

Ген рецептора аденозина ADORA2A (rs575187). Генотипы C/C и C/T – низкая чувствительность к кофеину, низкая вероятность испытывать тревогу, T/T – высокая чувствительность к кофеину, высокая вероятность тревоги и беспокойства после употребления кофеина.

Проведенная оценка эффективности метаболизма кофеина и индивидуальной чувствительности к нему позволяет сделать заключение о генетическом профиле спортсмена – связь со скоростью метаболизма кофеина и чувствительностью к нему. По результатам тестирования у 66 спортсменов выявлен быстрый, у 23 – средний, у 15 – метаболизм кофеина. У 23 спортсменов была также выявлена повышенная чувствительность к кофеину (носители гомозиготного генотипа T/T по локусу rs575187 гена ADORA2A), что может способствовать побочным эффектам, таким как беспокойство, бессонница, учащенное сердцебиение и расстройство пищеварения.

Внедрение разработанной методики в практику подготовки спортсменов позволит повысить их работоспособность и результативность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Особенности питания юных спортсменов, занимающихся циклическими видами спорта / С. Г. Макарова, Т. Р. [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2015. – Т. 14, №3. – С.332–340.
2. Sport Nutrigenomics: Personalized Nutrition for Athletic Performance / Nanci S. Guest, Justine Horne, Shelley M. Vanderhout, Ahmed E.-Sohemy // Front. Nutr. – 2019. – DOI:10.3389/fnut.2019.00008.
3. Сорокина Е.Ю., Кешабянц Э.Э., Денисова Н.Н. Изучение ассоциации полиморфизма генов со спортивной успешностью и риском развития алиментарно-зависимых заболеваний у спортсменов, представляющих циклические виды спорта. – Спортивная медицина: наука и практика. – 2019. – 9(3). – С.41-48. – DOI:10.17238/ISSN2223-2524.2019.3.41.
4. Malsagova, K.A. Sports Nutrition: Diets, Selection Factors, Recommendations /K.A.Malsagova [et.al] // J. Nutrients. – 2021. – Vol. 13. – P.3771. – DOI: 10.3390/nu13113771.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ НА ЭФФЕКТЫ АНТИРЕЗОРПТИВНОЙ ТЕРАПИИ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА

ANALYSIS OF THE GENETIC INFLUENCE ON THE EFFECTS OF ANTIRESORPTIVE THERAPY FOR POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS

Я. П. Сабынич¹, П. М. Морозик^{1,2}

Y. Sabynich¹, P. Marozik^{1,2}

¹Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь;

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь;
sabynicjanka@gmail.com

¹International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Belarus;

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

Проанализировано общее распределение частот для всех выявленных аллельных комбинаций по полиморфным вариантам генов *ESR1*, *PTH* и *SOST* между группами исследуемых. В результате было обнаружено статистически значимое различие в общем распределении аллельных комбинаций между группами, что указывает на связь между устойчивостью или чувствительностью пациентов к антирезорбентам с проанализированными полиморфными вариантами генов.

The general frequency distribution for all identified allele combinations according to polymorphic variants of the *ESR1*, *PTH* and *SOST* genes between the study groups was analyzed. As a result, a statistically significant difference was found in the overall distribution of allelic combinations between the groups, indicating a link between the resistance or sensitivity of patients to antiresorbents with the analyzed polymorphic gene variants.

Ключевые слова: остеопороз, фармакогенетика, бисфосфонаты, антирезорбтивная терапия, генетическая предрасположенность.

Keywords: osteoporosis, pharmacogenetics, bisphosphonates, antiresorptive therapy, genetic predisposition.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-360-363>

Остеопороз 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. Для оценки эффективности терапии остеопороза необходим длительный срок применения дорогостоящего препарата, однако способов прогнозирования эффективности лечения на сегодняшний день нет. Это обуславливает актуальность проблемы “неответчиков” при лечении остеопороза [2].

Обычно при остеопорозе назначают лекарственные препараты совместно с употреблением витамина D и кальция. Сами препараты, назначаемые при терапии остеопороза, имеют различные механизмы действия и влияют на определенные процессы, регулирующие костное ремоделирование и минеральный обмен, с целью восстановления баланса между активностью остеокластов и остеобластов и поддержания гомеостаза кальция и фосфора. Селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), например, релаксифен, блокируют эстрогеновые рецепторы (ER- α и - β) и таким образом имитируют эффект эстрогена без потенциальных побочных эффектов гормональной терапии [4].

Бисфосфонаты являются синтетическими аналогами пирофосфатов и подразделяются в зависимости от биохимической структуры на аминные и неаминные. Аминные бисфосфонаты метаболизируются остеокластами в аналоги АТФ, накапливаются в цитозоле и индуцируют гибель клеток. В отличие от них, неаминные бисфосфонаты проникают в клетку и блокируют синтез фарнезил-дифосфат синтазы (FDPS), необходимой для жизнедеятельности остеокластов. Все зарегистрированные бисфосфонаты эффективны при лечении остеопороза, снижая риск переломов на 40-70%, однако имеют множество побочных эффектов, наиболее тяжелыми из которых являются остеонекроз челюсти и атипичные подвертельные переломы бедра.

Паратиреоидный гормон регулирует гомеостаз кальция и фосфора в костях и почках. Кальцитонин снижает резорбцию костей путем ингибирования действия остеокластов.

Стронция ранелат оказывает антирезорбтивный эффект в результате снижения дифференцировки преостеокластов в остеокласты, повышения формирования костной ткани за счет стимуляции репликации преостеобластов и увеличения количества остеобластов, повышения экспрессии остеопротегерина в остеобластах.

Деносумаб является человеческим моноклональным антителом, проявляя антирезорбтивный эффект путем связывания лиганда рецептора-активатора нуклеарного фактора каппа (RANKL) и блокирования его положительного эффекта на остеокласты [3].

Все эти препараты обладают побочными реакциями, от минимальных до очень тяжелых, к тому же у определённого процента пациентов не наблюдается положительной динамики в результате их приёма. По этим причинам клиницисты часто сталкиваются с проблемой выбора из нескольких возможных вариантов для назначения наилучшего варианта каждому конкретному пациенту. Генетическое тестирование может помочь клиницистам подобрать наиболее эффективный и безопасный препарат, разработать индивидуальный план лечения для каждого пациента на основании его генетического профиля. Преимуществом фармакогенетических тестов является легкодоступность биологического материала для анализа и отсутствие необходимости повторять исследования на протяжении жизни пациента.

На сегодняшний день в мире не зарегистрирован ни один фармакогенетический маркер для подбора медикаментов при лечении остеопороза. Однако исследования по данному направлению проводятся очень активно.

Наиболее изученной является фармакогенетика гормональной заместительной терапии остеопороза, и определенные успехи достигнуты в этой области. Так, показано, что носители гомозиготной неблагоприятной мутации гена *ESR1* (Arg157Stop, частота в популяции около 8%) не отвечают на заместительную терапию эстрогеном, а для гетерозиготных носителей необходимо повысить дозировку этого препарата [2].

Ген *SOST* (расположенный в хромосоме 17q12-21) кодирует белок склеростин, который является ингибитором канонического Wnt-сигнального пути. Связываясь с рецепторами LRP5/6, он блокирует дальнейшую цепочку передачи сигнала Wnt от поверхности клетки в ее внутренние структуры, нарушая высвобождение и накопление β -катенина и тем самым ингибируя пролиферацию и дифференцировку остеобластов и в тот же момент запуская их апоптоз. Мутации в гене, кодирующем склеростин, приводят к болезням, характерной чертой которых является повышенное костеобразование. В клинических наблюдениях установлено, что уровень концентрации склеростина в плазме крови женщин с постменопаузальным остеопорозом значительно превышает показатели здоровых женщин.

В исследованиях показано, что наличие аллель Т полиморфизма C/T (rs1234612) гена *SOST* способствует менее эффективному восстановлению уровня минеральной плотности костной ткани по сравнению с носителями аллеля дикого типа при проведении антирезорбтивной терапии [1].

Ген *PTH* кодирует паратиреоидный гормон (паратгормон), участвующий в угнетении формирования костной ткани посредством влияния на популяцию остеобластов и остеоцитов. Те, в свою очередь, выделяют инсулиноподобный фактор роста 1 и цитокины, стимулирующие метаболизм остеокластов. Активированные остеокласты секретируют щелочную фосфатазу и коллагеназу, что приводит к разрушению костного матрикса.

Паратгормон опосредованно увеличивает канальцевую реабсорбцию катионов кальция, экскрецию фосфатов почками, а также кишечную абсорбцию кальция (путём индукции синтеза кальцитриола). Результатом действия паратгормона является повышение концентрации кальция в плазме крови и снижение содержания кальция в костях (деминерализация костного матрикса), снижение содержания фосфатов в плазме крови.

Показано, что в гене *PTH* содержатся полиморфные варианты. Полиморфизм в гене *PTH* ассоциирован с более высоким МПК поясничного отдела позвоночника у здоровых женщин в постменопаузе [4].

Материалы и методы. В настоящем исследовании приняли участие 117 человек – пациентов с остеопорозом, все женщины постменопаузального возраста, которым в течение трех лет проводилась терапия бисфосфонатами. Отбор белорусских пациентов с постменопаузальным остеопорозом проводился на базе Минского городского центра остеопороза и заболеваний костно-мышечной системы и отделения ревматологии I городской клинической больницы г. Минска. Отбор литовских пациентов с постменопаузальным остеопорозом осуществлялся на базе учреждения «Национальный центр остеопороза».

На основании измерений минеральной плотности костной ткани до лечения и после лечения все пациенты были разделены на 2 группы: «ответчики» (у кого наблюдалась положительная динамика – увеличение МПК) и «неответчики» (отрицательная динамика МПК или её отсутствие).

В качестве биологического материала использовали ДНК, выделенную из Buccalного эпителия.

Молекулярно-генетический анализ выполнен методом полимеразной цепной реакции с анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ).

Для статистической оценки влияния полиморфизмов на риск развития заболевания применяли коэффициент соотношения шансов (OR).

Исследования проводились с использованием амплификатора Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems™, США). Разделение продуктов амплификации проводили с помощью электрофореза в 8%-ом полиакриламидном геле, с последующей окраской в растворе бромистого этидия и визуализацией в проходящем УФ-свете.

Амплификация проводилась с использованием праймеров, фланкирующих участок ДНК, содержащий данный полиморфизм.

В результате амплификации флуоресценция красителей возрастает пропорционально росту количества копий участка исследуемого гена. Каждый краситель флуоресцирует в определенном спектре, что позволяет сделать заключение о генотипе исследуемого образца. Зонд к аллелю С мечен флуоресцентным красителем VIC, зонд к аллелю Т мечен флуоресцентным красителем FAM (рисунок 1).

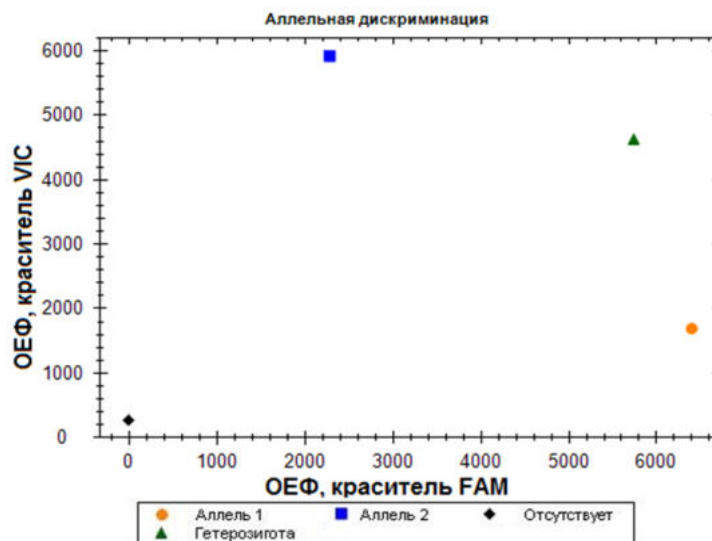


Рисунок 1 – Результат ПЦР с детекцией результатов амплификации в реальном времени

На рисунке 1 представлены результаты исследования 4 образцов. Один из них является гетерозиготой, один – гомозиготным по аллелю 1 (FAM), один – гомозиготным по аллелю 2 (VIC), один – отрицательный контроль - пробирка, содержащая полный набор используемых при амплификации реактивов, за исключением образца ДНК; использование отрицательного контроля позволяет убедиться в отсутствии биологического материала в реактивах.

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 представлены результаты проведенного комплексного анализа по результатам генотипирования по полиморфным вариантам *XbaI* и *PvuII* гена *ESR1*, C/T гена *SOST* и C/T гена *PTH* – выявлено семь вариантов аллельных комбинаций, суммарная частота которых в группах 1 и 2 превышала 3% (таблица 1).

С помощью метода логистической регрессии проанализировали общее распределение частот для всех выявленных аллельных комбинаций по полиморфным вариантам *ESR1*, *PTH* и *SOST* между исследуемыми группами 1 и 2. В результате были выявлены статистически значимые различия в глобальном распределении аллельных комбинаций между исследуемыми группами (global haplotype association $P=0,025$), что свидетельствует об ассоциации устойчивости или чувствительности пациентов к антирезорбентам с проанализированными полиморфными вариантами генов.

Таблица 1

Распределение частот аллельных комбинаций в группах пациентов с постменопаузальным остеопорозом по полиморфным вариантам *XbaI* и *PvuII* гена *ESR1*, *C/T* гена *SOST* и *C/T* гена *PTH*

Аллель				Общая частота	Частота в группе 1	Частота в группе 2	OR (95% ДИ)	P
<i>ESR1 XbaI</i>	<i>ESR1 PvuII</i>	<i>PTH C/T</i>	<i>SOST C/T</i>					
A	T	C	T	28,3	34,9	6,7	1,0	-
G	T	C	T	18,2	20,8	13,3	1,3 (0,2-7,4)	0,8
G	C	T	T	15,5	7,4	40,0	5,0 (1,1-23,7)	0,04
G	T	T	T	9,6	12,9	3,3	0,3 (0,02-5,2)	0,4
G	T	T	C	8,2	12,5	3,3	1,3 (0,1-16,8)	0,8
A	C	T	T	6,2	3,5	-	27,5 (1,9-409,0)	0,02
G	T	C	C	5,2	1,6	-	11,5 (0,5-290,0)	0,15
Редкие				8,8	-	-	4,43 (0,4-44,2)	0,21

Наиболее распространённой в исследуемой группе спортсменов является комбинация аллелей дикого типа А-Т-С-Т (общая частота – 28,3%), причем её частота в группе 1 статистически значимо выше по сравнению с группой 2 (частоты 34,9 и 6,7%, соответственно, $P < 0,05$). Стоит отметить, что эта аллельная комбинация полностью состоит из аллелей дикого типа.

Расчет OR относительно референсной (наиболее распространённой) аллельной комбинации А-Т-С-Т в группах 1 и 2 позволил выявить комбинацию аллелей G-С-Т-Т, частота распространённости которой среди пациентов с постменопаузальным остеопорозом в группе 1 существенно ниже ($OR = 5,0$, 95% CI 1,1-23,7; $P = 0,048$) по сравнению с группой 2. Эта аллельная комбинация состоит из трех неблагоприятных вариантов анализируемых маркеров и одного – дикого типа.

Также расчет OR относительно референсной аллельной комбинации позволил выявить комбинацию аллелей А-С-Т-Т, частота распространённости которой среди пациентов с постменопаузальным остеопорозом в группе 1 существенно ниже ($OR = 27,5$, 95% CI 1,9-409,01,1-23,7; $P = 0,02$) по сравнению с группой 2. Эта аллельная комбинация состоит из всех четырех неблагоприятных вариантов анализируемых маркеров.

Таким образом, индивидуальный и комплексный анализ ассоциации генетических маркеров с эффективностью антирезорбтивной терапии в группе пациентов с постменопаузальным остеопорозом позволил выявить четыре полиморфных варианта генов, ассоциированных с резистентностью к бисфосфонатам, которые вносят наибольший вклад в предрасположенность к эффективности терапии.

Проведение генетического тестирования по информативным маркерам позволит врачам заблаговременно выявить индивидуальную устойчивость к этим препаратам и рекомендовать к применению альтернативные препараты.

Учитывая, что назначение препаратов и оценка эффективности лечения проводится через два года, раннее выявление индивидуальной устойчивости позволит сэкономить время и значительные средства, повысить качество жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hernandez, A.V. Comparative efficacy of bone anabolic therapies in women with postmenopausal osteoporosis: A systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials / A.V. Hernandez [et al.] // *Maturitas*. – 2019. – Vol. 12. – P. 82-87.
2. Langdahl, B. Treatment of postmenopausal osteoporosis with bone-forming and antiresorptive treatments: Combined and sequential approaches / B. Langdahl // *Bone*. – 2020. – Vol. 7. – P. 167-171.
3. Olmos, J.M. Pharmacogenetics of Osteoporosis: A Pathway Analysis of the Genetic Influence on the Effects of Antiresorptive Drugs / J.M. Olmos [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 6(1). – P. 22-27.
4. Zogakis, P.N. Bisphosphonate-loaded bone cement: Background, clinical indications and future perspectives / P.N. Zogakis [et al.] // *J Musculoskelet Neuronal Interact*. – 2022. – Vol. 8. – P. 257-262.