

3. *Имянитов, Е. Н.* Молекулярная онкология: клинические аспекты / Е. Н. Имянитов, К. П. Хансон. – СПб., 2007. – 211 с.

4. *Ефимова, М. Р.* Практикум по общей теории статистики: учебное пособие для вузов / М. Р. Ефимова и др. – М.: Финансы и статистика, 2007. – 368 с.

АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЕВАЛОНАТНОГО ПУТИ С ОТВЕТОМ НА БИСФОСФОНАТНУЮ ТЕРАПИЮ ОСТЕОПОРОЗА ASSOCIATION OF ALLELIC VARIANTS OF MEVALONATE PATHWAY GENES WITH RESPONSE TO BISPHOSPHONATE THERAPY OF OSTEOPOROSIS

***П. М. Морозик^{1,2}, Е. В. Кобец², Э. В. Руденко³
P. Marozik^{1,2}, K. Kobets², E. Rudenko³***

¹*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь*

²*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь*

³*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь
MarozikPM@bsu.by*

¹*Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Genetics and Cytology of the NAS Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

³*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

Бисфосфонаты (БФ) являются наиболее часто назначаемым препаратом пациентам с остеопорозом (ОП). Для некоторых пациентов такое лечение неэффективно по причине индивидуальной устойчивости. Провести оценку уровня минеральной плотности костной ткани по результатам терапии БФ возможно не ранее чем через год. Выявление генетических факторов, ответственных за устойчивость к лечению БФ, позволит заблаговременно оптимизировать и повысить эффективность лечения. Целью исследования являлось проанализировать ассоциацию вариантов генов, участвующих в метаболизме костей и лекарственных препаратов, с ответом на терапию БФ. Показано, что частота генотипов *SOST* T/T, *PTH* T/T, *FDPS* G/G, *GGPSI* T/T статистически значимо выше в группе неответчиков на лечение ($P < 0,05$). Анализ ассоциации аллельных комбинаций выявил варианты, статистически значимо повышающие (T-T-G-C) и снижающие (C-C-T-C) риск устойчивости к БФ.

Bisphosphonates (BPs) are the most commonly prescribed medications in patients with osteoporosis (OP). However, in some patients this therapy is not effective due to the individual resistance. The evaluation of poor bone mineral density (BMD) response to BPs treatment is possible no earlier than a year. The identification of genetic factors, responsible for resistance to BPs therapy, may enable drug therapy optimization and more effective treatment. The aim of this study was to analyze the association of bone and drug metabolism gene polymorphisms on the response to BPs treatment of OP. We found that *SOST* T/T, *PTH* T/T, *FDPS* G/G, *GGPSI* T/T genotypes were significantly over-represented in non-responders ($P < 0.05$). Further multiple analysis of their association with response to BPs therapy revealed allelic combination of increased (T-T-G-C) and decreased (C-C-T-C) risk of BPs resistance.

Ключевые слова: фармакогенетика, остеопороз, полиморфизм, антирезорбтивная терапия, бисфосфонаты.

Keywords: pharmacogenetics, osteoporosis, polymorphism, antiresorptive therapy, bisphosphonates.

Остеопороз (ОП) – тяжелое поражение скелета, характеризующееся снижением минеральной плотности костной ткани (МПКТ), патологическими изменениями ее микроархитектоники, приводящими к деформации и повышенной ломкости костей. ОП занимает четвертое место среди важнейших причин заболеваемости и смертности пожилых людей [1]. Во многих странах мира зарегистрировано увеличение частоты переломов, связанных с ОП. Каждое десятилетие их число увеличивается примерно на 40 %. Актуальность проблемы остеопороза определяется его широкой распространенностью, многофакторной природой, частой инвалидизацией пациентов, а в ряде случаев смертельными исходами [1; 2].

ОП относится к комплексным дегенеративным заболеваниям, требующим долгосрочного фармакологического лечения. В связи с этим, особенно важно, чтобы назначенные медикаменты были эффективными и не вызывали серьезных побочных эффектов, улучшая качество жизни пациента и снижая заболеваемость, риск осложнений, смертность и стоимость расходов на здравоохранение. Индивидуальный ответ на лекарственный препарат определяется многими факторами, такими как пол, возраст, этническая принадлежность, стадия заболевания,

взаимодействие с другими препаратами, а также полиморфизмом генов, участвующих в метаболизме лекарственных препаратов [2; 3]. Последнему направлению в последние годы уделяется все больше внимания. Генетическое тестирование в комплексе с другими эндогенными и экзогенными факторами позволит предсказать реакцию организма на медикамент до его введения, осуществить индивидуальный подбор препарата, его дозировку [2; 3].

Особенно ценным такой подход является при лечении комплексных заболеваний, требующих длительного лечения различными медикаментами, что позволит существенно повысить качество лечения, снизить вероятность возникновения побочных эффектов, повысить качество жизни.

Цель исследования – изучить влияние аллельных вариантов генов *SOST* (склеростина), *PTH* (паратиреоидного гормона), *FGF2* (фактора роста фибробластов 2), *FDPS* (фарнезил-дифосфат синтазы), *GGPSI* (геранилгеранил-дифосфат синтазы) и *LRP5* (белок 5, связанный с рецептором липопротеина низкой плотности) на эффективность бисфосфонатной терапии остеопороза.

В исследовании приняло участие 208 пациенток с установленным диагнозом ОП согласно диагностическим критериям ВОЗ [4], которым в течение минимум 12 мес. осуществлялась антирезорбтивная терапия бисфосфонатами. Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов, протокол исследования утвержден локальным этическим комитетом учреждения здравоохранения «1-я городская клиническая больница г. Минска» (протокол заседания ЛЭК № 8 от 29.11.2017). Исследование уровня МПКТ в поясничном отделе позвоночника (L_1-L_4) и шейке бедра (ШБ) осуществлялось до начала исследования и минимум через 12 мес. после начала лечения методом двуэнергетической рентгеновской абсорбциометрии с помощью рентгеновского денситометра «LUNAR Prodigy» (США). По результатам динамики уровня МПКТ всех пациентов разделили на группы «ответчиков» (стабилизация или увеличение уровня МПКТ после терапии) и «неответчиков» (снижение уровня МПКТ) [5]. Для генотипирования использовали тотальную геномную ДНК, выделенную из крови. Анализ полиморфных вариантов генов осуществляли с использованием коммерческих наборов праймеров и зондов TaqMan® компании Applied Biosystems (США) на термоциклере CFX96, BIO-RAD (США).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы R (<http://www.r-project.org/>) для Windows с помощью дополнительных пакетов для анализа генетических данных «SNPassoc» (версия 1.9-2). Наблюдаемые частоты генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (РВХ) с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для оценки ассоциации между риском костных переломов и исследуемыми вариантами генов применяли коэффициент отношения шансов (OR) с 95 % доверительным интервалом. Для оценки различий между количественными и качественными показателями исследуемых групп использовали линейную и логистическую регрессии, соответственно. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $P < 0,05$.

Клиническая характеристика пациентов, принявших участие в исследовании, представлена в табл. 1. Всего в исследовании приняло участие 208 женщин с постменопаузальным остеопорозом.

Таблица 1 – Клиническая характеристика пациентов с положительной и отрицательной динамикой уровня МПКТ после антирезорбтивной терапии бисфосфонатами

Характеристика		Ответчики	Неответчики	P
n (%)		119 (57,2 %)	89 (42,8 %)	–
Возраст, лет		67,0 (61,0; 70,9)	64,0 (59,0; 68,8)	>0,1
Возраст наступления менопаузы, лет		50,0 (47,8; 52,0)	50,0 (48,0; 51,0)	>0,1
Вес, кг		66,0 (60,0; 73,0)	62,0 (57,0; 71,0)	>0,1
Рост, кг		160,0 (155,0; 164,0)	159,0 (154,8; 162,3)	>0,1
Индекс массы тела (ИМТ)		25,7 (22,7; 28,7)	24,0 (22,4; 28,6)	>0,1
Базовая МПКТ, г/см ²	L_1-L_4	0,84 (0,76; 0,88)	0,85 (0,83; 0,88)	>0,1
	ШБ	0,77 (0,7; 0,83)	0,81 (0,71; 0,88)	>0,1
МПКТ после лечения, г/см ²	L_1-L_4	0,89 (0,82; 0,95)	0,84 (0,81; 0,87)	<0,05
	ШБ	0,8 (0,75; 0,88)	0,8 (0,71; 0,85)	<0,05
Динамика МПКТ, %	L_1-L_4	6,4 (3,9; 10,2)	-1,05 (-3,95; 0,65)	<0,05
	ШБ	4,61 (1,65; 8,21)	-1,7 (-3,77; 1,21)	<0,05

Сравнительный анализ различий между группами пациентов не выявил статистически значимой разницы в возрасте, возрасте наступления менопаузы, весе, росте, ИМТ и базовом уровне МПКТ ($P > 0,1$ во всех случаях). Статистически значимые различия между исследуемыми группами выявлены для уровня МПКТ после лечения и динамики МПКТ (табл. 1).

Результаты генетического тестирования всех пациентов по вариантам генов *SOST*, *PTH*, *FGF2*, *FDPS*, *GGPSI* и *LRP5* представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Распределение частот аллелей и генотипов и значение PBX вариантов генов *SOST*, *PTH*, *FGF2*, *FDPS*, *GGPS1* и *LRP5* в группах ответчиков и неответчиков на лечение бисфосфонатами

Ген, вариант	Генотип, аллель	Неответчики n = 89		Ответчики n = 119		Коэффициент OR (95 % ДИ)	P-значение
		%	PBX	%	PBX		
<i>SOST</i> rs1234612	C/C	6,7	0,58	10,2	0,84	0,6 (0,2–1,8)	0,12
	C/T	34,8		45,7			
	T/T	58,5		44,1			
	аллель C	24,2		33,1		0,05	
	аллель T	75,8		66,9			
<i>PTH</i> rs7125774	C/C	4,5	0,29	18,1	0,27	0,2 (0,1–0,7)	0,0002
	C/T	43,8		55,2			
	T/T	51,7		26,7			
	аллель C	26,4		45,7		0,00005	
	аллель T	73,6		54,3			
<i>FGF2</i> rs6854081	T/T	77,6	0,59	80,0	0,62	0,9 (0,4–1,7)	NS**
	T/G	22,4		18,3			
	G/G	0,0		1,7			
	аллель T	88,8		89,1		0,92	
	аллель G	11,2		10,9			
<i>FDPS</i> rs2297480	T/T	36,0	0,36	75,2	0,69	0,2 (0,1–0,3)	1,2×10 ^{-7*}
	T/G	52,8		23,9			
	G/G	11,2		0,9			
	аллель T	62,4		87,2		4,0×10 ⁻⁹	
	аллель G	37,6		12,8			
<i>GGPS1</i> rs10925503	C/C	69,7	0,71	89,7	0,05	0,3 (0,1–0,6)	0,0003
	C/T+T/T	30,3		10,3			
	аллель C	83,1		94,0			
	аллель T	16,9		60,0		0,0005	
<i>LRP5</i> rs3736228	C/C	78,0	0,59	78,4	0,64	0,9 (0,5–1,9)	NS**
	C/T	22,0		19,8			
	T/T	0,0		1,8			
	аллель C	89,0		88,3		0,82	
	аллель T	11,0		11,7			

Примечание: * – применена поправка Йетса; ** – как минимум в одном варианте число наблюдений менее единицы.

Сравнение частот аллелей между группами ответчиков и неответчиков позволило выявить статистически значимые различия для генов *SOST*, *PTH*, *FDPS* и *GGPS1* (табл. 2). Для вариантов генов *PTH*, *FDPS* и *GGPS1* были также показаны статистически значимые различия в распределении генотипов.

С использованием рецессивной модели наследования, обнаружено, что частота генотипов *SOST* T/T выше в группе неответчиков по сравнению с объединенной частотой C/C+C/T (OR = 1,8; 95 % ДИ 1,1–3,1, P = 0,04). Частота генотипа T/T варианта *PTH* rs7125774 также статистически значимо выше в группе неответчиков (OR = 2,9; 95 % ДИ 1,6–5,3; P = 0,0002), в то время как генотипа C/C – в группе с положительным ответом на лечение (OR = 0,2; 95 % ДИ 0,1–0,7; P = 0,0002). Генотип *FDPS* rs2297480 G/G статистически значимо более распространен в группе неответчиков, в то время как генотип T/T – наоборот (OR = 14,7; 95 % ДИ 1,8–117,0, и OR = 0,2; 95 % ДИ 0,1–0,3, соответственно, P = 1,2×10⁻⁷). Учитывая, что частота генотипов *GGPS1* rs10925503 T/T в проанализированной выборке была очень низкой, носителей этих вариантов объединили для анализа с носителями гетерозигот C/T и сравнили с носителями генотипов C/C (табл. 2). В результате показано, что среди носителей объединенных C/T+T/T гораздо больше неответчиков (OR = 3,8; 95 % ДИ 1,8–7,9, P = 0,0003). Для вариантов генов *FGF2* rs6854081 и *LRP5* rs3736228 не было выявлено статистически значимой ассоциации с ответом на терапию бисфосфонатами, из комплексного анализа они были исключены.

В дальнейшем исследовании проанализировали ассоциацию аллельных комбинаций маркеров *SOST*, *PTH*, *FDPS* и *GGPS1* с ответом на лечение бисфосфонатами (рис. 1).

Всего по результатам анализа было выявлено 6 аллельных комбинаций с общей частотой более 5 %. В глобальном распределении аллельных комбинаций были выявлены статистически значимые различия между исследуемыми группами (P < 0,0001), что свидетельствует об общей ассоциации эффективности лечения ОП с анализируемыми вариантами генов.

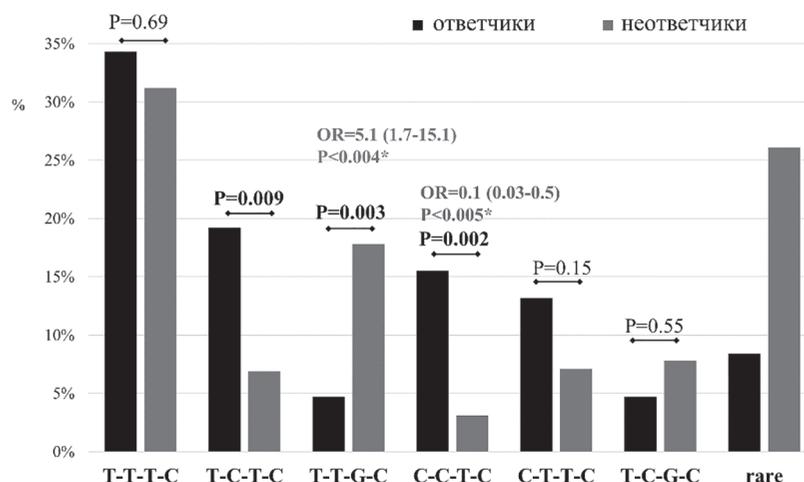


Рисунок 1 – Частоты распределения аллельных комбинаций генов *SOST*, *PTH*, *FDPS* и *GGPS1* в группах пациентов с ОП после антирезорбтивной терапии (*сравнение с референсной комбинацией)

Наиболее распространенной (референсной) аллельной комбинацией является Т-Т-Т-С (общая частота 30,0 %), которая встречается с одинаковой частотой в обеих группах (34,3 % у ответчиков, 31,7 % у неответчиков, $P = 0,69$). Частота комбинации С-С-Т-С (11,1 %), состоящей из трех аллелей, предрасполагающих к благоприятному ответу на лечение, статистически значимо выше в группе ответчиков по сравнению с неответчиками (15,5 % и 3,1 %, соответственно, $P = 0,002$). Для носителей этой комбинации вероятность благоприятного ответа была существенно выше по сравнению с носителями референсной комбинации ($OR = 0,13$, 95 % ДИ 0,03–0,53, $P = 0,005$). Напротив, для носителей комбинации Т-Т-Г-С (общая частота 11,5 %, у ответчиков 4,7 %, у неответчиков 17,8 %, $P = 0,003$), состоящей из 3 неблагоприятных аллелей, риск отрицательного ответа на антирезорбтивную терапию был статистически значимо повышен ($OR = 5,1$, 95 % ДИ 1,7–15,1, $P = 0,004$).

Таким образом, нами впервые показана важность выявленных аллельных комбинаций вариантов генов *SOST* rs1234612, *PTH* rs7125774, *FDPS* rs2297480 и *GGPS1* rs10925503 для оценки индивидуальной устойчивости или чувствительности к антирезорбтивной терапии постменопаузального остеопороза бисфосфонатами.

Работы была поддержана грантом БРФФИ по совместной белорусско-литовской программе научных исследований на 2017–2018 гг. (договор Б17ЛИТГ-008).

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang, C. Genetic polymorphisms in the mevalonate pathway affect the therapeutic response to alendronate treatment in postmenopausal Chinese women with low bone mineral density / C. Wang [et al.] // *Pharmacogenomics J.* 2015. – Vol. 15. – P. 158–164.
2. Olmos, J. M. Common allelic variants of the farnesyl diphosphate synthase gene influence the response of osteoporotic women to BPs / J. M. Olmos [et al.] // *Pharmacogenomics J.* 2012. – Vol. 12. – P. 227–232.
3. Lima, C. A. D. Polymorphisms in key bone modulator cytokines genes influence bisphosphonates therapy in postmenopausal women / C. A. D. Lima [et al.] // *Inflammopharmacol.* 2017. – Vol. 25. – P. 191–201.
4. Cosman, F. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis / F. Cosman [et al.] // *Osteoporos Int.* 2014. – Vol. 25. – № 10. – P. 2359–2381.
5. Baim, S. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 position development conference / S. Baim [et al.] // *J. Clin. Densitom.* 2008. – Vol. 11. – P. 75–91.