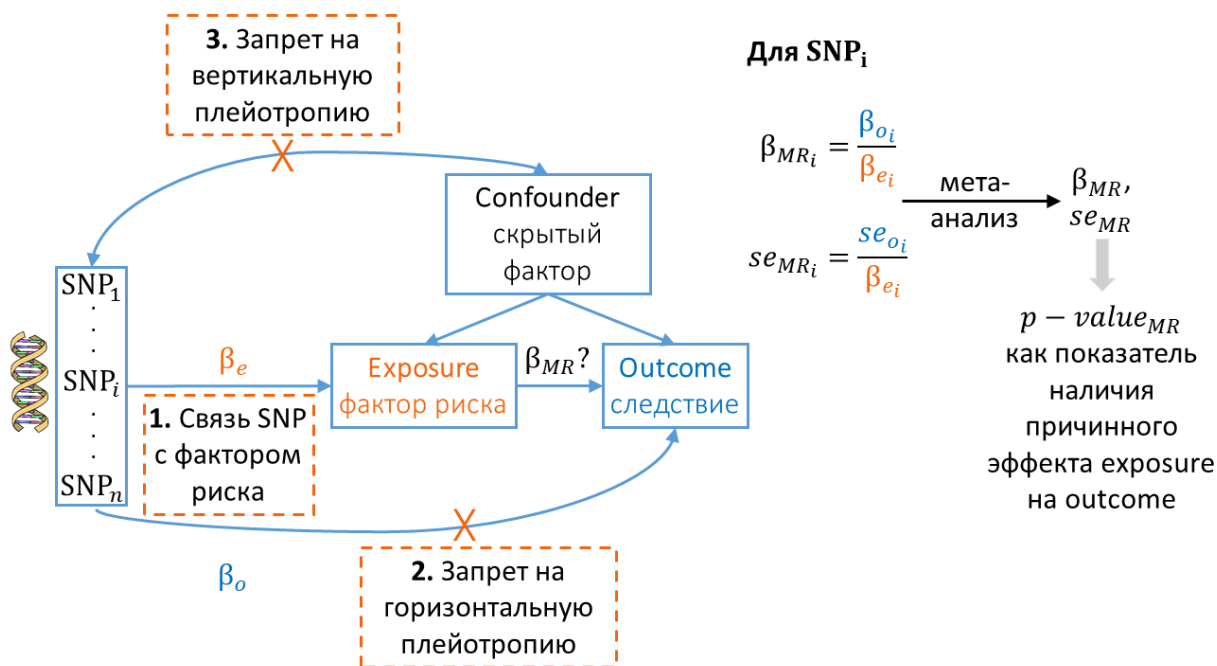


Рисунок 2. Логика вывода о наличии причинного эффекта в MR

Для каждого SNP_i , удовлетворяющего требованиям 1 – 3 (выделены на схеме оранжевым пунктиром), вычисляется β_{MR_i} и его стандартная ошибка (se_{MR_i}). Мета-анализ этих значений по всем SNP из набора дает финальную оценку эффекта exposure на outcome (β_{MR}) и его стандартную ошибку (se_{MR}). На их основании вычисляется $p - value_{MR}$, и, если оно оказывается меньше заданного порога, отклоняется нулевая гипотеза об отсутствии причинного влияния exposure на outcome

Несоблюдение перечисленных требований к SNP , наряду с явлениями, нарушающими случайное распределение аллелей и внешних факторов в популяции, приводит к смещенным оценкам эффекта exposure на outcome. Более поздние методы MR направлены на борьбу с отдельными ограничениями классического подхода, но не лишены их полностью. Для обеспечения высокой степени надежности результатов MR, были сформулированы международные рекомендации по проведению такого анализа [Skrivankova и др., 2021], однако не один из существующих протоколов в полной мере не удовлетворяет этим требованиям. По этой причине, первой задачей нашего исследования стала разработка протокола, который проводил бы анализ причинно-следственных связей между признаками с учетом всех рекомендаций и с опорой на информацию о генетической связи признаков между собой.

Анализ эффектов лекарственных средств. Мы проверили эффективность перепрофилирования существующих лекарств для лечения дорсалгии. Для выполнения этой части работы мы использовали подход, предложенный доктором Гиллом и соавторами [Gill и др., 2019]. Согласно ему, MR может быть использована для оценки эффекта лекарства на outcome, если 1) отобрать для анализа только те SNP , которые находятся внутри генов-мишеней

соответствующего лекарства; 2) в качестве exposure использовать признак, на который исследуемое лекарство действует напрямую; 3) умножить β_{MR} на коэффициент, отражающий эффект лекарства на exposure, оцененный в РКИ. Для определения генов-мишеней лекарств и их геномных координат нами проводилась работа с базами данных DrugBank [Wishart и др., 2006], GeneCards и GeneHancer [Fishilevich и др., 2017]. Вся обработка и анализ данных выполнялась на языках программирования R и bash.

Результаты

Разработка протокола. Нами был разработан многоступенчатый протокол проверки на наличие генетической и причинно-следственной связи, обусловленной фенотипами, в паре признаков. Он предполагает работу с данными GWAS и позволяет ответить на следующие вопросы:

1) В какой мере наблюдаемая между фенотипами ассоциация обусловлена сходством генетических факторов их контролирующих?

Для ответа на этот вопрос нами предложено проводить анализ наследуемости и парных генетических корреляций между признаками методом LD Score регрессии [Bulik-Sullivan и др., 2015].

2) Есть ли указание на причинно-следственную связь между фенотипами?

Отвечать на этот вопрос мы предложили с помощью проведения первичных анализов двухвыборочной МР с использованием методов IVW [Johnson, 2012] и CAUSE [Morrison и др., 2020]. Статистическая значимость для хотя бы одного из методов и близкие оценки β_{MR} в IVW и CAUSE является указанием на причинно-следственную связь между признаками. Для расчета порога статистической значимости использовалась поправка Бонферрони. Комбинация методов МР обеспечивает перекрестную проверку результатов и повышает статистическую мощность анализа при различных сценариях.

3) Обусловлен ли сигнал МР плейотропией?

Чтобы исключить ложноположительные результаты МР, мы предложили проводить дополнительные анализы. Их суть состоит в исключении из анализа SNP, проявляющих вертикальную или горизонтальную плейотропию. Проверка на вертикальную плейотропию проводилась вручную по p-value ассоциации SNP с потенциальными confounder. Горизонтальная плейотропия определялась с помощью MR-PRESSO [Verbanck и др., 2018]. Мы предложили считать результат МР действительным, если знак β_{MR} совпадал во всех анализах IVW и CAUSE, даже после удаления плейотропных SNP.

4) Как повлияло перекрытие выборок exposure и outcome на результат МР?

Чтобы оценивать степень искажения результатов метода IVW, чувствительного к перекрытию выборок exposure и outcome, мы предложили использовать специализированный веб-интерфейс, дающий аналитическую оценку на основе параметров модели [Burgess и др., 2016]. Для метода CAUSE проверки не требуется, т. к. метод устойчив к перекрытию выборок.

5) Насколько большой эффект exposure на outcome можно ожидать в теории?

Мы предложили собственный способ оценки β_{MR} на заданном наборе данных при ожидаемой статистической мощности анализа МР в 80%. Это особенно важно для интерпретации статистически не значимых результатов МР.

б) Может ли ассоциация фенотипов быть обусловлена обратной причинно-следственной связью?

Для проверки этого предположения мы предложили повторять анализ МР, меняя exposure и outcome местами.

Подводя итог описанному выше, важно сказать, что разработанный нами протокол не имеет аналогов на данный момент. От других подобных протоколов его отличает: интерпретация результатов с опорой на генетические корреляции, выбор методов МР, проверка на вертикальную плеiotропию, учет перекрывания выборок и оценка ожидаемого эффекта. В совокупности шаги нашего протокола обеспечивают соблюдение всех требований, предъявляемых к SNP в МР, позволяют минимизировать ложноположительные результаты, точнее оценить размер эффекта exposure на outcome и повысить статистическую мощность.

Анализ наследуемости и парных генетических корреляций. Оцененная нами SNP-основанная наследуемость 22 ассоциированных с дорсалгией признаков оказалась небольшой: не более 23%. Сама же дорсалгия имеет SNP-основанную наследуемость 2%, что согласуется с оценками SNP-основанной наследуемости для схожих признаков (например, наследуемость хронической боли в спине составляет 4% [Tsepilov и др., 2020]). Отличие этих значений от наследуемости, оцененной в близнецовых исследованиях, известно в генетике как проблема потерянной наследуемости и объясняется недостаточной изученностью генетического контроля признака. Генетические корреляции дорсалгии с большинством ассоциированных признаков слабые (0.15 – 0.37 по модулю). Уровень образования и большое депрессивное расстройство сильнее генетически коррелируют с дорсалгией (-0.56 и 0.51, соответственно, Таблица 1), однако эти корреляции все еще можно считать умеренными. Большинство признаков имеют положительную генетическую корреляцию с дорсалгией, однако уровень образования, продолжительность сна, открытость опыту, уровень холестерина ЛПНП и общий уровень физической активности отрицательно генетически коррелированы с дорсалгией. Девять признаков не показали статистически значимой генетической корреляции с дорсалгией, что может свидетельствовать не только об отсутствии генетической связи, но и о недостаточной мощности анализа. Для остальных же признаков результаты указывают на то, что ассоциация дорсалгии с ними в большей степени обусловлена связью на уровне фенотипов, нежели общей наследственной природой.

Анализ причинно-следственных связей между фенотипами. С помощью МР мы показали, что более низкий уровень образования, повышенный индекс массы тела (ИМТ), более частое употребление алкоголя, недостаток сна, повышенное систолическое и диастолическое давление, курение, депрессия и нейротизм влияют на дорсалгию на уровне фенотипа, то есть являются ее факторами риска (Рисунок 3).

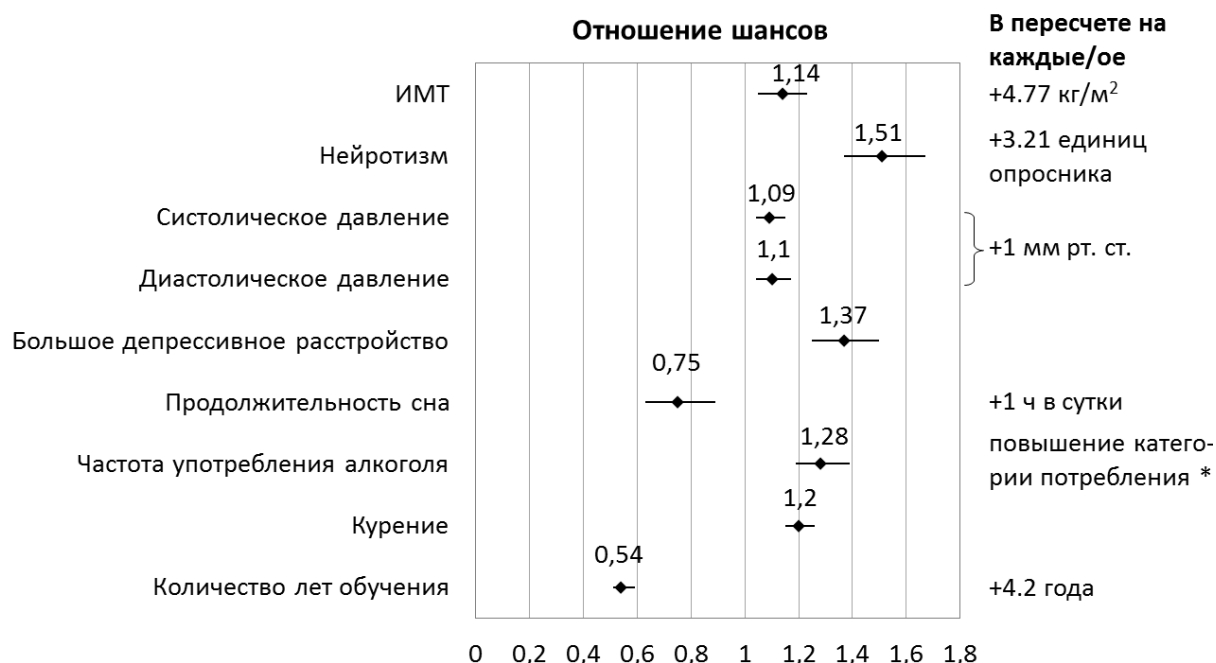


Рисунок 3. График, отражающий эффекты факторов риска дорсалгии на нее. По горизонтальной оси отложены оценки эффекта, выраженные через отношение шансов (для количественных признаков приведено в пересчете на их единицу измерения, обозначенную справа); черные ромбы на графике отражают точечные оценки эффекта, горизонтальные линии по бокам от них указывают границы 95%-го доверительного интервала для этих оценок. *категории потребления: «никогда», «только по особым случаям», «1-3 раза в месяц», «1-2 раза в неделю», «3-4 раза в неделю», «ежедневно или почти ежедневно».

Помимо этого, мы показали, что дорсалгия способствует прогрессии нейротизма, большого депрессивного расстройства и диабета второго типа (Рисунок 4). Таким образом, мы обнаружили указания на то, что между дорсалгией и депрессией, а также дорсалгией и нейротизмом существует положительная обратная связь.

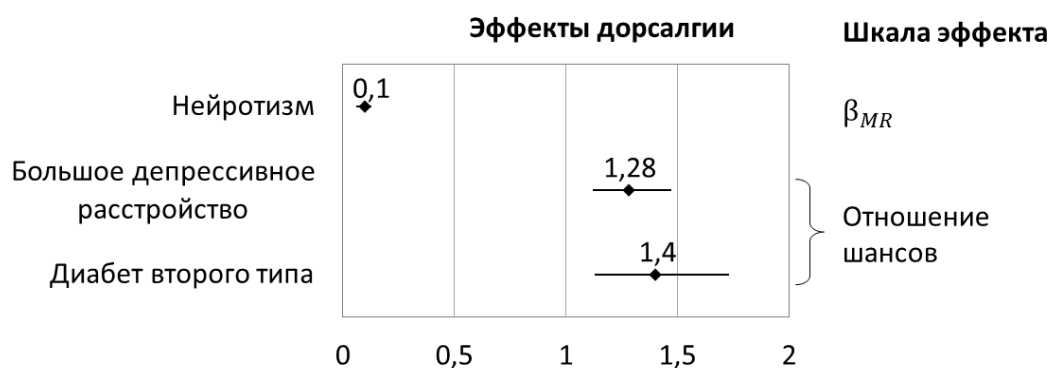


Рисунок 4. График, отражающий эффекты дорсалгии на ее следствия. По горизонтальной оси отложены оценки эффекта, шкала их измерения обозначена справа; черные ромбы на графике обозначают точечные оценки эффекта, горизонтальные линии по бокам от них отражают границы 95%-го доверительного интервала для этих оценок.

Сопоставление результатов анализа генетических корреляций и МР. Мы выявили шесть паттернов (Таблица 1) взаимосвязи дорсалгии с 22 ассоциированными с ней признаками: 1) есть и генетическая, и причинно-следственная связь, обусловленная фенотипами (двунаправленная), – два

признака; 2) есть и генетическая, и причинно-следственная связь, обусловленная фенотипами (прямая), – шесть признаков; 3) есть и генетическая, и причинно-следственная связь, обусловленная фенотипами (обратная), – один признак (диабет второго типа); 4) показана только генетическая связь – четыре признака; 5) показана только причинно-следственная связь, обусловленная фенотипами, – один признак (систолическое давление); 6) не найдена ни генетическая, ни причинно-следственная связь, обусловленная фенотипами, – восемь признаков (тревожные расстройства, экстраверсия, готовность к сотрудничеству, сознательность, холестерин ЛПНП, холестерин общий, сидячее поведение и количество дней в неделю с умеренной физической активностью более 10 минут). Однако стоит отметить, что отсутствие статистически значимого результата в анализе генетических корреляций или МР, не доказывает отсутствие генетической или причинно-следственной связи на уровне фенотипов между признаками и может быть следствием недостаточной мощности. Для девяти признаков из групп 1 – 5 связь с дорсалгией положительная (оценки генетических корреляций и/или эффектов МР выделены красным), а для пяти – отрицательная (оценки выделены синим). Направление эффекта МР во всех случаях согласуется с направлением генетических корреляций для признаков из групп 1 – 3.

Таблица 1 – Статистически значимые генетические и фенотипические причинно-следственные связи дорсалгии с ассоциированными с ней признаками

Признак	Генетическая корреляция с дорсалгией	МР эффект на дорсалгию	МР эффект дорсалгии на признак	Природа связи с дорсалгией
Нейротизм	0.34	1.51	0.10**	Генетическая и причинно-следственная, обусловленная фенотипами (прямая и обратная)
Большое депрессивное расстройство	0.51	1.37	1.28	
ИМТ	0.24	1.14	—	Генетическая и причинно-следственная, обусловленная фенотипами (прямая)
Диастолическое давление	0.15	1.10	—	
Частота употребления алкоголя	0.30	1.28	—	
Курение	0.37	1.20	—	
Продолжительность сна	-0.20	0.75	—	
Количество лет обучения	-0.56	0.54	—	Генетическая и причинно-следственная, обусловленная фенотипами (обратная)
Диабет второго типа	0.30	—	1.40	
Триглицериды	0.13	—	—	Генетическая
Холестерин ЛПВП	-0.17	—	—	
Общий уровень физической активности	-0.21	—	—	

Продолжение Таблицы 1

Признак	Генетическая корреляция с дорсалгией	МР эффект на дорсалгию	МР эффект дорсалгии на признак	Природа связи с дорсалгией
Открытость опыту	-0.37	—	—	Генетическая
Систолическое давление	—	1.09	—	Причинно-следственная, обусловленная фенотипами (прямая)

**шкала эффекта – β_{MR} , для всех остальных случаев указано отношение шансов в пересчете на единицу измерения признака; прочерк обозначает отсутствие статистически значимой оценки; красным выделены положительные оценки, синим – отрицательные

Проверка эффектов лекарств на дорсалгию. Выявив факторы риска дорсалгии, мы сфокусировались на тех из них, что позволяют медикаментозное лечение, чтобы проверить, можно ли использовать эти лекарства против дорсалгии. В частности, мы оценили лекарства четырех групп лекарственных средств, действующих на систолическое давление. Для проведения МР с ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (иАПФ), бета-блокаторами и блокаторами кальциевых каналов мы использовали SNP, отобранные в статье доктора Гилла и соавторов [Gill и др., 2019]. Для оценки эффекта статинов мы самостоятельно отобрали и валидировали полиморфизм rs3846663 в гене *HMGCR*. По итогам анализа МР мы не обнаружили статистически значимого эффекта ($p\text{-value} < 0.0125$ после поправки на множественное тестирование) от применения иАПФ, статинов, бета-блокаторов и блокаторов кальциевых каналов для лечения дорсалгии, однако эффекты последних двух оказались номинально значимыми ($p\text{-value} < 0.05$, Рисунок 5).

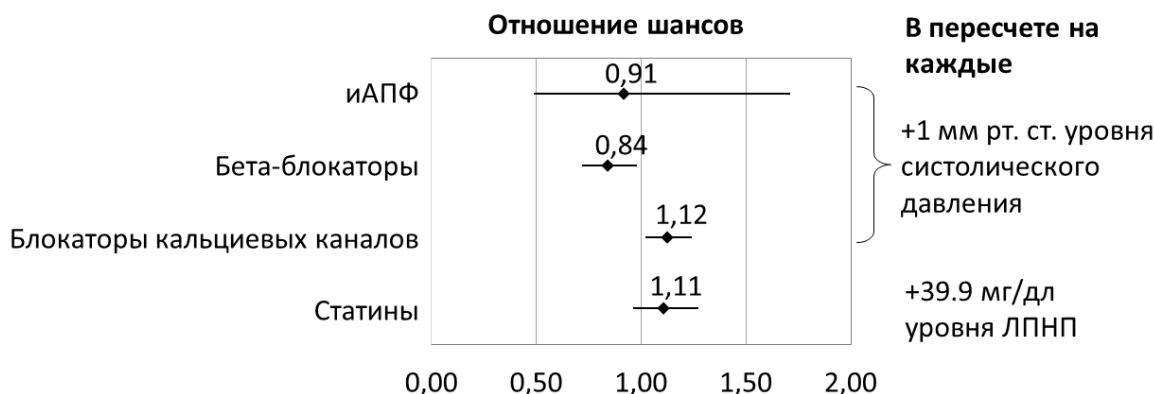


Рисунок 5. График, отражающий эффекты лекарственных средств на дорсалгию. По горизонтальной оси отложены оценки эффекта, выраженные через отношение шансов в пересчете на единицу измерения exposure (приведена справа); черные ромбы на графике обозначают точечные оценки эффекта, горизонтальные линии по бокам от них отражают границы 95%-го доверительного интервала для этих оценок

Обсуждение. Выявленные нами генетические и причинно-следственные связи, обусловленные фенотипами, расширяют наше понимание о механизмах развития боли в спине, как сложного признака. Обнаружив умеренные генетические

корреляции между дорсалгией и 13 другими признаками, мы показали для них наличие общих наследственных факторов. Для девяти из них дополнительно была описана причинно-следственная связь с дорсалгией на уровне фенотипов, и еще один признак выступает фактором риска дорсалгии, не имея с ней связи на уровне генотипа. Для остальных признаков мы не обнаружили ни генетических, ни причинно-следственных связей на уровне фенотипов. Результаты нашей работы имеют практическую значимость, поскольку полученные сведения в будущем могут быть полезны для прогнозирования рисков развития дорсалгии и тех или иных проблем со здоровьем, возникающих на ее фоне. Включение в прогностические модели дорсалгии признаков, имеющих с ней генетическую или причинно-следственную связь на уровне фенотипов, может повысить точность предсказания риска боли в спине.

Стоит отметить, что у метода МР есть ограничения. Нужно с осторожностью интерпретировать величину оценки в МР, поскольку этот подход позволяет оценивать только эффекты отдельных факторов риска, а не результат их совместного действия. Также эффект в МР – это величина, отражающая усредненное по популяции влияние одного признака на другой. По этим причинам размер эффекта в МР может быть смещен в контексте его применения для оценки индивидуальных рисков пациента. Несмотря на эти ограничения, на данный момент не существует другого более точного метода для оценки причинного эффекта.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что люди с более высоким ИМТ характеризуются повышенным риском развития боли в спине из-за причинного влияния ожирения на дорсалгию на уровне фенотипов. Сходным образом действуют на нее повышенное систолическое и диастолическое давление. И хотя амплитуда эффекта невелика, наличие этой причинно-следственной связи интересно само по себе, потому что может указывать на то, что антигипертензивные препараты могут влиять и на боль в спине через ее фактор риска. Однако наши результаты эту гипотезу не подтверждают. Тем не менее, номинальная значимость эффектов на боль в спине для бета-блокаторов и блокаторов кальциевых каналов, исходно действующих на систолическое давление, и данные наблюдательных исследований, показывают, что продолжение исследований в этом направлении имеет смысл. Отслеживание побочных эффектов этих лекарств на дорсалгию среди пациентов, принимающих их в рамках РКИ, поможет прояснить ситуацию и принять решение о целесообразности перепрофилирования антигипертензивных препаратов для профилактики и лечения дорсалгии.

Мы также показали, что образ жизни может значимо влиять на развитие боли в спине на популяционном уровне. В частности, это приводит к тому, что при сравнении групп индивидов, отличающихся по средней продолжительности сна в сутки, мы наблюдаем меньший риск появления дорсалгии в течение жизни у тех, кто спит дольше. А курящие индивиды имеют большую вероятность развития дорсалгии в течение жизни, чем некурящие. Кроме того, группы лиц, чаще употребляющие алкоголь, отличаются повышенным риском дорсалгии в сравнении с теми, кто делает это реже или не пьет алкоголь вовсе.

Нами было обнаружено, что в популяции индивиды с более высоким уровнем нейротизма имеют больший риск развития боли в спине в течение жизни из-за наличия положительной обратной связи между нейротизмом и дорсалгией. Это указывает на потенциальную значимость проведения терапии по контролю и снижению уровня нейротизма для профилактики и лечения дорсалгии. Примечательно, что такой характер взаимосвязи с дорсалгией был показан нами и для депрессии, проведение терапии против которой уже вошло в клиническую практику по лечению пациентов с болью в спине. Эффективность этого подхода была показана даже в тех случаях, когда у пациентов нет депрессии [Staiger и др., 2003].

Обнаруженный нами эффект дорсалгии на сахарный диабет второго типа также может представлять ценность для научного и медицинского сообщества. В частности, дальнейшее изучение физиологических основ этой причинно-следственной связи расширит понимание механизмов развития диабета второго типа. В перспективе это, возможно, повлияет на подход к ведению пациентов с дорсалгией. Например, для них может быть рекомендовано более частое проведение анализа крови на уровень глюкозы для отслеживания динамики и некоторые профилактические действия, вроде прохождения когнитивно-поведенческой терапии для снижения уровня стресса, повышения уровня физической активности и контроля за питанием.

Важно понимать, что все полученные нами сведения требуют подтверждения на данных независимых выборок и нуждаются в последующем систематическом анализе. При подтверждении этих результатов, специалистами из области медицины может быть принято решение о проведении дополнительных исследований с целью оценки эффективности описанных выше действий для профилактики и лечения боли в спине и диабета второго типа. И, хотя наши результаты не являются прямым показанием к изменению медицинских рекомендаций, выявленные связи создают задел для дальнейшей работы в этой области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе мы провели анализ генетических и средовых факторов, влияющих на сложный признак – дорсалгию. Для этого мы разработали уникальный протокол, сочетающий в себе анализ корреляции признаков на уровне генотипов (то есть плеiotропные эффекты в геноме) и методы МР, проверяющие наличие причинно-следственных связей на уровне фенотипов. Применив его к данным GWAS по дорсалгии и 22 ассоциированным с ней признакам, мы показали, что для 13 из них плеiotропные эффекты генома вносят умеренный вклад в связь с дорсалгией. Девять из признаков, генетически коррелированных с дорсалгией, показали также фенотипические причинно-следственные связи с ней по результатам анализа МР. При этом был выявлен только один признак, имеющий причинное влияние на дорсалгию, но не генетическую корреляцию с ней. Такое исследование было проведено впервые в мире. Мы первыми получили генетически обоснованные свидетельства того, что меньшее количество лет обучения, повышенное артериальное давление и потребление алкоголя, курение, большое депрессивное расстройство, более

высокий ИМТ и нейротизм повышают риск развития дорсалгии по причинному механизму. Помимо этого, мы показали, что сниженная продолжительность сна также провоцирует боль в спине. Нами было обнаружено, что дорсалгия является одним из факторов риска диабета второго типа и повышения уровня нейротизма. Эти сведения были получены впервые. Кроме того, наша работа подтвердила предположение о том, что боль в спине ведет к усугублению депрессии. Все вышеперечисленные признаки также имеют общие наследственные факторы с дорсалгией. Для диастолического давления, частоты употребления алкоголя и сахарного диабета второго типа это было показано впервые.

Доказав влияние повышенного артериального давления на дорсалгию, мы провели оценку эффективности бета-блокаторов, блокаторов кальциевых каналов, иАПФ и статинов для лечения боли в спине. Статистически значимого эффекта данных препаратов на боль в спине не было обнаружено, однако наши наблюдения согласуются с литературными данными об умеренном анальгезирующем действии бета-блокаторов и обратном эффекте блокаторов кальциевых каналов. Целесообразно продолжать исследования в этом направлении для решения вопроса о соответствующих рандомизированных контролируемых исследований.

Полученные нами результаты хорошо согласуются с эпидемиологическими данными, но их дальнейшая проверка и систематический мета-анализ с другими исследованиями необходимы для уточнения амплитуды и механизмов влияния описанных факторов риска.

ВЫВОДЫ

1. Разработанный протокол, использующий результаты GWAS и сочетающий в себе анализ генетических корреляций, два метода двухвыборочной Менделевской рандомизации и анализ устойчивости результатов каждого из них, позволяет исследовать генетические и причинно-следственные связи между фенотипами сложных признаков и повышает надежность и воспроизводимость получаемых результатов.
2. Тринадцать из ассоциированных с дорсалгией сложных признаков имеют с ней умеренные генетические корреляции, достигающие 0.56 по модулю. Восемь из этих признаков (повышенное диастолическое давление, ИМТ и уровень нейротизма, более низкий уровень образования, недостаток сна, депрессия, курение и более частое употребление алкоголя), а также повышенное систолическое давление являются факторами риска дорсалгии.
3. Дорсалгия не только положительно генетически коррелирует с уровнем нейротизма, диабетом второго типа и большим депрессивным расстройством, но и имеет с ними причинно-следственную связь на уровне фенотипов – является для них фактором риска.
4. Препараты, действующие исходно на фактор риска дорсалгии – повышенное систолическое давление, демонстрируют также номинально значимый эффект на нее: бета-блокаторы оказывают протективное влияние, а блокаторы кальциевых каналов способствуют обострению.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

По материалам диссертационного исследования было опубликовано пять статей за первым авторством в научных журналах первого квартиля (Q1), индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus:

- 1) **Elgaeva EE** & Suri P, Williams FMK, Freidin MB, Verzun DA, Tsepilov YA. Repurposing Antihypertensive and Statin Medications for Spinal Pain: A Mendelian Randomization Study. Spine (Phila Pa 1976) (Q1, IF = 2.6) 2023 Nov 15;48(22):1568-1574. doi: 10.1097/BRS.0000000000004790. (**Двойное первое авторство.**)
- 2) **Elgaeva EE**, Williams FMK, Zaytseva OO, Freidin MB, Aulchenko YS, Suri P, Tsepilov YA. Bidirectional Mendelian Randomization Study of Personality Traits Reveals a Positive Feedback Loop Between Neuroticism and Back Pain. J Pain (Q1, IF = 4.0). 2023 Oct;24(10):1875-1885. doi: 10.1016/j.jpain.2023.05.012.
- 3) **Elgaeva EE** & Suri P, Williams FMK, Freidin MB, Zaytseva OO, Aulchenko YS, Tsepilov YA. Evidence of causal effects of blood pressure on back pain and back pain on type II diabetes provided by a bidirectional Mendelian randomization study. Spine J. (Q1, IF = 4.9) 2023 Apr 13:S1529-9430(23)00156-0. doi: 10.1016/j.spinee.2023.04.001. (**Двойное первое авторство.**)
- 4) **Elgaeva EE** & Williams FMK, Freidin MB, Zaytseva OO, Aulchenko YS, Tsepilov YA, Suri P. Causal effects of psychosocial factors on chronic back pain: a bidirectional Mendelian randomisation study. Eur Spine J. (Q1, IF = 2.6) 2022 Jul; 31(7):1906-1915. doi: 10.1007/s00586-022-07263-2. (**Двойное первое авторство.**)
- 5) **Elgaeva EE**, Tsepilov Y, Freidin MB, Williams FMK, Aulchenko Y, Suri P. ISSLS Prize in Clinical Science 2020. Examining causal effects of body mass index on back pain: a Mendelian randomization study. Eur Spine J. (Q1, IF = 3.134) 2020 Apr;29(4):686-691. doi: 10.1007/s00586-019-06224-6.