

Поиск генетических маркеров, определяющих эффективность терапии бисфосфонатами у российских женщин с постменопаузальным остеопорозом: пилотное исследование

Крылов М.Ю., Никитинская О.А., Самаркина Е.Ю., Демин Н.В., Торопцова Н.В.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия
115522 Москва, Каширское шоссе, 34А

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia
34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522

Контакты: Михаил Юрьевич Крылов;
mekry@yandex.ru

Contact:
Mikhail Krylov;
mekry@yandex.ru

Поступила 15.01.16

Многие клинические наблюдения показывают, что генетический фон пациента имеет большое значение при определении эффективности лечения.

Материал и методы. В исследование включены 50 женщин в постменопаузе с достоверным диагнозом остеопороза (ОП), находившихся под наблюдением в лаборатории остеопороза ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой. Измерение минеральной плотности кости (МПК) поясничного отдела позвоночника (L_{1-IV}), шейки бедра (ШБ) и всего бедра (ВБ) было проведено методом DXA до и после 12-месячного лечения бисфосфонатами (БФ). Для оценки динамики МПК мы использовали дельту МПК в процентах (Δ , %).

Результаты и обсуждение. В целом по группе был отмечен положительный эффект терапии БФ в течение года, наиболее выраженный в поясничном отделе позвоночника (Δ МПК в среднем около 4%) и небольшой прирост МПК в проксимальном отделе бедра (Δ МПК в среднем около 2%). Анализ показал статистически достоверную связь полиморфизма (-2518A>G) гена *MCPI* с динамикой МПК L_{1-IV} после 12-месячной терапии БФ. Так, пациентки – носительницы генотипа с аллелью А имели прирост МПК L_{1-IV} в результате терапии БФ более чем в два раза ниже, чем не имеющие этой аллели. Генетические варианты гена *CCR5*, связанные с делецией $\Delta 32$, и полиморфизм (-511C/T) гена *IL1 β* также были ассоциированы с динамикой МПК ШБ после 12-месячной терапии БФ. Увеличение МПК при лечении БФ у носителей мутантной аллели $\Delta 32$ гена *CCR5* (wt/ $\Delta 32$ -генотип) было в 3,5 раза выше, чем у носителей wt/wt генотипа дикого типа. Изучение полиморфизма (-511C/T) гена *IL1* показало, что у носителей CC-генотипа прирост МПК ШБ был достоверно больше, чем у носителей CT-генотипа ($4,2 \pm 4,8$ и $1,0 \pm 3,7\%$ соответственно; $p = 0,023$). В нашем исследовании не обнаружено значимой связи между полиморфизмами генов *VDR*, *LEPR*, *IL10*, *MHTFR*, *PPARG*, *SPPI*, *CCR5(G/A)* и динамикой МПК в трех исследованных областях скелета в результате 12-месячной терапии БФ. Полученные результаты позволяют говорить о возможности использования генетического тестирования для прогнозирования ответа на БФ.

Ключевые слова: фармакогенетика; эффективность терапии; полиморфизмы; остеопороз; бисфосфонаты.

Для ссылки: Крылов МЮ, Никитинская ОА, Самаркина ЕЮ и др. Поиск генетических маркеров, определяющих эффективность терапии бисфосфонатами у российских женщин с постменопаузальным остеопорозом: пилотное исследование. Научно-практическая ревматология. 2016;54(4):412-417.

SEARCH FOR GENETIC MARKERS DETERMINING THE EFFICIENCY OF THERAPY WITH BISPHOSPHONATES IN RUSSIAN WOMEN WITH POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS: A PILOT STUDY Krylov M.Yu., Nikitinskaya O.A., Samarkina E.Yu., Demin N.V., Toroptsova N.V.

Many clinical observations show that patient's genetic background is of great importance in determining the efficiency of treatment.

Subjects and methods. The instigation included 50 postmenopausal women with osteoporosis (OP), who were followed up at the Laboratory of osteoporosis, V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology. Body mineral density (BMD) in the lumbar spine (L_{1-IV}), femoral neck (FN), and total hip was measured using dual-energy X-ray absorptiometry before and 12 months after treatment with bisphosphonates (BP). To estimate BMD changes, the investigators used Δ BMD in percent (Δ , %).

Results and discussion. The whole group showed a positive effect of BP therapy during a year, which was most pronounced in the lumbar spine (mean Δ BMD, about 4%), and a small increment in the proximal hip BMD (mean Δ BMD, about 2%). An analysis indicated a statistically significant correlation of *MCPI* -2518A>G polymorphism with changes in L_{1-IV} BMD after 12-month BP therapy. Thus, the female patients who were A allele carriers had a twice lower increase in L_{1-IV} BMD due to BP therapy than those without this allele. The genetic variants of the *CCR5* gene, which were related to $\Delta 32$ deletion, and *IL1 β* -511C/T polymorphism were also associated with changes in FN BMD following 12-month BP therapy. The BMD increase due to BP therapy in the carriers of the *CCR5* $\Delta 32$ mutation (wt/ $\Delta 32$ genotype) was 3.5-fold than that in the carriers of the wild type gene (wt/wt genotype). Examination of *IL1* -511C/T polymorphism demonstrated that the FN BMD increment in the carriers of the CC genotype was significantly higher than in those of the CT genotype (4.2 ± 4.8 and $1.0 \pm 3.7\%$, respectively; $p = 0.023$). Our investigation revealed no significant relationship between *VDR*, *LEPR*, *IL10*, *MHTFR*, *PPARG*, *SPPI*, and *CCR5(G/A)* gene polymorphisms and 12-month BP therapy-induced BMD changes in the three study skeletal regions. The findings may suggest that genetic testing may be used to predict a response to BP.

Key words: pharmacogenetics; therapeutic efficiency; polymorphisms; osteoporosis; bisphosphonates.

For reference: Krylov MYu, Nikitinskaya OA, Samarkina EYu, et al. Search for genetic markers determining the efficiency of therapy with bisphosphonates in Russian women with postmenopausal osteoporosis: A pilot study. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2016;54(4):412-417 (In Russ.).

doi: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2016-412-417>

Остеопороз (ОП) — распространенное хроническое системное заболевание костной ткани, связанное с потерей ее массы и повышенным риском переломов. Для лечения ОП применяются различные по механизму действия лекарственные препараты, которые способны эффективно повышать минеральную плотность кости (МПК) и снижать риск переломов. Препаратами выбора при ОП являются бисфосфонаты (БФ), которые ингибируют процесс костной резорбции, увеличивая МПК максимум на 8% в позвоночнике и на 3,5% в бедре за 3 года лечения, при этом риск переломов позвонков и периферических костей снижается примерно на 30–70%. Эффективность и безопасность БФ у разных пациентов не одинаковы [1], и 5–10% из них не отвечают на проводимое лечение [2, 3].

БФ представляют собой соединения с молекулярной структурой, аналогичной неорганическому пирофосфату, и являются самыми простыми из полифосфатов. Они способны тормозить агрегацию и растворение кристаллов фосфата кальция *in vitro*. В естественных условиях пирофосфат играет физиологическую роль в предотвращении кальцификации мягких тканей [4] и может участвовать в процессе минерализации костной ткани.

В настоящее время для лечения ОП применяются БФ, как простые, так и содержащие в боковой цепи один или два атома азота (азотсодержащие БФ). Простые БФ (этидронат) проникают в остеокласты и метаболизируются в цитотоксические аналоги аденозинтрифосфата (АТФ), которые накапливаются внутри клетки и подавляют активность множества ферментов, жизненно важных для остеокластов. Азотсодержащие БФ ингибируют фарнезил-дифосфонат синтазу — фермент, участвующий в биосинтезе холестерина [5]. В результате нарушается пренилирование ряда регуляторных белков, необходимых для поддержания структуры и функции остеокластов. Несмотря на различные механизмы действия, оба класса БФ в конечном итоге приводят к апоптозу остеокластов в результате действия каспазы [6]. Это позволяет использовать БФ не только при ОП, но и при других патологических состояниях, характеризующихся повышенной костной резорбцией. К ним можно отнести болезнь Педжета, злокачественную гипокальциемию при миеломе, остеолитические костные метастазы и фиброзную дисплазию костей.

Многие клинические наблюдения показывают, что генетический фон человека играет важную роль в определении эффективности лечения. Клинический ответ на лечение БФ, по-видимому, зависит от конкретных генотипов генов-мишеней, таких как ген рецептора витамина D (*VDR*), рецептора эстрогенов (*ESR*), коллагена типа I (*Col1A1*), интерлейкина 1 β (*IL1 β*) и др. Хорошо изучены полиморфные вариации гена *VDR*, например BsmI-полиморфизм (rs1544410), который связан с индивидуальной эффективностью при лечении этидронатом [7] и алендронатом [8, 9] в популяциях европейских женщин в постменопаузе. Отмечено, что полиморфизмы BsmI и TaqI (rs731236) гена *VDR* и (-511C/T) полиморфизм (rs16944) гена *IL1 β* связаны с приобретенной устойчивостью к лечению БФ у пациентов с болезнью Педжета в популяции лиц кавказоидной расы [10, 11]. Изучение вариаций в гене рецептора эстрогена 2 (*ESR2*) и гене белка 5, связанного с рецептором липопroteина низкой плотности (*LRP5*), — rs3736228 и rs4988321 — не выявило связи этих

полиморфизмов с ответом на лечение алендронатом и резидронатом [12, 13].

Поскольку БФ влияют на биосинтез холестерина, полиморфизмы генов, кодирующих ферменты — мишени мевалонатного пути, могут изменять ответ на терапию азотсодержащими БФ. F. Marini и соавт. [14] показали, что полиморфизм гена *FDPS*, продукт которого является мишенью для азотсодержащих БФ, оказывает влияние на эффективность БФ при длительном лечении у датских женщин в постменопаузе.

В литературе фармакогенетические исследования по влиянию БФ на МПК представлены в ограниченном количестве. Поэтому мы решили изучить возможное влияние генетических вариантов ряда генов, участвующих в детерминации МПК, на антирезорбтивный эффект 12-месячного лечения БФ. Помимо уже изученных полиморфизмов генов *VDR* и *IL1 β* , в настоящем исследовании мы оценивали несколько других генов, ассоциированных с МПК, включая ген *MCP1*, кодирующий моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 [15], ген *LEPR*, кодирующий рецептор лептина [16, 17], ген *IL10* [18], ген *MHTFR*, кодирующий метилентгидротетрафолат редуктазу [19], ген *IL1 β* [20, 21], ген *SPPI*, кодирующий белок остеопонтин [22], ген *CCR5*, кодирующий рецептор хемокина CCR5 [16], ген *PPARG*, кодирующий рецептор — активатор пролиферации пероксисом типа gamma [23].

Материал и методы

В исследование включены 50 женщин в постменопаузе с достоверным диагнозом ОП, соответствующим критериям Всемирной организации здравоохранения: снижение МПК по Т-критерию на 2,5 стандартного отклонения (SD) в поясничном отделе позвоночника и/или проксимальном отделе бедра при отсутствии признаков вторичного ОП — и находившихся под наблюдением в лаборатории остеопороза ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой. Измерение МПК поясничного отдела позвоночника (L_{1–IV}), шейки бедра (ШБ) и всего бедра (ВБ) было проведено методом двуэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) на костном денситометре QDR Hologic 4500W до и после 12 мес лечения азотсодержащими БФ. Для оценки динамики МПК мы использовали дельту МПК в процентах (Δ , %), которую рассчитывали как отношение разницы между МПК после лечения и МПК на момент включения в исследование, умноженное на 100. Дельту МПК использовали затем для выявления ассоциации между полиморфизмами и ответом на терапию БФ. Перечень изученных генов и их полиморфизмов представлен в табл. 1.

Работа была одобрена этическим комитетом ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Генотипирование. Для выделения ДНК стандартным солевым методом у всех пациенток брали по 10 мл периферической крови. Полиморфизмы 10 генов были изучены методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестриктивных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). В качестве праймеров использовали синтетические олигонуклеотиды, синтезированные в компании «Синтол» (Москва). Продукты амплификации подвергались гидролизу соответствующими эндонук-

лезами компании «СибЭнзим» (Новосибирск) согласно рекомендациям производителя.

Статистические методы. Корреляционный анализ проведен с использованием непараметрического метода Спирмена. Различия МПК до и после лечения были определены при помощи t-критерия для независимых групп. Дисперсионный анализ связи между динамикой МПК на фоне терапии БФ и изученными полиморфизмами был проведен с помощью ANOVA one-way теста с поправкой на множественные сравнения. Все количественные данные представлены как средние $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm \delta$). Уровень значимости $p < 0,05$ считали статистически достоверным при использовании двустороннего точного критерия Фишера. Весь анализ был выполнен с использованием пакета программ Statistica 6.0 (Stat Soft Inc., США).

Результаты

Распределение частот генотипов в группе пациентов находилось в согласии с законом Харди–Вайнберга (χ^2 -тест). Изученная выборка имела следующие демографические показатели: средний возраст, рост, масса тела и индекс массы тела (ИМТ) составили $66,3 \pm 8,1$ года, $159,2 \pm 5,3$ см, $66,5 \pm 11,3$ кг и $26,0 \pm 4,3$ кг/см² соответственно. Непараметрический корреляционный анализ выявил положительную связь между ростом пациентов и $\Delta 32$ полиморфизмом гена *CCR5* ($r = 0,35$; $p = 0,034$). Носители дикого генотипа (wt/wt) имели более высокий рост по сравнению с носителями гетерозиготного генотипа wt/ $\Delta 32$ ($160,1 \pm 5,3$ и $153,7 \pm 3,0$ см соответственно; $p = 0,046$). Масса тела и ИМТ положительно коррелировали с полиморфизмом (-511C/T) гена *IL1 β* ($r = 0,37$; $p = 0,024$ и $r = 0,40$; $p = 0,017$ соответственно). Установлено, что средние масса тела и ИМТ в группе пациенток – носителей генотипа TT гена *IL1 β* были статистически достоверно больше, чем у носителей генотипа CT того же гена ($75,1 \pm 11,8$ и $62,1 \pm 5,9$ кг;

$p = 0,034$ и $29,7 \pm 5,0$ и $24,9 \pm 3,0$ кг/м² соответственно; $p = 0,046$). Средние показатели денситометрических параметров до и после терапии БФ в изученной выборке представлены в табл. 2.

В целом в группе был отмечен положительный эффект терапии БФ в течение года, наиболее выраженный в поясничном отделе позвоночника (Δ МПК в среднем 4%) и незначительный в проксимальном отделе бедра (Δ МПК в среднем 2%). Однако при анализе эффективности лечения у 29 пациенток не было отмечено динамики МПК в различных отделах скелета: у 10 (18,9%) – L_{1-IV} , у 15 (28,3%) – ШБ, у 12 (22,6%) – ВБ; у 7 (13,2%) – в двух и у 1 (1,9%) – во всех трех областях измерения соответственно. Непараметрический корреляционный анализ Спирмена показал статистически достоверную слабую положительную корреляцию между Δ МПК L_{1-IV} и полиморфизмом (-2518A>G) гена *MCP1* ($r = 0,30$; $p = 0,034$). Для Δ МПК ШБ была выявлена отрицательная корреляция с полиморфизмом CCR5 $\Delta 32$ гена *CCR5* ($r = -0,38$; $p = 0,008$).

Результаты дисперсионного анализа ассоциаций между изученными полиморфизмами генов и Δ МПК через 12 мес лечения представлены в табл. 3.

Анализ показал статистически достоверную связь полиморфизма (-2518A>G) гена *MCP1* с динамикой МПК L_{1-IV} после 12-месячной терапии БФ. Так, пациентки – носители генотипа с аллелью А (AA- или AG-генотипы) имели более чем в два раза меньший прирост МПК L_{1-IV} в результате терапии БФ по сравнению с не имеющими этой аллели (GG-генотип): $3,7 \pm 3,2$; $2,9 \pm 3,9$ и $8,1 \pm 2,5\%$; ($p = 0,035$ и $p = 0,013$ соответственно). Различия оставались высоко значимыми при сравнении прироста МПК L_{1-IV} у носителей объединенных AA+AG-генотипов и носителей GG-генотипа ($3,4 \pm 3,5\%$ и $8,1 \pm 2,5\%$ соответственно; $p = 0,006$). Таким образом, у носителей двух доз аллели G БФ более эффективно повышали МПК L_{1-IV} , чем у носителей одной дозы аллели (AG-генотип) или при ее отсутствии (AA-генотип).

Не выявлено влияния генетических вариантов гена *MCP1* на изменение МПК ШБ и ВБ на фоне терапии БФ.

Генетические варианты гена *CCR5*, связанные с $\Delta 32$ -делецией (мутация вследствие выпадения 32 нуклеотидов в последовательности гена *CCR5*), также были ассоциированы с динамикой МПК ШБ на фоне терапии БФ. При наличии гетерозиготного генотипа *CCR5* wt/ $\Delta 32$ динамика МПК ШБ была более выражена, чем в присутствии генотипа дикого типа *CCR5* wt/wt ($6,3 \pm 2,4$ и $1,7 \pm 4,2\%$ соответственно; $p = 0,012$). Таким образом, эффект БФ на МПК у носителей мутантной $\Delta 32$ аллели (wt/ $\Delta 32$ -генотип) был в 3,5 раза выше, чем у носителей дикого wt/wt генотипа. Не выявлено связи $\Delta 32$ -полиморфизма гена *CCR5* с динамикой МПК L_{1-IV} и ВБ при лечении БФ.

Изучение полиморфизма (-511C/T) гена *IL1 β* показало, что у носителей CC-генотипа динамика МПК ШБ была достоверно больше, чем у носителей CT-генотипа или CT+TT-генотипа ($4,2 \pm 4,8$; $1,0 \pm 3,7$ и $1,2 \pm 3,6\%$ соответственно; $p = 0,023$ и $p = 0,015$). Не выявлено достоверного влияния генетических вариантов (511C/T) *IL1 β* полиморфизма гена на изменение показателей МПК L_{1-IV} и ВБ после лечения БФ.

В нашем исследовании не обнаружено значимой связи между изученными полиморфизмами генов *VDR*, *LEPR*,

Таблица 1 Исследованные гены и их полиморфизмы

Ген	Название	Полиморфизм
1. <i>VDR</i>	Рецептор витамина D	BsmI
2. <i>MCP1</i> (<i>CCL2</i>)	Моноцитарный хемоаттрактантный белок 1	(-2518) A>G
3. <i>LEPR</i>	Лептиновый рецептор	(Gln223Arg)
4. <i>IL10</i>	Интерлейкин 10	(-571) A>C
5. <i>MHTFR</i>	Метилентгидротетрафолат редуктаза	(677C>T)
6. <i>IL1</i>	Интерлейкин 1	(-511) C>T
7. <i>SPP1</i>	Остеопонтин	(925) C>T
8. <i>CCR5</i>	Рецептор хемокина CCR5	CCR5 ($\Delta 32$)
9. <i>PPARG</i>	Рецептор – активатор пролиферации пероксисом типа gamma 3	(Pro12Ala)
10. <i>CCR5</i>	Рецептор хемокина CCR5	(59029G>A)

Таблица 2 Динамика МПК на фоне лечения БФ в течение 12 мес, $M \pm \delta$

Область измерения МПК	МПК, г/см ²		Δ , %
	исходная	после лечения	
L_{1-IV}	$0,745 \pm 0,078$	$0,773 \pm 0,088$	$4,0 \pm 4,1$
ШБ	$0,611 \pm 0,075$	$0,624 \pm 0,078$	$2,2 \pm 4,2$
ВБ	$0,739 \pm 0,093$	$0,753 \pm 0,095$	$1,9 \pm 3,0$

IL10, MHTFR, PPARG, SPP1, CCR5 (59029G/A) и динамикой МПК в трех исследованных областях скелета в результате 12-месячной терапии БФ (табл. 3).

Обсуждение

К настоящему времени полногеномные исследования, проведенные в разных популяциях, выявили более 56 генетических локусов, связанных с низкой МПК; 14 из них были ассоциированы с переломами [24], многие из которых связаны с регуляцией костного минерального гомеостаза [25]. Полагают, что в ближайшее время однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), расположенные в этих локусах, могут быть использованы в качестве биомаркеров для скрининга риска развития ОП и мониторинга эффективности фармакологической терапии у генетически подверженных ОП лиц.

В последние годы выбор доступной терапии для лечения постменопаузального ОП стал достаточно большим. Однако наибольшее применение в клинической практике нашли БФ — препараты, уменьшающие разрушение костной ткани. Эффективность лечения ОП во многом может зависеть не только от фармакологического действия препарата и приверженности больного терапии, но и от генетических факторов, присущих конкретному индивидууму. Вместе с тем в литературе пока недостаточно данных о возможном влиянии генетических факторов на клинический ответ у пациента с ОП. Можно предположить, что ответ конкретного больного на лечение БФ связан с модифицирующим действием полиморфизмов различных генов, участвующих в метаболизме костной ткани.

В нашем исследовании мы не нашли достоверной связи между носительством определенного генотипа BsmI гена *VDR* и динамикой МПК на фоне 12-месячной терапии БФ у женщин с ОП. В то же время ряд ранее проведенных исследований выявил ассоциацию полиморфизма BsmI гена *VDR* с эффективностью лечения ОП алендронатом [8, 9]. Так, носители аллели b полиморфизма BsmI гена *VDR* показали положительный ответ на лечение алендронатом, а отрицательный ответ был выявлен у носителей BB-генотипа этого гена. Кроме того, показано влияние генотипов BsmI гена *VDR* на эффективность антирезорбтивных препаратов, особенно если они используются в комбинации. Другая работа продемонстрировала более благоприятный ответ на терапию другим БФ — этидронатом — у больных ОП с BB-генотипом гена *VDR* по сравнению с носителями рецессивного bb-генотипа [7]. Полученные противоречивые результаты можно объяснить, с одной стороны, этническими различиями генофонда и специфическими средовыми факторами, а с другой — использованием разных препаратов. В этих работах изучались разные классы БФ — простые и азотсодержащие. Следует также учитывать, что эффективность лечения ОП определяется не единственным геном, а комплексом генетических факторов. Могут иметь значение различия размеров изученных выборок больных и методических подходов к оценке. Последние исследования также продемонстрировали противоречивые данные о связи полиморфизма BsmI гена *VDR* с МПК и переломами у женщин с ОП. Так, польские коллеги [26] также не выявили связи полиморфизма BsmI гена *VDR* с МПК. Сходные результаты получены на выборке испанских женщин [27]. Наша

работа показала, что носительство аллели А (AA- или AG-генотипы) гена *MCP1* приводило к более низкому приросту МПК в позвоночнике в результате терапии

Таблица 3 Ассоциации между полиморфизмами изученных генов и ΔМПК, %, М±δ

ΔМПК	Генотип			p
	MCP1 (-2518A/G)			
	AA (n=26)	AG (n=19)	GG (n=5)	
L _{I-IV}	3,7±3,2	2,9±3,9*	8,1±2,5*	0,013
ШБ	2,3±4,6	2,1±4,2	3,1±3,8	нд
ВБ	2,0±3,0	1,8±3,2	2,4±2,1	нд
	CCR5 (Δ32)			
	wt/wt (n=44)	wt/Δ32 (n=6)	Δ32/Δ32 (n=0)	
L _{I-IV}	3,4±3,8	5,7±3,8		нд
ШБ	1,7±4,2*	6,3±2,4*		0,012
ВБ	1,7±3,0	3,0±2,3		нд
	IL1β (-511C/T)			
	CC (n=19)	CT (n=21)	TT (n=10)	
L _{I-IV}	3,7±3,3	3,2±4,5	4,1±3,4	нд
ШБ	4,2±4,8*	1,0±3,7*	1,3±3,6	0,023
ВБ	2,1±4,2	1,8±2,2	1,5±1,6	нд
	VDR (BsmI)			
	BB (n=8)	Bb (n=31)	bb (n=11)	
L _{I-IV}	3,6±3,9	4,3±3,3	2,9±4,3	нд
ШБ	3,2±4,3	2,4±4,6	1,3±3,3	нд
ВБ	1,9±2,2	2,3±3,1	0,7±2,8	нд
	LEPR (223Gln/Arg)			
	GG (n=19)	GA (n=30)	AA (n=1)	
L _{I-IV}	3,2±3,1	4,0±4,0	11,2	нд
ШБ	1,8±3,3	2,9±5,0	5,0	нд
ВБ	2,2±3,3	1,7±8,0	3,6	нд
	CCR5 (59029G/A)			
	GG (n=10)	GA (n=26)	AA (n=14)	
L _{I-IV}	4,2±3,0	4,0±3,7	2,2±4,6	нд
ШБ	2,0±3,3	3,1±4,5	0,4±4,4	нд
ВБ	0,7±3,3	1,5±2,2	3,4±3,6	нд
	IL10 (-571A/C)			
	AA (n=4)	AC (n=25)	CC (n=21)	
L _{I-IV}	2,2±1,3	3,4±4,3	4,1±3,7	нд
ШБ	0,05±3,4	2,8±4,4	2,5±4,1	нд
ВБ	1,3±0,9	2,3±3,3	1,7±2,9	нд
	MHTFR (677C/T)			
	CC (n=34)	CT (n=14)	TT (n=2)	
L _{I-IV}	3,9±4,0	3,0±3,0	6,6±2,0	нд
ШБ	3,0±4,0	1,1±4,7	-3,8±0,1	нд
ВБ	1,9±3,4	1,5±2,1	1,8±0,6	нд
	SPP1 (9250C/T)			
	CC (n=11)	CT (n=35)	TT (n=4)	
L _{I-IV}	4,8±3,2	3,7±3,8	2,0±4,0	нд
ШБ	2,3±3,8	2,2±4,5	3,0±5,0	нд
ВБ	1,4±2,7	2,2±3,1	0,5±2,7	нд
	PPARG (Pro12Ala)			
	PP (n=35)	PA (n=13)	AA (n=2)	
L _{I-IV}	3,9±3,2	2,9±3,8	1,7±3,3	нд
ШБ	2,3±4,3	2,3±4,3	2,0±2,2	нд
ВБ	1,4±2,7	0,1±5,4	3,6±2,0	нд

Примечание. *p<0,05, нд — различия не достоверны.

БФ по сравнению с не носителями этой аллели (GG-генотип). В то же время мы не обнаружили влияния генетических вариантов гена *MCP1* на динамику МПК в проксимальном отделе бедра на фоне лечения. Проведенный поиск отечественных и зарубежных публикаций, посвященных влиянию полиморфизмов гена *MCP1* на динамику МПК при использовании какой-либо антиостеопоротической терапии, не выявил соответствующих работ. Однако в недавнем исследовании была показана положительная связь GG-генотипа полиморфизма (-2518A/G) гена *MCP1* с риском развития ОП и остеопении [15].

Генетические варианты генов *MCP1* и *CCR5* вовлечены в предрасположенность к ряду заболеваний, таких как хроническая обструктивная болезнь легких [28], рак предстательной железы [29]. В то же время, согласно полученным нами данным, Δ32-полиморфизм гена рецептора хемокина *CCR5* является новым представителем генов-мишеней, ассоциированных с эффективностью терапии ОП БФ. Хотя роль *CCR5*Δ32-рецептора в метаболизме кости не ясна, мы показали, что наличие мутантной Δ32 аллели в генотипе женщин с ОП приводило к более выраженной динамике МПК на фоне лечения БФ в области ШБ по сравнению с лицами — носителями дикого генотипа wt/wt гена *CCR5*.

В нашем исследовании мы подтвердили, что полиморфизм гена *IL1β* участвует в остеогенезе. Являясь мощным стимулятором костной резорбции *in vitro* и *in vivo*, этот провоспалительный цитокин повышает продукцию белка RANKL, увеличивает его активность и стимулирует остеокластогенез [30]. В ряде исследований наблюдалась ассоциация полиморфизма гена *IL1β* с МПК и предрасположенностью к ОП у женщин в постменопаузе [20, 21]. U. Dundar и соавт. [31] сообщают, что увели-

чение МПК при назначении ризедроната сопровождается снижением уровней RANKL и интерлейкина 1β в сыворотке крови.

Таким образом, в настоящем пилотном исследовании нами впервые было установлено, что носительство аллели А полиморфизма (-2518A/G) гена *MCP1* (AA-или AG-генотипы) может приводить к недостаточному ответу на терапию БФ у пациентов с ОП в поясничном отделе позвоночника. Полиморфизмы генов *CCR5* (Δ32) (wt/wt-генотип) и (-511C/T) *IL1β* (TT-генотип) оказывают сходное влияние на динамику МПК ШБ при лечении БФ.

Полученные нами результаты могут быть использованы при разработке методов генетического тестирования для выявления лиц с недостаточным ответом на терапию БФ. Наши данные имеют ряд ограничений, связанных с небольшим размером изученной выборки, и поэтому необходимо подтверждение этих результатов на более значительной группе больных, включая другие популяционные когорты, а также изучение всех функциональных генетических вариантов одновременно, чтобы проверить полученные результаты и уточнить механизмы, лежащие в основе вариативности ответа на БФ.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и написания рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bilezikian JP. Efficacy of bisphosphonates in reducing fracture risk in postmenopausal osteoporosis. *Am J Med.* 2009;122:S14-21. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.12.003
2. Delmas PD. The use of bisphosphonates in the treatment of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2005;17:462-6. doi: 10.1097/01.bor.0000163448.51661.87
3. Nguyen TV, Eisman JA. Pharmacogenomics of osteoporosis: opportunities and challenges. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006;6:62-72.
4. Devogelaer JP. Treatment of bone diseases bisphosphonates, excluding osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2000;12:331-5. doi: 10.1097/00002281-200007000-00017
5. Rogers MJ. From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. *Calcif Tissue Int.* 2004;75:451-61. doi: 10.1007/s00223-004-0024-1
6. Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, et al. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts *in vitro*. *Bone.* 2001;28:465-73. doi: 10.1016/S8756-3282(01)00412-4
7. Marc J, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A. VDR genotype and response to etidronate therapy in late postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 1999;10:303-6. doi: 10.1007/s001980050231
8. Palomba S, Numis FG, Mossetti G, et al. Effectiveness of alendronate treatment in postmenopausal women with osteoporosis: relationship with BsmI vitamin D receptor genotypes. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003;58:365-71. doi: 10.1046/j.1365-2265.2003.01724.x
9. Palomba S, Orio F Jr, Russo T, et al. BsmI vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos Int.* 2005;16:943-52. doi: 10.1007/s00198-004-1800-5
10. Mossetti G, Gennari L, Rendina D, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms predict acquired resistance to clodronate treatment in patients with Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int.* 2008;83:414-24. doi: 10.1007/s00223-008-9193-7
11. Corral-Gudino L, del Pino-Montes J, Garcia-Aparicio J, et al. 511 C/T IL1B gene polymorphism is associated to resistance to bisphosphonates treatment in Paget disease of bone. *Bone.* 2006;38:589-94. doi: 10.1016/j.bone.2005.09.010
12. Arko B, Prezelj J, Komel R, et al. No major effect of estrogen receptor beta gene RsaI polymorphism on bone mineral density and response to alendronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002;81:147-52. doi: 10.1016/S0960-0760(02)00061-4
13. Kruk M, Ralston SH, Albagha OM. LRP5 Polymorphisms and response to risedronate treatment in osteoporotic men. *Calcif Tissue Int.* 2009;84:171-9. doi: 10.1007/s00223-008-9207-5
14. Marini F, Falchetti A, Silvestri S, et al. Modulatory effect of farnesyl pyrophosphate synthase (FDPS) rs2297480 polymorphism on the response to long-term amino-bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Curr Med Res Opin.* 2008;24:2609-15. doi: 10.1185 /03007990802352894
15. Eraltan H, Cacina C, Kahraman OT, et al. MCP-1 and CCR2 gene variations and the risk for osteoporosis and osteopenia. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012 Apr;16(4):229-33. doi: 10.1089/gtmb/2011.0216

16. Крылов МЮ, Беневоленская ЛИ, Мякоткин ВА. Полиморфизм A19G гена лептина и полиморфизмы Gln223Arg и Lys109Arg гена рецептора лептина при постменопаузальном остеопорозе. Научно-практическая ревматология. 2010;48(5):27-31 [Krylov MY, Benevolenskaya LI, Myakotkin VA. Leptin A19G polymorphism and leptin receptor Gln223Arg and Lys109Arg polymorphisms in postmenopausal osteoporosis. *Nauchno-Prkticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2010;48(5):27-31 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2010-727
17. Crabbe P, Goemaere S, Zmierzczak H, et al. Are serum leptin and the Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor determinants of bone homeostasis in elderly men? *Eur J Endocrinol*. 2006 May;154(5):707-14. doi: 10.1530/eje.1.02130
18. Tural S, Alayli G, Kara N, et al. Association between osteoporosis and polymorphisms of the IL-10 and TGF-beta genes in Turkish postmenopausal women. *Hum Immunol*. 2013 Sep;75(9):1179-83. doi: 10.1016/j.humimm.2013.03.005
19. Zhu H, Beiby J, Dick IM, et al. The effects of homocysteine and MHTFR genotype on hip bone loss and fracture risk in elderly women. *Osteoporos Int*. 2009 Jul; 20(7):1183-91. doi: 10.1007/s00198-008-0804-y
20. Chao TH, Yu HN, Huang CC, et al. Association of interleukin-1 beta (-511C/T) polymorphism in postmenopausal women. *Ann Daudi Med*. 2010 Nov-Dec;30(6):437-41. doi: 10.4103/0256-4947.71062
21. Крылов МЮ, Никитинская ОА, Самаркина ЕЮ, Торопцова НВ. Ассоциация полиморфизма интерлейкина 1β с постменопаузальным остеопорозом у женщин в российской популяции. Научно-практическая ревматология. 2015;53(5):502-5 [Krylov MY, Nikitinskaya OA, Samarkina EY, Toroptsova NV. Association of interleukin-1β gene polymorphism with postmenopausal osteoporosis in women in the Russian population. *Nauchno-Prkticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2015;53(5):502-5 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2015-502-505
22. Wei QS, Huang L, Tan X, et al. Serum osteopontin levels in relation to bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women. *Scand J Clin Lab Invest*. 2016;76(1):33-9. doi: 10.3109/00365513.2015.1087045. Epub 2015 Sep 28.
23. Harslof T, Tofteng CL, Husted LB, et al. Polymorphisms of the peroxisome proliferator-activator receptor gamma (PPARγ) gene are associated with osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2011 Oct;22(10):2655-66. doi: 10.1007/s00198-010-1491-z
24. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet*. 2012;44(5):491-501. doi: 10.1038/ng.2249
25. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev*. 2010;31(5):629-62. doi: 10.1210/er.2009-0044
26. Horst-Sicorska W, Dytfeld J, Wawrzyniak A, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *Mol Biol Rep*. 2013 Jan;40(1):383-90. doi: 10.1007/s11033-012-2072-3
27. Moran JM, Pedrera-Canal M, Rodriguez-Velasco FJ, et al. Lack association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with bone mineral density in Spanish postmenopausal women. *Peer J*. 2015 Jul 2;3:e953. doi: 10.7717/peerj.953. e Collection 2015.
28. Bai J, Song H, Cai C, et al. The association of monocyte chemoattractant protein-1 and CC chemokine receptor 2 gene variants with chronic obstructive pulmonary disease. *DNA Cell Biol*. 2012;Jun;31(6):1058-63. doi: 10.1089/dna.2011.1520
29. Kucukgergin C, Isman FK, Cakmakoglu B, et al. Association of polymorphisms in MCP-1, CCR2, and CCR5 genes with the risk and clinicopathological characteristics of prostate cancer. *DNA Cell Biol*. 2012 Aug; 31(8):1418-24. doi: 10.1089/dna.2012.1716
30. Nakamura I, Jimi E. Regulation of osteoclast differentiation and function by interleukin-1. *Vitamins Hormones*. 2006;74:357-70. doi: 10.1016/s0083-6729(06)74015-8
31. Dundar U, Kavuncu V, Ciftci IH, et al. The effect of risedronate treatment on serum cytokines in postmenopausal osteoporosis: a 6-month randomized and controlled study. *J Bone Mineral Metab*. 2009;27(4):464-70. doi: 10.1007/s00774-009-0055-9