

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»

На правах рукописи

Майлян Эдуард Апетнакович

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:
член-корр. НАМНУ, доктор
медицинских наук, профессор
Игнатенко Григорий Анатольевич;
доктор медицинских наук, доцент
Резниченко Наталья Анатольевна

Экземпляр диссертации идентичен
по содержанию с другими
экземплярами, которые были
представлены в диссертационный
совет

Ученый секретарь диссертационного
совета Д 01.011.03
Золотухин С.Э.

Донецк – 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВСТУПЛЕНИЕ	6
РАЗДЕЛ 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
1.1. Медицинская и социально-экономическая значимость постменопаузального остеопороза.....	18
1.2. Молекулярная генетика и понятие о постменопаузальном остеопорозе как мультифакторном заболевании.....	24
1.3. Генетика постменопаузального остеопороза.....	31
1.4. Роль эстрогенов в развитии постменопаузального остеопороза, прямые эффекты эстрогенов на костные клетки.....	42
1.5. Роль витамина D в организме человека и метаболизме костной ткани.....	49
1.5.1. Метаболизм витамина D и его роль в абсорбции кальция.....	49
1.5.2. Механизмы прямой регуляции витамином D функции костных клеток.....	59
1.6. Иммунологические аспекты постменопаузального остеопороза.....	64
1.6.1 Иммунные механизмы патогенеза постменопаузального остеопороза.....	64
1.6.2. Роль эстрогенов в регуляции иммунных факторов, участвующих в патогенезе постменопаузального остеопороза.....	79
1.6.3. Роль витамина D в регуляции иммунных факторов, участвующих в патогенезе постменопаузального остеопороза.....	86
1.7. Принципы профилактики и консервативного лечения постменопаузального остеопороза.....	95
1.7.1. Первичная и вторичная профилактика постменопаузального остеопороза.....	96
1.7.2. Медикаментозная терапия при остеопорозе.....	98
1.7.3. Фармакогенетика остеопороза.....	102

РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	105
2.1. Характеристика обследованных женщин.....	105
2.2. Клинико-anamнестическое исследование женщин.....	108
2.3. Инструментальные и лабораторные методы исследования.....	111
2.4. Статистические методы исследования.....	117
РАЗДЕЛ 3. КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА	120
РАЗДЕЛ 4. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА	126
4.1. Ассоциации полиморфизмов генов <i>COL1A1</i> , <i>CYP19A1</i> , <i>ESR1</i> , <i>IL-6</i> , <i>LRP5</i> , <i>TNFSF11</i> , <i>TNFRSF11B</i> , <i>VDR</i> с постменопаузальным остеопорозом.....	126
4.2. Ассоциации полиморфизма rs1107946 (-1997 C>A) гена <i>COL1A1</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	132
4.3. Ассоциации полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена <i>COL1A1</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	137
4.4. Ассоциации полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена <i>COL1A1</i> с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у женщин в зависимости от длительности постменопаузы.....	143
4.5. Ассоциации полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена <i>ESR1</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	147
4.6. Ассоциации полиморфизмов rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val), rs4988321 (1999 G>A, Val667Met) гена <i>LRP5</i> и rs1800795 (-174 G>C) гена <i>IL-6</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	149
4.7. Ассоциации полиморфизма rs9594738 (C>T) гена <i>TNFSF11</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в	

постменопаузе.....	157
4.8. Ассоциации полиморфизма rs9594738 (C>T) гена <i>TNFSF11</i> с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у женщин в зависимости от длительности постменопаузы.....	163
4.9. Ассоциации полиморфизма rs9594759 (C>T) гена <i>TNFSF11</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	166
4.10. Ассоциации полиморфизмов rs3102735 (163 T>C), rs3134069 (245 A>C) и rs4355801 (A>G) гена <i>TNFRSF11B</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	171
4.11. Ассоциации полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена <i>VDR</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	179
4.12. Ассоциации полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена <i>VDR</i> с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у женщин в зависимости от длительности постменопаузы.....	183
4.13. Ассоциации полиморфизмов rs2414096 (A>G) и rs936306 (C>T) гена <i>CYP19A1</i> , rs9340799 (-351 G>A, XbaI) гена <i>ESR1</i> и rs10735810 (2 A>G, FokI) гена <i>VDR</i> с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе.....	190
4.14. Ассоциации полиморфизмов генов <i>COL1A1</i> , <i>CYP19A1</i> , <i>ESR1</i> , <i>IL-6</i> , <i>LRP5</i> , <i>TNFSF11</i> , <i>TNFRSF11B</i> , <i>VDR</i> с эффективностью лечения постменопаузального остеопороза препаратом ибандроната (Бонвива).....	192
4.15. Математическая модель расчета риска развития постменопаузального остеопороза.....	198
РАЗДЕЛ 5. ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ПРИ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ.....	203
5.1. Уровни цитокинов в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным остеопорозом.....	203
5.2. Ассоциации концентраций цитокинов в сыворотке крови у женщин	

постменопаузального возраста с генетическими полиморфизмами..... 209

РАЗДЕЛ 6. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ И ГОРМОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ, МАРКЕРЫ КОСТНОГО ОБМЕНА И ВИТАМИН D У ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА.....	219
6.1. Показатели клинического анализа крови у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани и генетических полиморфизмов.....	219
6.2. Биохимические показатели сыворотки крови у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани и генетических полиморфизмов.....	224
6.3. Уровни гормонов, маркеров костного обмена и витамина D в сыворотке крови у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани и генетических полиморфизмов.....	229
АНАЛИЗ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	235
ВЫВОДЫ.....	268
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	273
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	274
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	279

ВСТУПЛЕНИЕ

Актуальность темы

Остеопороз (ОП) – широко распространенное хроническое заболевание скелета, которое в структуре заболеваемости по социально-экономической и медицинской значимости является ведущей патологией костно-мышечной системы [237]. Подавляющее число случаев ОП (до 80-85%) приходится на женщин постменопаузального возраста [15].

ОП поражает от трети до половины женщин в постменопаузальный период. В женской популяции Украины ОП диагностируют у 13% женщин в возрастной группе 50-59 лет, у 25% – в группе 60-69 лет, у 50% – в группе 70-79 лет и у 53% – в группе 80-89 лет [34]. Популяционные исследования, выполненные в России в 1990-х годах, показали, что ОП имеет каждая третья женщина (33,8%) в возрасте 50 лет и старше [22].

Наиболее частые осложнения ОП у женщин в постменопаузе - переломы тел позвонков, бедренной кости, дистальных отделов лучевой кости. В Украине у 20-25% пациенток в возрасте старше 50 лет наблюдается более одного перелома тел позвонков [31]. Начиная с возраста 50 лет, в течение последующей жизни имеют вероятность сломать бедренную кость 7% российских женщин [29]. Остеопоротические переломы существенно снижают качество жизни пациентов, а также увеличивают показатели смертности [29, 36, 139].

Крайне тревожные показатели заболеваемости ОП и связанных с ним низкоэнергетических переломов у женщин в постменопаузальном возрасте свидетельствуют о необходимости разработки современных способов предупреждения, раннего выявления и эффективного лечения ОП для профилактики будущих переломов. Одной из важнейших задач в организации медицинской помощи должно быть выявление групп высокого риска по развитию ОП и своевременное назначение им соответствующих профилактических программ. Для ее решения актуальным является проведение исследований, направленных на создание инновационных подходов, основанных на глубоком

понимании этиопатогенеза постменопаузального ОП. Для успешного решения проблемы необходима совместная и скоординированная работа врачей разных специальностей (терапевтов, гинекологов, эндокринологов, травматологов, иммунологов и т.д.), которые должны иметь четкие критерии для заблаговременного выявления женщин группы риска по заболеванию и обоснования необходимости назначения им профилактических и лечебных мероприятий.

При разработке критериев для оценки как предрасположенности развития постменопаузального ОП, так и ответа костной ткани на проводимую антиостеопоротическую терапию необходимо учитывать, что вышеуказанное заболевание является мультифакторной патологией, в патогенезе которой важную роль играют иммунные механизмы.

На риск развития ОП влияет широкий спектр внешних факторов, к которым относят особенности образа жизни и питания, вредные привычки, насыщенность организма витамином D (VD) и кальцием [4, 15, 33, 48, 55, 104, 146, 160, 163, 280, 300]. Несомненно, фундаментальную роль в развитии ОП отводят гормональным изменениям у женщин в постменопаузе, в первую очередь – снижению продукции эстрогенов [21, 49, 171].

Наряду с вышеизложенным, установлено, что до 60-90% случаев ОП генетически детерминировано и это доказано результатами многочисленных эпидемиологических исследований, семейных и близнецовых наблюдений [50, 148, 287]. Развитие постменопаузального ОП зависит от функции многих генов, т.е. генная сеть патогенеза заболевания, равно как и морфогенеза кости весьма сложна. Причем, среди генов кандидатов ОП немаловажную роль отводят группе генов, которые кодируют иммунные факторы – интерлейкин-6 (ген *IL-6*), RANKL (ген *TNFSF11*), остеопротегерин (ген *TNFRSF11B*) и др.

Кроме того, результаты многочисленных экспериментальных и клинических наблюдений свидетельствуют о наличии взаимосвязей между иммунной системой и костной тканью. Появилась новая область научных знаний – остеоиммунология, изучающая закономерности взаимодействия иммунной и

костной систем организма в норме и патологии. Существенные успехи в области остеоиммунологии доказывают ключевую роль в патогенезе ОП иммунных механизмов [158, 219, 221, 243].

Именно дисрегуляция взаимоотношений между иммунной и костной системами, нарушение баланса в иммунных механизмах лежат в основе патогенеза постменопаузального ОП. Не вызывает сомнений, что ускоренная потеря костной массы у женщин в постменопаузе, вызванная дефицитом эстрогенов, представляет собой комплексный эффект множества клеточных и молекулярных механизмов с центральной ролью иммунокомпетентных клеток (Т хелперы 1, 2, 17 типов и др.) и цитокинов (фактор некроза опухолей α , интерлейкины 1, 6, 10, 17, RANKL и др.). И теперь, учитывая ключевую роль иммунных механизмов в нарушениях ремоделирования костной ткани, ОП называют хроническим иммуноопосредованным заболеванием, а вместо термина «Остеопороз» все чаще и обосновано используют термин «Иммунопороз» [262].

С одной стороны, достижения остеоиммунологии имеют важную научную ценность и свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в этой области для более глубокого изучения механизмов регуляции костного ремоделирования иммунными факторами. С другой стороны, уже сейчас есть научно обоснованные предпосылки для использования результатов научных изысканий с целью разработки новых подходов в профилактике и терапии постменопаузального ОП.

Степень разработанности темы

Накопленные к настоящему времени данные демонстрируют важную роль вышеуказанных факторов (генетические, гормональные, иммунные и т.д.) в формировании ОП у женщин в постменопаузе. Вместе с тем, анализ выводов в различных исследованиях, нередко показывает несопоставимость получаемых результатов о роли тех или иных факторов в патогенезе заболевания. В частности данные молекулярно-генетических исследований свидетельствует о наличии определенных противоречий в определении значимости генетических полиморфизмов в развитии постменопаузального ОП. Не изучена роль

генетических маркеров в формировании остеопоротических изменений дифференцированно в различных участках скелета женщин, а также в зависимости от длительности постменопаузы.

Остаются не исследованными многие аспекты патогенетических механизмов ОП с учетом взаимовлияния друг на друга различных факторов. В том числе не изучены особенности цитокинового, эндокринного, биохимического статуса, показателей клинического анализа крови, маркеров костного обмена, VD у женщин с различными генетическими полиморфизмами. Не выполнялась комплексная оценка этиопатогенетических факторов на риск формирования патологии у женщин, которая позволила бы получить математическую модель для расчета степени риска развития постменопаузального ОП. Не уделено внимание исследованию влияния генетических полиморфизмов на эффективность лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом ибандроната.

Понимание мультифакторной природы постменопаузального ОП диктует необходимость использования комплексного подхода для оценки этиопатогенеза заболевания. Именно комплексное исследование роли взаимосвязанных и взаимовлияющих друг на друга генетических факторов, внешних воздействий, эндокринных, иммунных и других особенностей женщин даст возможность более полно охарактеризовать причины и детализировать механизмы патогенеза заболевания, разработать научно-обоснованные эффективные методы предупреждения и лечения патологии.

Все вышеизложенное свидетельствует о важной научной и практической значимости научно-исследовательской работы, предполагающей проведение комплексного изучения различных этиопатогенетических факторов (генетических, эндокринных, иммунных и т.д.) при постменопаузальном ОП. Результаты комплексного исследования позволят получить новые сведения о патогенезе заболевания, разработать математические модели, использование которых в практическом здравоохранении даст возможность для каждой женщины индивидуально и задолго до наступления менопаузы определить риск развития постменопаузального ОП. Аналогичные подходы могут быть важны и

для прогнозирования у каждой больной с уже сформировавшимся заболеванием степени ответа на антирезорбтивную терапию.

Связь работы с научными программами, планами, темами

Работа являлась фрагментом научно-исследовательской работы «Разработать и внедрить дифференцированный подход к диагностике, лечению и профилактике нарушений здоровья женщин различного генеза» (номер государственной регистрации / шифр темы: УН 16.05.22), в которой соискатель являлся соисполнителем.

Цель исследования: создать математическую модель для прогноза риска развития постменопаузального ОП, определить предикторы эффективности антирезорбтивной терапии ибандроновой кислотой на основании комплексной оценки этиопатогенетических факторов заболевания и исследования иммунных особенностей женщин на молекулярном и генетическом уровне.

Для реализации поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Охарактеризовать клинико-anamнестические данные, в том числе свидетельствующие об иммунных нарушениях, у женщин в постменопаузе, согласно разработанной анкете и их связи с развитием постменопаузального ОП.

2. Исследовать генетические полиморфизмы генов кандидатов ОП различных патогенетических групп (*COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *LRP5*, *VDR*), в том числе генов, кодирующих иммунные факторы (*IL-6*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*), у здоровых женщин и у женщин с постменопаузальным ОП и остеопенией.

3. Установить ассоциации изученных полиморфных вариантов генов с остеопоротическими изменениями в различных участках скелета женщин.

4. Изучить ассоциации полиморфных вариантов генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR* с остеопоротическими изменениями скелета у женщин с различной длительностью постменопаузы.

5. Определить особенности цитокинового статуса (*IL-1-β*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-17A*, *TNF-α*, *INF-γ*, *OPG*, *RANKL*) у женщин с постменопаузальным ОП.

6. Оценить показатели клинического анализа крови, биохимических параметров сыворотки крови, сывороточные уровни гормонов, маркеров костного обмена и VD при постменопаузальном ОП.

7. Исследовать ассоциации генетических полиморфизмов генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR*, имеющих связи с остеопоротическими нарушениями костной ткани у женщин в постменопаузе, с изменениями уровней цитокинов, показателей клинического анализа крови, биохимических параметров сыворотки крови, сывороточных уровней гормонов, маркеров костного обмена и VD.

8. Разработать математическую модель прогнозирования развития у женщин постменопаузального ОП исходя из комплекса факторов, в том числе иммунологических показателей.

9. Определить генетические предикторы (полиморфизмы генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR*) эффективности лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом ибандроната.

Объект исследования: постменопаузальный остеопороз у женщин.

Предмет исследования: минеральная плотность костной ткани (МПК) у женщин в постменопаузе; клинико-anamnestические и генетические факторы риска постменопаузального ОП; иммунологические, гормональные, клинико-лабораторные, биохимические факторы патогенеза постменопаузального ОП; маркеры костного обмена и VD при постменопаузальном ОП; математическая модель прогноза риска развития постменопаузального ОП; предикторы эффективности ответа на лечение женщин с постменопаузальным ОП препаратом ибандроната.

Научная новизна исследования

Впервые на современном методологическом, научном уровне выполнен комплексный анализ этиопатогенетических (клинико-anamnestических, генетических, иммунологических, гормональных, биохимических и т.д.) факторов постменопаузального ОП, что позволило расширить наши представления о патогенезе заболевания. Впервые обоснована необходимость и выполнена оценка

роли генетических полиморфизмов ряда генов (*COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR*) не только с постменопаузальным ОП, но и с остеопоротическими изменениями в отдельных участках скелета женщин. Впервые установлена зависимость ассоциаций генетических полиморфизмов с остеопоротическими проявлениями от длительности постменопаузального периода. Впервые определены особенности уровней про- и противовоспалительных цитокинов, гормонов, клинико-лабораторных, биохимических показателей, маркеров костного обмена, VD у женщин с различными полиморфными вариантами генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR*. Впервые выполнена оценка результатов лечения постменопаузального ОП препаратом ибандроната в зависимости от генетических полиморфизмов генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR* и определены генетические предикторы эффективности терапии. Впервые создана математическая модель для расчета риска развития у женщин постменопаузального ОП.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты существенно расширяют наши знания о патогенезе постменопаузального ОП как мультифакторного заболевания. Выявленное влияние длительности постменопаузы на проявление генетических ассоциаций и обоснование необходимости оценки ассоциаций генетических факторов с постменопаузальным ОП дифференцированно по различным участкам скелета позволяет усовершенствовать методологию выполнения научных исследований для увеличения объективности, достоверности получаемых выводов. Созданная математическую модель для расчета риска развития постменопаузального ОП проста и удобна в практическом использовании и с достаточно высокой степенью специфичности и чувствительности позволяет выявлять женщин группы риска для своевременного назначения им профилактических программ. Установленные генетические предикторы ответа на терапию препаратом ибандроната открывают возможности для индивидуализированного подхода в определении вида и схемы антирезорбтивной терапии женщинам с постменопаузальным ОП.

Научные результаты, полученные в диссертации, внедрены в педагогический процесс кафедр ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Государственного учреждения ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», Академии постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»), а также в практическую деятельность лечебно-профилактических учреждений республики Крым.

Личный вклад соискателя

Диссертация является самостоятельным научным трудом соискателя. Автором сформулирована идея работы, обоснована актуальность и необходимость проведения исследования. Автором при участии научных консультантов определены цель и задачи исследования, самостоятельно проведен информационно-патентный поиск, анализ современного состояния проблемы по данным научной литературы, определена программа работы. Диссертантом лично проведен отбор женщин в исследование с учетом критериев включения и исключения, при помощи анкетирования собраны, проанализированы и обобщены их клиничко-анамнестические данные. Остеоденситометрия костной ткани методом DEXA выполнялась сотрудниками рентгенологического отделения Донецкого Республиканского травматологического центра. Автором самостоятельно или при личном участии на базе медицинской лаборатории ООО «Укрмедсервис» выполнены лабораторные исследования (клиничко-лабораторные, биохимические, молекулярно-генетические, иммунологические методы). Соискателем самостоятельно проведена статистическая обработка полученных в ходе исследования данных, проанализированы результаты исследования, написаны все разделы диссертации, сформулированы ее основные положения, выводы и практические рекомендации, оформлен автореферат. В

работах, выполненных в соавторстве, реализованы научные идеи диссертанта. В процессе написания работы не использованы идеи и разработки соавторов. В диссертационную работу не вошли материалы кандидатской диссертации.

Методология и методы исследования

При проведении исследования были использованы клинические методы – для выявления клиничко-anamнестических факторов риска постменопаузального ОП; инструментальные – для оценки минеральной плотности костной ткани; молекулярно-генетические – для установления генетических полиморфизмов; лабораторно-диагностические – для изучения иммунологических, эндокринных, клиничко-лабораторных, биохимических показателей, уровней витамина D (25(OH)D) и маркеров костного обмена; статистические – для обработки полученных результатов.

Исследование было проведено в два этапа. На первом этапе было обследовано 525 женщин постменопаузального возраста. Исходя из результатов остеоденситометрии, для сравнительной оценки клиничко-anamнестических, молекулярно-генетических и лабораторно-диагностических данных женщины были распределены в 3 группы – здоровые (n=135), с остеопенией (n=236) и остеопорозом (n=154). На втором этапе исследования была выполнена оценка эффективности лечения препаратом ибандроната постменопаузального ОП у женщин (n=131) в зависимости от генетических полиморфизмов. Для этого женщинам выполнялись молекулярно-генетические исследования и дважды остеоденситометрия (до начала лечения и после 12 месяцев приема ибандроновой кислоты).

Положения, выносимые на защиту

1. Риск развития постменопаузального ОП зависит от комплекса факторов: конституции, особенностей образа жизни и питания женщин (рост, вес, ИМТ, уровень потребления молочных сыров, творога и т.д.) и генетических особенностей (генетические полиморфизмы генов *COL1A1*, *ESR1*, *LRP5*, *TNFSF11* и др.).

2. Полноценный анализ роли генетических полиморфизмов в этиопатогенезе ОП у женщин в постменопаузе должен включать не только изучение их ассоциаций с диагнозом постменопаузального ОП, но и выполняться дифференцированно в зависимости от состояния костной ткани в различных участках скелета женщин.

3. Проявление ассоциаций генетических полиморфизмов с остеопоротическими нарушениями скелета у женщин в постменопаузе зависит от длительности постменопаузального периода.

4. Понимание роли спектра клинико-анамнестических и генетических факторов в развитии постменопаузального ОП дает возможность создания математической модели для выявления женщин группы риска задолго до наступления менопаузы с целью проведения им профилактических программ.

5. Эффективность лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом ибандроновой кислоты существенно зависит от генетических полиморфизмов (rs1544410 гена *VDR*, rs2234693 гена *ESR1*, rs1800012 гена *COL1A1*, rs4988321 и rs3736228 гена *LRP5*).

6. Женщины с постменопаузальным ОП характеризуются комплексом изменений цитокинового статуса, гормонального баланса, биохимических маркеров, показателей клинического анализа крови, маркеров костного обмена.

7. Наличие у женщин полиморфных вариантов генов, имеющих ассоциации с постменопаузальным ОП, сочетается с изменениями показателей отдельных цитокинов, гормонов, биохимических маркеров, показателей клинического анализа крови, VD. Эти изменения могут отражать патогенетические механизмы заболевания костной системы, прямо или опосредованно оказывать влияние на скорость снижения МПК у женщин в постменопаузе, а также на эффективность антирезорбтивной терапии.

Степень достоверности и апробации результатов

Достоверность результатов, изложенных в диссертационной работе, обусловлена достаточным объемом репрезентативного клинико-лабораторного материала, использованием современных средств и методов исследований,

адекватных целям и задачам работы, выбором современных методов статистического анализа. Положения, изложенные в диссертации, базируются на полученных данных и соответствуют материалу, представленному в публикациях.

Апробация работы состоялась 01.02.2019 г. на заседании кафедры клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького».

Материалы диссертации были представлены на Международной конференции «Актуальні питання акушерства, гінекології та перинатології» (Судак, 2013), VI Международной школе-семинаре «Захворювання кістково-м'язової системи та вік» (Яремче, 2013), научно-практической конференции с международным участием «Вікові аспекти захворювань кістково-м'язової системи» (Харьков, 2014), II междисциплинарном медицинском форуме «Актуальные вопросы совершенствования медицинской помощи и профессионального медицинского образования» (Белгород, 2017), VII съезде ревматологов России (Москва, 2017), объединенной Всероссийской научно-образовательной конференции, посвященной памяти профессора А.Н.Горячева, и VII научно-образовательной конференции травматологов и ортопедов ФМБА России, посвященной 95-летию Западно-Сибирского Медицинского Центра ФМБА России, VI съезде травматологов-ортопедов Сибирского федерального округа (Омск, 2017), Всероссийской научно-практической конференции «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2017), ежегодной научно-практической конференции «Актуальные вопросы терапии» (Донецк, 2017), VIII Съезде межрегиональной ассоциации хирургов-вертебрологов России с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты поражений и повреждений позвоночника» (Иркутск, 2017), VI Евразийском конгрессе травматологов-ортопедов (Казань, 2017), XXI Международной научно-практической конференции «Пожилой больной. Качество жизни» (Москва, 2017), II Международной научно-практической конференции Прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины» (Астрахань, 2017), конгрессе с

международным участием «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге – 2017» (Санкт-Петербург, 2017), Всероссийской научно-практической конференции «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2018), II Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать...болезнь» (Донецк, 2018).

Публикации

Результаты диссертационной работы полностью изложены в 58 научных работах, из них 38 статей – в журналах, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшими аттестационными комиссиями Российской Федерации, ДНР, Украины, Республики Беларусь. В соавторстве изданы 2 монографии.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на русском языке на 311 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, 5 разделов собственных исследований, анализа и обсуждения полученных результатов исследований, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 86 таблицами на 57 страницах и 19 рисунками на 11 страницах. Список использованной литературы содержит 317 научных публикаций, из них 51 – изложена кириллицей, 266 – латиницей и занимает 32 страницы.

РАЗДЕЛ 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Медицинская и социально-экономическая значимость постменопаузального остеопороза

ОП – широко распространенное хроническое прогрессирующее метаболическое системное заболевание скелета, которое характеризуется снижением МПК и нарушением микроархитектоники костной ткани, вследствие чего снижается ее прочность и повышается риск переломов [237]. В структуре заболеваемости по социально-экономической и медицинской значимости ОП является ведущей патологией костно-мышечной системы.

Современная диагностика ОП [9, 14, 20] основывается на измерении МПК. «Золотым стандартом» для определения МПК является метод двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (Dual-energy X-ray absorptiometry, DEXA), при помощи которого выполняется денситометрия различных участков скелета, чаще всего области поясничных позвонков, проксимального отдела бедра, дистального отдела предплечья. Высокорастворимые изображения измеряемых областей, полученные при DEXA, обеспечивают высокую точность и воспроизводимость выполняемой оценки МПК независимо от гомогенности мягких тканей, что важно как для постановки диагноза, так и при повторных исследованиях у одного и того же больного в динамике наблюдения. В соответствии с принятыми стандартами МПК исчисляется с точностью до 0,001 г/см², а Т-критерий – до 0,1. При этом погрешность измерения МПК не превышает 1,0%.

В костных денситометрах DEXA различных производителей заложена унифицированная нормативная база данных Национального обзорного исследования по здоровью и питанию III (NHANES III). Данная референтная база разработана, в том числе, и для женщин постменопаузального возраста и включает данные для сравнительного анализа показателей МПК по Т-критерию. Данный критерий указывает, на сколько стандартных отклонений МПК у

конкретного субъекта ниже или выше средних значений для молодых здоровых женщин, т.е. пика костной массы. Снижение этого критерия происходит с уменьшением костной массы.

Исходя из критериев Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) женщины со значениями T-критерия до -1,0 стандартных отклонений от пиковой костной массы считаются здоровыми. Более низкие уровни T-критерия соответствуют остеопении (ниже -1,0 до -2,5 стандартных отклонений) и ОП (-2,5 стандартных отклонений и ниже). Значения T-критерия меньше -2,5 стандартных отклонений и наличие хотя бы одного низкоэнергетического перелома классифицируют как тяжелый ОП.

По этиологии ОП является многофакторным заболеванием и подразделяется на первичный (постменопаузальный, ювенильный, идиопатический) и вторичный [47]. Первичный ОП развивается как самостоятельное заболевание без выявления другой причины снижения прочности скелета, занимает 95% всех случаев заболевания у женщин и представлен постменопаузальным ОП. Остальные 5% заболеваний костной системы у женщин приходится на вторичный ОП. Анализ заболеваемости ОП среди женщин и мужчин показал, что подавляющее число случаев заболевания (до 80-85%) приходится на женщин постменопаузального возраста [15].

Вторичный ОП развивается вследствие различных заболеваний или состояний, а также приема лекарственных средств [104]. К достаточно разнообразному перечню причин вторичного ОП относят:

- 1) особенности питания, образа жизни (избыток витамина А, выраженный дефицит массы тела, резкая потеря массы тела, низкое потребление Са, дефицит VD, переизбыток соли в рационе);
- 2) генетические заболевания (муковисцидоз, болезни накопления гликогена, гемохроматоз, гомоцистинурия, гипофосфатазия, несовершенный остеогенез и др.);
- 3) гипогонадные состояния (нечувствительность к андрогенам, нервная анорексия, аменорея атлетов, гиперпролактинемия и др.);

- 4) эндокринные нарушения (акромегалия, эндогенный гиперкортицизм, сахарный диабет 1-го и 2-го типа, гиперпаратиреоз, тиреотоксикоз и др.);
- 5) желудочно-кишечные нарушения (целиакия, желудочный шунт, хирургические вмешательства на желудочно-кишечном тракте, цирроз печени, воспалительные заболевания кишечника, мальабсорбция и др.);
- 6) гематологические нарушения (гемофилия, лейкемия, лимфома, множественная миелома и др.);
- 7) ревматологические, аутоиммунные заболевания (анкилозирующий спондилит, ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.);
- 8) неврологические и костно-мышечные заболевания (эпилепсия, мышечная дистрофия, болезнь Паркинсона, инсульт и др.);
- 9) другие состояния и заболевания (СПИД/ВИЧ-инфекция, хроническая обструктивная болезнь легких, амилоидоз, хронический метаболический ацидоз, застойная сердечная недостаточность, иммобилизация, алкоголизм, терминальная почечная недостаточность, саркоидоз и др.);
- 10) длительный прием лекарственных средств (антикоагулянты, антиконвульсанты, барбитураты, противоопухолевые препараты, глюкокортикоиды, ингибиторы протонной помпы, тамоксифен и др.).

Актуальность проблемы ОП, в том числе постменопаузального, не вызывает сомнений в связи с его повсеместной и высокой распространенностью, серьезными осложнениями - переломами, которые приводят к большим социально-экономическим потерям [36]. По данным ВОЗ, ОП вышел по значимости на четвертое место среди неинфекционных заболеваний после сердечно-сосудистой и онкологической патологии, диабета. До 40% женщин в постменопаузе страдают вышеуказанным заболеванием, и, как ожидается, этот показатель неуклонно будет расти [240]. На сегодняшний день количество людей, страдающих этим заболеванием в мире, превышает 200 млн. Около 30% всех женщин в постменопаузальном периоде в США и Европе имеют остеопоротические изменения и у каждой третьей женщины старше 65 лет случается как минимум один остеопоротический перелом.

По данным Национального Фонда Остеопороза США 10,2 миллионов американцев имеют ОП, а еще у 43,4 миллиона определяется сниженная масса костной ткани [55]. Ежегодно в США происходят более 2 млн переломов, связанных с ОП. Причем, 70% из них регистрируется у женщин. Прогнозируется, что ежегодные затраты на лечение остеопоротических переломов в США к 2025 году превысят 25 миллиардов долларов. Недавно выполненный ретроспективный анализ показал, что ежегодная стоимость ухода за остеопоротическими переломами превышает ежегодные затраты на лечение рака молочной железы, инфаркта миокарда или инсульта у женщин в возрасте 55 лет и старше [55].

По данным эпидемиологических исследований, в возрасте 50 лет риск переломов бедра у женщин составляет от 7% в Австралии до 30% в Европе. При этом 40-50% женщин в течение жизни ожидает как минимум 1 перелом, обусловленный ОП [95].

Переломы, обусловленные ОП, являются не только клиническим исходом и осложнением заболевания, но и серьезной медико-социальной проблемой [36]. Данные переломы, возникающие, прежде всего, вследствие снижения механической прочности костей, называют также малоэнергетическими, поскольку они могут наблюдаться даже после сравнительно легких механических воздействий, которые обычно не приводят к повреждениям скелета у здоровых людей. Наиболее частыми и значимыми являются остеопоротические переломы позвоночника, бедра, дистального отдела предплечья и проксимального отдела плечевой кости [139]. Кроме того, ОП может быть причиной переломов и других локализаций, в том числе костей таза, ребер, дистального отдела бедренной кости, голени и т.д. Из них наиболее актуальными являются переломы бедра, которые считаются одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире.

По данным на 2000 г., в мире было выявлено 9 млн остеопоротических переломов, среди которых 1 млн 600 тыс. переломов бедренной кости, 1 млн 700 тыс. переломов костей предплечья и 1 млн 400 тыс. клинических переломов тел позвонков. Важно отметить, что наибольшее количество из вышеуказанных переломов приходится на Европейские страны – 34,8% [139]. Причем, в странах

Западной Европы вероятность малоэнергетических переломов у женщин в постменопаузе достигает 40 и более процентов [139]. Общее количество остеопоротических переломов у мужчин и женщин в Европе в 2006 г. составило 2,7 миллионов, а прямых затрат, связанных с ними, - свыше €36 миллиардов. По данным 2010 г. прямые расходы на лечение переломов, обусловленных ОП, в 5 ведущих странах Европы (Франция, Германия, Италия, Испания и Великобритания) составили € 29 млрд. [139]. Согласно прогнозу Международного Фонда Остеопороза, эпидемия заболевания будет только нарастать и к 2050 г. ожидается увеличение числа пациентов с переломом шейки бедра среди мужчин на 310%, среди женщин – на 240%.

Сравнительный анализ научных публикаций по проблеме ОП показал близость показателей распространенности заболевания у российских женщин и у женщин в других странах [29]. Экстраполяция полученных в отдельных регионах России данных на все население страны позволяет предположить, что ОП страдает 14 млн российских граждан. Еще у 20 млн граждан Российской Федерации может быть остеопения, которая, как известно, при наличии дополнительных факторов также обуславливает высокий риск низкоэнергетических переломов. Таким образом, в целом 34 млн жителей России имеют повышенный риск перелома. Начиная с возраста 50 лет, в течение последующей жизни имеют вероятность сломать бедренную кость 7% российских женщин. Причем, к 2035 году только из-за увеличения продолжительности жизни число переломов проксимальных отделов бедренной кости у женщин вырастет на 43%. Не менее 7% российских женщин имеют и остеопоротические переломы позвонков [29]. Предполагается, что в России число основных остеопоротических переломов костей (проксимального отдела бедренной кости, дистального отдела предплечья, плеча и клинически манифестных переломов позвонков) увеличится к 2035 г. с 590 тыс. до 730 тыс. случаев в год [127].

Следует отметить, что остеопоротические переломы существенно снижают качество жизни пациентов, а также увеличивают показатели смертности [29, 36, 139]. Развитие постменопаузального ОП и компрессионных переломов позвонков

ассоциируются у женщин с ухудшением различных аспектов качества жизни в постменопаузе. У пациентов отмечается ограничение физической активности, страдание от боли, потеря уверенности в своем здоровье, ухудшается психическое состояние. Переломы проксимального отдела бедра приводят к обездвиженности пострадавших, к моменту травмы уже имеющих различные сопутствующие заболевания. Следствием этого является обострение широкого спектра хронической патологии, утяжеление ее течения. В итоге это приводит к обвальному «синдрому декомпенсации» систем и органов и обуславливает высокую летальность.

В Швеции число смертей, которые причинно связаны с малоэнергетическими переломами, составляет более 1% от всех смертельных случаев. В 2010 году в Европейском Союзе число умерших по причине ОП оценивалось в 43 тыс. Анализ вышеуказанных смертельных исходов показал, что у женщин чаще всего к летальному исходу приводят переломы бедра и позвоночника (соответственно 50% и 28% от общего количества).

Таким образом, ОП представляет серьезную медицинскую и социально-экономическую проблему во всем мире, в том числе и в Российской Федерации. Несмотря на широкое распространение, тяжелые осложнения и огромные материальные затраты, тем не менее, повсеместно отмечается недостаточное внимание к проблеме ОП. Страдает своевременная диагностика заболевания и, конечно же, полноценное проведение лечебно-профилактических мероприятий. Так, в Европе даже после уже произошедшего первого малоэнергетического перелома терапию получают всего лишь 20% пациентов с ОП [139].

Серьезные показатели заболеваемости ОП и связанных с ним низкоэнергетических переломов у женщин в постменопаузальном возрасте делают необходимым разработку современных способов предупреждения, раннего выявления и эффективного лечения ОП для профилактики будущих переломов. В связи с этим одной из важнейших задач в организации медицинской помощи должно быть выявление групп высокого риска по развитию ОП, ранняя диагностика и назначение соответствующего лечения, направленного на

предотвращение развития заболевания и будущих переломов. Поэтому актуальным является проведение исследований, направленных на создание инновационных подходов, основанных на глубоком понимании этиопатогенеза постменопаузального ОП. При этом подчеркивается важность изучения молекулярно-генетических механизмов нарушения накопления и чрезмерной потери МПК, роли различных этиопатогенетических факторов, в том числе иммунных и эндокринных факторов, витаминов и микроэлементов.

Если необходимые усилия не будут предприняты, то весь мир ожидает рост числа пациентов с низкоэнергетическими переломами, ассоциированными с ОП. Для успешного решения проблемы необходима совместная и скоординированная работа врачей разных специальностей (терапевтов, гинекологов, эндокринологов, травматологов, иммунологов и т.д.), которые должны иметь четкие критерии определения групп риска по заболеванию, конкретные рекомендации по диспансерному наблюдению, профилактике и лечению постменопаузального ОП.

1.2. Молекулярная генетика и понятие о постменопаузальном остеопорозе как мультифакторном заболевании

В последнее время генетика сделала головокружительный прыжок, привнеся в медицинскую практику новые знания и предоставив перспективы для диагностики, лечения и профилактики широкого спектра заболеваний и состояний [141]. Благодаря успехам медицинской генетики появилось и бурно развивается новое направление медицины – персонализированная медицина [32], которая ставит основной задачей не совершенствование методов лечения уже существующих заболеваний, а предсказание вероятности их возникновения. Это может позволить своевременно проводить превентивно-профилактические мероприятия для предупреждения возникновения заболевания и его дальнейшего развития, улучшая состояние здоровья, повышая качество и увеличивая продолжительность активного периода жизни.

Использование генетического тестирования для персонализированной медицины демонстрирует важные практические достижения. Уже сейчас генетика является неотъемлемой частью биомедицинской науки и клинической практики и предлагает современные инструменты по расшифровке патогенеза заболеваний, высокоэффективные диагностические и прогностические маркеры, новые критерии для индивидуализации и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий. Несомненно, современная генетика предоставляет новые качественные подходы и в оценке состояния здоровья женщин в постменопаузе, открывая перспективы в выявлении предрасположенности к ОП, повышению качества ранней диагностики заболевания и прогнозирования результатов лечения.

В связи с этим, в настоящее время все большее значение приобретают молекулярно-генетические методы исследований, которые были быстро разработаны после создания полимеразной цепной реакции [1, 141]. Теперь они становятся все более доступными для практического здравоохранения и предназначены для выявления вариаций в структуре исследуемого гена. Причем, использование молекулярно-генетических методов для изучения генетических особенностей человека считается целесообразным выполнять даже в небольших лабораториях [141].

Объектом изучения генетики является генотипическая изменчивость. Изменчивость - это свойство живых организмов изменять признаки в процессе онтогенеза. Известны два вида изменчивости – фенотипическая (ненаследственная) и генотипическая (наследственная). Фенотипическая изменчивость не связана с изменением наследственного аппарата. Генотипическая же изменчивость, в отличие от фенотипической, предполагает изменение наследственного материала и опосредована мутациями [1]. Мутации возникают внезапно, скачкообразно и иногда приводят к резким изменениям признаков организма в отличие от исходной формы. Мутации свойственны для всех представителей живого мира, в том числе и для человека.

По характеру изменения генетического материала различают геномные, хромосомные и генные мутации. Геномные мутации заключаются в изменении количества хромосом. Хромосомные мутации (абберации) возникают в результате нарушения структуры в пределах одной хромосомы. Генные мутации, или точечные, предполагают изменение последовательности нуклеотидов в участке ДНК (гена). Изменения в структуре ДНК ведут к генетическому полиморфизму [1, 176].

Ген считают полиморфным, если его самый распространенный аллель встречается менее чем у 99% людей. Соответственно под полиморфизмом понимают такие варианты последовательностей ДНК в гене, которые распространены в общей популяции с частотой не менее 1%.

Масштабы полиморфизма ДНК таковы, что между последовательностями ДНК двух людей, если только они не однояйцевые близнецы, существуют миллионы различий. Генетическая изменчивость обуславливает уникальность каждого человека по своим генетическим и фенотипическим признакам [176]. По степени фенотипических проявлений мутации могут быть летальными (не совместимые с жизнью), вредными для здоровья человека, нейтральными или благоприятными, если повышают жизнестойкость организма [176]. Неблагоприятные мутации могут участвовать в патогенезе заболеваний, в том числе ОП, повышать риск формирования патологии или даже играть ключевую роль в их развитии.

Среди различных видов генных мутаций выделяют замену одной пары нуклеотидов на другую, изменение последовательности нуклеотидов, выпадение или вставку одного или нескольких нуклеотидов и т.д. [176]. Наиболее частой формой генетического полиморфизма является однонуклеотидный полиморфизм. Под этим термином понимают варианты последовательностей ДНК у разных людей с вовлечением одной пары оснований.

У человека выявлены различные виды генных мутаций, которые являются причиной многих наследственных заболеваний. Генные или молекулярные болезни - это патологические состояния, которые возникают в результате изменений (мутаций) в пределах одного гена, детерминирующего определённый

белок. К настоящему времени современная генетика, в том числе молекулярная генетика, позволяет выявлять около двух тысяч генных болезней и дает возможность анализировать более чем 4800 генов [141]. И эти показатели продолжают расти.

Среди генных болезней выделяют моногенно-обусловленные болезни и полигенные болезни. Моногенные болезни обусловлены мутациями единичных генов, удельный их вес среди всех генных болезней человека составляет около 1,5%. Причем, точность их диагностики с использованием методов молекулярной генетики приближается к 100% [1].

Все остальные генные болезни (98,5%), в том числе и ОП, являются результатом сочетанного эффекта неблагоприятных внешних факторов и индивидуальных особенностей генома и именуется полигенными (мультигенными, мультифакторными) заболеваниями. Они детерминируются комплексом генов - эти гены влияют друг на друга, пребывают в определённом взаимодействии между собой и факторами внешней среды. Этиологически значимые гены определяют предрасположенность к заболеванию. Наличие определенных мутаций в них реализуется в виде заболевания только лишь вследствие воздействия причинных факторов [1].

Мультигенные болезни составляют около 90% всех хронических неинфекционных заболеваний человека. К ним относят сахарный диабет, ишемическую болезнь сердца, атеросклероз, гипертоническую болезнь, язвенную болезнь, аллергию, злокачественные опухоли и др. В этих случаях измененный генотип проявляет себя под воздействием факторов внешней среды. Типичным мультигенным (мультифакторным) заболеванием является и ОП, в том числе постменопаузальный.

Мерой ассоциации, количественно определяющей взаимосвязь между наличием мутации и изменением в состоянии здоровья, заболеванием является показатель отношения шансов. Отношение шансов обозначается латинскими буквами OR (от англ. Odds Ratio) и рассчитывается по формуле: $OR=(a*d)/(b*c)$, где a - число заболевших среди лиц, имеющих мутацию, b - число здоровых среди

лиц, имеющих мутацию, c - число заболевших среди лиц, не имеющих мутацию, d – число здоровых среди лиц, не имеющих мутацию. При этом сумма $a+c$ означает общее число заболевших, а сумма $b+d$ – общее число не заболевших (контрольная группа).

Существенные успехи последних лет в изучении закономерностей костного ремоделирования позволили достаточно глубоко изучить строение и морфологию костной ткани, физиологические и патофизиологические особенности регуляции костного метаболизма [7, 15, 16, 19]. В костной ткани присутствуют две линии клеток, участвующих в постоянной перестройке костной ткани. К ним относят остеобласты (ОБ), осуществляющие остеогенез, и остеокласты (ОК), ответственные за резорбцию минерализованной кости.

ОБ обладают мощным аппаратом белкового синтеза и обеспечивают образование коллагеновых волокон, их минерализацию и формирование костных структур. Основными органическими веществами костного матрикса, синтезируемыми ОБ, являются коллаген, в первую очередь I типа, остеокальцин, остеоонектин, протеогликаны, сиалопротеины, костные морфогенетические белки, протеолипиды, фосфопротеины. ОК, предшественниками которых являются моноциты, синтезируют и секретируют протеолитические ферменты (кислые гидролазы, коллагеназы и др.), расщепляющие органическую часть матрикса, а также поддерживают в лакуне кислую среду, необходимую для растворения солей кальция (Ca).

Функция ОБ и ОК строго контролируется. Созревание, дифференцировка и функциональная активность вышеуказанных клеток зависит от генетических особенностей и регулируется гормонами (эстрогены, паратиреоидный гормон, глюкокортикоиды, андрогены, тиреоидные гормоны и др.), витаминами (кальцитриол, ретиноиды), цитокинами (фактор роста фибробластов, инсулиноподобный фактор роста 1 – IGF-I, трансформирующий фактор роста β – TGF- β , интерлейкины IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, фактор некроза опухолей α – TNF- α и др.), простагландинами и т.д.

Очевидно, что ключевым моментом патогенеза ОП является нарушение физиологического баланса между функцией ОБ и ОК. А активность их зависит как от полноценности генной регуляции внутриклеточных процессов, так и регуляторного влияния вышеуказанного широкого спектра гуморальных факторов, эффекты которых, в свою очередь, детерминируются генами, определяющими их продукцию и синтез соответствующих им рецепторов. Кроме того, как и функция костных клеток, так и продукция влияющих на них гуморальных факторов определенным образом зависит от внешних воздействий.

Многочисленные исследования демонстрируют, что перечень внешних факторов, способствующих развитию ОП, достаточно разнообразен [4, 15, 55, 104]. Вероятность заболевания повышается с возрастом. К факторам риска относят белую (европеоидную) расу, женский пол, низкую массу тела, предшествующие переломы, наличие переломов у родственников первой степени родства, табакокурение, злоупотребление алкоголем и кофе, адинамию и гиподинамию. У женщин развитию ОП способствует ранняя менопауза, позднее начало менструаций, аменорея, бесплодие, двусторонняя овариоэктомия. Предикторами ОП являются недостаточность солнечной инсоляции, гиповитаминоз D и дефицит Ca, системный прием ряда препаратов, в том числе глюкокортикостероидов в течение более 3 мес. Доказано участие в патогенезе заболевания эндокринных нарушений. Наиболее важными из гормональных факторов являются дефицит эстрогенов (E), повышенная продукция гормонов парашитовидной и щитовидной желез.

В настоящее время вклад вышеуказанных факторов в развитие заболевания не вызывает сомнения. Однако, следует отметить, что до 80-90% случаев ОП генетически детерминировано и это доказано результатами многочисленных эпидемиологических исследований, семейных и близнецовых наблюдений [50, 287]. Для реализации же генетической предрасположенности к ОП необходимо наличие определенных условий. На рисунке 1.1 представлены основные защитные и неблагоприятные факторы (факторы риска), интенсивность

воздействия которых определяет вероятность фенотипических проявлений особенностей генотипа и развития ОП.

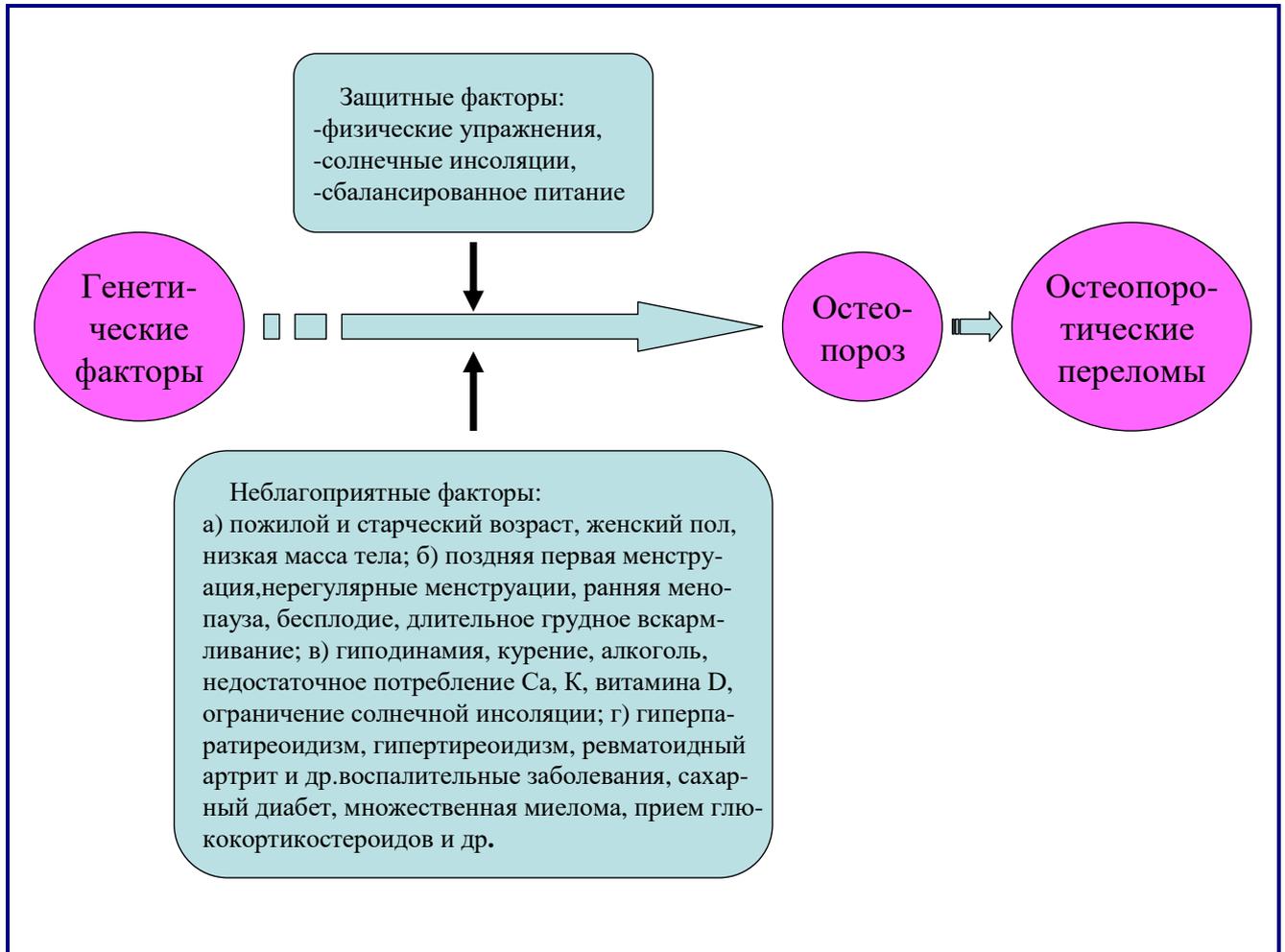


Рисунок 1.1 Схематическое изображение этиопатогенеза ОП

Таким образом, исходя из современных представлений, ОП, в том числе и в первую очередь постменопаузальный, является типичным полигенным (мультифакторным, мультигенным) заболеванием, которое детерминируется комплексом генов – эти гены влияют друг на друга, пребывают в определённом взаимодействии между собой и факторами внешней среды, фенотипически проявляясь в виде предрасположения к заболеванию.

Понимание мультифакторной природы постменопаузального ОП диктует необходимость использования комплексного подхода для оценки этиопатогенеза заболевания. Именно комплексное исследование роли взаимосвязанных и

взаимовлияющих друг на друга генетических факторов, внешних воздействий, эндокринных, иммунных и других особенностей женщин даст возможность более полно охарактеризовать причины и детализировать механизмы патогенеза заболевания, разработать научно-обоснованные эффективные методы предупреждения и лечения патологии.

Знание этиопатогенеза ОП, его мультифакторности является обоснованием индивидуализированного и комплексного подхода в диагностике, лечении и профилактике заболевания. Клинико-лабораторное обследование каждого конкретного пациента должно включать патогенетически аргументированный одновременный анализ определенного перечня показателей, влияющих на показатели риска заболевания, его тяжесть и исходы. Именно такой подход позволит индивидуализировать назначение лечебно-профилактических мероприятий и повысить их эффективность.

1.3. Генетика постменопаузального остеопороза

Генетика ОП представляет собой одно из наиболее активно развивающихся направлений в области костной биологии. Ежегодно появляется большое количество оригинальных публикаций и для осмысления полученных результатов, выработки стратегии дальнейших научных изысканий необходим периодический анализ имеющихся достижений.

Еще в начале 90-х годов прошлого столетия, учитывая высокие показатели наследуемости ОП, были выполнены первые успешные попытки выявить гены, мутации в которых влияют на МПК и способствуют развитию заболевания. Одной из первых плодотворных работ по идентификации генов ОП было исследование N.A. Morrison и соавт. [110]. Авторы обнаружили достоверную связь сывороточных уровней остеокальцина с полиморфизмами BsmI ($P=0,0001$), ApaI ($P=0,0023$) и EcoRV ($P=0,0153$) гена *VDR*, который кодирует рецепторы витамина D (*VDR*). Причем, эта связь была характерна как для мужчин, так и для женщин. Исходя из полученных данных, был сделан важный вывод о том, что

генотип вышеуказанного гена значительно сильнее предсказывает циркулирующие значения остеокальцина, чем статус женщин (пременопауза или постменопауза). Таким образом, N.A. Morrison и соавт. [110] установили, что аллельные вариации гена *VDR* вносят определенный вклад в физиологические колебания уровня остеокальцина, а также, исходя из предварительного анализа в монозиготных и дизиготных парах близнецов, объяснили генетическими особенностями гена *VDR* наличие большого разнообразия в показателях МПК поясничной области позвоночника.

После данного сообщения одна за другой стали появляться другие публикации, посвященные изучению роли гена *VDR* в патогенезе ОП [172]. Работы выполнялись в различных странах, объектами исследования в которых были лица различных национальных, расовых, возрастных и половых характеристик. Ряд экспериментов был выполнен на моделях у животных. Результаты этих исследований подчеркнули важное влияние полиморфизмов вышеуказанного гена на абсорбцию Са в кишечнике, показатели МПК различных отделов скелета, на вероятность развития ОП и остеопоротических переломов.

Следует отметить, что наряду с изучением гена *VDR* был отмечен бурный прогресс в поиске и других генов, имеющих значение в формировании ОП. Исходя из важной роли дефицита Е в развитии постменопаузального ОП, был проведен анализ генов, мутации в которых могут снижать эффективность регулирующего влияния данных гормонов на клетки-мишени. В результате в 1995 году были опубликованы первые результаты о значимости мутаций генов эстрогеновых рецепторов (*ESR1*, *ESR2*) как факторов риска ОП. Вторая половина 1990-х годов ознаменовалась появлением доказательств роли в патогенезе ОП широкого спектра других генов-кандидатов. К ним были отнесены гены *COL1A1* (коллаген I типа), *PTH* (паратгормон), *CT* (кальцитонин), *CTR* (рецептор кальцитонина), *BGP* (остеокальцин), *AR* (рецептор андрогенов), *GCCR* (рецептор глюкокортикоидов) и др. Открытие новых механизмов патогенеза ОП, в том числе существенной роли иммунных факторов, послужили патогенетической основой для идентификации генов-кандидатов, детерминирующих цитокины и их

рецепторы: *TGFB1* (трансформирующий фактор роста бета 1), *IL-6* (IL-6), *IGF1* (IGF-I) и др.

Большая доказательная база, широкий перечень генов с установленной ролью в развитии ОП обусловили необходимость систематизировать их в несколько патогенетических групп. К 2003 году, исходя из глубокого анализа имеющихся данных, Yao-Zhong Liu и соавт. [203] выделил 32 основных генов-кандидатов и распределил их в 4 группы:

1. Гены кальцитропных гормонов и их рецепторов: *VDR*, *ESR1*, *ESR2*, *PTH*, *PTHRI* (рецептор паратгормона 1), *CT*, *CTR*, *AR*, *GCCR*, *CYP19* (ароматаза), *CaSR* (кальций-чувствительный рецептор).

2. Гены цитокинов, факторов роста и их рецепторов: *TGFB1*, *IL-6*, *IGF1*, *IL-1ra* (рецептор антагониста IL-1), *OPG* (остеопротегерин), *TNF- α* (TNF- α), *TNFR2* (рецептор фактора некроза опухоли α).

3. Гены протеинов костного матрикса: *COLIA1*, *COLIA2*, *BGP*, *MGP* (Gla протеин матрикса), *AHSG* (α -2-HS-гликопротеин).

4. Остальные гены: *ApoE* (аполипопротеин E), *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктаза), *P57KIP2* (ингибитор циклин-зависимой киназы), *HLA-A* (главный комплекс гистосовместимости, класс I, A), *PPAR- γ* (рецепторы γ , активируемые пероксисомными пролифераторами), *FRA-1* (Fos-родственный антиген 1), *RUNX-2* (внутриядерный фактор транскрипции 2), *Klotho* (белок Klotho), *WRN* (ген синдрома Вернера).

Таким образом, выполненные в 1990-х годах исследования, направленные на изучение генетических факторов ОП, в том числе наиболее частой его формы – постменопаузальной, подтвердили мультигенность заболевания. Уже тогда было доказано и стало понятно, что МПК, как и развитие кости в целом, зависит от функции многих генов, т.е. генная сеть ОП, равно как и морфогенеза кости весьма сложна.

Дальнейший прогресс в изучении генетических основ ОП неразрывно связан с совершенствованием методов молекулярной генетики. Одним из величайших научных достижений в истории человечества и важной вехой в

развитии генетики стал проект «Геном человека», благодаря реализации которого секвенирование большей части человеческого генома было закончено в конце 2003 года. Наличие карты последовательности человеческого генома, появление новых технологий в генетическом анализе позволили ученым разработать и эффективно использовать методы полногеномного анализа сцепления (GWLS, genome-wide linkage studies) и, конечно же, полногеномного поиска ассоциаций (GWAS, genome-wide association studies). В отличие от методов, которые проверяют один или несколько конкретных участков генома, эти методы используют полную последовательность ДНК [255].

Данные подходы, несомненно, существенно расширили наши представления о генетической составляющей ОП. С одной стороны, использование метода GWAS и изучение однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) позволило детализировать этиологически значимые изменения в генах, роль в развитии ОП которых была установлена во второй половине 1990-х и начале 2000-х годов. С другой стороны, при помощи полногеномного поиска ассоциаций были открыты новые гены-кандидаты [148, 154, 164, 204, 253, 255].

Одна из первых публикаций, представившая результаты использования GWAS в изучении генетической составляющей ОП, датируется 2007 г. Спустя несколько лет стало очевидным, что благодаря вышеуказанной новой технологии произошла революция в нашем понимании генетической архитектуры такого сложного в плане этиопатогенеза заболевания как ОП. К настоящему времени установлено уже около 200 генов, мутации в которых в большей или меньшей степени могут влиять на риск развития ОП [148]. Часть из них составила новую патогенетическую группу генов-кандидатов – гены канонического Wnt-сигнального пути [164, 204].

Причем, важно заметить, что раньше поиск генов базировался на знаниях патогенеза заболевания. В настоящее же время методология GWAS не требует каких-либо предварительных знаний о функции тех или иных генов и предположений об их возможной роли в ремоделировании костной ткани. Более того, идентификация новых генов, в том числе канонического Wnt-сигнального

пути, даже способствовала существенному улучшению нашего понимания механизмов патологического процесса и открытию новых молекулярных и биологических путей, участвующих в регуляции костного метаболизма.

Канонический (β -катенин-зависимый) Wnt-сигнальный путь – один из важнейших молекулярных сигнальных путей, который регулирует эмбриональное развитие и дифференцировку клеток. WNT-гены были первоначально идентифицированы как гены, ответственные за развитие опухоли молочной железы у мышей. Впоследствии было установлено, что передача сигналов по Wnt-пути строго регулируется во времени и пространстве, а нарушения в этой системе сопряжено со злокачественным ростом и в других тканях и органах, в том числе у человека. Кроме того, многочисленными исследованиями была обнаружена и подтверждена роль канонического Wnt-сигнального пути в остеогенезе [96]. Увеличение Wnt-сигнализации сопровождается повышением интенсивности костеобразования, тогда как уменьшение – к снижению костной массы и нарушениям скелета.

Активация канонического Wnt-пути начинается с момента воздействия на клетку-мишень Wnt-белков. Семейство Wnt-белков представлено, по крайней мере, 19 высоко консервативными генами, которые классифицируются в 12 Wnt-подсемейств [306]. Механизм активации начинается с образования комплекса Wnt-белков с клеточными рецепторами [276], которые представлены трансмембранным рецептором Frizzled (FRZ) и ко-рецептором LRP(5/6) – белки 5 и 6 типов, родственные семейству белков рецептора липопротеинов низкой плотности (рисунок 1.2). Следует отметить, что формированию комплекса Wnt-FRZ-LRP активно препятствует ряд антагонистов, которым противостоят агонисты. К антагонистам относятся Wnt-ингибирующий фактор (WIF) и sFRP (secreted Frizzledrelated protein), которые непосредственно блокируют молекулы Wnt, а также белки Dickkopf-1 (DKK-1) и склеростин (SOST), обладающие способностью конкурентно связывать рецепторы LRP5/LRP6 и тем самым предотвращать формирование мембранного комплекса Wnt-FRZ-LRP. В

противовес антагонистам белок R-spondin (RSPO) выступает в качестве стабилизатора рецепторов FRZ и LRP 5/6 и повышает Wnt-сигнализацию.

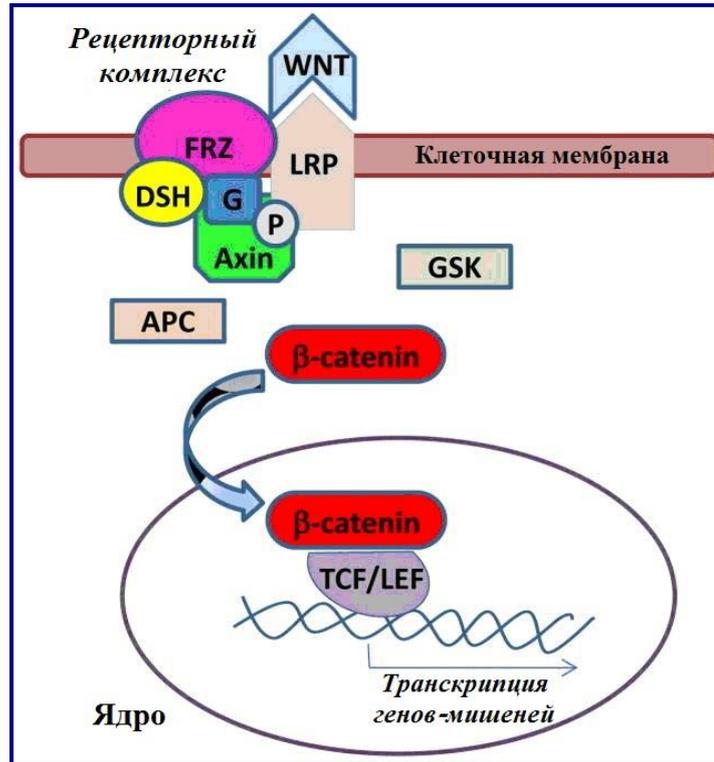


Рисунок 1.2 Канонический Wnt-сигнальный путь (адаптировано по V. Tsang и соавт., 2012 [276]. Примечание: WNT – белок Wnt; FRZ – рецептор Frizzled; DSH и Axin – белки Dishevelled и аксин; Wnt-FRZ-LRP-Dsh-Axin - комплекс, стабилизирующий β-катенин (β-catenin); GSK-3 – протеинкиназа-3; СК1 - казеинкиназа-1; APC (adenomatous polyposis coli) - белок-супрессор; TCF/LEF – транскрипционные факторы

Активация молекулой Wnt комплекса Wnt-FRZ-LRP стабилизируется белками Dishevelled (Dsh) и Axin, вследствие чего на клеточной поверхности формируется "рецепторный комплекс" Wnt-FRZ-LRP-Dsh-Axin. Активация при этом белка Dishevelled вызывает ингибирование мультибелкового «деструктирующего комплекса». Последний представлен молекулами цитоплазматического «поддерживающего» белка аксина, протеинкиназы GSK-3, казеинкиназы (СК1) и APC (adenomatous polyposis coli, белок-супрессор).

Функция комплекса заключается в деградации β-катенина в протеосоме с помощью убиквитин-зависимого протеолиза с участием белка β-TrCP (beta-

transducin repeat containing protein — белок, содержащий повторные участки бета-трансдуцина).

Есть свидетельства, что в «демонтаже» axin/GSK-3/CK1/APC комплекса могут участвовать и тримерные G протеины. Угнетение активности комплекса axin/GSK-3/CK1/APC белком Dishevelled приводит к снижению скорости деградации β -катенина. Это сопровождается его стабилизацией и накоплением в цитоплазме. В последующем β -катенин транслоцируется в ядро, где вступает во взаимодействие с транскрипционными факторами семейства TCF/LEF (T-cell factor/lymphoid enhancing factor) и приводит к активации определенной программы экспрессии генов.

Через вышеуказанные транскрипционные факторы β -катенин осуществляет регуляцию экспрессии множества генов-мишеней [96, 306, 309]. В их число входят гены остеокальцина, остеопонтина, коллагена I типа, костных морфогенетических белков 2 и 4 (BMP 2/4). Также мишенями канонического Wnt-сигнального пути являются гены *SP7* (кодирует фактор транскрипции Osterix, играющий ведущую роль в костеобразовании) и *ALPL* (детерминирует щелочную фосфатазу, которая расщепляет органический фосфор до неорганического, увеличивает продукцию фосфата Ca и принимает участие в минерализации костной ткани). Усиление экспрессии вышеуказанных генов сопровождается повышением функциональной активности ОБ.

Кроме того, имеются доказательства того, что передача Wnt-сигналов с помощью β -катенина может положительно регулировать и экспрессию остеопротегерина (OPG) в ОБ [96]. Известно, что системе цитокинов RANKL-RANK-OPG (RANK и RANKL –активатор рецептора ядерного фактора κ B и его лиганд соответственно) отводят ключевое значение во взаимодействиях ОБ и ОК и в остеокластогенезе [158, 219]. В этой системе OPG, основными клетками-продуцентами которого являются ОБ, угнетает активность ОК и, тем самым, обеспечивает протективную роль в отношении резорбции костной ткани, являясь растворимым «рецептором-ловушкой» для RANKL. В итоге, активация канонического Wnt-сигнального пути в ОБ приводит к увеличению продукции

OPG. Вследствие этого ингибируются дифференцировка ОК и опосредованная ими резорбция костной ткани.

Таким образом, β -катенин посредством передачи сигналов Wnt-путем играет очень важную роль в регуляции ОБ (клеточного цикла, пролиферации, дифференцировки, активности) и имеет существенное значение в формировании скелета и его прочности, регулируя хондрогенез, остеобластогенез и остеокластогенез.

Последние достижения в области молекулярной генетики свидетельствуют о чрезвычайно важной роли в развитии ОП мутаций в генах Wnt-сигнального пути [148, 154, 164, 287]. К данным генам, мутации в которых достоверно влияют риск ОП и остеопоротических переломов, относят гены *CTNNB1* (β -катенин), *SOST*, *FOXC2* и *FOXL1* (факторы транскрипции), *GPR177* (трансмембранный белок), *LRP4* и *LRP5* (белки 4 и 5, родственные семейству белков рецептора липопротеинов низкой плотности), *WNT1*, *WNT3*, *WNT4*, *WNT5B* и *WNT16* (Wnt-белки), *DKK1* (ингибитор сигнального Wnt-пути), *sFRP4* (секретируемый белок Frizzled-связанный), *AXIN1*, *JAG1* (лиганд для рецепторов группы Notch), *MEF2C* (фактор усилителя транскрипции) и др.

Причем, ряд мутаций в вышеуказанных генах могут играть критическую роль в нарушении морфогенеза костной ткани. Так, С.М. Laine и соавт. [308] при проведении семейных исследований доказали связь мутаций в гене *WNT1* с.652Т→G (p.Cys218Gly) и с.884С→А (p.Ser295) с несовершенным остеогенезом (osteogenesis imperfecta), ранним развитием ОП. В экспериментах *in vitro* они продемонстрировали, что аберрантные формы белка Wnt1 имеют сниженную способность индуцировать передачу сигналов по Wnt-пути, что, в конечном итоге, приводит к существенному нарушению минерализации кости. Обследование 8 детей [207], имеющих низкие рост и плотность костной ткани, тяжелые компрессионные переломы позвонков и длинных костей в первые годы жизни, также показало ассоциацию несовершенного остеогенеза с наличием мутаций гена *WNT1* (с.428G>Т, p.Cys143Phe; с.287_300del, p.Gln96Profs; с.946_949insAACA, p.Ser317Lysfs; с.1063G> Т, p.Val355Phe).

Ряд мутаций в гене *WNT1* могут быть причиной других врожденных патологий костной системы. Так, S.M. Pyott и соавт. [309] выполнили обследование четырех семей со случаями умеренно тяжелого и прогрессирующего синдрома остеопороза и псевдоглиомы (osteoporosis-pseudoglioma syndrome). Результаты генетического анализа показали, что причиной врожденного заболевания явились мутации в гене *WNT1* с.884C>A [p.Ser295*], с.506dupG [p.Cys170Leufs*6], с.259C>T [p.Gln87*]), с.893T>G [p.Phe298Cys].

Приведенные данные о важности изменений генов Wnt-сигнального пути как этиологически значимых в развитии наследственной патологии скелета нашли подтверждение и в других исследованиях. Y. Wang и соавт. [306], выполнив анализ научной литературы, привели широкий спектр мутаций в генах *WNT3*, *WNT5A*, *WNT7A*, *WNT10A*, *WNT10B*, *SOST*, *DKK1*, *LRP4*, *LRP5*, *Axin2*, *FRP3*, которые являются причиной врожденной патологии костной системы, в том числе протекающих с признаками ОП (синдром тетраамелии, синдром Робинова, синдром остеопороза и псевдоглиомы, болезнь Педжета и др.). Все это свидетельствует о том, что Wnt-сигналы являются одними из ключевых в регуляции активности ОБ, а изменения генов, обеспечивающих данный сигнальный путь, могут быть причинами моногенных форм патологии костной системы.

Помимо врожденных пороков развития скелета изменения генов канонического Wnt-сигнального пути могут вносить определенный вклад и в патогенез мультигенной формы ОП. Важным фактором в реализации сигналов по Wnt-пути является *LRP5*, функциональная активность которого обнаруживает определенную зависимость от ряда мутаций в гене, кодирующем данный белок. Выполненный мета-анализ, включивший 6 исследований [68] показал, что лица с генотипом AA полиморфизма A1330V гена *LRP5* имели значительно более высокие показатели МПК шейки бедренной кости (на 0,165 г/см², p<0,001), чем обладатели AV и VV аллелей.

Аналогичные результаты о связи полиморфизма A1330V гена *LRP5* с уменьшением МПК позвоночника были установлены ($p < 0,0001$) и при обследовании греческих женщин в постменопаузе [79]. Сниженные показатели МПК позвоночника имели гречанки с гаплотипами GA и AA полиморфизма V667M вышеуказанного гена по сравнению с обладателями гомозиготы GG ($P < 0,0001$). J.A. Riancho и соавт. [311] провели обследование 1043 женщин в постменопаузе (возраст 51–90 лет) и 394 женщин с переломами шейки бедра (возраст 60–90 лет). Полученные результаты показали ассоциации ($p < 0,05$) SNPs в генах *LRP5* (rs4988321) и *LRP6* (rs11054704), rs2302685, rs10845493) с низкими значениями МПК.

T. Canto-Cetina и соавт. [229] изучили влияние полиморфизма rs3736228 (p.A1330V) гена *LRP5* на показатели МПК различных участков скелета у женщин в постменопаузе ($n=583$) и обнаружили, что генотип AA ассоциирован с увеличением плотности всей бедренной кости, в том числе шейки бедренной кости, а также поясничного отдела позвоночника ($p < 0,05$). Следует отметить, что среди тунисских женщин в постменопаузе [76] полиморфизм p.A1330V гена *LRP5* не обнаруживал ассоциации со значениями МПК шейки бедра и наличием остеопении/ОП ($p=0,066$).

Мета-анализ [150], объединивший результаты 19 исследований ($n=25773$), продемонстрировал, что лица с генотипом AA полиморфизма A1330V гена *LRP5* по сравнению с остальными имеют более высокие ($p=0,01$) показатели МПК в поясничном отделе позвоночника (на 200 мг/см^2) и шейки бедренной кости (на 100 мг/см^2). Аналогичные ассоциации были также обнаружены и для VV генотипа полиморфизма V667M ($p < 0,001$). Что касается полиморфизма Q89R гена *LRP5*, то наличие QQ генотипа определяет достоверное увеличение МПК шейки бедренной кости на 300 мг/см^2 ($p=0,005$).

A.M. Sims и соавт. [149] провели исследование 96 SNPs в 13 генах Wnt-сигнального пути у 344 лиц и показали достоверное ($p=0,05$) снижение МПК при наличии мутаций в генах *LRP5*, *SFRP1*, *LRP1*, *LRP6*, *SOST*, *WNT3a* и *DKK2*.

С. Medina-Gomez и соавт. [196], выполнив мета-анализ, установили на моделях у животных, а также при обследовании детей ($n=2660$) и женщин в пременопаузе ($n=1014$) существенное влияние SNPs в локусе гена *WNT16* (rs917727 и др.) на формирование общей массы костной ткани. Исходя из этого, они предположили, что более низкие показатели пика костной массы у лиц с мутациями гена *WNT16* могут существенно повысить вероятность развития ОП в более позднем возрасте, в том числе у женщин в постменопаузе. Действительно, С. García-Ibarbia и соавт. [201] при обследовании 1083 лиц старше 49 лет показали достоверную связь двух полиморфизмов гена *WNT16* (rs2908004 и rs2707466) со сниженной МПК шейки бедра ($p=0,00037$ и $p=0,0015$ соответственно). Подтверждением важности мутаций гена *WNT16* как генетических факторов, повышающей риск переломов, является выполненный мета-анализ H.F. Zheng и соавт. [310]. Они продемонстрировали, что варианты *WNT16* rs2908004 и rs2707466 существенно повышают риск переломов предплечья ($OR=1,22$, $p=4,9 \times 10^{-6}$ и $OR=1,22$, $p=7,2 \times 10^{-6}$ соответственно).

Исследование Xing-Bo Mo и соавт. [148] позволило выявить ассоциации показателей МПК шейки бедра с SNPs 2-х новых генов, а именно *WNT3* ($p=2,71 \times 10^{-10}$) и *WNT9B* ($p=1,48 \times 10^{-09}$). Следует отметить, что работа была основана на крупномасштабном мета-анализе, который включил обследование 32961 лиц и идентификацию более 1 млн. 288 тыс. SNPs в 21695 генах.

Изменения в гене *JAG1* (20p11.23-p12.1) также могут быть важными факторами, определяющими риск развития ОП. Мета-анализ [74], объединивший результаты обследования населения Китая и европейских стран ($n=18898$), показал существенное влияние полиморфизма rs2273061 вышеуказанного гена на показатели МПК ($p=5,27 \times 10^{-8}$ для поясничного отдела позвоночника и $p=4,15 \times 10^{-5}$ для шейки бедренной кости). Лица с аллелем G по сравнению с носителями аллеля А имели более высокие уровни МПК и низкий риск переломов ($OR=0,70$; $95\% \text{ CI}=0,57-0,93$; $p=0,009$). В подтверждение выявленных ассоциаций авторы продемонстрировали, что генотип GG полиморфизма rs2273061 сочетался со значениями экспрессии матричной РНК *JAG1* в 30 раз более высокими, чем при

генотипе AA ($p=0,037$). Следует отметить, что среди мексиканских женщин постменопаузального возраста аналогичного влияния полиморфного варианта гена *JAG1* (rs2273061) на уровни МПК установлено не было [169].

Таким образом, зародившись как чисто теоретическая наука, изучающая интимные процессы жизнедеятельности организма, молекулярная генетика в короткий срок стала весьма важной для практического здравоохранения. С одной стороны, молекулярная генетика стала базой для углубленного понимания многих процессов, происходящих в организме здоровой и больной ОП женщины, и служит основой для изучения причин и патогенетических факторов постменопаузального ОП. С другой стороны, молекулярная генетика уже сейчас открывает возможности для предсказания развития ОП у женщин, его ранней диагностики и определения оптимальной стратегии профилактики и терапии. Внедрение генетического тестирования в клиническую практику знаменует собой начало новой эры в медицине, открывает новые возможности для увеличения качества медицинских услуг и повышения эффективности работы врача.

Необходимо указать, что генетическая составляющая ОП достигает 80-90%, а реализация ее зависит от функции широкого спектра генов и их полиморфных вариантов. Причем, каждая из мутаций в вышеуказанных генах обнаруживает, как правило, показатели OR, не превышающие 1,50. В связи с этим для определения риска развития ОП у женщин в постменопаузе, рекомендуется использовать комплексный подход – одновременно исследовать группу генов, имеющих патогенетическое значение при заболевании.

1.4. Роль эстрогенов в развитии постменопаузального остеопороза, прямые эффекты эстрогенов на костные клетки

Главной причиной развития ОП у женщин в постменопаузе является снижение продукции E [21, 49, 171]. Потеря МПК в период постменопаузы составляют 1–2% в год, а в первые 5 лет постменопаузы ежегодная убыль костной массы в позвоночнике может достигать 3%. Причиной этого является

существенное увеличение резорбции костной ткани вследствие повышения числа и активности ОК при дефиците Е.

Еще в 1940 г. Fuller Albright с коллегами описал постменопаузальный ОП и предположил, что развитие данного заболевания обусловлено дефицитом Е [54]. В последующем благодаря многочисленным клиническим наблюдениям и экспериментальным исследованиям эта гипотеза нашла научное подтверждение. Теперь нет сомнений в том, что Е играют важную роль в процессе ремоделирования костной ткани и низкий их уровень является предиктором развития ОП. Однако необходимо отметить, что за последние годы произошло существенное изменение нашего понимания того, каким образом Е участвуют в процессе костеобразования и вследствие каких механизмов их недостаток усиливает резорбцию костной ткани.

Е – это общее собирательное название подкласса стероидных гормонов, производимых в основном фолликулярным аппаратом яичников у женщин [11]. Из различных биологических жидкостей организма человека выделено более 30 видов Е, наиболее значимыми из которых являются эстрадиол (17- β -эстрадиол, E_2), эстрон (E_1) и эстриол (E_3). Интенсивность продукции Е в женском организме изменяется в зависимости от фазы менструального цикла и существенно угасает в постменопаузальный период. Е, основным из которых является эстрадиол (в последующем будет обозначаться общим термином «эстрогены» - Е), представляют собой мультифункциональные гормоны, оказывающие многогранное и выраженное воздействие на различные органы и системы организма человека. Регуляция вышеуказанными гормонами различных клеточных мишеней осуществляется опосредовано через внутриклеточные эстрогеновые рецепторы двух типов – альфа (ESR1 или ER- α) и бета (ESR2 или ER- β), открытие которых сыграло важную роль в нашем понимании того, как Е оказывают различные физиологические эффекты.

ESR1 и ESR2 относят к суперсемейству нуклеарных рецепторов, в группу которых включают также андрогеновые, прогестинового, глюко- и минералокортикоидные рецепторы и др. [133, 171]. Согласно концепции ядерной

локализации рецепторы стероидных гормонов, в том числе и эстрогеновые, преимущественно располагаются в клеточном ядре. Эффекты данных рецепторов осуществляются путем образования гормон-рецепторных комплексов, которые активируют гены-мишени и инициируют процессы транскрипции соответствующих факторов. Благодаря нуклеарным рецепторам происходит регуляция важных биологических процессов, в том числе нормального развития различных органов и обеспечение ими соответствующих функций.

Значительно меньшее количество рецепторов ESR локализовано вне клеточного ядра – в цитоплазме и плазматической мембране клеток. Их биологическая роль также существенна. Именно с ними связывают быструю передачу сигналов внутрь клетки и развитие немедленных эффектов гормонов, что очень важно в обеспечении быстрого реагирования клеток нервной, сердечно-сосудистой и других системы организма человека [136]. Мембранные ESR обнаружены и на клетках костной ткани. Считается, что быстрая сигнализация через данные рецепторы влияет на многие аспекты клеточной биологии кости, в том числе путем увеличения жизнеспособности ОБ и стимуляции их дифференцировки [317].

ESR выявлены в клетках органов репродуктивной системы (яичники, матка, влагалище, молочные железы, яички и др.), благодаря чему Е, оказывая влияние на женские половые органы, обеспечивают репродуктивную функцию женщины. Помимо главенствующей роли вышеуказанных гормонов в развитии половых признаков и поддержании детородной функции женщины, Е также, напрямую или опосредованно, участвуют и во многих других физиологических и патофизиологических процессах [133]. Эти эффекты обусловлены наличием ESR в костной и жировой тканях, печени, легких, коже, поджелудочной железе, почках, кишечнике, мочевом пузыре, гипоталамусе, гипофизе, надпочечниках, коре головного мозга, мозжечке и т.д. [304].

В связи с этим, от продукции Е зависят углеводный, липидный и минеральный обмена, гормональный статус [194, 273, 279]. Е участвуют в регуляции сердечно-сосудистой системы, влияют на процессы кроветворения и

свертывания крови, кровяное давление, обладают антисклеротическим действием [11, 131, 277]. Влияние E на факторы врожденного и адаптивного иммунитета [131] обеспечивается наличием ESR в центральных органах иммунной системы (костном мозге и тимусе) и иммунокомпетентных клетках (макрофаги, Т- и В-лимфоциты). Наряду с широкой представленностью ESR в различных клетках, возможно даже всех тканей организма человека, тем не менее, их экспрессия наиболее выражена в репродуктивных органах [133].

Исходя из вышеизложенного, становятся объяснимыми выявленные ассоциации между нарушением продукции E, в частности снижением их уровней, и развитием патологических процессов, формированием широкого спектра заболеваний. Основными из них являются ОП, сердечно-сосудистые, онкологические заболевания, эндокринные расстройства, сахарный диабет, аутоиммунная патология, метаболический синдром.

С одной стороны, накопленные научные данные демонстрируют важную роль E в обеспечении процессов ремоделирования костной ткани. С другой стороны, известно, что мишенями эффектов E являются не только клетки кости, но и клетки других органов и систем организма человека. В связи с этим, правомочно предположить, что механизмы обеспечения метаболизма костной ткани E включают как прямую регуляцию ими активности ОБ и ОК, так и опосредованно через их участие в обеспечении гормонального и иммунного статуса, обмена Са и т.д., т.е. благодаря их эффектам в регуляции клеток других органов и систем организма.

К настоящему времени доказана важная роль E в регуляции метаболизма костной ткани путем непосредственного связывания их с ESR в клетках кости [171]. В 2001 году Sharun Bord и соавт. [134] в своем исследовании при помощи иммуногистохимического анализа выявили присутствие ESR как в ОБ, так и ОК. При этом они показали, что ESR1 преимущественно экспрессируются в кортикальном слое, тогда как для ESR2 установлены более высокие уровни экспрессии в губчатом веществе кости.

S.A. Krum [181] в обзорной работе представила свои результаты и провела анализ имеющихся данных о прямых транскрипционных мишенях E в костных клетках. Путем лиганд-рецепторных механизмов E способны активировать десятки генов ОБ, которые детерминируют факторы, участвующие в регуляции пролиферации и дифференцировки как вышеуказанных клеток, так и ОК. Связывание E с соответствующими рецепторами ОБ приводит к повышенному синтезу клетками молекул FasL (Fas-лиганд), щелочной фосфатазы, Bcl-2 (антиапоптозный белок), OPG, Rbbp1 (ретинобластома-связывающий белок 1), BMP-2 (костный морфогенетический белок 2), IGFBP4 (белок 4 типа, связывающий IGF), ESR1, TGF- β 3.

Считается, что вышеуказанные факторы обладают антирезорбтивными эффектами. Так, показано, что экспрессируемый ОБ Fas-лиганд в конечном итоге индуцирует апоптоз ОК [128, 177]. Щелочная фосфатаза является маркером ранней дифференцировки ОБ и играет важную роль в минерализации кости. Кроме того, предполагается, что активация ОБ зависит от уровней ретинобластома-связывающего белка 1 (Rbbp1), в усилении продукции которого главную роль играют E [138]. Выявленные стимулирующие свойства BMP-2 в отношении ОБ уже позволяют проводить эксперименты на животных и использовать назначение его рекомбинантной формы для усиления костеобразования [246]. IGFBP4 (белок 4 типа, связывающий IGF) является важным функциональным промотором ОБ человека [283]. Индукция E антиапоптозных белков Bcl-xL и Bcl-2 предотвращает запрограммированную гибель ОБ и остеоцитов [274]. OPG, являясь ловушкой для молекул RANKL, снижает интенсивность взаимодействий RANK-RANKL и за счет этого предупреждает активацию ОК [219]. TGF- β 3, синтез которого увеличивается под воздействием E, также предотвращает костную резорбцию путем ингибирования дифференцировки ОК [138].

V. Rudnik и соавт. [187] продемонстрировали способность E через активацию рецептора ESR1 повышать продукцию ОБ как щелочной фосфатазы,

так и IGF-I, коллагена I типа, остеокальцина, которые непосредственно отражают активность костеобразования.

Установлена роль E и в регуляции продукции остеоцитами SOST (рисунок 1.3). SOST стимулирует продукцию RANKL, а также подавляет пролиферацию, дифференцировку, жизнеспособность ОБ и, как следствие, уменьшает их костеобразующую функцию [57]. Действие SOST обусловлено его способностью ингибировать в ОБ Wnt-сигнальный путь, выступая в качестве антагониста белка FRZ. SOST препятствует образованию комплекса между белком FRZ и LRP5/6, конкурентно связываясь с последним, и тем самым блокирует активацию Wnt-сигнального пути. Функция же E, как и ряда других факторов, заключается в ингибировании синтеза SOST, что в конечном итоге приводит к повышению количества и активности ОБ.

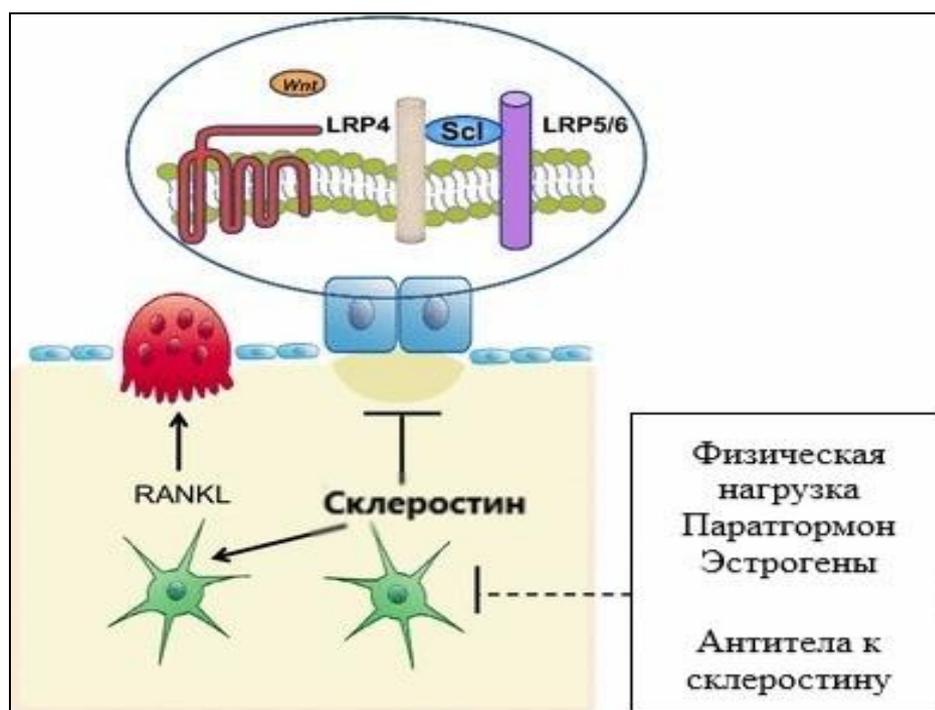


Рисунок 1.3 Ингибирующий эффект эстрогенов на продукцию остеоцитами склеростина (адаптировано по N.M. Appelman-Dijkstra, S.E. Pararoulos, 2015 [57]).

Примечание: Wnt – Wnt-сигнальный путь; Scl – склеростин

Воздействие E на ESR ОК приводит к снижению синтеза тартрат-устойчивой кислой фосфатазы (TRAP), рецептора к IL-1 (IL-1RI), катепсинов K,

B, L [181]. Все эти молекулы играют важную роль в обеспечении резорбции костной ткани, усилении дифференцировки и увеличении активности ОК. Так, из описанных к настоящему времени типов катепсина (B, C, F, H, K, L, O, S, V, X, W) в семействе цистеиновых протеаз катепсин K является основным протеолитическим ферментом ОК, участвующим в процессе деградации коллагенового матрикса кости. Фактически, этот белок, синтезируемый в наибольшем количестве активными ОК, играет ключевую роль в процессе резорбции костной ткани [213]. Рецептор IL-1 типа I (IL-1RI), который является мишенью провоспалительного цитокина IL-1 и ингибируется E, играет важную роль в процессах костеобразования в норме и при патологии, индуцируя остеокластогенез и резорбцию костной ткани [166].

Таким образом, к настоящему времени получены неопровержимые доказательства прямого влияния E на функцию клеток костной ткани через ESR. Однако, несмотря на полученные данные, тем не менее, до сих пор мы не имеем полноценного комплексного понимания сложных механизмов, посредством которых E в целом, и эстрадиол, эстриол и эстрон в частности, регулируют функции клеток мишеней, в том числе ОБ, остеоцитов и ОК. Учитывая генетическую составляющую в регуляции продукции E и ESR, их эффекты на клетки мишени, в том числе влияние E на обменные процессы организма в целом и костной системы в частности, роль E в регуляции иммунных факторов, тем не менее остаются неизученными вопросы патогенеза ОП с точки зрения комплексной оценки взаимодействий в системе «Ген – Эстрогены – Другие гормоны – Иммунные факторы – Биохимические факторы – Внешние воздействия». Нет окончательного представления о сочетании классического и неклассического путей активации транскрипции эстрогеновыми рецепторами, а также негеномных эффектов E. Остаются недостаточно изученными вопросы сочетания эффектов ESR1 и ESR2, а также их взаимовлияния и взаимодействия с рецепторами других гормонов и факторов роста и т.д. [102, 177].

Важно учитывать и то, что часть наших знаний базируется на результатах экспериментов, проведенных с использованием лабораторных животных и пока

неподтвержденных исследованиями у человека. А ведь мы должны учитывать то, что ни одна модель, полученная на животных, не способна однозначно имитировать механизмы ОП у человека [248].

Но вместе с тем очевидно, что через лиганд-рецепторные механизмы E с одной стороны способны повышать функциональную активность ОБ и остеоцитов, а с другой – ингибировать остеокластогенез, увеличивать апоптоз ОК [133, 138, 177, 178, 181]. Эти свойства E, в конечном итоге, и определяют их протективную роль в отношении костной резорбции. Знание механизмов активации ESR и потенцируемых ими эффектов дает возможность поиска новых синтетических лигандов к вышеуказанным рецепторам, которые позволят заменить природные E, достичь высокой эффективности благоприятного воздействия на метаболизм костной ткани и при этом минимизировать частоту и выраженность побочных эффектов [215].

1.5. Роль витамина D в организме человека и метаболизме костной ткани

1.5.1. Метаболизм витамина D и его роль в абсорбции кальция

VD – это группа биологически активных жирорастворимых соединений, включающая более 50 метаболитов, которые образуются под воздействием ультрафиолетового облучения в тканях животных и растений из стероидов [61]. Предположительно, VD продуцировался фитопланктоном, ранней формой жизни на земле, еще 500-750 млн. лет назад для обеспечения защиты различных макромолекул (белки, ДНК, РНК) живых организмов от ультрафиолетового излучения [161]. У млекопитающих VD приобрел функцию гормона с разнообразными биологическими эффектами, из которых одним из основных является его участие в обеспечении Ca процессов костеобразования и развития скелета [163]. С точки зрения эволюции VD считается наиболее древним из известных в настоящее время гормонов, а важное значение для организма человека обусловлено его многочисленными эффектами на различные органы и

ткани посредством регуляции около 2000 генов [300]. В связи с этим дефицит VD является причиной ОП и рахита, относится к факторам, повышающим риск развития сердечно-сосудистых, онкологических и аутоиммунных заболеваний, иммунодефицитных состояний и аллергии, сахарного диабета и метаболического синдрома, а также способствующим саркопении, преждевременному старению и более ранней смерти [10, 25, 160, 300].

История открытия и исследования свойств VD связаны с изучением этиологии, патогенеза рахита, а в последствии и других заболеваний скелета, а также поиском лекарственных средств для предупреждения и лечения патологии костной ткани. Краткое клиническое описание рахита было сделано Daniel Whistler еще в 1645 году, а несколько позже в 1650 году более полную и детальную картину данного заболевания представил Francis Glisson [161]. В то время предполагалось, что рахит развивается как из-за нехватки свежего воздуха и солнечного света, так и особенностей питания. При этом было замечено, что добавление в рацион рыбьего жира или назначение солнечных инсоляций было эффективным для лечения и профилактики заболевания. Как оказалось в дальнейшем, данные эффекты были обусловлены VD.

Понадобилось более 250 лет, прежде чем была расшифрована этиология рахита. Лишь в начале XX века благодаря исследованиям таких ученых как E.Mellanby, E.V.McCollum, K.Huldshinsky, H.Chick, E.A.Park, H.Steenbock, A.F.Hess, O.Rosenheim и ряда других исследователей был открыт VD и определена его решающая роль в патогенезе рахита [120]. Признанием научных заслуг ученых, значимости открытия и итогом проведенных исследований стала Нобелевская премия, которой был удостоен немецкий ученый A.Windaus в 1928 году за изучение стерина, химической структуры и метаболизма VD.

Практическое использование результатов научных исследований обеспечило решение проблемы рахита. Назначение солнечных инсоляций, перорального применения богатого VD рыбьего жира, а в дальнейшем и использование витамина в виде добавок и соответствующих препаратов

позволило наладить массовую профилактику рахита и достичь контроля над заболеванием, минимизировать его проявления.

Основное количество VD в организме человека образуется под влиянием солнечного света [163]. Меньшая его часть поступает с пищевыми продуктами животного и растительного происхождения. В коже витамин D₃ - холекальциферол образуется в результате воздействия ультрафиолетового облучения (длина волны 290–315 нм) из 7-дегидрохолестерина. В растениях же образуется витамин D₂ – эргокальциферол путем преобразования эргостерола. VD (D₂ или D₃) может аккумулироваться в адипоцитах, образуя депо запаса, и высвобождаться по мере необходимости.

Как поступающий с пищей, так и синтезируемый в коже VD приобретает биологическую активность гормона только после ряда превращений (рисунок 1.4), происходящих поэтапно в печени и почках [33, 163, 280, 300]. Первая стадия происходит в печени и заключается в преобразовании VD (D₃ и D₂) с участием фермента 25-гидроксилазы митохондрий (CYP27A1) и микросом (CYP2R1) в прогормональные его формы – 25 (ОН) D: кальцидиол (25-гидроксивитамин D₃, 25(ОН)D₃) и эргокальцидол (25-гидроксивитамин D₂, 25 (ОН) D₂). Кальцидиол и эргокальцидол являются основными циркулирующими формами VD, которые через кровотоки в виде комплекса с витамин D связывающим белком (DBP) или альбумином поступают в почки.

В клетках проксимальных отделов канальцев коры почек из поступивших молекул в результате реакции, катализируемой митохондриальным ферментом семейства цитохрома P⁴⁵⁰ 1-альфа-гидроксилазой (CYP27B1), образуются активные гормональные формы VD – 1,25 (ОН)₂ D: кальцитриол (1,25-дигидровитамин D₃) и эргокальцитриол (1,25-дигидровитамин D₂).

Следует отметить, что интенсивность образования гормональных форм VD зависит от уровней DBP и альбумина. Как было указано выше, именно данные белковые молекулы осуществляют транспорт метаболитов VD в печень и проксимальные отделы канальцев коры почек.

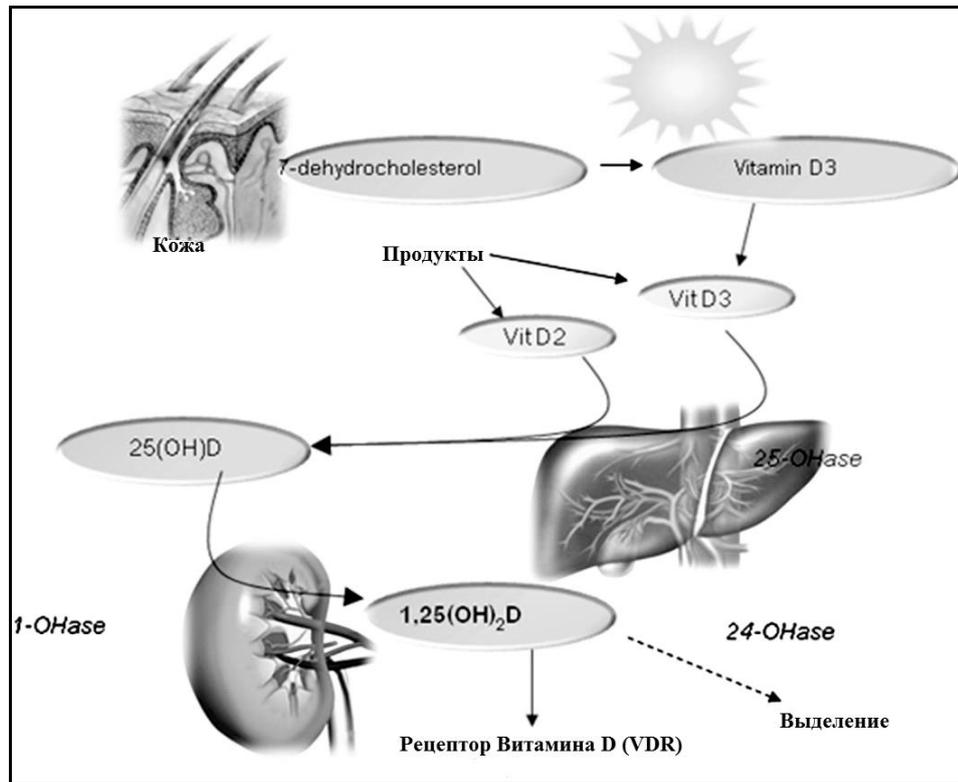


Рисунок 1.4 Схема метаболизма витамина Д (адаптировано по J.Y. Tang и соавт., 2012 [295]). Примечание: 25-OHase – 25-гидроксилаза, 1-OHase – 1-альфа-гидроксилаза, 24-OHase - 24-гидроксилаза

В циркуляции всего лишь 0,2-0,6 % метаболитов VD находятся в свободном состоянии, подавляющая же их часть связана с DBP (около 80-90 %) и альбумином (10-20 %) [26, 88]. Концентрации DBP и альбумина зависят от функции печени, где происходит их синтез, а также от степени их потери в кишечнике и почках. Поэтому при заболеваниях печени, энтеропатиях или нефротическом синдроме, которые сопровождаются снижением уровня транспортных белков, может наблюдаться дефицит гормональных форм VD даже при достаточном поступлении в организм их предшественников.

Производство активных гормональных форм VD в почках строго контролируется. Активность CYP27B1 и, как следствие, интенсивность образования 1,25(OH)₂D, обратно зависят от сывороточных концентраций Ca и фосфора и регулируются рядом факторов [89]. Так, уровень экспрессии CYP27B1 и синтез 1,25(OH)₂D почками стимулируется паратиреоидным гормоном и IGF-I. Кроме того, по типу обратной связи 1,25(OH)₂D регулирует свою собственную

продукцию, а также секрецию паратиреоидного гормона в паращитовидных железах [162].

В последние годы все большее внимание уделяется изучению физиологической роли фактора роста фибробластов (FGF23), который называют костным гормоном, и механизмов взаимодействия компонентов системы VD-FGF23-Klotho в фосфорном обмене, значение которого выходит далеко за пределы метаболизма костной ткани [129]. Это объясняется тем, что фосфаты широко используются организмом в различных физиологических процессах и, играя важную роль в формировании костей, они также участвуют в клеточной сигнализации, энергетическом обмене, синтезе нуклеиновых кислот и поддержании кислотно-щелочного баланса. FGF23 осуществляет контроль почечной экскреции фосфатов путем регуляции активности почечных натрий-зависимых котранспортеров фосфатов NaPi2a и NaPi2c (рисунок 1.5). Klotho – протеин, который экспрессируется преимущественно в дистальных канальцах почек и является обязательным кофактором при стимуляции рецепторов FGF23. Установлено, что кальцитриол обладает способностью усиливать синтез остеоцитами и ОБ фактора роста фибробластов FGF23, а также образование в почечных канальцах белка Klotho. В присутствии Klotho в качестве корцептора, FGF23 угнетает синтез NAPI-2a и NAPI-2c. Это приводит к повышенной экскреции фосфатов почками и снижению их уровней в сыворотке крови. Кроме того, кальцитриол способствует увеличению кишечной абсорбции фосфатов, следствием чего является увеличение их уровней в сыворотке.

По типу обратной связи FGF23, подавляя экспрессию CYP27B1 и увеличивая - CYP24A1 (24-гидроксилаза), соответственно снижает интенсивность синтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ и увеличивает катаболизм VD. Таким образом, FGF23 является фактором, противодействующим нарастанию активности VD. В связи с этим чрезмерное поступление и/или образование VD индуцирует синтез FGF23, который, в свою очередь, снижает уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

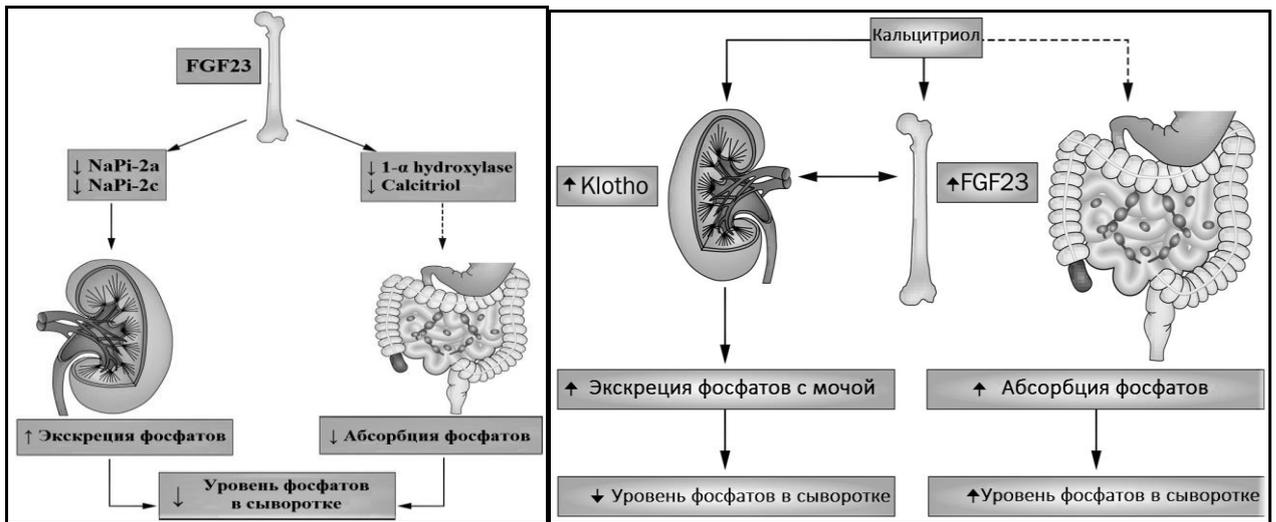


Рисунок 1.5. Система VD-FGF23-Klotho в регуляции фосфорного обмена (адаптировано по M.S. Razzaque, 2009 [245]). Примечание: Klotho – протеин Клото; NaPi2a и NaPi2c - почечные натрий-зависимые котранспортеры фосфатов; ↓ и ↑ - соответственно снижение и увеличение показателя

Помимо основного механизма образования $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ в почечных канальцах к настоящему времени выявлены и другие его источники. Экстраренальное образование $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ возможно в кератиноцитах, макрофагах, Т-лимфоцитах, клетках параситовидной и поджелудочной желез, эпителия слизистой кишечника, клетках костной ткани, которые содержат фермент CYP27B1 [61, 89]. Из вышеуказанных клеток особое внимание обращают на себя ОБ, для которых доказана способность к автономному производству $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Для этого вышеуказанные клетки обладают всеми необходимыми свойствами, имея помимо фермента 1-альфа-гидроксилазы также мегалин и кубилин, которые выполняют роль рецепторов для DBP [170]. Следует отметить, что продукция $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ остеобластами, в отличие от клеток почечных канальцев, в основном регулируется цитокинами, такими как фактор $\text{TNF-}\alpha$, интерферон- γ и $\text{IL-1}\beta$ [89].

Учитывая то, что большую часть (около 80%) VD представляет D3, который образуется в коже под воздействием солнечных лучей, общее содержание в организме человека данного витамина прямо коррелирует с длительностью солнечного воздействия и определяется географической широтой, сезоном года,

временем суток, длительностью пребывания на солнце и т.д. В связи с этим более высокие показатели насыщенности VD выявляются у жителей южных регионов, и достигают максимальных значений в летние месяцы и в дневное время суток [48].

Важно отметить, что для оценки насыщенности VD организма человека наиболее приемлемым, надежным и клинически значимым является определение лабораторными методами сывороточного уровня прогормона 25(OH)D [26, 90]. Из всех метаболитов VD именно 25(OH)D наилучшим образом коррелирует с МПК, уровнем Са в сыворотке крови и интенсивностью секреции паратиреоидного гормона [93]. Кроме того, период полураспада 25(OH)D достаточно длительный и составляет около 15 суток, что также делает его предпочтительным для оценки VD-статуса.

«Золотым стандартом» для определения 25(OH)D считается сочетание высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии - метода, который рекомендуется для использования в референс-лабораториях [90, 280]. Для практических лабораторий более доступным является использование коммерческих тест-систем для радиоиммунного, иммуноферментного или хемилюминесцентного анализа. Следует учитывать, что максимальная точность выполнения исследований достигается с помощью автоматических анализаторов. Так, при проведении сравнительных исследований был установлен высокий процент корреляции ($r=0,95$) между результатами, полученными на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе и данными жидкостной хроматографии - масс-спектрометрии.

К настоящему времени не существует единого мнения об оптимальных концентрациях 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови. Тем не менее, по мнению большинства экспертов констатировать дефицит VD можно при уровне сывороточного 25(OH)D менее 50 нмоль/л (<20 нг/мл), а недостаточность его - при показателях 25(OH)D в пределах от 50 до 75 нмоль/л [48]. Для глубокого дефицита витамина характерны концентрации 25(OH)D менее 25 нмоль/л (<10 нг/мл). Содержание в сыворотке 25(OH)D в пределах 75-150 нмоль/л считается оптимальным. Исходя из вышеуказанных критериев подсчитано, 50 % населения

мира имеют недостаточность, а у 1 миллиарда человек обнаруживается дефицит VD [160]. При этом гиповитаминоз D наблюдается во всех этнических и возрастных группах и наиболее выражен у пожилых людей, в том числе у женщин в постменопаузе.

Эпидемиологические исследования, выполненные в различных регионах Российской Федерации, свидетельствуют о том, что сниженная концентрация VD в крови регистрируется у 50–92% взрослого населения и детей вне зависимости от сезона года [48]. Высокая распространенность дефицита и недостаточности VD обуславливает необходимость в приеме препаратов VD для лечения и профилактики ОП каждой второй женщиной в постменопаузе [162].

Для предупреждения и коррекции гиповитаминоза используют либо добавки VD в пищевые продукты, либо назначение соответствующих лекарственных его форм. Причем, проведенный мета-анализ рандомизированных плацебо-контролируемых исследований показал, что для повышения значений в сыворотке крови 25(OH)D более эффективным ($P=0,001$) является назначение витамина D3 по сравнению с приемом витамина D2 [48, 109]. Поэтому в виде добавок в пищевые продукты предпочтительно использовать витамин D3.

Основная функция 1,25-дигидровитамина D заключается в поддержании нормальных концентраций Ca и фосфата (HPO_4^{-2}) в плазме крови, которые необходимы для адекватной минерализации костной ткани и скелетообразования. Поэтому дефицит VD у детей вызывает замедление роста и классические симптомы рахита, а у взрослых способствует развитию остеопении и ОП.

Более 70 лет назад было установлено, что поступление Ca в организм человека происходит через слизистые кишечника, а интенсивность его поглощения существенно зависит от VD [163]. Данное свойство VD обеспечивается благодаря его способности стимулировать в тонком кишечнике транскрипцию генов, влияющих на абсорбцию Ca [214, 300]. 1,25(OH)₂D усиливает экспрессию гена переходного рецепторного потенциального катионного канала TRPV6 и гена Ca-связывающего белка (calcium-binding protein — CaBP) кальбиндина D_{9k}. Продукты данных генов обеспечивают абсорбцию

ионов Ca^{++} в клетках слизистой кишечника. В связи с этим дефицит VD сопровождается уменьшением показателей экспрессии вышеуказанных генов и, соответственно, существенным снижением (более чем на 75 %) эффективности кишечной абсорбции Ca [146]. Наряду с вышеуказанными механизмами, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ обладает способностью усиливать абсорбцию Ca в кишечнике и через негеномные эффекты (феномен «transcaltachia»), которые развиваются в течение нескольких минут и при этом, по всей видимости, происходят без потенцирования транскрипции генов TRPV6 и кальбиндина D_{9k} [146].

Геномные эффекты VD по отношению к абсорбции Ca реализуется через соответствующие ядерные рецепторы VDR в эпителии кишечника [146]. Подтверждением этому служат результаты наблюдения за VDR-нокаутными мышами [313]. Как показали исследования, отсутствие VDR в эпителии кишечника экспериментальных мышей сочеталось со снижением поступления в организм Ca более чем на 70%. Вследствие этого, у мышей отмечались низкие показатели сывороточного Ca, увеличение уровня паратиреоидного гормона, замедление роста и тяжелый ОП. Восстановление же функции VDR обеспечивало нормализацию вышеуказанных нарушений [313].

Следует подчеркнуть, что экспрессия VDR в эпителии кишечника человека снижается при дефиците E, а также уменьшается с возрастом, что имеет определенное значение в патогенезе постменопаузального ОП [146].

Поступление Ca у женщин в постменопаузе можно корректировать назначением препаратов VD. Так, R.P. Heaney и соавт. [98] показали, что прием препарата VD женщинами постменопаузального периода приводило к повышению сывороточных уровней $25(\text{OH})\text{D}$ от 50,2 до 86,5 нмоль/л и обуславливало увеличение эффективности абсорбции Ca на 65,0 % ($p < 0,001$). В противоположность данным результатам обследование 492 здоровых женщин различного возраста (от 20 до 80 лет) не позволило J.F. Aloia и соавт. [258] выявить аналогичных закономерностей. Несмотря на свое общее заключение, тем не менее, авторы все-таки указали на положительную связь между показателями

1,25(OH)₂D и эффективностью абсорбции Ca при низких концентрациях в сыворотке крови 25(OH)D.

Противоречия в оценке значимости VD для кишечной абсорбции Ca, в том числе у женщин, двумя вышеуказанными коллективами авторов, по всей видимости, можно объяснить различиями в дизайне исследований: по крайней мере, не сопоставимостью по возрасту и состоянию здоровья обследуемых женщин. Кроме того, необходимо учитывать и то, что процессы поступления Ca могут регулироваться не только VD. Известно, что на механизмы кишечного всасывания Ca влияют также такие гормоны как паратгормон, тироксин, трийодтиронин, E, гормон роста, тестостерон, пролактин [146]. Причем, это свойство вышеуказанных гормонов может реализовываться как через усиление синтеза и эффектов 1,25(OH)₂D, в том числе благодаря их способности увеличивать экспрессию гена CYP27B1 или VDR, так и за счет прямого воздействия на механизмы абсорбция Ca. Так, M. Ten Bolscher и соавт. [137] выявили способность E индуцировать абсорбцию Ca, степень которой была сопоставима с фармакологическим эффектом кальцитриола. Причем, как было показано, это свойство E реализуется через рецепторы E в эпителии слизистой кишечника и не зависит от VD. Важные результаты получили M. Van Abel и соавт. [247] для подтверждения прямого действия E на абсорбцию Ca. Они обнаружили, что назначение эстрадиола овариоэктомированным мышам приводило к повышению сывороточных уровней Ca путем увеличения в слизистой кишечника экспрессии TRPV6, кальбиндина-D_{9K} и Ca⁺⁺-АТФ-азы (PMCA1b) без участия VD.

Необходимо учитывать то, что интенсивность синтеза гормональной формы VD и реализация ее эффектов зависят от широкого ряда факторов, к которым относят транспортные белки (DBP, альбумин), ферменты (25-гидроксилаза, 24-гидроксилаза, 1-альфа-гидроксилаза), VDR, FGF23, некоторые гормоны и т.д., нарушения которых могут приводить к проявлениям дефицита VD даже при достаточном его поступлении в организм и/или нормальных его концентрациях в сыворотке крови. Кроме того, метаболиты VD способны влиять на экспрессию

и/или секрецию большого количества факторов, в том числе продуцируемых костными клетками [89]. К их числу относятся IGF-I, его рецептор и связывающие белки, TGF- β , фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), IL-6 и IL-4, рецепторы эндотелина, которые могут оказывать воздействие на костную ткань самостоятельно, а также через регуляцию функции VD.

Поэтому при выяснении причин, патогенетических механизмов развития патологии костной системы, в том числе ОП, целесообразно использовать комплексный подход, который наряду с оценкой VD-статуса предполагает определение и других факторов, влияющих на костный метаболизм как непосредственно, так и опосредованно через участие в метаболизме и механизмах реализации эффектов VD. Особого внимания требуют пациенты с недостаточными уровнями E, женщины в период постменопаузы. Ведь известно, что от E в определенной степени зависит экспрессия VDR, они способны самостоятельно, без участия VD, усилить кишечную абсорбцию Ca, а также повышать активность ОБ и снижать – ОК. В связи с вышеизложенным, дефицит E может сопровождаться снижением абсорбции Ca и нарушениями метаболизма костной ткани даже при нормальных уровнях VD.

1.5.2. Механизмы прямой регуляции витамином D функции костных клеток

Необходимо отметить, что участие VD в костеобразовании не ограничивается только лишь его опосредованным влиянием на формирование костной ткани через стимуляцию абсорбции Ca и фосфора в тонком кишечнике. Основанием для изучения иных механизмов регуляции VD костного ремоделирования послужило установленное около 30 лет назад присутствие как 1,25(OH)₂D, так и VDR в ОБ и остеоцитах [285]. Данный факт позволил сделать предположение о возможном прямом регулирующем действии 1,25(OH)₂D на костные клетки [155]. Высказанная гипотеза нашла подтверждение в сотнях научных исследованиях. Сейчас нет сомнений в том, что VD непосредственно участвует в метаболизме костной ткани, прямо воздействуя через рецепторы VDR

на ее клеточные элементы – хондроциты, ОБ, остециты и ОК [254]. Степень значимости непосредственного воздействия VD на кость по отношению к его способности стимулировать кишечную абсорбцию Ca и фосфора до сих пор остается предметом дискуссий. Однако неоспоримым является тот факт, что механизмы как прямого, так и косвенного участия VD являются важными и необходимыми для полноценной регуляции метаболизма костной ткани, а дефицит одного из них, по крайней мере, отчасти, может компенсироваться другим [89].

Считается, что основной мишенью из клеток костной системы для $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ являются ОБ. С одной стороны, активация VDR ОБ приводит к усилению транскрипции генов-мишеней, которые обеспечивают дифференцировку и функциональную активность вышеуказанных клеток. С другой стороны, образование лиганд-рецепторного комплекса способно вызывать и негеномные, быстрые эффекты в ОБ, что, по всей видимости, обусловлено связыванием $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ с VDR, расположенными вне ядра.

Так, P. Biswas и соавт. [92], изучая механизмы негеномных эффектов VD, показали, что воздействие $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ на ОБ в культуре клеток приводит к быстрому (секунды и минуты) усилению процессов экзоцитоза, увеличению продукции АТФ и протеинкиназы. На основании полученных данных авторы предположили, что данные эффекты, обусловленные, по всей видимости, активацией цитоплазматически расположенных VDR, дополняют геномные эффекты VD в регуляции ОБ и оказывают анаболическое действие на костную ткань.

Большое количество исследований, проведенных в 90-е годы прошлого столетия, продемонстрировали, что VDR оказывают геномные эффекты в форме димера с ретиноидными X рецепторами – RXR. Роль лиганда $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ заключается в изменении конформации гормон-связывающего домена VDR для усиления его связи с RXR [200]. Образующиеся под воздействием $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ комплексы VDR-RXR связываются с определенными участками регуляторных

последовательностей генов-мишеней, вследствие чего происходит активация их транскрипции (рисунок 1.6).

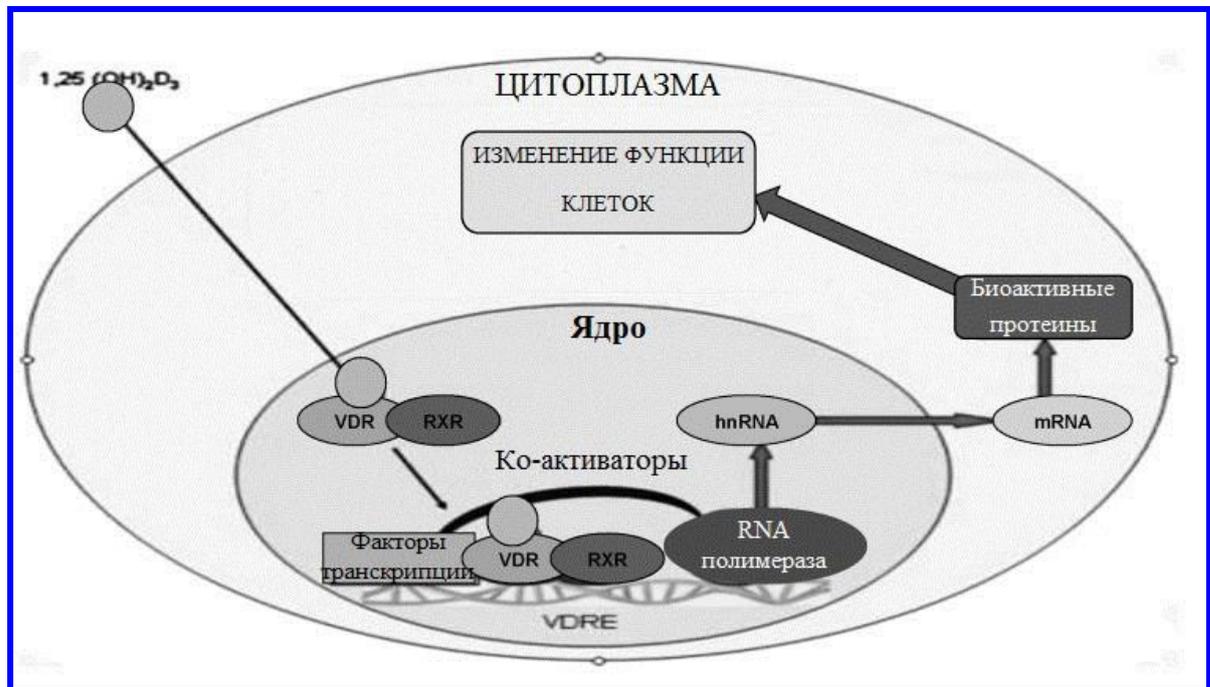


Рисунок 1.6. Схема регуляции витамином D (1,25-дигидровитамин D₃) генов мишеней (адаптировано по В. Min, 2013 [200]). Примечание: RNA – рибонуклеиновая кислота

Данные участки генов, воздействие на которые комплексами VDR-RXR приводят к их позитивной регуляции, получили наименование витамин-D-чувствительных элементов – VDREs [202]. В случае ингибирующего влияния 1,25(OH)₂D на гены мишени, т.е. при негативной генной регуляции, аналогичным участкам нуклеиновых последовательностей дали название негативных витамин-D-чувствительных элементов (nVDREs).

Регуляторные последовательности VDREs обнаружены в огромном количестве генов человека, что обуславливает регулируемую функцию VD в отношении различных типов клеток, в том числе клеток костной ткани [202]. К генам, которые имеют VDREs и транскрипция которых зависит от 1,25(OH)₂D, относят гены паратиреоидного гормона (*PTH*), его рецептора (*PTHrP*) и 1-альфа-гидроксилазы (*CYP27B1*).

VDREs обнаружены в генах остеокальцина (*BGP*), остеопонтинина (*SPP1*) и бета-3-интегрина (*ITGB3*). Поэтому воздействие $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ через VDR в ОБ обеспечивает прямую регуляцию экспрессии вышеуказанных генов. Это, в конечном итоге, приводит к увеличению продукции остеокальцина, остеопонтинина, бета-3-интегрина, коллагена, щелочной фосфатазы, которые отражают функциональную активность ОБ.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ также через стимуляцию в клетках слизистой кишечника генов кальциевого канала TRPV6 (*TRPV6*), кальбиндина-9к (*CaBP*) и клаудина-2 (*CLDN2*) способствует повышению абсорбции Ca в кишечнике. Регуляция $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ генов фактора роста фибробластов (*FGF23*), кальциевого канала TRPV5 (*TRPV5*), белка Klotho (*KLOTHO*) и белка натрий-зависимого транспортера фосфора 2с (*NPT2c*) обеспечивает реабсорбцию Ca и фосфора в почках.

Через VDREs $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ вызывает увеличение активности CYP24A1 в почках. CYP24A1 участвует в образовании кальцитроевой кислоты $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, которая является конечным продуктом метаболизма VD и выделяется с желчью.

По всей видимости, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ участвует и в регуляции канонического Wnt-сигнального пути, оказывая влияние на экспрессию молекул генами *LRP5*, *CASP14*, *S100A8*, *SOSTDC1* и других.

Интересно, что одним из генов-мишеней $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ является сам ген рецептора витамина D (*VDR*), который содержит типичную структуру VDRE. Данный факт был доказан при изучении различных культур клеток, на моделях мышинных ОБ *in vitro* и *in vivo*. Причем, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ обладает способностью не только регулировать экспрессию VDR на генном уровне, но и стабилизировать его, увеличивая период его полураспада.

Следует отметить, что наряду с обеспечением минерализации костной ткани для VD еще более 20 лет назад была выявлена способность усиливать костную резорбцию [265]. Проведенные в то время исследования демонстрировали, что вышеуказанный витамин увеличивает количество и активность ОК. Причем, это

свойство VD, как предполагалось, могло реализовываться двумя путями – или прямым воздействием на ОК, которые имеют VDR, или опосредованно, через стимуляцию функции ОБ. Позднее, в конце 90-х годов, был выявлен, по крайней мере, один из механизмов данного эффекта VD. На моделях *in vitro* было показано, что $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, связываясь с VDR, обладает способностью стимулировать транскрипцию в ОБ гена *TNFSF11*, который кодирует RANKL. Вследствие этого увеличивается продукция молекул RANKL, которые, взаимодействуя с соответствующими рецепторами ОК, потенцируют их созревание и повышают их активность. В результате этого усиливается остеокластогенез и резорбция костной ткани.

Возникло противоречие, которое до сих пор не нашло однозначного объяснения. С одной стороны, не вызывает сомнения благоприятное антирезорбтивное действие VD на метаболизм костной ткани. Это доказано как многочисленными экспериментальными данными, так и безусловно эффективным использованием препаратов VD для профилактики и лечения рахита и ОП. С другой стороны, в культурах тканей VD, наоборот, через индукцию RANKL оказывает резорбтивное действие на костную ткань. Причем уже доказано, что ген *TNFSF11* имеет VDRE, специфичные для молекул $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

По всей видимости, свойство VD через активацию остеокластогенеза увеличивать резорбцию Ca и фосфора из костной ткани является одним из механизмов, возможно резервным, при помощи которого в случае необходимости обеспечивается поддержание оптимальных концентраций вышеуказанных микроэлементов в сыворотке крови. Ведь костная ткань, наряду с кишечником и почками, входит в состав трех основных систем, обеспечивающих постоянство уровней Ca в сыворотке крови [146, 272]. А сохранение уровней Ca в крови и тканевых жидкостях является первоочередной для организма задачей с целью поддержания жизненно важных функций нервной, сердечно-сосудистой и других систем. Обеспечение же минерализации костной ткани при этом отходит на второй план.

Таким образом, к настоящему времени установлена ведущая роль VD в формировании костной системы и определены основные механизмы биологических эффектов VD, направленных на обеспечение костеобразования. Наряду с глубоко изученными свойствами витамина стимулировать абсорбцию Ca и фосфора в кишечнике, все большее внимание уделяется его прямой регуляции процесса формирования костной ткани благодаря непосредственному воздействию на ОБ и ОК. Причем, неоспоримым является тот факт, что механизмы как стимулирования кишечной абсорбции Ca и фосфора, так и непосредственного воздействия VD на клетки кости являются значимыми и взаимодополняющими друг друга в процессе полноценной регуляции метаболизма костной ткани.

1.6. Иммунологические аспекты постменопаузального остеопороза

1.6.1 Иммунные механизмы патогенеза постменопаузального остеопороза

Существенные успехи последних лет в изучении физиологических и патофизиологических закономерностей костного ремоделирования позволили пересмотреть наши представления о механизмах развития постменопаузального ОП и выделить важную роль иммунных факторов в патологии костной ткани. Первое свидетельство влияния иммунной системы на костный метаболизм было получено более 40 лет назад. В 1972 году J.E. Horton и соавт. опубликовали результаты собственных исследований и продемонстрировали, что активированные лейкоциты периферической крови выделяют факторы, которые стимулируют резорбцию костной ткани [243].

Развитие клеточной и молекулярной иммунобиологии в последующем позволило расшифровать клеточные (Т лимфоциты, дендритные клетки и др.) и гуморальные (RANK, RANKL, OPG, TNF, IL-6, IL-17 и др.) иммунные факторы, которые участвуют в костном ремоделировании. Результаты многочисленных экспериментальных и клинических наблюдений свидетельствовали о наличии

взаимосвязей между иммунной системой и костной тканью и доказали существенную роль в патогенезе ОП иммунных механизмов. Как следствие появилась новая область научных знаний – остеоиммунология, изучающая закономерности взаимодействия иммунной и костной систем организма в норме и патологии [243].

Остеоиммунология охватывает все аспекты перекрестной регуляции костной и иммунной систем, включая различные типы клеток, сигнальные пути, цитокины, хемокины как в физиологических, так и в патологических условиях [286]. Причем если раньше остеоиммунология была сфокусирована на эффектах адаптивных и врожденных иммунных реакций на метаболизм костной ткани, то теперь изучает и обратную сторону во взаимодействиях иммунной и костной систем – регуляцию иммунных факторов костными клетками. А дисрегуляция данных взаимоотношений, нарушение баланса в иммунных механизмах лежит в основе патогенеза постменопаузального ОП. И теперь, учитывая ключевую роль в патогенезе потери костной массы иммунных нарушений, ОП называют хроническим иммуноопосредованным заболеванием [158, 219], а вместо термина «Остеопороз» все чаще и обоснованно используют термин «Иммунопороз» [262].

Предположение о взаимосвязи между иммунной и костной системами и участии иммунных факторов в развитии постменопаузального ОП появилось давно. Одним из оснований этому послужило то, что клетки обеих систем тесно взаимодействуют друг с другом при их созревании и дифференцировке. Остеобластогенез, остеокластогенез и образование иммунных клеток (моноциты, макрофаги, лимфоциты) происходят в костном мозге, который является центральным органом иммунной системы и находится в тесном окружении костных структур. В силу своей анатомии и васкуляризации кость, обрамляя костный мозг, является «хозяином» гемапоэза и «позволяет» костным и иммунным клеткам контактировать и влиять друг на друга на местном уровне [59, 157].

Кроме того, важно подчеркнуть, что ОК имеют моноцитарно-макрофагальное происхождение (рисунок 1.7) и представляют собой

специализированные клетки иммунной системы в костной ткани, обладающие высокой фагоцитарной активностью [198, 217, 315]. В связи с этим функция их определенным образом зависит от других иммунных факторов и подчиняется физиологическим закономерностям иммунной реактивности. В регуляции остеокластогенеза и активации иммунной системы участвуют одни и те же цитокины (IL-1, IL-6, TNF и др.), а также общие для клеток обеих систем рецепторы, факторы транскрипции и сигнальные пути [217, 269].

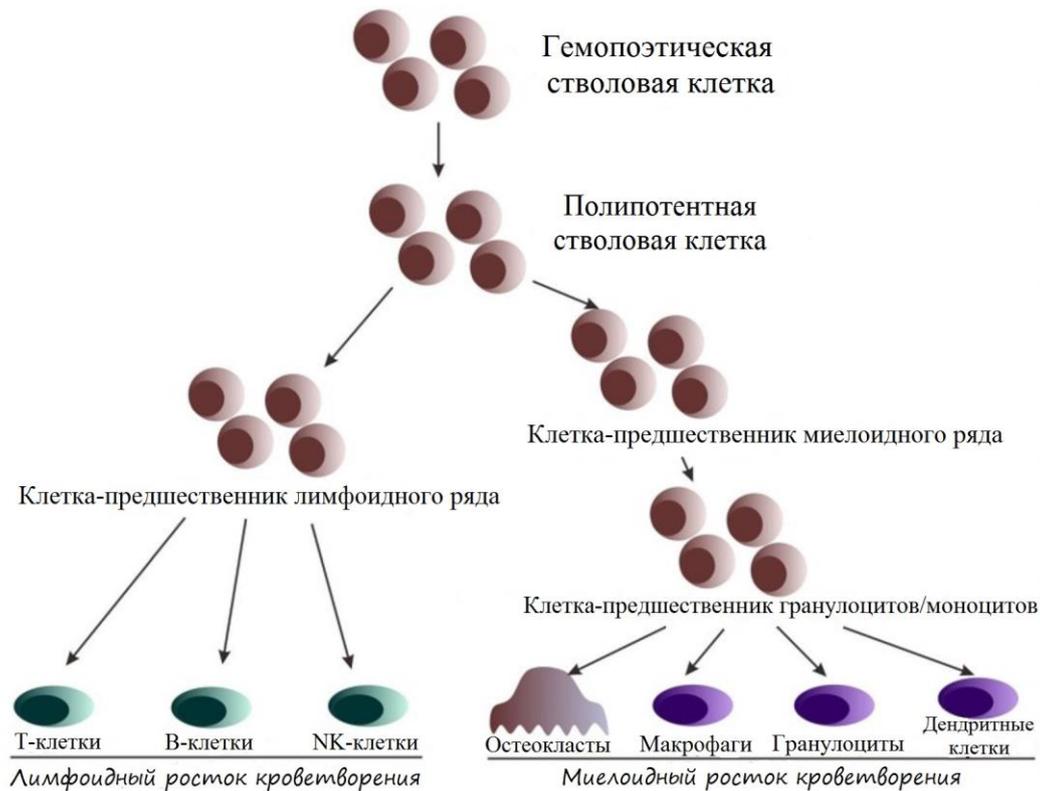


Рисунок 1.7 Схема дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток (адаптировано по R. Zhao, 2012 [315]). Примечание: Т- и В-клетка – соответственно Т- и В-лимфоциты, NK-клетки – натуральные киллерные клетки

Как выяснилось в последние годы, помимо обеспечения резорбции костной ткани, ОК также воздействуют на дифференцировку предшественников ОБ, регулируют транспортировку гемопоэтических стволовых клеток из костного мозга в кровь, принимают участие в иммунном ответе и секретируют цитокины, которые влияют на их собственные функции и функции других клеток в

иммунных и воспалительных реакциях [59]. ОБ также участвуют в регуляции кроветворения, образования клеток иммунной системы, благодаря способности продуцировать гранулоцитарный, макрофагальный и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы (G-CSF, M-CSF и GM-CSF соответственно), фактор стволовых клеток (SCF), IL-1, IL-6 и другие цитокины [59].

Исходя из вышеизложенного, становится очевидным, что ОК, как и другие клетки моноцитарно-макрофагального происхождения, а также ОБ должны быть участниками воспалительного процесса, в том числе являться клетками мишенями для воздействия как провоспалительных, так противовоспалительных цитокинов. И в доказательство этому можно привести выявленные ассоциации между развитием ОП и наличием хронических воспалительных заболеваний (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, целиакия, болезнь Крона и др.), которые характеризуются повышенной продукцией провоспалительных цитокинов [123, 251].

Помимо всего прочего, подтверждением общности двух систем организма, иммунной и костной, служит и то, что бисфосфонаты, используемые для лечения ОП, оказывают стимулирующее действие на иммунную систему, а деносуаб (анти-RANKL моноклональные антитела), ингибируют не только костную резорбцию, но и иммунный ответ [91, 112].

Скелет представляет собой сложный орган, который обеспечивает движение, поддержку и защиту внутренних органов организма, в том числе костный мозг, контролирует минеральный гомеостаз, в первую очередь являясь резервуаром Са [198]. Кость постоянно находится в состоянии непрерывного обновления (ремоделирования), которое сбалансировано процессами ее образования и резорбции и достигается с помощью согласованного синергизма между тремя основными типами костных клеток – остеоцитами, ОБ и ОК. Изменение функции этих клеток приводит к нарушению ремоделирования костной ткани и обуславливает либо развитие ОП (снижение активности ОБ или

увеличение активности ОК), либо увеличение костной массы (увеличение активности ОБ или снижение активности ОК).

Процесс ремоделирования кости требует постоянного и эффективного взаимодействия остеоцитов, ОБ и ОК для эффективной регуляции остеобластогенеза, остеокластогенеза и ангиогенеза [225]. Среди широкого ряда молекул, которые выделяются ОБ и регулируют остеокластогенез, можно выделить RANKL, OPG, M-CSF, SEMA3A (семафорин 3A), белки Wnt-сигнального пути Wnt5A и Wnt16. Кроме того, ОБ продуцируют фактор роста эндотелия сосудов VEGFA, который стимулирует остеобластогенез и ангиогенез. Остеоциты являются источником SOST, который ингибирует дифференцировку ОБ и способствует дифференцировке ОК. ОК секретируют BMP6, CTNRC1 (collagen triple helix repeat containing 1), EFNB2 (ephrin-B2 protein), S1P (сфингозин-1-фосфат), Wnt10B (белок Wnt-сигнального пути), SEMA4D (семафорин 4D) и CT-1 (кардиотропин-1), которые действуют на ОБ и остеоциты и тем самым влияют на остеогенез.

Таким образом, к настоящему времени определен широкий спектр средств передачи информации, путей взаимодействия между клетками костной ткани, а также сигнальных путей, участвующих в обеспечении функциональной кооперации ОБ и ОК. Выделяют три основные сигнальные пути, играющие важную роль в регуляции созревания, дифференцировки и активности костных клеток – сигнализация ядерного фактора κ B (NF- κ B), Wnt- и BMP-сигнальные пути [223].

Wnt-сигнальный путь – один из важнейших молекулярных сигнальных путей, который регулирует эмбриональное развитие и дифференцировку клеток. Многочисленными исследованиями доказана роль канонического Wnt-сигнального пути и в остеогенезе: увеличение Wnt-сигнализации сопровождается повышением интенсивности костеобразования, тогда как уменьшение приводит к снижению костной массы и нарушениям скелета [96].

BMP-сигнальный путь реализуется через костные морфогенетические белки BMPs, которые относятся к группе факторов роста, суперсемейству TGF- β . BMPs

ответственны за многочисленные клеточные регуляторные процессы, включая регуляцию клеточных элементов костей. Сигнальная трансдукция инициируется путем взаимодействия BMP-лиганда с соответствующими рецепторами (BMPRs), следствием чего является усиление дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток. Поэтому активация BMP-сигнального пути с участием BMPs (BMP-2, BMP-4, BMP-7 и др.) обычно сопровождается повышением интенсивности остеобластогенеза и формирования костей [223].

Несмотря на важную роль Wnt- и BMP- сигнальных путей в костном ремоделировании, тем не менее, решающую роль в обеспечении баланса между процессами формирования и резорбции кости играет NF-κB-сигнализация. Активация NF-κB-сигнального пути инициируется рядом провоспалительных цитокинов [227]. В частности, выделяют TNF-зависимую активацию NF-κB-сигнального пути и, конечно же, RANKL-зависимую [212]. Молекулы RANKL являются компонентом системы RANK/RANKL/OPG, которая является ключевой в активации NF-κB-сигнального пути и регуляции остеокластогенеза, а ее нарушения являются ведущими в патогенезе постменопаузального ОП.

Научные исследования последних лет демонстрируют центральную роль в регуляции дифференцировки и активации ОК двух цитокинов [226, 227]. Для образования зрелых ОК обязательным (рисунок 1.8) является воздействие на их предшественники M-CSF и RANKL. Источником M-CSF и RANKL являются главным образом зрелые ОБ и остециты, в меньшей степени – предшественники ОБ, мезенхимальные стромальные клетки, Т лимфоциты [182]. В связи с этим в норме именно ОБ и остециты играют решающую роль в регуляции дифференцировки предшественников ОК и в обеспечении контроля активности уже зрелых ОК. M-CSF, связываясь с C-fms (специфический рецептор для M-CSF) на предшественниках ОК, обуславливает передачу сигнала через MAP-киназы и ERKs. Это является обязательным условием для ранней стадии дифференцировки вышеуказанных клеток. Кроме того, что M-CSF является эффективным стимулятором экспрессии рецептора RANK и пролиферации ОК, он также регулирует апоптоз, повышая жизнеспособность данных клеток.

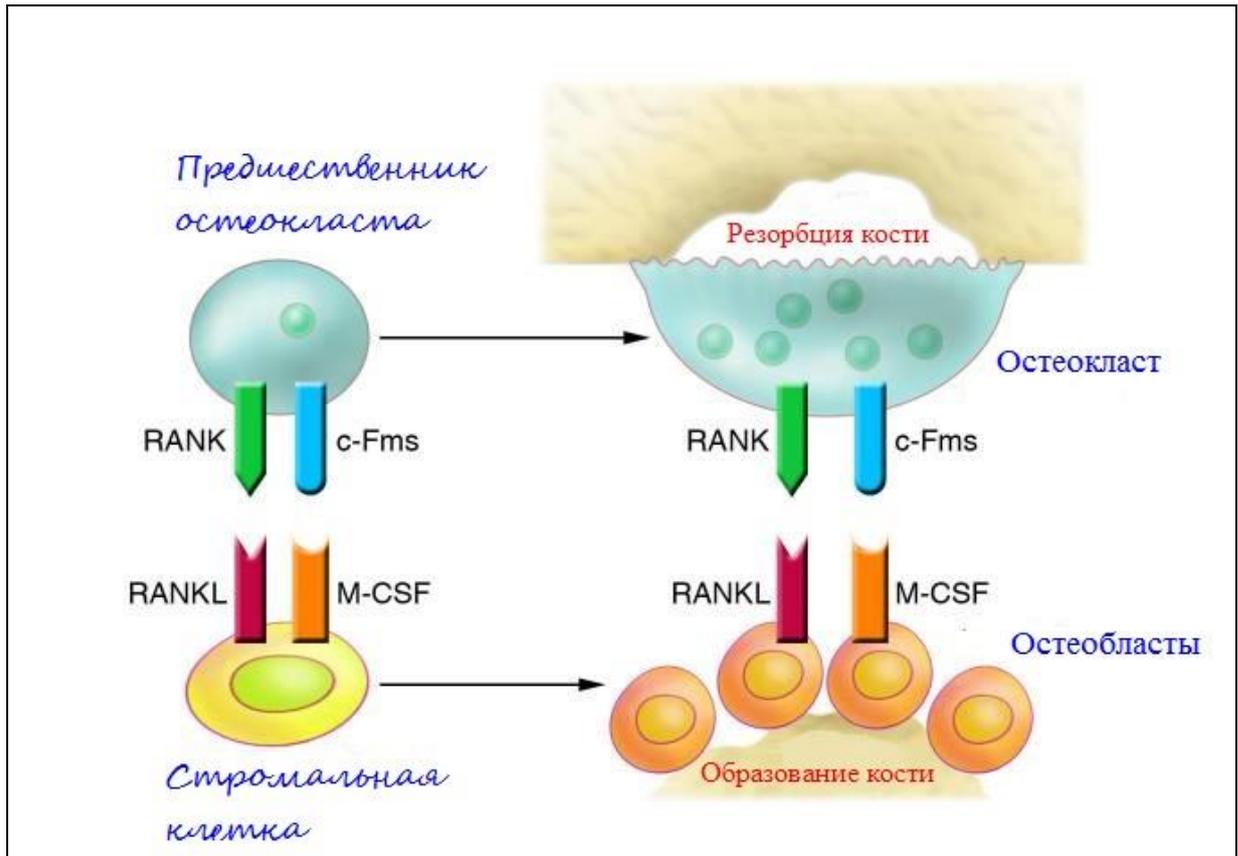


Рисунок 1.8 Основные клетки и цитокины, ответственные за дифференцировку и регуляцию активности остеокластов в физиологических условиях (адаптировано по M.N. Weitzmann и соавт., 2006 [303])

RANKL также связывается с соответствующим рецептором (RANK) на предшественниках или зрелых ОК (рисунок 1.8, рисунок 1.9). Воздействие образуемого при этом комплекса RANKL-RANK на клетки осуществляется через ряд факторов транскрипции с участием TRAF6 (фактора 6, ассоциированного с рецептором TNF, TNF receptor-associated factor 6), NF- κ B, c-Fos, фосфолипазы C γ (PLC γ), транскрипционного фактора NFATc1 (ядерный фактор активированных T-клеток c1). В конечном итоге образование комплекса RANKL-RANK приводит к повышенной экспрессии генов TRAP, катепсина K и других генов, необходимых для образования активных ОК и обеспечения их функции.

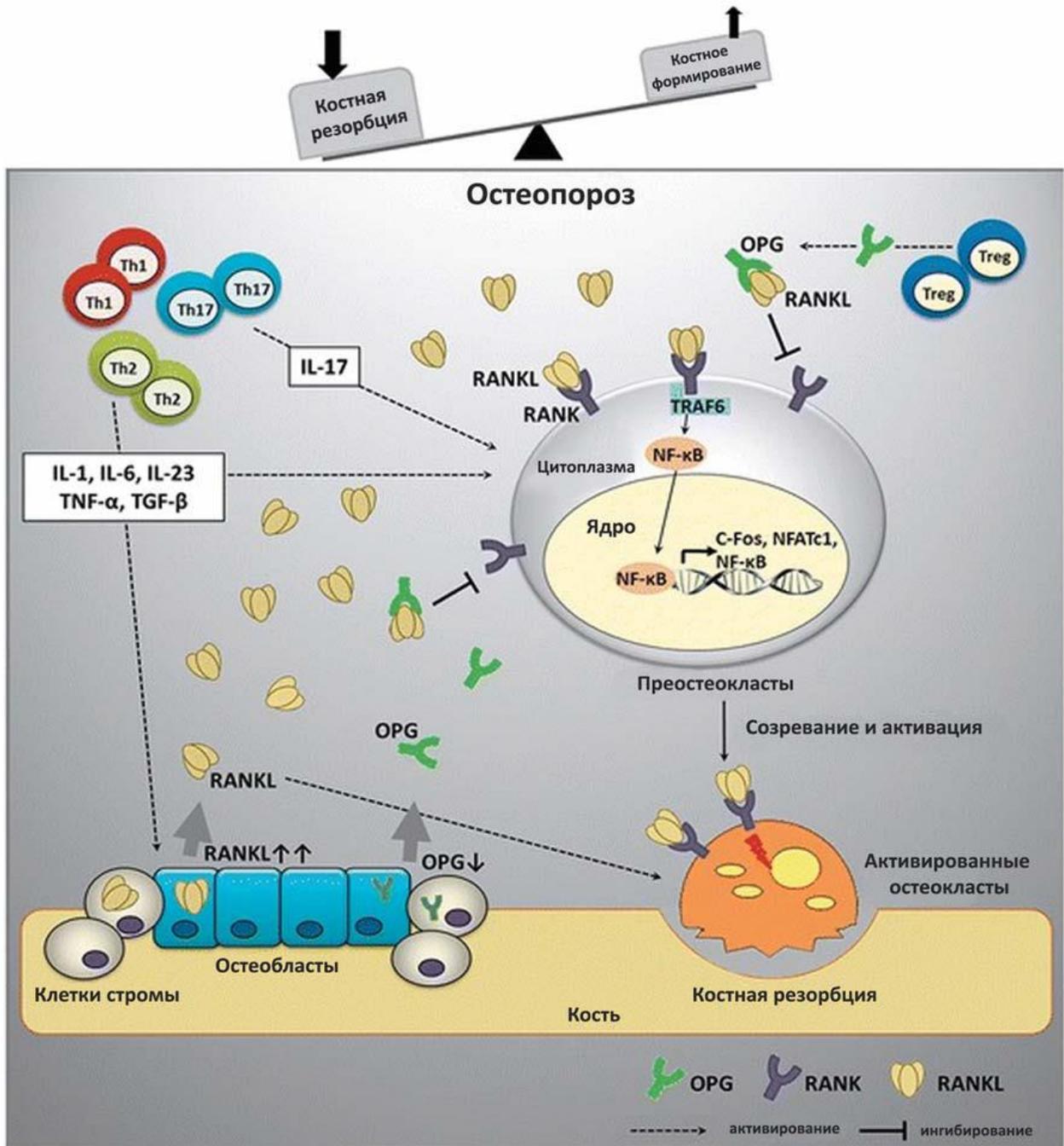


Рисунок 1.9 Роль системы RANKL/RANK/OPG в регуляции костного ремоделирования и развитии ОП (адаптировано по J. Phetfong и соавт., 2016 [223])

Важным третьим компонентом цитокиновой системы RANKL/RANK/OPG является остеопротегерин, который также относится к цитокинам суперсемейства TNF. В физиологических условиях основными продуцентами OPG, также как и RANKL, являются ОБ и стромальные клетки, в меньшей степени – Т лимфоциты. OPG обеспечивает протективную роль в отношении резорбции костной ткани и активации ОК, являясь растворимым «рецептором-ловушкой» для RANKL

(рисунок 1.9). В итоге, степень активации ОК определяется количественным соотношением продукции молекул RANKL и OPG. В отсутствие патологии соотношение OPG/RANKL находится в определенном равновесии. При ОП соотношение нарушается в сторону превалирования уровней RANKL. Этому способствует, в том числе, и повышенная при заболевании продукция Т лимфоцитами провоспалительных цитокинов TNF, IL-1, IL-6, IL-17, TGF- β и др., которые усиливают экспрессию RANKL [208].

Следует отметить, что система RANKL/RANK/OPG играет важную роль в физиологических процессах и в других тканях организма человека. Экспрессия молекул RANKL и/или RANK обнаружена не только в костных клетках, но и клетках центральной нервной системы, головного мозга, молочной железы, сердца, почек, скелетных мышц, а также в тканях ряда опухолей [208, 301].

Доказано, что система RANKL/RANK/OPG участвует и в развитии гуморальных и клеточных эффекторных механизмов врожденного и адаптивного иммунитета [220]. Важно отметить, что RANKL был открыт в 1990-х годах одновременно несколькими группами ученых, в том числе иммунологами, которые осуществляли поиск новых лигандов активированных Т-клеток [282]. Собственно, RANKL был первоначально идентифицирован как цитокин, продуцируемый Т-клетками и обеспечивающий регуляцию Т-клеточного иммунного ответа, взаимодействие Т-лимфоцитов с дендритными клетками [225].

Сейчас уже известно, что система RANKL/RANK/OPG играет важную роль в развитии иммунных органов человека, в том числе лимфатических узлов и тимуса. В связи с этим именно в этих органах иммунной системы обнаруживаются наиболее высокие показатели экспрессии RANKL [220]. С точки зрения оценки значимости иммунных факторов в патогенезе ОП, в том числе постменопаузального, следует обратить внимание на то, что наряду с клетками остеобластной линии источниками RANKL являются также и лейкоциты (Т- и В-лимфоциты, моноциты, макрофаги и др.). Причем в физиологических условиях роль лейкоцитов в активации остеокластогенеза и стимуляции резорбции кости незначительна [114]. В значительной степени регуляция ремоделирования

костной ткани в норме ограничивается системой «Остеоцит-ОБ-ОК» (рисунок 1.10).

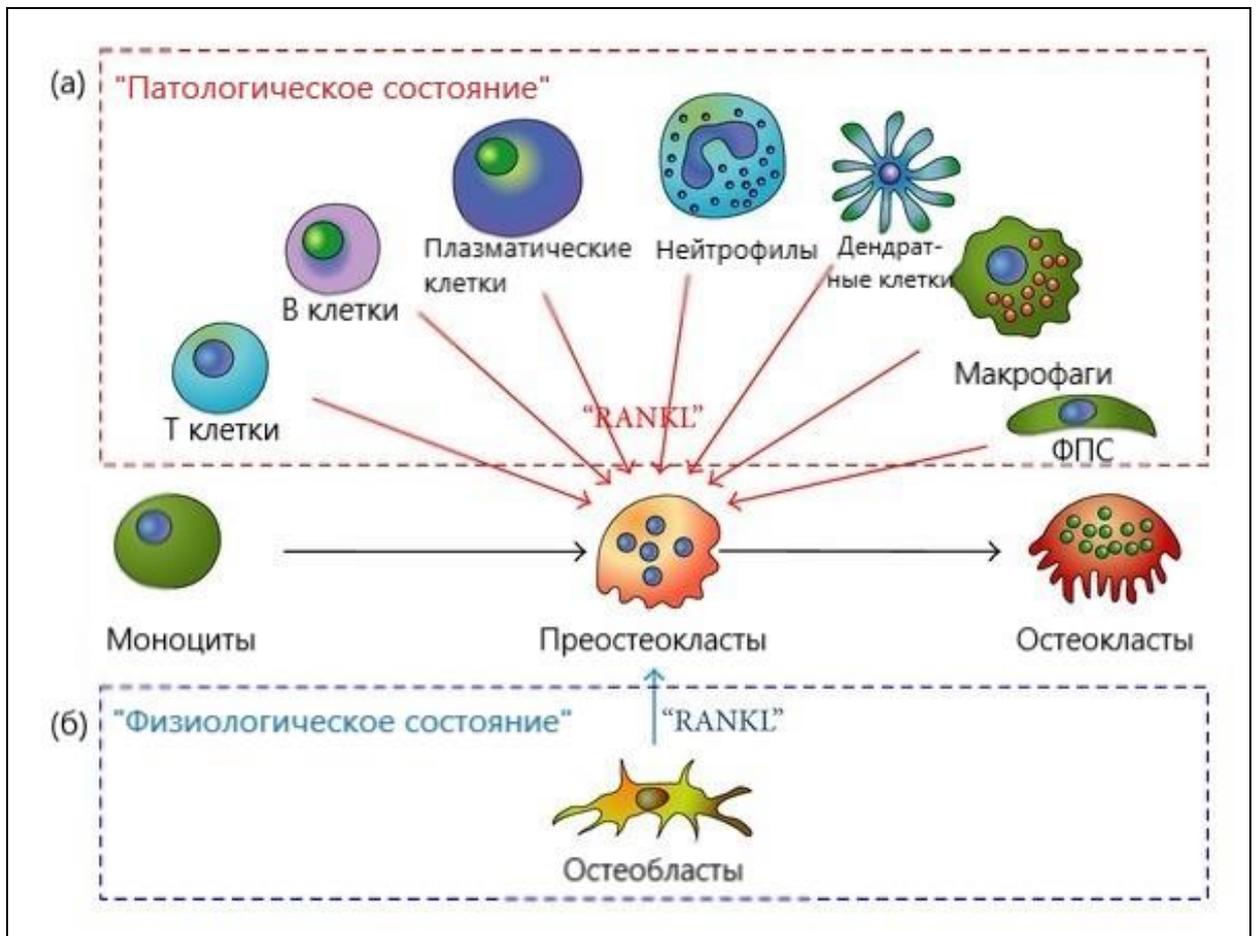


Рисунок 1.10 Источники RANKL для регуляции остеокластогенеза в норме и патологии (адаптировано по S.M. Jung и соавт., 2014 [114]). Примечание: ФПС – фибробластоподобные синовиоциты

Изменение же иммунной реактивности, что может быть обусловлено дефицитом E, VD, воспалительными заболеваниями и т.д., сопровождается активацией различных типов иммунокомпетентных клеток и увеличением продукции ими RANKL. Вследствие этого потенцируется образование зрелых ОК и повышается их активность.

Кроме того, активация иммунных клеток, которая может быть обусловлена недостаточностью E, приводит к увеличению продукции не только RANKL, но и других провоспалительных цитокинов [221, 278]. И это представляется даже

более важным в патогенезе постменопаузального ОП. Именно провоспалительным цитокинам (IL-1, IL-6, IL-7, IL-17, TNF и др.) отводят роль основных медиаторов ускоренной потери костной массы у женщин в постменопаузе. Еще в 1980-х годах было показано, что дифференцировка и активность ОК регулируется с помощью различных цитокинов. Результаты многочисленных научных работ, проведенных в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, в том числе на моделях животных, доказали, что IL-1, IL-6, IL-7, IL-17, TNF, M-CSF и ряд других цитокинов Т-лимфоцитов, натуральных киллерных клеток, моноцитов/макрофагов способны усиливать остеокластогенез и потенцировать резорбцию костной ткани. Основные цитокины, участвующие в ремоделировании кости, и их эффекты представлены ниже [114, 158, 262]:

1) IL-1. Прорезорбтивный эффект: стимулирует созревание остеокластов RANKL-независимым путем посредством стимуляции экспрессии транскрипционного фактора TRAF6, NF-κB-сигнального пути; в синергизме с RANKL усиливает дифференцировку ОК; увеличивает секрецию RANKL стромальными клетками; опосредует вызванный TNF-α остеокластогенез; увеличивает экспрессию прорезорбтивного простагландина E2 и RANKL остеобластами; является важным медиатором постменопаузального ОП.

2) IL-4. Антирезорбтивный эффект: ингибирует RANKL-зависимый и TNF-α-зависимый остеокластогенез; ингибирует эффект IL-1 и экспрессию c-Fos и NFATc1 (ядерный фактор активированных Т-клеток c1); снижает экспрессию RANKL; стимулирует образование OPG. Прорезорбтивный эффект: индуцирует экспрессию TNF-α макрофагами посредством IL-6; увеличивает синтез ИЛ-1.

3) IL-6. Прорезорбтивный эффект: стимулирует выработку RANKL стромальными клетками; индуцирует RANKL-зависимый остеокластогенез; обладает синергизмом при совместном действии с IL-1, TNF-α и простагландинами в остеокластогенезе; ингибирует дифференцировку ОБ; индуцирует генерализованное воспаление; является важным медиатором постменопаузального ОП. Антирезорбтивный эффект: подавляет

дифференцировку ранних клеток-предшественников ОК; подавляет канал сигнализации RANK; уменьшает образование ОК; индуцирует образование OPG.

4) IL-7. Прорезорбтивный эффект: стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов; активирует Т и В-клетки; усиливает продукцию RANKL и других остеокластогенных цитокинов Т-клетками; обладает синергизмом при совместном действии с IL-1, TNF- α и IFN- γ (интерферон- γ) в остеокластогенезе. Антирезорбтивный эффект: угнетает остеокластогенез прямым действием на ОК.

5) IL-8. Прорезорбтивный эффект: увеличивает продукцию RANKL. Антирезорбтивный эффект: увеличивает образование оксида азота.

6) IL-10. Антирезорбтивный эффект: увеличивает образование оксида азота; усиливает выработку OPG; ингибирует экспрессию RANKL; ингибирует NF- κ B-сигнальный путь; стимулирует противовоспалительную дифференцировку клеток Th1; ингибирует выработку провоспалительных и проosteокластогенных цитокинов. Прорезорбтивный эффект: увеличивает экспрессию TNF- α в синергизме с IL-4.

7) IL-11. Прорезорбтивный эффект: увеличивает соотношение RANKL/OPG. Антирезорбтивный эффект: действует как антагонист IL-6.

8) IL-12. Прорезорбтивный эффект: индуцирует выработку цитокинов клетками Th1, ИЛ-1. Антирезорбтивный эффект: подавляет индуцированный Т-клетками остеокластогенез; обладает прямым ингибирующим действием на ОК; обладает синергизмом при совместном действии с IFN- γ и IL-18.

9) IL-13. Прорезорбтивный эффект: ингибирует активность ОБ и минерализацию кости. Антирезорбтивный эффект: подавляет активность ОК.

10) IL-15. Прорезорбтивный эффект: усиливает дифференцировку ОК; обладает синергизмом при совместном действии с TNF- α .

11) IL-17. Прорезорбтивный эффект: повышает продукцию RANKL остеобластами, синовиальными клетками и фибробластами; повышает чувствительность к RANKL; усиливает синтез матриксных металлопротеиназ – MMP; индуцирует экспрессию провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1, IL-6,

IL8 и др.; усиливает остеокластогенез через стимуляцию продукции простагландина E2 остеобластами; обладает синергизмом при совместном действии с TNF- α , IL-1 и простагландинами в остеокластогенезе; является важным медиатором постменопаузального ОП. Антирезорбтивный эффект: подавляет образование ОК при высоких концентрациях; ингибирует остеокластогенез путем индукции GM-CSF.

12) IL-18. Антирезорбтивный эффект: повышает продукцию OPG стромальными клетками, GM-CSF и IFN- γ Т клетками; ингибирует RANKL/RANK-сигнализацию.

13) IL-23. Прорезорбтивный эффект: увеличивает пул предшественников ОК; увеличивает популяцию клеток Th17; стимулирует продукцию IL-17 и RANKL; активирует ОК при воспалительных процессах. Антирезорбтивный эффект: ингибирует созревание предшественников ОК и активность ОК в физиологических условиях; обладает синергизмом при совместном действии с IL-18 в ингибировании остеокластогенеза.

14) IL-27. Антирезорбтивный эффект: блокирует NF- κ B-сигнальный путь – RANK-зависимый остеокластогенез; ингибирует образование ОК.

15) IL-31. Прорезорбтивный эффект: стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-8, хемокинов и матриксных металлопротеиназ MMP.

16) IL-32. Прорезорбтивный эффект: стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов; индуцирует дифференцировку предшественников ОК. Антирезорбтивный эффект: ингибирует созревание ОК.

17) IL-33. Прорезорбтивный эффект: стимулирует экспрессию TNF- α ; обладает синергизмом при совместном действии с IL-6 в усилении резорбции кости. Антирезорбтивный эффект: обладает синергизмом при совместном действии с IL-4 в ингибировании активности предшественников ОК и ОК.

18) TNF- α . Прорезорбтивный эффект: стимулирует продукцию RANKL, M-CSF и c-Fms в ОК; независимо от RANKL или в синергизме с RANKL усиливает дифференцировку ОК; активирует в ОК транскрипционные факторы TRAF2, NF- κ B; ингибирует апоптоз ОК; ингибирует созревание предшественников ОБ и

активность ОБ; индуцирует апоптоз ОБ; ингибирует Wnt-сигнальный путь; подавляет активность генов щелочной фосфатазы, рецептора VD, рецептора паратгормона, участвующих в формировании костей; является важным медиатором постменопаузального ОП.

19) TGF- β . Прорезорбтивный эффект: стимулирует RANKL-зависимый остеокластогенез. Антирезорбтивный эффект: подавляет процесс активации Т-клеток; подавляет эффекты провоспалительных цитокинов; стимулирует апоптоз ОК; стимулирует дифференцировку и миграцию предшественников ОБ; потенцирует продукцию остеобластами OPG.

20) INF- γ (интерферон- γ). Прорезорбтивный эффект: стимулирует экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса на антиген-представляющих клетках; усиливает презентацию антигена и активирует Т-клетки; повышает продукцию остеокластогенных цитокинов. Антирезорбтивный эффект: снижает продукцию катепсина К остеокластами; подавляет остеокластогенез, опосредованный молекулами 1,25(OH) $_2$ D $_3$, паратиреоидным гормоном и IL-1; действует как антагонист TNF- α .

21) M-CSF. Прорезорбтивный эффект: регулирует экспрессию RANK на предшественниках ОК; стимулирует дифференцировку клеток моноцитарно-макрофагальной линии; увеличивает пул предшественников ОК; в синергизме с RANKL участвует в образовании зрелых ОК.

Важно отметить, что вышеуказанные провоспалительные цитокины в силу своих биологических свойств могут как напрямую оказывать потенцирующее воздействие на остеокластогенез, в том числе RANKL-независимым путем, так и опосредованно – путем индукции синтеза друг друга, а также потенцируя экспрессию RANKL. Причем, наиболее мощные резорбтивные эффекты (усиление дифференцировки ОК, развитие остеопоротических изменений и т.д.), характерны для TNF- α , IL-1, IL-6 и IL-17. В связи с этим указанные цитокины получили название проостеокластогенных и были отнесены к наиболее значимым медиаторам постменопаузального ОП, обусловленного снижением продукции E.

Следует отметить, что среди клеток иммунной системы именно Т-лимфоциты являются ключевыми факторами в регуляции ремоделирования кости [158, 262]. Снижение продукции Е у женщин в постменопаузальном периоде сопровождается активацией вышеуказанных клеток и ростом секреции ими как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Конечный эффект Т лимфоцитов на костную ткань зависит от количественных и функциональных соотношений различных их популяций, фенотипов ($CD4^+$ или $CD8^+$, Th1, Th2, Treg или Th17 и т.д.) и, конечно же, от интенсивности продукции ими тех или иных цитокинов (рисунок 1.11).

Таким образом, результаты проведенных в последние годы исследований существенно расширили наши представления о патогенезе постменопаузального ОП. На данный момент на клеточном и молекулярном уровне доказана важная, а может быть даже и ключевая роль иммунных факторов в развитии остеопоротических нарушений костной ткани, в том числе при дефиците Е. С одной стороны, накопленные к настоящему времени данные имеют важную научную ценность и свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в области остеоиммунологии для более глубокого изучения механизмов регуляции костного ремоделирования иммунными факторами. С другой стороны, уже сейчас есть научно обоснованные предпосылки для использования результатов научных изысканий с целью разработки новых подходов в профилактике и терапии, в том числе исходя из того, что ОП у женщин в постменопаузе является хроническим воспалительным заболеванием.

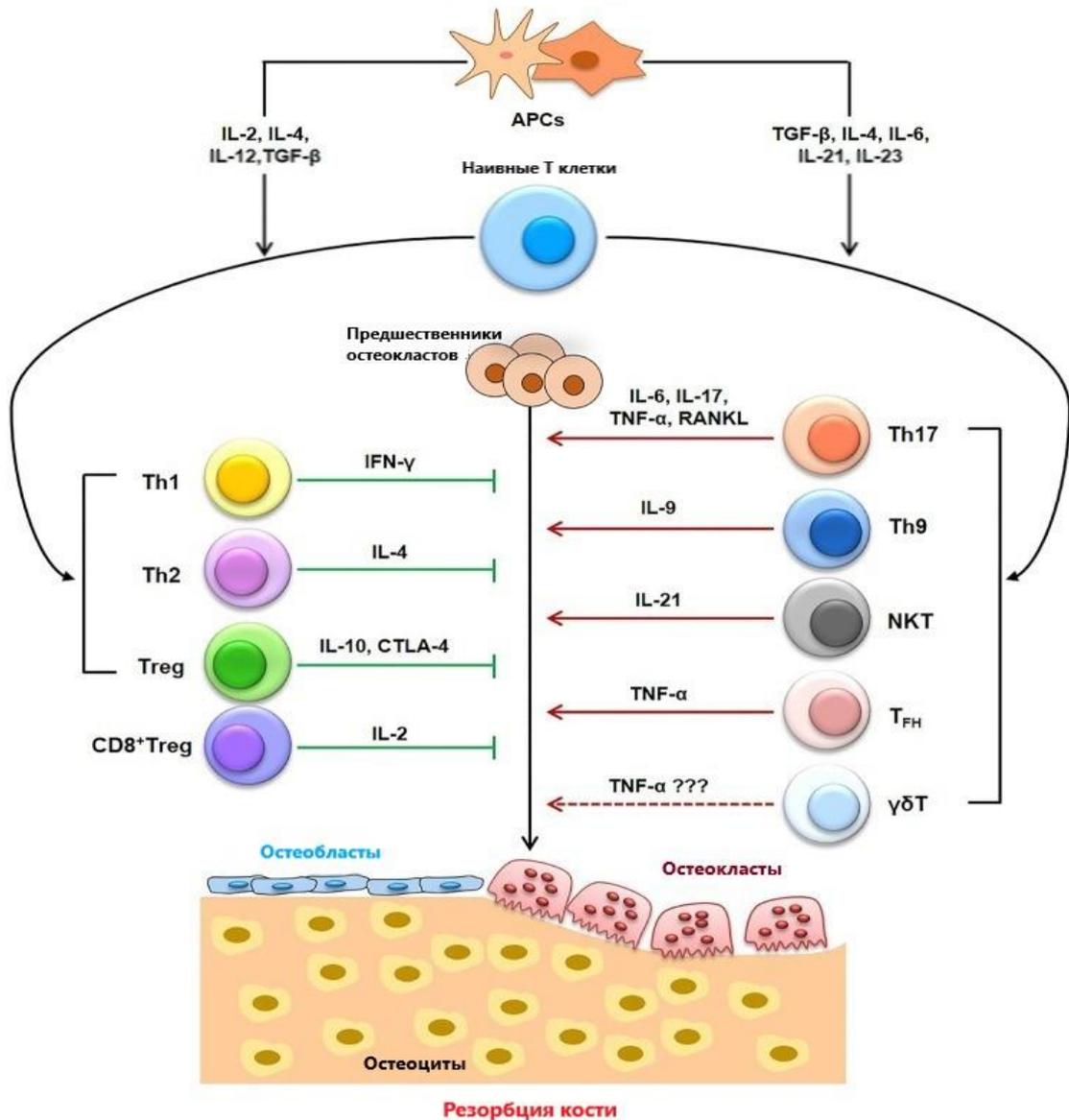


Рисунок 1.11 Роль Т лимфоцитов и их цитокинов в регуляции остеокластогенеза (адаптировано по R.K. Srivastava и соавт., 2018 [262]). Примечание: APCs – антиген-представляющие клетки; CTLA-4 – ассоциированный с цитотоксическими Т лимфоцитами протеин 4

1.6.2. Роль эстрогенов в регуляции иммунных факторов, участвующих в патогенезе постменопаузального остеопороза

Успехи в области остеоиммунологии, полученные благодаря многочисленным экспериментам *in vitro* и на моделях у животных, а также при обследовании женщин в постменопаузе убедительно доказывают, что патогенез

постменопаузального ОП, основной причиной которого является дефицит Е, представляет собой изменения сложных механизмов во взаимодействиях в системе «Эстрогены – Иммунная система – Кость», а не только и не столько ослабление непосредственного защитного эффекта Е на костные клетки [315]. Открытие важной регуляторной функции Е на клетки иммунной системы, особенно Т лимфоциты, выходит далеко за пределы классических иммунных реакций и распространяется также и на процессы ремоделирования костной ткани.

Одной из предпосылок для изучения роли Е в регуляции иммунной реактивности явилось обнаружение экспрессии иммунокомпетентными клетками и их предшественниками рецепторов ESR1 и ESR2 (табл.1.1).

Таблица 1.1

Экспрессия рецепторов ESR1(ER α) и ESR2 (ER β) иммунокомпетентными клетками [180]

Тип иммунокомпетентной клетки	Экспрессия рецепторов эстрогенов	
	ESR1(ER α)	ESR2 (ER β)
Гемопоэтические стволовые клетки	+	+
В лимфоциты	+++	+++
CD4 ⁺ Т лимфоциты	++	++
CD8 ⁺ Т лимфоциты	++	++
Натуральные киллерные клетки	++	++
Моноциты	+	+
Миелоцитарные дендритные клетки	++	+
Плазмоцитарные дендритные клетки	++	+++

Примечание: +, ++, +++ - степень экспрессии рецепторов

С различной степенью выраженности оба специфических для Е рецептора присутствуют в гемопоэтических стволовых клетках, зрелых В и Т (CD4⁺ и CD8⁺)

лимфоцитах, натуральных киллерных клетках, моноцитах и дендритных клетках [6, 94, 130].

Иммунорегуляторная роль Е, в том числе при ОП, была подтверждена еще в 1980-х годах прошлого столетия [145]. Выполненные исследования показали, что Е подавляет экспрессию проостеокластогенных цитокинов (IL-1, TNF и IL-6) клетками моноцитарно-макрофагального происхождения и тем самым осуществляют свой защитный эффект в отношении развития ОП (рисунок 1.12). Несколько позже аналогичный эффект Е, характеризующийся ингибцией проостеокластогенных цитокинов, был установлен и по отношению к ОБ и мезенхимальным стромальным клеткам [268].

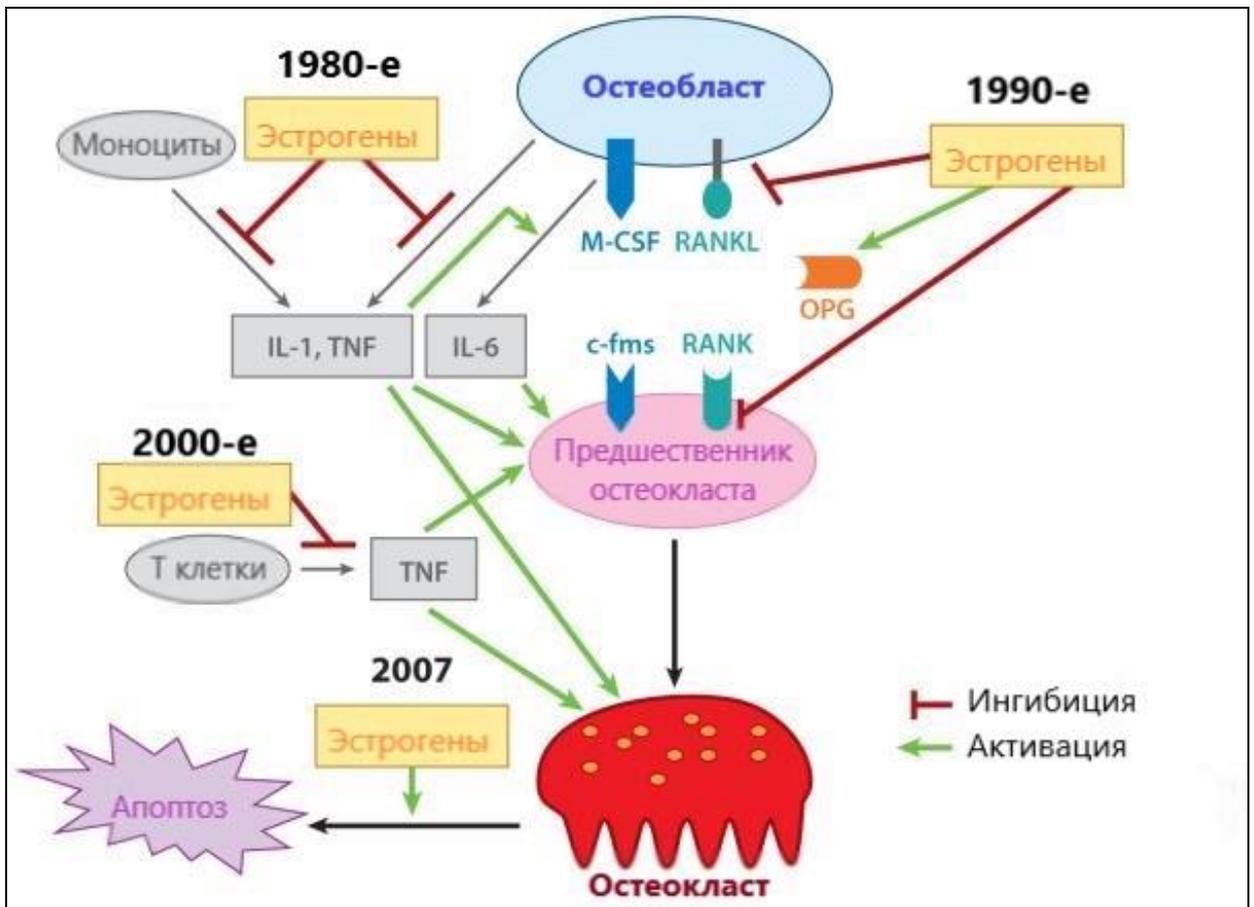


Рисунок 1.12 Краткая история изучения роли эстрогенов в остеокластогенезе. (адаптировано по X. Feng, J. M. McDonald, 2011 [145]). Примечание: даты указывают время открытия эффектов эстрогенов

После открытия системы RANKL/RANK/OPG были предприняты попытки по изучению роли E в регуляции данной системы. Проведенные исследования позволили установить важное влияние E на ключевой механизм во взаимодействиях ОБ и ОК. Было показано, что E участвуют в остеокластогенезе благодаря способности подавлять в ОБ экспрессию RANKL и M-CSF, а также усиливать синтез OPG – мощного ингибитора остеокластогенеза. Вследствие этого снижается активность ОК [268]. Таким образом, были открыты два механизма участия дефицита E в патогенезе постменопаузального ОП. В первом случае низкие концентрации гормонов обуславливают повышенную секрецию моноцитарными клетками и клетками остеобластной линии IL-1, TNF и IL-6, которые, вызывая повышение продукции RANKL, стимулируют резорбцию костной ткани. Во втором – дефицит E приводит к недостаточному регулированию их влияния на ОБ, что сопровождается увеличением соотношения RANKL/OPG. В итоге опять же возрастает активность ОК и ускоряется потеря костной массы.

Уже в 2000-х годах было установлено, что E подавляют функцию ОК, стимулируя их апоптоз. Данный эффект опосредован способностью E стимулировать синтез TGF- β 3, который ингибирует дифференцировку ОК и снижает продолжительность их жизни [138].

Последние 10-15 лет в изучении иммунных основ патогенеза постменопаузального ОП ознаменовалось открытием того, что E являются важными регуляторами T-лимфоцитов, а функция последних чрезвычайно актуальна в обеспечении процессов ремоделирования костной ткани. На моделях у животных было показано, что животные с отсутствием T-лимфоцитов практически защищены от потери костной ткани, вызванной овариэктомией. Кроме того, появились доказательства того, что циркулирующие T-клетки, а не клетки моноцитарно-макрофагальной линии являются основным источником TNF. А провоспалительный цитокин TNF играет важнейшую роль в развитии остеопоротических изменений, вызванных дефицитом E [97]. Наряду с этим было установлено, что женщины с постменопаузальным ОП имеют более высокую

активность Т-клеток и связанные с этим нарушения иммунного статуса по сравнению со здоровыми женщинами аналогичного возрастного периода жизни или в пременопаузу [116].

Таким образом, к настоящему времени получены неопровержимые доказательства того, что ведущим механизмом патогенеза постменопаузального ОП является активация Т лимфоцитов на фоне дефицита Е и повышение продукции ими TNF. Прямо или опосредованно активация Т лимфоцитов сопровождается и увеличением продукции RANKL и других проостеокластогенных цитокинов [117].

Одним из механизмов, посредством которых дефицит Е вызывает пролиферацию, увеличивает активность и продолжительность жизни Т-клеток, является усиление представления антигена макрофагами и дендритными клетками [117] и активация системы сигнальных молекул «рецептор CD40 – лиганд CD40» (CD40–CD40L). Увеличение числа активированных Т-клеток, экспрессирующих CD40L, на фоне дефицита Е увеличивает экспрессию M-CSF и RANKL стромальными клетками и снижает продукцию OPG, что приводит к значительному увеличению остеокластогенеза.

Другой механизм активации Т клеток может быть обусловлен способностью Е ингибировать синтез IL-7 и стимулировать TGF- β (рисунок 1.13). Согласно современным представлениям дефицит Е вызывает повышение продукции IL-7. Это приводит к усилению пролиферации гемопоэтических стволовых клеток и предшественников лимфоцитов в костном мозге, а также к стимуляции дифференцировки Т лимфоцитов в тимусе. Повышению активности Т лимфоцитов способствует также снижение синтеза TGF- β , что также является следствием дефицита Е. Вышеуказанные изменения цитокинового баланса сопровождаются чрезмерной активностью Т лимфоцитов в периферических органах иммунной системы, повышенным синтезом ими проостеокластогенного цитокина TNF и усилением, в конечном итоге, резорбции костной ткани.

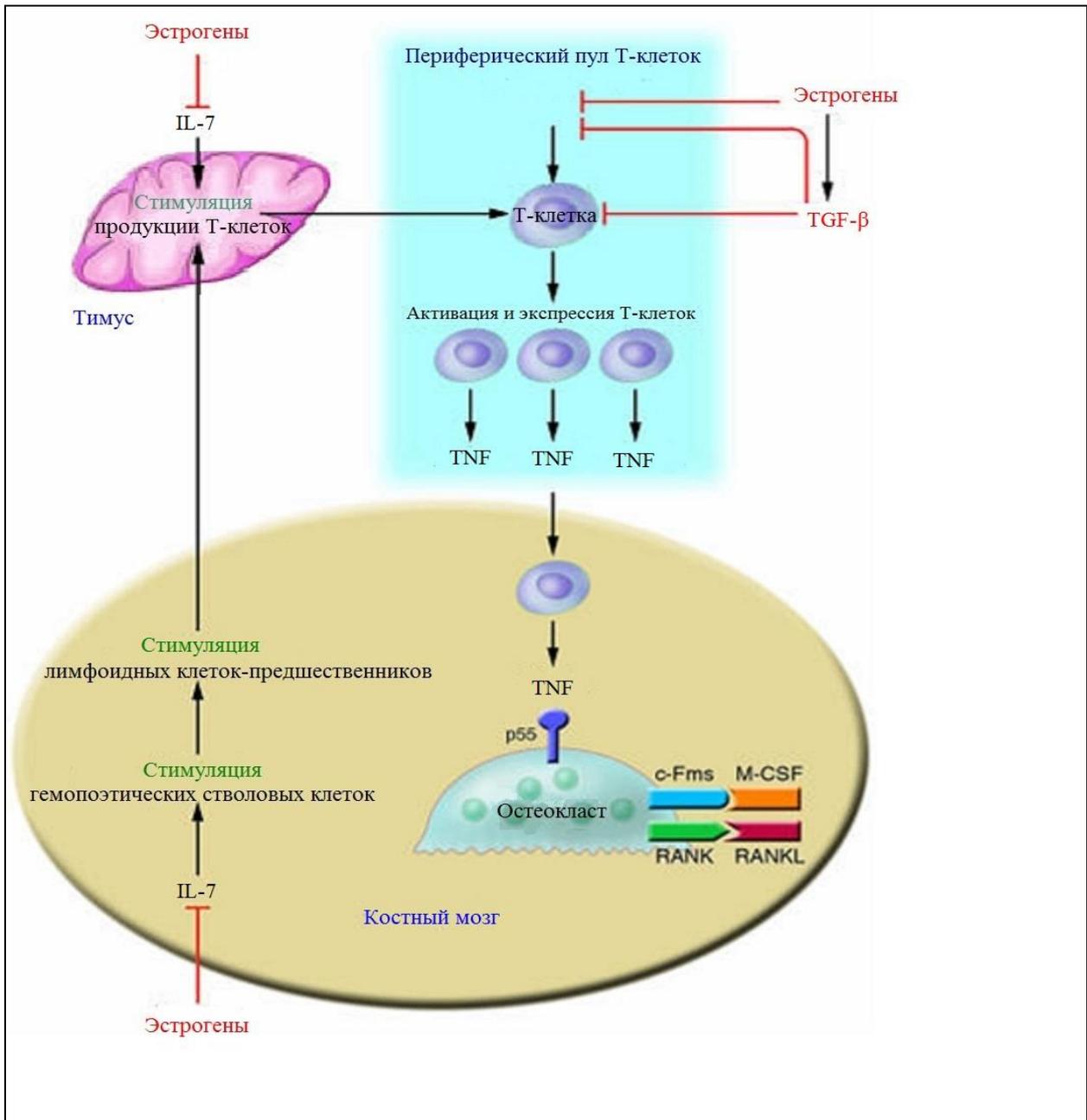


Рисунок 1.13 Схема регуляции эстрогенами остеокластогенеза путем ингибирования продукции IL-7 и стимуляции TGF-β (адаптировано по M.N. Weitzmann, R. Pacifici, 2006 [303]). Примечание: p55 – рецептор для TNF; стрелка – активирующее влияние; линия с Т-образным окончанием – ингибирующее влияние

Исходя из вышеизложенного можно сделать вывод, что потеря костной массы у женщин в постменопаузе, вызванной дефицитом E, представляет собой комплексный эффект множества клеточных и молекулярных механизмов с центральной ролью иммунокомпетентных клеток и цитокинов (рисунок 1.14).

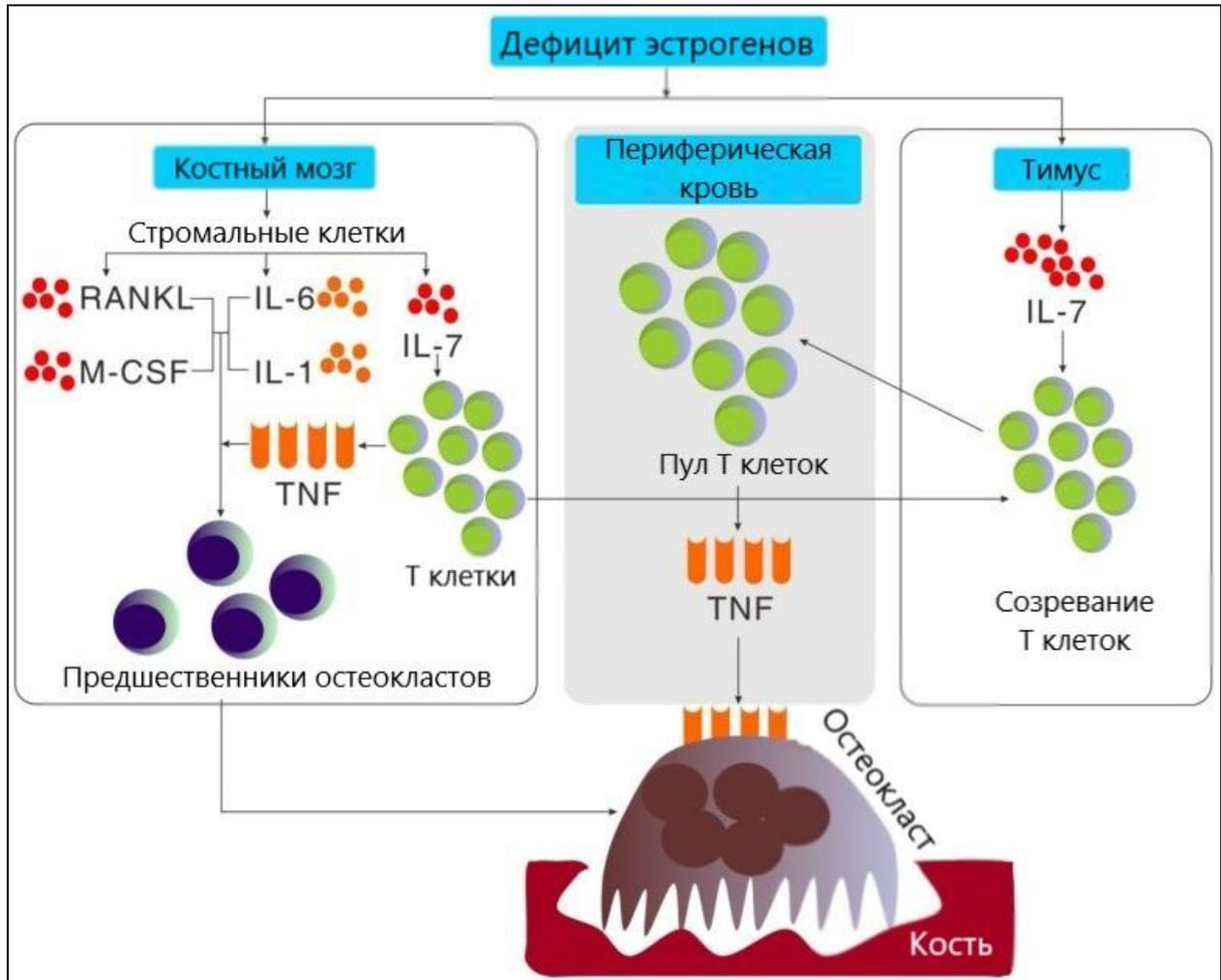


Рисунок 1.14 Основные механизмы регуляции цитокинами остеокластогенеза при дефиците эстрогенов (адаптировано по R. Zhao, 2012 [315])

Дефицит Е вызывает существенное увеличение синтеза IL-7, особенно в тимусе, костном мозге и селезенке. Гиперпродукция IL-7 в костном мозге приводит к увеличению пула Т клеток и их активности, что сопровождается повышенной секрецией TNF и поступлением большого количества тимоцитов в тимус. Высокие уровни IL-7 в тимусе стимулирует дифференцировку тимоцитов и увеличивает выход наивных CD4⁺ Т-клеток в периферическую кровь. Увеличение популяции активных Т лимфоцитов в периферической крови, в свою очередь, также вызывает увеличение концентраций проостеокластогенного TNF. Кроме того, дефицит Е увеличивает продукцию стромальными клетками таких цитокинов как IL-1, IL-6, RANKL и M-CSF, которые наряду с TNF стимулируют

пролиферацию и дифференцировку предшественников ОК, увеличивают их активность и продолжительность жизни.

Таким образом, выполненные к настоящему времени исследования демонстрируют ключевую роль в патогенезе постменопаузального ОП нарушений функции иммунокомпетентных клеток, в первую очередь Т лимфоцитов, в результате дефицита регулирующего влияния Е. Причем, роль Е не ограничивается контролем за продукцией вышеуказанными клетками TNF, IL-1, IL-6, RANKL, M-CSF. Результаты экспериментальных исследований на моделях у мышей и в культурах тканей свидетельствуют о том, что дефицит Е приводит к увеличению пролиферативной активности клеток Th17 [132]. В итоге происходит повышение продукции мощного прорезорбтивного цитокина IL-17, который в свою очередь индуцирует потерю костной ткани за счет усиления синтеза ряда провоспалительных цитокинов, в том числе TNF- α , IL-6 и RANKL. Кроме того, предполагается, что в патогенез постменопаузального ОП могут быть вовлечены и другие типы иммунокомпетентных клеток, в том числе В лимфоциты, которые благодаря способности продуцировать OPG и RANKL, по всей видимости, также участвуют в ремоделировании костной ткани [117].

1.6.3. Роль витамина D в регуляции иммунных факторов, участвующих в патогенезе постменопаузального остеопороза

Результаты многочисленных исследований, проведенных с момента открытия VD, подчеркивают ключевую его роль в обеспечении здорового метаболизма костной ткани. К настоящему времени мы имеем достаточно четкое и глубокое понимание роли VD в обмене Ca и фосфора, стимуляция абсорбции которых в тонком кишечнике данным витамином опосредованно влияет на процессы костеобразования. Кроме того, вскрыты механизмы непосредственного благоприятного воздействия VD на метаболизм костной ткани через присутствующие в ОБ и ОК рецепторы VDR. В связи с важной ролью VD (1,25(OH) $_2$ D) в обмене Ca его справедливо именуют кальцитропным гормоном, а

назначение его препаратов широко используется в медицинской практике для профилактики и лечения костной патологии, в том числе ОП.

Необходимо подчеркнуть, что биологическая роль VD не ограничивается только лишь вышеуказанными его свойствами. Научные исследования последних двух десятилетий существенно расширили наши представления о свойствах VD. Установлено, что он важен не только для обеспечения костного метаболизма, но и в регуляции других систем, тканей и органов человека, а дефицит витамина ассоциируется с широким спектром заболеваний [160, 288].

Показано, что низкий уровень VD ассоциируется с нарушениями в регуляции ряда белковых факторов, участвующих в пролиферации, дифференцировке и апоптозе различных клеток организма человека, а также со снижением противоопухолевого иммунитета. Поэтому снижение сывороточных концентраций VD (25(OH)D) увеличивает вероятность злокачественного роста, повышает риск развития таких онкологических заболеваний как рак мочевого пузыря, простаты, молочной железы, шейки матки, толстого кишечника, эндометрия, пищевода, желудка, легких, яичников, поджелудочной железы, почек и др. [159, 205]

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о важных эффектах VD на функционирование сердечно-сосудистой системы [241, 293]. Витамин участвует в регуляции функции клеток эндотелия, гладких мышц сосудов и кардиомиоцитов, обладает мощным ингибирующим действием на секрецию ренина, подавляет синтез участвующих в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний провоспалительных цитокинов, в частности TNF- α , IL-6. В связи с этим низкая концентрация 25(OH)D является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистой патологии (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, сердечная недостаточность, инфаркт миокарда, инсульт, гипертензия).

Дефицит VD сочетается с повышенной восприимчивостью к инфекционным агентам, со склонностью к более тяжелому течению инфекционной патологии [183]. Выявлена роль витаминной недостаточности в развитии аллергии [84, 85,

299] и аутоиммунных заболеваний, к которым относят сахарный диабет I типа, системную красную волчанку, системную склеродермию, ревматоидный артрит, болезнь Крона, рассеянный склероз и др. [260, 294]. Назначение же препаратов VD снижает активность воспалительного, аллергического и аутоиммунного процессов, улучшает состояние больных.

Необходимо отметить, что эффекты VD на различные органы и системы организма человека, в том числе костную систему, реализуются как прямым воздействием на клетки различных тканей, так и опосредованно. Конечно же, определенную долю косвенных эффектов VD осуществляет через регуляцию обмена Са и фосфора. Вместе с тем, необходимо отметить, что участие VD в патогенезе широкого спектра заболеваний человека опосредовано и его влиянием на иммунную систему.

Предпосылкой для изучения регулирующих свойств VD на иммунный ответ явилось обнаружение в начале 80-х годов прошлого столетия VDR в моноцитах крови и активированных Т- и В-лимфоцитах [122]. Кроме того, было показано, что в макрофагах имеется фермент CYP27B1, благодаря которому вышеуказанные клетки обладают способностью автономного синтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ из $25(\text{OH})\text{D}$ [197]. Это послужило основанием для изучения роли VD в функционировании иммунной системы человека. В итоге, к настоящему времени накоплено огромное количество фактов, подтверждающих важное значение VD в регуляции иммунной реактивности. Причем, эффекты VD на иммунную систему многогранны и сложны, а действие его распространяется на механизмы как врожденного, так и приобретенного иммунитета.

Согласно современным представлениям VD является важным регулятором иммунной реактивности и оказывает влияние на моноциты, макрофаги, дендритные клетки, Т и В лимфоциты, что проявляется регуляцией их пролиферации, созревания, активности, секреции ими различных факторов, в том числе цитокинов [42, 296]. Установлено, что все иммунокомпетентные клетки имеют VDR и способны синтезировать ферменты (CYP27B1, CYP24A1 и др.), участвующие в метаболизме витамина [289]. Поэтому и антигенпредставляющие

клетки, и различные типы лимфоцитов способны локально из 25(OH)D синтезировать 1,25(OH)₂D с участием фермента CYP27B1. Следовательно, клетки иммунной системы могут обеспечивать себя активной формой VD и, более того, контролировать ее чрезмерное образование при помощи фермента CYP24A1, обеспечивающего катаболизм витамина.

Один из механизмов регуляторного влияния VD на врожденный иммунитет заключается в его способности индуцировать образование в моноцитах, макрофагах, нейтрофилах и эпителиальных клетках бета-дефензинов и кателицидина, которые обладают противомикробным действием. В частности, кателицидин вызывает гибель микроорганизмов в аутофагосомах, проявляя активность в отношении как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий, а также вирусов и грибов [173].

Транскрипция гена кателицидина (*CAMP*, cathelicidin antimicrobial peptide) регулируется биологически активной формой VD, а именно 1,25(OH)₂D, а также его рецептором VDR [236]. Схематическое изображение участия VD в регуляции транскрипции гена *CAMP* и стимуляции синтеза кателицидина в моноцитах/макрофагах представлено на рисунке 1.15. Взаимодействие инфекционных агентов с макрофагом через Толл-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptor) приводит к индукции транскрипции в клетке CYP27B1 и VDR. Вследствие этого в реакции, катализируемой вышеуказанным ферментом, происходит усиление внутриклеточного синтеза из 25-гидроксивитамина D (25(OH)D) активной гормональной формы VD - 1,25-дигидровитамина D - 1,25(OH)₂D.

Молекулы 1,25(OH)₂D в комплексе с VDR на генном уровне стимулируют экспрессию молекул кателицидина, которые затем транспортируются в фагосомы, где реализуют свои антибактериальные свойства. Важно отметить, что образующийся в макрофагах 1,25(OH)₂D вызывает и паракринные эффекты – воздействует на функцию моноцитов/макрофагов, Т- и В-лимфоцитов и тем самым предупреждает их чрезмерную активацию и обеспечивает нормальный цитокиновый баланс.

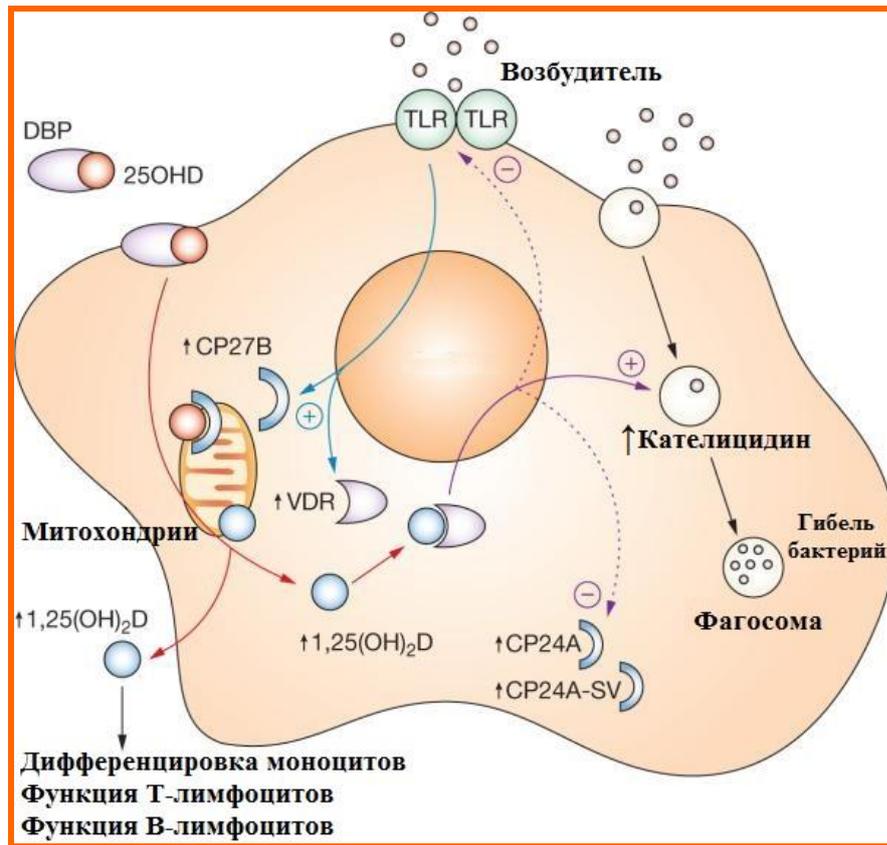


Рисунок 1.15 Схематическое изображение роли витамина D в стимуляции синтеза кателицидина в макрофагах (адаптировано по J.S.Adams, M. Hewison, 2008 [53]).
Примечание: CP27B – фермент 1-альфа-гидроксилаза, CP24A – фермент 24-гидроксилаза

Помимо моноцитов и макрофагов также и дендритные клетки имеют VDR и обеспечивающие метаболизм VD ферменты. В присутствии 1,25(OH)₂D дендритные клетки демонстрируют снижение экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса и ко-стимулирующих молекул CD40, CD80, CD86, а также более низкую секрецию провоспалительного цитокина IL-12 [291]. Вследствие этого снижается антигенспецифическая активация и пролиферация Т-клеток, в первую очередь Th1, и продукция ими провоспалительных цитокинов (рисунок 1.16). Таким образом, VD, усиливая противоинфекционные свойства клеток врожденного иммунитета, обеспечивает и более толерогенный профиль иммунного ответа, предупреждая воспалительные и аутоиммунные нарушения.

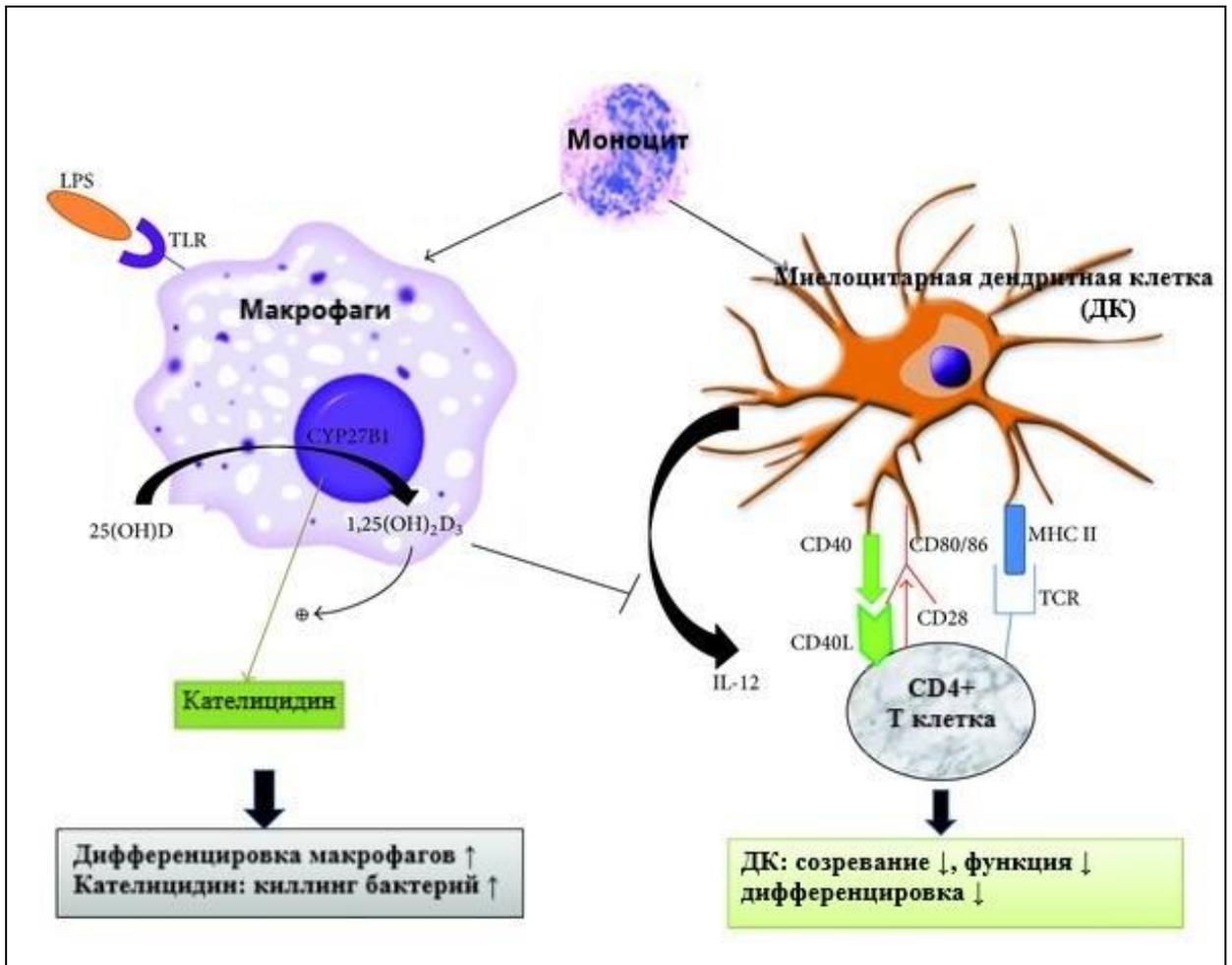


Рисунок 1.16 Эффекты 1,25(OH)₂D на клеточные факторы врожденного иммунитета – моноциты, макрофаги и дендритные клетки (адаптировано по С.L. Lang и соавт., 2014 [291]). Примечание: LPS – липополисахариды; МНС II – антигены главного комплекса гистосовместимости II класса; TCR – Т клеточный рецептор; CD40L – лиганд CD40

VD играет важную роль в обеспечении не только врожденного, но и адаптивного иммунитета [42]. Экспрессия VDR покоящимися лимфоцитами очень низка. Однако при активации и пролиферации Т и В лимфоциты значительно усиливают продукцию вышеуказанного рецептора, что обуславливает возрастание регулирующего эффекта на них VD.

VD способствует дифференцировке наивных Т клеток с превалированием образования Th2 над Th1 (рисунок 1.17). Это приводит к ограничению потенциального повреждения тканей, которое связано с иммунными клетками

Th1 [42, 45, 266, 272, 289, 292, 294]. В экспериментах показано, что кальцитриол и его аналоги ингибируют секрецию провоспалительных цитокинов клетками Th1 (IL-2, IFN- γ , TNF- α), Th9 (IL-9) и Th22 (IL-22) и обуславливают повышение продукции противовоспалительных цитокинов клетками Th2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10).

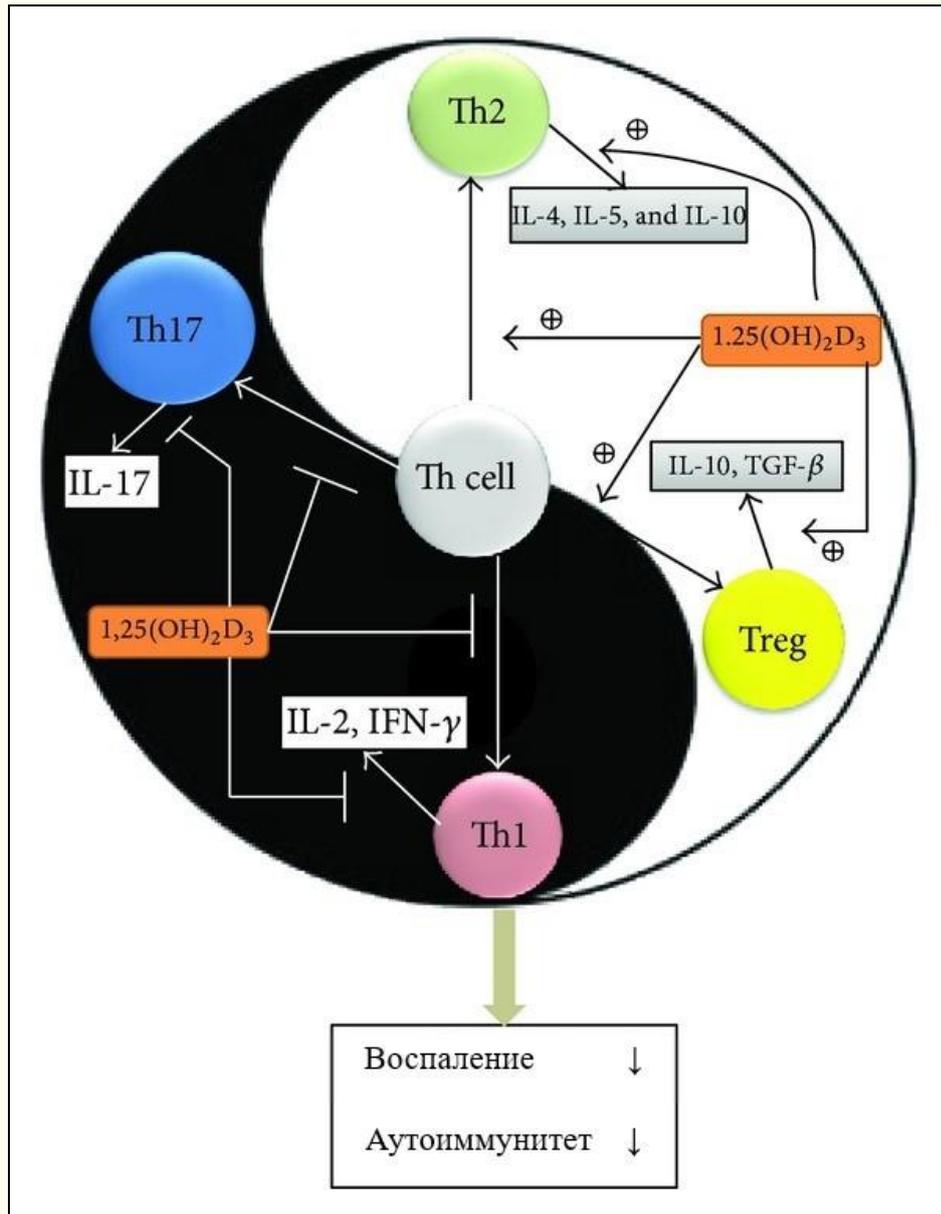


Рисунок 1.17 Роль 1,25(OH)₂D в регуляции Т лимфоцитов (адаптировано по С.L. Lang и соавт., 2014 [291])

1,25(OH)₂D значительно увеличивает экспрессию генов регуляторных Т-клеток (Treg), что сопровождается увеличением секреции противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF-β. Недавние исследования показали, что и 25-гидроксивитамин D (25(OH)D), и 1,25-дигидровитамин D (1,25(OH)₂D) являются мощными ингибиторами дифференцировки клеток Th17, подавляя синтез матричной РНК IL-17 и уменьшая экспрессию IL-17, IFN-γ и IL-21 [42, 107, 296].

Кроме того, VD способствует предотвращению чрезмерной активации CD8⁺ клеток, врожденных лимфоидных клеток I типа (ILC-I), γδТ-клеток, В-лимфоцитов, что сопровождается снижением выработки ими провоспалительных цитокинов, в том числе TNF-α, и продукции антител [294].

Таким образом, 1,25(OH)₂D способен активно регулировать функцию клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета, влиять на характер, интенсивность и тип иммунного ответа. При этом следует обратить внимание на то, что главным его эффектом воздействия на различные иммунокомпетентные клетки является развитие толерантности, снижение воспалительного и аутоиммунного компонентов иммунного ответа (рисунок 1.18).

Необходимо отметить, что большая часть вышеизложенных фактов, указывающих на регуляторную роль VD в иммунном ответе, получена в экспериментах *in vitro* на культурах тканей лабораторных животных или человека. К настоящему времени еще не все из выявленных таким образом эффектов витамина нашли подтверждение *in vivo*. Вместе с тем, в многочисленных исследованиях [100], проведенных как среди здоровых лиц различного пола и возраста, так и пациентов с различной патологией, установлено, что дефицит VD сопровождается возрастанием сывороточных показателей ряда воспалительных маркеров (С-реактивный белок, IL-6, IL-12, TNF-α и др.), а прием препаратов витамина приводит к снижению их уровней. Поэтому дефицит VD, обуславливая воспалительный и аутоиммунный процессы, может быть одной из этиопатогенетических причин развития иммунозависимых, воспалительных заболеваний, в частности аутоиммунной патологии, а также ОП [100, 296].

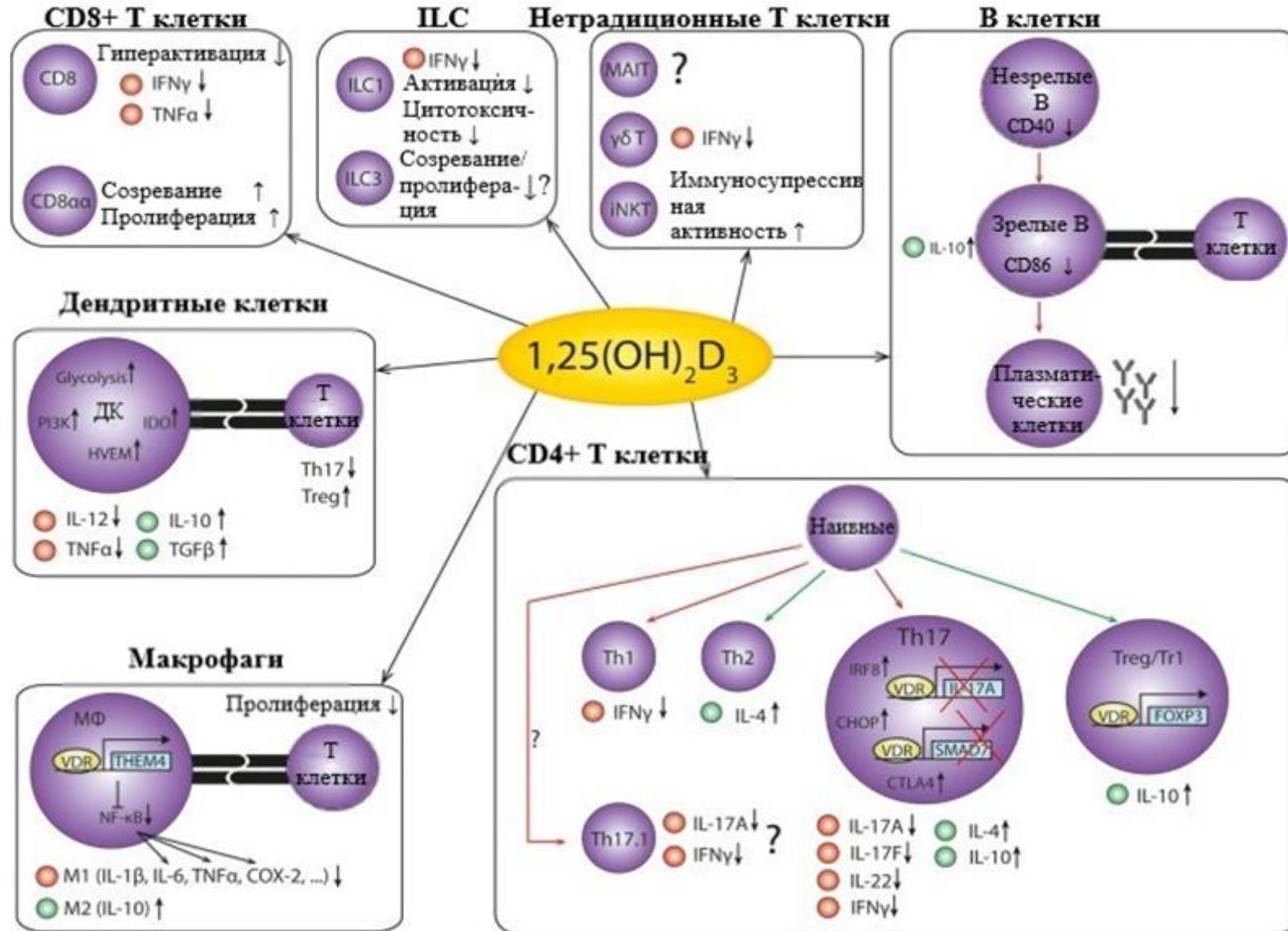


Рисунок 1.18 Эфффекты 1,25(OH)₂D на иммунокомпетентные клетки (адаптировано по W. Dankers и соавт., 2017 [294]).

Примечание: ILC – врожденные лимфоидные клетки; M1 и M2 – типы макрофагов

Таким образом, к настоящему времени получено достаточно большое количество доказательств участия VD в функционировании иммунной системы через регуляцию пролиферации, дифференцировки и активности различных иммунокомпетентных клеток. Доказано, что дефицит VD обуславливает повышенный синтез провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-6, TNF- α , IL-9, IL-17 и др.) и уменьшение экспрессии противовоспалительных интерлейкинов (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10 и др.). Как следствие, дефицит регуляторного влияния VD на механизмы иммунного ответа может быть причиной генерализованного воспалительного и аутоиммунного процессов. Известно, что ОП, в том числе постменопаузальный, является иммуноопосредованным, хроническим воспалительным заболеванием. Поэтому роль дефицита VD в развитии данной патологии костной системы, по всей видимости, не ограничивается только лишь нарушением абсорбции Са и фосфора и снижением интенсивности прямых благоприятных воздействий витамина на остециты, ОБ и ОК. Возможно, развитие ОП опосредовано также и обусловленными дефицитом VD иммунными, воспалительными изменениями у женщин постменопаузального возраста. В связи с этим при назначении препарата VD при постменопаузальном ОП учитываются и его свойства как противовоспалительного модулятора, который может улучшить чрезмерную резорбцию кости [254].

1.7. Принципы профилактики и консервативного лечения постменопаузального остеопороза

Благодаря достижениям в изучении клеточных и молекулярных основ патогенеза постменопаузального ОП, успехам в поиске новых точек для фармакологического воздействия на метаболизм костных клеток в последние 10-15 лет произошли значительные перемены к лучшему в лечении заболевания. Фармацевтический рынок в настоящее время представлен достаточно большим спектром препаратов, предназначенных для лечения и профилактики ОП. При этом появились новые направления в фармакотерапии заболевания, значительно

улучшились переносимость лечения и приверженность больных терапии. Все это позволило существенно увеличить эффективность предупреждения остеопоротических переломов у женщин в постменопаузе. Ведь основной целью лечения ОП является снижение риска переломов, особенно позвонков и проксимальных отделов бедра, которые сопряжены с наибольшей инвалидизацией и летальностью. В первую очередь, данная цель достигается путем увеличения прочности кости за счет улучшения степени ее минерализации и повышения качества микроархитектоники. Кроме того, немаловажное значение имеют и лечебно-профилактические мероприятия, направленные на снижение склонности пациента к падениям.

Согласно рекомендациям ВОЗ глобальная стратегия по профилактике ОП и остеопоротических переломов должна концентрироваться по трем основным направлениям [44]:

1. Первичная и вторичная профилактика ОП.
2. Лечение ОП (этиологическое, патогенетическое, симптоматическое).
3. Повышение качества жизни и увеличение ее продолжительности.

1.7.1. Первичная и вторичная профилактика постменопаузального остеопороза

Первичная профилактика постменопаузального ОП предполагает мероприятия, направленные на создание и поддержание прочности скелета на протяжении всей жизни человека [44]. Особенно актуальны данные подходы для женщин в детском, юношеском и молодом возрасте в период интенсивного роста и при формировании пика костной массы. Не менее важна первичная профилактика во время беременности и лактации, в периоды пременопаузы, менопаузы и постменопаузы, а также при вынужденной длительной иммобилизации. Вторичная профилактика рекомендуется всем женщинам уже при наличии ОП и/или возникновении низкоэнергетических переломов.

Профилактические мероприятия предполагают коррекцию образа жизни, питания, устранение причин, вызывающих ОП [21, 147, 210, 268]. Выполняется

комплексное обследование пациентов с целью выявления и последующего лечения заболеваний, приводящих к развитию ОП и переломов (патология почек, печени, тиреотоксикоз, сахарный диабет, гиперпаратиреоз, воспалительные заболевания кишечника, психические и ревматологические заболевания и др.)

Женщинам рекомендуются регулярные дозированные физические нагрузки. Физические упражнения подбираются индивидуально в зависимости от возраста, состояния здоровья и функциональной подготовленности. Они направлены на увеличение нагрузки (плавание, занятия на тренажерах, езда на велосипеде, бег трусцой, подъем по лестнице, занятия с эластичными лентами и т.д.) и тренировку вестибулярного аппарата для снижения риска падений (танцы, игровые виды спорта, ходьба боком, ходьба по одной линии и т.д.).

Женщинам предлагается отказ от курения, уменьшение потребления алкоголя, исключение кофе, сбалансированное питание (ежедневное употребление продуктов с достаточным количеством белка из расчета 1 г/кг веса, Са, витаминов и т.д.), дозированное пребывание на солнце. Для профилактики развития ОП необходимо контролировать массу тела и стремиться к оптимальным ее показателям, причем корректироваться должна не только низкая масса тела, но и избыточная. Важное значение в профилактике ОП имеет обучение женщин и их психо-эмоциональная поддержка со стороны медицинского работника, членов семьи и друзей.

Для большинства женщин в постменопаузе отмечается недостаточное поступление в организм Са. Это связано как с низким его потреблением с продуктами питания, так и снижением его абсорбции в кишечнике. Основными причинами нарушения абсорбции Са у женщин являются снижение с возрастом функции почек и кишечника, сокращение времени пребывания на солнце и уменьшение способности кожи к выработке VD. Гиповитаминоз D широко распространен в различных регионах земного шара, в том числе и Российской Федерации [39]. Согласно расчётам, в мире около 1 млрд людей имеют или дефицит или недостаточность VD. Среди московских женщин в постменопаузе

только у 3,2% отмечаются нормальные показатели VD в крови, а у 70,3% выявляется его дефицит.

Поэтому обязательным профилактическим подходом является прием женщинами препаратов Ca и VD. Следует отметить, что монотерапия солями Ca или VD менее эффективна в профилактике костных потерь и переломов, чем их комбинация. Поэтому назначается комбинированная терапия, включающая препараты Ca и VD [39, 147]. Стандартно предлагается прием Ca в количестве 1200 мг/сутки, а VD в диапазоне 800–2000 МЕ ежедневно [210]. Согласно клиническим рекомендациям Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита VD у взрослых, лицам старше 50 лет профилактическая доза VD составляет не менее 800–1000 МЕ в сутки [18, 48]. У женщин с дефицитом или недостаточностью витамина D при проведении терапии насыщения доза приема витаминного препарата может быть значительно выше, которая в дальнейшем снижается до уровня поддерживающей терапии.

Следует отметить, что назначение препаратов Ca и VD важно не только для профилактики, но обязательно и при лечении постменопаузального ОП в комплексе с антиостеопоротическими препаратами (бисфосфонаты и др.).

1.7.2. Медикаментозная терапия при остеопорозе

Препараты для патогенетически обоснованного лечения ОП условно делят на две группы [47, 210]. Выделяют средства с антирезорбтивным действием (бисфосфонаты, антитела к RANKL, эстрогены, селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов, кальцитонин, ингибиторы катепсина К), действие которых преимущественно подавляет костную резорбцию, а клетками мишенями являются ОК, и анаболическим действием (пептиды паратгормона, стронция ранелат, антитела к SOST, фториды, анаболические стероиды), которые преимущественно усиливают процессы костеобразования благодаря стимуляции ОБ.

В настоящее время к препаратам первой линии для лечения ОП относят бисфосфонаты [3, 8, 41, 47, 51]. Бисфосфонаты оказывают прямое действие на ОК, подавляя их образование, метаболизм, функциональную активность и стимулируя их апоптоз, что приводит к снижению интенсивности костной резорбции. Выделяют три поколения бисфосфонатов. К 1-му поколению относятся этидронат (Didronel®), клодронат (Bonfos®, Clasteon®), тилудронат (Skelid®), ко 2-му – алендронат (Fosamax®), памидронат (Aredia®), к 3-му – ризендронат (Actonel®), ибандронат (Boniva®), золендроновую кислоту (Reclast®).

Антирезорбционная активность бисфосфонатов существенно различается. По активности препараты можно расположить в следующей последовательности (по отношению к этидроновой кислоте): этидронат – 1; клодронат, тилудронат – 10; памидронат – 100; алендронат – 1000; ризендронат, ибандронат, золендроновая кислота – 10 000 [28].

В клинической практике ранее чаще всего использовали алендронат и ризендронат. В последние годы возрастает применение и других бисфосфонатов. Наибольший прирост продаж показывает препарат ибандроната «Бонвива» [23]. Необходимо указать, что в первую очередь выбор препарата врачом и пациентом зависит от удобства режима применения, стоимости, частоты побочных эффектов и осложнений [210]. Клинический же эффект терапевтических доз различных препаратов в целом сопоставим (таблица 1.2). При этом в различных исследованиях влияние одного и того же препарата на динамику прироста МПК и снижение риска переломов может в определенной степени варьировать [210].

Препарат деносуаб (Prolia®) представляет человеческие моноклональные антитела к RANKL. Анти-RANKL антитела, связываясь с RANKL, блокируют образование комплекса RANKL-RANK, что в итоге приводит к угнетению образования ОК и, как следствие, к снижению интенсивности резорбции кости [2, 47, 210]. Следует отметить, что в отличие от бисфосфонатов деносуаб не накапливается в костной ткани. Поэтому эффект его отмечается только во время его применения. По сравнению с плацебо деносуаб обуславливает снижение

риска переломов тел позвонков на 68%, бедра – на 40% и внепозвоночных переломов – на 20%. При этом значения МПК поясничных позвонков увеличиваются на 9,2-18,4 %, а бедренной кости – на 4,0-8,3% [210].

Таблица 1.2

Эффекты основных бисфосфонатов в лечении ОП по данным клинических испытаний [210]

Препараты и способы введения	Эффекты клинического применения	
	Прирост минеральной плотности костей, %	Снижение количества переломов, %
Алендронат, внутрь	Позвоночник – 6,2%, бедро – 4,1%, поясничные позвонки – 5,4%, шейка бедра – 1,6%	Вертебральные – 47%, бедра – 51%, невертебральные – 16%
Ризендронат, внутрь	Тазобедренный сустав – 3,3%	Вертебральные – 36%, невертебральные – 27%, бедра – 40%
Ибандронат, внутрь или в/в	Поясничные позвонки – около 6%, бедро – около 6%	Вертебральные – 50%, невертебральные – 30-40%
Золендроновая кислота, в/в	Поясничные позвонки – 3,2%, шейка бедра – 2,4%	Вертебральные – 70%, невертебральные – 25%, бедра – 40%
Клодронат, внутрь, в/м, в/в	Поясничные позвонки – 3,7%, бедро – 1,3%	Вертебральные – 43%, невертебральные – 33%

Примечание: в/м и в/в – соответственно внутримышечное и внутривенное введение препарата

Учитывая роль дефицита Е в развитии постменопаузального ОП, патогенетически обосновано назначение женщинам заместительной гормональной терапии [185]. Особенно рациональной данная терапия считается для профилактики ОП, в том числе у женщин с клиническими проявлениями

климактерического синдрома в менопаузе. Проведенные к настоящему времени исследования демонстрируют эффективность заместительной гормональной терапии у женщин в постменопаузе – снижение частоты переломов позвонков и бедра на 33-39 % [210].

Доказана высокая эффективность препаратов группы селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов в лечении постменопаузального ОП. К ним относят ралоксифен, тамоксифен, лазофоксифен, базедоксифен, арзоксифен. Показано, что применение данных препаратов позволяет повысить МПК поясничных позвонков на 0,5-3,0%, а бедра на 0,5-2,1%. А курс лечения приводит к снижению риска вертебральных и невертебральных переломов соответственно на 31-45% и 10-24% [210].

Терипаратид (Forsteo®) – генно-инженерный фрагмент человеческого паратгормона. Относится к группе препаратов с анаболическим эффектом. Стимулирует костеобразование, преимущественно действуя на ОБ. Повышает продолжительность жизни костеобразующих клеток, замедляет их апоптоз, увеличивает дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток [47, 210]. Терипаратид рекомендуется использовать в качестве первой линии терапии у пациентов с тяжелым ОП, с уже имеющимися переломами тел позвонков в анамнезе, а также у лиц с крайне высоким риском низкотравматических переломов и пациентов с неэффективностью предшествующей терапии. Повышает МПК позвонков на 8,6-13,0%, шейки бедра – на 3,5-6,0%, снижает риск вертебральных переломов на 65,0-69,0%, невертебральных – на 53,0% [210].

Следует отметить, что наряду с уже имеющимися и одобренными для лечения постменопаузального ОП препаратами в настоящее время ведутся поиски новых лекарственных средств воздействия на процессы ремоделирования костной ткани. Часть из них находятся на стадии разработки, другие же проходят клинические испытания [99, 210, 211]. Перспективными в лечении ОП могут быть препараты остеопротегерина, моноклоанальных антител к SOST (ромозозумаб, блозозумаб), ингибиторы катепсина К (оданокатиб) и др.

1.7.3. Фармакогенетика остеопороза

Повседневная клиническая практика свидетельствует о том, что при лечении постменопаузального ОП один и тот же препарат у различных женщин дает различный эффект на показатели МПК скелета. В одних случаях контрольное выполнение DEXA свидетельствует о хорошем ответе на лечение, в других – прироста МПК после курса лечения не обнаруживается. У одной женщины после лечения возникает низкоэнергетический перелом, а у другой нет. Неодинакова и переносимость пациентами лекарственного препарата. Во многом эти отличия определяются генетическими факторами, влияющими на фармакокинетику и фармакодинамику препарата, детерминирующими процессы метаболизма костной ткани, рецепции, иммунного ответа и т.д. [30, 186, 193]. Действительно для большинства доступных в настоящее время лекарств реальная эффективность и возможное развитие побочных эффектов для каждого конкретного пациента не могут быть предсказаны до начала лечения. Необходимо указать, что генетический профиль пациента может быть основной причиной непредвиденного ответа индивидуума на лекарственное средство, как с точки зрения эффективности, так и с точки зрения безопасности. А фармакогенетика может помочь клиницистам выбирать наиболее эффективный из доступных антиостеопоротический препарат и разрабатывать индивидуальный терапевтический план для каждого пациента на основе их генетического профиля. Задача персонализированной медицины, или точной медицины, состоит в том, чтобы отказаться от традиционной фармакологии и использования стандартных подходов в лечении ОП и перейти к индивидуальной терапии на основе, в первую очередь, генетических особенностей пациента.

Исследования в области фармакогенетики выполняются по нескольким направлениям, два из которых считаются основными [193]. Один подход направлен на выявление генов, участвующих в ремоделировании костной ткани и влияющих на ответ костных клеток на антиостеопоротические препараты. Целью другого направления является исследование генов, функция которых может

вызывать изменения фармакодинамики и фармакокинетики лекарственных средств.

К настоящему времени выполнен ряд работ, посвященных изучению ассоциаций генетических факторов с эффективностью лечения постменопаузального ОП препаратами Са и VD [156], эстрогенами [113], селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов [242], алендронатом и другими бисфосфонатами [37, 52, 63, 191, 218, 233, 261, 270, 275], стронцием ранелатом [43, 52], терипаратидом [275] и др. При этом была произведена оценка влияния на прирост показателей МПК в динамике лечения полиморфизмов достаточно широкого перечня генов (*ESR1*, *VDR*, *COL1A1*, *CA*, *LRP5*, *LRP6*, *IL-1*, *IL-10*, *IL12B*, *IL23R*, *IL17A*, *INF-γ*, *TNFSF11*, *TNFRSF11A*, *TNFRSF11B*, *DKK1*, *LEPR*, *MCP-1*, *GGPPS*, *MHTFR*, *CCR5*, *PPARG* и др.). Большая часть анализируемых полиморфизмов показали наличие ассоциаций с эффектом антиостеопоротической терапии.

Наряду с этим выполнялись работы и по изучению генов, кодирующих фарнезилпирофосфатсинтазу (FDPS) и геранилгеранилдифосфатсинтазу (GGPS) [46, 193]. FDPS и GGPS являются ферментами внутриклеточного мевалонатного пути, который необходим для модификации важных сигнальных белков ОК. Известно, что мевалонатный путь – мишень для некоторых бисфосфонатов. Проведенные исследования показали, что отдельные полиморфизмы генов вышеуказанных ферментов оказывают влияние на результаты лечения бисфосфонатами.

Аналогичные ассоциации установлены и для других генов. В частности, сообщается о связи между полиморфизмами трех генов (*ABCB1*, *SLCO1B1* и *UGT1A1*), участвующих в фармакодинамике и фармакокинетики ралоксифена, на терапевтический ответ у лиц с ОП. По всей видимости, ассоциации полиморфных вариантов вышеуказанных генов с интенсивностью прироста МПК обусловлены их влиянием на сывороточные уровни ралоксифена [193].

Таким образом, имеются многочисленные свидетельства о влиянии генетических полиморфизмов на эффект антиостеопоротической терапии при

постменопаузальном ОП. Однако необходимо отметить, что не все из доступных антиостеопоротических препаратов были объектом изучения фармакогенетики. К настоящему времени не закончен и поиск генов, потенциально способных менять результат терапии ОП. Кроме того, есть и определенные противоречия в полученных результатах, а выводы отдельных исследований не нашли подтверждение в последующем. Поэтому должны быть проведены дальнейшие исследования с учетом наших знаний патогенеза постменопаузального ОП и фармакодинамики, фармакокинетики остеопоротических препаратов. Положительные результаты необходимо повторять в разных возрастных и этнических группах, в том числе при использовании различных лекарственных средств, особенно тех, которым мало уделено внимание к настоящему времени (ибандронат, деносумаб и др.).

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика обследованных женщин

Работа выполнялась в течение 2013-2018 гг. в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М.Горького» (ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО) и медицинской лаборатории ООО «Укрмедсервис». Для достижения цели и решения поставленных задач программа исследования включала 2 этапа.

Всего обследовано 652 женщины. Исследование проводилось после письменного получения добровольного согласия на участие. Перед началом обследования все пациенты были информированы о целях и характере исследования и имели возможность задать вопросы по всем интересующим аспектам. Данное исследование соответствует всем этическим требованиям, предъявляемым к научным работам, на что было получено разрешение этического комитета ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО.

Отбор женщин в исследование производился методом случайной выборки с учетом критериев включения и исключения. Критерии включения в исследование: женщины в постменопаузальном периоде (стойкое отсутствие менструаций как минимум в течение одного года), получение от женщин письменного добровольного информированного согласия. Критерии исключения в исследование: прием заместительной гормональной и антиостеопоротической терапии, глюкокортикостероидных препаратов, наличие овариоэктомии, эндокринных и метаболических расстройств, гематологических и психических заболеваний, неопластических состояний, хронических заболеваний почек и печени, аутоиммунной патологии, системных заболеваний соединительной ткани, хронических воспалительных заболеваний.

На первом этапе было проведено комплексное обследование 525 женщин в постменопаузе. Дизайн предполагал ретроспективный «случай-контроль» тип исследования. Возраст обследованных пациентов был в пределах от 38 до 88 лет, длительность постменопаузального периода составила от 1 года до 40 лет. Медиана (Me) и интерквартильный размах (Q1-Q3) показателей возраста составили 62,0 (56,0-68,0) лет, а длительности постменопаузы – 13,0 (7,0-20,0) лет. Аналогичные показатели роста, веса и индекса массы тела у женщин составили соответственно 162,0 (157,0-166,0) см, 72,0 (64,0-83,0) кг и 27,9 (24,3-31,6). Индекс массы тела (ИМТ) вычисляли по формуле $ИМТ=m/h^2$, где m – масса тела (кг), h – рост (м).

154 женщины имели диагноз ОП, 236 – остеопению, а 135 – соответствовали контрольной группе с нормальным состоянием костной ткани. Диагноз устанавливался согласно рекомендациям ВОЗ и исходя из показателей T-критерия по результатам выполнения денситометрии костной ткани методом DEXA. Остеоденситометрия производилась на уровне поясничных позвонков L1-L4 (n=525), проксимальных отделов левой (n=522) и правой (n=303) бедренных костей, в том числе зоны шейки левого (n=384) и правого (n=303) бедра, а также дистального отдела костей предплечья недоминантной руки (n=138). Результаты денситометрии представлялись в виде показателей МПК и T-критерия. T-критерий является основополагающим для оценки выраженности остеопоротических изменений. Данный показатель указывает, на сколько стандартных отклонений МПК у конкретного субъекта ниже или выше средних значений для молодых здоровых женщин, т.е. пика костной массы. Снижение этого критерия происходит с уменьшением костной массы. Женщины со значениями T-критерия в пределах до -1,0 стандартных отклонений от пиковой костной массы были отнесены к группе здоровых. Пациенты с более низкими его уровнями составили группы с остеопенией (ниже -1,0 до -2,5 стандартных отклонений) и ОП (-2,5 стандартных отклонений и ниже).

Женщинам трех выделенных групп были выполнены клинические и лабораторные исследования (таблица 2.1). Проведенный сравнительный анализ

полученных результатов позволил выявить факторы риска развития патологии костной системы и определить особенности биохимического, цитокинового и гормонального статуса пациентов с остеопенией и ОП, в том числе в зависимости от генетических факторов.

Таблица 2.1

Количество женщин контрольной группы, пациентов с остеопенией и ОП, которым выполнены клиничко-anamнестическое обследование, инструментальные и лабораторные исследования

Категории исследований	Всего	Здоровые	Остеопения	ОП
Остеоденситометрия	525	135	236	154
Клиничко-anamнестические	278	83	114	81
Молекулярно-генетические	483	116	219	148
Иммунологические	180	37	84	59
Клиничко-лабораторные, биохимические	278	83	114	81
Гормональные	278	83	114	81
Витамин D (25(OH)D) и маркеры костного обмена	198	66	81	51

На втором этапе исследования была выполнена оценка эффективности лечения постменопаузального ОП у женщин в зависимости от генетических полиморфизмов. Для этого проведено открытое проспективное неконтролируемое исследование.

Курс терапии продолжительностью 12 месяцев включал прием двух препаратов: «Бонвива» по 1 таблетке (150,0 мг ибандроната) 1 раз в месяц и «Кальций-Д3 Никомед Форте» по 1 таблетке (500 мг кальция, 400 МЕ холекальциферола) два раза в сутки. До начала и после завершения курса лечения женщинам выполнялась остеоденситометрия методом DEXA. Оценка эффективности лечения производилась по приросту МПК, выраженному в процентах, отдельно по каждой зоне выполнения остеоденситометрии как в

общей группе обследованных лиц, так и среди женщин с различными генотипами изученных полиморфизмов. Прирост МПК рассчитывался по формуле:

$$\text{Прирост МПК} = [(МПК_2 - МПК_1) / МПК_1] \times 100,$$

где МПК₁ и МПК₂ – значение до и по окончании курса терапии.

Всего на втором этапе была обследована 131 женщина (таблица 2.2). Из них в динамике наблюдения (в начале и по окончании терапии) значения МПК поясничных позвонков L1-L4 были изучены у 129 обследованных, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей – у 125 и 112 женщин соответственно, шейки левого и правого бедра – у 127 и 115 лиц соответственно. У всех женщин были выполнены молекулярно-генетические исследования.

Таблица 2.2

Основные характеристики женщин (n=131), участвовавших во втором этапе исследования (данные на начало лечения)

Показатели	Медиана	Интерквартильный размах (Q1-Q3)	Минимум	Максимум
Возраст, лет	59,0	54,0-65,0	39,0	80,0
Рост, см	162,0	158,0-165,0	144,0	177,0
Вес, кг	68,0	60,0-74,0	43,0	90,0
ИМТ	25,5	23,0-28,8	17,5	36,2
Длительность постменопаузы, лет	10,0	4,0-16,0	1,0	33,0

2.2. Клинико-anamnestическое исследование женщин

При решении вопроса о возможном участии в исследовании у женщин изучались жалобы, данные анамнеза, объективного осмотра и, при необходимости, дополнительных методов исследования. В случае соответствия критериям включения и исключения в исследование женщинам предлагалось пройти анкетирование, денситометрию костной ткани и лабораторное обследование.

Анкета была разработана исходя из установленных и предполагаемых факторов риска развития ОП, его клинических проявлений. Ответы на вопросы женщиной выполнялись в присутствии исследователя и с его консультативной помощью. Вопросы в анкете были распределены в 5 разделов:

I. ПЕРИОД НАЧАЛА МЕНСТРУАЦИЙ.

1. В каком возрасте у Вас была первая менструация? 2. Имели ли Вы серьезные заболевания на момент начала менструаций? (если ДА, то какие?). 4. В каком возрасте цикл Ваших менструаций стал регулярным? Имели ли Вы серьезные психологические проблемы (конфликты, развод родителей, сексуальное насилие и др.) в Вашей семье в детстве? (если ДА, то какие?). Занимались ли вы регулярно спортом, фитнесом и т.п. во время начала менструаций? (если ДА, то сколько раз в неделю?).

II. РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПЕРИОД.

1. Какой по длительности был Ваш менструальный цикл, когда он стал регулярным (в среднем)? 2. Были ли у Вас эпизоды аменореи (отсутствие менструации), исключая период беременности? (если ДА, то каковы длительность и возможная причина?). 3. Были ли у Вас эпизоды меноррагии (обильные и длительные менструальные кровотечения)? (если ДА, то каковы длительность и возможная причина?). 4. Ввели ли Вы регулярную половую жизнь, в каком возрасте начали и сколько раз в месяц (в среднем)? 5. Имели ли Вы полносрочные беременности? (если ДА, то сколько?). 6. Были ли у Вас спонтанные аборт? (если ДА, то сколько?). 7. Сколько у Вас детей? 8. Кормили ли Вы грудью? (если ДА, то сколько месяцев по каждому ребенку?). 9. Принимали ли Вы противозачаточные препараты? (если ДА, то сколько лет, месяцев?). 10. Занимались ли Вы регулярно физкультурой, спортом, фитнесом и т.п.? (если ДА, то сколько раз в неделю?).

III. ПЕРИОД ПОСТМЕНОПАУЗЫ.

1. В каком возрасте у Вас была последняя менструация? 2. Занимаетесь ли Вы регулярно спортом, фитнесом и т.п.? (если ДА, то сколько раз в неделю?). 3. Совершаете ли Вы регулярно пешие прогулки длительностью более 30 мин? (если ДА, то какова их длительность и сколько раз в неделю?). 4. Принимаете ли

Вы солнечные ванны? (если ДА, то каким образом – при пешеходных прогулках, на даче, летом на пляже и т.п., в среднем по сколько часов и с какой интенсивностью загораете по 10-бальной шкале?). 5. Вы замужем? (если ДА, то с какого возраста и по какой?). 6. Ведете ли Вы регулярную половую жизнь, сколько раз в месяц (в среднем)? 7. Болеете ли Вы простудными заболеваниями, бронхитами, пневмониями, отитами и синуситами, как часто? Есть ли у Вас сейчас или были ли раньше грибковые поражения кожи, ногтей и т.д.? Есть ли у Вас аллергическое заболевание (бронхиальная астма, атопический дерматит, крапивница, отек Квинке и др.), бывают ли аллергические реакции? Есть ли у Вас гинекологическая патология (аднексит, кольпит и др.)? Есть ли у Вас заболевания органов желудочно-кишечного тракта (холецистит, панкреатит, гастрит и др.)?

IV. СОСТОЯНИЕ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА.

1. Уменьшился ли Ваш рост после 40 лет? (если ДА, то на сколько см?) 2. Беспокоит ли Вас боль в суставах? (если ДА, то в каких суставах и какова интенсивность боли по 10-бальной шкале?) 3. Беспокоит ли Вас боль в спине? (если ДА, то в каком отделе – шейном, грудном, поясничном; какова интенсивность боли по 10-бальной шкале?). 4. Были ли у Вас переломы? (если ДА, то дайте их характеристику – сколько, в каком возрасте, какова причина, каких костей и т.д.). 5. Был ли у Ваших близких родственников (мать и отец) ОП?. 6. Были ли у Ваших близких родственников (мать и отец) переломы бедренной кости, шейки бедра? 7. Были ли у Ваших близких родственников (мать и отец) переломы после падения с высоты роста или ниже роста и какова их характеристика? 8. Были ли у Ваших близких родственников (мать и отец) «горб вдовы»?

V. ПИЩЕВЫЕ ПРИВЫЧКИ

1. В каком возрасте вы начали принимать алкоголь? 2. Какой вид алкоголя Вы принимаете и в каком количестве (мл или литров в месяц)? 3. Пьете ли Вы регулярно кофе? Если ДА, то сколько чашек в среднем в день?. 4. Пьете ли Вы регулярно прохладительные газированные напитки (Пепси, Кола и т.п.)? Если ДА, то сколько литров в среднем в день?. 5. Нормально ли Вы переносите молоко?

6. Употребляете ли Вы молоко или кисломолочные продукты? Если ДА, то сколько мл в среднем в день?. 7. Кушаете ли творог или сыр? Если ДА, то сколько грамм в среднем в день?. 8. Курите ли вы сигареты? Если ДА, то в каком возрасте начали курить и сколько сигарет выкуриваете в среднем в день?.

2.3. Инструментальные и лабораторные методы исследования

Остеоденситометрия костной ткани женщинам выполнялась в рентгенологическом отделении Донецкого Республиканского травматологического центра методом DEXA. Исследование проводилось на уровне поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей (Total Hip), в том числе зоны шеек левого и правого бедра (Neck), а также дистального отдела костей предплечья недоминантной руки. Измерения выполнялись с помощью денситометров «Discovery W QDR Series X-Ray Bone Densitometer» (HOLOGIC Inc., США) и «Prodigy» (GE Medical Systems LUNAR, США). Результаты остеоденситометрии представлялись в виде показателей МПК и Т-критерия. При трактовке результатов денситометрии нормальными считались показатели Т-критерия в пределах до -1,0 стандартных отклонений от пиковой костной массы. Более низкие значения Т-критерия соответствовали остеопении (ниже -1,0 до -2,5 стандартных отклонений) и ОП (-2,5 стандартных отклонений и ниже).

Для выполнения лабораторных исследований в ООО «Укрмедсервис» использовалась периферическая кровь женщин, отобранная утром (с 8⁰⁰ до 10⁰⁰ часов) натощак в количестве до 20 мл при помощи вакуумных систем производства «HEBEI XINLE SCI AND TECH CO., LTD» (Китай). Использовались 3 вида пробирок: пробирки с активатором свертывания для выполнения серологических исследований; пробирки с цитратом натрия для определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ); пробирки с антикоагулянтом динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) для выполнения общего

анализа крови на автоматизированном анализаторе и для проведения молекулярно-генетических исследований.

Клинический анализ крови выполнялся с использованием автоматического гематологического анализатора «Swelab Alfa» и прилагающихся к нему реагентов компании «Boule Medical AB» (Швеция). Определение СОЭ производилось стандартным методом Вестергрена в капиллярах.

Если для определения показателей общего анализа крови использовалась цельная кровь, то все остальные анализы выполнялись после ее центрифугирования 15 мин при 3000 об/мин (1760 g), которое осуществлялось на центрифуге лабораторной ОПН-3.02 «Дастан» (Киргизская республика). Выделенная сыворотка использовалась для определения биохимических показателей, гормонов, цитокинов, маркеров костного обмена. Клеточный осадок из пробирок с ЭДТА предназначался для молекулярно-генетических исследований.

Выделение ДНК и детекцию полиморфизмов (таблица 2.3) из выделенных клеточных элементов крови осуществляли с помощью коммерческих наборов производства «ДНК-Технология» (Москва, Россия) методом ПЦР в режиме реального времени согласно прилагающихся инструкций. Учет реакции производился на амплификаторе детектирующем ДТ-96 («ДНК-Технология», Москва, Россия).

Для определения биохимических показателей сыворотки крови (таблица 2.4) использовались автоматический биохимический анализатор «ChemWell-2910» (Awareness Technology Inc., США) и наборы реагентов «Global Scientific» (США), «Randox» (Великобритания), «Вектор-Бест» (Россия).

Цитокины в сыворотке крови определялись с помощью иммуноферментных тест систем производства «Вектор-Бест» (РФ, Новосибирская обл., п. Кольцово), «eBiosciences» (San Diego, CA, США), «Biomedica Medizinprodukte» (GmbH & Co KG, Австрия) согласно прилагающихся инструкций. Характеристика использованных наборов реагентов представлена в таблице 2.5. Учет результатов

производился при помощи анализатора иммуноферментного «LabLine-022» (LABLINE Diagnostics, Австрия).

Таблица 2.3

Исследованные полиморфизмы

Хромосома: позиция на хромосоме	Гены	Идентификатор*	Полиморфизм
17:50203629	<i>COL1A1</i>	rs1107946	-1997 C>A
17:50200388		rs1800012	1546 G>T [Sp1 S>s]
15:51237582	<i>CYP19A1</i>	rs2414096	A>G
15:51287401		rs936306	C>T
6:151842200	<i>ESR1</i>	rs2234693	-397 T>C [PvuII]
6:151842246		rs9340799	-351 G>A [XbaI]
7:22727026	<i>IL-6</i>	rs1800795	-174 G>C
11:68433827	<i>LRP5</i>	rs3736228	3989 C>T (Ala1330Val)
11:68406721		rs4988321	1999 G>A (Val667Met)
13:42378009	<i>TNFSF11</i>	rs9594738	C>T
13:42458457		rs9594759	C>T
8:118952749	<i>TNFRSF11B</i>	rs3134069	245 A>C
8:118952831		rs3102735	163 (160) T>C
8:118911634		rs4355801	A>G
12:47846052	<i>VDR</i>	rs1544410	283 A>G (BsmI)
12:47879112		rs10735810	2 A>G (Lys2Arg) (FokI)

Примечание: * – по базе данных dbSNP национального центра биотехнологической информации США.

Перечень исследованных биохимических показателей и характеристики наборов реагентов производства «Randox» (Великобритания), «Вектор-Бест» (Россия) и «Global Scientific» (США)

Производители	Показатели	Чувствительность / линейность
1	2	3
«Randox»	Аланинаминотрансфераза (АЛТ)	7,99 / 0-500,0 Ед/л
	Аспартатаминотрансфераза (АСТ)	9,3 / 0-562,0 Ед/л
	Билирубин общий	1,2 / 0-335,0 мкмоль/л
	Билирубин прямой	1,0 / 0-65,0 мкмоль/л
	Глюкоза натощак	0,013 / 0-22,2 ммоль/л
	Креатинин	14,0 / 0-2168,0 мкмоль/л
	Мочевина	0,1 / 0-50 ммоль/л
	Мочевая кислота	0,98 / 0-1189,0 мкмоль/л
	Калий (К)	2,46 / 0-11,2 ммоль/л
«Вектор-Бест»	Белок общий	2,0 / 10,0-120,0 г/л
	Альбумин	2,0 / 2,0-70,0 г/л
	Кальций (Са)	0,30 / 0,5-6,0 ммоль/л
	Фосфор (Р)	0,1 / 0,5-7,0 ммоль/л
«Global Scientific»	Щелочная фосфатаза (ЩФ)	1,0 / 0,0-1000,0 Ед/л
	Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП)	1,0 / 0,0-800,0 Ед/л
	Холестерин общий	0,1 / 0,0-18,3 ммоль/л
	Липопротеины высокой плотности (ЛПВП)	0,026 / 0,05-3,88 ммоль/л
	Липопротеины низкой плотности (ЛПНП)	0,026 / 0,0-18,1 ммоль/л
	Триглицериды	0,01 / 0,0-11,3 ммоль/л

1	2	3
«Global Scientific»	Альфа-амилаза	1,0 / 0,0-2000,0 Ед/л
	Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)	1,0 / 0,0-1000,0 Ед/л
	Магний (Mg)	0,02 / 0,0-2,0 ммоль/л
	Железо (Fe)	1,0 / 0,0-89,3 мкмоль/л
	Натрий (Na)	- / 80,0-180,0 ммоль/л
	Цинк (Zn)	1,0 / 0-61,2 мкмоль/л
	Медь (Cu)	1,0 / 0,0-78,65 мкмоль/л

Таблица 2.5

Перечень исследованных цитокинов и характеристики наборов реагентов

Производители	Показатели	Чувствительность / диапазон измерений
«Вектор-Бест»	Интерлейкин-1 β (IL-1 β)	1,0 / 0-250,0 пг/мл
	Интерлейкин-4 (IL-4)	0,4 / 0-100,0 пг/мл
	Интерлейкин-6 (IL-6)	0,5 / 0-300,0 пг/мл
	Интерлейкин-8 (IL-8)	2,0 / 0-250,0 пг/мл
	Интерлейкин-10 (IL-10)	1,0 / 0-500,0 пг/мл
	Фактор некроза опухоли - α (TNF- α)	1,0 / 0-250,0 пг/мл
	Интерферон-гамма (INF- γ)	1,0 / 0-1000,0 пг/мл
«eBiosciences»	Интерлейкин-17A (IL-17A)	0,5 / 1,6-100,0 пг/мл
«Biomedica Medizinprodukte»	Остеопротегерин (OPG)	1,4 / 0-400,0 пг/мл
	Лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL)	0,2 / 0-40,0 пг/мл

Уровни в сыворотке крови гормонов, 25(OH)D, маркеров костного обмена (таблица 2.6 и 2.7) исследовались с помощью анализатора иммуноферментного «LabLine-022» (LABLINE Diagnostics, Австрия) и электрохемилюминисцентного анализатора «Elecsys 2010» (Hoffman-La-Roche LTD, Швейцария).

Использовались наборы реагентов «Вектор-Бест» (Россия), «Хема» (Россия), «Алкор-Био» (Россия), «Biomerica Inc.» (США), «Hoffman-La-Roche LTD» (Швейцария).

Таблица 2.6

**Характеристики наборов реагентов производства «Алкор-Био» и «Хема»
(РФ)**

Производитель	Показатели	Чувствительность / диапазон измерений
«Алкор-Био»	Трийодтиронин свободный (Т3-св.)	0,5 / 0,0-60,0 пмоль/л
	Тироксин свободный (Т4-св.)	0,5 / 0,0-60,0 пмоль/л
	Тиреотропный гормон (ТТГ)	0,05 / 0,0-15,0 мкМЕ/мл
	Антитела к тиреопероксидазе (АТ-ТПО)	4,0 / 0-500,0 Ед/мл
	Антитела к тиреоглобулину (АТ-ТГ)	7,5 / 0,0-1200,0 Ед/мл
	Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	0,25 / 0-100,0 мМЕ/мл
	Лютеинизирующий гормон (ЛГ)	0,25 / 0-100,0 мМЕ/мл
	Тестостерон	0,2 / 0,0-50,0 нмоль/л
	Кортизол	10,0 / 0,0-2000 нмоль/л
	Пролактин	50,0 / 0,0-4500 мМЕ/л
	Дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭА-с)	0,04 / 0,0-10,0 мкг/мл
«Хема»	Тестостерон свободный	0,06 / 0,0-100,0 нг/л
	Эстрадиол	6,8 / 0,0-5440,0 пг/мл
	Соматотропный гормон (СТГ)	0,12 / 1,0-50,0 мМЕ/л

Характеристики наборов реагентов «Вектор-Бест» (РФ), «Biomerica Inc.» (США) и «Hoffman-La-Roche LTD» (Швейцария).

Производитель	Показатели	Чувствительность / диапазон измерений
«Вектор-Бест»	Инсулин	0,75 / 0-200 мМЕ/л
«Biomerica Inc.»	Кальцитонин	1,0 / 0-300,0 пг/мл
«Hoffman-La-Roche LTD»	25(OH)D	3,0 / 3,0-70,0 нг/мл
	Паратгормон интактный	1,2 / 1,2-5000,0 пг/мл
	N-концевой пропептид проколлагена I типа (P1NP)	5,0 / 5,0-1200,0 нг/мл
	Остеокальцин (ОС)	0,5 / 0,5-300,0 нг/мл
	Карбокси-терминальный телопептид коллагена I типа – β -CrossLaps (СТХ-1)	0,01 / 0,01-6,0 нг/мл

2.4. Статистические методы исследования

Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакетов прикладных программ «MedStat» и «IBM SPSS Statistics» (version 22). Расчет размера выборки показал, что количество отобранных в исследование женщин достаточен для выполнения поставленных задач.

Перед использованием методов описательной статистики производили проверку распределения количественных показателей на нормальность. При объеме выборки до 50 применяли Критерий Шапиро-Уилка, более 50 – критерий хи-квадрат (χ^2).

В случае нормального распределения показателей использовали параметрические статистические методы. Рассчитывали среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (δ), ошибку среднего (m), коэффициент парной

корреляции Пирсона (r). Для проверки гипотезы о равенстве средних значений двух несвязанных (независимых) выборок использовали двухвыборочный t -критерий Стьюдента, связанных выборок – парный t -критерий Стьюдента. При множественных сравнениях применяли метод Шеффе.

Если распределение отличалось от нормального применяли непараметрические методы. Определяли медиану, интерквартильный размах ($Q1-Q3$), коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s). Для сравнения центров двух независимых выборок использовался U -тест Манна-Уитни. При множественных сравнениях для трех независимых выборок применялся ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, а затем для парных сравнений – критерий Данна.

Для оценки соответствия распределения данных молекулярно-генетического тестирования закону Hardy-Weinberg использовали критерий χ^2 . Значимость различий в распределении генотипов и аллелей между группами оценивали при помощи χ^2 (анализ таблиц сопряженности – таблицы $k \times m$) и углового преобразования Фишера с учетом поправки Йейтса. Степень ассоциации генотипов и аллелей с заболеванием рассчитывали по величине отношения шансов (OR) с учетом 95% доверительного интервала (95% CI).

Статистически значимыми отличия считались при $p < 0,05$.

Для создания модели прогнозирования развития у женщин ОП использовали метод бинарной логистической регрессии. Вероятность заболевания рассчитывали по формуле:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \text{ где} \quad (1)$$

P – вероятность того, что произойдет интересующее событие;

e – основание натуральных логарифмов 2,71...;

Z – стандартное уравнение регрессии.

Значение Z определяли по формуле:

$$Z = B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + \dots + B_n \times X_n + A, \quad (2)$$

где $X_1 \dots X_n$ – значения независимых переменных (предикторы);

$B_1 \dots B_n$ – коэффициенты, полученные в результате выполнения бинарной логистической регрессии;

A – константа.

Показатель P выражали в процентах (от 0 до 100,0). Если в результате расчета значение P меньше 50,0%, то можно предположить, что заболевание не наступит, в противном случае ($P > 50,0\%$) предполагается развитие ОП.

Кроме того, для полученной модели рассчитывали ее чувствительность и специфичность, которые являются статистическими показателями эффективности предлагаемой прогностической формулы. Чувствительность показывает вероятность того, что женщина с наличием в последующем ОП будет классифицирована именно как женщина, у которой действительно разовьется заболевание. Специфичность же отражает вероятность того, что здоровая в будущем женщина будет классифицирована именно как женщина, которую не ожидает заболевание костной системы. Оба показателя выражали в процентах.

РАЗДЕЛ 3

КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ
ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА

С целью изучения клинико-анамнестических данных, особенностей образа жизни, питания у женщин постменопаузального возраста, имеющих ОП, было изучено 278 женщин. Исследовались возраст, рост и вес, ИМТ, длительность постменопаузального периода. При помощи структурированного вопросника выясняли анамнестические данные женщин в фертильном и постменопаузальном возрасте: возраст менархе и менопаузы, длительность постменопаузы, особенности менструального цикла, сексуальной жизни, возраст вступления в брак, количество детей и длительность кормления грудью, аборт, уровень физической активности в прошлом и настоящем, пищевой рацион, вредные привычки. Также изучалось количество низкоэнергетических переломов, уменьшение роста от максимального в молодом возрасте, интенсивность болевого синдрома в суставах (субъективно по 10-ти бальной шкале), наличие хронических заболеваний.

Выполненные исследования показали (таблица 3.1), что выделенные три группы женщин существенно не отличались на момент обследования возрастом ($p=0,295$) и длительностью постменопаузального периода ($p=0,156$). Тем не менее, корреляционный анализ позволил выявить обратные связи ($p<0,05$) двух вышеуказанных факторов с показателями МПК шейки ($r_s=-0,25$ и $r_s=-0,23$ соответственно) и всего проксимального отдела ($r_s=-0,26$ и $r_s=-0,21$ соответственно) левого бедра, шейки правого бедра ($r_s=-0,23$ и $r_s=-0,29$ соответственно). Кроме того, возраст женщин имел отрицательную корреляцию с МПК поясничных позвонков L1-L4 ($r_s=-0,13$; $p<0,05$), а длительность постменопаузы – с МПК всего проксимального отдела правого бедра ($r_s=-0,19$; $p<0,05$).

**Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) основных
возрастных и антропометрических показателей женщин
постменопаузального возраста, имеющих остеопению и ОП (на момент
обследования)**

Показатели	Здоровые (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)	P	P между группами:
Возраст (лет)	61,0 (55,0-66,0)	63,0 (58,0-71,0)	62,0 (56,0-69,0)	0,295	-
Рост (см)	164,0 (158,0-168,0)	160,0 (155,0-165,0)	160,0 (156,0-164,0)	0,004	1-2: <0,05 1-3: <0,01
Уменьшение роста (см)	0,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-3,0)	3,0 (1,0-5,0)	<0,001	1-3: <0,01 2-3: <0,01
Вес (кг)	87,0 (75,0-98,0)	72,0 (65,0-80,0)	65,0 (57,0-75,0)	<0,001	1-2: <0,01 1-3: <0,01 1-3: <0,01
ИМТ	32,4 (29,1-36,0)	28,3 (25,4-31,6)	25,5 (23,3-28,9)	<0,001	1-2: <0,01 1-3: <0,01 1-3: <0,01
Длительность постменопаузы (лет)	11,0 (6,0-19,0)	13,0 (7,0-22,0)	15,0 (9,0-21,0)	0,156	-

Следует отметить, что пациенты с остеопенией и ОП по сравнению с контрольной группой имели существенно ($p < 0,05$ – $p < 0,01$) сниженные показатели роста, веса и ИМТ. Причем, больные ОП отличались показателями массы тела и ИМТ также и от лиц, имеющих остеопению ($p < 0,01$). Кроме того, у женщин с ОП была установлена более выраженная динамика снижения роста, чем в контрольной группе и среди пациентов с остеопенией ($p < 0,01$).

Анализ изученных клинико-anamnestических данных (таблица 3.2) у женщин в репродуктивном периоде показал, что в отличие от здоровых и лиц с остеопенией женщины с ОП характеризовались ранним менархе ($p < 0,05$) и более коротким менструальным циклом ($p < 0,01$). При этом не было выявлено различий между изучаемыми группами ($p > 0,05$) по частоте регистрации аменореи и меноррагий, возрасту начала регулярных сексуальных контактов и вступления в брак, количеству беременностей, аборт и детей, длительности грудного вскармливания и приема противозачаточных средств, частоты занятий физическими упражнениями в детском и репродуктивном возрасте. Следует отметить, что наличие ОП сочеталось с близкой к достоверности тенденцией к более раннему наступлению менопаузы ($p = 0,061$).

Оценка состояния здоровья женщин показала, что три группы обследованных существенно не отличались по клиническим признакам иммунных нарушений. Не было выявлено различий групп по частоте простудных заболеваний, бронхитов и пневмоний, отитов и синуситов, грибковых поражений, аллергической патологии ($p > 0,05$). Показатели частоты имеющих у женщин гинекологической патологии (аднексит, кольпит), заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (холецистит, панкреатит, гастрит) также не имели связи с остеопоротическими изменениями ($p > 0,05$).

Анализ же основных клинических признаков поражения костной системы показал, что больные ОП по данным анамнеза имели большее количество низкоэнергетических переломов, чем женщины здоровые и с признаками остеопении ($p < 0,01$). Кроме того, на момент обследования ОП сочетался с более выраженным болевым синдромом в зоне грудного ($p < 0,01$) и поясничного ($p < 0,05$) отделов позвоночника. При этом женщины с остеопенией и ОП не различались между собой и не отличались от контрольной группы по интенсивности болей в мелких суставах стоп и кистей, в суставах голеностопных, лучезапястных, коленных, тазобедренных, плечевых, локтевых и шейного отдела позвоночника ($p > 0,05$).

Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) клинико-анамнестических данных женщин постменопаузального возраста, имеющих остеопению и ОП

Показатели	Здоровые (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)	P	P между группами:
Возраст менархе, лет	15,0 (14,0-17,0)	14,0 (13,0-16,0)	14,0 (13,0-16,0)	0,020	1-2: <0,05 1-3: <0,05
Длительность цикла, дней	28,0 (27,0-30,0)	28,0 (26,0-28,0)	28,0 (25,0-28,0)	<0,001	1-2: <0,01 1-3: <0,01
Количество беременностей	2,0 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-2,0)	0,083	-
Количество детей	2,0 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-2,0)	0,119	-
Возраст менопаузы, лет	50,0 (48,0-52,0)	50,0 (47,0-52,0)	49,0 (45,0-52,0)	0,061	-
Половые контакты (в мес.) в период постменопаузы	3,0 (1,0-4,0)	1,0 (0,0-2,0)	0,0 (0,0-1,0)	<0,001	1-2: <0,01 1-3: <0,01 2-3: <0,01
Боль в отделах позвоночника:					
-грудной	0,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-4,0)	3,0 (0,0-5,0)	<0,001	1-3: <0,01 2-3: <0,01
-поясничный	5,0 (1,0-6,0)	5,0 (3,0-6,0)	6,0 (5,0-8,0)	<0,001	1-3: <0,01 2-3: <0,05
Переломы, количество	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-1,0)	1,0 (0,0-2,0)	<0,001	1-3: <0,01 2-3: <0,01

В таблице 3.3 представлены результаты анкетирования женщин по длительности их пребывания на солнце и особенностям пищевого рациона. В постменопаузальный период для пациентов с остеопенией и ОП было свойственно меньшее количество часов пребывания на солнце ($p < 0,01$). Изучение пищевого рациона показало, что наличие остеопении и ОП у женщин сочеталось с низким потреблением молочных сыров и творога ($p < 0,05$). При этом остеопоротические нарушения скелета женщин не обнаруживали ассоциаций ($p > 0,05$) с потреблением молока и других жидких молочных продуктов, кофе, сладких газированных напитков (кока-кола и др.), а также с вредными привычками – приемом алкоголя (пиво, вино, крепкие алкогольные напитки), курением.

Таблица 3.3

Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) данных об интенсивности солнечной инсоляции и пищевом рационе женщин постменопаузального возраста, имеющих остеопению и ОП

Показатели	Здоровые (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)	P	P между группами:
Пребывание на солнце, час/год	177,0 (104-455)	104,0 (0,0-232)	0,0 (0,0-130)	<0,001	1-2: <0,01 1-3: <0,01 2-3: <0,01
Молоко и жидкие кисломолочные продукты, мл/день	200,0 (100-300)	200,0 (66,7-200)	100,0 (50,0-250)	0,123	-
Творог и/или сыр, грамм/день	100,0 (50,0-150,0)	60,0 (50,0-100,0)	75,0 (30,0-100,0)	0,004	1-2: <0,01 1-3: <0,05
Алкоголь, грамм спирта/день	6,0 (0,0-40,0)	20,0 (0,0-63,0)	25,0 (0,0-65,0)	0,100	-

Таким образом, выполненные исследования позволили установить ассоциации остеопоротических изменений у женщин в постменопаузе с отдельными показателями, полученными при клинико-анамнестическом обследовании ($p < 0,05$). Установлены связи постменопаузального ОП со сниженными значениями роста, веса, индекса массы тела, возраста менархе, длительности менструального цикла, сексуальной активности, времени пребывания на солнце, уровня потребления молочных сыров и творога, а также с повышенными показателями возраста и длительности постменопаузального периода ($p < 0,05$). Женщины с ОП характеризуются увеличением количества низкоэнергетических переломов, динамикой снижения роста и выраженным болевым синдромом в грудном и поясничном отделе позвоночника ($p < 0,05$). Полученные данные целесообразно использовать для определения прогноза и ранней диагностики постменопаузального ОП, при назначении лечебно-профилактических мероприятий.

РАЗДЕЛ 4

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО
ОСТЕОПОРОЗА**4.1. Ассоциации полиморфизмов генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR* с постменопаузальным остеопорозом**

На первом этапе исследования ассоциаций генетических маркеров с развитием постменопаузального ОП были проанализированы частоты генотипов и аллелей всех изученных полиморфизмов среди пациентов с ОП и остеопенией, а также у здоровых женщин (таблица 4.1). Выполненная статистическая обработка материала показала наличие связей ($p < 0,05$) с заболеванием костной системы женщин в постменопаузе 7 из 16 полиморфизмов:

- rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1*;
- rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1*;
- rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val) гена *LRP5*;
- rs9594738 (C>T) и rs9594759 (C>T) гена *TNFSF11*;
- rs3134069 (245 A>C) и rs3102735 (163 T>C) гена *TNFRSF11B*.

Было установлено, что в группе больных с постменопаузальным ОП чаще чем среди всех остальных регистрируются генотипы GT или TT (GT+TT) полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* (OR=2,28; 95% CI: 1,52-3,41; $p < 0,001$) и аллель T (OR=1,96; 95% CI: 1,40-2,74; $p < 0,001$).

Если различия в распределении генотипов полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* имели только лишь тенденцию к статистической значимости ($p = 0,058$), то частоты аллелей вышеуказанного полиморфизма существенно отличались в трех сравниваемых группах ($p = 0,022$). При этом в группе женщин, имеющих ОП, было повышена встречаемость аллеля T (OR=1,48; 95% CI: 1,12-1,95; $p = 0,007$).

Аналогичная картина в распределении генотипов и аллелей была свойственна и полиморфизму rs3736228 гена *LRP5*. Взаимосвязей генотипов CC, CT и TT с остеопоротическими нарушениями скелета обнаружено не было ($p = 0,072$), тогда

как для аллеля Т данного полиморфизма была характерна повышенная частота при ОП (OR=1,61; 95% CI: 1,11-2,32; p=0,018).

Таблица 4.1

Частота генотипов и аллелей полиморфизмов генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR* у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и постменопаузальным ОП

Ген, полиморфизм	Генотипы и аллели	Количество обладателей генотипов и аллелей в группах			P
		Остеопороз, n=148	Остеопения, n=219	Здоровые, n=116	
1	2	3	4	5	6
<i>COL1A1</i> , rs1107946 (-1997 C>A)	CC	97 (65,5)	156 (71,2)	85 (73,3)	0,229
	CA	45 (30,4)	61 (27,9)	29 (25,0)	
	AA	6 (4,1)	2 (0,9)	2 (1,7)	
	C	239 (80,7)	373 (85,2)	199 (85,8)	0,191
	A	57 (19,3)	65 (14,8)	33 (14,2)	
<i>COL1A1</i> , rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s)	GG	80 (54,1)	154 (70,3)	90 (77,6)	0,001
	GT	61 (41,2)	59 (26,9)	24 (20,7)	
	TT	7 (4,7)	6 (2,7)	2 (1,7)	
	G	221 (74,7)	367 (83,8)	204 (87,9)	<0,001
	T	75 (25,3)	71 (16,2)	28 (12,1)	
<i>CYP19A1</i> , rs2414096	AA	31 (20,9)	52 (23,7)	35 (30,2)	0,404
	AG	73 (49,3)	103 (47,0)	55 (47,4)	
	GG	44 (29,7)	64 (29,2)	26 (22,4)	
	A	135 (45,6)	207 (47,3)	125 (53,9)	0,139
	G	161 (54,4)	231 (52,7)	107 (46,1)	
<i>CYP19A1</i> , rs936306	CC	103 (69,6)	135 (61,6)	69 (59,5)	0,179
	CT	37 (25,0)	73 (33,3)	44 (37,9)	
	TT	8 (5,4)	11 (5,0)	3 (2,6)	
	C	243 (82,1)	343 (78,3)	182 (78,4)	0,433
	T	53 (17,3)	95 (21,7)	50 (21,6)	

1	2	3	4	5	6
<i>ESR1</i> , rs2234693 (-397 T>C, PvuII)	TT	52 (35,1)	63 (28,8)	31 (26,7)	0,058
	TC	75 (50,7)	98 (44,7)	55 (47,4)	
	CC	21 (14,2)	58 (26,5)	30 (25,9)	
	T	179 (60,5)	224 (51,1)	117 (50,4)	0,022
	C	117 (39,5)	214 (48,9)	115 (49,6)	
<i>ESR1</i> , rs9340799 (-351 G>A, XbaI)	GG	23 (15,5)	32 (14,6)	17 (14,7)	0,652
	GA	72 (48,6)	96 (43,8)	47 (40,5)	
	AA	53 (35,8)	91 (41,6)	52 (44,8)	
	G	118 (39,9)	160 (36,5)	81 (34,9)	0,472
	A	178 (60,1)	278 (63,5)	151 (65,1)	
<i>IL-6</i> , rs1800795 (-174 G>C)	GG	37 (25,0)	43 (19,6)	26 (22,4)	0,464
	GC	74 (50,0)	123 (56,2)	55 (47,4)	
	CC	37 (25,0)	53 (24,2)	35 (30,2)	
	G	148 (50,0)	209 (47,7)	107 (46,1)	0,665
	C	148 (50,0)	229 (52,3)	125 (53,9)	
<i>LRP5</i> , rs4988321 (1999 G>A, Val667Met)	GG	124 (83,8)	193 (88,1)	104 (89,7)	0,441
	GA	24 (16,2)	25 (11,4)	12 (10,3)	
	AA	0 (0,0)	1 (0,5)	0 (0,0)	
	G	272 (91,9)	411 (93,8)	220 (94,8)	0,367
	A	24 (8,1)	27 (6,2)	12 (5,2)	
<i>LRP5</i> , rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val)	CC	96 (64,9)	172 (78,5)	84 (72,4)	0,072
	CT	48 (32,4)	44 (20,1)	29 (25,0)	
	TT	4 (2,7)	3 (1,4)	3 (2,6)	
	C	240 (81,1)	388 (88,6)	197 (84,9)	0,018
	T	56 (18,9)	50 (11,4)	35 (15,1)	

1	2	3	4	5	6
<i>TNFSF11</i> , rs9594738 (C>T)	CC	27 (18,2)	61 (27,9)	51 (44,0)	<0,001
	CT	75 (50,7)	107 (48,9)	58 (50,0)	
	TT	46 (31,1)	51 (23,3)	7 (6,0)	
	C	129 (43,6)	229 (52,3)	160 (69,0)	<0,001
	T	167 (56,4)	209 (47,7)	72 (31,0)	
<i>TNFSF11</i> , rs9594759 (C>T)	CC	18 (12,2)	56 (25,6)	41 (35,3)	<0,001
	CT	85 (57,4)	103 (47,0)	53 (45,7)	
	TT	45 (30,4)	60 (27,4)	22 (19,0)	
	C	121 (40,9)	215 (49,1)	135 (58,2)	<0,001
	T	175 (59,1)	223 (50,9)	97 (41,8)	
<i>TNFRSF11B</i> , rs3134069 (245 A>C)	AA	119 (80,4)	204 (93,2)	101 (87,1)	0,002
	AC	26 (17,6)	15 (6,8)	15 (12,9)	
	CC	3 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	A	264 (89,2)	423 (96,6)	217 (93,5)	<0,001
	C	32 (10,8)	15 (3,4)	15 (6,5)	
<i>TNFRSF11B</i> , rs4355801 (A>G)	AA	32 (21,6)	45 (20,5)	22 (19,0)	0,626
	AG	71 (48,0)	117 (53,4)	55 (47,4)	
	GG	45 (30,4)	57 (26,0)	39 (33,6)	
	A	135 (45,6)	207 (47,3)	99 (42,7)	0,525
	G	161 (54,4)	231 (52,7)	133 (57,3)	
<i>TNFRSF11B</i> , rs3102735 (163 T>C)	TT	103 (69,6)	181 (82,6)	86 (74,1)	0,009
	TC	41 (27,7)	37 (16,9)	30 (25,9)	
	CC	4 (2,7)	1 (0,5)	0 (0,0)	
	T	247 (83,4)	399 (91,1)	202 (87,1)	0,007
	C	49 (16,6)	39 (8,9)	30 (12,9)	

1	2	3	4	5	6
VDR, rs1544410 (283 A>G, BsmI)	AA	17 (11,5)	32 (14,6)	15 (12,9)	0,322
	AG	67 (45,3)	114 (52,1)	52 (44,8)	
	GG	64 (43,2)	73 (33,3)	49 (42,2)	
	A	101 (34,1)	178 (40,6)	82 (35,3)	0,178
	G	195 (65,9)	260 (59,4)	150 (64,7)	
VDR, rs10735810 (2 A>G, FokI)	AA	30 (20,3)	63 (28,8)	29 (25,0)	0,412
	AG	79 (53,4)	106 (48,4)	55 (47,4)	
	GG	39 (26,4)	50 (22,8)	32 (27,6)	
	A	139 (47,0)	232 (53,0)	113 (48,7)	0,248
	G	157 (53,0)	206 (47,0)	119 (51,3)	

В отличие от полиморфизмов rs2234693 гена *ESR1* и rs3736228 гена *LRP5* частоты генотипов и аллелей полиморфизмов rs9594738 и rs9594759 гена *TNFSF11* достоверно различались между тремя выделенными группами ($p < 0,001$). В группе женщин с ОП чаще обнаруживался генотип ТТ и аллель Т полиморфизма rs9594738 (соответственно $OR=2,15$; 95% CI: 1,38-3,37; $p=0,002$ и $OR=1,79$; 95% CI: 1,36-2,36; $p < 0,001$), а также аллель Т полиморфизма rs9594759 ($OR=1,58$; 95% CI: 1,20-2,09; $p=0,001$). Кроме того, наличие ОП сочеталось с пониженной регистрацией генотипа СС полиморфизма rs9594759 ($OR=0,34$; 95% CI: 0,20-0,59; $p < 0,001$).

Два из трех исследованных полиморфизмов гена *TNFRSF11B* также обнаружили ассоциацию с постменопаузальным ОП. У женщин при наличии заболевания чаще встречались генотипы АС или СС ($OR=2,48$; 95% CI: 1,43-4,31; $p=0,003$) и аллель С ($OR=2,59$; 95% CI: 1,54-4,34; $p < 0,001$) полиморфизма rs3134069. Для ОП была установлена также связь с наличием генотипов ТС или СС ($OR=1,72$; 95% CI: 1,11-2,66; $p=0,025$) и аллеля С ($OR=1,73$; 95% CI: 1,16-2,57; $p=0,011$) полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B*.

Таким образом, выполненные молекулярно-генетические исследования у женщин постменопаузального возраста показали, что факторами риска ($p < 0,05$) развития ОП являются генотипы GT или TT (GT+TT) и аллель T полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*, аллель T полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*, аллель T полиморфизма rs3736228 гена *LRP5*, генотип TT и аллель T полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*, аллель T полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11*, генотипы AC или CC (AC+CC) и аллель C полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B*, а также генотипы TC или CC (TC+CC) и аллель C полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B*.

Следует отметить, что вышеизложенные результаты исследования были получены при использовании стандартного подхода к разделению женщин на три группы. В группу женщин с ОП были отнесены лица, у которых при денситометрии хотя бы в одном участке скелета (или в позвонках L1-L4, или в шейке бедра, или в проксимальном отделе бедра) T-критерий был меньше и равнялся -2,5. Аналогичным образом формировалась и группа женщин с остеопенией – как минимум в одной из исследуемых зон костной системы значение T-критерия должно было быть ниже -1,0 (до -2,5) стандартных отклонений. Вместе с тем, при изучении ассоциаций генетических маркеров с остеопоротическими нарушениями необходимо учитывать, по крайней мере, одну особенность ОП. Течение заболевания может сопровождаться изменениями в одних участках скелета при совершенно нормальном состоянии других и наоборот, что может быть обусловлено, в том числе, особенностями строения различных типов костей и различными механизмами влияния тех или иных генов на процессы их ремоделирования.

Поэтому на втором этапе исследования ассоциации генетических маркеров с остеопоротическими изменениями оценивались отдельно по каждому участку денситометрии скелета женщин.

4.2. Ассоциации полиморфизма rs1107946 (-1997 C>A) гена *COL1A1* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

В общей группе обследованных женщин распределение генотипов полиморфизма rs1107946 (-1997 C>A) гена *COL1A1* соответствовало закону Hardy-Weinberg (таблица 4.2). При этом частота аллеля С вышеуказанного полиморфизма составила 0,840, а аллеля А – 0,160.

Таблица 4.2

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* у обследованных женщин (n=483)

Генотипы полиморфизма rs1107946 гена <i>COL1A1</i>	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		χ^2	P
	абс	%	абс	%		
СС	338	70,0	340,4	70,5	0,68	0,41
СА	135	27,9	130,1	26,9		
АА	10	2,1	12,5	2,6		
Всего	483	100,0	483	100,0		

В таблице 4.3 представлены данные молекулярно-генетических исследований женщин в зависимости от результатов остеоденситометрии поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела предплечья. Выполненный анализ показал, что показатели частоты встречаемости генотипов СС, СА и АА, а также аллелей С и А полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* существенно не различались в группах здоровых лиц и пациентов с остеопенией и ОП ($p>0,05$) в вышеуказанных зонах денситометрии.

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела
предплечья**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне поясничных позвонков L1-L4 (n=483)							
CC	91	72,8	117	68,0	130	69,9	0,51
CA	32	25,6	49	28,5	54	29,0	
AA	2	1,6	6	3,5	2	1,1	
C	214	85,6	283	82,3	314	84,4	0,53
A	36	14,4	61	17,7	58	15,6	
на уровне дистального отдела предплечья (n=96)							
CC	24	75,0	29	76,3	24	92,3	0,19
CA	8	25,0	9	23,7	2	7,7	
AA	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
C	56	87,5	67	88,2	50	96,2	0,23
A	8	12,5	9	11,8	2	3,8	

Изучение влияния полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 на остеопоротические изменения кости в зоне всего проксимального отдела левого бедра показало наличие неравномерного распределения как генотипов ($p=0,002$), так и аллелей ($p<0,001$) в исследуемых группах женщин (таблица 4.4). Больные с ОП характеризовались сниженной частотой регистрации генотипа CC и повышенной – генотипа CA по сравнению с контрольной группой (OR=0,32; 95% CI: 0,16-0,61; $p=0,001$ и OR=2,55; 95% CI: 1,32-4,93; $p=0,011$ соответственно) и с женщинами, имеющими остеопению (OR=0,32; 95% CI: 0,16-0,62; $p=0,002$ и

OR=2,68; 95% CI: 1,37-5,27; p=0,009 соответственно). Наряду с этим, наличие ОП на уровне всего проксимального отдела левого бедра в отличие от остеопении и здорового состояния костной ткани сочеталось с более редким выявлением аллеля С (OR=0,39; 95% CI: 0,23-0,67; p=0,002 и OR=0,38; 95% CI: 0,23-0,64; p=0,001 соответственно) и увеличенной регистрацией аллеля А (OR=2,56; 95% CI: 1,50-4,35; p=0,002 и OR=2,63; 95% CI: 1,57-4,42; p=0,001 соответственно).

Таблица 4.4

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне всего проксимального отдела левого бедра и шейки левого бедра

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена <i>COL1A1</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	abc	%	abc	%	abc	%	
на уровне всего проксимального отдела левого бедра (n=480)							
CC	20	45,5	140	72,5	176	72,4	0,002
CA	21	47,7	49	25,4	64	26,4	
AA	3	6,8	4	2,1	3	1,2	
C	61	69,3	329	85,2	416	85,6	<0,001
A	27	30,7	57	14,8	70	14,4	
на уровне шейки левого бедра (n=384)							
CC	22	51,2	140	67,3	97	72,9	0,012
CA	17	39,5	64	30,8	34	25,6	
AA	4	9,3	4	1,9	2	1,5	
C	61	70,9	344	82,7	228	85,7	0,007
A	25	29,1	72	17,3	38	14,3	

Следует отметить, что аналогичной направленности связи генотипов ($p=0,012$) и аллелей ($p=0,007$) полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* были установлены с остеопоротическими изменениями и в зоне шейки левого бедра. При сравнении с контрольной группой у женщин с ОП шейки левого бедра реже выявлялся генотип CC (OR=0,39; 95% CI: 0,19-0,79; $p=0,017$) и аллель C (OR=0,41; 95% CI: 0,23-0,73; $p=0,006$), и, наоборот, значительно чаще – аллель A (OR=2,46; 95% CI: 1,38-4,39; $p=0,006$). Кроме того, в группе пациентов с ОП шейки левого бедра по сравнению со всеми остальными женщинами была установлена несколько не достигающая достоверности тенденция ($p=0,064$) к повышенному накоплению генотипа AA.

Результаты денситометрии всего проксимального отдела правого бедра также имели ассоциации с генотипами ($p=0,021$) и аллелями ($p=0,005$) полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* (таблица 4.5). Установлено, что генотип CC у больных с ОП имел более низкую частоту регистрации, чем среди здоровых лиц (OR=0,25; 95% CI: 0,09-0,67; $p=0,011$) и пациентов с остеопенией (OR=0,30; 95% CI: 0,11-0,82; $p=0,033$). Генотип же CA имел близкую к статистической значимости тенденцию ($p=0,072$) к повышенной частоте в группе больных ОП по сравнению с контрольными данными. Кроме того, наличие ОП по сравнению с остеопенией и нормальными данными денситометрии всего проксимального отдела правого бедра ассоциировалось с более низкой частотой выявления аллеля C (OR=0,40; 95% CI: 0,19-0,83; $p=0,034$ и OR=0,31; 95% CI: 0,15-0,65; $p=0,007$ соответственно) и повышенной – аллеля A (OR=2,49; 95% CI: 1,20-5,16; $p=0,034$ и OR=3,18; 95% CI: 1,54-6,59; $p=0,007$ соответственно).

Установленная неравномерность распределения ($p<0,001$) маркеров изученного полиморфизма у женщин в зависимости от состояния костной ткани шейки правого бедра также была обусловлена особенностями генетического профиля женщин, имеющих ОП. Среди больных ОП шейки правого бедра было снижено количество носителей генотипа CC как по сравнению со здоровыми (OR=0,25; 95% CI: 0,12-0,53; $p<0,001$), так и с лицами, имеющими остеопению (OR=0,23; 95% CI: 0,11-0,47; $p<0,001$).

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне всего проксимального отдела правого бедра и шейки правого
бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне всего проксимального отдела правого бедра (n=303)							
CC	7	36,9	85	65,9	109	70,3	0,021
CA	10	52,6	39	30,2	44	28,4	
AA	2	10,5	5	3,9	2	1,3	
C	24	63,2	209	81,0	262	84,5	0,005
A	14	36,8	49	19,0	48	15,5	
на уровне шейки правого бедра (n=303)							
CC	15	36,6	110	71,9	76	69,7	<0,001
CA	21	51,2	41	26,8	31	28,5	
AA	5	12,2	2	1,3	2	1,8	
C	51	62,2	261	85,3	183	83,9	<0,001
A	31	37,8	45	14,7	35	16,1	

Женщин с ОП от здоровых лиц и пациентов с остеопенией отличала также повышенная частота регистрации генотипов CA (OR=2,64; 95% CI: 1,26-5,54; p=0,019 и OR=2,87; 95% CI: 1,41-5,83; p=0,008 соответственно) и AA (OR=7,43; 95% CI: 1,38-40,0; p=0,044 и OR=10,5; 95% CI: 1,96-56,2; p=0,018 соответственно). Кроме того, в группе больных ОП в зоне шейки правого бедра по сравнению со здоровыми и женщинами с признаками остеопении значительно реже (p<0,001) обнаруживался аллель C (OR=0,32; 95% CI: 0,18-0,56 и OR=0,28; 95% CI: 0,16-

0,49 соответственно) при существенно повышенной ($p < 0,001$) частоте аллеля А (OR=3,18; 95% CI: 1,79-5,65 и OR=3,53; 95% CI: 2,04-6,09 соответственно).

Таким образом, при обследовании женщин в постменопаузальном возрасте установлено неравномерное распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* среди здоровых лиц и пациентов с остеопенией и ОП в проксимальных отделах левого ($p=0,002$ и $p < 0,001$ соответственно) и правого ($p=0,021$ и $p=0,005$ соответственно) бедра, в том числе шеек левой ($p=0,012$ и $p=0,007$ соответственно) и правой ($p < 0,001$) бедренных костей. Предиктором постменопаузального ОП бедренных костей является аллель А ($p < 0,05$). Генотип AA полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* имеет связь с повышенным риском ОП шейки правого бедра ($p=0,044$) и близкую к достоверности ассоциацию с аналогичной патологией шейки левого бедра ($p=0,064$). Роль полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* в развитии остеопении и ОП в области поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела предплечья недоминантной руки не установлена ($p > 0,05$). Полученные данные могут быть использованы для выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин в постменопаузе и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

4.3. Ассоциации полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Проведенные исследования показали, что в общей группе обследованных женщин генотипы GG, GT и TT полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1* регистрировались в 324 (67,1%), 144 (29,8%) и 15 (3,1%) случаях соответственно. При этом частота аллеля G составила 0,82, а аллеля T – 0,18. Установленное распределение генотипов в общей группе обследованных соответствовало закону Hardy-Weinberg ($\chi^2=0,04$; $P=0,84$).

Анализ результатов молекулярно-генетического анализа в выделенных группах женщин по зонам выполнения денситометрии показал, что здоровые

женщины и пациенты с ОП и остеопенией существенно ($p=0,024 - p<0,001$) различались между собой как по частоте изученных генотипов, так и аллелей вышеуказанного полиморфизма (таблица 4.6, таблица 4.7, таблица 4.8). Исключение составило лишь несколько не достигающая достоверности тенденция к различиям ($\chi^2=8,18$; $p=0,085$) в распределении генотипов между тремя группами женщин в зависимости от состояния костей дистального отдела предплечья (таблица 4.6).

Таблица 4.6

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела
предплечья**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
на уровне поясничных позвонков L1-L4, n=483				
GG, n (%)	73 (58,4)	106 (61,6)	145 (77,9)	0,001
GT, n (%)	47 (37,6)	58 (33,7)	39 (21,0)	
TT, n (%)	5 (4,0)	8 (4,7)	2 (1,1)	
G, n (%)	193 (77,2)	270 (78,5)	329 (88,4)	<0,001
T, n (%)	57 (22,8)	74 (21,5)	43 (11,6)	
на уровне дистального отдела предплечья, n=96				
GG, n (%)	21 (65,6)	34 (89,5)	20 (76,9)	0,085
GT, n (%)	9 (28,1)	4 (10,5)	6 (23,1)	
TT, n (%)	2 (6,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	
G, n (%)	51(79,7)	72 (94,7)	46 (88,5)	0,024
T, n (%)	13 (20,3)	4 (5,3)	6 (11,5)	

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне всего проксимального отдела левого бедра и шейки левого
бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
на уровне всего проксимального отдела левого бедра, n=480				
GG, n (%)	20 (45,5)	111 (57,5)	191 (78,6)	<0,001
GT, n (%)	19 (43,2)	75 (38,9)	49 (20,2)	
TT, n (%)	5 (11,3)	7 (3,6)	3 (1,2)	
G, n (%)	59 (67,0)	297 (76,9)	431 (88,7)	<0,001
T, n (%)	29 (33,0)	89 (23,1)	55 (11,3)	
на уровне шейки левого бедра, n=384				
GG, n (%)	19 (44,2)	126 (60,6)	102 (76,7)	0,001
GT, n (%)	22 (51,2)	73 (35,1)	29 (21,8)	
TT, n (%)	2 (4,6)	9 (4,3)	2 (1,5)	
G, n (%)	60 (69,8)	325 (78,1)	233 (87,6)	<0,001
T, n (%)	26 (30,2)	91 (21,9)	33 (12,4)	

Установлено, что патологические изменения поясничных позвонков L1-L4 имели ассоциации с генотипами GG и GT, а также с аллелями G и T полиморфизма rs1800012 гена COL1A1. По сравнению со здоровыми лицами в объединенной группе женщин с ОП и остеопенией на уровне поясничных позвонков значительно реже регистрировались генотип GG (OR=0,43; 95% CI: 0,28-0,65; p<0,001) и аллель G (OR=0,46; 95% CI: 0,32-0,67; p<0,001). В то же время у них была повышена выявляемость генотипа GT (OR=2,06; 95% CI: 1,35-3,16; p=0,001) и аллеля T (OR=2,17; 95% CI: 1,49-3,14; p<0,001), а также несколько

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне всего проксимального отдела правого бедра и шейки правого
бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена <i>COL1A1</i> среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
на уровне всего проксимального отдела правого бедра, n=303				
GG, n (%)	8 (42,1)	73 (56,6)	112 (72,3)	0,012
GT, n (%)	10 (52,6)	48 (37,2)	40 (25,8)	
TT, n (%)	1 (5,3)	8 (6,2)	3 (1,9)	
G, n (%)	26 (68,4)	194 (75,2)	264 (85,2)	0,002
T, n (%)	12 (31,6)	64 (24,8)	46 (14,8)	
на уровне шейки правого бедра, n=303				
GG, n (%)	17 (41,4)	93 (60,8)	83 (76,2)	0,002
GT, n (%)	22 (53,7)	52 (34,0)	24 (22,0)	
TT, n (%)	2 (4,9)	8 (5,2)	2 (1,8)	
G, n (%)	56 (68,3)	238 (77,8)	190 (87,2)	<0,001
T, n (%)	26 (31,7)	68 (22,2)	28 (12,8)	

не достигающая статистической значимости тенденция к увеличению частоты генотипа TT (OR=4,21; 95% CI: 0,94-18,90; p=0,077).

При изучении влияния полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* на показатели костной ткани предплечья установлено, что среди женщин, имеющих ОП, по сравнению с остальными реже встречались носители аллеля G (OR=0,33; 95% CI: 0,14-0,81; p=0,03), и, наоборот, чаще лица с аллелем T (OR=3,01; 95% CI: 1,24-7,31; p=0,03). При этом частота гомозигот GG среди пациентов с ОП на уровне дистального отдела предплечья характеризовалась близкой к достоверности тенденцией к снижению (OR=0,35; 95% CI: 0,13-0,96; p=0,078).

Полиморфизм rs1800012 гена *COL1A1* имел ассоциации также и с изменениями проксимального отдела левого бедра. Генотип GG значительно реже по сравнению со здоровыми женщинами встречался у пациентов с ОП и остеопенией как на уровне всего проксимального отдела бедра (соответственно OR=0,23; 95% CI: 0,12-0,44; p<0,001 и OR=0,37; 95% CI: 0,24-0,56; p<0,001), так и шейки левого бедра (соответственно OR=0,24; 95% CI: 0,12-0,50; p<0,001 и OR=0,47; 95% CI: 0,29-0,76; p=0,003). В отличие от генотипа GG сочетание аллелей GT регистрировалось чаще при ОП и остеопении на уровне всего проксимального отдела бедра в 3,01 (OR=3,01; 95% CI: 1,53-5,90; p=0,004) и 2,52 (OR=2,52; 95% CI: 1,64-3,86; p<0,001) раза соответственно, а в зоне шейки левого бедра – в 3,76 (OR=3,76; 95% CI: 1,82-7,76; p<0,001) и 1,94 (OR=1,94; 95% CI: 1,18-3,20; p=0,013) раза соответственно. Следует отметить, что женщины с ОП в зоне всего проксимального отдела левого бедра по сравнению с контрольной группой также значительно чаще имели и гомозиготу TT (OR=10,26; 95% CI: 2,36-44,64; p=0,013).

Анализ распределения аллелей полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* в выделенных группах показал, что наличие ОП проксимального отдела левого бедра и шейки левого бедра характеризовалось увеличением частоты встречаемости аллеля T (OR=3,85; 95% CI: 2,28-6,52; p<0,001 и OR=3,06; 95% CI: 1,70-5,50; p<0,001 соответственно). Аналогично больным ОП аллель T чаще, чем среди здоровых, регистрировался и в группе пациентов с остеопенией в вышеуказанных зонах денситометрии (OR=2,35; 95% CI: 1,63-3,39; p<0,001 и OR=1,98; 95% CI: 1,28-3,05; p=0,002 соответственно).

Установленные ассоциации генетического полиморфизма с результатами остеоденситометрии костей правого бедра имели ту же направленность, что и связи, выявленные слева. Так, в группах больных с ОП и остеопенией проксимального отдела правого бедра по сравнению с контрольными данными установлено снижение удельного веса носителей гомозиготного (GG) гена *COL1A1* (соответственно OR=0,28; 95% CI: 0,11-0,74; p=0,023 и OR=0,50; 95% CI: 0,31-0,82; p=0,009). При этом количество обладателей генотипа GT в группе

женщин с ОП, наоборот, было увеличено (OR=3,19; 95% CI: 1,21-8,43; p=0,042), а при остеопении - имело тенденцию к увеличению (OR=1,70; 95% CI: 1,03-2,83; p=0,053). При этом наличие ОП и остеопении у женщин постменопаузального возраста сочеталось со снижением частоты выявления аллеля G (OR=0,38; 95% CI: 0,18-0,80; p=0,032 и OR=0,53; 95% CI: 0,35-0,81; p=0,004 соответственно) и повышением – аллеля T (OR=2,65; 95% CI: 1,25-5,62; p=0,032 и OR=1,89; 95% CI: 1,24-2,89; p=0,004 соответственно).

Вышеописанный характер распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* в зависимости от состояния всего проксимального отдела правого бедра был свойственен и в отношении шейки правого бедра. По сравнению с контрольной группой среди пациентов с ОП и остеопенией в зоне шейки правого бедра реже регистрировался генотип GG (OR=0,22; 95% CI: 0,10-0,48; p<0,001 и OR=0,49; 95% CI: 0,28-0,84; p=0,013 соответственно) и чаще – генотип GT (OR=4,10; 95% CI: 1,91-8,80; p<0,001 и OR=1,82; 95% CI: 1,04-3,20; p=0,049 соответственно). При ОП и остеопении также со сниженной частотой определялся аллель G (OR=0,32; 95% CI: 0,17-0,59; p<0,001 и OR=0,52; 95% CI: 0,32-0,83; p=0,009 соответственно), тогда как регистрация аллеля T была увеличена (OR=3,15; 95% CI: 1,71-5,81; p<0,001 и OR=1,94; 95% CI: 1,20-3,13; p=0,009 соответственно).

Таким образом, установлено, что женщины постменопаузального возраста с генотипом GG и аллелем G полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1* имеют низкий риск развития остеопоротических изменений в зоне поясничных позвонков L1-L4, дистального отдела предплечья недоминантной руки, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, в том числе шейки бедра (p<0,05). Предрасполагающими факторами для развития постменопаузального ОП в различных костях скелета являются генотипы GT и аллель T (p<0,05). Полученные данные могут быть использованы для разработки критериев выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин в постменопаузе, ранней диагностики заболевания и повышения эффективности

лечебно-профилактических мероприятий, в том числе путем их индивидуализации с учетом генетических особенностей.

4.4. Ассоциации полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена COL1A1 с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у женщин в зависимости от длительности постменопаузы

Распределение генотипов полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1* (таблица 4.9) соответствовало равновесию Hardy-Weinberg во всех выделенных подгруппах женщин с различной длительностью постменопаузы ($p>0,05$).

На следующем этапе обработки полученных результатов было выполнено изучение частот регистрации генотипов и аллелей полиморфизма Sp1 гена *COL1A1* среди здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией поясничных позвонков L1-L4 в зависимости от длительности постменопаузального периода. Проведенный статистический анализ не выявил существенного влияния изученного полиморфизма на патологию поясничных позвонков в группе женщин с длительностью постменопаузы до 6 лет (таблица 4.10). С развитием ОП и остеопении не было установлено связей ни генотипов ($p=0,55$), ни аллелей ($p=0,22$) полиморфизма Sp1 гена *COL1A1*.

Среди обследованных лиц с более длительным периодом постменопаузы (6-10 лет), в отличие от предыдущей группы, уже была обнаружена ассоциация степени остеопоротических изменений позвонков L1-L4 с генотипами вышеуказанного полиморфизма ($p=0,013$), а также близкая к достоверной значимости – с аллелями ($p=0,055$). Статистический анализ показал, что данные различия были обусловлены значительным снижением частоты выявления генотипа GG (OR=0,24; 95% CI: 0,09-0,66; $p=0,011$) и аллеля G (OR=0,38; 95% CI: 0,17-0,85; $p=0,033$) среди больных ОП по сравнению со здоровыми лицами. Кроме того, наличие ОП сочеталось с повышенной регистрацией генотипа GT (OR=4,16; 95% CI: 1,51-11,44; $p=0,011$) и аллеля T (OR=2,62; 95% CI: 1,18-5,84; $p=0,033$).

**Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов
полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 у обследованных женщин с различной
длительностью постменопаузы**

Генотипы полиморфизма rs1800012 гена COL1A1	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
	n	%	n	%	
В группе женщин с длительностью постменопаузы до 6 лет (n=107)					
GG	77	72,0	75,7	70,8	0,35
GT	26	24,3	28,6	26,7	
TT	4	3,7	2,7	2,5	
В группе женщин с длительностью постменопаузы 6-10 лет (n=110)					
GG	63	57,3	66,5	60,4	0,06
GT	45	40,9	38,1	34,6	
TT	2	1,8	5,4	5	
В группе женщин с длительностью постменопаузы 11-15 лет (n=100)					
GG	71	71,0	70,6	70,6	0,74
GT	26	26,0	26,9	26,9	
TT	3	3,0	2,5	2,5	
В группе женщин с длительностью постменопаузы более 15 лет (n=166)					
GG	113	68,1	112,2	67,6	0,69
GT	47	28,3	48,5	29,2	
TT	6	3,6	5,3	3,2	

При длительности постменопаузы 11-15 лет (таблица 4.11) также обнаружены изменения в распределении среди здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией генотипов полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 ($p=0,049$), тогда как различий в частотах аллелей установлено не было ($p=0,13$). Наряду с вышеизложенным, необходимо указать, что были выявлены близкие к достоверным тенденции к снижению среди женщин с ОП и остеопенией

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 с длительностью постменопаузы до 6 лет и 6-10 лет

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена <i>COL1A1</i> среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
с длительностью постменопаузы до 6 лет (n=107)				
GG, n (%)	12 (70,6)	24 (63,1)	41 (78,9)	0,55
GT, n (%)	4 (23,5)	12 (31,6)	10 (19,2)	
TT, n (%)	1 (5,9)	2 (5,3)	1 (1,9)	
G, n (%)	28 (82,4)	60 (78,9)	92 (88,5)	0,22
T, n (%)	6 (17,6)	16 (21,1)	12 (11,5)	
с длительностью постменопаузы 6-10 лет (n=110)				
GG, n (%)	9 (34,6)	21 (58,3)	33 (68,8)	0,013
GT, n (%)	17 (65,4)	13 (36,1)	15 (31,2)	
TT, n (%)	0 (0,0)	2 (5,6)	0 (0,0)	
G, n (%)	35 (67,3)	55 (76,4)	81 (84,4)	0,055
T, n (%)	17 (32,7)	17 (23,6)	15 (15,6)	

обладателей генотипа GG (OR=0,33; 95% CI: 0,10-1,07; p=0,098) и аллеля G (OR=0,34; 95% CI: 0,11-1,01; p=0,072), а также к повышению – носителей аллеля T (OR=2,97; 95% CI: 0,99-8,90; p=0,072).

Статистический анализ частот регистрации генетических маркеров в зависимости от результатов денситометрии поясничных позвонков L1-L4 среди женщин, имеющих наибольшую длительность постменопаузы (более 15 лет), показал неравномерность распределения аллелей G и T (p=0,026) и близкие к достоверности изменения частот генотипов GG, GT и TT (p=0,05). Парные сравнения между группами лиц с ОП, остеопенией и здоровых женщин позволили

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 с длительностью постменопаузы 11-15 лет и более 15 лет

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1800012 гена <i>COL1A1</i> среди женщин:			P (χ^2)
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
с длительностью постменопаузы 11-15 лет (n=100)				
GG, n (%)	28 (70,0)	20 (60,6)	23 (85,2)	0,049 (9,54)
GT, n (%)	9 (22,5)	13 (39,4)	4 (14,8)	
TT, n (%)	3 (7,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	
G, n (%)	65 (81,3)	53 (80,3)	50 (92,6)	0,13 (4,09)
T, n (%)	15 (18,7)	13 (19,7)	4 (7,4)	
с длительностью постменопаузы более 15 лет (n=166)				
GG, n (%)	24 (57,1)	41 (63,1)	48 (81,4)	0,050 (9,47)
GT, n (%)	17 (40,5)	20 (30,8)	10 (16,9)	
TT, n (%)	1 (2,4)	4 (6,1)	1 (1,7)	
G, n (%)	65 (77,4)	102 (78,5)	106 (89,8)	0,026 (7,28)
T, n (%)	19 (22,6)	28 (21,5)	12 (10,2)	

установить ряд ассоциаций. Гомозигота GG значительно реже по сравнению с контрольной группой выявлялась среди пациентов как с ОП (OR=0,31; 95% CI: 0,13-0,75; p=0,017), так и с остеопенией (OR=0,39; 95% CI: 0,17-0,90; p=0,040). Аналогично при ОП и остеопении была снижена частота аллеля G (OR=0,39; 95% CI: 0,18-0,85; p=0,029 и OR=0,41; 95% CI: 0,20-0,86; p=0,024 соответственно), а аллеля T – повышена (OR=2,58; 95% CI: 1,18-5,67; p=0,029 и OR=2,43; 95% CI: 1,17-5,03; p=0,024 соответственно). Кроме того, женщины с ОП в зоне поясничных позвонков L1-L4 в отличие от здоровых лиц имели повышенную частоту гетерозиготного генотипа GT (OR=3,33; 95% CI: 1,33-8,34; p=0,018).

Таким образом, ранее установленная в общей группе женщин (смотри раздел 4, подраздел 4.3) ассоциация остеопоротических изменений в области поясничных позвонков L1-L4 с генотипом GT ($P=0,001$) или аллелем T ($P<0,001$) полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* в большинстве случаев нашла подтверждение и среди выделенных подгрупп обследованных лиц с длительностью постменопаузы 6-10, 11-15 и более 15 лет. Среди женщин, у которых срок постменопаузального периода не превышал 5 лет, роли полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1* установлено не было. Полученные данные могут быть использованы для выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин в постменопаузе и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

4.5. Ассоциации полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Проведенные исследования показали, что в общей группе обследованных женщин ($n=483$) генотипы TT, TC и CC полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* регистрировались в 146 (30,2%), 228 (47,2%) и 109 (22,6%) случаях соответственно. Установленное распределение генотипов среди обследованных лиц соответствовало закону Hardy-Weinberg ($p=0,269$).

Анализ результатов молекулярно-генетического анализа в трех выделенных группах женщин показал, что здоровые женщины и пациенты с ОП и остеопенией поясничных позвонков L1-L4 существенно различались между собой как по частоте генотипов ($p=0,022$), так и аллелей ($p=0,007$) полиморфизма rs2234693 (таблица 4.12). При этом среди больных с ОП поясничных позвонков по сравнению с остальными женщинами чаще регистрировались генотипы TT или TC (OR=2,61; 95% CI: 1,45-4,70; $p=0,002$) и аллель T (OR=1,61; 95% CI: 1,20-2,16; $p=0,002$).

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела
предплечья**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
на уровне поясничных позвонков L1-L4, n=483				
ТТ, n (%)	46 (36,8)	47 (27,3)	53 (28,5)	0,022
ТС, n (%)	64 (51,2)	79 (45,9)	85 (45,7)	
СС, n (%)	15 (12,0)	46 (26,8)	48 (25,8)	
Т, n (%)	156 (62,4)	173 (50,3)	191 (51,3)	0,007
С, n (%)	94 (37,6)	171 (49,7)	181 (48,7)	
на уровне дистального отдела предплечья, n=96				
ТТ, n (%)	12 (37,5)	8 (21,0)	5 (19,2)	0,166
ТС, n (%)	14 (43,8)	18 (47,4)	9 (34,6)	
СС, n (%)	6 (18,7)	12 (31,6)	12 (46,2)	
Т, n (%)	38 (59,4)	34 (44,7)	19 (36,5)	0,042
С, n (%)	26 (40,6)	42 (55,3)	33 (63,5)	

Изучение влияния полиморфных вариантов гена *ESR1* на остеопоротические изменения кости в зоне дистального отдела предплечья недоминантной руки показало наличие неравномерного распределения в исследуемых группах женщин только аллелей ($p=0,042$) вышеуказанного полиморфизма, но не генотипов ($p=0,166$). В отличие от группы здоровых женщин наличие у пациентов ОП костей предплечья сочеталось с повышенной регистрацией аллеля Т ($OR=2,54$; 95% CI: 1,20-5,39; $p=0,024$) и близкой к статистической значимости тенденцией к снижению частоты выявления генотипа СС ($OR=0,27$; 95% CI: 0,08-0,87; $p=0,050$).

Статистическая обработка результатов остеоденситометрии в зонах проксимальных отделов левого и правого бедра, а также шеек бедренных костей показала отсутствие их связи с полиморфизмом rs2234693 гена *ESR1* у женщин в постменопаузальный период. Частоты распределения генотипов ТТ, ТС и СС, а также аллелей Т и С изученного полиморфизма среди больных ОП и остеопенией на уровне всего проксимального отдела бедренных костей, так же как и в зоне их шеек, существенно не отличались от показателей здоровых женщин ($p>0,05$). Была выявлена лишь близкая к достоверности тенденция увеличения числа носителей аллеля Т (OR=1,66; 95% CI: 1,02-2,70; $p=0,055$) среди женщин, имеющих ОП шейки правого бедра (в 54 случаях из 82; 65,9%), по сравнению с остальными обследованными (в 282 случаях из 524; 53,8%).

Таким образом, при обследовании женщин постменопаузального возраста установлено неравномерное распределение генотипов ($p=0,022$) и аллелей ($p=0,007$) полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* между группами здоровых лиц, пациентов с ОП и остеопенией в зоне поясничных позвонков L1-L4, а также аллелей ($p=0,042$) вышеуказанного полиморфизма в зависимости от состояния костной ткани дистального отдела предплечья недоминантной руки. Фактором риска ОП поясничных позвонков L1-L4 являются генотипы ТТ или ТС ($p=0,002$) и аллель Т ($p=0,002$), а ОП дистального отдела предплечья недоминантной руки – аллель Т ($p=0,024$) полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Полученные данные могут быть использованы для выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин в постменопаузе и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

4.6. Ассоциации полиморфизмов rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val), rs4988321 (1999 G>A, Val667Met) гена *LRP5* и rs1800795 (-174 G>C) гена *IL-6* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Анализ распределения генетических маркеров у обследованных женщин

показал, что частоты аллелей С и Т полиморфизма rs3736228 (3989 С>Т, Ala1330Val), а также аллелей G и A полиморфизма rs4988321 (1999 G>A, Val667Met) гена *LRP5* составили соответственно 0,854 и 0,146, 0,935 и 0,065. Значения частот аллелей G и C полиморфизма rs1800795 (-174 G>C) гена *IL-6* были определены на уровне 0,480 и 0,520 соответственно. Распределение генотипов полиморфизмов rs3736228, rs4988321 гена *LRP5* и rs1800795 гена *IL-6* среди обследованных женщин в постменопаузальном возрасте соответствовало закону Hardy-Weinberg (таблица 4.13).

Таблица 4.13

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизмов rs3736228, rs4988321 гена *LRP5* и rs1800795 гена *IL-6* у обследованных женщин в постменопаузальном возрасте (n=483)

Ген	Полиморфизмы	Генотипы	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
			abc	%	abc	%	
<i>LRP5</i>	rs3736228	CC	352	72,9	352,3	73,0	0,916
		CT	121	25,0	120,4	24,9	
		TT	10	2,1	10,3	2,1	
	rs4988321	GG	421	87,2	422,0	87,4	0,431
		GA	61	12,6	58,9	12,2	
		AA	1	0,2	2,1	0,4	
<i>IL-6</i>	rs1800795	GG	106	21,9	111,5	23,1	0,322
		GC	252	52,2	241,1	49,9	
		CC	125	25,9	130,4	27,0	

В выделенных группах женщин исходя из состояния костной ткани поясничных позвонков L1-L4 (таблица 4.14) имеются существенные различия в распределении генотипов и аллелей полиморфизма rs3736228 ($p=0,018$ и $p=0,004$ соответственно), а также аллелей полиморфизма rs4988321 ($p=0,032$).

Частота генотипов и аллелей полиморфизмов rs3736228, rs4988321 гена *LRP5* и rs1800795 гена *IL-6* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1–L4 (n=483)

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	Р	
полиморфизм rs3736228 гена <i>LRP5</i>					
СС, n (%)	77 (61,6)	128 (74,4)	147 (79,0)	0,018	1-3: 0,002
СТ, n (%)	44 (35,2)	41 (23,8)	36 (19,4)		1-3: 0,003
ТТ, n (%)	4 (3,2)	3 (1,8)	3 (1,6)		-
С, n (%)	198 (79,2)	297 (86,3)	330 (88,7)	0,004	1-3: 0,002
Т, n (%)	52 (20,8)	47 (13,7)	42 (11,3)		1-3: 0,002
полиморфизм rs4988321 гена <i>LRP5</i>					
GG, n (%)	101 (80,8)	150 (87,2)	170 (91,4)	0,051	1-3: 0,012
GA, n (%)	24 (19,2)	21 (12,2)	16 (8,6)		1-3: 0,012
AA, n (%)	0 (0,0)	1 (0,6)	0 (0,0)		-
G, n (%)	226 (90,4)	321 (93,3)	356 (95,7)	0,032	1-3: 0,015
A, n (%)	24 (9,6)	23 (6,7)	16 (4,3)		1-3: 0,015
полиморфизм rs1800795 гена <i>IL-6</i>					
GG, n (%)	25 (20,0)	41 (23,8)	40 (21,5)	0,301	-
GC, n (%)	66 (52,8)	96 (55,8)	90 (48,4)		-
CC, n (%)	34 (27,2)	35 (20,4)	56 (30,1)		-
G, n (%)	116 (46,4)	178 (51,7)	170 (45,7)	0,226	-
C, n (%)	134 (53,6)	166 (48,3)	202 (54,3)		-

Данные различия были обусловлены генетическими особенностями лиц, имеющих ОП. Так, наличие у женщин ОП поясничных позвонков L1-L4 сочеталось со сниженной регистрацией генотипа СС и аллеля С полиморфизма

rs3736228 гена *LRP5* (OR=0,43; 95 % CI: 0,26-0,71; p=0,002 и OR=0,49; 95 % CI: 0,31-0,76; p=0,002 соответственно) при повышенной встречаемости генотипа СТ (OR=2,26; 95 % CI: 1,35-3,80; p=0,003) и аллеля Т (OR=2,06; 95 % CI: 1,33-3,21; p=0,002).

Аналогичные ассоциации были установлены и для полиморфизма rs4988321 гена *LRP5*. В отличие от контрольной группы при ОП реже выявлялись генотип GG (OR=0,40; 95 % CI: 0,20-0,78; p=0,012) и аллель G (OR=0,42; 95 % CI: 0,22-0,81; p=0,015) вышеуказанного полиморфизма, чаще - генотип GA (OR=2,53; 95 % CI: 1,28-4,98; p=0,012) и аллель A (OR=2,36; 95 % CI: 1,23-4,55; p=0,015).

Следует отметить, что полиморфизм rs1800795 гена *IL-6* не имел ассоциаций с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у обследованных женщин (p>0,05). Не было установлено ассоциаций (p>0,05) полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* и с результатами денситометрии дистального отдела предплечья (таблица 4.15). Наряду с этим, проведение анализа распределения полиморфных вариантов гена *LRP5* позволило обнаружить, что по сравнению с контрольной группой среди больных ОП костей предплечья чаще выявлялись обладатели аллеля Т полиморфизма rs3736228 (OR=2,92; 95 % CI: 1,12-7,60; p=0,042) и реже - женщины, имеющие аллель С (OR=0,34; 95 % CI: 0,13-0,89; p=0,042). Кроме того, при сравнении лиц, имеющих ОП, с остальными женщинами (здоровые и с остеопенией) было установлено, что при ОП костей предплечья была повышена регистрация генотипа GA полиморфизма rs4988321 (OR=3,78; 95 % CI: 1,21-11,8; p=0,047), тогда как частота генотипа GG, наоборот, была снижена (OR=0,26; 95 % CI: 0,09-0,83; p=0,047).

Анализ частот изученных генетических маркеров в зависимости от состояния проксимального отдела левой бедренной кости женщин (таблица 4.16) также позволил выявить ассоциации остеопоротических изменений данного участка скелета с генотипами и аллелями полиморфизмов rs3736228 (p=0,008 и p=0,001 соответственно), rs4988321 (p=0,003 и p=0,001 соответственно) гена *LRP5*, но не rs1800795 гена *IL-6* (p>0,05). По сравнению с контрольной группой среди женщин с ОП проксимального отдела левого бедра было обнаружено

повышенное количество лиц с генотипом СТ (OR=2,42; 95 % CI: 1,24-4,75; p=0,022) и аллелем Т (OR=2,66; 95 % CI: 1,55-4,58; p=0,002) полиморфизма

Таблица 4.15

Частота генотипов и аллелей полиморфизмов rs3736228, rs4988321 гена *LRP5* и rs1800795 гена *IL-6* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне дистального отдела предплечья (n=96)

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	Р	
полиморфизм rs3736228 гена <i>LRP5</i>					
СС, n (%)	15 (46,9)	20 (52,6)	19 (73,1)	0,255	-
СТ, n (%)	14 (43,7)	15 (39,5)	7 (26,9)		-
ТТ, n (%)	3 (9,4)	3 (7,9)	0 (0,0)		-
С, n (%)	44 (68,8)	55 (72,4)	45 (86,5)	0,070	1-3: 0,042
Т, n (%)	20 (31,2)	21 (27,6)	7 (13,5)		1-3: 0,042
полиморфизм rs4988321 гена <i>LRP5</i>					
GG, n (%)	23 (71,9)	37 (97,4)	21 (80,8)	0,012	1-(2+3): 0,047
GA, n (%)	9 (28,1)	1 (2,6)	5 (19,2)		1-(2+3): 0,047
AA, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		-
G, n (%)	55 (85,9)	75 (98,7)	47 (90,4)	0,017	-
A, n (%)	9 (14,1)	1 (1,3)	5 (9,6)		-
полиморфизм rs1800795 гена <i>IL-6</i>					
GG, n (%)	6 (18,7)	9 (23,7)	8 (30,8)	0,245	-
GC, n (%)	19 (59,4)	15 (39,5)	8 (30,8)		-
CC, n (%)	7 (21,9)	14 (36,8)	10 (38,4)		-
G, n (%)	31 (48,4)	33 (43,4)	24 (46,2)	0,837	-
C, n (%)	33 (51,6)	43 (56,6)	28 (53,8)		-

Частота генотипов и аллелей полиморфизмов rs3736228, rs4988321 гена *LRP5* и rs1800795 гена *IL-6* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне всего проксимального отдела левой бедренной кости (n=480)

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	Р	
полиморфизм rs3736228 гена <i>LRP5</i>					
СС, n (%)	23 (52,3)	140 (72,5)	186 (76,6)	0,008	1-3: 0,003
СТ, n (%)	18 (40,9)	49 (25,4)	54 (22,2)		1-3: 0,022
ТТ, n (%)	3 (6,8)	4 (2,1)	3 (1,2)		-
С, n (%)	64 (72,7)	329 (85,2)	426 (87,7)	0,001	1-3: 0,002
Т, n (%)	24 (27,3)	57 (14,8)	60 (12,3)		1-3: 0,002
полиморфизм rs4988321 гена <i>LRP5</i>					
GG, n (%)	31 (70,5)	166 (86,0)	221 (90,9)	0,003	1-3: 0,002
GA, n (%)	13 (29,5)	26 (13,5)	22 (9,1)		1-3: 0,002
AA, n (%)	0 (0,0)	1 (0,5)	0 (0,0)		-
G, n (%)	75 (85,2)	358 (92,7)	464 (95,5)	0,001	1-3: 0,004
A, n (%)	13 (14,8)	28 (7,3)	22 (4,5)		1-3: 0,004
полиморфизм rs1800795 гена <i>IL-6</i>					
GG, n (%)	11 (25,0)	40 (20,7)	55 (22,6)	0,950	-
GC, n (%)	22 (50,0)	104 (53,9)	123 (50,6)		-
CC, n (%)	11 (25,0)	49 (25,4)	65 (26,8)		-
G, n (%)	44 (50,0)	184 (47,7)	233 (47,9)	0,924	-
C, n (%)	44 (50,0)	202 (52,3)	253 (52,1)		-

rs3736228, генотипом GA (OR=4,21; 95 % CI: 1,93-9,21; p=0,002) и аллелем А (OR=3,66; 95 % CI: 1,77-7,57; p=0,004) полиморфизма rs4988321. В противоположность этому среди больных ОП женщин значительно меньше было носителей генотипа CC (OR=0,33; 95 % CI: 0,17-0,65; p=0,003) и аллеля С (OR=0,38; 95 % CI: 0,22-0,65; p=0,002) полиморфизма rs3736228, а также генотипа GG (OR=0,24; 95 % CI: 0,11-0,52; p=0,002) и аллеля G (OR=0,27; 95 % CI: 0,13-0,57; p=0,004) полиморфизма rs4988321.

Следует отметить, что распределение полиморфных вариантов гена *LRP5* среди здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией шейки левого бедра не имело статистически значимых различий (таблица 4.17). Вместе с тем, различия были существенны для частот генотипов (p=0,045) и аллелей (p=0,032) полиморфизма rs1800795 гена *IL-6*. У женщин с ОП шейки левого бедра чаще, чем у здоровых лиц регистрировались генотип GG (OR=2,45; 95 % CI: 1,17-5,14; p=0,035) и аллель G (OR=1,73; 95 % CI: 1,05-2,85; p=0,040), реже – аллель С (OR=0,58; 95 % CI: 0,35-0,95; p=0,040) вышеуказанного полиморфизма.

Таким образом, установлено, что с развитием у женщин в постменопаузе ОП поясничных позвонков L1-L4 и проксимального отдела левой бедренной кости ассоциируются (p<0,05) генотип СТ и аллель Т полиморфизма rs3736228, генотип GA и аллель А полиморфизма rs4988321 гена *LRP5*. Увеличенный риск ОП дистального отдела костей предплечья недоминантной руки характерен для женщин, имеющих аллель Т полиморфизма rs3736228 и генотип GA полиморфизма rs4988321 (p<0,05). Наличие генотипа GG и аллеля G полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* является фактором риска ОП шейки левого бедра (p<0,05). Полученные данные могут быть использованы для разработки критериев выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин постменопаузального возраста.

Частота генотипов и аллелей полиморфизмов rs3736228, rs4988321 гена *LRP5* и rs1800795 гена *IL-6* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне шейки левого бедра

(n=384)

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	Р	
полиморфизм rs3736228 гена <i>LRP5</i>					
СС, n (%)	30 (69,8)	158 (76,0)	107 (80,5)	0,091	-
СТ, n (%)	11 (25,6)	48 (23,1)	26 (19,5)		-
ТТ, n (%)	2 (4,6)	2 (0,9)	0 (0,0)		-
С, n (%)	71 (82,6)	364 (87,5)	240 (90,2)	0,156	-
Т, n (%)	15 (17,4)	52 (12,5)	26 (9,8)		-
полиморфизм rs4988321 гена <i>LRP5</i>					
GG, n (%)	35 (81,4)	179 (86,0)	123 (92,5)	0,230	-
GA, n (%)	8 (18,6)	28 (13,5)	10 (7,5)		-
AA, n (%)	0 (0,0)	1 (0,5)	0 (0,0)		-
G, n (%)	78 (90,7)	386 (92,8)	256 (96,2)	0,089	-
A, n (%)	8 (9,3)	30 (7,2)	10 (3,8)		-
полиморфизм rs1800795 гена <i>IL-6</i>					
GG, n (%)	17 (39,5)	38 (18,2)	28 (21,1)	0,045	1-3: 0,035
GC, n (%)	19 (44,2)	116 (55,8)	72 (54,1)		-
CC, n (%)	7 (16,3)	54 (26,0)	33 (24,8)		-
G, n (%)	53 (61,6)	192 (46,2)	128 (48,1)	0,032	1-3: 0,040
C, n (%)	33 (38,4)	224 (53,8)	138 (51,9)		1-3: 0,040

4.7. Ассоциации полиморфизма rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Проведенные исследования показали, что аллель С полиморфизма rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* регистрировался у обследованных женщин с частотой 0,536, а частота выявления аллеля Т составила 0,464. Распределение генотипов изученного полиморфизма СС (28,8%), СТ (49,7%) и ТТ (21,5%) соответствовало закону Hardy-Weinberg (таблица 4.18).

Таблица 4.18

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* у обследованных женщин (n=483) в постменопаузальном возрасте

Генотипы полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i>	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
	abc	%	abc	%	
СС	139	28,8	138,9	28,8	0,98
СТ	240	49,7	240,2	49,7	
ТТ	104	21,5	103,9	21,5	

Наряду с этим установлены существенные различия частот обнаружения генотипов ($p=0,003$) и аллелей ($p<0,001$) полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* между выделенными тремя группами женщин по результатам денситометрии поясничных позвонков L1-L4 (таблица 4.19). Выявленные различия были обусловлены генетическими особенностями женщин, имеющих ОП. Так, среди лиц с ОП поясничных позвонков отмечено существенное снижение носителей генотипа СС по сравнению со здоровыми женщинами (OR=0,40; 95% CI: 0,23-0,69; $p=0,001$) и увеличение числа обладателей генотипа ТТ как по сравнению с пациентами, имеющими остеопению (OR=1,78; 95% CI: 1,05-3,02; $p=0,048$), так и

данными контрольной группы (OR=2,36; 95% CI: 1,37-4,06; p=0,003). Изучение частот аллелей показало, что при ОП реже выявлялся аллель С и чаще – аллель Т, чем при остеопении (OR=0,66; 95% CI: 0,47-0,91; p=0,015 и OR=1,52; 95% CI: 1,10-2,11; p=0,015 соответственно) и у здоровых женщин (OR=0,52; 95% CI: 0,37-0,72; p<0,001 и OR=1,94; 95% CI: 1,40-2,68; p<0,001 соответственно).

Таблица 4.19

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела предплечья

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне поясничных позвонков L1-L4 (n=483)							
CC	23	18,4	49	28,5	67	36,0	0,003
CT	63	50,4	88	51,2	89	47,9	
TT	39	31,2	35	20,3	30	16,1	
C	109	43,6	186	54,1	223	59,9	<0,001
T	141	56,4	158	45,9	149	40,1	
на уровне дистального отдела предплечья (n=96)							
CC	5	15,6	13	34,2	15	57,7	<0,001
CT	14	43,8	20	52,6	10	38,5	
TT	13	40,6	5	13,2	1	3,8	
C	24	37,5	46	60,5	40	76,9	<0,001
T	40	62,5	30	39,5	12	23,1	

Различия (p<0,001) в распределении генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* между выделенными группами женщин установлены и при анализе результатов денситометрии дистального отдела предплечья. Больные

ОП костей предплечья по сравнению со здоровыми женщинами характеризовались более низкой частотой выявления генотипа СС (OR=0,14; 95% CI: 0,04-0,47; p=0,003) и аллеля С (OR=0,18; 95% CI: 0,08-0,41; p<0,001), а также повышенной регистрацией генотипа ТТ (OR=17,1; 95% CI: 2,05-142,5; p=0,003) и аллеля Т (OR=5,56; 95% CI: 2,45-12,61; p<0,001). Кроме того, анализ генетического профиля женщин с ОП и остеопенией показал, что в первой группе значительно чаще выявлялся генотип ТТ (OR=4,52; 95% CI: 1,39-14,63; p=0,021) и аллель Т (OR=2,56; 95% CI: 1,29-5,06; p=0,011), тогда как аллель С обнаруживался реже (OR=0,39; 95% CI: 0,20-0,78; p=0,011).

Выделенные три группы женщин на основании поставленного диагноза по результатам DEXA в зоне всего проксимального отдела левого бедра также имели неравномерное распределение частот генотипов (p<0,001) и аллелей (P<0,001) изученного полиморфизма (таблица 4.20). Группа больных ОП левого бедра отличались от здоровых женщин сниженным накоплением аллеля С (OR=0,35; 95% CI: 0,22-0,56; p<0,001), генотипа СС (OR=0,37; 95% CI: 0,16-0,82; p=0,019) и повышенным – аллеля Т (OR=2,87; 95% CI: 1,79-4,60; p<0,001), генотипа ТТ (OR=5,30; 95% CI: 2,64-10,66; p<0,001). Следует отметить, что среди пациентов с остеопенией по сравнению со здоровыми лицами также реже регистрировались аллель С (OR=0,55; 95% CI: 0,42-0,72; p<0,001) и генотип СС (OR=0,42; 95% CI: 0,27-0,64; p<0,001), а чаще – аллель Т (OR=1,82; 95% CI: 1,39-2,39; p<0,001). Кроме того, больные с ОП отличались повышенной частотой генотипа ТТ не только от здоровых, но и от лиц, имеющих остеопению (OR=2,45; 95% CI: 1,25-4,82; p=0,019).

Наличие ОП и остеопении шейки левого бедра сочетались с пониженной частотой генотипа СС (OR=0,41; 95% CI: 0,18-0,93; p=0,046 и OR=0,43; 95% CI: 0,27-0,70; p<0,001 соответственно) по сравнению с нормальными показателями денситометрии. Кроме того, при ОП шейки левого бедра значительно чаще, чем в контрольной группе обнаруживались генотип ТТ (OR=2,99; 95% CI: 1,39-6,45; p=0,013) и аллель Т (OR=2,20; 95% CI: 1,34-3,60; p=0,003) при более редком выявлении аллеля С (OR=0,46; 95% CI: 0,28-0,75; p=0,003).

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне всего проксимального отдела левого бедра и шейки левого
бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне всего проксимального отдела левого бедра (n=480)							
CC	8	18,2	39	20,2	92	37,9	<0,001
CT	16	36,4	105	54,4	118	48,5	
TT	20	45,4	49	25,4	33	13,6	
C	32	36,4	183	47,4	302	62,1	<0,001
T	56	63,6	203	52,6	184	37,9	
на уровне шейки левого бедра (n=384)							
CC	9	20,9	45	21,7	52	39,1	<0,001
CT	18	41,9	118	56,7	59	44,4	
TT	16	37,2	45	21,6	22	16,5	
C	36	41,9	208	50,0	163	61,3	0,001
T	50	58,1	208	50,0	103	38,7	

Неравномерное распределение генотипов ($p=0,003$) и аллелей ($p<0,001$) полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* среди здоровых и больных с ОП и остеопенией в зоне всего проксимального отдела правого бедра (таблица 4.21) было обусловлено особенностями генетического профиля пациентов последней группы. Лица, имеющие остеопению, значительно чаще, чем здоровые женщины, имели генотип TT (OR=1,89; 95% CI: 1,09-3,31; $p<0,035$), аллель T (OR=1,88; 95% CI: 1,34-2,62; $p<0,001$) и реже – аллель C (OR=0,53; 95% CI: 0,38-0,74; $p<0,001$). При этом результаты молекулярно-генетического тестирования женщин в группе

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне всего проксимального отдела правого бедра и шейки правого
бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне всего проксимального отдела правого бедра (n=303)							
CC	7	36,8	21	16,3	56	36,1	0,003
CT	7	36,8	70	54,3	71	45,8	
TT	5	26,4	38	29,4	28	18,1	
C	21	55,3	112	43,4	183	59,0	<0,001
T	17	44,7	146	56,6	127	41,0	
на уровне шейки правого бедра (n=303)							
CC	8	19,5	37	24,2	39	35,8	<0,001
CT	14	34,2	80	52,3	54	49,5	
TT	19	46,3	36	23,5	16	14,7	
C	30	36,6	154	50,3	132	60,6	<0,001
T	52	63,4	152	49,7	86	39,4	

больных с ОП в зоне всего проксимального отдела правого бедра и в контрольной группе существенно между собой не различались ($p > 0,05$).

Анализ ассоциаций полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* с остеопоротическими изменениями шейки правого бедра также показало неравномерное распределение ($p < 0,001$) генотипов и аллелей между тремя группами женщин (таблица 4.21). Установлено, что в группах больных ОП и остеопенией была повышена по сравнению с контрольной группой частота генотипа TT (OR=5,02; 95% CI: 2,23-11,30; $p < 0,001$ и OR=2,81; 95% CI: 1,37-5,76;

$p=0,011$ соответственно). При этом частота регистрации аллеля Т среди пациентов с ОП была значительно выше, чем среди лиц с остеопенией (OR=1,76; 95% CI: 1,06-2,90; $p=0,037$) и здоровых женщин (OR=2,66; 95% CI: 1,57-4,50; $p<0,001$). Аналогичное различие было выявлено и при сравнении частот аллеля Т в последних двух группах (OR=1,52; 95% CI: 1,07-2,15; $p=0,026$).

Таким образом, при обследовании женщин постменопаузального возраста установлено неравномерное распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* между группами здоровых лиц, пациентов с ОП и остеопенией в различных зонах костной системы – поясничных позвонках L1-L4, проксимальных отделах левой и правой бедренных костей, шейках левого и правого бедра, дистальном отделе костей предплечья недоминантной руки ($p=0,003$ – $p<0,001$). Как правило, генотип СС и аллель С вышеуказанного полиморфизма обладают протективным эффектом, а генотип ТТ и аллель Т являются генетическими факторами риска развития ОП ($p<0,05$). Так, ОП поясничных позвонков L1-L4, проксимального отдела левой бедренной кости, шеек левого и правого бедра, дистального отдела костей предплечья недоминантной руки ассоциирован ($P<0,05$) с наличием у женщин генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма rs9594738. Сниженный риск развития ОП в вышеуказанных зонах скелета имеют носители аллеля С ($P<0,05$). Кроме того, во всех изученных отделах костной системы кроме костей правого бедра защитным эффектом от развития ОП обладает генотип СС вышеуказанного полиморфизма ($P<0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о важной роли полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* в формировании постменопаузального ОП и могут быть использованы для разработки прогностических критериев с целью выявления предрасположенности и ранней диагностики заболевания, повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

4.8. Ассоциации полиморфизма rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у женщин в зависимости от длительности постменопаузы

Изучение ассоциаций полиморфизма rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* с развитием ОП и остеопении выполнялось также и в выделенных подгруппах женщин с различной длительностью постменопаузы (до 6 лет, 6-10 лет, 11-15 лет, более 15 лет). Необходимо отметить, что распределение генотипов вышеуказанного полиморфизма среди женщин всех подгрупп соответствовало закону Hardy-Weinberg (таблица 4.22). Причем, удельный вес обладателей генотипов CC (от 23,5 до 41,8%), CT (от 43,6 до 54,2) и TT (от 14,6 до 27,0%) между подгруппами существенно не изменялся ($p>0,05$).

Анализ связей полиморфных вариантов гена *TNFSF11* с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 был проведен в зависимости от длительности у обследованных женщин постменопаузального периода. В результате было установлено, что в группах женщин, имеющих срок после последней менструации до 6 лет и более 15 лет, частота регистрации генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* не имела ассоциаций ($p=0,259$ – $p=0,980$) с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков. Различия в распределении генетических маркеров между здоровыми женщинами и пациентами с ОП и остеопенией были выявлены ($p<0,05$) только в подгруппах лиц с длительностью постменопаузы 6-10 лет и 11-15 лет (таблица 4.23).

Причем, эти ассоциации были обусловлены особенностями генетического профиля пациентов с ОП. Так, женщины с ОП, которые были обследованы спустя 6-10 лет после последней менструации, по сравнению с контрольной группой имели более редкую регистрацию генотипа CC (OR=0,19; 95% CI: 0,06-0,57; $p=0,005$) и аллеля C (OR=0,30; 95% CI: 0,15-0,61; $p=0,002$) при повышенной встречаемости аллеля T (OR=3,13; 95% CI: 1,63-6,74; $p=0,002$). Аналогичные связи были характерны и для женщин с длительностью постменопаузы 11-15 лет. Как и в предыдущей группе, генетическим фактором риска развития ОП явилось

**Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов
полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* у обследованных женщин с
различной длительностью постменопаузы**

Генотипы полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i>	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
	абс	%	абс	%	
В подгруппе женщин с длительностью постменопаузы до 6 лет (n=107)					
CC	27	25,2	28,3	26,4	0,623
CT	56	52,3	53,4	50,0	
TT	24	22,5	25,3	23,6	
В подгруппе женщин с длительностью постменопаузы 6-10 лет (n=110)					
CC	46	41,8	44,6	40,5	0,549
CT	48	43,6	50,9	46,3	
TT	16	14,6	14,5	13,2	
В подгруппе женщин с длительностью постменопаузы 11-15 лет (n=100)					
CC	27	27,0	25,0	25,0	0,424
CT	46	46,0	50,0	50,0	
TT	27	27,0	25,0	25,0	
В подгруппе женщин с длительностью постменопаузы более 15 лет (n=166)					
CC	39	23,5	42,5	25,6	0,276
CT	90	54,2	83,0	50,0	
TT	37	22,3	40,5	24,4	

наличие аллеля T (OR=3,16; 95% CI: 1,53-6,51; p=0,003), а защитными – генотипа CC (OR=0,19; 95% CI: 0,06-0,60; p=0,009) и аллеля C (OR=0,32; 95% CI: 0,15-0,65; p=0,003). Причем, в обеих группах женщин (с длительностью постменопаузы 6-10 и 11-15 лет) частота обнаружения генотипа TT имела близкую к статистической значимости тенденцию к увеличению при ОП (p=0,086 и p=0,081 соответственно).

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 с различной длительностью постменопаузы

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	abc	%	abc	%	abc	%	
с длительностью постменопаузы 6-10 лет (n=110)							
CC	5	19,2	14	38,9	27	56,3	0,025
CT	14	53,9	17	47,2	17	35,4	
TT	7	26,9	5	13,9	4	8,3	
C	24	46,2	45	62,5	71	74,0	0,003
T	28	53,8	27	37,5	25	26,0	
с длительностью постменопаузы 11-15 лет (n=100)							
CC	6	15,0	8	24,2	13	48,2	0,031
CT	19	47,5	17	51,6	10	37,0	
TT	15	37,5	8	24,2	4	14,8	
C	31	38,8	33	50,0	36	66,7	0,007
T	49	61,2	33	50,0	18	33,3	

Таким образом, установлено наличие достоверных различий ($p < 0,05$) в частотах обнаружения генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* между здоровыми женщинами, пациентами с ОП и остеопенией поясничных позвонков L1-L4 в подгруппах женщин с длительностью постменопаузы 6-10 и 11-15 лет. В вышеуказанных подгруппах защитным эффектом обладают генотип CC ($p = 0,001 - p = 0,009$) и аллель C ($p < 0,001 - p = 0,003$), а генетическим предиктором постменопаузального ОП является аллель T ($p < 0,001 - p = 0,003$). В группах же лиц, имеющих срок после последней менструации до 6 лет и более 15 лет, частота регистрации полиморфных

вариантов гена *TNFSF11* не имеет ассоциаций с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 ($p>0,05$). Полученные данные целесообразно использовать при разработке критериев для выявления предрасположенности к постменопаузальному ОП и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

4.9. Ассоциации полиморфизма rs9594759 (C>T) гена *TNFSF11* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Анализ результатов молекулярно-генетического тестирования показал, что распределение генотипов полиморфизма rs9594759 (C>T) гена *TNFSF11* у обследованных женщин соответствовало равновесию Hardy-Weinberg (таблица 4.24).

Таблица 4.24

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* у обследованных женщин в постменопаузальном возрасте (n=483)

Генотипы полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i>	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
	abc	%	abc	%	
CC	115	23,8	114,8	23,8	0,97
CT	241	49,9	241,4	50,0	
TT	127	26,3	126,8	26,2	

Выполненная статистическая обработка результатов показала наличие статистически значимых различий в распределении генотипов ($p=0,022$) и аллелей ($p=0,014$) полиморфизма rs9594759 среди здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией на уровне поясничных позвонков L1-L4 (таблица 4.25). При этом показатели удельного веса лиц, имеющих генотипы СТ и ТТ, в трех изученных

группах существенно не различались. Генотип же СС со сниженной частотой регистрировался в группе больных ОП как по сравнению со здоровыми (OR=0,39; 95% CI: 0,21-0,70; p=0,002), так и с пациентами, имеющими остеопению (OR=0,46; 95% CI: 0,25-0,85; p=0,017). Кроме того, лица с ОП поясничных позвонков отличались (p=0,005) от здоровых женщин сниженной частотой выявления аллеля С (OR=0,62; 95% CI: 0,45-0,86) и повышенной – аллеля Т (OR=1,62; 95% CI: 1,17-2,23).

Таблица 4.25

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела предплечья

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне поясничных позвонков L1-L4 (n=483)							
СС	17	13,6	44	25,6	54	29,0	0,022
СТ	70	56,0	80	46,5	91	48,9	
ТТ	38	30,4	48	27,9	41	22,1	
С	104	41,6	168	48,8	199	53,5	0,014
Т	146	58,4	176	51,2	173	46,5	
на уровне дистального отдела предплечья (n=96)							
СС	3	9,4	7	18,4	4	15,4	0,398
СТ	21	65,6	25	65,8	13	50,0	
ТТ	8	25,0	6	15,8	9	34,6	
С	27	42,2	39	51,3	21	40,4	0,393
Т	37	57,8	37	48,7	31	59,6	

Анализ результатов остеоденситометрии зоны дистального отдела предплечья показал отсутствие их связи с полиморфизмом rs9594759 гена *TNFSF11* у женщин в постменопаузальный период. Среди выделенных исходя из данных денситометрии дистального отдела предплечья трех групп женщин (с ОП, остеопенией и здоровых) не установлено существенных различий частот генотипов ($p=0,398$) и аллелей ($p=0,393$) вышеуказанного полиморфизма.

Следует отметить, что генотипы и аллели rs9594759 обнаруживали ассоциации (таблица 4.26) с остеопоротическими изменениями как всего проксимального отдела левого бедра ($p=0,002$ и $p=0,019$ соответственно), так и шейки левого бедра ($p<0,001$). При сравнении с соответствующими контрольными группами у женщин с ОП всего проксимального отдела левой бедренной кости и шейки левого бедра реже регистрировались генотип СС (соответственно $OR=0,35$; 95% CI: 0,14-0,86; $p=0,028$ и $OR=0,18$; 95% CI: 0,07-0,49; $p<0,001$) и аллель С (соответственно $OR=0,61$; 95% CI: 0,39-0,97; $p=0,047$ и $OR=0,36$; 95% CI: 0,21-0,59; $p<0,001$), чаще обнаруживался аллель Т (соответственно $OR=1,64$; 95% CI: 1,03-2,59; $p=0,047$ и $OR=2,82$; 95% CI: 1,70-4,98; $p<0,001$). Кроме того, с низкой частотой выявления генотипа СС ассоциировалась ($p<0,001$) также и остеопения обоих вышеуказанных участков скелета (соответственно $OR=0,44$; 95% CI: 0,27-0,70 и $OR=0,18$; 95% CI: 0,07-0,49).

При анализе результатов денситометрии проксимального отдела бедра и шейки бедра справа также установлена неравномерность распределения генотипов ($p<0,001$) и аллелей ($p=0,018$ и $p<0,001$ соответственно) полиморфизма rs9594759 (таблица 4.27). Наличие остеопении проксимального отдела бедра у женщин сочеталось по сравнению со здоровыми лицами пониженной частотой выявления генотипа СС ($OR=0,31$; 95% CI: 0,17-0,54; $p<0,001$) и аллеля С ($OR=0,63$; 95% CI: 0,45-0,87; $p=0,008$), а также увеличенной – генотипа СТ ($OR=2,43$; 95% CI: 1,50-3,93; $p<0,001$) и аллеля Т ($OR=1,60$; 95% CI: 1,14-2,22; $p=0,008$). По сравнению с данными контрольной группы при ОП обнаружена

близкая к статистической значимости тенденция к снижению выявляемости генотипа СС (OR=0,30; 95% CI: 0,08-1,06; p=0,088).

Таблица 4.26

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне всего проксимального отдела левой бедренной кости и шейки левого бедра

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне всего проксимального отдела левого бедра (n=480)							
СС	6	13,6	32	16,6	76	31,3	0,002
СТ	24	54,6	110	57,0	106	43,6	
ТТ	14	31,8	51	26,4	61	25,1	
С	36	40,9	174	45,1	258	53,1	0,019
Т	52	59,1	212	54,9	228	46,9	
на уровне шейки левого бедра (n=384)							
СС	5	11,6	39	18,8	56	42,1	<0,001
СТ	20	46,5	113	54,3	48	36,1	
ТТ	18	41,9	56	26,9	29	21,8	
С	30	34,9	191	45,9	160	60,2	<0,001
Т	56	65,1	225	54,1	106	39,8	

Больные ОП и остеопенией шейки правого бедра в отличие здоровых женщин характеризовались более низкой частотой регистрации генотипа СС (соответственно OR=0,13; 95% CI: 0,04-0,38; p<0,001 и OR=0,29; 95% CI: 0,17-0,50; p<0,001) и аллеля С (соответственно OR=0,36; 95% CI: 0,21-0,60; p<0,001 и OR=0,57; 95% CI: 0,40-0,81; p=0,002) при том, что среди них было значительно больше обладателей генотипа СТ (соответственно OR=2,53; 95% CI: 1,21-5,29;

$p=0,025$ и $OR=2,85$; 95% CI: 1,70-4,80; $p<0,001$) и аллеля T (соответственно $OR=2,81$; 95% CI: 1,66-4,76; $p<0,001$ и $OR=1,75$; 95% CI: 1,23-2,49; $p=0,002$).

Таблица 4.27

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне всего проксимального отдела правой бедренной кости и шейки правого бедра

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i> среди женщин:						P
	с остеопорозом		с остеопенией		здоровых		
	абс	%	абс	%	абс	%	
на уровне всего проксимального отдела правого бедра (n=303)							
CC	3	15,8	21	16,3	60	38,7	<0,001
CT	11	57,9	72	55,8	53	34,2	
TT	5	26,3	36	27,9	42	27,1	
C	17	44,7	114	44,2	173	55,8	0,018
T	21	55,3	144	55,8	137	44,2	
на уровне шейки правого бедра (n=303)							
CC	4	9,8	30	19,6	50	45,9	<0,001
CT	21	51,2	83	54,2	32	29,3	
TT	16	39,0	40	26,2	27	24,8	
C	29	35,4	143	46,7	132	60,6	<0,001
T	53	64,6	163	53,3	86	39,4	

Таким образом, при обследовании женщин постменопаузального возраста установлено неравномерное распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* между группами здоровых лиц, пациентов с ОП и остеопенией в различных участках костной системы ($p=0,022$ – $p<0,001$) за исключением дистального отдела предплечья недоминантной руки ($p>0,05$).

Фактором риска ОП поясничных позвонков L1-L4, проксимального отдела левой бедренной кости, шеек левого и правого бедра, а также остеопении проксимального отдела правого бедра является наличие у женщин аллеля Т ($p=0,047 - p<0,001$), а защитное значение имеют генотип СС и аллель С ($p=0,047 - p<0,001$). Результаты исследования подчеркивают важность полиморфизма rs9594759 (C>T) гена *TNFSF11* в формировании постменопаузального ОП и могут быть использованы для разработки прогностических критериев с целью выявления предрасположенности к заболеванию и своевременного назначения лечебно-профилактических мероприятий.

4.10. Ассоциации полиморфизмов rs3102735 (163 T>C), rs3134069 (245 A>C) и rs4355801 (A>G) гена *TNFRSF11B* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Проведенными исследованиями установлено, что распределение генотипов полиморфизмов rs3102735, rs3134069 и rs4355801 гена *TNFRSF11B* среди обследованных женщин в постменопаузальном возрасте соответствовало закону Hardy-Weinberg (таблица 4.28). При этом частота аллелей Т и С полиморфизма rs3102735 составила 0,878 и 0,122 соответственно, аллелей А и С полиморфизма rs3134069 – 0,936 и 0,064 соответственно, аллелей А и G полиморфизма rs4355801 – 0,457 и 0,543 соответственно.

Сравнительный анализ выделенных трех групп женщин по результатам денситометрии поясничных позвонков L1-L4 показал существенные ($p<0,001$) различия частот обнаружения генотипов и аллелей двух из трех изученных полиморфизмов – rs3102735 и rs3134069 (таблица 4.29). Выявленные различия были обусловлены генетическими особенностями женщин, имеющих ОП.

Так, среди лиц с ОП поясничных позвонков L1-L4 отмечено существенное снижение носителей генотипа ТТ полиморфизма rs3102735 как по сравнению со здоровыми женщинами (OR=0,38; 95% CI: 0,23-0,65; $p<0,001$), так и пациентами, имеющими остеопению (OR=0,51; 95% CI: 0,30-0,85; $p=0,014$). В отличие от групп

здоровых лиц и женщин с остеопенией генотип ТС вышеуказанного полиморфизма регистрировался при ОП значительно чаще (OR=2,27; 95% CI: 1,33–3,87; p=0,004 и OR=1,78; 95% CI: 1,05-3,01; p=0,045 соответственно). Аналогичные ассоциации были установлены и для генотипов полиморфизма rs3134069. При ОП позвонков L1-L4 значительно реже определялся генотип AA и чаще – генотип AC данного полиморфизма, чем при остеопении (OR=0,32; 95% CI: 0,16-0,62; p<0,001 и OR=2,75; 95% CI: 1,39-5,45; p=0,006 соответственно) и у здоровых женщин (OR=0,29; 95% CI: 0,15-0,57; p<0,001 и OR=2,99; 95% CI: 1,51-5,92; p=0,003 соответственно).

Таблица 4.28

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизмов rs3102735, rs3134069 и rs4355801 гена *TNFRSF11B* у обследованных женщин в постменопаузальном возрасте (n=483)

Полиморфизмы гена <i>TNFRSF11B</i>	Генотипы	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
		abc	%	abc	%	
rs3102735	ТТ	370	76,6	372,2	77,1	0,349
	ТС	108	22,4	103,6	21,4	
	СС	5	1,0	7,2	1,5	
rs3134069	AA	424	87,8	423,0	87,6	0,444
	AC	56	11,6	58,0	12,0	
	CC	3	0,6	2,0	0,4	
rs4355801	AA	99	20,5	100,7	20,8	0,760
	AG	243	50,3	239,7	49,6	
	GG	141	29,2	142,6	29,6	

**Частота генотипов и аллелей полиморфизмов гена *TNFRSF11B* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне поясничных позвонков L1–L4**

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, osteopenia	группа 3, здоровые	Р	
полиморфизм rs3102735					
ТТ, n (%)	81 (64,8)	135 (78,5)	154 (82,8)	<0,001	1-2: 0,014
					1-3: <0,001
ТС, n (%)	40 (32,0)	36 (20,9)	32 (17,2)		1-2: 0,045
					1-3: 0,004
СС, n (%)	4 (3,2)	1 (0,6)	0 (0,0)		-
Т, n (%)	202 (80,8)	306 (89,0)	340 (91,4)	<0,001	1-2: 0,009
					1-3: <0,001
С, n (%)	48 (19,2)	38 (11,0)	32 (8,6)		1-2: 0,009
					1-3: <0,001
полиморфизм rs3134069					
АА, n (%)	96 (76,8)	157 (91,3)	171 (91,9)	<0,001	1-2: <0,001
					1-3: <0,001
АС, n (%)	26 (20,8)	15 (8,7)	15 (8,1)		1-2: 0,006
					1-3: 0,003
СС, n (%)	3 (2,4)	0 (0,0)	0 (0,0)		-
А, n (%)	218 (87,2)	329 (95,6)	357 (96,0)	<0,001	1-2: <0,001
					1-3: <0,001
С, n (%)	32 (12,8)	15 (4,4)	15 (4,0)		1-2: <0,001
					1-3: <0,001

Изучение частот аллелей показало, что по сравнению с остеопенией и нормальным состоянием поясничных позвонков ОП характеризовался более низкими частотами выявления аллеля Т полиморфизма rs3102735 (OR=0,52; 95% CI: 0,33-0,83; $p=0,009$ и OR=0,40; 95% CI: 0,25-0,64; $p<0,001$ соответственно) и аллеля А полиморфизма rs3134069 (OR=0,31; 95% CI: 0,16-0,59; $p<0,001$ и OR=0,29; 95% CI: 0,15-0,54; $p<0,001$ соответственно). В противоположность этому в группе больных ОП поясничных позвонков L1-L4 была повышена встречаемость аллеля С полиморфизма rs3102735 (OR=1,91; 95% CI: 1,21-3,04; $p=0,009$ и OR=2,53; 95% CI: 1,56-4,08; $p<0,001$ соответственно) и аллеля С полиморфизма rs3134069 (OR=3,22; 95% CI: 1,70-6,09; $p<0,001$ и OR=3,49; 95% CI: 1,85-6,60; $p<0,001$ соответственно).

Необходимо отметить, что аллели и генотипы полиморфизма rs4355801 не обнаружили ассоциации с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у обследованных женщин в постменопаузе ($p>0,05$).

Не было выявлено связи ($p>0,05$) полиморфизма rs4355801 гена *TNFRSF11B* также и с развитием остеопоротических изменений проксимального отдела левой бедренной кости. Что касается других полиморфных вариантов гена *TNFRSF11B* (таблица 4.30), то статистический анализ с использованием таблиц сопряженности $k \times m$ позволил определить неравномерность распределения генотипов ($p<0,001$) и аллелей ($p=0,003$) полиморфизма rs3102735, а также аллелей полиморфизма rs3134069 ($p=0,023$) среди женщин в зависимости от показателей остеоденситометрии проксимального отдела левого бедра. Кроме того, различия в распределении генотипов ($p<0,001$) и аллелей ($p=0,016$) полиморфизма rs3102735 были установлены и у женщин, различающихся состоянием минеральной плотности шейки левого бедра (таблица 4.31). Полиморфизмы же rs3134069 и rs4355801 ассоциаций с состоянием шейки левого бедра не показали ($p=0,317$ – $p=0,590$).

**Частота генотипов и аллелей полиморфизмов гена *TNFRSF11B* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне всего проксимального отдела левой бедренной кости**

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	Р	
полиморфизм rs3102735					
ТТ, n (%)	27 (61,4)	145 (75,1)	196 (80,7)	<0,001	1-3: 0,015
ТС, n (%)	14 (31,8)	47 (24,4)	46 (18,9)		-
СС, n (%)	3 (6,8)	1 (0,5)	1 (0,4)		-
Т, n (%)	68 (77,3)	337 (87,3)	438 (90,1)	0,003	1-3: 0,004
С, n (%)	20 (22,7)	49 (12,7)	48 (9,9)		1-3: 0,004
полиморфизм rs3134069					
АА, n (%)	41 (93,2)	160 (82,9)	220 (90,5)	0,118	2-3: 0,028
АС, n (%)	3 (6,8)	31 (16,1)	22 (9,1)		2-3: 0,039
СС, n (%)	0 (0,0)	2 (1,0)	1 (0,4)		-
А, n (%)	85 (96,6)	351 (90,9)	462 (95,1)	0,023	2-3: 0,024
С, n (%)	3 (3,4)	35 (9,1)	24 (4,9)		2-3: 0,024

Женщины с ОП проксимального отдела левой бедренной кости по сравнению со здоровыми имели сниженные частоты генотипа ТТ (OR=0,38; 95% CI: 0,19-0,76; p=0,015) и аллеля Т (OR=0,37; 95% CI: 0,21-0,67; p=0,004), повышенную – аллеля С (OR=2,68; 95% CI: 1,50-4,80; p=0,004) полиморфизма rs3102735. Наличие же остеопении вышеуказанного участка скелета сочеталось у женщин с низкой регистрацией генотипа АА (OR=0,51; 95% CI: 0,29-0,90; p=0,028) и аллеля А (OR=0,52; 95% CI: 0,30-0,89; p=0,024), повышенной – генотипа АС (OR=1,92; 95% CI: 1,07-3,44; p=0,039) и аллеля С (OR=1,92; 95% CI:

1,12-3,29; $p=0,024$) полиморфизма rs3134069 по сравнению с контрольными показателями. ОП шейки левого бедра имел ассоциацию с наличием у женщин генотипа CC ($p=0,039$) и аллеля C (OR=2,25; 95% CI: 1,17-4,31; $p=0,031$), а также обратную связь – с аллелем T (OR=0,44; 95% CI: 0,23-0,85; $p=0,031$) полиморфизма rs3102735.

Таблица 4.31

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне шейки левого бедра

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs3102735 среди женщин в группах:				P между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	P	
ТТ, n (%)	28 (65,1)	166 (79,8)	105 (78,9)	<0,001	-
ТС, n (%)	12 (27,9)	41 (19,7)	28 (21,1)		-
СС, n (%)	3 (7,0)	1 (0,5)	0 (0,0)		1-3: 0,039
Т, n (%)	68 (79,1)	373 (89,7)	238 (89,5)	0,016	1-3: 0,031
С, n (%)	18 (20,9)	43 (10,3)	28 (10,5)		1-3: 0,031

Среди изученных полиморфных вариантов гена *TNFRSF11B* только распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs3102735 обнаруживало достоверные различия ($p=0,006$ – $p<0,001$) среди здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией как всего проксимального отдела правой бедренной кости, так и шейки правого бедра (таблица 4.32). По сравнению с соответствующими контрольными данными у пациентов с остеопенией проксимального отдела правого бедра чаще регистрировался генотип ТС (OR=1,81; 95% CI: 1,04-3,16; $p=0,049$). ОП же данного участка скелета сочетался с увеличенной частотой выявления аллеля С (OR=3,95; 95% CI: 1,78-8,77; $p=0,006$) и сниженной – аллеля Т (OR=0,25; 95% CI: 0,11-0,56; $p=0,006$) полиморфизма rs3102735.

Частота генотипов и аллелей полиморфизмов rs3102735 гена *TNFRSF11B* в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне всего проксимального отдела правой бедренной кости и шейки правого бедра

Генотипы и аллели	Распределение генотипов и аллелей среди женщин в группах:				Р между группами
	группа 1, остеопороз	группа 2, остеопения	группа 3, здоровые	Р	
На уровне всего проксимального отдела правого бедра (n=303)					
ТТ, n (%)	11 (57,9)	90 (69,8)	126 (81,3)	<0,001	2-3: 0,049
ТС, n (%)	5 (26,3)	38 (29,4)	29 (18,7)		
СС, n (%)	3 (15,8)	1 (0,8)	0 (0,0)		
Т, n (%)	27 (71,1)	218 (84,5)	281 (90,6)	0,001	1-3: 0,006
С, n (%)	11 (28,9)	40 (15,5)	29 (9,4)		1-3: 0,006
На уровне шейки правого бедра (n=303)					
ТТ, n (%)	24 (58,5)	119 (77,8)	84 (77,1)	0,002	1-2: 0,030
					1-3: 0,048
ТС, n (%)	14 (34,2)	33 (21,6)	25 (22,9)		-
СС, n (%)	3 (7,3)	1 (0,6)	0 (0,0)		-
Т, n (%)	62 (75,6)	271 (88,6)	193 (88,5)	0,006	1-2: 0,010
					1-3: 0,014
С, n (%)	20 (24,4)	35 (11,4)	25 (11,5)		1-2: 0,010
					1-3: 0,014

Анализ результатов детекции полиморфизма rs3102735 у женщин в зависимости от состояния костной ткани шейки правого бедра показал, что в группе больных ОП по сравнению со здоровыми женщинами и лицами с остеопенией был существенно снижен удельный вес лиц, имеющих генотип ТТ (OR=0,42; 95% CI: 0,20-0,90; p=0,048 и OR=0,40; 95% CI: 0,20-0,84; p=0,030

соответственно) и аллель T (OR=0,40; 95% CI: 0,21-0,77; p=0,014 и OR=0,40; 95% CI: 0,22-0,74; p=0,010 соответственно) при увеличении обладателей аллеля C (OR=2,49; 95% CI: 1,30-4,79; p=0,014 и OR=2,50; 95% CI: 1,35-4,62; p=0,010 соответственно).

Статистическая обработка результатов остеоденситометрии в зоне дистального отдела предплечья показала отсутствие их связи с изученными полиморфными вариантами гена *TNFRSF11B* у женщин в постменопаузальный период. Частоты распределения генотипов и аллелей полиморфизмов rs3102735, rs3134069 и rs4355801 среди пациентов с ОП и остеопенией на уровне дистального отдела предплечья существенно не отличались от показателей здоровых женщин (p=0,144 – p=0,597).

Таким образом, установлено, что фактором риска развития ОП поясничных позвонков L1–L4, проксимального отдела левой и правой бедренных костей, шеек левого и правого бедра является наличие у женщин аллеля C полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B* (p<0,05). При ОП поясничных позвонков L1–L4 и при остеопении проксимального отдела левого бедра реже регистрируются генотип AA, аллель A и чаще – генотип AC и аллель C полиморфизма rs3134069 (p<0,05). Ассоциаций полиморфизма rs4355801 гена *TNFRSF11B* с остеопоротическими изменениями всех исследованных участков скелета женщин не установлено (p>0,05). С ОП и остеопенией дистального отдела предплечья недоминантной руки не имеет связей ни один из трех изученных полиморфизмов (p>0,05).

Результаты исследования свидетельствуют о важной роли полиморфизмов rs3102735 и rs3134069 гена *TNFRSF11B* в формировании постменопаузального ОП в различных участках скелета женщин. Полученные данные целесообразно использовать для разработки прогностических критериев с целью выявления предрасположенности к заболеванию, своевременного назначения лечебно-профилактических мероприятий.

4.11. Ассоциации полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена VDR с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Анализ результатов молекулярно-генетического тестирования показал, что распределение генотипов полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена VDR соответствовало равновесию Hardy-Weinberg ($p=0,50$). Подробная частотная характеристика изученного локуса представлена в таблице 4.33. В общей группе женщин, обследованных в постменопаузальном возрасте, частота аллеля А составила 0,37, а аллеля G – 0,63.

Таблица 4.33

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизма rs1544410 гена VDR у обследованных женщин

Генотипы полиморфизма rs1544410 гена VDR	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		χ^2	P
	абс	%	абс	%		
AA	64	13,3	67,5	14,0	0,45	0,50
AG	233	48,2	226,1	46,8		
GG	186	38,5	189,4	39,2		
Всего	483	100,0	483	100,0		

Выполненная математическая обработка материала показала наличие статистически значимых различий в распределении генотипов ($p=0,014$) и аллелей ($p=0,009$) полиморфизма rs1544410 среди здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией на уровне поясничных позвонков L1-L4 (таблица 4.34). При этом удельный вес лиц, имеющих генотип AA, в трех изученных группах существенно не отличался. Генотип же GG с повышенной частотой регистрировался в группе больных с ОП как по сравнению со всеми остальными обследованными ($OR=1,78$; 95% CI: 1,18-2,68; $p=0,009$), так и с пациентами, имеющими остеопению ($OR=2,33$; 95% CI: 1,44-3,76; $p<0,001$). Кроме того, среди женщин с ОП по

сравнению с пациентами, имеющими остеопению, был установлен пониженный удельный вес носителей генотипа AG (OR=0,55; 95% CI: 0,34-0,87; p=0,015).

Анализ частот аллелей полиморфизма rs1544410 показал, что в группе женщин с ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4 реже встречался аллель А (OR=0,68; 95% CI: 0,50-0,92; p=0,016), тогда как регистрация аллеля G, наоборот, была повышена (OR=1,48; 95% CI: 1,09-2,01; p=0,016).

Таблица 4.34

Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR в постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и ОП на уровне поясничных позвонков L1-L4

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR среди женщин:			P
	с остеопорозом (n=125)	с остеопенией (n=172)	здоровых (n=186)	
AA, n (%)	13 (10,4)	26 (15,1)	25 (13,5)	0,014
AG, n (%)	51 (40,8)	96 (55,8)	86 (46,2)	
GG, n (%)	61 (48,8)	50 (29,1)	75 (40,3)	
A, n (%)	77 (30,8)	148 (43,0)	136 (36,6)	0,009
G, n (%)	173 (69,2)	196 (57,0)	236 (63,4)	

Статистическая обработка результатов остеоденситометрии в зоне левой и правой бедренных костей показала отсутствие их связи с полиморфизмом rs1544410 гена VDR у женщин в постменопаузальный период (таблицы 4.35 и 4.36). Частоты распределения генотипов AA, AG и GG, а также аллелей А и G изученного полиморфизма среди больных ОП и остеопенией на уровне всего проксимального отдела бедренных костей, так же как и в зоне их шеек, существенно не отличались от показателей здоровых женщин (p>0,05).

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена *VDR* в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне проксимального отдела левого бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена <i>VDR</i> среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
Денситометрия на уровне всего проксимального отдела левого бедра, n=480				
AA, n (%)	5 (11,40)	25 (13,0)	34 (14,0)	0,98
AG, n (%)	21 (47,7)	96 (49,7)	116 (47,7)	
GG, n (%)	18 (40,9)	72 (37,3)	93 (38,3)	
A, n (%)	31 (35,2)	146 (37,8)	184 (37,9)	0,55
G, n (%)	57 (64,8)	240 (62,2)	302 (62,1)	
Денситометрия на уровне шейки левого бедра, n=384				
AA, n (%)	5 (11,6)	30 (14,4)	16 (12,0)	0,69
AG, n (%)	23 (53,5)	93 (44,7)	69 (51,9)	
GG, n (%)	15 (34,9)	85 (40,9)	48 (36,1)	
A, n (%)	33 (38,4)	153 (36,8)	101 (38,0)	0,93
G, n (%)	53(61,6)	263 (63,2)	165 (62,0)	

Аналогичная картина, свидетельствующая об отсутствии достоверных отличий ($p > 0,05$) распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена *VDR* в выделенных группах женщин (здоровые, с остеопенией и ОП), установлена и при анализе результатов остеоденситометрии в зоне дистального отдела предплечья (таблица 4.37).

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне проксимального отдела правого бедра**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR среди женщин:			P
	с остеопорозом	с остеопенией	здоровых	
Денситометрия на уровне всего проксимального отдела правого бедра, n=303				
AA, n (%)	3 (15,8)	13 (10,1)	26 (16,8)	0,40
AG, n (%)	10 (52,6)	58 (45,0)	72 (46,4)	
GG, n (%)	6 (31,6)	58 (44,9)	57 (36,8)	
A, n (%)	16 (42,1)	84 (32,6)	124 (40,0)	0,17
G, n (%)	22 (57,9)	174 (67,4)	186 (60,0)	
Денситометрия на уровне шейки правого бедра, n=303				
AA, n (%)	4 (9,8)	23 (15,0)	15 (13,8)	0,91
AG, n (%)	21 (51,2)	70 (45,8)	49 (44,9)	
GG, n (%)	16 (39,0)	60 (39,2)	45 (41,3)	
A, n (%)	29 (35,4)	116 (37,9)	79 (36,2)	0,88
G, n (%)	53 (64,6)	190 (62,1)	139 (63,8)	

Таким образом, генетическими предикторами ОП в области поясничных позвонков L1-L4 являются наличие у женщины генотипа GG ($p=0,009$) или аллеля G ($p=0,016$) полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена VDR. Ассоциаций вышеуказанного полиморфизма с остеопоротическими изменениями проксимального отдела бедренных костей и дистального отдела предплечья не установлено ($p>0,05$).

Полученные данные могут быть использованы для выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин в постменопаузе и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR в
постменопаузальный период у здоровых женщин и у женщин с остеопенией и
ОП на уровне дистального отдела предплечья**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR среди женщин:			P
	с остеопорозом, n=32	с остеопенией, n=38	здоровых, n=26	
AA, n (%)	5 (15,6)	5 (13,2)	3 (11,5)	0,48
AG, n (%)	14 (43,8)	23 (60,5)	11 (42,3)	
GG, n (%)	13 (40,6)	10 (26,3)	12 (46,2)	
A, n (%)	24 (37,5)	33 (43,4)	17 (32,7)	0,46
G, n (%)	40 (62,5)	43 (56,6)	35 (67,3)	

**4.12. Ассоциации полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена VDR с
остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4 у женщин в
зависимости от длительности постменопаузы**

Анализ полученных результатов производился в группах женщин с длительностью постменопаузы: до 5 лет, 6-10 лет, 11-15 лет и более 15 лет. Изучение распределения генотипов полиморфизма rs1544410 гена VDR показало (таблица 4.38) соответствие частоты их регистрации у женщин закону Hardy-Weinberg в большинстве выделенных групп с различной длительностью постменопаузы ($p > 0,05$). Исключение составили женщины с длительностью постменопаузы более 15 лет ($p < 0,001$). Причем, отклонение от равновесного распределения в этой группе было обусловлено увеличением удельного веса гетерозиготных лиц (66,3% против 35,5-43,0% в группах с меньшей длительностью постменопаузы) и снижением процента гомозигот GG (18,7% против 41,0-53,6%).

**Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов
полиморфизма rs1544410 гена VDR у обследованных женщин с различной
длительностью постменопаузы**

Генотипы полиморфизма rs1544410 гена VDR	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		χ^2	P
	abc	%	abc	%		
В группе женщин с длительностью постменопаузы до 5 лет, n=107						
AA	11	10,28	9,28	8,67	0,65	0,42
AG	41	38,32	44,45	41,54		
GG	55	51,40	53,27	49,79		
В группе женщин с длительностью постменопаузы 6-10 лет, n=110						
AA	12	10,91	9,02	8,20	1,93	0,16
AG	39	35,45	44,96	40,87		
GG	59	53,64	56,02	50,93		
В группе женщин с длительностью постменопаузы 11-15 лет, n=100						
AA	16	16,00	14,06	14,06	0,68	0,41
AG	43	43,00	46,88	46,88		
GG	41	41,00	39,06	39,06		
В группе женщин с длительностью постменопаузы более 15 лет, n=166						
AA	25	15,06	38,55	23,23	17,75	<0,001
AG	110	66,27	82,89	49,93		
GG	31	18,67	44,56	26,84		

На рисунке 4.1 представлена динамика частот аллелей А и G полиморфизма rs1544410 гена VDR в группах обследованных женщин в зависимости от длительности постменопаузы. Полученные данные свидетельствуют о наличии достоверных изменений частот выявления изученных аллелей. Так, удельный вес носителей аллеля G среди женщин с ОП снижался от 85,29% в первые 5 лет постменопаузы до 59,52% после 15 лет постменопаузального периода (p=0,015).

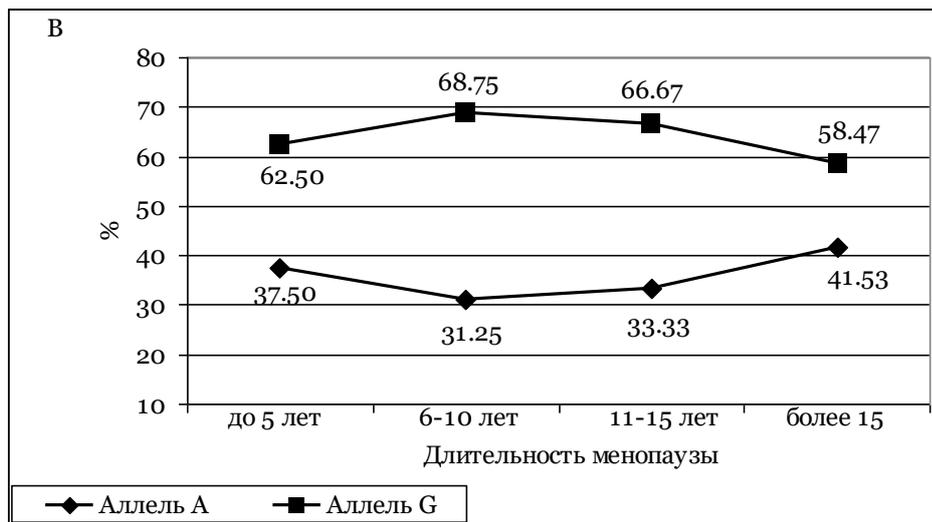
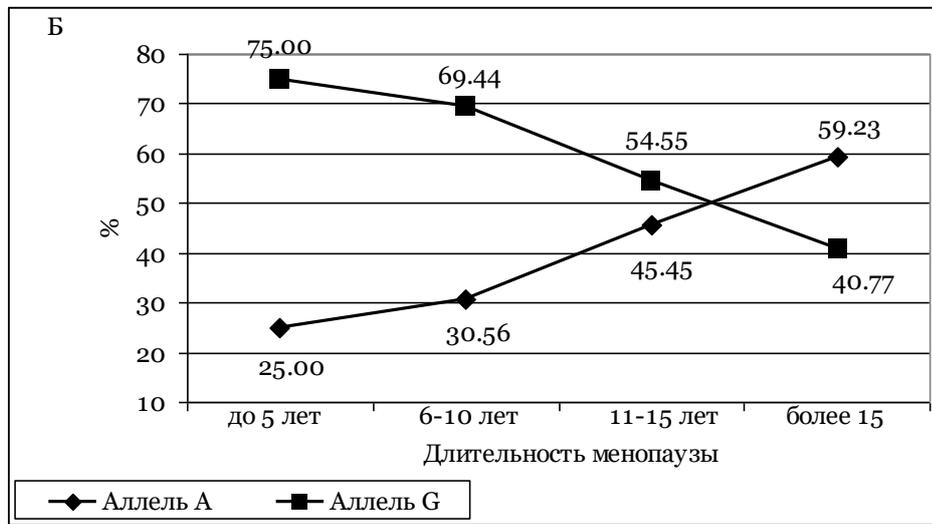
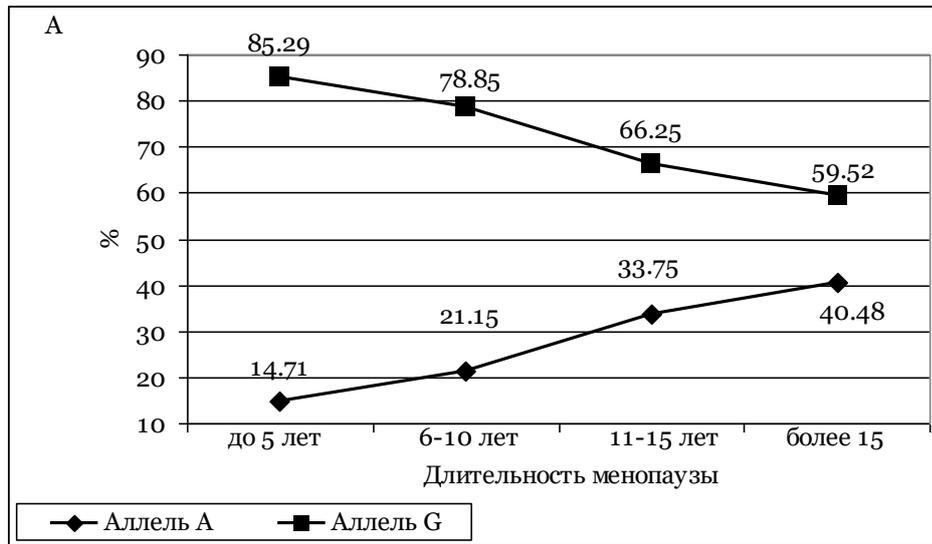


Рисунок 4.1 Динамика частоты регистрации (%) аллелей А и G полиморфизма rs1544410 гена *VDR* у женщин с ОП (А), остеопенией (Б) и здоровых (В) в зависимости от длительности постменопаузы

Зеркально обратная динамика была характерна для показателей частоты аллеля А, характеризующаяся нарастанием ее от 14,71% до 40,48% ($p=0,015$; $\chi^2=10,42$). Аналогичной направленности динамика изменений частот аллелей А и G установлена и в группе женщин с остеопенией ($p<0,001$). В то же время среди здоровых женщин процент носителей вышеуказанных аллелей существенно не изменялся ($P=0,440$; $\chi^2=2,70$).

Таким образом, динамика изменений частот аллелей А и G у больных с ОП и остеопенией по мере увеличения длительности постменопаузы, объясняет описанное выше отклонение от равновесного распределения Hardy-Weinberg. Установленная закономерность может быть одним из признаков того, что исследованный локус гена *VDR*, возможно, подвержен селективному отбору по мере увеличения длительности постменопаузы.

Дальнейшая статистическая обработка результатов показала, что в подгруппе женщин с длительностью постменопаузы до 5 лет были обнаружены статистически значимые различия в распределении как генотипов ($p=0,036$), так и аллелей ($p=0,023$) полиморфизма rs1544410 гена *VDR* в зависимости от остеопоротических изменений поясничных позвонков L1-L4 (таблица 4.39). Среди женщин с ОП и остеопенией поясничных позвонков L1-L4 реже, чем у здоровых лиц, встречался генотип AA (OR=0,18; 95% CI: 0,04-0,88; $p=0,045$). Больные ОП характеризовались повышенной частотой регистрации генотипа GG по сравнению со всеми остальными женщинами (OR=3,71; 95% CI: 1,13-12,3; $p=0,047$) и со здоровыми (OR=4,43; 95% CI: 1,27-15,4; $p=0,030$). Кроме того, наличие ОП у обследованных сочеталось со снижением выявляемости аллеля А (OR=0,47; 95% CI: 0,26-0,85; $p=0,018$) и увеличением – аллеля G (OR=2,15; 95% CI: 1,18-3,93; $p=0,018$).

В отличие от женщин с длительностью постменопаузы до 5 лет в группе лиц, которые имели последнюю менструацию 6-10 лет назад (таблица 4.40), зависимости между частотой генотипов и аллелей изученного полиморфизма и показателями денситометрии поясничных позвонков L1-L4 установлено не было ($p>0,050$).

Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR у женщин с длительностью постменопаузы до 5 лет в зависимости от результатов денситометрии на уровне поясничных позвонков L1-L4

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 среди женщин с длительностью постменопаузы до 5 лет:			P
	с остеопорозом, n=17	с остеопенией, n=38	здоровых, n=52	
AA, n (%)	1 (5,9)	1 (2,6)	9 (17,3)	0,036
AG, n (%)	3 (17,6)	17 (44,8)	21 (40,4)	
GG, n (%)	13 (76,5)	20 (52,6)	22 (42,3)	
A, n (%)	5 (14,7)	19 (25,0)	39 (37,5)	0,023
G, n (%)	29 (85,3)	57 (75,0)	65 (62,5)	

Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR у женщин с длительностью постменопаузы от 6 до 10 лет в зависимости от результатов денситометрии на уровне поясничных позвонков L1-L4

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 среди женщин с длительностью постменопаузы 6-10 лет:			P
	с остеопорозом, n=26	с остеопенией, n=36	здоровых, n=48	
AA, n (%)	2 (7,7)	3 (8,3)	7 (14,6)	0,487
AG, n (%)	7 (26,9)	16 (44,5)	16 (33,3)	
GG, n (%)	17 (65,4)	17 (47,2)	25 (52,1)	
A, n (%)	11 (21,2)	22 (30,6)	30 (31,3)	0,392
G, n (%)	41 (78,8)	50 (69,4)	66 (68,7)	

Аналогичные результаты были получены и в группе женщин с длительностью постменопаузы 11-15 лет (таблица 4.41). Однако необходимо отметить, что все-таки была установлена близкая к достоверности тенденция ($p=0,081$) к различиям в распределении генотипов полиморфизма rs1544410 гена *VDR* между изученными тремя группами женщин (с ОП, остеопенией и здоровые). При этом среди больных с ОП достоверно реже встречался генотип AG как по сравнению со всеми остальными женщинами ($OR=0,33$; 95% CI: 0,14-0,78; $p=0,019$), так и теми из них, которые имели остеопению ($OR=0,32$; 95% CI: 0,12-0,84; $p=0,038$). В противоположность этому в группе лиц с ОП отмечалась тенденция к повышенному накоплению генотипа GG ($p=0,092$).

Таблица 4.41

Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена *VDR* у женщин с длительностью постменопаузы от 11 до 15 лет в зависимости от результатов денситометрии на уровне поясничных позвонков L1-L4

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 среди женщин с длительностью постменопаузы 11-15 лет:			P
	с остеопорозом, n=40	с остеопенией, n=33	здоровых, n=27	
AA, n (%)	8 (20,0)	6 (18,2)	2 (7,4)	0,081
AG, n (%)	11 (27,5)	18 (54,5)	14 (51,9)	
GG, n (%)	21 (52,5)	9 (27,3)	11 (40,7)	
A, n (%)	27 (33,8)	30 (45,5)	18 (33,3)	0,264
G, n (%)	53 (66,2)	36 (54,5)	36 (66,7)	

Длительность постменопаузы более 15 лет сочеталась у женщин с достоверными ассоциациями между показателями плотности поясничных позвонков L1-L4 и генотипами ($p=0,002$), аллелями ($p=0,005$) полиморфизма rs1544410 гена *VDR* (таблица 4.42). В группе обследованных лиц с остеопенией

чаще, чем среди остальных регистрировался генотип AA (OR=3,34; 95% CI: 1,37-8,11; p=0,013) и реже – генотип GG (OR=0,18; 95% CI: 0,06-0,54; p=0,002). Ассоциацию с остеопенией обнаруживали и аллели. Для аллеля А была установлена повышенная частота в группе женщин с остеопенией по сравнению со здоровыми лицами (OR=2,05; 95% CI: 1,23-3,39; p=0,008) и больными, имеющими ОП (OR=2,14; 95% CI: 1,22-3,74; p=0,011).

Таблица 4.42

Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR у женщин с длительностью постменопаузы более 15 лет в зависимости от результатов денситометрии на уровне поясничных позвонков L1-L4

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 среди женщин с длительностью постменопаузы >15 лет:			P
	с остеопорозом, n=42	с остеопенией, n=65	здоровых, n=59	
AA, n (%)	2 (4,8)	16 (24,6)	7 (11,9)	0,002
AG, n (%)	30 (71,4)	45 (69,2)	35 (59,3)	
GG, n (%)	10 (23,8)	4 (6,2)	17 (28,8)	
A, n (%)	34 (40,5)	77 (59,2)	49 (41,5)	0,005
G, n (%)	50 (59,5)	53 (40,8)	69 (58,5)	

Таким образом, результаты выполненного исследования демонстрируют соответствие частоты регистрации генотипов полиморфизма rs1544410 гена VDR у обследованных женщин закону Hardy-Weinberg в большинстве выделенных подгрупп с различной длительностью постменопаузы (p>0,05). Отклонение от равновесного распределения обнаружено только среди женщины с длительностью постменопаузы более 15 лет (p<0,001). При анализе частот аллелей у женщин в зависимости от длительности постменопаузального периода (до 5 лет, 5-10 лет, 11-15 лет и более 15 лет) установлена поступательная динамика снижения регистрации аллеля А и повышения – аллеля G как в группе женщин с ОП на

уровне поясничных позвонков L1-L4 ($p=0,015$), так и среди лиц, имеющих остеопению ($p<0,001$).

Описанные в предыдущем разделе ассоциации ОП с генотипом GG ($p=0,009$) и аллелем G ($p=0,016$), установленные в общей группе женщин, нашли подтверждение только лишь в группе лиц с длительностью постменопаузы до 5 лет ($p=0,030$ и $p=0,018$ соответственно). Аналогичных связей ОП поясничных позвонков L1-L4 с полиморфными вариантами гена *VDR* (rs1544410) в подгруппах женщин с длительностью постменопаузального периода 6-10, 11-15 и более 15 лет ($P>0.05$) установлено не было. Полученные результаты могут быть использованы для выявления предрасположенности к развитию ОП у женщин в постменопаузальный период и повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

4.13. Ассоциации полиморфизмов rs2414096 (A>G) и rs936306 (C>T) гена *CYP19A1*, rs9340799 (-351 G>A, XbaI) гена *ESR1* и rs10735810 (2 A>G, FokI) гена *VDR* с остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин в постменопаузе

Анализ результатов молекулярно-генетического тестирования показал, что распределение генотипов полиморфизма rs2414096 (A>G) гена *CYP19A1*, rs936306 (C>T) гена *CYP19A1*, rs9340799 (-351 G>A, XbaI) гена *ESR1*, rs10735810 (2 A>G, FokI) гена *VDR* соответствовало равновесию Hardy-Weinberg ($p>0,05$). Подробная частотная характеристика изученных локусов представлена в таблице 4.43. В общей группе женщин, обследованных в постменопаузальном возрасте, частота аллелей А и G полиморфизма rs2414096 составила 0,483 и 0,517 соответственно, аллелей С и Т полиморфизма rs936306 – 0,795 и 0,205 соответственно, аллелей G и А полиморфизма rs9340799 – 0,372 и 0,628 соответственно, аллелей А и G полиморфизма rs10735810 – 0,501 и 0,499 соответственно.

Анализ результатов остеоденситометрии различных участков скелета женщин показал отсутствие их связи с вышеуказанными тремя полиморфизмами.

Среди выделенных исходя из данных денситометрии поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левого и правого бедра, шеек левой и правой бедренной кости, дистального отдела предплечья трех групп женщин (с ОП, остеопенией и здоровых) не установлено существенных различий частот генотипов ($P>0,05$) и аллелей ($P>0,05$) полиморфизмов rs2414096 и rs936306 гена *CYP19A1*, rs9340799 гена *ESR1*, rs10735810 гена *VDR*.

Таблица 4.43

Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизмов rs2414096 и rs936306 гена *CYP19A1*, rs9340799 гена *ESR1* и rs10735810 гена *VDR* у обследованных женщин в постменопаузальном возрасте (n=483)

Полиморфизмы (гены)	Генотипы	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
		abc	%	abc	%	
rs2414096 (<i>CYP19A1</i>)	AA	118	24,4	112,9	23,4	0,351
	AG	231	47,8	241,2	49,9	
	GG	134	27,8	128,9	26,7	
rs936306 (<i>CYP19A1</i>)	CC	307	63,6	305,3	63,2	0,633
	CT	154	31,9	157,4	32,6	
	TT	22	4,5	20,3	4,2	
rs9340799 (<i>ESR1</i>)	GG	72	14,9	66,7	13,8	0,303
	GA	215	44,5	225,6	46,7	
	AA	196	40,6	190,7	39,5	
rs10735810 (<i>VDR</i>)	AA	122	25,3	121,3	25,1	0,892
	AG	240	49,7	241,5	50,0	
	GG	121	25,0	120,2	24,9	

4.14. Ассоциации полиморфизмов генов *COL1A1*, *CYP19A1*, *ESR1*, *IL-6*, *LRP5*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, *VDR* с эффективностью лечения постменопаузального остеопороза препаратом ибандроната (Бонвива)

Выполненные исследования демонстрируют существенное увеличение ($p < 0,001$) МПК во всех изученных участках скелета женщин в результате 12-месячного курса терапии препаратами «Бонвива», витамина D и кальция (таблица 4.44). Показатели прироста МПК в течение 12 месяцев наблюдения составили от $2,35 \pm 0,59\%$ в зоне шейки левого бедра до $4,70 \pm 0,49\%$ при денситометрии поясничных позвонков L1-L4.

Таблица 4.44

Показатели минеральной плотности костной ткани в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным ОП в динамике лечения препаратами ибандроновой кислоты (Бонвива), витамина D и кальция

Участок денситометрии	Минеральная плотность кости ($M \pm m$, г/см ²) в динамике лечения			P
	До	Через 1 год	% прироста	
Поясничные позвонки L1-L4 (n=129)	0,815±0,011	0,850±0,010	4,70±0,49	<0,001
Шейка левого бедра (n=127)	0,660±0,007	0,674±0,008	2,35±0,59	<0,001
Весь проксимальный отдел левого бедра (n=125)	0,785±0,009	0,808±0,009	3,15±0,52	<0,001
Шейка правого бедра (n=115)	0,653±0,008	0,678±0,008	4,00±0,68	<0,001
Весь проксимальный отдел правого бедра (n=112)	0,801±0,010	0,830±0,010	4,07±0,64	<0,001

Следует отметить, что эффективность лечения была не одинакова у женщин постменопаузального возраста и зависела от изученных генетических полиморфизмов. Так, показатели прироста МПК поясничных позвонков L1-L4

достоверно различались ($p=0,011$) между подгруппами женщин, имеющих генотипы AA, AG и GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR* (таблица 4.45). Эффективность терапии у обладателей генотипа AA вышеуказанного полиморфизма была значительно выше, чем у носителей генотипа AG ($p=0,03$) или GG ($p=0,01$).

Таблица 4.45

Ассоциации генотипов полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена *VDR* с процентом прироста минеральной плотности костной ткани в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным ОП до и через 1 год после лечения препаратами ибандроновой кислоты (Бонвива), витамина D и кальция

Участок денситометрии	% прироста минеральной плотности кости ($M\pm m$) в динамике лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs1544410 гена <i>VDR</i> :			P	P между группами и
	AA	AG	GG		
Позвонки L1-L4	8,57±1,66 (n=16)	4,44±0,79 (n=53)	3,90±0,62 (n=60)	0,011	1-2: 0,03 1-3: 0,01 2-3: 0,87
Шейка левого бедра	3,19±2,27 (n=15)	2,49±0,95 (n=53)	2,00±0,76 (n=59)	0,811	-
Весь проксимальный отдел левого бедра	5,53±1,59 (n=15)	3,49±0,84 (n=51)	2,26±0,69 (n=59)	0,261	-
Шейка правого бедра	3,77±1,16 (n=14)	4,31±1,06 (n=51)	3,75±1,08 (n=50)	0,923	-
Весь проксимальный отдел правого бедра	5,70±1,69 (n=13)	3,75±1,13 (n=49)	3,96±0,81 (n=50)	0,652	-

Аналогичная ассоциация прироста МПК в поясничных позвонках L1-L4 была установлена и с генотипами полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* (таблица

4.46). Наличие генотипа ТТ полиморфизма rs2234693 сочеталось с более низким показателем прироста МПК, чем при генотипе СС ($p=0,02$).

Таблица 4.46

Ассоциации генотипов полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1* с процентом прироста минеральной плотности костной ткани в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным ОП до и через 1 год после лечения препаратами ибандроновой кислоты (Бонвива), витамина D и кальция

Участок денситометрии	% прироста минеральной плотности кости ($M\pm m$) в динамике лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			P	P между группами и
	ТТ	ТС	СС		
Позвонки L1-L4	2,54±0,69 (n=36)	5,15±0,68 (n=69)	6,63±1,32 (n=24)	0,012	1-2:0,07 1-3:0,02 2-3:0,52
Шейка левого бедра	2,91±1,07 (n=35)	1,59±0,76 (n=66)	3,51±1,57 (n=26)	0,393	-
Весь проксимальный отдел левого бедра	3,41±0,61 (n=35)	2,48±0,76 (n=65)	4,55±1,43 (n=25)	0,299	-
Шейка правого бедра	2,76±1,04 (n=31)	3,92±0,95 (n=64)	6,19±1,78 (n=20)	0,256	-
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,55±0,94 (n=31)	3,33±0,95 (n=62)	5,70±1,49 (n=19)	0,371	-

Для изучения ассоциаций полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* с эффективностью лечения препаратом «Бонвива» женщин с постменопаузальным ОП женщины были распределены в 2 группы (таблица 4.47). В первую группу были выделены женщины с генотипом GG. Вторую группу составили пациенты с генотипом GT и небольшое количество лиц, имеющих генотип TT ($n=4$).

Аналогичным образом были выделены две группы женщин и по полиморфизму rs1107946 гена *COL1A1* исходя из того, что всего 3 женщины имели генотип AA.

Таблица 4.47

Ассоциации генотипов полиморфизмов rs1800012 и rs1107946 гена *COL1A1* с эффективностью лечения постменопаузального ОП препаратами ибандроната (Бонвива), витамина D и кальция

Участок денситометрии	% прироста минеральной плотности кости (M±m) в динамике лечения у женщин с:		P
генотипами полиморфизма rs1800012 (Sp1 S>s) гена <i>COL1A1</i> :			
	GG	GT+TT	
Позвонки L1-L4	5,44±0,70 (n=74)	3,71±0,67 (n=55)	0,084
Шейка левого бедра	2,87±0,79 (n=73)	1,64±0,89 (n=54)	0,305
Весь проксимальный отдел левого бедра	4,66±0,62 (n=71)	1,17±0,79 (n=54)	<0,001
Шейка правого бедра	4,83±0,95 (n=62)	3,04±0,95 (n=53)	0,190
Весь проксимальный отдел правого бедра	5,59±0,86 (n=59)	2,38±0,91 (n=53)	0,015
генотипами полиморфизма rs1107946 (-1997 C>A) гена <i>COL1A1</i> :			
	CC	CA+AA	
Позвонки L1-L4	5,14±0,61 (n=84)	3,88±0,82 (n=45)	0,225
Шейка левого бедра	2,52±0,68 (n=82)	2,04±1,12 (n=45)	0,697
Весь проксимальный отдел левого бедра	4,00±0,60 (n=81)	1,60±0,92 (n=44)	0,078
Шейка правого бедра	4,06±0,78 (n=75)	3,99±1,32 (n=39)	0,648
Весь проксимальный отдел правого бедра	3,85±0,74 (n=74)	4,51±1,23 (n=38)	0,690

Установлено, что генотип GG полиморфизма rs1800012 связан с более высокими значениями прироста МПК проксимальных отделов левого (p<0,001) и

правого бедра ($p=0,015$). Генотип СС полиморфизма rs1107946 показал близкую к достоверности тенденцию к повышению эффекта терапии в проксимальном отделе левой бедренной кости ($p=0,078$).

Женщины с генотипом АА полиморфизма rs4988321 гена *LRP5* среди обследованных лиц с постменопаузальным ОП отсутствовали (таблица 4.48). Поэтому эффективность лечения оценивалась в сравнительном анализе у обладателей генотипов GG и GA вышеуказанного полиморфизма. По другому полиморфизму (rs3736228) гена *LRP5* гомозигота TT была выявлена всего лишь в двух случаях. В связи с этим для статистической обработки полученных данных женщины, гомозиготные по аллели T, были объединены с гетерозиготными лицами (СТ + TT).

Установлено, что генотип GG полиморфизма rs4988321 ассоциируется с хорошей эффективностью терапии женщин с постменопаузальным ОП препаратом «Бонвива», что проявляется более высокими показателями прироста МПК у женщин с данным генотипом в костной ткани позвонков L1-L4 ($p=0,012$) и шейки левого бедра ($p=0,020$), чем у лиц, имеющих генотип GA или АА. Полиморфизм rs3736228 гена *LRP5* также ассоциировался с различиями в эффективности терапевтического ответа женщин на 12 месячный курс «Бонвивы». Женщины, имеющие генотип СС полиморфизма rs3736228, по сравнению с остальными, характеризовались более выраженным приростом МПК шейки правого бедра ($p=0,044$).

Наряду с вышеизложенным необходимо указать, что для всех остальных изученных полиморфизмов (rs2414096, rs936306, rs9340799, rs1800795, rs9594738, rs9594759, rs3134069, rs3102735, rs4355801, rs10735810) связей с результатами лечения женщин с постменопаузальным ОП установлено не было ($p>0,05$).

Таким образом, установлены ассоциации полиморфизмов rs1544410 гена *VDR*, rs2234693 гена *ESR1*, rs1800012 гена *COL1A1*, rs4988321 и rs3736228 гена *LRP5* с эффективностью назначения ибандроновой кислоты в течение 12 мес. при постменопаузальном ОП ($p<0,05$). С повышенным приростом МПК в поясничных позвонках L1-L4 имеют ассоциации генотип АА полиморфизма rs1544410 гена

Ассоциации генотипов полиморфизмов rs4988321 и rs3736228 гена *LRP5* с эффективностью лечения постменопаузального ОП препаратами ибандроната (Бонвива), витамина D и кальция

Участок денситометрии	% прироста минеральной плотности кости (M±m) в динамике лечения у женщин с:		P
генотипами полиморфизма rs4988321 (1999 G>A, Val667Met) гена <i>LRP5</i> :			
	GG	GA + AA	
Позвонки L1-L4	5,15±0,57 (n=106)	2,64±0,80 (n=23)	0,012
Шейка левого бедра	2,86±0,68 (n=104)	0,05±0,98 (n=23)	0,020
Весь проксимальный отдел левого бедра	3,47±0,59 (n=102)	1,76±0,98 (n=23)	0,199
Шейка правого бедра	4,42±0,79 (n=95)	2,01±0,98 (n=20)	0,059
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,29±0,73 (n=92)	3,05±1,21 (n=20)	0,455
генотипами полиморфизма rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val) гена <i>LRP5</i> :			
	CC	CT + TT	
Позвонки L1-L4	4,79±0,61 (n=89)	4,51±0,85 (n=40)	0,795
Шейка левого бедра	1,97±0,78 (n=86)	3,15±0,81 (n=41)	0,296
Весь проксимальный отдел левого бедра	3,25±0,68 (n=85)	2,96±0,74 (n=40)	0,772
Шейка правого бедра	4,78±0,93 (n=78)	2,37±0,73 (n=37)	0,044
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,50±0,83 (n=76)	3,17±0,96 (n=36)	0,334

VDR, генотип GG полиморфизма rs4988321 гена *LRP5*, а с низким – генотип TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* ($p<0,05$). Предиктором хорошего ответа на антиостеопоротическую терапию в зоне проксимальных отделов левого и правого бедра является генотип GG полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* ($p<0,05$), а в

зонах шейки бедра слева и справа – соответственно генотип GG полиморфизма rs4988321 и генотип CC полиморфизма rs3736228 гена *LRP5* ($p < 0,05$).

4.15. Математическая модель расчета риска развития постменопаузального остеопороза

Для создания формулы расчета риска развития постменопаузального ОП использовался метод бинарной логистической регрессии. Зависимой переменной являлся диагноз. При этом отсутствие заболевания обозначалось как «0». Наличие ОП соответствовало значению «1». В качестве независимых переменных выступали изученные клинико-anamnestические данные (ИМТ, возраст менархе и менопаузы, длительность менструального цикла, количество детей, длительность кормления грудью, частота занятий физкультурой, количество потребления молока и молочных продуктов, алкоголя и т.д.) и генетические факторы. Наличие генетического предиктора заболевания (генотип соответствующего гена, ассоциированный с ОП) обозначалось значением «1», а его отсутствие – «0».

Пошаговое включение и исключение предикторов позволило отобрать 4 независимых переменных, использование которых дает возможность наиболее эффективно отражать риск формирования ОП у женщин в постменопаузе (таблица 4.49).

На основании полученных данных была составлена формула для расчета значения Z:

$$Z = -0,273 \times \text{ИМТ} + 1,112 \times rs1800012 + 1,898 \times rs9594738 + 1,086 \times rs9594759 + 6,570 \quad (3)$$

где ИМТ – индекс массы тела, а rs1800012, rs9594738 и rs9594759 – количественное выражение генотипов соответствующих полиморфизмов (таблица 4.50).

**Переменные в уравнении бинарной логистической регрессии для описания
вероятности развития постменопаузального ОП**

Показатели	Коэффициенты	Среднеквадратическая ошибка	P
Индекс массы тела	-0,273	0,040	<0,001
Полиморфизм rs1800012 (1546, Sp1 S>s) гена <i>COL1A1</i>	1,112	0,349	0,001
Полиморфизм rs9594738 (C>T) гена <i>TNFSF11</i>	1,898	0,534	<0,001
Полиморфизм rs9594759 (C>T) гена <i>TNFSF11</i>	1,086	0,379	0,004
Константа	6,570	32,277	<0,001

Таблица 4.50

Количественное представление генотипов rs1800012, rs9594738 и rs9594759

Генетические полиморфизмы (гены)	Генотипы	Количественное представление генотипов
rs1800012 (<i>COL1A1</i>)	GG	0
	GT или TT	1
rs9594738 (<i>TNFSF11</i>)	CC или TC	0
	TT	1
rs9594759 (<i>TNFSF11</i>)	CC	0
	TT или TC	1

Полученная модель показала достаточно высокие показателями чувствительности (83,1%) и специфичности (72,4%). Общая доля правильно предсказываемых результатов – 78,4%. Использование данной модели продемонстрировано на нескольких примерах.

Пример 1

Женщина П., 46 лет. Индекс массы тела – 18,0. Результаты молекулярно-генетического исследования: генотип GT полиморфизма rs1800012, генотип TT полиморфизма rs9594738, генотип TT полиморфизма rs9594759.

Формула для расчета Z следующая:

$$Z = -0,273 \times 18,0 + 1,112 \times 1 + 1,898 \times 1 + 1,086 \times 1 + 6,570$$

Вероятность заболевания в постменопаузе (P) – 99,7%.

Вывод: низкий ИМТ и наличие генетических предикторов по все трем полиморфизмам свидетельствует о высоком риске (P=99,7%) развития ОП в постменопаузе.

Пример 2

Женщина С., 45 лет. Индекс массы тела – 24,0. Результаты молекулярно-генетического исследования: генотип GT полиморфизма rs1800012, генотип TT полиморфизма rs9594738, генотип TT полиморфизма rs9594759.

Формула для расчета Z следующая:

$$Z = -0,273 \times 24,0 + 1,112 \times 1 + 1,898 \times 1 + 1,086 \times 1 + 6,570$$

Вероятность заболевания в постменопаузе (P) – 98,4%

Вывод: наличие генетических предикторов по все трем полиморфизмам при нормальных значениях ИМТ свидетельствует о высоком риске (P=98,4%) развития ОП в постменопаузе.

Пример 3

Женщина П., 41 год. Индекс массы тела – 18,0. Результаты молекулярно-генетического исследования: генотип GG полиморфизма rs1800012, генотип TT полиморфизма rs9594738, генотип CC полиморфизма rs9594759.

Формула для расчета Z следующая:

$$Z = -0,273 \times 18,0 + 1,112 \times 0 + 1,898 \times 1 + 1,086 \times 0 + 6,570$$

Вероятность заболевания в постменопаузе (P) – 97,2%.

Вывод: низкий ИМТ и наличие генетического предиктора по одному (rs9594738) из трех полиморфизмов свидетельствует о высоком риске (P=97,2%) развития ОП в постменопаузе.

Аналогичным образом была оценена роль и двух других полиморфизмов по отдельности. Так, если в качестве единственного генетического предиктора выступает только генотип GT полиморфизма rs1800012 или только генотип TT полиморфизма rs9594759, то получаем соответственно формулы:

$$Z = -0,273 \times 18,0 + 1,112 \times 1 + 1,898 \times 0 + 1,086 \times 0 + 6,570 \text{ и}$$

$$Z = -0,273 \times 18,0 + 1,112 \times 0 + 1,898 \times 0 + 1,086 \times 1 + 6,570$$

Вероятность заболевания в постменопаузе (P) – соответственно 94,1% и 93,9%.

Пример 4

Женщина П., 42 года. Индекс массы тела – 33,0. Результаты молекулярно-генетического исследования: генотип GT полиморфизма rs1800012, генотип TT полиморфизма rs9594738, генотип TT полиморфизма rs9594759.

Формула для расчета Z следующая:

$$Z = -0,273 \times 33,0 + 1,112 \times 1 + 1,898 \times 1 + 1,086 \times 1 + 6,570$$

Вероятность заболевания в постменопаузе (P) – 84,0%.

Вывод: Повышенный ИМТ снижает риск развития ОП в постменопаузе (P=84,0%) даже при наличии генетических предикторов по все трем полиморфизмам.

Пример 5

Женщина П., 48 лет. Индекс массы тела – 33,0. Результаты молекулярно-генетического исследования: генотип GG полиморфизма rs1800012, генотип CC полиморфизма rs9594738, генотип CC полиморфизма rs9594759.

Формула для расчета Z следующая:

$$Z = -0,273 \times 33,0 + 1,112 \times 0 + 1,898 \times 0 + 1,086 \times 0 + 6,570$$

Вероятность заболевания в постменопаузе (P) – 8,0%.

Вывод: повышенный ИМТ и отсутствие генетических предикторов по всем трем полиморфизмам свидетельствует о низком риске ($P=8,0\%$) развития ОП в постменопаузе.

Таким образом, при помощи метода бинарной логистической регрессии получена модель для определения прогноза развития постменопаузального ОП, характеризующаяся достаточно высокими показателями чувствительности (83,1%) и специфичности (72,4%). В качестве предикторов для определения риска заболевания выбраны ИМТ и результаты тестирования женщин по полиморфизмам rs1800012 (ген *COL1A1*), rs9594738 и rs9594759 (ген *TNFSF11*).

РАЗДЕЛ 5

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ПРИ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ
ОСТЕОПОРОЗЕ**5.1. Уровни цитокинов в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным
остеопорозом**

Для изучения взаимосвязей между уровнями цитокинов в сыворотке крови и степенью остеопоротических нарушений у женщин в постменопаузе были выделены 3 группы женщин: здоровые (n=37), с остеопенией (n=84) и ОП (n=59). При этом было установлено, что контрольная группа, группы женщин с остеопенией и ОП существенно не отличались по возрасту (соответственно $59,0 \pm 1,71$, $60,5 \pm 1,09$ и $60,0 \pm 1,44$ лет, $p > 0,05$) и длительности постменопаузального периода (соответственно $10,0 \pm 1,73$, $10,0 \pm 1,09$ и $12,0 \pm 1,22$ лет, $p > 0,05$).

Анализ уровней изученных цитокинов в сыворотке крови обследованных женщин (таблица 5.1) показал, что больные с ОП отличались от контрольной группы более высокими значениями IL-1 β ($p < 0,01$), IL-8 ($p < 0,05$), IL-17A ($p < 0,01$), TNF- α ($p < 0,05$), RANKL ($p < 0,05$) и низкими концентрациями IL-4 ($p < 0,05$) и IL-10 ($p < 0,01$). При ОП было обнаружено увеличение IL-17A ($p < 0,01$), TNF- α ($p < 0,01$) и RANKL ($p < 0,05$) также и по сравнению с женщинами, имеющими остеопению. Наличие у женщин остеопении в отличие от здоровых лиц характеризовалось увеличением показателей IL-1 β ($p < 0,05$) и снижением – IL-10 ($p < 0,05$). Наряду с этим не было установлено различий между тремя группами женщин по сывороточным показателям IL-6, INF- γ , OPG и соотношения OPG/RANKL ($p > 0,05$).

Установленные особенности уровней цитокинов у женщин постменопаузального возраста с различным состоянием костной ткани нашли подтверждение в результатах корреляционного анализа, при помощи которого были изучены ассоциации МПК различных участков скелета женщин с уровнями

**Содержание цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального
возраста, имеющих остеопению и ОП**

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1- Q3) в группах женщин			Р между группами
	Здоровые (группа 1, n=37)	Остеопения (группа 2, n=84)	Остеопороз (группа 3, n=59)	
IL-1 β , пг/мл	1,7 (0,6-2,2)	2,2 (1,7-3,1)	2,8 (2,0-3,3)	1-2: <0,05 1-3: <0,01
IL-4, пг/мл	2,2 (1,1-3,8)	2,1 (1,3-2,7)	1,6 (0,8-2,5)	1-3: <0,05
IL-6, пг/мл	0,4 (0,0-1,4)	0,9 (0,2-2,0)	1,3 (0,0-2,8)	-
IL-8, пг/мл	5,7 (2,2-17,3)	8,05 (4,3-12,8)	10,3 (5,5-16,8)	1-3: <0,05
IL-10, пг/мл	4,1 (2,7-6,0)	3,05 (1,6-4,3)	2,0 (1,2-3,4)	1-2: <0,05 1-3: <0,01
IL-17A, пг/мл	1,4 (0,0-3,0)	1,65 (0,5-3,0)	3,0 (1,2-6,8)	1-3: <0,01 2-3: <0,01
TNF- α , пг/мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-4,1)	1-3: <0,05 2-3: <0,01
INF- γ , пг/мл	9,5 (1,6-11,8)	8,8 (5,2-11,9)	9,6 (7,6-11,8)	-
OPG, пг/мл	74,7 (44,7-122,0)	73,35 (44,8-114,6)	94,2 (54,4-120,5)	-
RANKL, пг/мл	2,5 (1,9-3,6)	2,6 (1,6-3,6)	3,3 (2,3-4,8)	1-3: <0,05 2-3: <0,05
OPG/ RANKL	28,0 (16,6-65,0)	25,05 (12,3-57,8)	23,1 (15,6-38,3)	-

изученных цитокинов в сыворотке крови (таблица 5.2). Значения IL-1 β и IL-10 имели соответственно положительные и отрицательные корреляционные связи ($p < 0,05$) с МПК поясничных позвонков L1-L4 ($r_s = -0,33$ и $r_s = 0,28$ соответственно), шеек левого ($r_s = -0,18$ и $r_s = 0,30$ соответственно) и правого бедра ($r_s = -0,20$ и $r_s = 0,26$ соответственно), проксимальных отделов левой ($r_s = -0,32$ и $r_s = 0,34$ соответственно) и правой бедренных костей ($r_s = -0,25$ и $r_s = 0,27$ соответственно).

Таблица 5.2

Показатели коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между минеральной плотностью костной ткани в различных участках скелета и уровнями цитокинов у женщин постменопаузального возраста (n=180)

Показатели	Минеральная плотность кости				
	поясничных позвонков L1-L4	левой бедренной кости		правой бедренной кости	
		шейки	все проксимального отдела	шейки	все проксимального отдела
IL-1 β	-0,33	-0,18	-0,32	-0,20	-0,25
IL-4			0,20		
IL-6			-0,18		-0,20
IL-8			-0,18		
IL-10	0,28	0,30	0,34	0,26	0,27
IL-17A	-0,22	-0,22	-0,20		-0,21
TNF- α		-0,20	-0,26	-0,21	-0,27
INF- γ					
OPG					
RANKL		-0,18	-0,17		-0,20
OPG/RANKL		0,18			

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые ($p < 0,05$) значения коэффициентов корреляции

С МПК четырех из пяти изученных участков скелета имели обратные корреляции ($p < 0,05$) концентрации в сыворотке крови ИЛ-17А (за исключением МПК шейки правого бедра) и TNF- α (за исключением МПК поясничных позвонков). Кроме того, достоверные корреляционные связи ($p < 0,05$) обнаруживали показатели МПК шейки левого бедра с уровнями RANKL ($r_s = -0,18$) и соотношения OPG/RANKL ($r_s = 0,18$), всего проксимального отдела левого бедра – с содержанием в сыворотке ИЛ-4 ($r_s = 0,20$), ИЛ-6 ($r_s = -0,18$), ИЛ-8 ($r_s = -0,18$), RANKL ($r_s = -0,17$), а проксимального отдела правого бедра – с концентрациями ИЛ-6 ($r_s = -0,20$) и RANKL ($r_s = -0,20$).

Изучение корреляционных связей между уровнями цитокинов (таблица 5.3) позволило установить, что большинство из них определялось между уровнями провоспалительных цитокинов и были положительными. Значения ИЛ-1 β характеризовались достоверными ($p < 0,05$) корреляциями с уровнями ИЛ-6 ($r_s = 0,17$), ИЛ-8 ($r_s = 0,15$), ИЛ-10 ($r_s = -0,22$), RANKL ($r_s = 0,19$). Показатели ИЛ-6 и ИЛ-8 имели положительные связи ($p < 0,05$) как между собой ($r_s = 0,33$), так и с ИЛ-17А ($r_s = 0,50$ и $r_s = 0,18$ соответственно), TNF- α ($r_s = 0,22$ и $r_s = 0,38$ соответственно), OPG ($r_s = 0,30$ и $r_s = 0,25$ соответственно), RANKL ($r_s = 0,28$ и $r_s = 0,16$ соответственно). Также положительные корреляции ($p < 0,05$) были выявлены ИЛ-17А с TNF- α ($r_s = 0,21$), INF- γ ($r_s = 0,17$), OPG ($r_s = 0,18$), RANKL ($r_s = 0,27$), а TNF- α с OPG ($r_s = 0,26$), RANKL ($r_s = 0,40$). Кроме того, следует отметить положительную корреляцию ИЛ-4 с ИЛ-10 ($r_s = 0,22$, $p < 0,05$) и отрицательную ИЛ-4 с INF- γ ($r_s = -0,15$, $p < 0,05$).

На следующем этапе статистической обработки полученных результатов был выполнен корреляционный анализ между уровнями цитокинов отдельно в каждой из трех выделенных групп (таблица 5.4). Следует отметить, что некоторые из вышеуказанных корреляционных связей, полученных в общей группе женщин, не проявились ни в группе здоровых женщин, ни среди пациентов с остеопенией, ни среди больных ОП. Так, во всех группах женщин постменопаузального возраста были нивелированы связи ИЛ-1 β с ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, RANKL, а ИЛ-4 с ИЛ-10 и INF- γ . Не проявились также корреляции между ИЛ-8 и ИЛ-17А, ИЛ-17А и

Показатели коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между значениями цитокинов у женщин постменопаузального возраста (n=180)

Показатели	IL-1 β	IL-4	IL-6	IL-8	IL-17A	TNF- α
IL-1 β	-	-	-	-	-	-
IL-4		-	-	-	-	-
IL-6	0,17		-	-	-	-
IL-8	0,15		0,33	-	-	-
IL-10	-0,22	0,22			-	-
IL-17A			0,50	0,18	-	-
TNF- α			0,22	0,38	0,21	-
INF- γ		-0,15			0,17	
OPG			0,30	0,25	0,18	0,26
RANKL	0,19		0,28	0,16	0,27	0,40

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые ($p < 0,05$) значения коэффициентов корреляции

TNF- α , IL-17A и INF- γ . Наряду с этим, корреляции между уровнями отдельных цитокинов (IL-6 с IL-17A, IL-8 с TNF- α), установленные в общей группе женщин, повторились и во всех трех подгруппах ($p < 0,05$). Другие же корреляции были воспроизведены только в одной или двух группах ($p < 0,05$). К ним можно отнести выявленные позитивные связи IL-6 с IL-8, TNF- α , OPG ($p < 0,05$), IL-8 с INF- γ , OPG ($p < 0,05$), OPG с IL-17A, TNF- α ($p < 0,05$). Следует обратить внимание на то, что RANKL имел корреляции ($p < 0,05$) только в группах пациентов с остеопенией и ОП (с IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α), но не среди здоровых женщин. Кроме того, при ОП была установлена положительная корреляция между уровнями RANKL и OPG ($r_s = 0,34$, $p < 0,05$), которая не проявилась в общей группе обследованных лиц.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что при постменопаузальном ОП увеличены концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, IL-17A, TNF- α , RANKL ($p < 0,05$) и

Показатели коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между значениями цитокинов у здоровых женщин (n=37) и в группах лиц с остеопенией (n=84) и ОП (n=59)

Показатели	IL-6			IL-8			IL-17A			TNF- α			OPG		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
IL-1 β	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-8	0,57		0,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-10							-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-17A	0,41	0,42	0,61				-	-	-	-	-	-	-	-	-
TNF- α			0,31	0,40	0,36	0,33				-	-	-	-	-	-
INF- γ				0,35									-	-	-
OPG	0,52		0,43	0,53					0,37	0,38		0,45	-	-	-
RANKL		0,25	0,43			0,41		0,34	0,34		0,22	0,65			0,34

Примечание: а) группы женщин: 1 – с нормальными значениями остеоденситометрии, 2 – с остеопенией, 3 – с ОП; б) в таблице представлены только статистически значимые ($p < 0,05$) значения коэффициентов корреляции.

снижены уровни противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 ($p < 0,05$). МПК во всех зонах выполнения денситометрии (поясничные позвонки L1-L4, шейки и проксимальные отделы левой и правой бедренных костей) или в отдельных участках скелета женщин имела отрицательные корреляции с сывороточными показателями IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α , RANKL ($p < 0,05$) и положительные – со значениями IL-4, IL-10, индексом OPG/RANKL ($p < 0,05$). Наряду с положительными корреляционными связями уровней провоспалительных цитокинов между собой (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α , RANKL), обнаружена прямая связь содержания в сыворотке крови OPG с концентрациями IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α в общей группе обследованных женщин, а также с показателями IL-6, IL-17A, TNF- α и RANKL среди больных ОП. Полученные данные отражают патогенетические механизмы постменопаузального ОП и могут быть использованы для повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий, в том числе для разработки эффективных индивидуализированных подходов в терапии.

5.2. Ассоциации концентраций цитокинов в сыворотке крови у женщин постменопаузального возраста с генетическими полиморфизмами

Анализ уровней цитокинов в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-6* (таблица 5.5) показал, что показатели IL-6 имели динамику увеличения от группы женщин с генотипом CC до обладателей генотипа CG ($p < 0,01$) и далее от последних лиц до носителей генотипа GG ($p < 0,01$). Кроме того, женщины с генотипами CG и GG полиморфизма rs1800795 характеризовались повышением концентраций в сыворотке крови IL-8 ($p < 0,05$) и IL-17A ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). Также обнаружено увеличение уровней RANKL у носителей генотипа GG по сравнению с женщинами, имеющими генотип CC ($p < 0,05$).

Женщины с генотипом TT полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* по сравнению с лицами, имеющими генотип CC, характеризовались существенным

**Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального
возраста в зависимости от полиморфизма rs1800795 гена *IL-6***

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена <i>IL-6</i> :			Р между группами:
	CC, n=39 (группа 1)	CG, n=94 (группа 2)	GG, n=47 (группа 3)	
IL-1 β , пг/мл	2,3 (1,7-3,0)	2,2 (1,7-3,0)	2,5 (1,7-3,3)	
IL-4, пг/мл	2,2 (0,9-3,1)	1,8 (0,9-2,5)	1,8 (1,1-2,8)	
IL-6, пг/мл	0,0 (0,0-0,8)	0,85 (0,2-2,2)	1,8 (1,2-3,8)	1-2: <0,01 1-3: <0,01 2-3: <0,01
IL-8, пг/мл	4,2 (2,1-10,8)	8,4 (5,0-16,3)	10,8 (5,0-15,2)	1-2: <0,05 1-3: <0,05
IL-10, пг/мл	3,3 (1,8-4,6)	3,05 (1,5-4,6)	2,4 (1,3-3,7)	-
IL-17A, пг/мл	0,9 (0,0-3,0)	2,05 (1,0-3,9)	2,8 (1,3-5,4)	1-2: <0,05 1-3: <0,01
TNF- α , пг/мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-1,7)	-
INF- γ , пг/мл	9,7 (5,4-12,6)	9,55 (3,7-12,3)	8,8 (2,1-11,3)	-
OPG, пг/мл	68,2(44,3-110,3)	74,5(42,2-118,3)	94,5(56,0-124,4)	-
RANKL, пг/мл	2,5 (1,7-3,3)	3,0 (1,5-4,2)	3,1 (2,1-4,4)	1-3: <0,05
OPG/RANKL	30,5 (17,0-54,7)	22,1 (14,2-57,5)	26,6 (12,9-44,9)	-

увеличением ($p < 0,05$) уровней IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α (таблица 5.6). Кроме того, наличие у женщин генотипа ТТ сочеталось также и с более высокими значениями IL-8 ($p < 0,01$), чем при генотипе СТ.

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i>			Р между группами:
	СС, n=52 (группа 1)	СТ, n=90 (группа 2)	ТТ, n=38 (группа 3)	
IL-1 β , пг/мл	1,95 (1,5-2,7)	2,25 (1,7-3,1)	2,70 (1,9-3,7)	1-3: <0,05
IL-4, пг/мл	2,2 (1,2-3,1)	1,85 (1,0-2,8)	1,55 (0,9-2,4)	-
IL-6, пг/мл	0,5 (0,0-1,5)	1,1 (0,0-2,0)	1,85 (0,3-3,3)	1-3: <0,05
IL-8, пг/мл	6,2 (4,0-11,4)	7,15 (3,7-13,7)	14,75 (8,1-25,2)	1-3: <0,01 2-3: <0,01
IL-10, пг/мл	2,95 (1,5-4,6)	3,0 (1,5-4,6)	2,6 (1,6-3,7)	
IL-17A, пг/мл	1,3 (0,35-3,0)	2,25 (0,9-4,0)	2,8 (1,1-6,4)	1-3: <0,05
TNF- α , пг/мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-4,8)	1-3: <0,05
INF- γ , пг/мл	9,6 (2,2-12,5)	8,7 (3,6-11,5)	10,0 (5,6-12,5)	-
OPG, пг/мл	97,4(52,6-116,3)	72,2 (30,6-118,1)	76,4(59,8-126,7)	-
RANKL, пг/мл	2,75 (1,6-3,6)	2,85 (1,9-4,0)	3,3 (1,3-5,2)	-
OPG/ RANKL	29,75(16,7-62,1)	21,85 (12,4-43,5)	23,7 (14,7-64,5)	-

Полиморфизм rs9594759 гена *TNFSF11* также обнаруживал ассоциации с уровнями отдельных цитокинов у женщин постменопаузального возраста (таблица 5.7). В отличие от группы лиц, имеющих генотип СС, женщины с генотипом СТ имели более высокие показатели IL-17A ($p < 0,05$) и TNF- α ($p < 0,05$), а носители генотипа ТТ характеризовались достоверным увеличением значений IL-17A ($p < 0,05$).

**Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального
возраста в зависимости от полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11***

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1- Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i>			Р между группами:
	СС, n=39 (группа 1)	СТ, n=90 (группа 2)	ТТ, n=51 (группа 3)	
IL-1 β , пг/мл	2,0 (1,4-2,8)	2,45 (1,7-3,1)	2,5 (1,7-3,3)	-
IL-4, пг/мл	1,8 (0,7-2,7)	1,75 (1,1-2,9)	1,9 (1,1-2,7)	-
IL-6, пг/мл	0,5 (0,0-1,5)	1,1 (0,0-2,0)	1,3 (0,2-2,8)	-
IL-8, пг/мл	8,2 (4,4-14,8)	8,7 (4,1-14,2)	8,2 (4,9-17,0)	-
IL-10, пг/мл	2,7 (1,3-3,8)	2,7 (1,5-4,5)	3,3 (2,0-5,0)	-
IL-17A, пг/мл	1,1 (0,0-3,1)	2,4 (0,9-4,7)	2,1 (1,0-4,0)	1-2: <0,05 1-3: <0,05
TNF- α , пг/мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-3,3)	0,0 (0,0-0,0)	1-2: <0,05
INF- γ , пг/мл	8,8 (2,4-12,1)	9,5 (4,3-11,7)	10,0 (2,2-11,8)	-
OPG, пг/мл	84,0(56,5-118,3)	77,45 (36,5-118,7)	74,7(50,0-110,9)	-
RANKL, пг/мл	2,7 (1,6-3,3)	3,0 (1,9-4,2)	2,8 (1,3-4,5)	-
OPG/ RANKL	29,0 (16,8-71,4)	23,85 (11,8-41,4)	23,1 (15,4-54,7)	-

В таблице 5.8 представлены показатели цитокинов, уровни которых в сыворотке крови женщин имели отличия в зависимости от полиморфных вариантов гена *VDR*. Обладатели генотипа GG полиморфизма rs1544410 по

сравнению с женщинами, имеющими генотипы AA и AG, характеризовались повышенными уровнями IL-1 β ($p < 0,01$), RANKL ($p < 0,01$) и сниженными значениями индекса OPG/RANKL ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно), IL-10 ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). Кроме того, носители генотипа AA отличались от женщин, имеющих как генотип AG, так и генотип GG, более низкими показателями IL-4 ($p < 0,05$). Вместе с тем не было обнаружено ассоциаций генотипов полиморфизма rs1544410 гена VDR с уровнями IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α , INF- γ , OPG ($p > 0,05$).

Таблица 5.8

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от генотипов полиморфизма rs1544410 гена рецептора витамина D (VDR)

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена VDR:			P между группами
	AA, n=26 (группа 1)	AG, n=84 (группа 2)	GG, n=70 (группа 3)	
IL-1 β , пг/мл	1,95 (1,3-2,5)	2,0 (1,5-2,9)	2,8 (2,2-3,7)	1-3: <0,01 2-3: <0,01
IL-4, пг/мл	1,1 (0,6-2,2)	2,05 (1,25-2,9)	1,85 (1,1-2,8)	1-2: <0,05 1-3: <0,05
IL-8, пг/мл	8,65 (3,2-21,5)	6,8 (4,15-11,3)	11,8 (4,7-16,8)	-
IL-10, пг/мл	3,1 (2,1-4,5)	3,3 (2,0-5,3)	2,1 (1,3-3,5)	1-3: <0,05 2-3: <0,01
RANKL, пг/мл	1,9 (0,9-4,0)	2,4 (1,2-3,5)	3,3 (2,7-4,5)	1-3: <0,01 2-3: <0,01
OPG/RANKL	33,2 (16,9-64,5)	29,6 (19,8-70,9)	17,4 (11,4-32,0)	1-3: <0,05 2-3: <0,01

Для изучения ассоциаций полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* с уровнями цитокинов обследованные женщины были распределены в 2 группы. Отдельно были выделены женщины с генотипом CC (n=126). Вторую группу (n=54) составили пациенты с генотипом CA (n=46) и небольшое количество лиц, имеющих генотип AA (n=8). Аналогичным образом были выделены две группы женщин и по полиморфизму rs1800012 гена *COL1A1*.

Сравнительный анализ женщин с различными вариантами полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* (таблица 5.9) показал, что лица, имеющие генотипы CA или AA (CA+AA), по сравнению с носителями генотипа CC имели более высокие уровни IL-4 (p=0,006), IL-6 (p=0,023), IL-8 (p=0,023), IL-10 (p=0,012), RANKL (p=0,022). Женщин с генотипами GT или TT (GT+TT) полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* отличали от обладателей генотипа GG сниженные значения IL-10 (p=0,007), OPG (p=0,013), индекса OPG/RANKL (p=0,042).

Следует отметить, что ни один из вышеуказанных полиморфизмов гена *COL1A1* не показал ассоциаций (p>0,05) с показателями IL-1, IL-17A, TNF- α , INF- γ . Не было обнаружено различий и среди женщин в зависимости от полиморфизмов гена *LRP5* (таблица 5.10) как по концентрациям вышеуказанных цитокинов, так и ряда других (IL-4, IL-6, IL-8, OPG, RANKL). Вместе с тем, лица с генотипом GA полиморфизма rs4988321 имели более низкие значения IL-10, чем носители генотипа GG (p=0,003). Аналогичное снижение содержания в сыворотке крови IL-10 было определено и у женщин, имеющих генотипы CT или TT (CT+TT) полиморфизма rs3736228 гена *LRP5* (p=0,007).

Содержание цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от отдельных полиморфизмов гена *COL1A1*

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с различными генотипами полиморфизмов гена <i>COL1A1</i> :					
	rs1107946 (-1997 C>A)			rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s)		
	CC (n=126)	CA (n=46) + AA (n=8)	P	GG (n=130)	GT (n=47) + TT (n=3)	P
IL-4, пг/мл	1,7 (0,9-2,5)	2,4 (1,3-3,6)	0,006	1,9 (1,0-2,8)	1,8 (1,1-2,5)	0,699
IL-6, пг/мл	0,75 (0,0-1,8)	1,4 (0,3-3,0)	0,023	0,9 (0,2-2,0)	1,1 (0,0-2,6)	0,791
IL-8, пг/мл	7,85 (4,1-14,0)	10,9 (5,7-18,6)	0,023	7,9 (4,2-14,3)	10,25 (5,5-15,2)	0,280
IL-10, пг/мл	2,7 (1,4-3,7)	3,6 (2,0-5,1)	0,012	3,1 (1,8-4,6)	2,3 (1,3-3,4)	0,007
OPG, пг/мл	75,4 (46,9-116,0)	84,5 (44,7-128,4)	0,281	85,5 (50,3-120,1)	60,1 (30,6-94,7)	0,013
RANKL, пг/мл	2,7 (1,5-3,9)	3,1 (2,5-4,5)	0,022	2,9 (1,8-4,0)	2,85 (1,4-4,3)	0,742
OPG/RANKL	24,4 (14,4-54,7)	26,0 (12,9-40,5)	0,419	28,0 (15,4-58,0)	21,3 (12,2-34,0)	0,042

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от отдельных полиморфизмов гена *LRP5*

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с различными генотипами полиморфизмов гена <i>LRP5</i> :					
	rs4988321 (1999 G>A, Val667Met)			rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val)		
	GG (n=157)	GA (n=23) + AA (n=0)	P	CC (n=125)	CT (n=51) + TT (n=4)	P
IL-4, пг/мл	1,9 (1,4-2,8)	1,7 (0,8-2,7)	0,479	1,8 (1,0-2,7)	2,2 (1,1-2,9)	0,287
IL-6, пг/мл	0,9 (0,0-2,0)	1,3 (0,1-3,3)	0,594	0,8 (0,0-2,0)	1,0 (0,1-2,8)	0,497
IL-8, пг/мл	8,2 (4,2-14,3)	10,0 (5,3-16,8)	0,419	8,2 (4,6-14,3)	8,9 (3,8-18,6)	0,981
IL-10, пг/мл	3,1 (1,8-4,6)	1,7 (1,2-2,4)	0,003	3,1 (1,8-4,6)	2,2 (1,3-3,5)	0,007
OPG, пг/мл	80,3 (44,7-118,7)	76,2 (52,5-96,4)	0,530	82,1 (42,2-118,7)	76,2 (50,6-114,5)	0,959
RANKL, пг/мл	2,8 (1,8-4,1)	3,1 (2,0-3,9)	0,689	2,8 (1,6-4,0)	3,0 (1,9-4,2)	0,589
OPG/RANKL	25,4 (13,6-52,6)	21,0 (14,4-42,0)	0,589	27,4 (12,5-54,7)	23,6 (15,6-40,9)	0,650

В таблице 5.11 представлены показатели цитокинов в сыворотке крови женщин с различными полиморфными вариантами гена *ESR1*. Обладатели генотипа ТТ полиморфизма rs2234693 по сравнению с женщинами, имеющими генотипы СС и СТ, характеризовались повышением уровней RANKL ($p < 0,01$) и снижением индекса OPG/RANKL ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно).

Кроме того, носители генотипа ТТ отличались от женщин с генотипом СТ более высокими показателями ИЛ-4 ($p < 0,05$), а от обладателей генотипа СС – увеличенными концентрациями ИЛ-17А ($p < 0,05$).

Таблица 5.11

Содержание цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			Р между группами
	СС, n=37 (группа 1)	СТ, n=95 (группа 2)	ТТ, n=48 (группа 3)	
ИЛ-4, пг/мл	1,7 (1,1-2,8)	1,8 (0,8-2,6)	2,2 (1,4-3,1)	2-3: $< 0,05$
ИЛ-10, пг/мл	3,3 (1,9-5,2)	2,9 (1,5-3,8)	2,7 (1,35-4,8)	-
ИЛ-17А, пг/мл	1,9 (0,0-3,1)	1,8 (0,5-4,0)	2,7 (1,3-4,5)	1-3: $< 0,05$
RANKL, пг/мл	2,3 (1,3-3,3)	2,5 (1,3-3,5)	3,9 (3,0-4,6)	1-3: $< 0,01$ 2-3: $< 0,01$
OPG/RANKL	34,0 (14,9-81,5)	28,0 (16,2-49,6)	16,9 (12,3-29,8)	1-3: $< 0,01$ 2-3: $< 0,05$

Вместе с тем, следует отметить, что не было обнаружено ассоциаций генотипов полиморфизма rs2234693 с концентрациями ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF- α , INF- γ и OPG ($p > 0,05$). Не были выявлены изменения уровней всех изученных цитокинов и у женщин в зависимости от полиморфизмов rs2414096 и

rs936306 гена *CYP19A1*, rs9340799 гена *ESR1*, rs3134069, rs3102735 и rs4355801 гена *TNFRSF11B*, rs10735810 гена *VDR* ($p > 0,05$).

Таким образом, установлено, что полиморфные варианты генов *IL-6* (rs1800795), *TNFSF11* (rs9594738 и rs9594759), *VDR* (rs1544410), *COL1A1* (rs1107946 и rs1800012), *LRP5* (rs4988321 и rs3736228) имеют ассоциации с сывороточными уровнями ряда цитокинов (*IL-1 β* , *IL-6*, *IL-10*, *IL-17A*, *TNF- α* , *RANKL* и др.) у женщин постменопаузального возраста ($p < 0,05$). Женщины с генотипами вышеуказанных полиморфизмов, которые являются предикторами постменопаузального ОП (смотри раздел 4), характеризуются, в большинстве случаев, теми же изменениями цитокинов, которые отличали больных ОП от здоровых лиц. Вместе с тем обнаружены и особенности цитокинового статуса у женщин в зависимости от генетических полиморфизмов.

Полученные данные отражают важные патогенетические аспекты постменопаузального ОП, в том числе в зависимости от генетических факторов, и могут быть использованы для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

РАЗДЕЛ 6

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ И ГОРМОНАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ, МАРКЕРЫ КОСТНОГО ОБМЕНА И ВИТАМИН D У
ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА**6.1. Показатели клинического анализа крови у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани и генетических полиморфизмов**

Проведенными исследованиями установлены существенные изменения отдельных показателей клинического анализа крови у женщин постменопаузального возраста с остеопоротическими изменениями костной ткани (таблица 6.1). Остеопения и ОП у обследованных лиц характеризовались сниженными ($p < 0,05$ - $p < 0,01$) значениями количества эритроцитов (RBC), гемоглобина (HGB), гематокрита (HCT), среднего объема тромбоцитов (MPV), ширины распределения тромбоцитов (PDW), тромбокрита (PCT) и повышенным показателем ширины распределения эритроцитов (RDW%). Кроме того, при ОП отмечено снижение уровня лейкоцитов – WBC ($p < 0,05$) и абсолютного количества ($\times 10^9/\text{л}$) лимфоцитов – LYM ($p < 0,01$).

В таблицах 6.2 и 6.3 представлены показатели клинического анализа крови, которые имели достоверные различия между группами женщин постменопаузального возраста с различными генетическими маркерами. Не нашли отражение в вышеуказанных таблицах результаты изучения генотипов полиморфизмов rs9594738 гена *TNFSF11*, rs3134069 и rs4355801 гена *TNFRSF11B*, rs2414096 и rs936306 гена *CYP19A1*, rs9340799 гена *ESR1*, rs10735810 гена *VDR*, которые не имели ассоциаций с изменениями показателей клинического анализа крови ($p > 0,05$).

Следует отметить, что ряд других генотипов обнаруживал связи с такими изменениями в клиническом анализе крови, которые были характерны и для ОП.

**Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) показателей
клинического анализа крови у женщин постменопаузального возраста,
имеющих остеопению и ОП**

Показатели	Контроль (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)
RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,49 (4,27-4,71)	4,32 (4,11-4,62)*	4,27 (4,08-4,52)**
MCV, fl	89,0 (87,0-92,0)	88,0 (85,8-90,5)	88,8 (86,0-90,2)
RDW, %	13,6 (13,1-15,5)	15,2 (13,4-15,8)*	15,2 (13,5-15,8)*
HCT, %	40,8 (38,6-43,0)	39,9 (37,4-42,0)*	38,7 (36,9-41,0)**
HGB, г/л	133,0 (127,0-141,0)	130,0 (123,0-137,0)*	129,0 (120,0-135,0)**
MCH, пг	29,9 (28,5-31,0)	30,0 (28,9-30,9)	30,1 (29,1-31,2)
MCHC, г/л	338,0 (326,0-348,0)	340,0 (329,0-345,0)	335,0 (326,0-347,0)
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	243,0 (222,0-274,0)	239,0 (205,0-266,0)	239,0 (206,0-278,0)
MPV, fl	9,0 (8,3-9,5)	8,55 (7,9-9,2)*	8,60 (7,7-8,9)**
PDW, %	13,1 (12,2-13,8)	12,2 (11,3-13,2)**	12,3 (11,2-13,1)**
PCT, %	0,21 (0,18-0,25)	0,20 (0,17-0,22)*	0,19 (0,16-0,23)*
WBC, $\times 10^9/\text{л}$	6,0 (5,1-7,1)	5,9 (5,2-6,8)	5,5 (4,7-6,3)*
LYM, %	37,0 (32,0-42,0)	36,0 (30,0-41,0)	35,0 (30,0-40,0)
LYM, $\times 10^9/\text{л}$	2,20 (1,82-2,62)	2,06 (1,79-2,41)	1,89 (1,55-2,30)**
MID, %	5,0 (4,0-6,0)	5,0 (4,0-7,0)	5,0 (4,0-7,0)
MID, $\times 10^9/\text{л}$	0,32 (0,26-0,38)	0,32 (0,24-0,42)	0,29 (0,24-0,36)
GRA, %	57,0 (51,0-64,0)	59,0 (53,0-64,0)	60,0 (54,0-64,0)
GRA, $\times 10^9/\text{л}$	3,36 (2,80-4,16)	3,41 (2,84-4,09)	3,25 (2,50-4,16)
СОЭ, мм/час	14,0 (9,0-20,0)	15,0 (10,0-21,0)	15,0 (10,0-21,0)

Примечание: * и ** соответственно $p < 0,05$ и $p < 0,01$ при сравнении с 1-ой группой

Так, наличие у женщин генотипов CG и/или GG полиморфизма rs1800795 гена *IL6* сочеталось со сниженными значениями RBC, HCT и повышенными – RDW% ($p < 0,05$), генотипа TT полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* – с

Показатели клинического анализа крови у женщин постменопаузального возраста, имеющих различные генотипы полиморфизмов генов *VDR*, *ESR1*, *IL6*, *TNFSF11*

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3)		
	Группа 1	Группа 2	Группа 3
	Генотипы полиморфизма rs1544410 гена <i>VDR</i> :		
	AA (n=31)	AG (n=116)	GG (n=89)
GRA, $\times 10^9/\text{л}$	3,74 (3,24-4,76)	3,18 (2,68-3,99)*	3,33 (2,69-4,09)*
Показатели	Генотипы полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :		
	CC (n=55)	TC (n=118)	TT (n=63)
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	230,0 (198,0-280,0)	248,0 (216,0-276,0)	225,0 (190,0-253,0)##
Показатели	Генотипы полиморфизма rs1800795 (-174 G>C) гена <i>IL6</i> :		
	CC (n=59)	CG (n=120)	GG (n=57)
RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,45 (4,18-4,70)	4,29 (4,05-4,53)*	4,31 (4,15-4,54)
RDW, %	14,1 (13,2-15,5)	15,3 (13,8-15,8)*	15,5 (13,4-16,0)*
HCT, %	40,7 (38,7-42,4)	38,8 (36,9-42,0)*	39,7 (37,3-42,3)
Показатели	Генотипы полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i> :		
	CC (n=47)	CT (n=124)	TT (n=65)
RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,30 (4,16-4,59)	4,38 (4,15-4,68)	4,25 (4,04-4,43)##
RDW, %	15,5 (14,1-16,2)	15,0 (13,4-15,7)**	15,3 (13,7-15,8)
HCT, %	40,7 (37,5-43,2)	40,2 (38,0-42,4)	38,4 (36,1-40,9)**,##
HGB, г/л	131,0 (123,0-137,0)	131,0 (124,5-138,0)	126,0 (119,0-132,0)*,##
MCHC, г/л	340,0 (328,0-350,0)	337,5 (328,0-345,5)	332,0 (325,0-342,0)*

Примечание: * и ** соответственно $p < 0,05$ и $p < 0,01$ при сравнении с 1-ой группой, ## – $p < 0,01$ при сравнении со 2-й группой

пониженными показателями RBC, HCT, HGB и связанной с ними средней концентрацией гемоглобина в эритроците – MCHC ($p < 0,05$), генотипов CA и AA

**Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) показателей
клинического анализа крови у женщин постменопаузального возраста, имеющих
различные генотипы полиморфизмов генов *COL1A1*, *LRP5*, *TNFRSF11B***

Показатели	Генотипы полиморфизмов		P
	rs1107946 (-1997 C>A) гена <i>COL1A1</i> :		
	CC (n=170)	CA (n=58) + AA (n=8)	
RDW, %	15,2 (13,4-15,7)	15,5 (13,7-15,9)	0,043
Показатели	rs1800012 (Sp1 S>s) гена <i>COL1A1</i> :		P
	GG (n=171)	GT (n=61) + TT (n=4)	
MCV, fl	89,0 (86,8-91,1)	87,0 (85,0-90,0)	0,009
RDW, %	15,2 (13,4-15,8)	15,4 (14,0-16,0)	0,042
MCH, пг	30,1 (29,1-31,2)	29,6 (28,3-30,6)	0,027
MPV, fl	8,70 (7,9-9,2)	8,30 (7,5-8,9)	0,015
Показатели	rs4988321 (1999 G>A; Val667Met) <i>LRP5</i> :		P
	GG (n=205)	GA (n=31)	
WBC, x10 ⁹ /л	5,80 (5,0-6,6)	6,40 (5,40-8,10)	0,032
LYM, %	37,0 (30,0-42,0)	34,0 (28,0-36,0)	0,013
GRA, %	57,0 (52,0-64,0)	61,0 (56,0-64,0)	0,021
GRA, x10 ⁹ /л	3,28 (2,73-3,97)	3,97 (3,04-4,92)	0,007
Показатели	rs3736228 (3989 C>T; Ala1330Val) <i>LRP5</i> :		P
	CC (n=159)	CT (n=70) + TT (n=7)	
RDW, %	15,4 (13,7-15,8)	14,1 (13,2-15,8)	0,017
MPV, fl	8,50 (7,7-9,1)	8,70 (8,10-9,20)	0,027
WBC, x10 ⁹ /л	5,70 (4,90-6,40)	6,10 (5,30-7,20)	0,011
GRA, x10 ⁹ /л	3,19 (2,69-3,93)	3,63 (2,97-4,46)	0,008
Показатели	rs3102735 (163 T>C) <i>TNFRSF11B</i> :		P
	TT (n=163)	TC (n=69) + CC (n=4)	
HGB, г/л	129,0 (122,0-135,0)	132,0 (124,0-140,0)	0,030

полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* – с повышенными уровнями RDW% ($p < 0,05$), генотипов GT и TT полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* – с увеличенными значениями RDW% и низкими – MPV ($p < 0,05$), генотипов TC и CC полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B* – с повышением HGB ($p < 0,05$).

Кроме того, были установлены и связи генетических маркеров с такими изменениями клинического анализа крови, которые не были зарегистрированы при сравнении трех групп женщин с различным состоянием костной системы. Несмотря на отсутствие связи полиморфизма rs1544410 гена *VDR* с уровнями WBC в крови ($p > 0,05$), тем не менее, его генотипы AG и GG имели ассоциации со снижением количества гранулоцитов – GRA ($p < 0,05$). Носители генотипа TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* отличались от женщин с генотипом TC низкими значениями тромбоцитов – PLT ($p < 0,01$). Генотипы GT и TT полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* характеризовались связью ($p < 0,05$) с низким средним объемом эритроцитов (MCV), а также средним содержанием гемоглобина в 1 эритроците (MCH).

Обращают внимание выявленные ассоциации полиморфных вариантов гена *LRP5* с изменениями отдельных показателей клинического анализа крови. У женщин с генотипом GA полиморфизма rs4988321 гена *LRP5* в отличие от лиц, имеющих генотип GG, были отмечены более высокие показатели WBC, GRA (% и $\times 10^9/\text{л}$) при снижении процента LYM% ($p < 0,05$). Другой полиморфизм гена *LRP5* (rs3736228) также показал ($p < 0,05$) ассоциации с изменениями в клиническом анализе крови (RDW%, MPV, WBC, GRA).

Таким образом, установлено, что при постменопаузальном ОП снижены ($p < 0,05$ - $p < 0,01$) отдельные показатели эритроцитов (RBC, HGB, HCT), тромбоцитов (MPV, PDW, PCT), лейкоцитов (WBC и LYM). Ряд изученных полиморфизмов (rs1800795 гена *IL6*, rs9594759 гена *TNFSF11*, rs1107946 гена *COL1A1*, rs1800012 гена *COL1A1*, rs3102735 гена *TNFRSF11B*, rs3736228 гена *LRP5*), также имеет ($p < 0,05$) ассоциации с изменениями вышеуказанных факторов. Другие же полиморфизмы в большинстве случаев связаны ($p < 0,05$) с изменениями таких показателей клинического анализа крови, которые не были

характерны для ОП, – GRA (rs1544410 гена *VDR*), PLT (rs2234693 гена *ESR1*), MCV и MCH (rs1800012 гена *COL1A1*), LYM%, GRA (rs4988321 гена *LRP5*).

Полученные данные отражают патогенетические механизмы постменопаузального ОП и могут быть использованы для разработки эффективных индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

6.2. Биохимические показатели сыворотки крови у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани и генетических полиморфизмов

В таблице 6.4 представлены результаты обследования трех групп женщин – здоровых, пациентов с остеопенией и ОП. Установлено, что больные с ОП в отличие от контрольной группы характеризовались повышенной активностью ЩФ ($p < 0,05$) и сниженными концентрациями К ($p < 0,05$). Причем, более низкими уровнями К, а также Mg, больные ОП отличались и от женщин с остеопенией ($p < 0,05$). Кроме того, для ОП по сравнению с данными контрольной группы была характерна близкая к достоверности тенденция ($p < 0,1$) к снижению содержания в сыворотке крови Fe и Ca^{++} . Следует отметить, что вышеуказанные тенденции достигали достоверного уровня при сравнении пациентов, имеющих ОП, со всеми остальными лицами (контроль + остеопения). Так, значения Fe и Ca^{++} (Me; Q1-Q3) у больных с ОП ($n=81$) составили соответственно 13,5 (10,4-16,8) мкмоль/л и 1,15 (1,08-1,23) ммоль/л, что было ниже, чем у остальных 197 женщин – соответственно 14,6 (12,3-17,1) мкмоль/л ($p=0,037$) и 1,20 (1,11-1,24) ммоль/л ($p=0,046$).

Анализ ассоциаций биохимических показателей с генетическими маркерами показал, что с различной степенью значимости ($p < 0,05$ – $p < 0,01$) обладатели генотипа GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR* имели более низкие показатели Ca, Ca^{++} и ЩФ, чем лица с генотипом AA или AG (таблица 6.5). Аналогичная ассоциация с низкой активностью ЩФ была выявлена и для генотипа TT

Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) биохимических показателей сыворотки крови при остеопении и ОП у женщин в постменопаузе

Показатели	Здоровые (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)	P
АЛТ, Ед/л	24,8 (19,1-31,6)	25,3 (20,9-32,2)	24,3 (18,5-29,3)	0,221
АСТ, Ед/л	24,3 (20,0-29,3)	26,1 (21,2-30,1)	25,9 (23,7-29,9)	0,164
Билирубин:				
-общий, мкмоль/л	11,9 (10,2-14,1)	11,6 (10,3-14,3)	11,8 (9,7-14,3)	0,800
-прямой, мкмоль/л	1,73 (1,36-2,58)	1,89 (1,40-2,97)	1,82 (1,28-2,73)	0,881
ЩФ, Ед/л	62,9 (53,8-74,5)	65,2 (55,6-75,1)	70,1 (60,0-82,6)*	0,022
ГГТП, Ед/мл	21,5 (15,6-28,5)	22,6 (15,8-28,3)	22,4 (16,0-30,0)	0,939
Глюкоза, ммоль/л	5,42 (5,03-5,96)	5,26 (4,81-5,85)	5,26 (4,93-5,64)	0,249
Холестерин, ммоль/л	5,98 (5,22-6,55)	5,91 (5,11-6,52)	6,20 (5,18-7,12)	0,393
ЛПВП, ммоль/л	1,51 (1,29-1,68)	1,48 (1,26-1,70)	1,58 (1,29-1,79)	0,216
ЛПНП, ммоль/л	3,77 (3,24-4,21)	3,54 (3,00-4,19)	3,77 (2,92-4,32)	0,368
Триглицериды, ммоль/л	1,16 (0,96-1,59)	1,18 (0,88-1,51)	1,21 (0,94-1,40)	0,803
Альфа-амилаза, Ед/л	72,2 (62,7-82,6)	69,5 (58,2-88,1)	70,8 (61,7-81,4)	0,885
Креатинин, мкмоль/л	75,0 (66,5-87,7)	76,6 (67,4-88,3)	77,4 (67,3-84,3)	0,926
Мочевина, ммоль/л	5,30 (4,30-6,50)	5,75 (4,80-7,30)	5,50 (4,50-6,80)	0,261
Белок общий, г/л	72,7 (67,8-79,3)	73,5 (69,3-79,5)	73,0 (69,2-77,9)	0,593
Альбумин, г/л	39,4 (37,6-41,7)	40,3 (37,8-42,0)	40,0 (38,6-41,4)	0,604

Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) биохимических показателей сыворотки крови при остеопении и ОП у женщин в постменопаузе

Показатели	Здоровые (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)	P
ЛДГ, Ед/л	166,7 (147,5-184,6)	166,2 (125,5-198,4)	167,4 (127,7-200,8)	0,860
Мочевая кислота, мкмоль/л	272,5 (228,3-325,7)	278,8 (232,2-318,5)	260,1 (214,6-312,2)	0,426
Са, ммоль/л	2,33 (2,25-2,40)	2,29 (2,17-2,39)	2,33 (2,20-2,41)	0,175
Са ⁺⁺ , ммоль/л	1,22 (1,14-1,25)	1,19 (1,10-1,24)	1,15 (1,08-1,23)	0,051
Mg, ммоль/л	0,80 (0,76-0,84)	0,81 (0,73-0,87)	0,77 (0,73-0,84) [#]	0,034
Fe, мкмоль/л	14,4 (11,9-16,9)	14,8 (12,6-17,3)	13,5 (10,4-16,8)	0,095
Na, ммоль/л	139,7 (137,5-141,9)	139,4 (137,8-141,8)	139,8 (137,5-141,9)	0,967
K, ммоль/л	4,52 (4,28-4,83)	4,47 (3,91-4,92)	4,22 (3,60-4,56) ^{*.#}	<0,001
P, ммоль/л	1,13 (0,95-1,27)	1,13 (1,00-1,31)	1,11 (0,96-1,24)	0,390
Zn, мкмоль/л	13,5 (11,4-15,4)	13,8 (11,2-15,9)	13,5 (11,8-15,7)	0,906
Cu, мкмоль/л	16,5 (13,8-19,0)	16,9 (13,5-18,6)	16,6 (12,8-19,3)	0,970

Примечание: * и ** соответственно $p < 0,05$ и $p < 0,01$ при сравнении с 1-ой группой, [#] и ^{##} – соответственно $p < 0,05$ и $p < 0,01$ при сравнении со 2-й группой.

полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* в сравнении с генотипами СС или СТ ($p < 0,01$). У гомозигот GG полиморфизма rs1800795 гена *IL6* были установлены более высокие значения Na, чем у носителей генотипа СС ($p < 0,05$). Наличие генотипа ТТ полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* сочеталось с более низкими показателями общего и прямого билирубина по сравнению с генотипом СС ($p < 0,05$), а также Fe по сравнению с генотипами СС ($p < 0,05$) и СТ ($p < 0,01$).

**Биохимические показатели сыворотки крови у женщин
постменопаузального возраста, имеющих различные генотипы
полиморфизмов генов *VDR*, *ESR1*, *IL6*, *TNFSF11***

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3)		
	Группа 1	Группа 2	Группа 3
	Генотипы полиморфизма rs1544410 (BsmI) гена <i>VDR</i> :		
	AA (n=31)	AG (n=116)	GG (n=89)
Са, ммоль/л	2,34 (2,24-2,43)	2,32 (2,23-2,41)	2,28 (2,14-2,37)*,#
Са ⁺⁺ , ммоль/л	1,19 (1,10-1,25)	1,19 (1,11-1,25)	1,13 (1,05-1,20)*,##
ЩФ, Ед/л	71,8 (57,8-77,1)	72,6 (58,7-85,5)	61,0 (54,1-71,3)*,##
Показатели	Генотипы полиморфизма rs2234693 (PvuII) гена <i>ESR1</i> :		
	CC (n=55)	CT (n=118)	TT (n=63)
	ЩФ, Ед/л	72,0 (58,1-84,1)	72,1 (60,0-82,6)
Показатели	Генотипы полиморфизма rs1800795 (-174 G>C) гена <i>IL6</i> :		
	CC (n=59)	CG (n=120)	GG (n=57)
	На, ммоль/л	138,5 (137,0-141,0)	139,8 (137,8-141,8)
Показатели	Генотипы полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i> :		
	CC (n=47)	CT (n=124)	TT (n=65)
	Билирубин (мкмоль/л):		
- общий	12,3 (10,8-15,8)	12,0 (9,9-14,2)	10,4 (9,1-13,0)*
- прямой	2,04 (1,53-3,19)	1,84 (1,38-2,79)	1,56 (1,26-2,37)*
Fe, мкмоль/л	14,7 (12,6-17,3)	14,6 (12,0-17,5)	12,9 (10,3-15,2)*,##

Примечание: см.таблицу 1.

В таблице 6.6 отражены ассоциации изменений биохимических показателей с полиморфизмами генов *COL1A1*, *LRP5* и *TNFRSF11B*. В связи с редкой встречаемостью одного из генотипов полиморфизмов rs1107946 гена *COL1A1* (генотип AA, n=8), rs3736228 *LRP5* (генотип TT, n=7), rs3102735 *TNFRSF11B*

**Биохимические показатели сыворотки крови у женщин
постменопаузального возраста, имеющих различные генотипы
полиморфизмов генов *COL1A1*, *LRP5*, *TNFRSF11B***

Показатели	Генотипы полиморфизмов		P
	rs1107946 (-1997 C>A) гена <i>COL1A1</i> :		
	CC (n=170)	CA (n=58) + AA (n=8)	
Ca ⁺⁺ , ммоль/л	1,19 (1,09-1,24)	1,14 (1,08-1,20)	0,037
ЩФ, Ед/л	69,1 (58,1-80,3)	64,4 (53,8-75,3)	0,047
Показатели	rs4988321 (1999 G>A; Val667Met) <i>LRP5</i> :		P
	GG (n=205)	GA (n=31)	
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,25 (4,76-5,66)	5,50 (5,05-6,32)	0,033
Белок общий, г/л	73,6 (70,1-79,4)	71,5 (67,4-75,8)	0,032
С _и , мкмоль/л	16,8 (14,0-19,3)	15,0 (12,6-17,6)	0,026
Показатели	rs3736228 (3989 C>T; Ala1330Val) <i>LRP5</i> :		P
	CC (n=159)	CT (n=70) + TT (n=7)	
АЛТ, Ед/л	26,1 (20,9-32,8)	23,0 (19,2-26,4)	0,004
Билирубин общий, мкмоль/л	11,4 (9,6-14,1)	12,4 (10,4-15,1)	0,010
ГГТП, Ед/л	20,2 (15,2-28,0)	25,2 (16,7-29,7)	0,040
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,19 (4,69-5,62)	5,49 (5,03-5,97)	0,010
К, ммоль/л	4,33 (3,80-4,78)	4,51 (4,17-4,86)	0,030
Показатели	rs3102735 (163 T>C) <i>TNFRSF11B</i> :		P
	TT (n=163)	TC (n=69) + CC (n=4)	
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,35 (4,87-5,89)	5,08 (4,76-5,55)	0,033

(генотип CC, n=4), женщины с данными сочетаниями аллелей были объединены в одну группу с соответствующими гетерозиготными лицами. Выполненная статистическая обработка материала показала, что полиморфизм rs1107946 гена *COL1A1* имел ассоциации с показателями Ca⁺⁺ (p=0,037) и ЩФ (p=0,047), rs3102735 *TNFRSF11B* – с уровнем глюкозы (p=0,033). Женщины с

гетерозиготным генотипом (GA) полиморфизма rs4988321 гена *LRP5* характеризовались повышенными значениями глюкозы ($p=0,033$) и сниженными – общего белка ($p=0,032$) и Cu ($p=0,026$). А для полиморфизма rs3736228 гена *LRP5* были обнаружены связи с изменениями АЛТ ($p=0,004$), билирубина общего ($p=0,010$), ГГТП ($p=0,040$), глюкозы ($p=0,010$), К ($p=0,030$).

Наряду с вышеизложенным необходимо указать, что не было установлено ($P>0,05$) зависимостей биохимических показателей от полиморфизмов rs1800012 (*COL1A1*), rs3134069 и rs4355801 (*TNFRSF11B*), rs9594738 (*TNFSF11*), rs2414096 и rs936306 (*CYP19A1*), rs9340799 (*ESR1*), rs10735810 (*VDR*).

Таким образом установлено, что у женщин постменопаузального возраста, имеющих ОП, в отличие от здоровых лиц в сыворотке крови повышена активность ЩФ ($p<0,05$) и снижены концентрации К ($p<0,05$), а по сравнению с пациентами с остеопенией – понижены уровни К и Mg ($p<0,05$). Кроме того, больные ОП характеризуются более низкими концентрациями Fe ($p=0,037$) и Ca^{++} ($p=0,046$), чем все остальные обследованные женщины. Уровни ряда биохимических параметров крови (ЩФ, Са, Fe, глюкоза натощак и др.) имеют связи ($p<0,05$) с генетическими полиморфизмами rs1544410 (*VDR*), rs2234693 (*ESR1*), rs1800795 (*IL6*), rs9594759 (*TNFSF11*), rs1107946 (*COL1A1*), rs3102735 (*TNFRSF11B*), rs4988321 и rs3736228 (*LRP5*).

Полученные данные отражают патогенетические механизмы постменопаузального ОП и могут быть использованы для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

6.3. Уровни гормонов, маркеров костного обмена и витамина D в сыворотке крови у женщин в постменопаузе в зависимости от остеопоротических изменений костной ткани и генетических полиморфизмов

Выполненные исследования позволили установить ассоциации уровней отдельных показателей гормонов и маркеров костного обмена с остеопоротическими нарушениями у женщин в постменопаузе (таблица 6.7 и 6.8).

Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) концентраций гормонов в сыворотке крови у женщин в постменопаузе при остеопении и

ОП

Показатели	Здоровые (группа 1, n=83)	Остеопения (группа 2, n=114)	Остеопороз (группа 3, n=81)	P
Т3 св., пмоль/л	4,07 (3,17-5,14)	4,23 (3,28-5,18)	4,22 (3,14-5,08)	0,692
Т4 св., пмоль/л	15,7 (13,0-18,3)	16,1 (13,1-18,1)	15,6 (12,4-18,3)	0,878
ТТГ, мкМЕ/мл	2,43 (1,60-2,98)	2,28 (1,59-2,80)	1,89** (1,26-2,69)	0,015
АТ-ТПО, Ед/мл	18,1 (11,5-28,6)	18,3 (12,5-24,7)	18,9 (11,6-27,0)	0,853
АТ-ТГ, Ед/мл	31,7 (19,8-42,5)	31,6 (20,3-46,0)	31,5 (20,9-42,1)	0,805
ФСГ, мМЕ/мл	60,2 (40,3-76,4)	63,9 (51,7-75,1)	61,5 (43,3-75,7)	0,235
ЛГ, мМЕ/мл	45,6 (38,7-54,7)	46,5 (33,1-55,2)	45,5 (34,5-57,2)	0,983
Тестостерон общий, нмоль/л	1,45 (0,65-2,40)	1,25 (0,60-2,34)	1,48 (0,62-2,29)	0,930
Тестостерон свободный, нг/л	1,58 (0,95-2,88)	1,61 (0,65-2,59)	1,60 (0,63-2,48)	0,393
Кортизол, нмоль/л	415,6 (260,4-548,6)	427,9 (272,6-535,9)	404,5 (298,4-551,1)	0,973
Пролактин, мМЕ/л	180,9 (88,4-246,1)	170,7 (116,6-236,6)	175,9 (112,7-245,4)	0,893
СТГ, мМЕ/л	4,31 (2,37-5,67)	4,20 (2,83-5,84)	4,14 (2,69-5,57)	0,930
ДГЭА-с, мкг/мл	1,70 (1,02-2,26)	1,57 (1,17-2,13)	1,71 (1,30-2,08)	0,950
Кальцитонин, пг/мл	7,11 (5,20-8,74)	6,87 (4,87-9,16)	7,20 (4,90-9,10)	0,973
Инсулин, мМЕ/л	10,8 (8,1-13,4)	11,2 (8,6-14,7)	10,5 (7,3-13,8)	0,442
Эстрадиол, пг/мл	16,7 (11,2-26,5)	16,5 (12,4-22,8)	18,6 (11,4-29,5)	0,455

Примечание: * и ** - $p < 0,05$ и $p < 0,01$ при сравнении с первой группой.

Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) концентраций паратгормона, 25(OH)D и маркеров костного обмена в сыворотке крови у женщин в постменопаузе при остеопении и ОП

Показатели	Здоровые (группа 1, n=66)	Остеопения (группа 2, n=81)	Остеопороз (группа 3, n=51)	P
25(OH)D, нг/мл	18,5 (12,8-24,4)	21,0 (13,6-25,9)	20,8 (15,0-28,7)	0,132
Паратгормон интактный, пг/мл	42,3 (28,8-50,0)	39,3 (30,0-49,9)	35,8 (24,8-46,4)	0,101
P1NP, нг/мл	48,3 (35,9-60,2)	54,5 (43,4-65,4)	52,3 (38,1-70,5)	0,151
ОС, нг/мл	22,2 (16,6-30,1)	26,0 (21,6-34,0)	28,1* (19,8-35,7)	0,020
СТХ-1, нг/мл	0,453 (0,297-0,556)	0,498* (0,421-0,653)	0,467 (0,362-0,640)	0,028

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с первой группой.

По сравнению с контрольной группой у женщин, имеющих ОП, было выявлено существенное снижение концентраций ТТГ ($p < 0,01$) и повышение уровней ОС ($p < 0,05$). Пациенты с остеопенией характеризовались увеличением показателей СТХ-1 ($p < 0,05$).

Корреляционный анализ включал определение связей сывороточных показателей гормонов и маркеров костного ремоделирования с результатами остеоденситометрии в различных участках скелета женщин (таблица 6.9). Было установлено, что уровни ОС имели отрицательные корреляции ($r_s = -0,19$ – $r_s = -0,41$, $p < 0,05$) с минеральной плотностью кости (МПК) всех исследованных участков скелета женщин за исключением проксимального отдела правого бедра. С показателями МПК поясничных позвонков L1-L4 обнаруживали отрицательную связь значения ЩФ ($r_s = -0,15$, $p < 0,05$) и положительную – ТТГ ($r_s = 0,18$, $p < 0,05$). Кроме того, концентрации ТТГ характеризовались наличием положительных корреляций с МПК шейки левого ($r_s = 0,17$, $p < 0,05$) и правого бедра ($r_s = 0,20$, $p < 0,05$), проксимального отдела правой бедренной кости ($r_s = 0,25$, $p < 0,05$).

Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена между результатами денситометрии костной ткани различных участков скелета и уровнями изученных показателей у женщин постменопаузального возраста

Зоны денситометрии	ЩФ	ТТГ	Тестостерон свободный	P1NP	ОС	СТХ-1
Поясничные позвонки L1-L4	-0,15	0,18	-	-	-0,19	-
Шейка левого бедра	-	0,17	-	-	-0,30	-
Весь проксимальный отдел левого бедра	-	-	-	-0,18	-0,30	-0,21
Шейка правого бедра	-	0,20	-	-	-0,29	-0,23
Весь проксимальный отдел правого бедра	-	0,25	0,24	-	-	-
Дистальный отдел предплечья	-	-	-	-0,21	-0,41	-0,28

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые ($P < 0,05$) значения коэффициентов корреляции.

Показатели P1NP и СТХ-1 показали наличие обратных связей с МПК проксимального отдела правого бедра и дистального отдела предплечья ($r_s = -0,18$ – $r_s = -0,28$, $p < 0,05$). Кроме того, были выявлены взаимосвязи значений СТХ-1 с МПК шейки правого бедра ($r_s = -0,23$, $p < 0,05$), а свободного тестостерона – с МПК всего проксимального отдела правого бедра ($r_s = 0,24$, $p < 0,05$).

В таблице 6.10 представлены ассоциации изменений уровней гормонов и маркеров костного обмена у женщин в постменопаузе с полиморфными вариантами генов *VDR* ($r_{s1544410}$), *TNFSF11* ($r_{s9594759}$). При этом необходимо указать, что с другими изученными полиморфизмами связей изученных сывороточных показателей установлено не было.

**Показатели гормонов и маркеров костного обмена у женщин
постменопаузального возраста в зависимости от генетических
полиморфизмов**

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3)			P
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	
	Генотипы полиморфизма rs1544410 (BsmI) гена <i>VDR</i> :			
	AA (n=23)	AG (n=82)	GG (n=65)	
25(OH)D, нг/мл	14,3 (10,2-21,0)	21,1 ** (17,3-26,7)	19,9 * (14,8-25,5)	0,003
Показатели	Генотипы полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i> :			P
	CC (n=47)	CT (n=124)	TT (n=65)	
Т3 св., пмоль/л	3,72 (2,96-4,33)	4,37 ** (3,29-5,40)	4,40 * (3,30-5,21)	0,005
Т4 св., пмоль/л	13,8 (11,9-17,2)	16,7 * (13,3-19,1)	15,0 (12,5-16,9)	0,008
ТТГ, мкМЕ/мл	2,70 (2,05-3,22)	2,26 * (1,45-2,83)	2,01 * (1,48-2,88)	0,017

Примечание: * и ** - $p < 0,05$ и $p < 0,01$ при сравнении с первой группой

Женщины, имеющие генотип AA полиморфизма rs1544410 гена *VDR*, характеризовались более низкими значениями 25(OH)D ($p < 0,05$) по сравнению с обладателями генотипов AG ($p < 0,01$) и GG ($p < 0,05$).

Полиморфизм rs9594759 гена *TNFSF11* обнаружил связи с функцией щитовидной железы, оцениваемой по значениям ТТГ ($p = 0,017$), свободных фракций Т3 ($p = 0,005$) и Т4 ($p = 0,008$). Генотипы TT и CT вышеуказанного полиморфизма, в отличие от генотипа CC, отличались связями ($p < 0,05$ - $p < 0,01$) с повышенной продукцией свободного Т3 и сниженной концентрацией ТТГ. Женщины с сочетанием аллелей СТ полиморфизма rs9594759 характеризовались

также и более высокими концентрациями в сыворотке крови свободного Т4 ($p < 0,05$).

Таким образом, установлено, что у женщин с постменопаузальным ОП снижены концентрации ТТГ ($p < 0,01$), повышены показатели в сыворотке крови остеокальцина ($p < 0,05$). Наличие остеопении у женщин сочетается с увеличенными значениями СТХ-1 ($p < 0,05$). Показатели МПК отдельных участков скелета женщин (поясничные позвонки L1-L4, проксимальные отделы и шейки левого и правого бедра, дистальный отдел предплечья) имеют отрицательные корреляционные связи ($r_s = -0,15$ – $r_s = -0,41$; $p < 0,05$) с сывороточными показателями ЩФ, P1NP, остеокальцина, СТХ-1 и положительные ($r_s = 0,17$ – $r_s = 0,25$; $p < 0,05$) – с уровнями ТТГ и тестостерона свободного. Полиморфизмы генов *VDR* (rs1544410) и *TNFSF11* (rs9594759) имеют ассоциации ($p < 0,05$) с уровнями ряда изученных гормонов и маркеров костного ремоделирования (25(OH)D, ТТГ, свободные фракции Т3 и Т4).

Полученные данные целесообразно использовать как при разработке прогностических критериев для выявления предрасположенности к постменопаузальному ОП, так и для индивидуализации лечебно-профилактических мероприятий.

АНАЛИЗ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одной из важнейших задач современной медицины является поиск эффективных мер профилактики постменопаузального ОП. А для предупреждения развития заболевания, также как и тяжёлых его последствий, особое значение имеют подходы, позволяющие выявлять группы риска с высокой вероятностью формирования остеопоротических нарушений для своевременного назначения им соответствующих профилактических программ. Немаловажным является и разработка патогенетически обоснованных высокоэффективных индивидуальных схем лечения женщин с уже сформировавшимся ОП.

Постменопаузальный ОП является типичным полигенным заболеванием, которое детерминируется комплексом генов - эти гены влияют друг на друга, пребывают в определённом взаимодействии между собой и факторами внешней среды, фенотипически проявляясь в виде предрасположения к заболеванию. Поэтому риск развития постменопаузального ОП, основной причиной которого является физиологическое снижение продукции эстрогенов, зависит как от внешних, так и генетических факторов.

Кроме того, достижения фармакогенетики свидетельствуют о существенном вкладе генетической составляющей не только в риск развития заболевания, но и в конечный результат антиостеопоротической терапии. Благодаря успехам остеоиммунологии, также доказана важная, а может быть даже и ключевая роль иммунных механизмов в патогенезе остеопоротических нарушений костной ткани у женщин в постменопаузе. Причем, нарушения иммунной реактивности, способствующие развитию патологии костной системы женщин, зачастую обуславливаются теми факторами, которые признаны предикторами ОП (генетические особенности женщин, дефицит эстрогенов, гиповитаминоз D и т.д.).

Понимание мультифакторной природы постменопаузального ОП диктует необходимость использования комплексного подхода для оценки этиопатогенеза заболевания. Именно комплексное исследование роли взаимосвязанных и

взаимовлияющих друг на друга генетических факторов, внешних воздействий, эндокринных, иммунных и других особенностей женщин даст возможность более полно охарактеризовать причины ОП и детализировать механизмы патогенеза заболевания, разработать научно-обоснованные эффективные методы предупреждения и лечения патологии.

Несомненно, накопленные к настоящему времени данные демонстрируют важную роль вышеуказанных факторов (гормональных, иммунных, генетических и т.д.) в формировании патологии костной ткани у женщин в постменопаузе. Однако, наряду с отсутствием комплексного подхода в выполненных работах, результаты различных исследований свидетельствует и о наличии определенных противоречий. Кроме того, остаются без ответов многие вопросы о патогенетических механизмах ОП с учетом взаимовлияния друг на друга вышеуказанных факторов.

Определенные противоречия сохраняются и в выделении клинико-анамнестических предикторов постменопаузального ОП. Наряду с доказанными факторами риска ОП (возраст, расовые различия, наличие воспалительных заболеваний, дефицит витамина D, гиподинамия и т.д.), имеются противоречивые данные о влиянии на развитие заболевания многих других причин, таких как возраст менархе и менопаузы, количество беременностей и детей, длительность кормления грудным молоком и др. [87, 124, 151, 238, 249].

Выполненные нами исследования позволили установить ассоциации постменопаузального ОП с возрастом, ростом, весом, ИМТ, возрастом менархе, длительностью менструального цикла и постменопаузального периода, сексуальной активностью в постменопаузальном возрасте, интенсивностью инсоляции, уровнем потребления молочных сыров и творога, количеством переломов в анамнезе, болевым синдромом в грудном и поясничном отделе позвоночника ($p < 0,05$). Полученные нами данные большей частью согласуются с результатами выполненного мета-анализа [238], демонстрирующего связь ОП с такими факторами как возраст, рост, масса тела, ИМТ, возраст менархе и менопаузы, длительность постменопаузы, физические упражнения, прием

продуктов, содержащих кальций, насыщенность организма витамином D, прием алкоголя, курение, количество предыдущих переломов.

Вместе с тем, в нашем исследовании не была доказана роль в формировании ОП возраста развития менопаузы и приема алкоголя, хотя эти два фактора, тем не менее, показали близкую к статистической значимости тенденцию ($p=0,061$ и $p=0,100$ соответственно). Не установленное нами влияние на развитие ОП курения, по всей видимости, обусловлено было малым количеством женщин с данной вредной привычкой. Среди всех обследованных курильщиц было всего 6,5% (18 из 278). Причем, из них всего лишь 4 женщины использовали более 10 сигарет в день. Не смогли мы сделать обоснованный вывод и о роли физических упражнений в формировании ОП в постменопаузе. В общей группе женщин всего лишь 19 (6,8%) длительно и регулярно (3-7 раз в неделю) занимались физкультурой, а распределение данных лиц в выделенных группах существенно не различалось ($p=0,282$).

Выявленная у женщин с ОП низкая сексуальная активность в постменопаузальном возрасте может быть связана, по крайней мере отчасти, с возможно сниженной у них продукцией андрогенов, дефицит которых является одним из факторов риска заболевания костной системы [40, 188]. А имеющиеся при ОП выраженный вертебральный болевой синдром и снижение роста могут быть типичными проявлениями компрессионных переломов тел позвонков грудного и поясничного отделов позвоночника [38].

Несмотря на доминирующую роль генетической составляющей в этиопатогенезе постменопаузального ОП, тем не менее, немаловажное значение в качестве предикторов заболевания могут иметь и негенетические факторы, изучение которых доступно на обычном клиническом осмотре женщины и не сопряжено с особыми затратами времени и средств. Проведенные исследования позволили выделить основные клиничко-anamnestические признаки женщин, использование которых может существенно повысить эффективность определения риска развития и/или диагностики постменопаузального ОП. Немаловажны полученные результаты и для определения мероприятий,

направленных на профилактику постменопаузального ОП (коррекция образа жизни, питания и т.д.).

Исследование генетических предикторов постменопаузального ОП позволило нам выявить наличие связей ($p < 0,05$) заболевания костной системы у женщин с 7-ю из 16-ти изученных полиморфизмов генов *COL1A1*, *ESR1*, *LRP5*, *TNFSF11* и *TNFRSF11B* (таблица 7.1).

С целью детализации выявленных связей и учитывая то, что течение заболевания может сопровождаться изменениями в одних участках скелета при совершенно нормальном состоянии других и наоборот, нами было проведено исследование ассоциаций генетических маркеров с остеопоротическими изменениями отдельно в каждом участке денситометрии скелета женщин. Основанием этому подходу послужило и то, что комплексных исследований, посвященных изучению роли полиморфных вариантов генов-кандидатов в развитии ОП в различных участках скелета, в том числе по данным центральной и периферической остеоденситометрии, не выполнялось.

О возможном влиянии на минеральную плотность костной ткани полиморфизма -1997 (rs1107946) в промоторной области гена *COL1A1* было указано еще в 2002 году [284]. Однако, последующие исследования вышеуказанного полиморфизма показали противоречивые результаты о его значении в развитии остеопоротических изменений у женщин в постменопаузальный период [72, 80, 105, 125, 235, 314]. В странах СНГ внимание данной проблеме уделено недостаточно, а в имеющихся единичных публикациях [12, 13] также получены не согласующиеся между собой выводы.

Следует отметить, что в выполненных нами исследованиях, как и в ряде других работах, при сравнении здоровых женщин и пациентов с остеопенией и постменопаузальным ОП ассоциаций данного полиморфизма с заболеванием установлено не было (таблица 7.1). Не было выявлено роли полиморфизма rs1107946 и в развитии ОП поясничных позвонков L1-L4 и дистального отдела предплечья недоминантной руки. Вместе с тем, остеопоротические изменения

Статистически значимые ассоциации ($p < 0,05$) генотипов и аллелей генетических полиморфизмов с постменопаузальным ОП и остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин

Генетический полиморфизм (ген)	Генотипы и аллели, имеющие положительную ассоциацию с:						
	постменопаузальным ОП	остеопоротическими изменениями (Т-критерий $\leq -2,5$) в зонах денситометрии:					
		Позвонки L1-L4	Шейка левого бедра	Проксимальный отдел левого бедра	Шейка правого бедра	Проксимальный отдел правого бедра	Дистальный отдел предплечья
1	2	3	4	5	6	7	8
rs1107946 (<i>COL1A1</i>)	-	-	СА или АА, А	СА или АА, А	СА или АА, А	СА или АА, А	-
rs1800012 (<i>COL1A1</i>)	GT или TT, T	GT, T	GT, T	GT, T	GT, T	GT, T	T
rs2414096 (<i>CYP19A1</i>)	-	-	-	-	-	-	-
rs936306 (<i>CYP19A1</i>)	-	-	-	-	-	-	-
rs2234693 (<i>ESR1</i>)	T	TT или TC, T	-	-	-	-	T
rs9340799 (<i>ESR1</i>)	-	-	-	-	-	-	-

Продолж. табл. 7.1

1	2	3	4	5	6	7	8
rs1800795 (<i>IL-6</i>)	-	-	GG, G	-	-	-	-
rs3736228 (<i>LRP5</i>)	T	CT, T	-	CT, T	-	-	T
rs4988321 (<i>LRP5</i>)	-	GA, A	-	GA, A	-	-	GA
rs9594738 (<i>TNFSF11</i>)	TT, T	TT, T	TT, T				
rs9594759 (<i>TNFSF11</i>)	TT или TC, T	-	-				
rs3102735 (<i>TNFRSF11B</i>)	TC или CC, C	TC или CC, C	CC, C	TC или CC, C	TC или CC, C	C	-
rs3134069 (<i>TNFRSF11B</i>)	AC или CC, C	AC или CC, C	-	-	-	-	-
rs4355801 (<i>TNFRSF11B</i>)	-	-	-	-	-	-	-
rs1544410 (<i>VDR</i>)	-	GG, G	-	-	-	-	-
rs10735810 (<i>VDR</i>)	-	-	-	-	-	-	-

шеек и проксимальных отделов левой и правой бедренных костей обнаружили связи ($p < 0,05$) с генотипами СА или АА и аллелем А полиморфизма rs1107946. Установленные нами данные согласуются с результатами других исследований, подтверждающих роль изученного генетического полиморфизма в формировании ОП бедренных костей [80, 125], а также с ранее сделанными выводами об отсутствии влияния полиморфизма -1997 (rs1107946) гена *COL1A1* на минеральную плотность поясничных позвонков [13, 105, 169, 235, 314]. Вместе с тем следует указать, что в отдельных исследованиях все-таки были получены иные результаты. Так, L.Q. Zhang и соавт. [314] не обнаружили ассоциацию полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* с показателями минеральной плотности всего проксимального отдела бедренной кости и шейки бедра женщин постменопаузального возраста в Китае. А ученые из Дании [125] в своей работе установили влияние вышеуказанного полиморфизма гена *COL1A1* на развитие остеопоротических изменений в поясничных позвонках.

Второй изученный однонуклеотидный полиморфизм гена *COL1A1*, а именно rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s), представляет собой замену нуклеотидов гуанина на тимин (G/T) в сайте связывания с транскрипционным фактором Sp1 в первом интроне гена *COL1A1*. Выполненные в различных странах исследования демонстрируют противоречивость полученных результатов о значении полиморфизма Sp1 гена *COL1A1* в развитии постменопаузального ОП. В большинстве выполненных к настоящему времени работ отмечается влияние вышеуказанного полиморфизма на показатели минеральной плотности костной ткани, риск развития ОП и/или возникновения низкоэнергетических переломов [234]. В других же работах, вышеуказанная роль полиморфизма Sp1 гена *COL1A1* подтверждения не нашла [62, 235]. В странах СНГ внимание данной проблеме уделено недостаточно, а имеющиеся единичные публикации [5, 13] не позволяют сделать достаточно обоснованные выводы.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о наличии ассоциации генотипов GT или TT, а также аллеля Т гена *COL1A1* с постменопаузальным ОП (таблица 7.1). Кроме того, аллель Т и генотип GT являются предикторами

остеопоротических изменений во всех изученных зонах денситометрии или, по крайней мере, в большинстве из них. Установленные нами ассоциации генотипа GG и аллеля G полиморфизма Sp1 гена *COL1A1* со снижением, а генотипов GT, TT и аллеля T – с увеличением риска ОП согласуются с результатами большинства других выполненных ранее исследований [5, 13, 80, 106, 118, 169, 234, 314]. Вместе с тем, следует указать, что в отдельных работах вышеуказанного влияния полиморфизма Sp1 гена *COL1A1* на развитие ОП и/или на возникновение низкоэнергетических переломов все-таки установлено не было [62, 235].

Одним из генов-кандидатов ОП является ген *ESR1*, который кодирует эстрогеновые рецепторы альфа – ER- α . Мутации данного гена, в том числе полиморфизм rs2234693 (-397 T>C, PvuII), могут влиять на структурно-функциональные характеристики вышеуказанного рецептора, снижая их чувствительность к воздействию эстрогенов. Обусловленное мутациями нарушение функции ER- α может сопровождаться снижением регулирующих эффектов эстрогенов на костную ткань и усилением ее резорбции, а также на клетки иммунной системы, приводя к их активации и увеличению продукции остеокластогенных цитокинов.

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о важной роли полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* в развитии постменопаузального ОП (таблица 7.1). Следует отметить, что аналогичное влияние вышеуказанного полиморфизма на развитие постменопаузального ОП было обнаружено и в других исследованиях [66, 140]. Значимость полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* была подтверждена также результатами выполненных мета-анализов [135, 267], свидетельствующими о повышенном риске возникновения переломов как у мужчин, так и у женщин, особенно в постменопаузальном возрасте, при наличии TT генотипа rs2234693. Генотип же CC, наоборот, являлся защитным генетическим маркером. Вместе с тем необходимо указать, что в отдельных работах роль полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* в развитии постменопаузального ОП выявлена не была [167, 224].

Учитывая важную роль в регуляции остеогенеза и ремоделирования костной ткани цитокина ИЛ-6, ген *IL-6* по праву относят к генам-кандидатам постменопаузального ОП. Следует отметить, что выполненные к настоящему времени исследования роли полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* в развитии ОП демонстрируют противоречивость полученных результатов [64, 73, 167, 271], а в странах СНГ внимание данной проблеме практически не уделялось.

При сравнительном анализе трех групп женщин в постменопаузе (здоровые, с остеопенией и ОП) мы не обнаружили ассоциаций полиморфизма с заболеванием (таблица 7.1). Однако при дальнейшей статистической обработке полученных данных было установлено, что наличие генотипа GG и аллеля G полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* являются факторами повышенного риска остеопоротических изменений шейки левого бедра ($p < 0,05$). Полученные в исследовании данные согласуются с результатами большинства других исследований. Так, в двух выполненных мета-анализах показано, что обладатели генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* отличаются сниженными значениями минеральной плотности шейки бедра, но не поясничных позвонков [64, 73]. Вместе с тем следует отметить, что в отдельных работах при обследовании женщин в постменопаузе была обнаружена связь генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* со снижением минеральной плотности не только шейки бедра, но и поясничных позвонков [271].

Изучение роли двух полиморфизмов rs3736228 (3989 C>T, Ala1330Val) и rs4988321 (1999 G>A, Val667Met) гена *LRP5* в развитии постменопаузального ОП показало, что только для аллеля T полиморфизма rs3736228 была характерна ($p < 0,05$) увеличенная частота регистрации среди женщин, имеющих ОП (таблица 7.1). Изучение же распределения генетических маркеров среди групп женщин в зависимости от состояния различных участков скелета женщин показал, что с развитием у женщин остеопоротических изменений поясничных позвонков L1-L4 и проксимального отдела левой бедренной кости ассоциируются ($p < 0,05$) генотип СТ и аллель T полиморфизма rs3736228, генотип GA и аллель A полиморфизма rs4988321 гена *LRP5*. Факторами риска ОП в дистальном отделе костей

предплечья являются аллель Т полиморфизма rs3736228 и генотип GA полиморфизма rs4988321 ($p < 0,05$).

Роль полиморфизма rs3736228 гена *LRP5* в патологии костной системы, выявленная в нашем исследовании, была установлена и другими исследователями [76, 150, 229, 230, 312], которые показали, что при генотипе CC значения минеральной плотности кости выше, чем при генотипах CT и TT вышеуказанного полиморфизма, а аллель Т и генотип TT повышают риск постменопаузального ОП и низкоэнергетических переломов. Наряду с этим, необходимо указать, что в некоторых работах не удалось подтвердить значение вышеуказанного полиморфизма в развитии ОП у женщин в постменопаузе [75, 167].

Установленные нами ассоциации генотипа GA полиморфизма rs4988321 гена *LRP5* с остеопоротическими изменениями согласуется с данными, свидетельствующими о более высоких значениях минеральной плотности скелета у женщин при генотипе GG, чем при генотипах GA и AA [150, 190]. Однако в работе, выполненной в Тунисе и включившей результаты обследования 566 женщин в постменопаузе, роли полиморфизма rs4988321 установлено не было [76].

Одним из кандидатных генов ОП является ген *TNFSF11*, который кодирует RANKL. Нами были исследованы две мутации вышеуказанного гена rs9594738 (C>T) и rs9594759 (C>T). Механизмы, обуславливающие возможную роль полиморфных вариантов гена *TNFSF11*, остаются невыясненными. Предполагается, что мутации гена *TNFSF11* могут приводить к изменению структурно-функциональных свойств молекул RANKL и, как следствие, изменять активность остеокластов и интенсивность резорбции костной ткани.

К настоящему времени выполнен ряд исследований, посвященных изучению влияния полиморфизмов гена *TNFSF11* на минеральную плотность костной ткани, риск развития ОП и/или низкоэнергетических переломов [17, 58, 83, 206, 232, 252]. Однако, полученные в них результаты противоречивы. Кроме того, комплексных исследований, посвященных изучению связи полиморфизмов rs9594738 и rs9594759 с риском развития ОП и/или остеопении в различных

участках скелета, в том числе по данным центральной и периферической остеоденситометрии, у женщин в постменопаузальном возрасте, не выполнялось.

Выполненное исследование показало, что развитие постменопаузального ОП ($p < 0,05$) сочетается с наличием у женщин генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма rs9594738, аллеля Т полиморфизма rs9594759 (таблица 7.1). Кроме того, установлено, что генотип ТТ и аллель Т полиморфизма rs9594738 являются предикторами формирования остеопоротических нарушений костей практически во всех изученных участках скелета женщин ($p < 0,05$). Факторами риска ОП поясничных позвонков L1-L4, проксимального отдела левой бедренной кости, шеек левого и правого бедра также являются аллель Т и генотипы ТТ или ТС полиморфизма rs9594759 ($p < 0,05$).

Следует отметить, что влияние полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* на развитие постменопаузального ОП поясничных позвонков L1-L4 обнаружено и в исследовании С.В. Юренивой и соавт. [17]. Аналогично нашим результатам авторы показали, что генотип СС и аллель С имеют защитный эффект, а генотип ТТ и аллель Т связаны с ОП. Вместе с тем, в отличие от наших результатов, в данной работе не было выявлено влияние полиморфизма rs9594738 (С>Т) гена *TNFSF11* на МПК шейки бедренной кости и не выполнялась денситометрия костей предплечья. Подобная роль полиморфизма rs9594738 (С>Т) гена *TNFSF11* в снижении МПК поясничных позвонков, но не бедренной кости, установлена и в исследовании, проведенном в Иране [83] при обследовании женщин и мужчин в возрасте 20-75 лет. Молекулярно-генетические исследования, выполненные в Китае [232], не подтвердили ассоциацию полиморфизма rs9594738 с минеральной плотностью поясничных позвонков у женщин постменопаузального возраста, но при этом показали несколько не достигающую статистической значимости ($p = 0,06$) тенденцию его связи с состоянием шейки бедра.

Полученные нами результаты о роли в развитии ОП полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* согласуются с выводами других исследователей. Аналогичной направленности связи генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 с минеральной плотностью поясничных позвонков были выявлены и

при обследовании 236 женщин в постменопаузе, проживающих в Москве и Московской области [17]. Однако, в отличие от наших результатов, в данной работе не была установлена роль полиморфизма rs9594759 в развитии ОП шейки бедренной кости, а денситометрия всего проксимального отдела бедра и костей предплечья не выполнялась. Совместное исследование ученых Исландии, Дании и Австралии [206], выполнивших анализ результатов обследования женщин и мужчин, также показало наличие связи полиморфизма rs9594759 с результатами денситометрии поясничных позвонков, но не бедренной кости. Анализ же результатов обследования 1873 жителей США европейского происхождения позволило выявить влияние вышеуказанного полиморфизма на МПК бедренной кости [252].

Изучение ассоциаций полиморфных вариантов гена *TNFRSF11B*, который кодирует OPG, включал исследование трех его полиморфизмов – rs3102735 (163 T>C), rs3134069 (245 A>C) и rs4355801(A>G). Молекулы OPG являются важным элементом сигнальной системы RANK/RANKL/OPG, играющей ключевую роль в процессе ремоделирования костной ткани. Мутации гена *TNFRSF11B* могут обуславливать нарушение баланса компонентов данной системы и служить причиной развития костной патологии, в том числе ОП.

В нашем исследовании из изученных полиморфизмов гена *TNFRSF11B* только два (rs3102735 и rs3134069) обнаружили ассоциации ($p < 0,05$) с развитием постменопаузального ОП и остеопоротическими изменениями отдельных участков скелета у женщин в постменопаузе (таблица 7.1).

Следует отметить, что полученные нами данные согласуются с результатами других исследований. Так, роль полиморфизма rs4355801 в развитии постменопаузального ОП, установленная только лишь в единичных работах [259], в большинстве случаев подтверждена не была [17, 229, 281]. Установленные нами ассоциации генотипа TC и аллеля C полиморфизма rs3102735 с ОП у женщин были обнаружены и другими исследователями [222, 228, 231]. Вместе с этим, отдельные исследования не подтвердили значение полиморфизма rs3102735 как генетического фактора, влияющего на риск

низкоэнергетических переломов [24] или постменопаузального ОП поясничных позвонков [17]. Ассоциации полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* были установлены как с риском развития ОП у женщин, страдающих системной красной волчанкой [244], так и с повышенной вероятностью переломов у женщин постменопаузального возраста татарской этнической принадлежности [24].

Ген рецептора витамина D (*VDR*), который локализован на хромосоме 12q13.11, содержит ряд однонуклеотидных полиморфизмов, в том числе полиморфизмы rs1544410 (283 A>G, BsmI) и rs10735810 (2 A>G, FokI). Данный ген получил наибольшее внимание при изучении генетики ОП. Это объясняется тем, что через данный рецептор осуществляются основные биологические эффекты витамина D - стимуляция абсорбции кальция в тонком кишечнике, непосредственное регулирующее воздействие на ОБ и остеокласты, иммунокомпетентные клетки. Поэтому структурно-функциональные особенности рецептора, зависящие от полиморфных вариантов гена *VDR*, могут быть причиной как снижения, так и повышения функции витамина D. В конечном итоге, мутации гена *VDR* могут влиять на состояние костной ткани, быть предикторами остеопении и ОП у женщин в постменопаузе.

Анализ имеющихся данных демонстрирует, с одной стороны, несомненную роль гена *VDR* в формировании костной ткани, а с другой – наличие противоречий в полученных результатах при исследовании ассоциаций его полиморфизмов с показателями МПК и/или риска остеопоротических переломов у женщин в различных регионах мира [69, 70, 81, 297, 298]. Следует отметить, что изучению роли в развитии постменопаузального ОП полиморфизмов rs1544410 и rs10735810 гена *VDR* в странах СНГ внимание уделено недостаточно [27, 35]. Кроме того, комплексные исследования, посвященные изучению связи полиморфизмов гена *VDR* с показателями остеоденситометрии различных участков скелета женщин в постменопаузальном возрасте, не выполнялись.

Среди первых плодотворных работ по идентификации генов ОП можно выделить исследование N.A. Morrison и соавт. [110], которые объяснили генетическими особенностями гена *VDR* наличие разнообразия в уровнях МПК

костей поясничной области позвоночника. После данного сообщения стали появляться другие публикации, посвященные изучению роли полиморфизмов гена *VDR*, в том числе rs1544410 и rs10735810, в патогенезе постменопаузального ОП. Причем, не все выполненные исследования подтвердили роль полиморфных вариантов гена *VDR* в развитии ОП. Так, анализ опубликованных с 2000 г. результатов научных исследований свидетельствует о том, что только в 65,9% работах выявлена достоверная связь полиморфизма *BsmI* гена *VDR* с МПК, риском развития ОП и/или случаев низкоэнергетических переломов [70].

Следует отметить, что в результатах нашей работе также имеются некоторые противоречия. Оба изученных полиморфизма гена *VDR* (rs1544410 и rs10735810) не обнаружили ассоциаций ($p > 0,05$) с ОП у женщин в постменопаузе (таблица 7.1). Кроме того, аллели и генотипы полиморфизма rs10735810 характеризовались отсутствием ассоциаций с остеопоротическими нарушениями и в отдельных участках скелета женщин ($p > 0,05$). А связи полиморфизма rs1544410 гена *VDR* с развитием ОП были установлены только в области поясничных позвонков L1-L4 ($p < 0,05$), но не с изменениями костной ткани в других участках скелета – правое и левое бедро, предплечье ($p > 0,05$).

Таким образом, полученные в нашей работе результаты и представленные данные других исследований позволяют получить общее представление о роли ряда полиморфизмов изученных генов в развитии постменопаузального ОП и подчеркивают их значение в формировании остеопоротических изменений костной ткани в различных участках скелета. Те же разногласия, которые имеются в выводах различных исследователей, как частично подчеркивают и сами авторы, могут быть обусловлены рядом причин, к которым относят недостаточное количество наблюдений в отдельных работах, расовые, этнические, географические особенности, влияние возрастного фактора. Помимо этого на конечный результат исследований могут оказывать влияние и другие не всегда учитываемые факторы, к которым относят особенности гормонального, иммунного статуса, образа жизни и питания женщин, экологические условия проживания и работы, степень ультрафиолетового облучения и т.д.

Кроме того, необходимо учитывать и то, что ОП относится к мультигенным заболеваниям. Поэтому, несомненно, роль отдельных полиморфизмов в костной патологии может быть в ряде случаев как потенцироваться, так и нивелироваться действием других генетических систем организма человека. При этом не исключается и вероятность того, что гены-кандидаты ОП и их полиморфизмы, по крайней мере отчасти, могут быть под влиянием и/или в неравновесном состоянии с соседними генетическими вариациями (локусы количественных признаков – QTLs, эпигенетические факторы и т.д.), которые способны оказывать влияние на получаемые в исследованиях результаты или даже могут являться фактическими причинами наблюдаемых ассоциаций с минеральной плотностью костной ткани [143, 199].

На конечный результат научной работы могут также влиять и различия в методологических подходах. Если дизайн работы предполагает исследование по типу «случай-контроль» и анализ ассоциаций осуществляется только лишь путем изучения распределения генетических маркеров в контрольной группе и среди больных, то в ряде случаев можно упустить важные факты. В качестве примера служат наши результаты, демонстрирующие отсутствие ассоциаций отдельных полиморфизмов (rs1107946 гена *COL1A1*, rs1800795 гена *IL-6*, rs4988321 гена *LRP5*, rs1544410 гена *VDR*) с постменопаузальным ОП при наличии достоверных их связей с остеопоротическими изменениями отдельных участков скелета женщин.

Поэтому пренебрежение детализированным подходом в оценке ассоциаций генетических маркеров с МПК в различных зонах выполнения денситометрии может привести к ложному заключению о роли изучаемого полиморфизма в этиопатогенезе постменопаузального ОП.

Более того, классический подход в анализе ассоциаций, ограниченный системой «полиморфизм – заболевание», не позволяет оценивать роль генов и их полиморфизмов в патологии различных видов костной ткани человека. В частности, нашими исследованиями установлено, что наличие у женщин полиморфных вариантов отдельных генов может сочетаться с

остеопоротическими изменениями поясничных позвонков, но не бедренных костей, и наоборот (rs1544410 гена *VDR*, rs3134069 гена *TNFRSF11B*, rs1107946 гена *COL1A1*, rs2234693 гена *ESR1*). А ведь одной из возможных причин полученного нами несоответствия относительно роли полиморфизмов в формировании ОП в различных участках скелета могут быть морфологические особенности костной ткани в зонах выполненной остеоденситометрии. Известно, что в отличие от участков проксимального отдела бедра в поясничных позвонках преобладает трабекулярное вещество. Возможно, именно этой особенностью поясничных позвонков и бедренных костей объясняется несоответствие выявленных ассоциаций остеопоротических их изменений с изученным генетическим фактором. Особенности строения костной ткани могут быть одной из причин и того, что ОП может выявляться в одних участках скелета и отсутствовать в других (таблица 7.2).

Для решения возникших вопросов необходимы дополнительные исследования, направленные на изучение влияния генетических и внешних факторов, в том числе их взаимодействий в системах «ген - ген», «ген - внешние факторы», на развитие ОП в целом и трабекулярного и кортикального вещества костной ткани в отдельности.

Наряду с вышеизложенным необходимо отметить, что одной из возможных причин наличия противоречий в суждениях различных авторов о роли тех или иных полиморфизмов в развитии ОП может быть несопоставимость в выполненных работах выборки женщин по длительности постменопаузы. При этом влияние сроков после наступления менопаузы на ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов с постменопаузальным ОП не изучалось. В нашем же исследовании мы получили доказательство того, что проявление ассоциаций отдельных полиморфных вариантов генов может зависеть от длительности постменопаузы.

Так, связь полиморфизма rs1800012 (1546 G>T, Sp1 S>s) гена *COL1A1* с остеопоротическими изменениями поясничных позвонков L1-L4, установленная в общей группе женщин в постменопаузе, сохранилась ($p < 0,05$) в большинстве

выделенных подгрупп женщин с различной длительностью постменопаузы (6-10 лет, 11-15 лет и более 15 лет). Однако роль вышеуказанного полиморфизма в развитии остеопении и ОП не была подтверждена в группе женщин, которые были обследованы в первые годы после наступления постменопаузы (до 6 лет).

Таблица 7.2

Отдельные примеры неравномерности потери минеральной плотности костной ткани в различных участках скелета у женщин в постменопаузе

№ п/п	Значения T-критерия и интерпретация результатов остеоденситометрии в зонах:				
	Поясничные позвонки L1-L4	Шейка левого бедра	Проксималь- ный отдел левого бедра	Шейка правого бедра	Проксималь- ный отдел правого бедра
1.	-3,3 (ОП)	-1,6 (пения)	-2,1 (пения)	-1,5 (пения)	-1,8 (пения)
2.	-3,3 (ОП)	-0,6 (норма)	-0,9 (норма)	-0,6 (норма)	-0,4 (норма)
3.	-2,5 (ОП)	-0,3 (норма)	-0,8 (норма)	-0,2 (норма)	-0,5 (норма)
4.	-0,9 (норма)	-1,9 (пения)	-1,6 (пения)	-1,8 (пения)	-1,4 (пения)
5.	-2,2 (пения)	-0,1 (норма)	-0,1 (норма)	-0,7 (норма)	-0,1 (норма)
6.	-2,3 (пения)	0,5 (норма)	0,4 (норма)	0,3 (норма)	0,8 (норма)
7.	-0,8 (норма)	-1,7 (пения)	-1,2 (пения)	-1,4 (пения)	-1,3 (пения)
8.	-2,2 (пения)	-3,6 (ОП)	-3,2 (ОП)	-3,7 (ОП)	-3,0 (ОП)
9.	-0,6 (норма)	-2,3 (пения)	-3,1 (ОП)	-2,5 (ОП)	-2,3 (ОП)
10.	-2,2 (пения)	-3,3 (ОП)	-2,4 (пения)	-2,6 (ОП)	-2,4 (пения)
11.	1,0 (норма)	-2,7 (ОП)	-3,3 (ОП)	-3,4 (ОП)	-3,7 (ОП)
12.	-1,2 (пения)	-2,9 (ОП)	-2,5 (ОП)	-2,6 (ОП)	-2,0 (пения)

Это свидетельствует, по всей видимости, о том, что роль полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* в костной патологии начинает проявлять себя в более поздние сроки постменопаузального периода. И это необходимо учитывать при выполнении научных исследований и статистической обработке полученных

результатов. Кроме того, полученные данные могут иметь практическое значение и могут быть использованы при разработке критериев для выявления женщин с повышенным риском развития ОП в постменопаузальном возрасте.

Несмотря на выявленные ассоциации генотипов и аллелей полиморфизма rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* в общей группе женщин ($p<0,05$), тем не менее, не были обнаружены связи вышеуказанного полиморфизма с формированием ОП поясничных позвонков L1-L4 у женщин в течение первых 5 лет после последней менструации и спустя 16 лет и более. Возможно, что ранние сроки постменопаузы являются еще недостаточными для реализации влияния полиморфных вариантов гена *TNFSF11* на состояние костной ткани, а уже в поздние сроки роль изученной мутации может быть нивелирована другими генетическими или внешними факторами. Поэтому при использовании полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* в качестве прогностического маркера развития постменопаузального ОП необходимо результаты генетического тестирования оценивать дифференцированно в зависимости от длительности постменопаузального периода.

Влияние длительности постменопаузы нами было обнаружено и при изучении ассоциаций с ОП полиморфизма rs1544410 (283 A>G, BsmI) гена *VDR*. Наличие ОП поясничных позвонков L1-L4 у женщин сочеталось с повышенной частотой регистрации генотипа GG и аллеля G ($p<0,05$) в общей группе и среди женщин со сроком постменопаузы до 5 лет и свыше 15 лет. В подгруппах же женщин с длительностью постменопаузального периода 6-10 и 11-15 лет вышеуказанные ассоциации полиморфизма rs1544410 гена *VDR* установлены не были ($p>0,05$).

Необходимо отметить еще одну закономерность, которая была выявлена при изучении полиморфизма rs1544410 гена *VDR* у женщин в постменопаузе. При анализе частот аллелей у женщин в зависимости от длительности постменопаузального периода (до 5 лет, 5-10 лет, 11-15 лет и более 15 лет) установлена поступательная динамика ($p<0,05$) снижения регистрации аллеля A и повышения – аллеля G как в группе женщин с ОП на уровне поясничных

позвонок L1-L4, так и среди лиц, имеющих остеопению. В итоге в группе женщин, имеющих длительность постменопаузы более 15 лет, было обнаружено отклонение от равновесного распределения генотипов (закон Hardy-Weinberg), что было обусловлено увеличением удельного веса гомозиготных лиц, т.е. имеющих генотипы AA или GG, и снижением процента носителей гетерозигот (AG).

Данное отклонение от равновесия Hardy-Weinberg может быть обусловлено как стохастическими, так и детерминированными процессами. В качестве одного из объяснений этому явлению может быть установленная к настоящему времени связь полиморфизма rs1544410 гена *VDR* и/или дефицита витамина D с заболеваемостью и тяжестью течения сердечно-сосудистых, онкологических, аллергических, эндокринных, инфекционных и других заболеваний. По всей видимости, именно поэтому гиповитаминоз витамина D, в конечном итоге, способствует снижению продолжительности жизни человека [168, 239, 264, 290]. Возможно, аналогичная ассоциация с повышенной смертностью может быть выявлена и для женщин, имеющих мутации гена *VDR*. Ведь через рецептор *VDR* осуществляются основные биологические эффекты витамина D. Поэтому структурно-функциональные особенности рецептора, зависящие от полиморфизма rs1544410, могут влиять на концентрации витамина D [82, 152], быть причиной снижения его функции и, как следствие, являться предикторами заболеваемости и смертности женщин. В нашей работе группа женщин с длительностью постменопаузы более 15 лет, представленная 166 лицами, имела средний возраст $70,0 \pm 0,68$. Вполне возможно, что в силу естественных причин, а именно повышенной смертности в этой возрастной группе женщин с отдельными генотипами полиморфизма rs1544410, мы и получили вышеуказанное отклонение от равновесия Hardy-Weinberg. Таким образом, исследованный локус гена *VDR* может быть подвержен селективному отбору, в частности отбору по заболеваемости и смертности, а полученные данные могут быть подтверждением важности полиморфизма rs1544410 для здоровья женщин.

Фармакогенетика является одним из перспективных направлений развития медицины, на которую возлагаются надежды повышения эффективности терапии различных заболеваний. К настоящему времени выполнен ряд работ, посвященных изучению ассоциаций полиморфизмов широкого перечня генов (*ESR1*, *VDR*, *COL1A1*, *LRP5*, *LRP6* и др.) с эффективностью лечения постменопаузального ОП препаратами кальция и витамина D, эстрогенами, селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов, алендронатом, стронцием рanelатом, терипаратидом. Вместе с тем генетические аспекты лечения женщин препаратами ибандроновой кислоты изучены недостаточно. Проведены лишь единичные исследования, целью которых было изучение влияния ибандроната на степень увеличения показателей МПК в зависимости от отдельных генетических полиморфизмов. Однако, небольшое количество наблюдений в них, по всей видимости, не позволило сделать обоснованные выводы. Так, при обследовании 53 женщин в динамике терапии ибандроновой кислотой [52] не было выявлено влияния полиморфизмов rs1544410 (BsmI) и rs10735810 (FokI) гена *VDR* на эффективность терапии.

В нашем же исследовании установлены ассоциации полиморфизмов rs1544410 гена *VDR*, rs2234693 гена *ESR1*, rs1800012 гена *COL1A1*, rs4988321 и rs3736228 гена *LRP5* с эффективностью назначения ибандроновой кислоты при постменопаузальном ОП ($p < 0,05$). Причем низкий прирост МПК в различных участках скелета женщин, как правило, был связан с теми генотипами вышеуказанных генов, которые были предикторами развития ОП (таблица 7.3). Полученные результаты, с одной стороны, подтверждают роль вышеуказанных полиморфизмов в этиопатогенезе постменопаузального ОП, а с другой, – свидетельствуют, по всей видимости, об их связи с повышенной потерей костной массы, что способствует развитию ОП и недостаточному ответу костной ткани на проводимую терапию.

Статистически значимые ассоциации ($p<0,05$) генотипов и аллелей генетических полиморфизмов с эффективностью терапии ОП, а также с постменопаузальным ОП или остеопоротическими изменениями различных участков скелета женщин

Генетический полиморфизм (ген)	Генотипы и аллели, имеющие положительную ассоциацию:	
	с низкой эффективностью терапии ибандронатом	с постменопаузальным остеопорозом или остеопоротическими изменениями различных участков скелета
rs1800012 (<i>COL1A1</i>)	GT или TT	GT или TT, T
rs2234693 (<i>ESR1</i>)	TT	TT или TC, T
rs3736228 (<i>LRP5</i>)	CT или TT	CT, T
rs4988321 (<i>LRP5</i>)	GA или AA	GA, A
rs1544410 (<i>VDR</i>)	GG или GA	GG, G

Выполненные исследования цитокинового статуса у женщин позволили выявить существенные изменения продукции ряда цитокинов при постменопаузальном ОП. В частности, установлено увеличение при вышеуказанном заболевании сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов IL-1- β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α , RANKL ($P<0,05$) и снижение – противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 ($P<0,05$). Вышеуказанные характеристики постменопаузального ОП нашли подтверждение и при выполнении корреляционного анализа между значениями МПК и уровнями цитокинов ($P<0,05$).

Полученные результаты согласуются с современными представлениями о роли иммунной системы в развитии постменопаузального ОП. Последние достижения остеоиммунологии демонстрируют наличие важных взаимосвязей между эндокринной, иммунной и костной системами. Эстрогены, помимо

специфических органов-мишеней (репродуктивная система), имеют свои рецепторы также на иммунных клетках и их предшественниках в костном мозге. Снижение уровня эстрогенов в постменопаузе сопровождается усилением пролиферации и активацией Т-клеток, а также ингибированием их апоптоза. Вследствие этого, увеличивается количество активированных Т-лимфоцитов и повышается продукция ими провоспалительных цитокинов. Итогом данных изменений является хроническая стимуляция цитокинами остеокластов, приводящая к усилению резорбции костной ткани и развитию ОП.

Следует отметить, что результаты, аналогичные нашим, были получены и другими исследователями. Обследование женщин постменопаузального возраста в Китае показало, что при ОП значительно снижены концентрации в сыворотке крови IL-4 и увеличены – IL-17 [103], резко возрастают уровни RANKL [256], наблюдается одновременное повышение концентраций IL-6, IL-17 и TNF- α [316]. Исследование продукции цитокинов в ответ на воздействие митогенов в культуре лейкоцитов продемонстрировало, что низкие показатели МПК сочетаются с увеличенной секрецией вышеуказанными клетками IL-6, IL-17, TNF- α и сниженной – IL-4, IL-10 [115].

Обращают внимание выявленные нами положительные корреляции концентраций OPG, который обладает остеопротективным действием, с уровнями провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α в общей группе обследованных женщин, а среди больных с ОП – с IL-6, IL-17A, TNF- α и RANKL. По всей видимости, повышение уровней OPG, которое сопровождает увеличение продукции вышеуказанных цитокинов, является защитной, компенсаторной реакцией, направленной в конечном итоге на нивелирование эффекта резорбтивных цитокинов и предотвращение чрезмерной активации остеокластов. Поэтому повышение уровней OPG может сопутствовать остеопоротическим изменениям. В связи с этим некоторые авторы предлагают использовать измерение концентраций OPG в качестве маркера потери костной массы и развития у женщин ОП [78].

Учитывая генетическую составляющую в этиопатогенезе ОП и важную роль цитокинов в регуляции костного метаболизма можно предположить, что конечный эффект тех или иных полиморфизмов, имеющих ассоциации с заболеванием костной системы, может быть обусловлен ролью генетических факторов в изменении иммунной реактивности, в том числе продукции цитокинов. Следует отметить, что к настоящему времени отсутствуют работы, направленные на исследование особенностей статуса цитокинов у женщин постменопаузального возраста, имеющих различные полиморфные варианты генов *ESR1*, *VDR*, *COL1A1*, *LRP5* и др.

Анализ уровней цитокинов у обследованных женщин в зависимости от генетических маркеров показал, что генотип ТТ полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1* сочетается с увеличением уровней резорбтивных цитокинов IL-17A и RANKL, а также со снижением индекса OPG/RANKL.

Данные изменения в уровнях IL-17A и RANKL при генотипе ТТ полиморфизма rs2234693 согласуются с современными представлениями о роли иммунной системы в развитии постменопаузального ОП. Эстрогены, помимо специфических органов-мишеней (репродуктивная система), имеют свои рецепторы также на иммунных клетках и их предшественниках в костном мозге. Снижение регулирующего действия эстрогенов, в том числе вследствие снижения концентраций гормонов и/или чувствительности рецепторов ER- α , сопровождается усилением пролиферации и активацией Т-клеток, а также ингибированием их апоптоза. Вследствие этого, увеличивается количество активированных Т-лимфоцитов, что сопряжено с нарушениями цитокинового баланса. Характерными изменениями при ОП считаются снижение продукции противовоспалительных и повышение уровней провоспалительных цитокинов, в том числе IL-17A и RANKL. Итогом данных изменений является хроническая стимуляция цитокинами остеокластов, приводящая к усилению резорбции костной ткани и развитию ОП. Поэтому повышенный риск развития постменопаузального ОП у носителей аллеля Т полиморфизма rs2234693 может реализовываться, по крайней мере частично, через их склонность к увеличению

продукции вышеуказанных резорбтивных цитокинов в результате снижения чувствительности рецепторов ER- α .

Анализ уровней цитокинов у женщин в зависимости от других генетических маркеров показал, что те генотипы полиморфизмов генов *VDR*, *COL1A1* и *LRP5*, которые в ранее выполненных исследованиях показали связь с повышенным риском ОП, в большинстве своем обнаруживали ассоциации с увеличением концентраций провоспалительных цитокинов и снижением – противовоспалительных. И это естественно, так как вышеуказанные генотипы (генотип GG полиморфизма BsmI гена *VDR* и др.) чаще регистрируются именно среди больных ОП.

Вместе с тем необходимо отметить особенности цитокинового статуса женщин с некоторыми полиморфными вариантами изученных генов. Так, была установлена связь ($p < 0,05$) полиморфизмов rs3736228 и rs4988321 гена *LRP5* с изменением уровней всего лишь одного цитокина (IL-10), а полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* – только двух цитокинов (IL-10 и OPG). Важно отметить, что достоверные ($p < 0,05$) ассоциации концентраций в сыворотке OPG было свойственны только с генотипами полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*. При этом изменений уровней OPG в зависимости от других изученных полиморфизмов, также как и от состояния костной системы женщин, установлено не было ($p > 0,05$).

К настоящему времени возможные механизмы, которыми можно было бы объяснить связи генотипов полиморфизмов генов *COL1A1* и *LRP5* с изменениями иммунных показателей, остаются неизвестными. Не исключено, что роль данных полиморфизмов в развитии ОП даже и не обусловлена прямым их влиянием на продукцию цитокинов. А выявленные связи с уровнями цитокинов опосредованы другими причинами, обусловленными сложными взаимодействиями в системах «ген-ген», «ген-внешние факторы». Ведь ОП является полигенным заболеванием. Подтверждением этому является мнение о том, что мутации в гене *COL1A1*, участвующем в образовании коллагена, являются причиной структурно-функциональных изменений основного компонента соединительной ткани и тем

самым способствуют развитию ОП. В частности одной из таких мутаций является полиморфизм rs1800012 в гене *COL1A1*, который приводит к увеличению соотношения α -1 и α -2 цепей коллагена и, в конечном итоге, к ухудшению костной микроархитектуры и увеличению риска переломов [62, 106].

Известно, что мутации гена *LRP5* могут оказывать непосредственное действие на функцию костных клеток, процессы костеобразования и резорбции костной ткани. Белок, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности 5 типа, который кодируется геном *LRP5*, является важным фактором в реализации сигналов по каноническому Wnt-сигнальному пути [184]. Нарушения Wnt-сигнализации, которые могут быть обусловлены мутациями гена *LRP5*, в сторону увеличения сопровождаются повышением интенсивности костеобразования, а в сторону уменьшения – к снижению костной массы и нарушениям скелета [153]. Вместе с этим, необходимо указать на важную роль канонического Wnt-сигнального пути в регуляции не только костных клеток, но и клеток иммунной системы [307]. Исходя из этого, можно предположить, что влияние полиморфизмов гена *LRP5* на риск развития ОП может быть опосредовано и через воздействие на функцию дендритных клеток, лимфоцитов. В том числе показано, что снижение LRP5/6-опосредованной сигнализации в дендритных клетках приводит к усилению дифференцировки эффекторных Т-клеток, увеличению производства провоспалительных цитокинов и уменьшению продукции IL-10 [86, 101, 119]. Это согласуется с полученными нами результатами, демонстрирующими связь генотипа GA полиморфизма rs4988321 и генотипов СТ или ТТ полиморфизма rs3736228 гена *LRP5* со снижением уровней в сыворотке крови IL-10.

Механизмы, посредством которых мутации гена *VDR*, в том числе полиморфизм BsmI, участвуют в развитии остеопоротических изменений до настоящего остаются дискуссионными. Предполагается, что аллели риска обуславливают снижение экспрессии данного рецептора [153], что сопровождается уменьшением регулирующих эффектов витамина D на клетку. Возникает картина дефицита витамина D даже при его достаточном количестве.

Результатом этого является угнетение геномных эффектов витамина, направленных на абсорбцию кальция в эпителии кишечника. Развивается и недостаточность непосредственных механизмов воздействия витамина на клетки костной системы, в том числе ОБ. Все это может быть важными звеньями патогенеза ОП. Кроме того, страдает и регулирующее действие витамина D на иммунные клетки. К настоящему времени установлена его важная функция в обеспечении иммунного ответа, в том числе в подавлении чрезмерной продукции провоспалительных цитокинов и повышении образования IL-10. По всей видимости, наличие генотипа GG полиморфизма rs1544410 сочетается со снижением эффектов витамина D на клетки иммунной системы, что может сопровождаться теми изменениями в балансе цитокинов, которые были выявлены в нашей работе, а именно увеличением уровней IL-1-β, RANKL, индекса OPG/RANKL и снижением показателей IL-10.

Анализ уровней цитокинов у женщин в зависимости от генетических маркеров показал, что генотипы полиморфизмов rs3134069 и rs3102735 гена *TNFRSF11B* не обнаруживали связей с изменениями иммунных факторов. Следует отметить, что в других исследованиях также не было выявлено влияния полиморфизмов гена *TNFRSF11B* на уровни отдельных цитокинов, в том числе OPG и RANKL [67, 195]. К настоящему времени не определены механизмы, посредством которых полиморфизмы гена *TNFRSF11B*, который кодирует OPG, могут влиять на риск развития ОП. Можно было бы предположить, что мутации в данном гене вызывают количественные и/или качественные изменения молекул OPG, вследствие чего снижается их эффективность как рецептора-ловушки по отношению к резорбтивному цитокину RANKL. Однако подтверждения этому пока нет.

В отличие от мутаций гена *TNFRSF11B*, полиморфные варианты генов *IL-6* и *TNFSF11*, которые являются предикторами постменопаузального ОП, имели ассоциации с изменениями уровней цитокинов. Причем, характер этих ассоциаций в большинстве случаев был аналогичен тем, что были свойственны и

для ОП. Кроме того, были обнаружены и особенности цитокинового статуса у женщин в зависимости от генетических полиморфизмов генов *IL-6* и *TNFSF11*.

Генотип GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6*, который является фактором риска развития ОП шейки бедренной кости, показал ассоциацию с увеличением провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IL-17A, RANKL. Причем, наиболее выраженную связь генотип GG имел с уровнем IL-6. Данный факт согласуется с полученными данными, свидетельствующими о том, что аллель G, по сравнению с аллелем C, ассоциирован с повышенной промоторной активностью гена *IL-6*, следствием чего является увеличение продукции иммунокомпетентными клетками цитокина IL-6 и нарастание его концентраций в сыворотке крови при дефиците эстрогенов [302]. Следует отметить, что наличие генотипа GG у обследованных женщин в постменопаузе сочетается с повышением и других цитокинов. Это можно объяснить тем, что IL-6 представляет собой плеiotропный цитокин, который играет центральную роль в иммунных, воспалительных реакциях, в том числе через инициацию синтеза других взаимосвязанных между собой провоспалительных цитокинов, одним из которых является RANKL, непосредственно участвующий в остеокластогенезе и способствующий резорбции костной ткани.

Генотип TT полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*, который определяет повышенный риск остеопоротических изменений у женщин в постменопаузе, сочетается с достоверным увеличением концентраций IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α . Сравнительный анализ женщин в зависимости от другого полиморфизма гена *TNFSF11* (rs9594759) позволил установить, что для его генотипов CT и/или TT были свойственны ассоциации с более высокими показателями IL-17A и TNF- α по сравнению с генотипом CC. Эти генотипы (CT и TT) также являются, как ранее было указано, предикторами постменопаузального ОП. К настоящему времени механизмы, которыми можно было бы объяснить связи генотипов полиморфизмов гена *TNFSF11*, кодирующего молекулы RANKL, как с остеопоротическими нарушениями кости, так и с изменениями иммунных показателей, остаются неизвестными. Не исключено, что роль полиморфизмов

вышеуказанного гена заключается в их влиянии не столько на интенсивность продукции молекул RANKL, сколько на их функциональные характеристики, которые обуславливают более выраженное воздействие данного резорбтивного цитокина на активность остеокластов.

К настоящему времени имеются работы, свидетельствующие об изменении при ОП отдельных биохимических показателей сыворотки крови [108, 111, 126, 144]. Показаны связи постменопаузального ОП также и с особенностями гормонального статуса, маркеров костного обмена [40, 77, 142, 153, 256, 257, 305], изменениями уровня гемоглобина, характеристик клеточного состава крови [56, 65, 165, 179, 209, 216, 230],

Данные изменения могут отражать патогенетические механизмы заболевания костной системы, прямо или опосредованно оказывать влияние на скорость снижения минеральной плотности кости у женщин в постменопаузе.

Необходимо отметить, что генетические факторы, обуславливающие ускоренную потерю костной массы в постменопаузе, могут реализовывать свое действие не только путем прямого влияния на процессы ремоделирования костной ткани, на функцию ОБ и ОК, а также иммунные факторы. Возможны и опосредованные их эффекты через воздействие на метаболические процессы, регуляцию эндокринных факторов и т.д. Данные механизмы опосредованного влияния генетических полиморфизмов на костную ткань могут отражаться, а может быть даже в определенной степени и реализовываться через влияние их на гормональный статус и биохимические процессы, а также на те факторы, которые представлены в клиническом анализе крови.

Анализ результатов выполнения общего клинического анализа крови обследованным женщинам показал существенное снижение ($p < 0,05$ - $p < 0,01$) при постменопаузальном ОП показателей RBC, HGB, HCT, MPV, PDW%, PCT, WBC, LYM и повышение – RDW%. Аналогичные изменения большинства вышеуказанных показателей были характерны и для остеопении. Полученные данные согласуются с результатами других исследований, которые свидетельствуют о связи ОП с более частым выявлением анемии, низкими

концентрациями гемоглобина в крови [56, 230], снижением показателя тромбоцитов MPV [65]. Анемия считается одной из возможных причин постменопаузального ОП, следствием которой может быть нарушение метаболических процессов в кости и снижение активности костеобразования [216]. А развитие анемии может быть обусловлено повышением продукции провоспалительных цитокинов, что характерно для ОП как для хронического иммуноопосредованного воспалительного заболевания.

Изучение ассоциаций генетических маркеров с показателями клинического анализа крови позволило установить, что ряд изученных генотипов обнаруживал связи с такими изменениями в клиническом анализе крови, которые были характерны и для ОП. Так, наличие у женщин генотипов CG и/или GG полиморфизма rs1800795 гена *IL6* сочеталось со сниженными значениями RBC, HCT и повышенными – RDW% ($p < 0,05$), генотипа TT полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* – с пониженными показателями RBC, HCT, HGB и средней концентрацией гемоглобина в эритроците – MCHC ($p < 0,05$), генотипов CA и AA полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* – с повышенными уровнями RDW% ($p < 0,05$), генотипов GT и TT полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* – с увеличенными значениями RDW% и низкими – MPV ($p < 0,05$), генотипов TC и CC полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B* – с повышением HGB ($p < 0,05$).

Полученные данные в большинстве случаев сочетаются с выявленной ролью вышеуказанных полиморфизмов в развитии постменопаузального ОП, что было описано ранее. Наряду с этим, были установлены и связи генетических маркеров с такими изменениями клинического анализа крови, которые не были зарегистрированы при сравнении трех групп женщин с различным состоянием костной системы. Обращают внимание выявленные ассоциации ($p < 0,05$) полиморфных вариантов гена *LRP5* с изменениями уровней показателей клинического анализа крови – WBC, GRA (% и $\times 10^9/\text{л}$), LYM, RDW%, MPV. Белок, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности 5 типа, который кодируется геном *LRP5*, является важным элементом канонического Wnt-сигнального пути, который регулирует эмбриональное развитие и

дифференцировку клеток. Поэтому мутации гена *LRP5* могут сопровождаться не только изменением активности костных клеток, процессов костеобразования и резорбции, но и быть причиной особенностей созревания, дифференцировки клеток других тканей, в том числе костного мозга [250, 263]. Возможно, именно этим объясняются выявленные ассоциации полиморфизмов гена *LRP5* с изменениями характеристик эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов.

Выявленные нами изменения биохимических параметров сыворотки крови у женщин с постменопаузальным ОП включали повышение активности ЩФ, снижение концентраций K, Mg, Fe, Ca⁺⁺ ($p < 0,05$). Полученные результаты согласуются с выводами, сделанными в других исследованиях. Были показаны аналогичной направленности связи ОП с сывороточными показателями ЩФ [71, 126, 144], концентрациями в сыворотке и/или потреблением с пищей Fe [108, 144, 189], K [60, 121], Mg [108, 111, 192], Ca [60, 111, 192, 238].

Следует отметить, что уровни ряда из вышеуказанных биохимических показателей показали зависимость от некоторых генетических полиморфизмов. Так, генотип GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR*, который является фактором риска развития остеопоротических изменений поясничных позвонков, имел ассоциацию с низкими значениями ЩФ, Ca, Ca⁺⁺ ($p < 0,05$). Тенденция к снижению ЩФ при генотипе GG подтверждается и другими исследованиями [52]. Предполагается, что аллели риска полиморфизма rs1544410 могут обуславливать снижение экспрессии рецептора *VDR* [153], что сопровождается уменьшением регулирующих эффектов витамина D на клетку. Развивается недостаточность прямого стимулирующего действия витамина на клетки костной системы – ОБ, основным ферментом которых является ЩФ, а также на абсорбцию Ca в кишечнике. В связи с этим становится объяснимой выявленная нами связь генотипа GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR*, который является генетическим предиктором ОП, с понижением как сывороточных уровней Ca, так и активности ЩФ.

Исходя из роли эстрогенов и их рецепторов в регуляции процессов ремоделирования костной ткани, можно объяснить и выявленную связь ($p < 0,05$)

низкой активности ЩФ с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Считается, что мутации данного гена могут влиять на структурно-функциональные характеристики эстрогеновых рецепторов альфа (ER- α) и тем самым снижать их чувствительность к воздействию эстрогенов. Известно, что в результате связывания со своими рецепторами (ER- α) на клетках костной ткани эстрогены способны активировать в ОБ и остеокластах десятки генов. Результатом является повышение функциональной активности ОБ и остеоцитов, увеличение апоптоза остеокластов и ингибция остеокластогенеза. Нарушение же функции ER- α может сопровождаться снижением регулирующих эффектов эстрогенов на костную ткань, следствием чего могут быть недостаточная активность ОБ и усиление резорбтивных процессов. А сниженные показатели ЩФ при наличии генотипа ТТ полиморфизма rs2234693, возможно, и отражают низкую активность ОБ у носителей данного сочетания аллелей. Подтверждением данному суждению являются данные, свидетельствующие об ассоциации аллеля Т и генотипов ТТ или ТС полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* с повышенным риском развития ОП и возникновения низкоэнергетических переломов [66, 135, 140, 267].

Обращает внимание относительно большое количество биохимических маркеров, изменения которых были связаны с полиморфными вариантами гена *LRP5*. Нами были выявлены ассоциации уровней глюкозы, общего белка и Сu с полиморфизмом rs4988321 гена *LRP5*, показателей АЛТ, общего билирубина, ГГТП, глюкозы и К с полиморфизмом rs3736228 гена *LRP5* ($p < 0,05$). Канонический Wnt-сигнальный путь, одним из элементов которого является белок, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности 5 типа (LRP5), относится к наиважнейшим молекулярным сигнальным путям, регулирующим дифференцировку различных типов клеток. Поэтому мутации гена *LRP5* могут сопровождаться как изменением активности костных клеток, процессов костеобразования и резорбции, так и быть причиной особенностей созревания, дифференцировки клеток других тканей организма человека [250, 263]. Кроме того, канонический Wnt-сигнальный путь, включающий белок LRP5, играет

ключевую роль в метаболических процессах, в липидном и углеводном обмене. Поэтому изменения вышеуказанного сигнального пути, в том числе обусловленные генетическими факторами, могут, конечно же, отражаться и на биохимических параметрах сыворотки крови. Судить о том, насколько эти связи актуальны в механизмах, посредством которых мутации гена *LRP5* способствуют развитию постменопаузального ОП, весьма сложно. Не исключено, что вышеуказанные биохимические особенности женщин с различными вариантами гена *LRP5* и не оказывают прямого влияния на процессы ремоделирования костной ткани. Вместе с тем важно обратить внимание на ассоциацию генотипов GA (rs4988321), CT или TT (rs3736228) гена *LRP5* с увеличением концентраций глюкозы натощак. Как было показано ранее, эти же генотипы являются и предикторами постменопаузального ОП. А риск остеопоротических изменений, как доказано многими исследованиями, увеличивается у пациентов с сахарным диабетом и в настоящее время не возникает сомнений в том, что обменные процессы в костной ткани и метаболизм глюкозы тесно связаны друг с другом [174, 175].

Исследование у женщин сывороточных уровней гормонов и маркеров костного ремоделирования показало, что при постменопаузальном ОП повышены уровни остеокальцина (ОС) и снижены концентрации ТТГ, а при остеопении увеличены показатели СТХ-1 ($p < 0,05$). Кроме того, установлены отрицательные корреляционные связи ($p < 0,05$) МПК различных участков скелета женщин со значениями P1NP, ОС, СТХ-1 и положительные – с уровнями ТТГ и тестостерона свободного. Полученные результаты согласуются с выводами, сделанными в других исследованиях. Были показаны аналогичной направленности связи ОП и/или остеопоротических переломов с показателями ТТГ и гормонов щитовидной железы [142, 305], ОС [77], P1NP и СТХ-1 [256]. Известно, что дефицит андрогенов, в том числе тестостерона, является одним из факторов риска развития ОП [40].

Обращает внимание выявленная нами ассоциация генотипа GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR* с увеличенными показателями 25(OH)D

($p < 0,05$). Как ранее было указано, генотип GG вышеуказанного полиморфизма является фактором риска развития остеопоротических нарушений у женщин в постменопаузе. Наиболее вероятным считается, что наличие аллелей риска (GG) обуславливают снижение экспрессии рецепторов VDR [153], что сопровождается уменьшением регулирующих эффектов витамина D на клетки организма. Возникает ослабление геномных эффектов витамина D даже при его достаточном количестве. Поэтому увеличение концентраций прогормональной формы витамина D (25(OH)D) у женщин с генотипом GG полиморфизма rs1544410 может быть отражением компенсаторных механизмов, направленных на нивелирование низкой эффективности рецепторов VDR при данном генотипе.

ВЫВОДЫ

В диссертации представлено теоретическое обоснование и достигнуто новое решение актуальной научной проблемы современной медицины – на основании комплексного анализа клинико-anamnestических и генетических факторов риска, иммунологических, гормональных, клинико-лабораторных, биохимических показателей, маркеров костного обмена и витамина D расширены представления о патогенезе постменопаузального ОП, обоснован новый методический подход при проведении молекулярно-генетических исследований при постменопаузальном ОП, создана математическая модель прогноза риска развития постменопаузального ОП, определены предикторы эффективности лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом ибандроната.

1. Женщины с постменопаузальным ОП характеризуются ($p < 0,05$) сниженными показателями роста, веса, индекса массы тела, возраста менархе, длительности менструального цикла, сексуальной активности, времени пребывания на солнце, уровня потребления молочных сыров и творога, увеличенным количеством низкоэнергетических переломов, повышенной динамикой снижения роста, выраженным болевым синдромом в грудном и поясничном отделе позвоночника.

2. Генетическими факторами риска развития постменопаузального ОП являются ($p < 0,05$) генотипы GT или TT и аллель T полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*, аллель T полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*, аллель T полиморфизма rs3736228 гена *LRP5*, генотип TT и аллель T полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*, аллель T полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11*, генотипы TC или CC и аллель C полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B*, а также генотипы AC или CC и аллель C полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B*. Причем, 4 из 7 вышеуказанных полиморфизмов, обнаруживших связь с постменопаузальным ОП, – это мутации в генах, кодирующих иммунные факторы (rs9594738, rs9594759, rs3102735, rs3134069).

3. Ряд генетических полиморфизмов, на обнаруживших ассоциаций с постменопаузальным ОП, имеют связи ($p < 0,05$) с остеопоротическими изменениями отдельных участков скелета женщин: наличие аллеля А или генотипов с данным аллелем (СА или АА) полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* сочетается с наличием остеопоротических изменений проксимальных отделов и шеек правой и левой бедренных костей; у лиц с генотипом GA или аллелем А полиморфизма rs4988321 гена *LRP5* чаще выявляется ОП в поясничных позвонках L1-L4, проксимальном отделе левого бедра и дистальном отделе предплечья; женщины с аллелем G или генотипом GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* с повышенной частотой имеют ОП в зоне шейки левого бедра, а лица с аллелем G или генотипом GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR* – ОП поясничных позвонков L1-L4.

4. Проявление ассоциаций генетических факторов с постменопаузальным ОП зависит от длительности постменопаузального периода: среди выделенных групп женщин с длительностью постменопаузы < 6 , 6-10, 11-15 и > 15 лет связи остеопоротических изменений поясничных позвонков L1-L4 с полиморфизмом rs1800012 гена *COL1A1* не нашли подтверждение ($p > 0,05$) у женщин спустя < 6 лет после менопаузы; с полиморфизмом rs9594738 гена *TNFSF11* – у лиц спустя < 6 и > 15 лет после менопаузы; с полиморфизмом rs1544410 гена *VDR*, наоборот, сохранились только среди пациентов спустя < 6 лет после менопаузы ($p < 0,05$).

5. Постменопаузальный ОП характеризуется ($p < 0,05$) увеличением концентраций в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1- β , IL-8, IL-17A, TNF- α , RANKL и снижением – уровней противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10. Показатели МПК во всех зонах выполнения денситометрии (поясничные позвонки L1-L4, шейки и проксимальные отделы левой и правой бедренных костей) или в отдельных участках скелета женщин имеют ($p < 0,05$) отрицательные корреляции с сывороточными показателями IL-1- β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α , RANKL и положительные – со значениями IL-4, IL-10, индексом OPG/RANKL. Наряду с положительными корреляционными связями ($p < 0,05$) уровней провоспалительных цитокинов между собой (IL-1- β , IL-6, L-8, IL-17A,

TNF- α , RANKL), обнаружена прямая связь ($p < 0,05$) содержания в сыворотке крови OPG с концентрациями IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α в общей группе обследованных женщин в постменопаузе, а также с показателями IL-6, IL-17A, TNF- α и RANKL среди больных ОП.

6. Наличие постменопаузального ОП у женщин сочетается ($p < 0,05$) со снижением отдельных показателей эритроцитов (RBC, HGB, HCT), тромбоцитов (MPV, PDW%, PCT), лейкоцитов (WBC, LYM), сывороточных уровней K, Fe, Ca⁺⁺, ТТГ и с повышением активности ЩФ и значений остеокальцина. Показатели МПК отдельных участков скелета женщин (поясничные позвонки L1-L4, проксимальные отделы и шейки левого и правого бедра, дистальный отдел предплечья) имеют отрицательные корреляционные связи ($r_s = -0,15$ – $r_s = -0,41$; $p < 0,05$) со значениями ЩФ, P1NP, остеокальцина, СТХ-1 и положительные ($r_s = 0,17$ – $r_s = 0,25$; $p < 0,05$) – с уровнями ТТГ и тестостерона свободного.

7. Женщины постменопаузального возраста, имеющие генотипы изученных полиморфизмов, для которых были установлены ассоциации с остеопоротическими нарушениями костной ткани, характеризуются изменениями уровней отдельных цитокинов, показателей клинического анализа крови, биохимических параметров сыворотки крови, сывороточных уровней гормонов, маркеров костного обмена и VD:

- генотипы СА и АА (СА+АА) по сравнению с генотипом СС полиморфизма rs1107946 гена *COL1A1* сочетаются с более высокими показателями IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, RANKL, RDW% и сниженными – Ca⁺⁺, ЩФ ($p < 0,05$), а у женщин с генотипами GT или TT (GT+TT) полиморфизма rs1800012 вышеуказанного гена определяются, в отличие от обладателей генотипа GG, более низкие значения IL-10, OPG, OPG/RANKL, MCV, MCH, MPV и повышенные – RDW% ($p < 0,05$);

- носители генотипа TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* отличаются от женщин с генотипами СС и/или ТС увеличенными уровнями IL-4, IL-17A, RANKL и сниженными показателями OPG/RANKL, PLT и ЩФ ($p < 0,05$);

- по сравнению с носителями генотипа СС полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* у женщин с генотипом GG установлены повышенные показатели ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, RANKL, RDW% и Na ($p < 0,05$), а с генотипом CG – увеличенные показатели ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, RDW% и сниженные уровни RBC и HCT ($p < 0,05$);

- наличие у женщин в постменопаузе генотипов СТ либо ТТ (СТ+ТТ) полиморфизма rs3736228 гена *LRP5* определяет сниженные уровни ИЛ-10, RDW%, АЛТ и повышенные – MPV, WBC, GRA ($\times 10^9/\text{л}$), билирубина общего, ГГТП, глюкозы, К ($p < 0,05$), а генотип GA полиморфизма rs4988321 гена *LRP5* отличают ассоциации со сниженными значениями ИЛ-10, LYM (%), белка общего, Си и увеличенными – WBC, GRA (% и $\times 10^9/\text{л}$), глюкозы ($p < 0,05$);

- женщины, имеющие генотип ТТ полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*, по сравнению с обладателями генотипа СС отличаются более высокими концентрациями в сыворотке крови цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, TNF- α ($p < 0,05$);

- генотип СТ полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* по сравнению с генотипом СС характеризуется связями ($p < 0,05$) с повышенными показателями ИЛ-17А, TNF- α , ТЗ-св., Т4-св. и сниженными значениями ТТГ, а для женщин с генотипом ТТ по сравнению с обладателями генотипов СС и/или СТ, свойственны ($p < 0,05$) увеличенные уровни ИЛ-17А, ТЗ-св. и сниженные – RBC, HCT, HGB, MCHC, билирубина общего и прямого, Fe, ТТГ;

- в отличие от женщин, имеющих гомозиготу ТТ полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B*, носители генотипов ТС или СС (ТС+СС) характеризуются ($p < 0,05$) увеличенными концентрациями HGB и сниженными – глюкозы;

- обладателей генотипа GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR* от женщин с генотипами AA или AG отличают ($p < 0,05$) более высокие показатели ИЛ-1 β , ИЛ-4, RANKL, 25(OH)D и сниженные – ИЛ-10, OPG/RANKL, Ca, Ca⁺⁺, ЩФ, GRA ($\times 10^9/\text{л}$).

8. Математическая модель для определения риска развития постменопаузального ОП, полученная с помощью метода бинарной логистической регрессии с учетом клинико-анамнестических и генетических факторов, характеризуется простотой в использовании, достаточно высокими показателями чувствительности (83,1%) и специфичности (72,4%) и включает в качестве предикторов заболевания ($p < 0,05$) показатель ИМТ и результаты тестирования женщин по полиморфизмам rs1800012 (ген *COL1A1*), rs9594738 и rs9594759 (ген *TNFSF11*, кодирующий цитокин RANKL).

9. С низкими показателями прироста МПК при лечении постменопаузального ОП препаратом ибандроната в поясничных позвонках L1-L4 имеют ассоциации ($p < 0,05$) генотип GG полиморфизма rs1544410 гена *VDR*, генотип TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*, генотипы GA или AA полиморфизма rs4988321 гена *LRP5*; в проксимальных отделах левого и правого бедра – генотипы GT или TT полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*; в зонах шейки бедренной кости слева и справа – соответственно генотипы GA или AA полиморфизма rs4988321 и генотипы CT или TT полиморфизма rs3736228 гена *LRP5*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью повышения качества профилактики постменопаузального ОП необходимо внедрение в практическую деятельность врачей различных специальностей (терапевты, ревматологи, гинекологи, эндокринологи, семейные врачи, травматологи, иммунологи и т.д.) разработанного программного обеспечения «Программа расчета риска постменопаузального остеопороза».

2. Для определения индивидуального риска развития постменопаузального ОП необходимо проводить клинико-лабораторное обследование женщин, включающее определение ИМТ и генетических полиморфизмов rs1800012 (ген *COL1A1*), rs9594738 и rs9594759 (ген *TNFSF11*).

3. Женщинам группы риска по постменопаузальному ОП необходимо назначать профилактические программы, в том числе направленные на нормализацию ИМТ, увеличение времени пребывания на солнце, уровня потребления содержащих Са продуктов (молочные сыры, творог).

4. Женщинам в постменопаузальном периоде, имеющим клинико-анамнестические признаки ОП (низкий ИМТ, дефицит времени пребывания на солнце, недостаточное потребление молочных сыров и творога, наличие низкоэнергетических переломов, динамика снижения роста, выраженный болевой синдром в грудном и поясничном отделе позвоночника), необходимо рекомендовать выполнение остеоденситометрии для ранней диагностики заболевания.

5. Результаты представленного диссертационного исследования необходимо использовать в образовательном процессе при обучении студентов старших курсов высших медицинских учебных заведений и на курсах последипломной подготовки врачей курсантов, а также включить их в соответствующие методические документы по постменопаузальному остеопорозу.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	-	аланинаминотрансфераза
АСТ	-	аспартатаминотрансфераза
АТ-ТГ	-	антитела к тиреоглобулину
АТ-ТПО	-	антитела к тиреопероксидазе
ВОЗ	-	Всемирная Организация Здравоохранения
ГГТП	-	гамма-глутамилтранспептидаза
ДГЭА-с	-	дегидроэпиандростерон-сульфат
ДНК	-	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМТ	-	индекс массы тела
К	-	калий
ЛГ	-	лютеинизирующий гормон
ЛДГ	-	лактатдегидрогеназа
ЛПВП	-	липопротеины высокой плотности
ЛПНП	-	липопротеины низкой плотности
Me	-	медиана
МПК	-	минеральная плотность костной ткани
ОБ	-	остеобласты
ОК	-	остеокласты
ОП	-	остеопороз
РНК	-	рибонуклеиновая кислота
СОЭ	-	скорость оседания эритроцитов
СТГ	-	соматотропный гормон
Т3-св.	-	трийодтиронин свободный
Т4-св.	-	тироксин свободный
ТТГ	-	тиреотропный гормон
ФСГ	-	фолликулостимулирующий гормон
ЩФ	-	щелочная фосфатаза
ЭДТА	-	антикоагулянт динатриевая соль этилендиаминтетраацетата

1,25(OH) ₂ D	- 1,25-дигидрoвитамиn D (активные гормональные формы витамина D – кальцитриол 1,25(OH) ₂ D ₃ и эргокальцитриол 1,25(OH) ₂ D ₂)
25(OH)D	- 25-гидроксивитамиn D (прогормональные формы витамина D – кальцидиол 25(OH)D ₃ и эргокальцидол 25(OH)D ₂)
95% CI	- 95% доверительный интервал
BMP	- костный морфогенетический белок
Ca	- кальций
Ca ⁺⁺	- кальций ионизированный
COL1A1	- α ₁ -цепь коллагена I типа
<i>COL1A1</i>	- ген α ₁ -цепи коллагена I типа
CD8 ⁺ Treg	- регуляторные T цитотоксические лимфоциты
C-fms	- специфический рецептор для макрофагального колониестимулирующего фактора M-CSF
CTX-1	- карбокси-терминальный телопептид коллагена I типа (β-CrossLaps)
Cu	- медь
<i>CYP19A1</i>	- ген фермента ароматаза
CYP2R1	- 25-гидроксилаза микросом, катализирует образование 25(OH)D
CYP24A1	- 24-гидроксилаза (участвует в катаболизме VD – образовании кальцитроевой кислоты 24,25-(OH) ₂ D, конечного продукта VD)
CYP27A1	- 25-гидроксилаза митохондрий, катализирует образование 25(OH)D
CYP27B1	- 1-альфа-гидроксилаза, катализирует образование 1,25(OH) ₂ D
DBP	- белок, связывающий витамин D
DEXA	- двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (Dual-Energy X-ray Absorbtiometry)
E	- эстрогены
ESR	- эстрогеновый рецептор
<i>ESR</i>	- ген эстрогенового рецептора

<i>ESR1</i>	- ген эстрогенового рецептора 1 типа
Fe	- железо
FGF23	- фактор роста фибробластов
FRZ	- трансмембранный рецептор Frizzled
$\gamma\delta T$	- Т лимфоциты, которые экспрессируют Т-клеточный рецептор, содержащий гамма (γ) и дельта (δ) цепи
GRA	- абсолютное количество гранулоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
GRA%	- удельный вес гранулоцитов в лейкоцитарной формуле (%)
GWAS	- полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies)
HCT	- гематокрит (%)
HGB	- концентрация гемоглобина (г/л)
IFN- γ	- интерферон- γ
IGF	- инсулиноподобный фактор роста
IL	- интерлейкин
<i>IL</i>	- ген, кодирующий интерлейкин
L1-L4	- поясничные позвонки L1, L2, L3, L4
LRP (4,5,6)	- белки (4, 5 или 6 типа), родственные семейству белков рецептора липопротеинов низкой плотности
<i>LRP</i> (4,5,6)	- гены, кодирующие белки (4, 5 или 6 типа), родственные семейству белков рецептора липопротеинов низкой плотности
LYM	- абсолютное количество лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
LYM%	- удельный вес лимфоцитов в лейкоцитарной формуле (%)
M	- среднее арифметическое значение
m	- ошибка среднего арифметического значения
MCH	- среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците (пг)
MCHC	- средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/л)
M-CSF	- макрофагальный колониестимулирующий фактор
MCV	- средний объем эритроцитов (fl)
Mg	- магний

MID	- абсолютное количество моноцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
MID%	- удельный вес моноцитов в лейкоцитарной формуле (%)
MPV	- средний объем тромбоцитов (fl)
Na	- натрий
NF-κB	- ядерный фактор κB
NKT	- натуральные киллерные Т клетки
OC	- остеокальцин
OPG	- остеопротегерин
OR	- отношение шансов (Odds Ratio)
P	- фосфор
P1NP	- N-концевой пропептид проколлагена 1 типа
PCT	- тромбокрит (%)
PDW	- ширина распределения тромбоцитов (%)
PLT	- количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
Q1-Q3	- интерквартильный размах
r	- коэффициент парной корреляции Пирсона
RANK	- активатор рецептора ядерного фактора κB
RANKL	- лиганд активатора рецептора ядерного фактора κB
RBC	- количество эритроцитов ($\times 10^{12}/\text{л}$)
RDW%	- ширина распределения эритроцитов (%)
rs	- коэффициент ранговой корреляции Спирмена
RXR	- ретиноидные X рецепторы
SNPs	- однонуклеотидные полиморфизмы (Single Nucleotide Polymorphisms)
SOST	- склеростин
T _{FH}	- фолликулярные Т хелперы
TGF-β	- трансформирующий фактор роста бета
Th1	- Т хелперы 1 типа
Th2	- Т хелперы 2 типа
Th9	- Т хелперы 9 типа

Th17	- Т хелперы 17 типа
Th22	- Т хелперы 22 типа
TLR	- Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors)
TNF	- фактор некроза опухолей
<i>TNFRSF11B</i>	- ген, который кодирует остеопротегерин (OPG)
<i>TNFSF11</i>	- ген, который кодирует лиганд активатора рецептора ядерного фактора κB (RANKL)
TRAF6	- фактор 6, ассоциированный с рецептором TNF
Treg	- Т лимфоциты регуляторные
VD	- витамин D
VDR	- рецептор витамина D
<i>VDR</i>	- ген рецептора витамина D
VDRE	- витамин-D-чувствительные элементы
WBC	- количество лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
Zn	- цинк

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Баранов, В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины [Текст] / Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
2. Белая, Ж.Е. Преимущества таргетной терапии при остеопорозе [Текст] / Ж.Е. Белая // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – № 27. – С. 16-21.
3. Беловол, А.Н. Бисфосфонаты в лечении остеопороза [Текст] / А.Н. Беловол, И.И. Князькова // Клиническая фармакология и терапия. – 2014. – Т. 23, № 5. – С. 75-79.
4. Вербовой, А.Ф. Остеопороз: современное состояние проблемы [Текст] / А.Ф. Вербовой, А.В. Пашенцева, Л.А. Шаронова // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89, № 5. С. 90-97.
5. Визначення ролі поліморфізму Sp1 (rs1800012) гена COL1A1 при постменопаузальному остеопорозі [Текст] / С.В. Зябліцев [и др.] // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2016. – Т. 53, № 1. – С. 47-52.
6. Влияние эстрогенов на функциональное состояние иммунной системы женщины [Текст] / И.А. Илловойская [и др.] // Иммунология. – 2011. – № 2. – С. 109-112.
7. Воропаева, А.А. Регуляция ремоделирования костной ткани матриксными металлопротеазами [Текст] / А.А. Воропаева, О.В. Фаламеева, М.А. Садовой // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. - № 11. – С. 45-49.
8. Головач, И.Ю. Бисфосфонаты: вопросы длительности терапии и доказательства эффективности в реальной клинической практике [Текст] / И.Ю. Головач // Травма. – 2016. – Т. 17, № 4. – С. 29-36.
9. Добровольская, О.В. Инструментальная диагностика остеопороза на современном этапе [Текст] / О. В. Добровольская, Н. В. Торопцова, А. В. Смирнов // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 1, № 12. - С. 11-14.

10. Драпкина, О.М. Плейотропные эффекты витамина D [Текст] / О.М. Драпкина, Р.Н. Шепель // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2016. – № 2. – С. 227-233.
11. Захурдаева, Л.Д. Эстрогены: биологические и фармакологические эффекты [Текст] / Л.Д. Захурдаева // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2010. – № 8. – С. 41-45.
12. Зябліцев, Д.С. Оцінка ризику розвитку постменопаузного остеопорозу: роль поліморфізмів rs1800012 і rs1107946 гена COL1A1 та rs731236 і rs11568820 гена VDR [Текст] / Д.С. Зябліцев, О.С. Ларін // Journal of Education, Health and Sport. – 2015. – Т. 5, № 2. – С. 333-340.
13. Изучение молекулярно-генетических основ развития постменопаузального остеопороза в Волго-Уральском регионе [Текст] / Р.И. Хусаинова [и др.] // Медицинская генетика. – 2009. – № 5. – С. 12-19.
14. Использование лучевых методов в диагностике постменопаузального остеопороза [Текст] / А.С. Шкарабуров [и др.] // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2017. – Т. 2, № 2. – С. 70-76.
15. Казимирко, В.К. Инволюционный остеоартроз и остеопороз [Текст] / В.К. Казимирко, В.Н. Коваленко, В.В. Флегонтова. – Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2011. – 724 с.
16. Камилов, Ф.Х. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляция [Текст] / Ф.Х. Камилов, Е.Р. Фаршатова, Д.А. Еникеев // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7. – С. 836-842.
17. Клинико-прогностическое значение молекулярно-генетических факторов при постменопаузальном остеопорозе [Текст] / С.В. Юренева [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2015. – № 1. – С. 3-6.
18. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых [Текст] / Е.А. Пигарова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2016. – № 4. – С. 60-84.
19. Костив, Р.Е. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение [Текст] / Р.Е. Костив,

С.Г. Калиниченко, Н.Ю. Матвеева // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2017. – № 1. – С. 10-16.

20. Костная денситометрия в клинической практике [Текст] / А.В. Радченко [и др.] // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2015. – № 2. – С. 100-107.

21. Кузнецова, И.В. Сохранение костной ткани у женщин в пери- и постменопаузе: роль гормональной терапии [Текст] / И.В. Кузнецова // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – № 27. – С. 30-36.

22. Лесняк, О.М. Международные научные проекты в области остеопороза: общие усилия, одна цель / О.М. Лесняк // Российский семейный врач. – 2016. – Т. 20, № 2. – С. 43-46.

23. Лечение больных остеопорозом в реальной клинической практике: вопросы диагностики и лечения [Текст] / О.А. Никитинская [и др.] // Лечащий врач. – 2016. – № 12. – С. 31-35.

24. Мальцев, А.В. Молекулярно-генетическое исследование генов-кандидатов постменопаузального остеопороза в Волго-Уральском регионе [Текст] / А.В. Мальцев, Р.И. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова // Вестник Башкирского университета. – 2013. – Т. 18, № 4. – С. 1057-1061.

25. Мальцев, С.В. Витамин D и иммунитет [Текст] / С.В. Мальцев, Н.В. Рылова // Практическая медицина. – 2015. – № 1. – С. 114–120.

26. Мальцев, С.В. Метаболизм витамина D и пути реализации его основных функций [Текст] / С.В. Мальцев, Г.Ш. Мансурова // Практическая медицина. – 2014. – № 9. – С. 12–18.

27. Молекулярно-генетическое тестирование предрасположенности к остеопорозу у женщин в постменопаузе в Москве [Текст] / В.А. Мякоткин [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2011. – Т. 49, № 2. – С. 15-20.

28. Орленко, В.Л. Патогенетическое обоснование применения бисфосфонатов при постменопаузальном остеопорозе [Текст] / В.Л. Орленко // Травма. – 2014. – Т. 15, № 1. – С. 27-35.

29. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) [Текст] /

О.М. Лесняк [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 155-168.

30. От персонализированной к точной медицине [Текст] / К.В. Раскина [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 69-79.

31. Оцінка ефективності та безпечності алендронової кислоти (остемакс) у лікуванні первинного та вторинного остеопорозу / В.В. Поворознюк [и др.] // Український ревматологічний журнал. – 2009. – № 3. – С. 71–79.

32. Персонализированная медицина как обновляемая модель национальной системы здравоохранения. Часть 1. Стратегические аспекты инфраструктуры [Текст] / С.В. Сучков [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 3. – С. 7-17.

33. Пигарова, Е.А. Неклассические эффекты витамина D [Текст] / Е.А. Пигарова, А.А. Петрушкина // Остеопороз и остеопатии. – 2017. – Т. 20, № 3. – С. 90-101.

34. Поворознюк, В.В. Менопауза и остеопороз / В.В. Поворознюк, Н.В. Григорьева. – К.: Экспрес. – 2002. – 356 с.

35. Поворознюк, В.В. Зв'язок між поліморфізмом гена рецептора вітаміну D та структурно-функціонального стану кісткової тканини [Текст] / В.В. Поворознюк, Н.І. Балацька, Ф.В. Климовицький // Вісник ортопедії, травматології та протезування. – 2013. – № 1. – С. 34-37.

36. Поворознюк, В.В. Качество жизни и вертебральный болевой синдром у женщин старших возрастных групп с низкими показателями минеральной плотности костной ткани [Текст] / В.В. Поворознюк, Т.В. Орлик // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1. – С. 89-93.

37. Поиск генетических маркеров, определяющих эффективность терапии бисфосфонатами у российских женщин с постменопаузальным остеопорозом: пилотное исследование [Текст] / М.Ю. Крылов [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2016. – Т. 54, № 4. – С. 412-417.

38. Родионова, С.С. Болевой синдром при переломах тел позвонков, осложняющих течение системного остеопороза [Текст] / С.С. Родионова, Л.Ю. Дарчия, У.Р. Хакимов // Остеопороз и остеопатии. – 2017. – Т. 20, № 1. – С. 22-25.

39. Роль и место препаратов кальция и витамина D для профилактики и лечения остеопороза / А.С. Луценко [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2017. – Т. 20, № 2. – С. 69-75.

40. Роль тестостерона в женском организме. Общая и возрастная эндокринология тестостерона у женщин [Текст] / С.Ю. Калинин [и др.] // Человек и лекарство – Казахстан. Эндокринология. Тиреодология. – 2017. – Т. 14, № 92. – С. 97-103.

41. Скворцов, В.В. Применение бисфосфонатов в лечении системного остеопороза [Текст] / В.В. Скворцов, А.В. Тумаренко // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 1, № 10. – С. 10-12.

42. Снопов, С.А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему [Текст] / С.А. Снопов // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 16, № 6. – С. 499-530.

43. Стронция ранелат в лечении постменопаузального остеопороза: эффект влияния полиморфизмов генов рецептора витамина D и моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 на минеральную плотность кости (пилотное исследование) [Текст] / М.Ю. Крылов [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2017. – Т. 55, № 3. – С. 267-271.

44. Тарнавская, Т.С. Остеопороз: патогенез, диагностика, клиника, лечение [Текст] / Т.С. Тарнавская, Э.Н. Оттева // Здоровоохранение Дальнего Востока. – 2016. – № 4. – С. 104-108.

45. Участие активного метаболита витамина D в качестве иммуномодулятора гуморального и клеточного иммунного ответа [Текст] / Н.Л. Иванцова [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20, № 3. – С. 152-158.

46. Фармакогенетика бисфосфонатов в лечении постменопаузального остеопороза. Обзор литературы [Текст] / А.И. Монахова [и др.] // Лечебное дело. – 2013. – № 3. – С. 53-58.

47. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза [Текст] / Г.А. Мельниченко [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 6. – С. 392-426.

48. Физиологическая потребность и эффективные дозы витамина D для коррекции его дефицита. Современное состояние проблемы [Текст] / В.М. Коденцова [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 47-62.

49. Фомина, Л.А. Гендерные аспекты остеопороза и их связь с кальциевым балансом [Текст] / Л.А. Фомина, И.А. Зябрева // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т. 98, № 3. – С. 343-348.

50. Хусаинова, Р. И. Молекулярно-генетические основы остеопороза [Текст] / Р.И. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова // Биомика. – 2014. – Т. 6, № 1. – С. 24-51.

51. Шевцова, В.В. Применение бисфосфонатов в практике врача с точки зрения доказательной медицины [Текст] / В.В. Шевцова // Охрана материнства и детства. – 2017. – Т. 30, № 2. – С. 62-66.

52. A polymorphism at the translation start site of the vitamin D receptor gene is associated with the response to anti-osteoporotic therapy in postmenopausal women from southern Italy [Text] / V. Conti [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2015. – Vol. 16, № 3. – P. 5452-5466.

53. Adams, J.S., Hewison M. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity [Text] / J.S. Adams, M. Hewison // Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 4, № 2. – P. 80-90.

54. Albright, F. Postmenopausal osteoporosis [Text] / F. Albright, E. Bloomberg, P.H. Smith // Trans. Assoc. Am. Physicians. – 1940. – Vol. 55. – P. 298–305.

55. American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of

postmenopausal osteoporosis – 2016 [Text] / P.M. Camacho [et al.] // Endocr. Pract. – 2016. – Vol. 22. – P. 1-42.

56. Anemia as a risk factor for low bone mineral density in postmenopausal Turkish women [Text] / U. Korkmaz [et al.] // Eur. J. Intern. Med. – 2012. – Vol. 23, № 2. – P. 154-158.

57. Appelman-Dijkstra, N.M. Modulating Bone Resorption and Bone Formation in Opposite Directions in the Treatment of Postmenopausal Osteoporosis [Text] / N.M. Appelman-Dijkstra, S.E. Papapoulos // Drugs. – 2015. – Vol. 75, № 10. –P. 1049-1058.

58. Are bone mineral density loci associated with hip osteoporotic fractures? A validation study on previously reported genome-wide association loci in a Chinese population [Text] / Y. Guo [et al.] // Genet. Mol. Res. – 2012. – Vol. 11, № 1. – P. 202-210.

59. Asada, N. Communication of bone cells with hematopoiesis, immunity and energy metabolism [Electronic Resource] / N. Asada, M. Sato, Y. Katayama // Bonekey Rep. – 2015. – Vol. 4. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26512322>.

60. Assessment of differences in nutrients consumption in women diagnosed with osteoporosis as compared to a healthy control group [Text] / A. Wawrzyniak [et al.] // Roczn. Panstw. Zakl. Hig. – 2017. – Vol. 68, № 2. – P. 143-149.

61. Assessment of vitamin D status - a changing landscape [Text] / M. Herrmann [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med. – 2017. – Vol. 55, № 1. – P. 3-26.

62. Association analysis of the COL1A1 polymorphism with bone mineral density and prevalent fractures in Polish postmenopausal women with osteoporosis [Text] / J. Dytfeld [et al.] // Arch. Med. Sci. – 2016. – Vol. 12, № 2. – P. 288-294.

63. Association Between Geranylgeranyl Pyrophosphate Synthase Gene Polymorphisms and Bone Phenotypes and Response to Alendronate Treatment in Chinese Osteoporotic Women [Text] / L.W. Han [et al.] // Chin. Med. Sci. J. – 2016. – Vol. 31. № 1. – P. 8-16.

64. Association between interleukin-6 gene polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis [Text] / Z. Wang [et al.] // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. – 2013. – Vol. 17, № 12. – P. 898-909.

65. Association between mean platelet volume and bone mineral density in postmenopausal women [Text] / C. Aypak [et al.] // J. Phys. Ther. Sci. – 2016. – Vol. 28, № 6. – P. 1753-1758.

66. Association between osteoporosis and polymorphisms of the bone Gla protein, estrogen receptor 1, collagen 1-A1 and calcitonin receptor genes in Turkish postmenopausal women [Text] / S. Tural [et al.] // Gene. – 2013. – Vol. 515, № 1. – P. 167-172.

67. Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women [Text] / J.G. Kim [et al.] // Menopause. – 2007. – Vol. 14, № 5. – P. 913-918.

68. Association between the A1330V polymorphism of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene and bone mineral density: a meta-analysis [Text] / Y.H. Lee [et al.] // Rheumatol. Int. – 2009. – Vol. 29, № 5. – P. 539-544.

69. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in Chinese women [Text] / Y. Li [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, № 5. – P. 5709-5717.

70. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms (Fok1 and Bsm1) and osteoporosis: a systematic review [Electronic Resource] / Z. Mohammadi [et al.] // J. Diabetes Metab. Disord. – 2014. – Vol. 13. Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4215021/>

71. Association between vitamin D receptor polymorphisms and osteoporosis in patients with COPD [Text] / S.W. Kim [et al.] // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. – 2015. – Vol. 10. – P. 1809-1817.

72. Association of COL1A1 polymorphisms with osteoporosis: a meta-analysis of clinical studies [Text] / P. Xie [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, № 9. – P. 14764-14781.

73. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density / Y. Ni [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Metabolism.* – 2014. – Vol. 32, № 2. – P. 167-173.

74. Association of JAG1 with bone mineral density and osteoporotic fractures: a genome-wide association study and follow-up replication studies [Text] / A.W. Kung [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2010. – Vol. 86, № 2. – P. 229-239.

75. Association of LRP5 Ala1330Val polymorphism with fracture risk: a meta-analysis [Text] / J. Peng [et al.] // *Genetics and Molecular Research.* – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. 1-8.

76. Association of LRP5 genotypes with osteoporosis in Tunisian postmenopausal women [Electronic Resource] / R. Sassi [et al.] // *BMC Musculoskelet. Disord.* – 2014. – Vol. 15, № 1. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4012028/>

77. Associations of Serum Osteocalcin and Polymorphisms of the Osteocalcin Gene with Bone Mineral Density in Postmenopausal and Elderly Chinese Women [Text] / X.Y. Zhang [et al.] // *J. Nutrigenet. Nutrigenomics.* – 2016. – Vol. 9, № 5-6. – P. 231-242.

78. Association of Serum Osteoprotegerin Levels with Bone Loss in Chronic Kidney Disease: Insights from the KNOW-CKD Study [Electronic Resource] / C.S. Kim [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5113973/>

79. Association of the A1330V and V667M polymorphisms of LRP5 with bone mineral density in Greek peri- and postmenopausal women [Text] / A.E. Markatseli [et al.] // *Maturitas.* – 2011. – Vol. 70, № 2. – P. 188-193.

80. Association of the COL1A1 gene polymorphisms in Mexican postmenopausal women with fracture or with low bone mineral density at the hip [Text]

/ E. Falcón-Ramírez [et al.] // Aging Clin. Exp. Res. – 2016. – Vol. 28, № 3. – P. 567-571.

81. Association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with risk of osteoporosis: a meta-analysis of 41 studies [Text] / G. Qin [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2013. – Vol. 40, № 1. – P. 497-506.

82. Association of vitamin D-related gene polymorphisms with manifestation of vitamin D deficiency in children [Text] / S. Kitanaka [et al.] // Endocrine Journal. – 2012. – Vol. 59, № 11. – P. 1007-1014.

83. Association Study of Bone Mineral Density in an Iranian Population [Electronic Resource] / S.A. Dastgheib [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2016. – Vol. 7. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5081477/>

84. Asthma and Allergy "Epidemic" and the Role of Vitamin D Deficiency [Text] / K. Douros [et al.] // Adv. Exp. Med. Biol. – 2017. – Vol. 996. – P. 169-183.

85. ASTHMA - comparing the impact of vitamin D versus UVR on clinical and immune parameters [Text] / K.A. Morgan [et al.] // Photochem. Photobiol. Sci. – 2017. – Vol. 16, № 3. – P. 399-410.

86. Beta-Catenin in dendritic cells exerts opposite functions in cross-priming and maintenance of CD8⁺ T cells through regulation of IL-10 [Text] / C. Fu [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – Vol. 112. – P. 2823-2828.

87. Bijelic, R. Risk Factors for Osteoporosis in Postmenopausal Women [Text] / R. Bijelic, S. Milicevic, J. Balaban // Med. Arch. – 2017 – Vol. 71, № 1. – P. 25-28.

88. Bikle, D.D. Current Controversies: Are Free Vitamin Metabolite Levels a More Accurate Assessment of Vitamin D Status than Total Levels? [Text] / D.D. Bikle, S. Malmstroem, J. Schwartz // Endocrinol. Metab. Clin. North. Am. – 2017. – Vol. 46, № 4. – P. 901-918.

89. Bikle, D.D. Vitamin D and bone [Text] / D.D. Bikle // Curr. Osteoporos. Rep. – 2012. – Vol. 10, № 2. – P. 151–159.

90. Bikle, D.D. Vitamin D Assays [Text] / D.D. Bikle // Front. Horm. Res. – 2018. – Vol. 50. – P. 14-30.

91. Bisphosphonates for cancer treatment: Mechanisms of action and lessons from clinical trials [Text] / H.H. Van Acker [et al.] // *Pharmacol. Ther.* – 2016. – Vol. 158. – P. 24-40.
92. Biswas, P. 1 α ,25(OH) $_2$ vitamin D $_3$ induction of ATP secretion in osteoblasts [Text] / P. Biswas, L.P. Zanello // *J. Bone Miner. Res.* – 2009. – Vol. 24, № 8. – P. 1450-1460.
93. Blomberg, J.M. Vitamin D metabolism, sex hormones, and male reproductive function [Text] / J.M. Blomberg // *Reproduction.* – 2012. – Vol. 144, № 2. – P. 135-152.
94. Bonds, R.S. Estrogen effects in allergy and asthma [Text] / R.S. Bonds, T. Midoro-Horiuti // *Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol.* – 2013. – №1. – P. 92-99.
95. Bone fractures after menopause [Text] / D.H. Barlow [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2010. – № 6. – P. 761-773.
96. Boudin, E. Mechanisms in endocrinology: Genetics of human bone formation [Text] / E. Boudin, W. Van Hul // *Eur. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 177, № 2. – P. 69-83.
97. Cagnetta, V. The role of the immune system in the physiopathology of osteoporosis [Text] / V. Cagnetta, V. Patella // *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* – 2012. – Vol. 9, № 2. – P. 85-88.
98. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D [Text] / R.P. Heaney [et al.] // *J. Am. Coll. Nutr.* – 2003. – Vol. 22, № 2. – P. 142-146.
99. Canalis, E. Management of endocrine disease: Novel anabolic treatments for osteoporosis [Text] / E. Canalis // *Eur. J. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 178, № 2. – P. 33-44.
100. Cannell, J.J. Vitamin D and inflammation [Electronic Resource] / J.J. Cannell, W.B. Grant, M.F. Holick // *Dermatoendocrinol.* – 2015. – Vol. 6, № 1. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4580066/>

101. Canonical WNT signaling in dendritic cells regulates Th1/Th17 responses and suppresses autoimmune neuroinflammation [Text] / A. Suryawanshi [et al.] // J. Immunol. 2015. – Vol. 194. – P. 3295-3304.

102. Centrella, M. Estrogen receptor dependent gene expression by osteoblasts - direct, indirect, circumspect, and speculative effects [Text] / M. Centrella, T.L. McCarthy // Steroids. – 2012. – № 3. – P. 174-184.

103. Changes of serum cytokines-related Th1/Th2/Th17 concentration in patients with postmenopausal osteoporosis [Text] / J. Zhang [et al.] // Gynecol. Endocrinol. – 2015. – Vol. 31, № 3. – P. 183-190.

104. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis [Text] / F. Cosman [et al.] // Osteoporos. Int. – 2014. – Vol. 25, № 10. – P. 2359-2381.

105. COL1A1 gene -1997G/T polymorphism and risk of osteoporosis in postmenopausal women: a meta-analysis [Text] / K.H. Yu [et al.] // Genetics and molecular research. – 2015. – Vol. 14, № 3. – P. 10991-10998.

106. Combined effects of collagen type I alpha1 (COL1A1) Sp1 polymorphism and osteoporosis risk factors on bone mineral density in Turkish postmenopausal women [Text] / O. Kurt-Sirin [et al.] // Gene. – 2014. – Vol. 540, № 2. – P. 226-231.

107. Comparative effect of 25(OH)D3 and 1,25(OH)2D3 on Th17 cell differentiation [Text] / L. Fawaz [et al.] // Clin. Immunol. – 2016. – Vol. 166-167. – P. 59-71.

108. Comparative evaluation of serum levels of main minerals and postmenopausal osteoporosis [Text] / E. Okyay [et al.] // Maturitas. – 2013. – Vol. 76, № 4. – P. 320-325.

109. Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis [Text] / L. Tripkovic [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2012. – Vol. 95, № 6. – P. 1357-1364.

110. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin [Text] / N.A. Morrison [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – Vol. 89, № 15. – P. 6665-6669.

111. Correlation between bone mineral density and serum trace elements in response to supervised aerobic training in older adults [Text] / A.H. Alghadir [et al.] // Clin. Interv. Aging. – 2016. – Vol. 11. – P. 265-273.

112. Crosstalk between bone niche and immune system: osteoimmunology signaling as a potential target for cancer treatment [Text] / C. Criscitiello [et al.] // Cancer Treat. Rev. – 2015. – Vol. 41, № 2. – P. 61-68.

113. CYP19 and ESR1 gene polymorphisms: response of the bone mineral density in post-menopausal women to hormonal replacement therapy [Text] / L. Masi [et al.] // Clin. Cases Miner. Bone Metab. – 2014. – Vol. 11, № 1. – P. 36-43.

114. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis [Electronic Resource] / S.M. Jung [et al.] // J. Immunol. Res. – 2014. – Vol. 2014. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4176903/>

115. Cytokine profiles in osteoporosis suggest a proresorptive bias [Text] / F. Azizieh [et al.] // Menopause. – 2017. – Vol. 24, № 9. – P. 1057–1064.

116. D'Amelio, P. The immune system and postmenopausal osteoporosis [Text] / P. D'Amelio // Immunol. Invest. – 2013. – Vol. 42, № 7. – P. 544-554.

117. D'Amelio, P. Osteoimmunology: from mice to humans [Text] / P. D'Amelio, F. Sassi // Bonekey Rep. – 2016. – № 5. – P. 1-6.

118. Dehghan, M. Sp1 binding site polymorphism of a collagen gene (rs1800012) in women aged 45 and over and its association with bone density [Text] / M. Dehghan, R. Pourahmad-Jaktaji // Turk. J. Med. Sci. – 2015. – Vol. 45, № 3. – P. 644-650.

119. Deletion of LRP5 and LRP6 in dendritic cells enhances antitumor immunity [Electronic Resource] / Y. Hong [et al.] // Oncoimmunology. – 2015. – Vol. 5, № 4. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4839371/>

120. Deluca, H.F. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites [Electronic Resource] / H.F. Deluca // Bonekey Rep. – 2014. – Vol.3. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3899558/>

121. Dietary potassium intake is beneficial to bone health in a low calcium intake population: the Korean National Health and Nutrition Examination Survey

(KNHANES) (2008-2011) [Text] / S.H. Kong [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2017. – Vol. 28, № 5. – P. 1577-1585.

122. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes [Text] / D.M. Provvedini [et al.] // *Science.* – 1983. – Vol. 221, № 4616. – P. 1181-1183.

123. Dubrovsky, A.M. Osteoporosis in Rheumatic Diseases: Anti-rheumatic Drugs and the Skeleton [Text] / A.M. Dubrovsky, M.J. Lim, N.E. Lane // *Calcif. Tissue Int.* – 2018. – Vol. 102, № 5. – P. 607-618.

124. Effect of reproductive history, lactation, first pregnancy age and dietary habits on bone mineral density in natural postmenopausal women [Text] / S. Cavkaytar [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.* – 2015. – Vol. 27, № 5. – P. 689-694.

125. Effects of COLIA1 polymorphisms and haplotypes on perimenopausal bone mass, postmenopausal bone loss and fracture risk [Text] / N. Gonzalez-Bofill [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2011. – № 22. – P. 1145–1156.

126. Effects of total bilirubin on the prevalence of osteoporosis in postmenopausal women without potential liver disease [Text] / L.Q. Bian [et al.] // *J. Bone Miner. Metab.* – 2013. – Vol. 31, № 6. – P. 637-643.

127. Epidemiology of fracture in the Russian Federation and the development of a FRAX model [Text] / O. Lesnyak [et al.] // *Arch. Osteoporos.* – 2012. – Vol. 7, № 1-2. – P. 67-73.

128. ER α signaling regulates MMP3 expression to induce FasL cleavage and osteoclast apoptosis [Text] / A.J. Garcia [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2013. – № 2. – P. 283-290.

129. Erben, R.G. Physiological Actions of Fibroblast Growth Factor-23 [Electronic Resource] / R.G. Erben // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2018. – Vol. 9. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5985418/>

130. Estradiol and Progesterone Strongly Inhibit the Innate Immune Response of Mononuclear Cells in Newborns [Text] / E. Giannoni [et al.] // *Infect. Immun.* – 2011. – № 7. – P. 2690-2698.

131. Estrogen, Angiogenesis, Immunity and Cell Metabolism: Solving the Puzzle [Electronic Resource] / A. Trenti [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, № 3. Режим доступа: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/3/859>

132. Estrogen deficiency induces the differentiation of IL-17 secreting Th17 cells: a new candidate in the pathogenesis of osteoporosis [Electronic Resource] / A.M. Tyagi [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, № 9. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3438183/>

133. Estrogen Hormone Biology [Text] / K.J. Hamilton [et al.] // Curr. Top. Dev. Biol. – 2017. – Vol. 125. – P. 109-146.

134. Estrogen Receptors α and β Are Differentially Expressed in Developing Human Bone [Text] / S. Bord [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – № 5. – P. 2309-2314.

135. Estrogen receptor α (ESR1) IVS1-397T>C polymorphism lowers risk of fracture [Text] / J. Wang [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2015. – Vol. 8, № 8. – P. 12696–12705.

136. Estrogen Receptors in Cell Membranes: Regulation and Signaling [Text] / J. Saczko [et al.] // Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol. – 2017. – Vol. 227. – P. 93-105.

137. Estrogen regulation of intestinal calcium absorption in the intact and ovariectomized adult rat [Text] / M. Ten Bolscher [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 1999. – Vol. 14, № 7. – P. 1197-1202.

138. Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology [Text] / M. Almeida [et al.] // Physiol. Rev. – 2017. – Vol. 97, № 1. – P. 135-187.

139. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women [Text] / J.A. Kanis [et al.] // Osteoporos. Int. – 2013. – Vol. 24, № 1. – P. 23-57.

140. Evolution of ER α and VDR gene polymorphisms in relation to bone mineral density in Turkish postmenopausal women [Text] / O. Kurt [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, № 6. – P. 6723-6730.

141. Evolution of Genetic Techniques: Past, Present, and Beyond [Electronic Resource] / A.A. Durmaz [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2015. – 2015. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4385642/>

142. Evolution of thyroid function status among postmenopausal women with and without osteoporosis [Text] / B. Acar [et al.] // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2016. – Vol. 134, № 1. – P. 53-57.

143. Expression quantitative trait locus study of bone mineral density GWAS variants in human osteoclasts [Text] / B.H. Mullin [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 2018. – Vol. 33, № 6. – P. 1044-1051.

144. Factor analysis of biochemical markers associated with bone mineral density in adults [Text] / J.H. Cho [et al.] // J. Phys. Ther. Sci. – 2014. – Vol. 26, № 8. – P. 1225-1229.

145. Feng, X. Disorders of bone remodeling [Text] / X. Feng, J.M. McDonald // Annu. Rev. Pathol. – 2011. – № 6. – P. 121-145.

146. Fleet, J.C. The role of vitamin D in the endocrinology controlling calcium homeostasis [Text] / J.C. Fleet // Mol. Cell. Endocrinol. – 2017. – Vol. 453. – P. 36-45.

147. Fontenot, H.B. Pharmacologic management of osteoporosis [Text] / H.B. Fontenot, A.L. Harris // J. Obstet. Gynecol. Neonatal. Nurs. – 2014. – Vol. 43, № 2. – P. 236-245.

148. Gene-based association analysis identified novel genes associated with bone mineral density [Electronic Resource] / X.B. Mo [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 3. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4374695/>

149. Genetic analyses in a sample of individuals with high or low BMD shows association with multiple Wnt pathway genes [Text] / A.M. Sims [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 2008. – Vol. 23, № 4. – P. 499-506.

150. Genetic analyses of the relationship between bone mineral density and low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene polymorphisms [Electronic Resource] / J. Yi [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 12. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3871666/>

151. Genetic and environmental factors in human osteoporosis [Text] / H. Özbaş [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, № 12. – P. 11289-11296.
152. Genetic variants and non-genetic factors predict circulating vitamin D levels in Hispanic and non-Hispanic White women: the Breast Cancer Health Disparities Study [Text] / W. Wang [et al.] // International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 31-46.
153. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation [Text] / W.F. Li [et al.] // Hum. Genet. – 2010. – Vol. 127, № 3. – P. 249-285.
154. Genome-wide approaches for identifying genetic risk factors for osteoporosis [Electronic Resource] / S. Wu [et al.] // Genome Med. – 2013. – Vol. 5, № 5. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706967/>
155. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 [Text] / G.K. Whitfield [et al.] // J. Nutr. – 1995. – Vol. 125. – P. 1690-1694.
156. Genomic and metabolomic patterns segregate with responses to calcium and vitamin D supplementation [Text] / M.O. Elnenaï [et al.] // Br. J. Nutr. – 2011. – Vol. 105, № 1. – P. 71-79.
157. Geusens, P. Osteoimmunology and osteoporosis [Electronic Resource] / P. Geusens, W.F. Lems // Arthritis Res. Ther. – 2011. – Vol. 13, №5. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3308061/>
158. Ginaldi, L. Osteoimmunology and Beyond [Text] / L. Ginaldi, M. De Martinis // Curr. Med. Chem. – 2016. – Vol. 23, № 33. – P. 3754-3774.
159. Grant, W.B. A Review of the Evidence Supporting the Vitamin D-Cancer Prevention Hypothesis in 2017 [Text] / W.B. Grant // Anticancer Res. – 2018. – Vol. 38, № 2. – P. 1121-1136.
160. Health Risks of Hypovitaminosis D: A Review of New Molecular Insights [Electronic Resource] / D. Caccamo [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, № 3. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5877753/>

161. Hernigou, P. Vitamin D: part I; from plankton and calcified skeletons (500 million years ago) to rickets [Text] / P. Hernigou, J.C. Auregan, A. Dubory // *Int. Orthop.* – 2018. – № 3. – P. 1-17.

162. Holick, M.F. Vitamin D Deficiency [Text] / M.F. Holick // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 357. – P. 266-281.

163. Holick, M.F. Ultraviolet B Radiation: The Vitamin D Connection [Text] / M.F. Holick // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 996. – P. 137-154.

164. Hsu, Y.H. Clinical review: Genome-wide association studies of skeletal phenotypes: what we have learned and where we are headed [Text] / Y.H. Hsu, D.P. Kiel // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97, № 10. – P. 1958-1977.

165. Huang, C. Association of blood neutrophil lymphocyte ratio in the patients with postmenopausal osteoporosis [Text] / C. Huang, S. Li // *Pak. J. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 32, № 3. – P. 762-765.

166. IL-1RI participates in normal growth plate development and bone modeling [Text] / S. Simsa-Maziel [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2013. – № 1. – P. 15-21.

167. Impact of genetic variants of IL-6, IL6R, LRP5, ESR1 and SP7 genes on bone mineral density in postmenopausal Mexican-Mestizo women with obesity [Text] / J.P. Méndez [et al.] // *Gene.* – 2013. – Vol. 528, № 2. – P. 216-220.

168. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality [Text] / H. Dobnig [et al.] // *Archives of Internal Medicine.* – 2008. – Vol. 168, № 12. – P. 1340-1349.

169. JAG1 and COL1A1 polymorphisms and haplotypes in relation to bone mineral density variations in postmenopausal Mexican-Mestizo Women [Text] / D. Rojano-Mejía [et al.] // *Age (Dordr.).* – 2013. – Vol. 35, № 2. – P. 471-478.

170. Jean, G. Vitamin D in Chronic Kidney Disease and Dialysis Patients [Electronic Resource] / G. Jean, J.C. Souberbielle, C. Chazot // *Nutrients.* – 2017. – Vol. 9, № 4. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5409667/>

171. Jin, Z. Minireview: nuclear receptor regulation of osteoclast and bone remodeling [Text] / Z. Jin, X. Li, Y. Wan // *Mol. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 29, № 2. – P. 172-186.

172. Johnson, M.L. How genomics has informed our understanding of the pathogenesis of osteoporosis [Electronic Resource] / M.L. Johnson, N. Lara, M.A. Kamel // *Genome Med.* – 2009. – Vol. 1, № 9. Режим доступа: <https://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/gm84>

173. Kamen, D.K. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity [Text] / D.K. Kamen, V. Tangpricha // *J. Mol. Med. (Berl).* – 2010. – Vol. 88, № 5. – P. 441-450.

174. Karner, C.M. Glucose metabolism in bone [Electronic Resource] / C.M. Karner, F. Long // *Bone.* – 2017. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6030501/>

175. Kanazawa, I. Interaction between bone and glucose metabolism [Text] / I. Kanazawa // *Endocr. J.* – 2017. – Vol. 64, № 11. – P. 1043-1053.

176. Kassem, H.S. Molecular genetics made simple [Electronic Resource] / H.S. Kassem, F. Girolami, D. Sanoudou // *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* – 2012. – Vol. 2012, № 1. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4239820/>

177. Khalid, A.B. Estrogen receptors alpha and beta in bone [Text] / A.B. Khalid, S.A. Krum // *Bone.* – 2016. – Vol. 87. – P. 130-135.

178. Kondoh, S. Estrogen actions on osteocytes / S. Kondoh, Y. Imai // *Clin. Calcium.* – 2012. – № 5. – P. 721-726.

179. Koseoglu, S.B. Bone loss & platelet-to-lymphocyte ratio [Text] / S.B. Koseoglu // *Biomark. Med.* – 2017. – Vol. 11, № 1. – P. 5-10.

180. Kovats, S. Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways [Text] / S. Kovats // *Cell. Immunol.* – 2015. – Vol. 294, № 2. – P. 63-69.

181. Krum, S.A. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone [Text] / S.A. Krum // *J. Cell. Biochem.* – 2011. – № 2. – P. 401-408.

182. Kuroda, Y. Molecular mechanisms of triggering, amplifying and targeting RANK signaling in osteoclasts [Text] / Y. Kuroda, K. Matsuo // World J. Orthop. – 2012. – № 11. – P. 167-174.

183. Lang, P.O. Vitamin D Status and the Host Resistance to Infections: What It Is Currently (Not) Understood [Text] / P.O. Lang, R. Aspinall // Clin. Ther. – 2017. – Vol. 39, № 5. – P. 930-945.

184. Lerner, U.H. The WNT system: background and its role in bone [Text] / U.H. Lerner, C. Ohlsson // J. Intern. Med. – 2015. – Vol. 277, № 6. – P. 630-649.

185. Levin, V.A. Estrogen therapy for osteoporosis in the modern era [Text] / V.A. Levin, X. Jiang, R. Kagan // Osteoporos. Int. – 2018. – Vol. 29, № 5. – P. 1049-1055.

186. López-Delgado, L. Genetic and acquired factors influencing the effectiveness and toxicity of drug therapy in osteoporosis [Text] / L. López-Delgado, L. Riancho-Zarrabeitia, J.A. Riancho // Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol. – 2016. – Vol. 12, № 4. – P. 389-398.

187. Loss of ERE binding activity by estrogen receptor-alpha alters basal and estrogen-stimulated bone-related gene expression by osteoblastic cells [Text] / V. Rudnik [et al.] // J. Cell. Biochem. – 2008. – № 3. – P. 896-907.

188. Low androstenedione/sex hormone binding globulin ratio increases fracture risk in postmenopausal women. The Women's Health in the Lund Area study [Text] / L. Moberg [et al.] // Maturitas. – 2013. – Vol. 75, № 3. – P. 270-275.

189. Low serum levels of zinc, copper, and iron as risk factors for osteoporosis: a meta-analysis [Text] / J. Zheng [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2014. – Vol. 160, № 1. – P. 15-23.

190. LRP5 gene polymorphism and cortical bone [Text] / F. Lauretani [et al.] // Aging Clinical And Experimental Research. – 2010. – Vol. 22, № 4. – P. 281-288.

191. LRP5 polymorphisms and response to alendronate treatment in Chinese postmenopausal women with osteoporosis [Text] / P.R. Zhou [et al.] // Pharmacogenomics. – 2014. – Vol. 15, № 6. – P. 821-831.

192. Mahdavi-Roshan, M. Copper, magnesium, zinc and calcium status in osteopenic and osteoporotic post-menopausal women [Text] / M. Mahdavi-Roshan, M. Ebrahimi, A. Ebrahimi // *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 18-21.

193. Marini, F. Pharmacogenetics of osteoporosis [Text] / F. Marini, M.L. Brandi // *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 28, № 6. – P. 783-793.

194. Mauvais-Jarvis, F. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis [Text] / F. Mauvais-Jarvis, D.J. Clegg, A.L. Hevener // *Endocr. Rev.* – 2013. – № 34. – P. 309-338.

195. Mencej-Bedrač, S. TNFRSF11B gene polymorphisms 1181G>C and 245T>G as well as haplotype CT influence bone mineral density in postmenopausal women [Text] / S. Mencej-Bedrač, J. Preželj, J. Marc // *Maturitas.* – 2011. – Vol. 69 № 3. – P. 263-267.

196. Meta-analysis of genome-wide scans for total body BMD in children and adults reveals allelic heterogeneity and age-specific effects at the WNT16 locus [Electronic Resource] / C. Medina-Gomez [et al.] // *PLoS Genet.* – 2012. – Vol. 8, № 7. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3390371/>

197. Metabolism of 25-hydroxyvitamin D3 by cultured pulmonary alveolar macrophages in sarcoidosis [Text] / J.S. Adams [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1983. – Vol. 72, № 5. – P. 1856-1860.

198. Michalski, M.N. Macrophages and skeletal health [Text] / M.N. Michalski, L.K. McCauley // *Pharmacol. Ther.* – 2017. – Vol. 174. – P. 43-54.

199. Michou, L. Epigenetics of bone diseases [Electronic Resource] / L. Michou // *Joint Bone Spine.* – 2017. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Michou+2017+Epigenetics+of+bone+diseases>

200. Min, B. Effects of Vitamin D on Blood Pressure and Endothelial Function [Text] / B. Min // *Korean. J. Physiol. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 17, № 5. – P. 385–392.

201. Missense polymorphisms of the WNT16 gene are associated with bone mass, hip geometry and fractures [Text] / C. García-Ibarbia [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2013. – Vol. 24, № 9. – P. 2449-2454.

202. Molecular mechanisms of vitamin D action [Text] / M.R. Haussler [et al.] // *Calcif. Tissue Int.* – 2013. – Vol. 92, № 2. – P. 77-98.

203. Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update [Text] / Y.Z. Liu [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 177, № 2. – P. 147-196.

204. Mori, S. Genome-wide association study for Osteoporosis [Text] / S. Mori // *Clin. Calcium.* – 2016. – Vol. 26, № 4. – P. 537-543.

205. Moukayed, M. The roles of UVB and vitamin D in reducing risk of cancer incidence and mortality: A review of the epidemiology, clinical trials, and mechanisms [Text] / M. Moukayed, W.B. Grant // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2017. – Vol. 18, № 2. – P. 167-182.

206. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures [Text] / U. Styrkarsdottir [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358, № 22. – P. 2355–2365.

207. Mutations in WNT1 are a cause of osteogenesis imperfecta [Text] / S. Fahiminiya [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2013. – Vol. 50, № 5. – P. 345-348.

208. Nagy, V. The RANKL-RANK Story [Text] / V. Nagy, J.M. Penninger // *Gerontology.* – 2015. – Vol. 61, № 6. – P. 534-542.

209. Neutrophil-lymphocyte ratio may be superior to C-reactive protein for predicting the occurrence of postmenopausal osteoporosis [Text] / H. Yilmaz [et al.] // *Endocr. Regul.* – 2014. – Vol. 48, № 1. – P. 25-33.

210. New horizons in treatment of osteoporosis [Electronic Resource] / O. Tabatabaei-Malazy [et al.] // *Daru.* - 2017 - Vol. 25, № 1. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5297185/>

211. New strategies for the prevention and treatment of systemic and local bone loss; from pathophysiology to clinical application [Text] / A. Fassio [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2017. – Vol. 23, № 41. – P. 6241-6250.

212. NF- κ B-Mediated Regulation of Osteoclastogenesis [Text] / B.F. Boyce [et al.] // *Endocrinol. Metab. (Seoul).* – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 35-44.

213. Ng, K.W. Potential role of odanacatib in the treatment of osteoporosis [Text] / K.W. Ng // Clin. Interv. Aging. – 2012. – № 7. – P. 235-247.

214. Nordin, B.E. Evolution of the calcium paradigm: the relation between vitamin D, serum calcium and calcium absorption [Text] / B.E. Nordin // Nutrients. – 2010. – Vol. 2, № 9. – P. 997-1004.

215. Nuclear Receptors in Bone Physiology and Diseases [Text] / Y. Imai [et al.] // Physiol. Rev. – 2013. – № 2. – P. 481-523.

216. Oh, Y.H. Association between Hemoglobin Level and Bone Mineral Density in Korean Adults [Text] / Y.H. Oh, J.H. Moon, B. Cho // J. Bone Metab. – 2017. – Vol. 24, № 3. – P. 161-173.

217. Ono, T. Recent advances in osteoclast biology [Text] / T. Ono, T. Nakashima // Histochem. Cell. Biol. – 2018. – Vol. 149, № 4. – P. 325-341.

218. OPG, RANKL, and RANK gene polymorphisms and the bone mineral density response to alendronate therapy in postmenopausal Chinese women with osteoporosis or osteopenia [Text] / H. Zheng [et al.] // Pharmacogenet. Genomics. – 2016. – Vol. 26, № 1. – P. 12-19.

219. Osteoimmunology' Offers New Perspectives for the Treatment of Pathological Bone Loss [Text] / H. Liu [et al.] // Curr. Pharm. Des. – 2017. – Vol. 23, № 41. – P. 6272-6278.

220. Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying the Immune and Skeletal Systems [Text] / K. Okamoto [et al.] // Physiol. Rev. – 2017. – Vol. 97, № 4. – P. 1295-1349.

221. Osteoimmunology: The Nexus between bone and immune system [Text] / H.Y. Dar [et al.] // Front. Biosci. (Landmark Ed.). – 2018. – Vol. 23. – P. 464-492.

222. Osteoporosis and polymorphisms of osteoprotegerin gene in postmenopausal women – a pilot study [Text] / S. Cvijetic [et al.] // Reumatologia. – 2016. – Vol. 54 № 1. – P. 10-13.

223. Osteoporosis: the current status of mesenchymal stem cell-based therapy [Electronic Resource] / J. Phetfong [et al.] // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2016. – Vol. 21. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5414670/>

224. Özbaş, H. Genetic and environmental factors in human osteoporosis [Text] / H. Özbaş, S. Tutgun Onrat, K. Özdamar // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, № 12. – P. 11289-11296.

225. Paracrine and endocrine actions of bone-the functions of secretory proteins from osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts [Electronic Resource] / Y. Han [et al.] // Bone Res. – 2018. – Vol. 6. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5967329/>

226. Park, J.H. Current Understanding of RANK Signaling in Osteoclast Differentiation and Maturation [Text] / J.H. Park, N.K. Lee, S.Y. Lee // Mol. Cells. – 2017. – Vol. 40, № 10. – P. 706-713.

227. Park-Min, K.H. Mechanisms involved in normal and pathological osteoclastogenesis [Text] / K.H. Park-Min // Cell. Mol. Life Sci. – 2018. – Vol. 75, № 14. – P. 2519-2528.

228. Polymorphism in vitamin D receptor and osteoprotegerin genes in Egyptian rheumatoid arthritis patients with and without osteoporosis [Text] / Y.M. Hussien [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2013. – Vol. 40, № 5. – P. 3675-3680.

229. Polymorphism of LRP5, but not of TNFRSF11B, is associated with a decrease in bone mineral density in postmenopausal Maya-Mestizo women [Text] / T. Canto-Cetina [et al.] // Am. J. Hum. Biol. – 2013. – Vol. 25, № 6. – P. 713-718.

230. Polymorphism of LRP5 gene and emphysema severity are associated with osteoporosis in Japanese patients with or at risk for COPD [Text] / S. Chubachi [et al.] // Respirology. – 2015. – Vol. 20, № 2. – P. 286-295.

231. Polymorphism of osteoprotegerin gene and osteoporosis in postmenopausal women [Text] / A. Seremak-Mrozikiewicz [et al.] // Ginekol. Pol. – 2009. – Vol. 80, № 5. – P. 354-360.

232. Polymorphisms in genes in the RANKL/RANK/OPG pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in postmenopausal women [Text] / P. Tu [et al.] // Osteoporos. Int. – 2015. – Vol. 26, № 1. – P. 179-185.

233. Polymorphisms in key bone modulator cytokines genes influence bisphosphonates therapy in postmenopausal women [Text] / C.A. Lima [et al.] // *Inflammopharmacology*. – 2017. – Vol. 25, № 2. – P. 191-201.

234. Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies [Text] / H. Jin [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2011. – Vol. 22, № 3. – P. 911-921.

235. Polymorphisms of collagen 1A1 (COL1A1) gene and their relation to bone mineral density in postmenopausal women [Text] / M. Majchrzycki [et al.] // *Ginekologia Polska*. – 2015. – Vol. 86, № 12. – P. 907-914.

236. Positive correlation between circulating cathelicidin antimicrobial peptide (hCAP18/LL-37) and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy adults [Electronic Resource] / B.M. Dixon [et al.] // *BMC Res. Notes*. – 2012. – № 5. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3532295/>

237. Postmenopausal osteoporosis [Text] / R. Eastell [et al.] // *Nat. Rev. Dis. Primers*. – 2016. – Vol. 2. – P. 160-169.

238. Preventable risk factors for osteoporosis in postmenopausal women: Systematic review and meta-analysis [Text] / J. Thulkar [et al.] // *J. Midlife Health*. – 2016. – Vol. 7, № 3. – P. 108-113.

239. Prospective study of serum 25-hydroxyvitamin D level, cardiovascular disease mortality, and all-cause mortality in older U.S. adults [Text] / A.A. Ginde [et al.] // *Journal of the American Geriatrics Society*. – 2009. – Vol. 57, № 9. – P. 1595-1603.

240. Rachner, T.D. Osteoporosis: now and the future [Text] / T.D. Rachner, S. Khosla, L.C. Hofbauer // *Lancet*. – 2011. – № 9. – P. 1276–1287.

241. Rai, V. Role of Vitamin D in Cardiovascular Diseases [Text] / V. Rai, D.K. Agrawal // *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* – 2017. – Vol. 46, № 4. – P. 1039-1059.

242. Raloxifene pharmacodynamics is influenced by genetic variants in the RANKL/RANK/OPG system and in the Wnt signaling pathway [Text] / S. Mencej-Bedrač [et al.] // *Drug. Metabol. Drug. Interact.* – 2014. – Vol. 29, № 2. – P. 111-114.

243. Ralston, S.H. Osteoimmunology [Text] / S.H. Ralston, G. Schett // *Calcif. Tissue Int.* – 2018. – Vol. 102, № 5. – P. 501-502.

244. RANKL and OPG gene polymorphisms: associations with vertebral fractures and bone mineral density in premenopausal systemic lupus erythematosus [Text] / A.C. Bonfá [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2015. – Vol. 26, № 5. – P. 1563-1571.

245. Razzaque, M.S. The FGF23-Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis [Text] / M.S. Razzaque // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 5, № 11. – P. 611-619.

246. Recombinant human bone morphogenetic protein-4 (BMP-4)-stimulated cell differentiation and bone formation within the expanding calvarial suture in rats [Text] / Q. Shen [et al.] // *J. Craniofac. Surg.* – 2009. – № 5. – P. 1561-1565.

247. Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection [Text] / M. Van Abel [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2003. – Vol. 285, № 1. – P. 78–85.

248. Reinwald, S. Review of Nonprimate, Large Animal Models for Osteoporosis Research [Text] / S. Reinwald, D. Burr // *J. Bone Miner. Res.* – 2008. – № 9. – P. 1353-1368.

249. Relationship between bone mineral density and alcohol intake: A nationwide health survey analysis of postmenopausal women [Electronic Resource] / H.D. Jang [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 6. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5491129/>

250. Ring, A. Wnt/catenin signaling in adult stem cell physiology and disease [Text] / A. Ring, Y.M. Kim, M. Kahn // *Stem. Cell. Rev.* – 2014. – Vol. 10, № 4. – P. 512-525.

251. Risk of fracture and low bone mineral density in adults with inflammatory bowel diseases. A systematic literature review with meta-analysis [Electronic Resource] / P. Szafors [et al.] // *Osteoporos Int.* – 2018. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29909470>

252. Robust and comprehensive analysis of 20 osteoporosis candidate genes by very high-density single-nucleotide polymorphism screen among 405 white nuclear

families identified significant association and gene-gene interaction [Text] / D.H. Xiong [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2006. – Vol. 21, № 11. – P. 1678–1695.

253. Rocha-Braz, M.G. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility [Text] / M.G. Rocha-Braz, B. Ferraz-de-Souza // *Arch. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 60, № 4. – P. 391-401.

254. Role of nutritional vitamin D in osteoporosis treatment [Text] / Y.C. Hou [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2018. – Vol. 484. – P. 179-191.

255. Sabik, O.L. Using GWAS to identify novel therapeutic targets for osteoporosis [Text] / O.L. Sabik, C.R. Farber // *Transl. Res.* – 2017. – Vol. 181. – P. 15-26.

256. Serum osteopontin levels in relation to bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women [Text] / Q.S. Wei [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2016. – Vol. 76, № 1. – P. 33-39.

257. Serum serotonin concentration associated with bone mineral density in Chinese postmenopausal women [Text] / Q.S. Wei [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2017. – Vol. 77, № 1. – P. 40-44.

258. Serum vitamin D metabolites and intestinal calcium absorption efficiency in women [Text] / J.F. Aloia [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2010. – Vol. 92, № 4. – P. 835–840.

259. Shang, M. Association of genetic polymorphisms of RANK, RANKL and OPG with bone mineral density in Chinese peri- and postmenopausal women [Text] / M. Shang, L. Lin, H. Cui [et al.] // *Clin. Biochem.* – 2013. – Vol. 46, № 15. – P. 1493-1501.

260. Sintzel, M.B. Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review [Text] / M.B. Sintzel, M. Rametta, A.T. Reder // *Neurol. Ther.* – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 59-85.

261. SOST polymorphisms and response to alendronate treatment in postmenopausal Chinese women with osteoporosis [Text] / P.R. Zhou [et al.] // *Pharmacogenomics.* – 2015. – Vol. 16, № 10. – P. 1077-1088.

262. Srivastava, R.K. Immunoporosis: Immunology of Osteoporosis-Role of T Cells [Electronic Resource] / R.K. Srivastava, H.Y. Dar, P.K. Mishra // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5895643/>

263. Staal, F.J. Caught in a Wnt storm: Complexities of Wnt signaling in hematopoiesis [Text] / F.J. Staal, A. Chhatta, H. Mikkers // Exp. Hematol. – 2016. – Vol. 44, № 6. – P. 451-457.

264. Strong associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer, and respiratory disease mortality in a large cohort study [Text] / B. Schöttker [et al.] // American Journal of Clinical Nutrition. – 2013. – Vol. 97, № 4. – P. 782-793.

265. Suda, T. Role of vitamin D in bone resorption [Text] / T. Suda, N. Takahashi, E. Abe // J. Cell. Biochem. – 1992. – Vol. 49, № 1. – P. 53-58.

266. Sundaram, M.E. Vitamin D and influenza [Text] / M.E. Sundaram, L.A. Coleman // Adv. Nutr. – 2012. – Vol. 3, № 4. – P. 517-525.

267. Tang, L. Association between estrogen receptor α gene (ESR1) PvuII (C/T) and XbaI (A/G) polymorphisms and hip fracture risk: evidence from a meta-analysis [Electronic Resource] / L. Tang, G.L. Cheng, Z.H. Xu // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 12. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3903335/>

268. Tella, S.H. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis [Text] / S.H. Tella, J.C. Gallagher // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2014. – Vol. 142. – P. 155-170.

269. Terpos, E. Interaction between the skeletal and immune systems in cancer: mechanisms and clinical implications [Text] / E. Terpos, M.A. Dimopoulos // Cancer Immunol. Immunother. – 2011. – № 3. – P. 305-317.

270. The analysis of DKK1 polymorphisms in relation to skeletal phenotypes and bone response to alendronate treatment in Chinese postmenopausal women [Text] / J.Y. Wang [et al.] // Pharmacogenomics. – 2016. – Vol. 17, № 3. – P. 209-217.

271. The association of IL-1beta, IL-2, and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis in postmenopausal women [Text] / B. Czerny [et al.] //

European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology. – 2010. – Vol. 149, № 1. – P. 82-85.

272. The Biological Activities of Vitamin D and Its Receptor in Relation to Calcium and Bone Homeostasis, Cancer, Immune and Cardiovascular Systems, Skin Biology, and Oral Health [Electronic Resource] / R.A.G. Khammissa [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2018. – Vol. 2018. Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/9276380/>

273. The diversity of sex steroid action: regulation of metabolism by estrogen signaling [Text] / M.H. Faulds [et al.] // J. Endocrinol. – 2012. – № 1. – P. 3-12.

274. The effect of estrogen on bone marrow-derived rat mesenchymal stem cell maintenance: inhibiting apoptosis through the expression of Bcl-xL and Bcl-2 [Text] / F. Ayaloglu-Butun [et al.] // Stem. Cell. Rev. – 2012. – № 2. – P. 393-401.

275. The effect of vitamin D receptor BsmI genotype on the response to osteoporosis treatment in postmenopausal women: a pilot study [Text] / M. Creatsa [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Res. – 2011. – Vol. 37, № 10. – P. 1415-22.

276. The epigenetic effects of a high prenatal folate intake in male mouse fetuses exposed in utero to arsenic [Text] / V. Tsang [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2012. – Vol. 264, № 3. – P. 439-450.

277. The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy [Electronic Resource] / A. Iorga [et al.] // Biol. Sex Differ. – 2017. – Vol. 8, № 1. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5655818/>

278. The role of cytokines in postmenopausal osteoporosis [Text] / S.D. Brincat [et al.] // Minerva. Ginecol. – 2014. – Vol. 66, № 4. – P. 391-407.

279. The Role of Skeletal Muscle Estrogen Receptors in Metabolic Homeostasis and Insulin Sensitivity [Text] / A.L. Hevener [et al.] // Adv. Exp. Med. Biol. – 2017. – Vol. 1043. – P. 257-284.

280. The When, What & How of Measuring Vitamin D Metabolism in Clinical Medicine [Electronic Resource] / N.F. Dirks [et al.] // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, № 4. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5946267/>

281. TNFRSF11B gene haplotype and its association with bone mineral density variations in postmenopausal Mexican-Mestizo women [Text] / D. Rojano-Mejía [et al.] // *Maturitas*. – 2012. – Vol. 71, № 1. – P. 49-54.

282. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor [Text] / B.R. Wong [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1997. – № 12. – P. 2075-2080.

283. Transcriptome profiling of estrogen-regulated genes in human primary osteoblasts reveals an osteoblast-specific regulation of the insulin-like growth factor binding protein 4 gene [Text] / S. Denger [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2008. – № 2. – P. 361-379.

284. Two new single-nucleotide polymorphisms in the COL1A1 upstream regulatory region and their relationship to bone mineral density [Text] / N. Garcia-Giralt [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2002. – Vol. 17, № 3. – P. 384-393.

285. Ultrastructural immunocytochemical localization of endogenous 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its receptors in osteoblasts and osteocytes from neonatal mouse and rat calvaria [Text] / G. Boivin [et al.] // *Bone Miner.* – 1987. – Vol. 3, № 2. – P. 125-136.

286. Updating osteoimmunology: regulation of bone cells by innate and adaptive immunity [Text] / M.C. Walsh [et al.] // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2018. – Vol. 14, № 3. – P. 146-156.

287. Urano, T. Genetics of osteoporosis [Text] / T. Urano, S. Inoue // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2014. – Vol. 452, № 2. – P. 287-293.

288. Vitamin D and Chronic Diseases [Text] / H. Wang [et al.] // *Aging Dis.* – 2017. – Vol. 8, № 3. – P. 346-353.

289. Vitamin D and immunity [Electronic Resource] / R.M. Lucas [et al.] // *F1000Prime Rep.* – 2014. – Vol. 6. Режим доступа: <https://f1000.com/prime/reports/pubmed/25580272>

290. Vitamin D and mortality in older men and women [Text] / S. Pilz [et al.] // *Clinical endocrinology (Oxford)*. – 2009. – Vol. 71, № 5. – P. 666-672.

291. Vitamin D and the Immune System from the Nephrologist's Viewpoint [Electronic Resource] / C.L. Lang [et al.] // *ISRN Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2014. Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2014/105456/>
292. Vitamin D and 1,25(OH)₂D regulation of T cells [Text] / M.T. Cantorna [et al.] // *Nutrients.* – 2015. – Vol. 7, № 4. – P. 3011-3021.
293. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular diseases: a narrative review [Electronic Resource] / B. Kheiri [et al.] // *Clin. Hypertens.* – 2018. – Vol. 24. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6013996/>
294. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential [Electronic Resource] / W. Dankers [et al.] // *Front. Immunol.* – 2017. – № 7. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5247472/>
295. Vitamin D in cutaneous carcinogenesis: Part I [Text] / J.Y. Tang [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2012. – Vol. 67, № 5. – P. 803-816.
296. Vitamin D Level Between Calcium-Phosphorus Homeostasis and Immune System: New Perspective in Osteoporosis [Electronic Resource] / D. Bellavia [et al.] // *Curr. Osteoporos. Rep.* – 2016. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27734322>
297. Vitamin D Receptor BsmI Polymorphism and Osteoporosis Risk: A Meta-Analysis from 26 Studies [Text] / F. Jia [et al.] // *Genetic Testing and Molecular Biomarkers.* – 2013. – Vol. 17, № 1. – P. 30-34.
298. Vitamin D receptor BsmI polymorphism and osteoporosis risk in postmenopausal women [Text] / B. Zhao [et al.] // *Arch. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 12, № 1. – P. 25-30.
299. Vitamin D Status and Efficacy of Vitamin D Supplementation in Atopic Dermatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis [Electronic Resource] / M.J. Kim [et al.] // *Nutrients.* – 2016. – Vol. 8, № 12. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5188444/>
300. Wacker, M. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation [Text] / M. Wacker, M.F. Holick // *Nutrients.* – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 111–148.

301. Walsh, M.C. Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond [Electronic Resource] / M.C. Walsh, Y. Choi // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4202272/>

302. Wang, C. Effect of interleukin-6 polymorphism on fracture risk [Text] / Wang C., Ge J., Ni S. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, № 6. – P. 9599-9602.

303. Weitzmann, M.N. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale [Text] / M.N. Weitzmann, R. Pacifici // *J. Clin. Invest.* – 2006. – № 5. – P. 1186-1194.

304. Wend, K. Tissue-Specific Effects of Loss of Estrogen during Menopause and Aging [Electronic Resource] / K. Wend, P. Wend, S.A. Krum // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2012. – Vol. 3. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3356020/>

305. Williams, G. R. Thyroid diseases and bone health [Text] / G.R. Williams, J.H.D. Bassett // *J. Endocrinol. Invest.* – 2018. – Vol. 41, № 1. – P. 99-109.

306. Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease [Text] / Y. Wang [et al.] // *Front. Biosci. (Landmark Ed.)*. – 2014. – Vol. 19. – P. 379-407.

307. Wnt/beta-catenin pathway: modulating anticancer immune response [Electronic Resource] / S.G. Pai [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2017. – Vol. 10, № 1. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5420131/>

308. WNT1 mutations in early-onset osteoporosis and osteogenesis imperfecta [Text] / C.M. Laine [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 368, № 19. – P. 1809-1816.

309. WNT1 mutations in families affected by moderately severe and progressive recessive osteogenesis imperfecta [Text] / S.M. Pyott [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2013. – Vol. 92, № 4. – P. 590-597.

310. WNT16 influences bone mineral density, cortical bone thickness, bone strength, and osteoporotic fracture risk [Electronic Resource] / H.F. Zheng [et al.] // *PLoS Genet.* – 2012. – Vol. 8, № 7. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3390364/>

311. Wnt receptors, bone mass, and fractures: gene-wide association analysis of LRP5 and LRP6 polymorphisms with replication [Text] / J.A. Riancho [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 164, № 1. – P. 123-131.

312. Xu, G.Y. Common polymorphism in the LRP5 gene may increase the risk of bone fracture and osteoporosis [Electronic Resource] / G.Y. Xu, Y. Qiu, H.J. Mao // *BioMed. Research International.* – 2014. – Vol. 2014. Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/290531/>

313. Xue, Y. Intestinal vitamin D receptor is required for normal calcium and bone metabolism in mice [Text] / Y. Xue, J.C. Fleet // *Gastroenterology.* – 2009. – Vol. 136, № 4. – P. 1317–1327.

314. Zhang, L.Q. Relation of JAGGED 1 and collagen type 1 alpha 1 polymorphisms with bone mineral density in Chinese postmenopausal women [Text] / K.Q. Zhang, H. Liu, X.F. Huang // *Int. J. Clin. Exp. Path.* – 2014. – Vol. 7, № 10. – P. 7142-7147.

315. Zhao, R. Immune regulation of osteoclast function in postmenopausal osteoporosis: a critical interdisciplinary perspective [Text] / R. Zhao // *Int. J. Med. Sci.* – 2012. – № 9. – P. 825-832.

316. Zhao, R. Upregulated Cellular Expression of IL-17 by CD4+ T-Cells in Osteoporotic Postmenopausal Women [Text] / R. Zhao, X. Wang, F. Feng // *Ann. Nutr. Metab.* – 2016. – Vol. 68. – P. 113-118.

317. Zuo, H. Nuclear Receptors in Skeletal Homeostasis [Text] / H. Zuo, Y. Wan // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2017. – Vol. 125. – P. 71-107.