

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

На правах рукописи

Немсадзе Илона Гурамовна

**ОПТИМИЗАЦИЯ СХЕМ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕНЩИН С
ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ С УЧЕТОМ
ГОРМОНАЛЬНОГО И ИММУННОГО СТАТУСА**

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук,
доцент Майлян Э.А.
доктор медицинских наук,
профессор Чурилов А.В.,

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

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д01.011.03 Золотухин С.Э.

Донецк – 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Медицинская и социально-экономическая актуальность постменопаузального остеопороза.....	14
1.2. Основные этиопатогенетические факторы постменопаузального остеопороза.....	18
1.2.1. Роль эстрогенов в регуляции метаболизма костной ткани и развитии постменопаузального остеопороза.....	18
1.2.2. Иммунологические аспекты этиопатогенеза постменопаузального остеопороза.....	20
1.2.2.1. Цитокины в регуляции дифференцировки остеобластов.....	23
1.2.2.2. Цитокины в регуляции ремоделирования костной ткани в физиологических условиях.....	25
1.2.2.3. Цитокины и нарушение ремоделирования кости при остеопорозе..	31
1.3. Генетика и фармакогенетика постменопаузального остеопороза.....	39
РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	48
2.1. Характеристика обследованных женщин и дизайн исследования.....	48
2.2. Инструментальные и лабораторные методы исследования.....	53
2.3. Статистические методы исследования.....	57
РАЗДЕЛ 3. АССОЦИАЦИИ ВОЗРАСТНЫХ, КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕНЩИН С ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ АЛЕНДРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ.....	59
РАЗДЕЛ 4. ЭНДОКРИННЫЙ СТАТУС У ЖЕНЩИН С ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ В ДИНАМИКЕ	

ЛЕЧЕНИЯ АЛЕНДРОНАТОМ.....	73
4.1. Показатели гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом до и после 12-ти месячного курса приема алендроновой кислоты.....	73
4.2. Ассоциации уровней гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом в зависимости от генетических полиморфизмов генов <i>ESR1</i> , <i>IL-6</i> , <i>TNFSF11</i> (RANKL) и <i>TNFRSF11B</i> (OPG).....	76
РАЗДЕЛ 5. ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ЖЕНЩИН С ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ АЛЕНДРОНАТОМ.....	91
5.1. Уровни цитокинов в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным остеопорозом до и после 12-ти месячного курса лечения алендронатом.....	91
5.2. Ассоциации генетических полиморфизмов генов <i>ESR1</i> , <i>IL-6</i> , <i>TNFSF11</i> (RANKL) и <i>TNFRSF11B</i> (OPG) с уровнями цитокинов в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным остеопорозом до и после 12-ти месячного курса лечения алендронатом.....	95
РАЗДЕЛ 6. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ СХЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА АЛЕНДРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ.....	109
АНАЛИЗ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	118
ВЫВОДЫ.....	130
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	132
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	133
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	135

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Постменопаузальный остеопороз (ОП) является наиболее распространенной и ведущей патологией костно-мышечной системы у женщин. Вышеуказанное метаболическое системное заболевание скелета характеризуется хроническим прогрессирующим течением, постепенным и неуклонным уменьшением минеральной плотности кости и нарушением ее микроархитектоники. Следствием ОП является снижение прочности кости и повышение риска переломов [142].

Медицинская и социально-экономическая значимость ОП определяется широкой и повсеместной распространенностью заболевания, а также его последствиями в виде низкоэнергетических переломов [22, 23, 35].

Следует отметить, что в России уровни заболеваемости остеопорозом женщин старше 50 лет существенно не отличаются от аналогичных показателей в странах Европы, Северной Америки, Австралии, Японии и других регионах мира.

Результаты математической обработки эпидемиологических данных, полученных в Российской Федерации, свидетельствует о том, что ОП выявляется у 33,8% женщин постменопаузального возраста [21, 33]. А еще для 44% женщин характерна остеопения. Это свидетельствует о том, что ОП имеют около 14 млн российских граждан, а у 20 млн есть остеопения [32]. Крайне тревожные в России и показатели количества переломов. После 50 лет 7% российских женщин ожидает перелом наиболее опасной локализации – бедренной кости. Не менее частыми являются и остеопоротические переломы позвонков. Такие переломы в Российской Федерации встречаются у женщин в 7% случаев [32].

Лечение больного с остеопоротическим переломом в России в среднем обходится в 61150 рублей. Причем, медицинская помощь пациентам с переломом проксимального отдела бедренной кости наиболее дорогая и оценивается в 101243 рублей [7, 9].

Несмотря на колоссальные финансовые затраты на лечение, тем не менее, более важным аспектом постменопаузального ОП является резкое ухудшение

состояния здоровья женщин после перенесенного перелома. Наиболее тяжело пациенты переносят переломы проксимального отдела бедренной кости, которые, как правило, приводят к строгому постельному режиму и обездвиженности. Это сопряжено с обострением имеющихся у женщин сопутствующих заболеваний и, в конечном итоге, к «синдрому декомпенсации» различных систем и органов. А это нередко обуславливает летальные исходы.

По показателю летальности наиболее опасными являются переломы бедра, особенно шейки бедренной кости, которые для женщин представляют одну из основных причин смертности. Выполненные в России исследования свидетельствуют о том, что 64% пациентов после остеопоротического перелома бедренной кости и через год после травмы не могут выйти из дома. Почти половина из них (46,9%) прикована к постели [5]. При этом в первый год после вышеуказанного перелома до 45% больных умирает [2, 8, 10].

Степень разработанности темы

Необходимо отметить, что согласно современным международным протоколам и российским клиническим рекомендациям, препаратами первой линии для лечения постменопаузального ОП являются пероральные бисфосфонаты, среди которых наиболее востребованным является алендронат [1, 17, 48, 62, 140]. Минимальная продолжительность непрерывного применения алендроната, как правило, составляет 3-5 лет [19]. А контроль эффективности лечения проводится не ранее, чем через 12 месяцев приема препаратов.

Несмотря на то, что лечение остеопороза начинают с бисфосфонатов, тем не менее, вышеуказанные препараты у ряда пациентов могут не обеспечивать достаточный терапевтический эффект. Клиническая практика и соответствующие научные исследования свидетельствуют о вариабельности результатов одной и той же схемы лечения с применением одних и тех же бисфосфонатов у различных пациентов. Низкий прирост (менее 2-3%) или отсутствие прироста минеральной плотности кости, а в ряде случаев даже отрицательная динамика показателей остеоденситометрии после 12 месячного курса терапии ОП бисфосфонатами

может отмечаться в 26-53 % случаев [43, 62, 121].

В связи с вышеизложенным, в настоящее время одним из приоритетных направлений в повышении эффективности лечения постменопаузального ОП является развитие и внедрение в практическое здравоохранение индивидуальных подходов. Инновационные методы лечения должны быть основаны на глубоком понимании патогенетических механизмов заболевания, в которых ведущее значение отводят иммунным и гормональным факторам [20, 44, 86, 99, 123, 126, 131, 152, 165].

Учитывая важную роль в этиопатогенезе также и генетических факторов, несомненно, есть основа и для развития персонифицированного подхода в лечении остеопороза. Знание генов, влияющих на эффект терапии, на риск развития побочных эффектов и осложнений, может быть бесценно при формировании индивидуального подхода в лечении женщин с постменопаузальным остеопорозом. А использование конкретных алгоритмов введения больных, разработанных с учетом фармакогенетических тестов, является важнейшим инструментом принятия клинических решений в медицине будущего [49, 52, 135, 148, 174].

В настоящее время имеются свидетельства о влиянии отдельных генетических полиморфизмов на эффект антиостеопоротической терапии у женщин с постменопаузальным ОП [18, 50, 56, 111, 139, 141, 151, 155, 157, 173]. Однако необходимо отметить, что исследование полиморфизмов генов, потенциально способных менять результат терапии ОП, находится в самом начале поиска. При этом не все из доступных антиостеопоротических препаратов были объектом изучения фармакогенетики. В том числе не было выполнено исследование роли генетических полиморфизмов на эффект использования алендроната. Как следствие, конечно же, не были предприняты попытки и индивидуализировать назначение алендроновой кислоты женщинам с постменопаузальным ОП с учетом их генетических особенностей, гормонального и иммунного статуса.

Связь работы с научными программами, планами, темами

Работа выполнена в соответствии с планом и является фрагментом научно-исследовательской работы кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и аллергологии и кафедры акушерства и гинекологии «Индивидуализация лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом» (шифр УН 21.01.14), в которой соискатель является ответственным исполнителем.

Цель исследования: повысить эффективность лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом путем разработки индивидуальных схем лечения с учетом их эндокринных, иммунных и генетических особенностей.

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

1. Исследовать ассоциации полиморфизмов генов, кодирующих гормональные и иммунные факторы (*ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*), с эффективностью лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом препаратом алендроновой кислоты.

2. Оценить уровни некоторых эндокринных показателей (эстрадиол, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, тиреотропный гормон, общая и свободная фракции тестостерона) у женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой кислотой, в том числе в зависимости от изученных генетических полиморфизмов.

3. Исследовать изменения иммунных факторов (интерлейкины 1 β , 6, 10, 17, фактор некроза опухоли альфа, остеопротегерин, лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B) у женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой кислотой, в том числе в зависимости от изученных генетических полиморфизмов.

4. Разработать индивидуальные схемы антирезорбтивной терапии для женщин с постменопаузальным остеопорозом с учетом генетических факторов, гормональных, иммунных показателей и оценить их эффект.

Объект исследования: постменопаузальный остеопороз у женщин.

Предмет исследования: минеральная плотность костной ткани (МПК) у женщин в постменопаузе; генетические, гормональные и иммунные факторы, эффективность лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом алендроната.

Научная новизна исследования

1. Впервые на современном методологическом, научном уровне выполнен комплексный анализ основных этиопатогенетических (генетических, иммунных и гормональных) факторов постменопаузального ОП в динамике лечения женщин препаратом алендроновой кислоты.

2. Впервые установлена роль полиморфизмов генов, детерминирующих цитокины и гормоны (*ESR1* - rs2234693 и rs9340799; *IL-6* – rs1800795; *TNFSF11* – rs9594738; *TNFRSF11B* – rs3134069), в ответе костной ткани женщин с постменопаузальным остеопорозом на прием препарата алендроновой кислоты.

3. Впервые выявлены особенности гормонального статуса (эстрадиол, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, тиреотропный гормон, тестостерон) в динамике лечения женщин с постменопаузальным ОП алендронатом, в том числе в зависимости от изученных генетических факторов.

4. Впервые выявлены особенности цитокинового статуса (интерлейкины 1 β , 6, 10, 17, фактор некроза опухоли альфа, остеопротегерин, лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B) при постменопаузальном ОП в динамике лечения женщин алендронатом, в том числе в зависимости от изученных генетических факторов.

5. Впервые на основании выявленных генетических предикторов низкой эффективности алендроновой кислоты разработана персонифицированная схема лечения женщин с постменопаузальным ОП.

Теоретическая и практическая значимость работы

В диссертации представлены теоретическое обобщение и практическое решения актуальной научной задачи – повышение эффективности лечения женщин с постменопаузальным ОП. Полученные результаты существенно расширяют наши знания о механизмах патогенетического лечения женщин с постменопаузальным ОП.

Разработанная персонифицированная схема терапии постменопаузального ОП проста в практическом использовании и доступна, позволяет повысить эффективность лечения «неответчиков» с постменопаузальным остеопорозом на препарат алендроновой кислоты. Полученные результаты доказывают необходимость в продолжении исследования фармакогенетических аспектов постменопаузального ОП и дальнейшего развития персонифицированного подхода при данном заболевании.

Материалы диссертационной работы внедрены в практику ГБУ "Центральная городская клиническая больница № 9 г. Донецка", ГБУ "Городская клиническая больница № 5 г. Донецка", ГБУ "Центральная городская больница № 14 г. Донецка", ГБУ "Центральная городская клиническая больница № 20 г. Донецка", Республиканского травматологического центра МЗ ДНР.

Личный вклад соискателя

Диссертация является самостоятельным научным трудом соискателя. Автором под руководством научных руководителей сформулирована идея работы, обоснована актуальность и необходимость проведения исследования, определены цель и задачи исследования. Автором самостоятельно проведен информационно-патентный поиск, анализ современного состояния проблемы по данным научной литературы, определена программа работы.

Диссертантом лично проведен отбор пациентов в исследование с учетом критериев включения и исключения, собраны, проанализированы и обобщены их клинические данные. Соискателем лично осуществлялось наблюдение за пациентами в динамике лечения.

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.

Методология и методы исследования

При проведении исследования были использованы клинические методы – для подтверждения диагноза постменопаузального остеопороза и оценки состояния женщин в динамике лечения; лабораторно-диагностические – для выявления генетических полиморфизмов и изучения изменений гормональных и иммунных факторов; статистические – для обработки полученных результатов.

Для достижения цели и решения поставленных задач программа исследования включала два этапа.

На первом этапе было проведено комплексное обследование 136 женщин с постменопаузальным ОП в динамике лечения препаратом алендроновой кислоты – до инициации терапии и после 12 месячного курса. На основании клинического обследования и результатов остеоденситометрии пациентам устанавливали диагноз постменопаузального остеопороза. Исследование женщин включало использование молекулярно-генетических методов (определение генетических полиморфизмов), иммуноферментного анализа (определение гормонов и цитокинов), а также остеоденситометрии. Контрольную группу составили 75 условно здоровых женщин постменопаузального возраста без остеопоротических нарушений.

Результаты первого этапа позволили оценить эффективность лечения алендронатом женщин с постменопаузальным ОП в зависимости от отдельных генетических факторов, эндокринных и иммунных параметров.

На втором этапе работы была разработана персонифицированная схема лечения постменопаузального ОП и выполнена оценка ее эффективности.

Индивидуальный подход в лечении постменопаузального ОП оценивался у 68 женщин.

Положения, выносимые на защиту

1. При назначении женщинам с постменопаузальным ОП высокоэффективного и наиболее часто назначаемого бисфосфоната 3-го поколения алендроната наблюдается высокая степень вариабельности результатов лечения.

2. Вариабельность прироста минеральной плотности кости в результате 12 месячного курса терапии алендронатом женщин с постменопаузальным ОП существенно зависит от их генетических особенностей.

3. Женщины с постменопаузальным ОП имеют нарушения гормонального баланса и цитокинового статуса. Постменопаузальный ОП характеризуются комплексом изменений гормональных и иммунных факторов в динамике терапии.

4. Наличие у женщин полиморфных вариантов генов, имеющих ассоциации с эффективностью лечения постменопаузального ОП, сочетается с изменениями отдельных гормонов и цитокинов. Эти изменения могут отражать патогенетические механизмы низкого ответа костной системы женщин на лечение, прямо или опосредованно оказывать влияние на эффективность антирезорбтивной терапии.

5. Разработанная и апробированная персонифицированная схема терапии постменопаузального ОП алендроновой кислотой свидетельствует о необходимости дальнейших исследований в области фармакогенетики остеопороза и дальнейшего развития персонифицированного подхода при данном заболевании.

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

Апробация работы проведена на заседании Апробационного семинара диссертационного совета Д 01.011.03 ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО» 07.10. 2021 г., протокол № 1.

Материалы диссертации были представлены на III Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать...болезнь» (г. Донецк, 2019); IV Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать...болезнь» (г. Донецк, 2020); 82-м Международном конгрессе молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины» (г. Донецк, 2020); Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2020); VIII съезде терапевтов Забайкальского края (г. Чита, 2020); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Инновации в фундаментальной и клинической медицине» (г. Нальчик, 2020); Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2021); XI межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Научная весна 2021» (г. Саратов, 2021); V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых, аспирантов и студентов «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин» (г. Саранск, 2021).

Публикации

Результаты диссертационной работы полностью изложены в 19 научных работах, из них 8 статей – в журналах, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК ДНР.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на русском языке на 155 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 37 таблицами на 20 страницах и 6 рисунками на 3 страницах. Список использованной литературы содержит 175 научных публикаций, из них 46 – изложены кириллицей, 129 – латиницей и занимает 21 страницу.

РАЗДЕЛ 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Медицинская и социально-экономическая актуальность постменопаузального остеопороза

Постменопаузальный ОП является наиболее распространенной и ведущей патологией костно-мышечной системы у женщин. Вышеуказанное метаболическое системное заболевание скелета характеризуется хроническим прогрессирующим течением, постепенным и неуклонным уменьшением минеральной плотности кости и нарушением ее микроархитектоники. Следствием ОП является снижение прочности кости и повышение риска переломов [142].

Важной особенностью заболевания является длительное течение без существенных клинических проявлений. Поэтому постменопаузальный ОП часто и по праву называют «безмолвным» заболеванием. При этом делается акцент на том, что клиническая манифестация заболевания скелета у женщин зачастую связана с уже произошедшим переломом. Несколько реже в отношении ОП используют термин «Безмолвный убийца». И это тоже справедливо, ведь переломы, обусловленные ОП, часто становятся причиной летальных исходов у женщин в течение первого года после травмы.

Медицинская и социально-экономическая значимость ОП определяется широкой и повсеместной распространенностью заболевания, а также его последствиями в виде низкоэнергетических переломов [22, 23, 35].

Исходя из результатов многочисленных эпидемиологических исследований, выполненных в различных регионах мира, считается, что частота встречаемости ОП среди женщин в постменопаузальном возрасте достигает 20-40%. Экстраполирование результатов различных региональных наблюдений на все население мира позволяет предположить, что в настоящее время на планете более 200 млн человек страдает вышеуказанным заболеванием. Причем, ожидается, что число женщин с постменопаузальным ОП, также как и количество

низкоэнергетических переломов, в связи с увеличением продолжительности жизни будет только увеличиваться [143].

Американский Национальный Фонд Остеопороза (США) приводит статистические данные, свидетельствующие о том, что ОП имеют 10,2 миллиона американцев, а остеопению – 43,4 миллиона [48]. В США каждый год регистрируется более 2 млн остеопоротических переломов, большая часть из которых, около 70%, приходится на женщин.

Детальный анализ распространенности постменопаузального остеопороза среди граждан 9 ведущих индустриальных стран (США, Великобритания, Германия, Италия, Канада, Австралия, Япония, Испания, Франция) показал, что в них критериям остеопороза (по рекомендациям ВОЗ) соответствует около 49 миллионов женщин в возрасте старше 50 лет [80]. Причем, среди женщин постменопаузального возраста минимальная частота (16%) регистрируется в США, а максимальная (38%) – в Японии. Кроме того, необходимо подчеркнуть, что среди американок после 50 лет в 61% случаев выявляется и остеопения. Таким образом, в США всего лишь 23% женщин в постменопаузальном периоде характеризуются нормальным состоянием костной ткани.

В другом масштабном эпидемиологическом исследовании была изучена частота выявления постменопаузального ОП в странах Евросоюза (рисунок 1.1). Причем, анализ заболеваемости оценивался с учетом возраста женщин [88]. Полученные в работе выводы свидетельствуют о высокой вероятности выявления ОП у европейской женщины. При этом показатель частоты регистрации ОП существенно зависит от возраста, повышаясь от 6,3% в возрасте 50-54 года до 47,2% среди женщин в 80 лет и старше.

Следует отметить, что в России уровни заболеваемости остеопорозом женщин старше 50 лет существенно не отличаются от аналогичных показателей в странах Европы, Северной Америки, Австралии, Японии и других регионах мира.

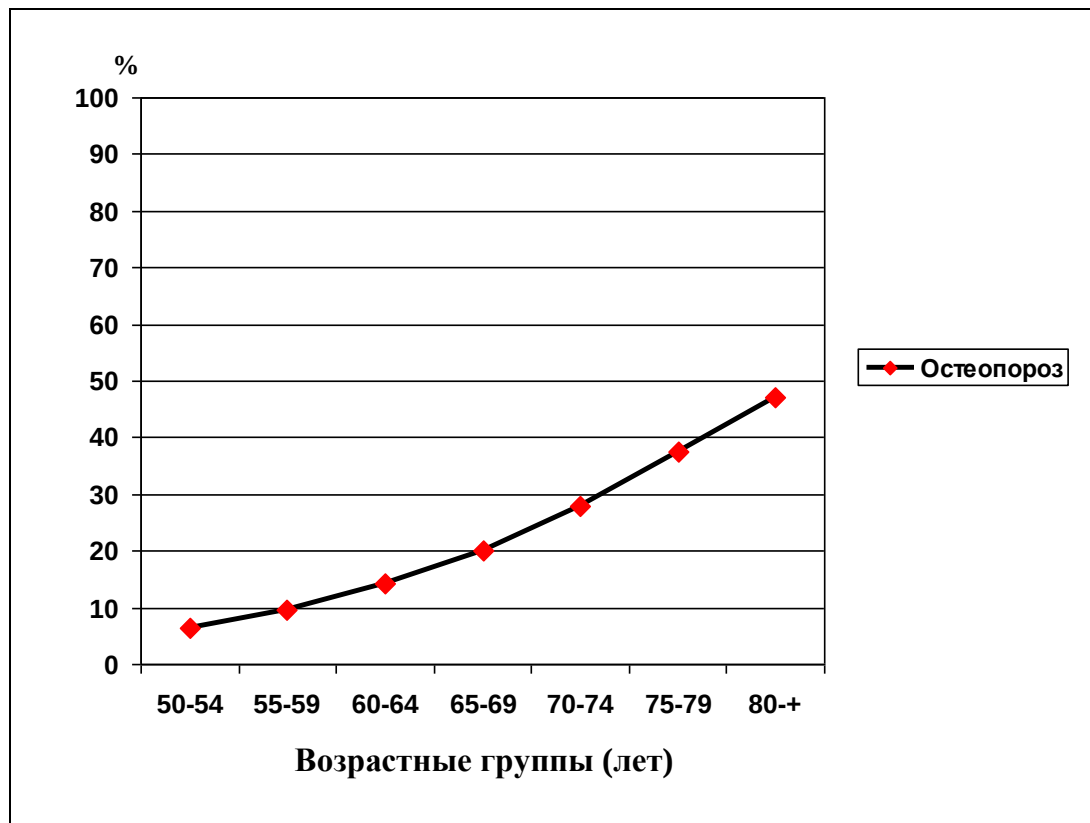


Рисунок 1.1 Распространенность постменопаузального остеопороза в различных возрастных группах женщин Европейских стран [88]

Результаты математической обработки эпидемиологических данных, полученных в Российской Федерации, свидетельствует о том, что ОП выявляется у 33,8% женщин постменопаузального возраста [21, 33]. А еще для 44% женщин характерна остеопения. Это свидетельствует о том, что ОП имеют около 14 млн российских граждан, а у 20 млн есть остеопения [32]. Крайне тревожные в России и показатели количества переломов. После 50 лет 7% российских женщин ожидает перелом наиболее опасной локализации – бедренной кости. Не менее частыми являются и остеопоротические переломы позвонков. Такие переломы в Российской Федерации встречаются у женщин в 7% случаев [32].

Следует учитывать, что низкоэнергетические переломы у женщин с постменопаузальным ОП сопряжены с высокими экономическими затратами. Проведенный в США экономический анализ показал, что ежегодная стоимость лечения низкоэнергетических переломов у граждан страны составляет 20-25 миллиардов долларов. Рассчитанная средняя стоимость лечения одного больного

с остеопоротическим переломом в США составляет \$12839 [100]. А расходы на уход за женщинами старше 55 лет, имеющих такие переломы, в США превышают финансовое обеспечение медицинской помощи больным аналогичного возраста с инфарктом миокарда, раком молочной железы и инсультами [48].

Лечение больного с остеопоротическим переломом в России в среднем равняется 61150 рублей. Причем, медицинская помощь пациентам с переломом проксимального отдела бедренной кости наиболее дорогая и обходится в сумму 101243 руб. [7, 9].

Несмотря на колоссальные финансовые затраты, тем не менее, более важным аспектом постменопаузального ОП является резкое ухудшение состояния здоровья женщин после перенесенного перелома. Существенно снижается качество жизни пациентов, увеличиваются показатели смертности [32, 35, 87]. Компрессионные переломы позвонков, переломы предплечья, дистального отдела бедра и другие низкоэнергетические переломы ассоциируются с ухудшением показателей качества жизни женщин. Однозначно, переломы обуславливают различной степени выраженности болевой синдром и ограничение физической активности. Страдания женщин, непосредственно связанные с переломом, сопровождаются ухудшением психического состояния. Наиболее тяжело пациенты переносят переломы проксимального отдела бедренной кости, которые, как правило, приводят к строгому постельному режиму и обездвиженности. Это сопряжено с обострением имеющихся у женщин сопутствующих заболеваний и, в конечном итоге, к «синдрому декомпенсации» различных систем и органов. А это нередко обуславливает летальные исходы.

По показателю летальности наиболее опасными являются переломы бедра, особенно шейки бедренной кости, которые для женщин представляют одну из основных причин смертности. Выполненные в России исследования свидетельствуют о том, что 64% пациентов после остеопоротического перелома бедренной кости и через год после травмы не могут выйти из дома. А почти половина из них (46,9%) прикованы к постели [5]. При этом в первый год после вышеуказанного перелома до 45% больных умирает [2, 8, 10].

Таким образом, ОП представляет серьезную медицинскую и социально-экономическую проблему. Актуальность постменопаузального ОП, который характеризуется широким распространением, тяжелыми осложнениями и огромными материальными затратами, не вызывает сомнений. Чрезвычайно высокие показатели заболеваемости постменопаузальным ОП, повсеместно высокая частота осложнений заболевания в виде низкоэнергетических переломов, а также угрожающие жизни последствия от них требуют более пристального внимания к женщинам постменопаузального возраста.

Несомненно, для предупреждения тяжелых осложнений постменопаузального ОП необходимо совершенствование первичной профилактики заболевания, ранней, своевременной его диагностики и, конечно же, увеличение эффективности лечения выявленных остеопоротических нарушений. Предотвращение прогрессирования заболевания, а значит и будущих переломов, предполагает создание и внедрение в клиническую практику инновационных подходов в терапии заболевания, которые должны быть основаны на глубоком понимании этиопатогенеза постменопаузального ОП. Высоко актуальным для увеличения потенциала консервативной терапии ОП является персонифицированный подход, который может обеспечить индивидуальный подход в лечении костной патологии у женщин и повысить эффективность терапии [43, 62, 121].

1.2. Основные этиопатогенетические факторы постменопаузального остеопороза

1.2.1. Роль эстрогенов в регуляции метаболизма костной ткани и развитии постменопаузального остеопороза

Постменопаузальный ОП обусловлен физиологическим снижением продукции эстрогенов у женщин после менопаузы [20, 44, 104]. Считается, что ежегодно в постменопаузе женщина теряет от 1 до 3% костной массы. Из многочисленного количества эстрогенов, которые относятся к группе стероидных

гормонов и насчитывают около 30 видов, наиболее активными являются эстрадиол (E_2), эстрон (E_1) и эстриол (E_3) [11]. Эстрогены обладают полифункциональными свойствами – обеспечивают регуляцию различных органов и систем организма. А обеспечивают они свое многогранное действие через эстрогеновые рецепторы 2-х типов - альфа ($ER-\alpha$) и бета ($ER-\beta$), которые определяются в различных количествах практически во всех типах клеток человека [82].

Эстрогены играют важную роль в развитии репродуктивных органов (матка, яичники, молочные железы, влагалище и др.), в обеспечении репродуктивной функции женщины. Не менее значимы регулирующие свойства эстрогенов для работы нервной и сердечно-сосудистой систем, органов желудочно-кишечного тракта, эндокринной и мочевыделительной систем [81, 85, 161, 171]. Наряду с этим, эстрогены имеют существенное значение в регуляции липидного, углеводного и белкового обменов, минерального, гормонального и иммунного статуса [113, 156, 163].

Эстрогеновые рецепторы $ER-\alpha$ и $ER-\beta$ обнаружены в клетках костной ткани – остеобластах и остеокластах [84]. Благодаря непосредственному связыванию с вышеуказанными рецепторами эстрогены влияют на клеточную биологию кости. Через лиганд-рецепторные взаимодействия эстрогены контролируют активность десятков генов в остеобластах, посредством которых регулируют пролиферацию и дифференцировку как самих остеобластов, так и остеокластов [51, 86, 106, 108, 131, 175,].

К настоящему времени не остается сомнений в том, что эстрогены путем прямого влияния на клеточные элементы костной ткани обладают свойствами увеличивать функциональную активность остеобластов и ингибировать остеокластогенез, стимулировать апоптоз остеокластов. Тем самым эстрогены обеспечивают защитную роль в отношении костной резорбции, а дефицит гормонов приводит к снижению функции остеобластов и увеличению активности остеокластов, что, в конечном итоге, сопряжено с развитием ОП.

1.2.2. Иммунологические аспекты этиопатогенеза постменопаузального остеопороза

Существенные успехи последних лет в изучении физиологических и патофизиологических закономерностей костного ремоделирования позволили выделить важную роль иммунных факторов в патологии костной ткани и существенно пересмотреть наши представления о механизмах развития постменопаузального остеопороза. Первое свидетельство о влиянии иммунной системы на костный метаболизм было получено почти 50 лет назад.

Именно в начале 70-х годов прошлого столетия появились первые доказательства наличия тесной связи между иммунной системой и костной тканью. J.E. Horton и соавт. [63] продемонстрировали в своих новаторских исследованиях способность иммунокомпетентных клеток выделять факторы, которые стимулируют функцию остеокластов и приводят к усилению резорбции кости. В 1990-х годах была установлена ключевая роль в регуляции остеокластов и в ремоделировании костной ткани цитокиновой системы RANKL/RANK/OPG [126].

Спустя 30 лет с момента выявления активирующего на остеокласты действия медиаторов иммунных клеток сформировалась новая область научных знаний. В 2000 г. американские ученые J.R. Aron и Y. Choi [53] предложили термин «Остеоиммунология». И этим термином была обозначена новая область научных знаний, которая изучает закономерности взаимодействия иммунной и костной систем организма в норме и патологии.

Бурное развитие и существенные успехи остеоиммунологии позволили выделить важную роль иммунных факторов в патологии костной системы и существенно пересмотреть наши представления о механизмах развития различных заболеваний скелета, в том числе остеопороза. В последние годы, благодаря доказательствам ключевой роли иммунных механизмов, остеопороз стали называть хроническим иммуноопосредованным заболеванием [99, 131]. А в 2018 г., учитывая важнейший вклад иммунной системы в патогенез остеопороза, R.K. Srivastava и соавт. [152] научно обоснованно ввели термин «Иммунопороз».

В настоящее время уже не вызывает сомнений то, что участие иммунных механизмов в патогенезе костной патологии не менее актуально, чем при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях, аллергии. Более того, остеоиммунология бурно развивается, с каждым годом демонстрируя новые сведения о патогенезе заболеваний скелета и открывая новые перспективы для профилактики и лечения такой широко распространенной патологии человека как остеопороз.

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 [165]. Развитие клеточной и молекулярной иммунобиологии 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. Важно учитывать то, что в период становления остеоиммунология была сфокусирована на эффектах адаптивных и врожденных иммунных реакций на метаболизм костной ткани. Теперь же остеоиммунология изучает и обратную сторону во взаимодействиях иммунной и костной систем – регуляцию иммунных факторов костными клетками. И именно дисрегуляция данных взаимоотношений, нарушение баланса в иммунных механизмах лежат в основе патогенеза ОП. И сейчас не вызывает сомнений то, 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 и цитокинов [36, 37].

Подтверждением тесной взаимосвязи между клетками костной и иммунной систем является их взаимодействие уже на стадии образования, а также в процессе созревания и дифференцировки. Остеобластогенез, остеокластогенез и иммунопоэз 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» гемопоэза и «позволяет» костным и иммунным клеткам контактировать и влиять друг на друга на местном уровне [54, 98].

Наряду с вышеизложенным следует учитывать то, что остеокласты (ОК), которые совместно с остеобластами (ОБ) обеспечивают процесс ремоделирования кости, имеют моноцитарно-макрофагальное происхождение и являются клетками иммунной системы в костной ткани [116, 124]. ОК – это полноценные участники иммунного ответа, а функция их подчиняется физиологическим закономерностям иммунной реактивности [125]. ОБ также находятся в постоянном взаимодействии с факторами иммунной системы и участвуют в регуляции кроветворения, созревании иммунокомпетентных клеток. Для обеспечения данных эффектов ОБ продуцируют гранулоцитарный, макрофагальный и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы, фактор стволовых клеток и другие цитокины.

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 кальция. 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. Изменения функции этих клеток приводят к нарушению ремоделирования костной ткани и обуславливают либо развитие ОП (снижение активности ОБ и/или увеличение активности ОК), либо увеличение костной массы (увеличение активности ОБ и/или снижение активности ОК).

Процесс ремоделирования кости требует постоянного и активного взаимодействия остеоцитов, ОБ и ОК для эффективной регуляции остеобластогенеза, остеокластогенеза и ангиогенеза [136].

1.2.2.1. Цитокины в регуляции дифференцировки остеобластов.

Остеобласты происходят из мезенхимальных стволовых клеток. Мезенхимальные стволовые клетки расположены в костном мозге и способны созревать в различные типы клеточных элементов, в частности в хондроциты, адипоциты и ОБ [114]. Дифференцировка их именно в ОБ обусловлена высокоспецифичным сочетанием комплекса факторов, основные из которых представлены на рисунке 1.2.

Точный перечень факторов, участвующих в созревании ОБ, окончательно не определен [93, 130]. Не до конца изучена и биологическая роль каждого из них. Однако, уже сейчас ясно, что в дифференцировку ОБ большой вклад вносят иммунные факторы. Так, показано, что $\gamma\delta$ T лимфоциты ускоряют пролиферацию и дифференцировку ОБ путем усиления секреции интерлейкина-17А [123]. Макрофаги подавляют активность линии остеобластных клеток путем продукции фактора некроза опухолей альфа (TNF- α) и макрофагального воспалительного белка 1- α (CCL-3), которые являются мощными ингибиторами дифференцировки вышеуказанных клеток [160]. Угнетается процесс образование ОБ цитокином IL-3, а также повышенными уровнями глюкокортикоидных гормонов [164].

Положительное влияние на развитие ОБ оказывают такие цитокины как трансформирующий фактор роста β (TGF- β), костные морфогенетические белки суперсемейства TGF- β (BMPs), инсулиноподобный фактор роста (IGF), фактор роста фибробластов (FGF), IL-11. Недавно выполненными исследованиями было показано участие в процессе дифференцировки ОБ противовоспалительного цитокина IL-10 [102]. IL-10 был идентифицирован как важный цитокин, который усиливает остеобластогенез.

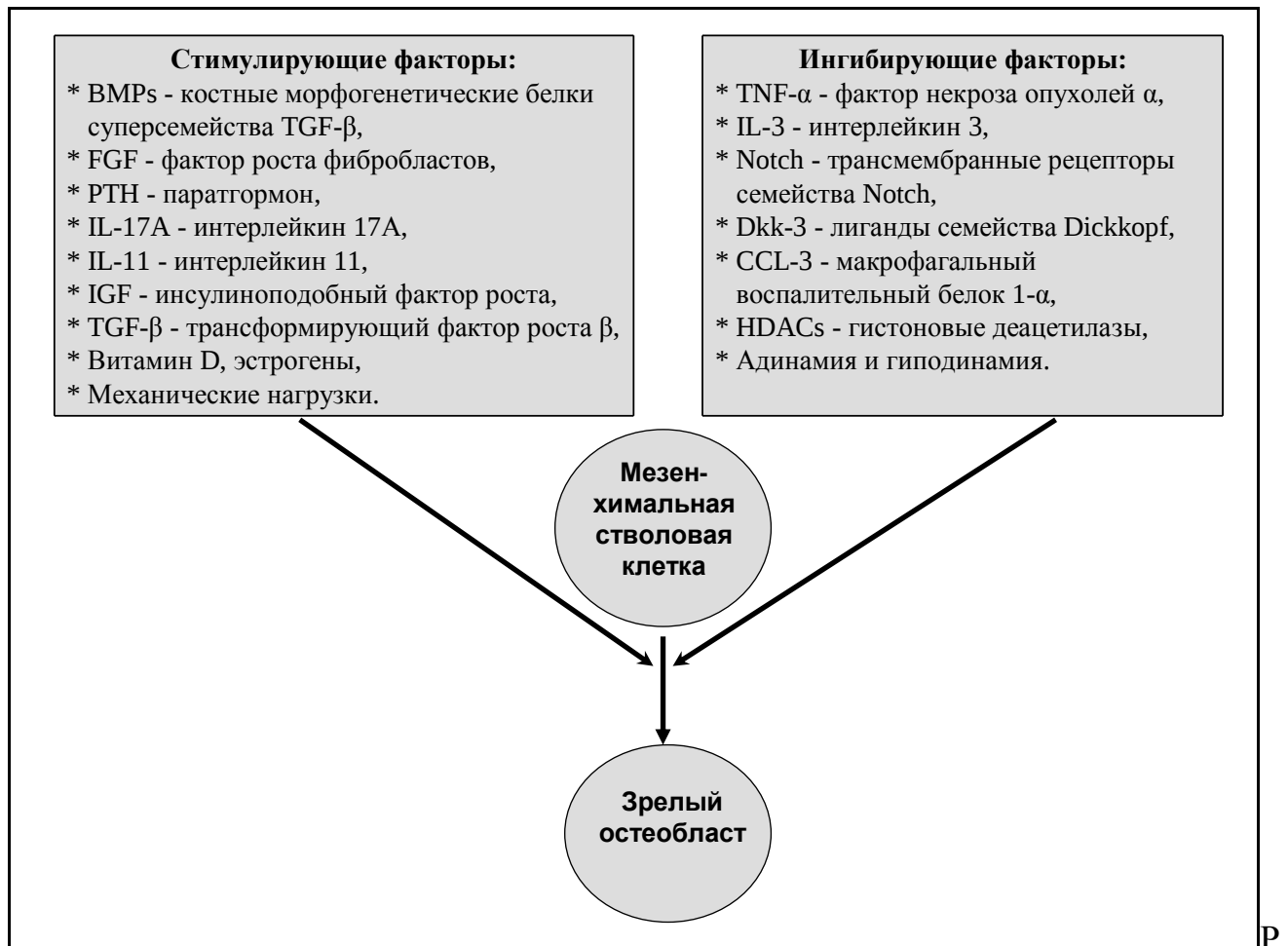


Рисунок 1.2. Основные факторы в регуляции дифференцировки остеобластов

Витамин D и эстрогены также являются важными факторами, оказывающими стимулирующее действие на ОБ и образование кости в целом [28, 38, 39]. При этом следует учитывать, что дефицит и витамина D, и женских половых гормонов сопровождается ослаблением не только прямых их эффектов на костные клетки. Более важным в патогенезе остеопороза считается то, что снижение концентраций вышеуказанных гуморальных факторов обуславливает изменения в иммунной системе. Эти изменения характеризуются повышенной секрецией ряда провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-17 и др.), которые в конечном итоге и приводят к усилению резорбции костной ткани [27].

1.2.2.2. Цитокины в регуляции ремоделирования костной ткани в физиологических условиях. Процесс ремоделирования кости в физиологических условиях требует постоянного и активного взаимодействия трех основных типов клеток – остеоцитов, ОБ и остеокластов. Этими клетками обеспечивается эффективная регуляция остеобластогенеза, остеокластогенеза и ангиогенеза, вследствие чего костная ткань, постоянно обновляясь, сохраняет свою структуру и свойства [105, 136]. Установлено, что взаимодействие между ОБ и ОК может осуществляться посредством прямого контакта или через внеклеточные везикулы [128]. При этом передача информации между клетками происходит путем обмена молекулами низкой молекулярной массы, в том числе цитокинами.

Следует отметить, что молекулярные механизмы клеточной коммуникации между ОБ и ОК являются одними из наиболее важных в биологии костных клеток и ремоделировании кости в физиологических условиях. Причем, взаимосвязь между вышеуказанными клетками осуществляется на различных стадиях их дифференцировки. При этом центральное внимание уделяется ОБ, которым отводится ключевая роль в обеспечении созревания ОК, контроле их активности и регуляции ремоделирования кости в целом. В последние годы появляется все больше доказательств и сильных обратных связей, посредством которых ОК влияют на созревание и активность ОБ [127, 128].

И именно от перекрестных связей между остеобластами и остеокластами зависит гомеостаз кости и процессы ее ремоделирования в физиологических условиях. А взаимодействие и кооперация ОБ и ОК, обеспечение их функционального баланса обуславливается многими цитокинами, гормонами и сигнальными путями.

Регуляция остеобластами функции ОК осуществляется благодаря их способности секретировать ряд гуморальных факторов, основными из которых являются:

- макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF, цитокин) – стимулирует остеокластогенез;

- лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL, цитокин суперсемейства TNF) – стимулирует остеокластогенез;
- остеопротегерин (OPG, цитокин суперсемейства TNF) – ингибирует остеокластогенез;
- моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1, цитокин) – стимулирует остеокластогенез;
- семафорин 3A (SEMA3A) – ингибирует остеокластогенез;
- лизофосфатидная кислота (LPA) – стимулирует остеокластогенез;
- лиганд к рецептору апоптоза Fas (FasL, цитокин суперсемейства TNF) – вызывает апоптоз остеокластов.

Остеоциты являются источником склеростина (SOST), который обладает выраженным ингибирующим действием на дифференцировку ОБ благодаря свойству блокировать WNT-сигнальный путь [76]. Необходимо отметить, что и ОК в определенных условиях также способны синтезировать SOST и тем самым уменьшать костеобразующий потенциал ОБ [149].

Кроме того, ОК продуцируют такие мощные ингибиторы остеобластогенеза как белок Atp6v0d2 и семафорин 4D (Sema4D). Синтезируемые же остеокластами C3a и C5a компоненты комплемента, наоборот, стимулирует дифференцировку ОБ [70]. Результаты нескольких последних исследований подчеркивают остеанаболический потенциал и сфингозин-1-фосфата (S1P). S1P идентифицируется как ключевой мессенджер (система обмена мгновенными сообщениями), связанный с ОК и локально повышающий костеобразующую способность ОБ [115]. Молекулы SLIT3 (Slit guidance ligand 3 – щелевой направляющий лиганд 3), которые продуцируются остеокластами, усиливают миграцию и пролиферацию ОБ путем активации β -катенина и в то же время подавляют остеокластогенез аутокринным путем [129].

ОК также секретируют костный морфогенетический белок BMP6, CTHRC1 (collagen triple helix repeat containing 1), EFNB2 (ephrin-B2 protein), WNT10B (белок WNT-сигнального пути), CT-1 (кардиотропин-1, цитокин), которые участвуют в регуляции ОБ и остеоцитов и тем самым влияют на остеогенез [107].

Каждый из вышеуказанных гуморальных факторов играет важную роль во взаимодействиях ОБ и ОК, участвуя, в том числе, в реализации сигнальных путей, участвующих в обеспечении функциональной кооперации ОБ и ОК. Выделяют три основных сигнальных пути, играющие важную роль в регуляции созревания, дифференцировки и активности костных клеток – сигнализация ядерного фактора κB (NF- κB), WNT- и BMP-сигнальные пути [134].

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 [26, 65].

BMP-сигнальный путь реализуется через костные морфогенетические белки (bone morphogenetic proteins, BMPs), которые относятся к группе факторов роста, суперсемейству цитокина 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.

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 [137]. В частности, выделяют TNF-зависимую активацию NF- κB -сигнального пути и, конечно же, RANKL-зависимую [122-Boyce B.F., 2015].

Ключевое значение в регуляции ремоделирования костной ткани NF- κB -сигнальным путем и в остеокластогенезе отводят двум цитокинам [36].

Обязательным условием для образования зрелых ОК является воздействие на их предшественников M-CSF и RANKL (рисунок 1.3).

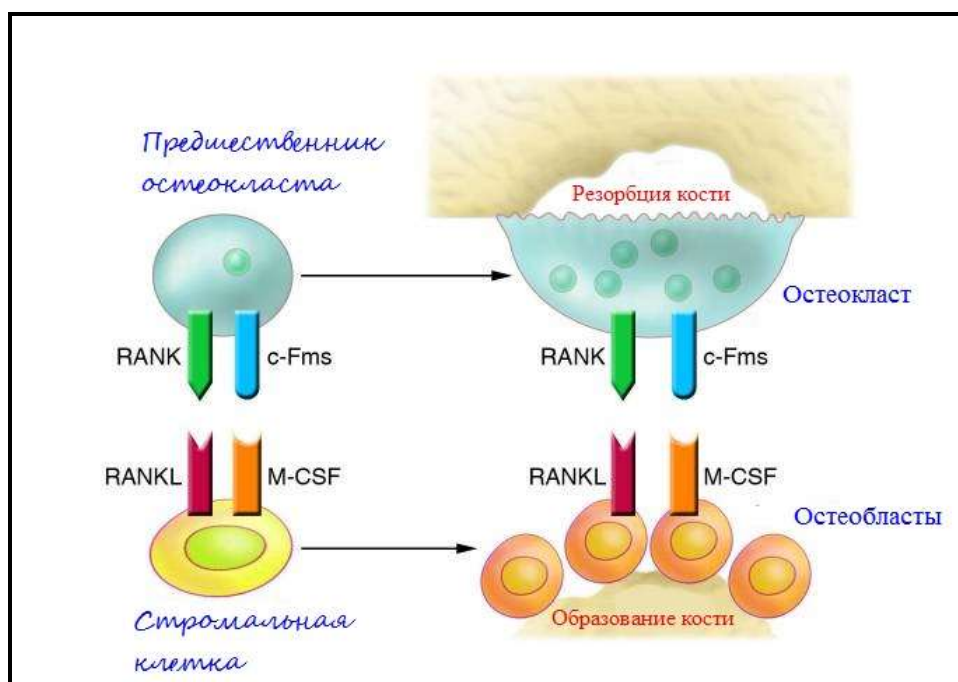


Рисунок 1.3. Центральная роль лиганда активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL) и макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) в дифференцировке и регуляции активности остеокластов в физиологических условиях (адаптировано по M.N. Weitzmann, 2006 [170])

Примечание: RANK – активатор рецептора ядерного фактора κ B; C-fms – специфический рецептор для M-CSF.

Образование комплекса M-CSF с рецептором C-fms на предшественниках ОК является необходимым условием для ранней стадии дифференциации вышеуказанных клеток. M-CSF стимулирует экспрессию в ОК молекул RANK (активатор рецептора ядерного фактора κ B) и повышает пролиферативную активность ОК. Кроме того, M-CSF увеличивает жизнеспособность ОК благодаря способности ингибировать их апоптоз.

Молекулы RANKL относятся к цитокиновой системе RANK/RANKL/OPG, которая выполняет ключевую роль в активации NF- κ B-сигнального пути и

регуляции остеокластогенеза [124, 145]. А нарушения в этой системе являются ведущими в патогенезе постменопаузального ОП (рисунок 1.4).

RANKL связывается с рецептором RANK на предшественниках или зрелых ОК [122, 134, 146]. Воздействие образуемого при этом комплекса RANKL-RANK на клетки осуществляется через ряд факторов транскрипции с участием TRAF6 (фактора 6, ассоциированного с рецептором фактора некроза опухолей, TNF receptor-associated factor 6), NF- κ B, c-Fos, фосфолипазы C γ (PLC γ), транскрипционного фактора NFATc1 (ядерный фактор активированных Т-клеток c1). В конечном итоге образование комплекса RANKL-RANK приводит к повышенной экспрессии генов TRAP (тарtrat-устойчивая кислая фосфатаза), катепсина К, интегрин β 3, остеокласт-ассоциированного рецептора (OSCAR) и других генов, необходимых для образования активных ОК и обеспечения их функции.

Важным третьим компонентом системы RANKL/RANK/OPG является остеопротегерин, который также относится к цитокинам суперсемейства TNF. OPG обеспечивает протективную роль в отношении резорбции костной ткани и активации ОК, являясь растворимым «рецептором-ловушкой» для RANKL [169]. В итоге, степень активации ОК определяется количественным соотношением продукции молекул RANKL и OPG. В отсутствие патологии соотношение OPG/RANKL находится в определенном равновесии. При остеопорозе соотношение нарушается в сторону превалирования уровней RANKL. Моногочисленные эксперименты на животных демонстрируют, что сверхэкспрессия OPG приводит к увеличению плотности костной ткани – остеопетрозу, а сниженная продукция вышеуказанных молекул – к остеопорозу. Необходимо отметить, что экспрессия OPG в ОБ регулируется рядом гормонов, цитокинов и факторов роста, среди которых важное значение имеют эстрогены, витамин D и TNF.

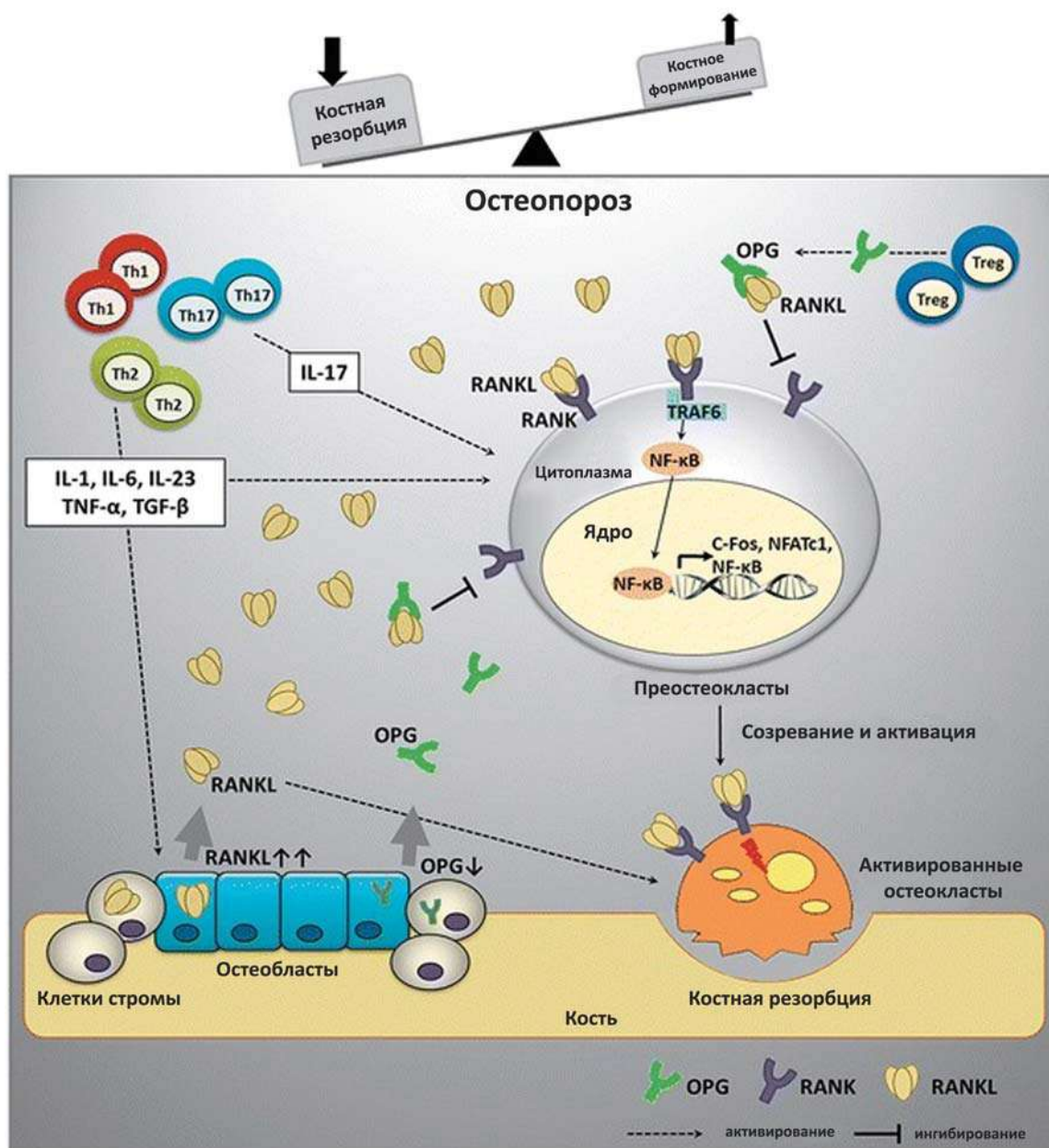


Рисунок 1.4. Роль системы RANKL/RANK/OPG в регуляции костного ремоделирования и развитии остеопороза (адаптировано по J. Phetfong и соавт., 2016 [134]). Примечание: RANK – активатор рецептора ядерного фактора κ B; RANKL – лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B; OPG – остеопротегерин; Th1, Th2 и Th17 – Т хелперы 1, 2 и 17 типов; Treg – Т лимфоциты регуляторные; IL – интерлейкин; TNF- α – фактор некроза опухоли альфа; TGF- β – трансформирующий ростовой фактор бета.

Как было ранее указано, в физиологических условиях источником важных для остеокластогенеза цитокинов M-CSF, RANKL и OPG являются главным образом зрелые ОБ и остеоциты, в меньшей степени – предшественники ОБ, мезенхимальные стромальные клетки. В связи с этим в норме именно эти клетки играют решающую роль в регуляции дифференцировки предшественников ОК и в обеспечении контроля активности уже зрелых ОК. Поэтому в значительной степени регуляция ремоделирования костной ткани в физиологических условиях ограничивается системой «Остеоцит-ОБ-ОК». Цитокиновой же системе RANKL-RANK-OPG отводят при этом ключевое значение во взаимодействиях ОБ и ОК, а также в остеокластогенезе.

1.2.2.3. Цитокины и нарушение ремоделирования кости при остеопорозе. Система RANKL/RANK/OPG играет важную роль не только в остеокластогенезе, но и в развитии и функционировании иммунных органов человека, в том числе лимфатических узлов, тимуса, костного мозга, селезенки, а также в регуляции иммунного ответа [132, 138]. А экспрессия RANKL свойственна не только ОБ. Выраженная продукция цитокина RANKL отмечена и иммунокомпетентными клетками – активированными Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, моноцитами, макрофагами и др. У В-клеток обнаружено свойство секретировать и OPG. На В-лимфоциты приходится 64% от общего производства OPG в костном мозге [60].

При этом необходимо учитывать то, что в физиологических условиях роль иммунокомпетентных клеток в активации остеокластогенеза и стимуляции резорбции кости незначительна [74]. Однако, при патологических состояниях, обусловленных рядом аутоиммунных и воспалительных заболеваний, эндокринными нарушениями, в том числе дефицитом эстрогенов в постменопаузе и т.д., и сопровождающихся активацией иммунной реактивности, происходит выраженное увеличение продукции различными типами иммунокомпетентных

клеток молекул RANKL (рисунок 1.5). Вследствие этого потенцируется остеокластогенез, повышается активность ОК и усиливается резорбция кости.

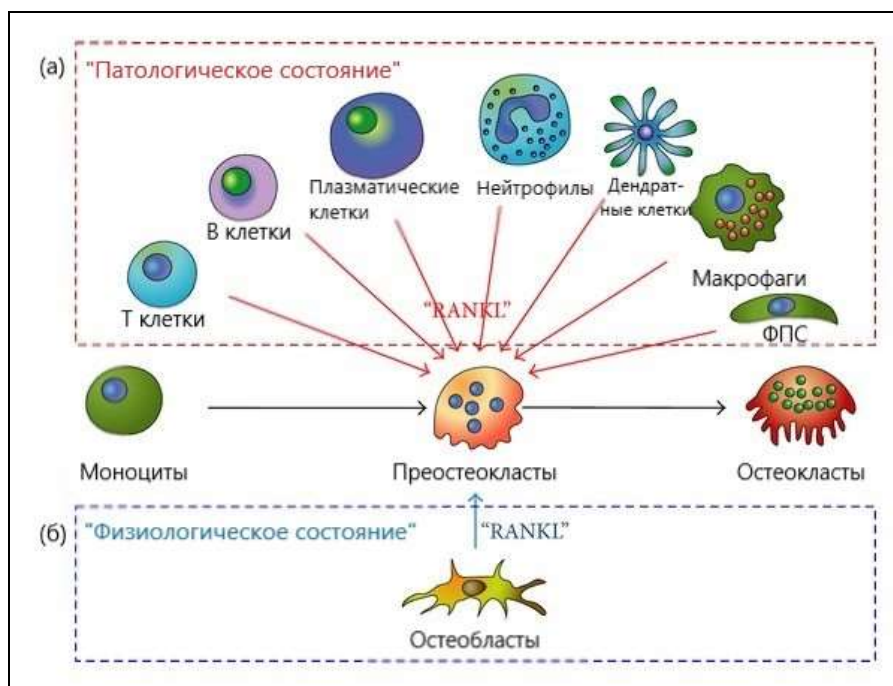


Рисунок 1.5. Продукция лиганда активатора рецептора ядерного фактора κВ (RANKL) в норме и патологии (адаптировано по S.M. Jung и соавт., 2014 [74])

Примечание: ФПС – фибробластоподобные синовиоциты.

Кроме того, активация иммунных клеток, которая может быть обусловлена у женщин в постменопаузе недостаточностью эстрогенов, приводит к увеличению продукции не только RANKL, но и других провоспалительных цитокинов [133, 162]. И это представляется даже более важным в патогенезе постменопаузального остеопороза. Именно таким провоспалительным цитокинам как IL-1, IL-6, IL-7, IL-17, TNF отводят роль основных медиаторов ускоренной потери костной массы у женщин в постменопаузе. 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 иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоциты, натуральные киллеры, моноциты/макрофаги и др.) способны усиливать остеокластогенез и

потенцировать резорбцию костной ткани [73, 101]. Основные цитокины, участвующие в ремоделировании кости, и их эффекты представлены ниже:

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

- IL-4. *Антирезорбтивный эффект*: ингибирует RANKL-зависимый и TNF- α -зависимый остеокластогенез; ингибирует эффект IL-1 и экспрессию c-Fos и NFATc1; снижает экспрессию RANKL; стимулирует образование OPG. *Прорезорбтивный эффект*: индуцирует экспрессию TNF- α макрофагами посредством IL-6; увеличивает синтез IL-1.

- 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 остеопороза. *Антирезорбтивный эффект*: подавляет дифференцировку ранних клеток-предшественников ОК и уменьшает образование ОК; подавляет канал сигнализации RANK; индуцирует образование OPG.

- 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 в остеокластогенезе. *Антирезорбтивный эффект*: угнетает остеокластогенез прямым действием на ОК.

• IL-8. *Прорезорбтивный эффект*: увеличивает продукцию RANKL. *Антирезорбтивный эффект*: увеличивает образование оксида азота.

• IL-10. *Антирезорбтивный эффект*: стимулирует созревание ОБ, 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 проостеокластогенных цитокинов. *Прорезорбтивный эффект*: в синергизме с IL-4 увеличивает экспрессию TNF- α .

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

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

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

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

• IL-17. *Прорезорбтивный эффект*: повышает продукцию RANKL остеобластами, синовиальными клетками и фибробластами; повышает чувствительность ОК 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 остеопороза. *Антирезорбтивный эффект*: подавляет образование ОК при высоких концентрациях; ингибирует остеокластогенез путем индукции GM-CSF.

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

• 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 зрелых ОК в физиологических условиях; обладает синергизмом при совместном действии с IL-18 в ингибировании остеокластогенеза.

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

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

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

• 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 остеокластов и остеокластов.

• TNF- α . *Прорезорбтивный эффект*: стимулирует продукцию RANKL, M-CSF и c-Fms на остеокластах; 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 витамина D, рецептора паратгормона, участвующих в формировании костей; является важным медиатором постменопаузального остеопороза.

- 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.

- INF- 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 паратиреоидным гормоном и IL-1; действует как антагонист TNF- α .

- M-CSF. *Прорезорбтивный эффект*: регулирует экспрессию RANK предшественниками 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 как напрямую могут оказывать стимулирующее воздействие на остеокластогенез, в том числе RANKL-независимым путем [Park-Min K.H., 2018], так и опосредованно – путем индукции синтеза друг друга, а также потенцируя экспрессию RANKL. Причем, наиболее мощные резорбтивные эффекты 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 остеопороза.

Следует указать, что среди клеток иммунной системы ключевую роль в нарушениях регуляции ремоделирования кости отводят Т-лимфоцитам. Снижение продукции эстрогенов у женщин в постменопаузальном периоде сопровождается активацией вышеуказанных клеток и ростом секреции ими как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов (рисунок 1.6). 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.

Таким образом, результаты проведенных в последние годы исследований существенно расширили наши представления о роли цитокинов в ремоделировании костной ткани и патогенезе остеопороза. На данный момент на клеточном и молекулярном уровнях доказана ключевая роль иммунных факторов в развитии остеопоротических нарушений костной ткани, в том числе при постменопаузальном остеопорозе. Накопленные за последние годы данные о роли иммунных механизмов в патогенезе заболеваний костной системы имеют важную научную ценность и частично применяются в практической медицине. Уже сейчас есть научно обоснованные предпосылки и для дальнейшего более широкого использования результатов научных изысканий при разработке новых подходов в профилактике и терапии постменопаузального остеопороза, в том числе исходя из того, что остеопороз у женщин в постменопаузе является хроническим воспалительным заболеванием, а центральное значение в его патогенезе имеет степень активации иммунокомпетентных клеток и уровень экспрессии ими провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. При этом в качестве фармакологических мишеней в будущих терапевтических стратегиях по предотвращению потери костной массы и переломов могут быть как сами клеточные источники вышеуказанных медиаторов, так и непосредственно те или иные цитокины.

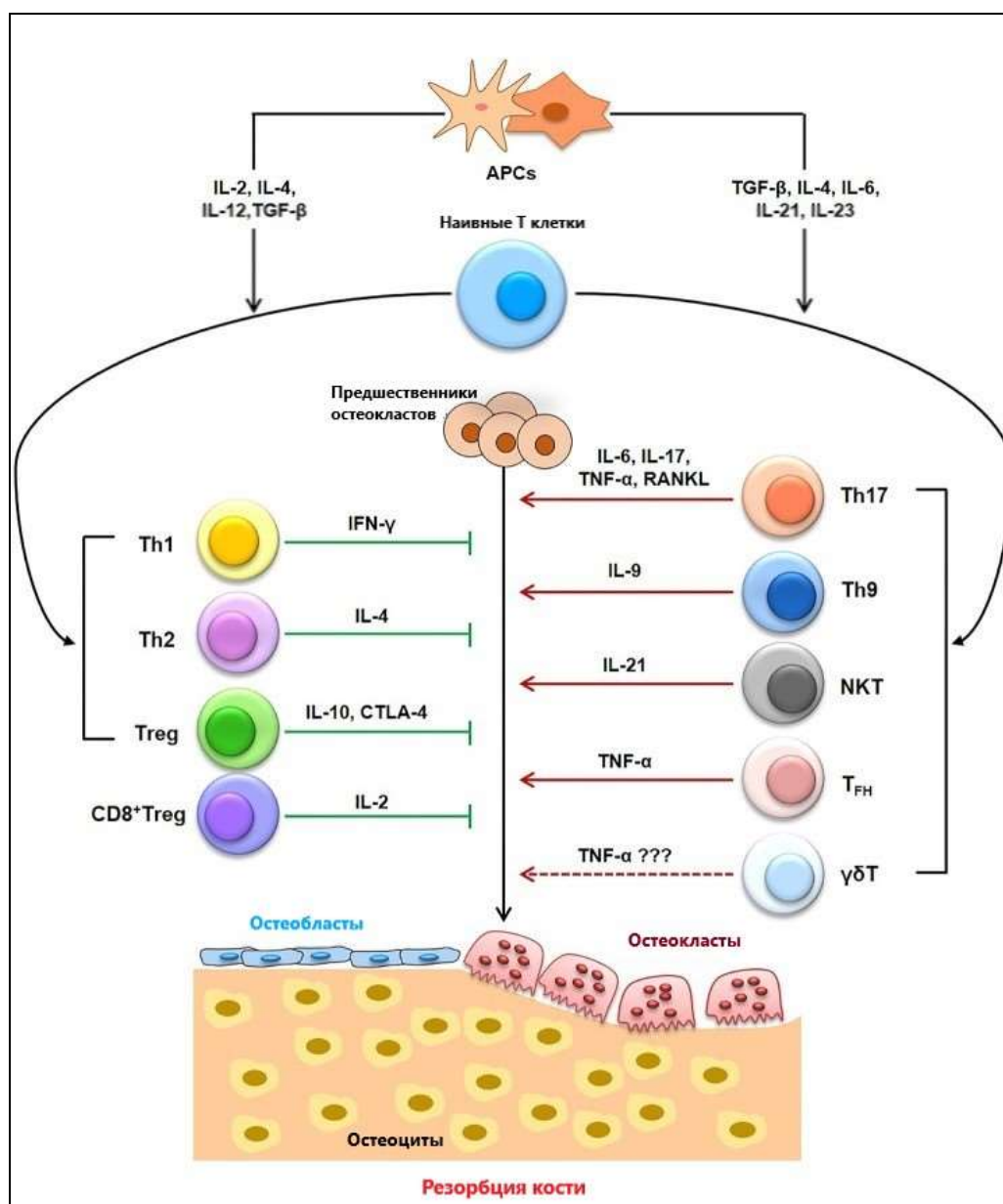


Рисунок 1.6. Роль Т лимфоцитов и их цитокинов в регуляции остеокластогенеза (адаптировано по R.K. Srivastava и соавт., 2018 [152])

Примечание: APCs – антиген-представляющие клетки; IL – интерлейкин; TGF-β – трансформирующий ростовой фактор бета; Th1, Th2, Th9, Th17 – Т хелперы 1, 2, 9 и 17 типов; Treg – Т лимфоциты регуляторные; CD8⁺Treg – регуляторные Т цитотоксические лимфоциты; NKT – натуральные киллерные Т клетки; T_{FH} – фолликулярные Т хелперы; γδТ – γδТ лимфоциты; IFN-γ – интерферон гамма; TNF-α – фактор некроза опухолей альфа; RANKL – лиганд активатора рецептора ядерного фактора κВ; CTLA-4 – ассоциированный с цитотоксическими Т лимфоцитами протеин 4.

Однако, далеко не все аспекты остеоиммунологии изучены достаточно полно. В ряде случаев полученные результаты являются неоднозначными, спорными или не до конца решенными. Поэтому требуются дальнейшие исследования для более глубокого понимания механизмов регуляции костного ремоделирования иммунными факторами в норме и патологии.

1.3. Генетика и фармакогенетика постменопаузального остеопороза

К настоящему времени благодаря достижениям генетики установлено около 2-х тыс. генных болезней [92]. Классически их делят на моногенные и полигенные. Для развития редких моногенных заболеваний достаточно возникновения одной мутации, или мутаций одного гена. Подавляющее же большинство заболеваний (более 90%) относится к полигенной патологии, которая еще именуется мультигенной или мультифакторной.

Полигенные болезни детерминируются мутациями не одного гена, а определенного их множества. А совокупный эффект этих мутаций определяет предрасположенность человека к тому или иному заболеванию. Причем вероятность развития патологии зависит не только от генетической составляющей, но и от степени воздействия неблагоприятных средовых факторов [3]. Кроме того, для полигенных заболеваний актуальными являются и фармакогенетические аспекты.

К полигенным заболеваниям относят ряд сердечно-сосудистых (ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, гипертоническая болезнь и т.д.) и эндокринных заболеваний (сахарный диабет, аутоиммунный тиреоидит и т.д.), язвенную болезнь, злокачественные опухоли, аллергию и т.д. Типичным полигенным заболеванием, конечно же, является и постменопаузальный ОП.

В настоящее время установлено более 200 генов, от функции которых зависит метаболизм костной ткани, функция остеобластов и остеокластов, а также баланс между ними. Полиморфные варианты этих генов имеют различной выраженности ассоциации с развитием ОП. Степень же этих ассоциаций в

определенной степени вариабельна. Она зависит от влияния достаточно широкого круга внешних факторов [4, 14, 48, 69]. К ним относят женский пол, европеоидную расу, низкий индекс массы тела, адинамию, гиподинамию, наличие переломов у родственников, употребление алкоголя, табака, кофе, гиповитаминоз D и недостаточность кальция и т.д. Все эти факторы повышают риск реализации генетической предрасположенности пациента к остеопорозу.

Несмотря на существенный вклад внешних, средовых факторов в патогенез постменопаузального ОП, тем не менее, необходимо отметить, что на 60-80% вероятность заболевания костной системы определяется генетическими особенностями женщин [49, 52]. Значимость генетических факторов в этиопатогенезе ОП подтверждена не только выводами многочисленных эпидемиологических наблюдений, семейных и близнецовых исследований, показавшими высокую наследуемость заболевания, но и достижениями молекулярной генетики [45, 166].

Около 30 лет назад Morrison N.A. и соавт. впервые продемонстрировали связь уровней остеокальцина в сыворотке крови с отдельными полиморфизмами (BsmI, ApaI, EcoRV) гена рецептора витамина D – *VDR* [71]. Для этих же полиморфизмов были установлены и ассоциации с минеральной плотностью поясничных позвонков.

Пионерская работа Morrison N.A. и соавт. [71], доказавшая роль мутаций в гене *VDR* в развитии ОП, открыла новую эру в изучении заболевания костной системы. Последовавшие за ней многочисленные исследования, посвященные изучению роли генетических факторов в этиопатогенезе ОП, сформировали новое научное направление – «Генетика остеопороза». Это ознаменовалось бурным ростом количества научных публикаций по изучению генов-кандидатов ОП. Была установлена значимость для формирования заболевания скелета женщин в постменопаузе большого количества генов: эстрогеновых рецепторов альфа и бета (*ESR1* и *ESR2*), кальцитонина (*CT*), остеокальцина (*BGP*), рецептора кальцитонина (*CTR*), коллагена I типа (*COL1A1*), паратгормона (*PTH*), интерлейкина-6 (*IL-6*) и т.д.

Революционный прогресс в расшифровке генетической составляющей этиопатогенеза ОП был связан с разработкой и использованием нового метода молекулярной генетики – полногеномного поиска ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS), при помощи которого производится оценка всей последовательности ДНК. Новая технология позволила существенно расширить список генов-кандидатов ОП [65, 95, 118, 147, 148, 166]. Путем тестирования миллионов однонуклеотидных полиморфизмов метод GWAS позволил идентифицировать более 500 локусов, ассоциированных с признаками остеопороза [49, 52].

Все выявленные гены кандидаты остеопороза были систематизированы и распределены в несколько групп. Основные из них представлены в таблице 1.1. Необходимо отметить, что, в первую очередь, именно гены-кандидаты ОП могут определять и особенности индивидуального ответа костной ткани женщины на антиостеопоротические препараты.

В настоящее время практическое здравоохранение располагает двумя основными группами лекарственных средств для консервативного лечения постменопаузального ОП. К первой группе относятся препараты, обладающие свойством подавлять активность остеокластов. Снижают резорбционную функцию остеокластов бисфосфонаты, моноклональные анти-RANKL антитела, кальцитонин, эстрогены и т.д. Вторую группу составляют средства, способные стимулировать остеобласты и усиливать их костеобразующий потенциал. Примерами препаратов с анаболическим действием являются пептиды паратгормона, стронция ранелат.

Гены кандидаты остеопороза

Группа генов	Ген	Продукт гена
1. Гормональной регуляции и обмена кальция	<i>VDR</i>	Рецептор витамина D
	<i>ESR1</i>	Эстрогеновые рецепторы альфа
	<i>ESR2</i>	Эстрогеновые рецепторы бета
	<i>PTH</i>	Паратгормон
	<i>PTHr1</i>	Рецептор паратгормона 1
	<i>CT</i>	Кальцитонин
	<i>CTR</i>	Рецептор кальцитонина
	<i>AR</i>	Рецептор андрогенов
	<i>GCCR</i>	Рецептор глюкокортикоидов
	<i>CYP19</i>	Ароматаза
	<i>CaSR</i>	Кальций-чувствительный рецептор
2. Цитокинов и их рецепторов	<i>TGFB1</i>	Трансформирующий фактор роста бета 1
	<i>IL-6</i>	Интерлейкин-6
	<i>IGF1</i>	Инсулиноподобный фактор роста 1
	<i>IL-1ra</i>	Рецептор антагониста интерлейкина-1
	<i>TNF-α</i>	Фактор некроза опухоли α
	<i>TNFR2</i>	Рецептор фактора некроза опухоли α
	<i>TNFSF11</i>	Лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL)
	<i>TNFRSF11B</i>	Остеопротегерин

Гены кандидаты остеопороза

Группа генов	Ген	Продукт гена
3. Костного матрикса	<i>COL1A1</i>	Коллагена I типа
	<i>COL1A2</i>	Коллагена II типа
	<i>BGP</i>	Остеокальцин
	<i>MGP</i>	Gla протеин матрикса
	<i>AHSG</i>	α -2-HS-гликопротеин
4. Канонического Wnt-сигнального пути	<i>FRZ</i>	Трансмембранный рецептор Frizzled
	<i>LRP(5/6)</i>	Белок, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности 5 и 6 типов
	<i>WIF</i>	Wnt–ингибирующий фактор
	<i>DKK-1</i>	Белок Dickkopf-1
	<i>SOST</i>	Склеростин
5. Остальные	<i>ApoE</i>	аполипопротеин E
	<i>MTHFR</i>	метилентетрагидрофолатредуктаза
	<i>P57KIP2</i>	ингибитор циклин-зависимой киназы
	<i>HLA-A</i>	главный комплекс гистосовместимости, локус A
	<i>PPAR-γ</i>	рецепторы γ , активируемые пероксисомными пролифераторами
	<i>FRA-1</i>	Fos-родственный антиген 1
	<i>RUNX-2</i>	внутриядерный фактор транскрипции 2
	<i>Klotho</i>	белок Klotho
	<i>WRN</i>	ген синдрома Вернера

Следует подчеркнуть, что согласно современным международным протоколам и российским клиническим рекомендациям, препаратами первой линии для лечения постменопаузального ОП являются пероральные бисфосфонаты, среди которых наиболее востребованным является алендронат [1,

17, 48, 62, 140]. Минимальная продолжительность непрерывного применения алендроната, как правило, составляет 3-5 лет [19]. А контроль эффективности лечения проводится не ранее, чем через 12 мес.

Необходимо отметить, что бисфосфонаты у ряда пациентов могут не обеспечивать достаточный терапевтический эффект. Клиническая практика и соответствующие научные исследования свидетельствуют о вариабельности результатов одной и той же схемы лечения с применением одних и тех же бисфосфонатов у различных пациентов. Низкий прирост или отсутствие прироста минеральной плотности кости, а в ряде случаев даже отрицательная динамика показателей остеоденситометрии после 12 месячного курса терапии ОП бисфосфонатами может отмечаться в 26-53 % случаев [43, 62, 121]. При этом необходимо учитывать, что хорошим эффектом от проводимой терапии считают ежегодный прирост минеральной плотности кости на 2-3% и более.

Поэтому практический врач нуждается в критериях, при помощи которых можно было бы с высокой долей вероятности предсказывать ответ женщин на прием бисфосфонатов еще на стадии подготовки к лечению, а не ждать 12 месяцев, чтобы сделать заключение о правильности выбранных препаратов. При этом мы должны учитывать, что ответ костной ткани на антиостеопоротическую терапию существенно зависит от генетической составляющей. Установлено, что скорость как потери костной массы у женщин в постменопаузе, так и ее прироста в процессе лечения на 60-80% зависит от генетических особенностей женщин [26, 52]. В связи с этим в настоящее время одним из приоритетных направлений является поиск практических точек приложения фармакогенетики в профилактике и лечении остеопороза.

Считается, что имеется, как минимум, три пути практического применения достижений генетики при остеопорозе [174]. Во-первых, результаты генетических исследований, в том числе GWAS, можно использовать и уже используются для исследования причинных факторов остеопороза. Такой подход позволяет определять группы риска к развитию заболевания и разрабатывать профилактические мероприятия с целью предупреждения костной патологии.

Стоит отметить, что алгоритм, использующий генетические полиморфизмы в качестве предикторов, уже в настоящее время показывает сильную предсказательную роль генетических маркеров (коэффициент корреляции $R=0,415$) в прогнозировании низкой минеральной плотности кости [49, 52]. Использование генетического тестирования аналогично повышает также и точность прогнозирования остеопоротических переломов.

Во-вторых, методы молекулярной генетики играют важную роль в поиске новых лекарственных мишеней для антиостеопоротической терапии. Причем, генетические, геномные подходы при идентификации мишеней антирезорбтивных препаратов считаются более успешными, чем другие способы [148]. Наряду с успехами в совершенствовании терапии остеопороза и открытии новых точек приложения терапевтических средств генетика способствует также более глубокому пониманию патогенеза заболевания. Так, молекулярная генетика благодаря установлению целого ряда генов кандидатов остеопороза позволила доказать и расшифровать роль в костном ремоделировании таких важных сигнальных путей как RANK-RANKL-сигнализация, WNT-сигнализация и т.д.

Необходимо отметить, что большинство (63%) антиостеопоротических препаратов, которые были одобрены в последние годы или находятся на последних этапах клинических испытаний, были разработаны благодаря результатам генетических исследований. К таким препаратам, появлению которых способствовали достижения генетики, относят деносумаб, ингибиторы склеростина, селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов, бисфосфонаты, аналоги паратиреоидного гормона, ингибиторы катепсина К, ингибиторы Dickkopf 1 и т.д.

В-третьих, генетическая информация может быть использована для развития персонализированного подхода при лечении остеопороза. Знание генов, влияющих на эффективность терапии, на риск развития побочных эффектов и осложнений, может быть бесценно при формировании индивидуального подхода в лечении женщин с постменопаузальным остеопорозом. А использование конкретных алгоритмов введения больных, разработанных с учетом

фармакогенетических основ, является важнейшим инструментом принятия клинических решений в медицине будущего.

Действительно, 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.

К настоящему времени уже имеются работы по фармакогенетике остеопороза. Были выполнены первые попытки исследования роли генетических факторов на эффективность лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратами кальция и витамина D [97], эстрогенами [72] и селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов [144]. Ряд работ был посвящен роли отдельных полиморфизмов в ответе костной ткани пациентов с остеопорозом на стандартные схемы приема бисфосфонатов [18, 50, 56, 111, 141, 151, 155, 157, 173], стронция ранелата [41, 50], терипаратида [157] и др. При этом была произведена оценка влияния на прирост показателей МПК в динамике лечения полиморфизмов таких генов как *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. Важно отметить, что большая часть анализируемых полиморфизмов показала наличие ассоциаций с эффектом антиостеопоротической терапии.

Таким образом, достижения генетики является беспрецедентными в понимании того, как генетические факторы влияют на остеопороз и переломы. В ближайшем будущем планируется создание больших баз данных с детальной характеристикой генотипов и их роли в формировании фенотипов, в которой будут учтены все идентифицированные гены и мутации, влияющие на различные аспекты остеопороза. Частью такого важного для практической медицины

инструмента могут быть разработанные персонифицированные схемы лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом бисфосфонатами, в том числе алендроновой кислотой.

Именно такой подход, основанный на знаниях генетических основ фармакологии остеопороза и разработанных генетических тестах, является наиболее перспективным. И именно такой подход позволит индивидуализировать назначение антиостеопоротических препаратов и увеличить эффективность терапии заболевания бисфосфонатами. Генетические исследования в области фармакогенетики остеопоротических нарушений могут обеспечить конкретные шаги для формирования методов персонифицированной медицины, для ведения больных с постменопаузальным остеопорозом с целью профилактики и лечения заболевания и предупреждения переломов.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика обследованных женщин и дизайн исследования

Выполнение работы осуществлялось в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М.Горького» (ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО).

В исследовании приняли участие 279 женщин, которые предоставили письменное добровольное согласие на участие. Во время предварительного отбора все женщины были ознакомлены с целями и характером исследования и проинформированы по всем интересующим аспектам. Проведенное исследование соответствует всем этическим требованиям, предъявляемым к научным работам. Получено разрешение комитета по биоэтике ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО.

Для отбора пациентов в исследование использовали метод случайной выборки с учетом критериев включения и исключения. Критерии включения в исследование: женский пол, постменопауза (стойкое отсутствие менструаций сроком минимум 12 месяцев), наличие остеопороза, письменное добровольное информированное согласие пациента.

Критерии исключения в исследование: прием заместительной гормональной или антиостеопоротической терапии, глюкокортикостероидных препаратов, наличие овариоэктомии или медикаментозной менопаузы, эндокринных и метаболических расстройств (гипертиреоз, гиперпаратиреоз, сахарный диабет и др.), гематологических и психических заболеваний, неопластических состояний, хронических заболеваний почек и печени, аутоиммунной патологии, системных заболеваний соединительной ткани, хронических воспалительных заболеваний.

Для достижения цели и решения поставленных задач программа исследования включала 2 этапа.

Для первого этапа было отобрано 136 женщин с постменопаузальным ОП и 75 условно здоровых женщин с нормальными показателями остеоденситометрии. Цель первого этапа исследования заключалась в оценке эффективности лечения постменопаузального ОП у женщин препаратом алендроновой кислоты в зависимости от генетических полиморфизмов, отдельных гормонов и цитокинов. Для этого было проведено открытое проспективное неконтролируемое исследование. Женщины с постменопаузальным остеопорозом были обследованы дважды – до начала приема антиостеопоротических препаратов и через 12 месяцев терапии.

Диагноз остеопороза устанавливался согласно рекомендациям ВОЗ и исходя из показателей Т-критерия по результатам выполнения денситометрии костной ткани методом DEXA. Остеоденситометрия производилась на уровне поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, в том числе зоны шейки левого и правого бедра. Результаты денситометрии представлялись в виде показателей МПК и Т-критерия.

Т-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 Т-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).

Возраст пациентов определялся в пределах от 39 до 80 лет, а длительность постменопаузального периода – от 1 года до 33 лет (таблица 2.1). Медиана (Me) и интерквартильный размах [Q1; Q3] возраста обследованных были равны 58,5 (54,0-65,0) лет, продолжительности периода постменопаузы – 10,0 (4,0-16,0) лет. Необходимо отметить, что по вышеуказанным характеристикам больные с постменопаузальным остеопорозом существенно не отличались от лиц

контрольной группы ($p>0,05$). Возраст здоровых женщин составил 60,0 (54,0-64,0) лет (от 45 до 73 лет), длительность постменопаузального периода – 10,0 (5,0-17,0) лет (от 5 до 17 лет).

Таблица 2.1

Основные характеристики женщин с постменопаузальным остеопорозом (n=136), отобранные на первом этапе исследования (данные на начало лечения)

Показатели	Медиана	Интерквартильный размах [Q1; Q3]	Минимум	Максимум
Возраст, лет	58,5	54,0-65,0	39,0	80,0
Рост, см	162,0	158,0-165,0	144,0	177,0
Вес, кг	67,5	60,0-73,0	43,0	90,0
ИМТ	20,8	18,6-22,9	14,2	28,1
Длительность постменопаузы, лет	10,0	4,0-16,0	1,0	33,0

Показатели роста, веса и индекса массы тела (ИМТ) у обследованных были равны соответственно 162,0 (158,0-165,0) см, 67,5 (60,0-73,0) кг и 20,8 (18,6-22,9). ИМТ рассчитывался по формуле $ИМТ = m/h^2$, где m – масса тела (кг), h – рост (м).

Всем женщинам с установленным остеопорозом назначали антиостеопоротическую терапию продолжительностью 12 месяцев. Курс лечения включал прием двух препаратов. Основным являлся «Алендронат», который назначался по 1 таблетке (70 мг) 1 раз в неделю с учетом особенностей приема. Все женщины были ознакомлены с тем, что бисфосфонат принимается утром натощак не менее чем за 30 минут перед первым приемом пищи. Запивать таблетку необходимо полным стаканом обычной воды. Таблетку не следует жевать или рассасывать. После перорального приема пациент не должен ложиться в течение, как минимум, 30 минут.

Наряду с препаратом алендроновой кислоты женщинам назначали «Кальций-Д3 Никомед Форте» в суточной дозе 1000 мг кальция и 800 МЕ холекальциферола (по 1 таблетке 2 раза в сутки).

Наряду с назначением фармакологических средств женщинам рекомендовалась стандартная коррекция модифицируемых факторов риска ОП (повышение двигательной активности, физические упражнения, устранение вредных привычек, сбалансированное питание и т.д.).

До начала и после завершения курса лечения женщинам выполнялись комплексные исследования, включающие денситометрию костной ткани, молекулярно-генетические, гормональные и иммунологические тесты (таблица 2.2).

Таблица 2.2

Количество женщин контрольной группы и пациентов с остеопорозом в динамике лечения, которым выполнены инструментальные и лабораторные исследования

Категории исследований	Здоровые	Остеопороз	
		До лечения	Через 12 месяцев
Остеоденситометрия	75	136	136
Молекулярно-генетические	-	136	-
Иммунологические	75	136	136
Гормональные	75	136	136

Остеоденситометрия методом DEXA в динамике наблюдения предназначалась для оценки лечебного эффекта. 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.

При помощи молекулярно-генетического тестирования у женщин проводили детекцию пяти генетических полиморфизмов, детерминирующих цитокины и гормоны – rs2234693 и rs9340799 гена *ESR1*, rs1800795 гена *IL-6*, rs9594738 гена *TNFSF11* и rs3134069 гена *TNFRSF11B*.

Кроме того, у женщин исследовали сывороточные уровни гормонов (эстрадиол, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, тиреотропный гормон, тестостерон общий и свободный) и цитокинов (интерлейкины 1β, 6, 10, 17, фактор некроза опухоли альфа, остеопротегерин, лиганд активатора рецептора ядерного фактора κB)

Результаты, полученные на первом этапе исследования, позволили оценить эффективность лечения алендронатом женщин с постменопаузальным ОП в зависимости от генетических факторов, эндокринных и иммунных параметров. Сделанные выводы стали основой для разработки персонифицированной схемы лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом.

Предложенный индивидуальный подход в лечении был апробирован на втором этапе работы. С целью оценки разработанной персонифицированной схемы терапии было обследовано 68 женщин с постменопаузальным ОП. Критерии включения и не включения были аналогичны тем, которые использовались на первом этапе исследования (смотри выше).

Лечение с использованием разработанных схем назначалось пациентам длительностью 12 месяцев. До и по окончании лечения производилась остеоденситометрия и оценивалась эффективность терапии по рассчитанному показателю ΔМПК во всех зонах денситометрии – в поясничных позвонках L1-L4, проксимальных отделах и шейках правой и левой бедренных костей. Всем женщинам выполнялись молекулярно-генетические исследования. Контрольными данными служили результаты лечения женщин (n=136) с постменопаузальным

ОП по стандартной схеме, которая использовалась на первом этапе (смотри выше).

Дизайн исследования отражен на рисунке 2.1.

I этап –	Проспективное комплексное исследование 136 женщин с постменопаузальным ОП в динамике лечения (до и через 12 месяцев) алендроновой кислотой с целью выявления факторов, оказывающих влияние на эффективность лечения (генетические полиморфизмы, гормоны, цитокины). Контрольная группа – 75 условно здоровых женщин аналогичных характеристик без остеопороза.
II этап	Оценка предложенной персонифицированной схемы терапии у 68 женщин с постменопаузальным ОП. Контрольная группа – 136 женщин, имеющих ОП и получивших стандартную терапию.

Рисунок 2.1. Дизайн исследования

2.2. Инструментальные и лабораторные методы исследования

Из инструментальных исследований использовалась остеоденситометрия, которую назначали для выявления остеопоротических нарушений в различных участках скелета женщин. Лабораторные методы включали молекулярно-генетические исследования для детекции генетических полиморфизмов и иммуноферментные исследования для определения гормонов и цитокинов.

Остеоденситометрию выполняли методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DEXA). Измерения осуществляли с помощью денситометра «Discovery W QDR Series X-Ray Bone Densitometer» (HOLOGIC Inc., США) на уровне поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, включая зоны шейки левого и правого бедра.

Для оценки интенсивности остеопоротических изменений у каждого конкретного пациента основополагающим являлся Т-критерий, который представляет собой количество стандартных отклонений выше и ниже среднего показателя пика костной массы молодых женщин в возрасте 30-35 лет. С потерей костной массы наблюдается снижение данного показателя.

При трактовке результатов денситометрии нормальными считали показатели Т-критерия в пределах до -1,0 стандартных отклонений от пиковой костной массы. Остеопорозу же соответствовали более низкие значения Т-критерия: -2,5 стандартных отклонений и ниже.

Для выполнения лабораторных исследований использовалась периферическая кровь женщин, отобранная утром (с 8⁰⁰ до 10⁰⁰ часов) натощак при помощи вакуумных систем производства «HEBEI XINLE SCI AND TECH CO., LTD» (Китай). Использовались 2 вида пробирок: пробирки с активатором свертывания для выполнения серологических исследований и пробирки с антикоагулянтом динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) для исследования генетических полиморфизмов.

Для выполнения молекулярно-генетических исследований использовали клеточный осадок из пробирок с ЭДТА, обогащенный лейкоцитами крови. Выделение ДНК из лейкоцитарных элементов крови и детекцию полиморфизмов осуществляли с помощью коммерческих наборов производства «ДНК-Технология» (Москва, РФ) в соответствии с прилагающимися инструкциями. Учет реакции производился на амплификаторе детектирующем ДТ-96 («ДНК-Технология», Москва, РФ). Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени исследовали генетические полиморфизмы rs2234693 и rs9340799 гена *ESR1*, rs1800795 гена *IL-6*, rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* и rs3134069 гена *TNFRSF11B* (таблица 2.3).

**Исследованные полиморфизмы у женщин с постменопаузальным
остеопорозом**

Хромосома (позиция на хромосоме)	Гены (продукты генов)	Идентификатор*	Полиморфизм
6 (151842200)	<i>ESR1</i>	rs2234693	-397 T>C [PvuII]
6 (151842246)	(эстрогеновый рецептор альфа)	rs9340799	-351 G>A [XbaI]
7 (22727026)	<i>IL-6</i> (интерлейкин-6)	rs1800795	-174 G>C
13 (42378009)	<i>TNFSF11</i> (RANKL)	rs9594738	C>T
8 (118952749)	<i>TNFRSF11B</i> (остеопротегерин)	rs3134069	245 A>C

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

Для выполнения исследований гормонов и цитокинов использовали сыворотку крови. Сыворотку крови получали путем центрифугирования цельной крови, забранной в пробирки с активатором свертывания для выполнения серологических исследований. Центрифугирование пробирок в течение 15 мин при 3000 об/мин (1760 g) осуществляли с помощью центрифуги лабораторной ОПН-3.02 «Дастан» (Киргизская республика).

Выделенную сыворотку использовали для определения концентраций эстрадиола, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), тиреотропного гормона (ТТГ), общей и свободной фракций тестостерона (таблица 2.4). Для этого использовали иммуноферментные наборы реагентов производства «Алкор-Био» (РФ) и «Хема» (РФ). Учет результатов

производили с помощью анализатора иммуноферментного «LabLine-022» (LABLINE Diagnostics, Австрия).

Таблица 2.4

**Перечень исследованных гормонов и характеристики наборов реагентов
производства «Алкор-Био» и «Хема» (РФ)**

Производитель	Показатели	Чувствительность / диапазон измерений
«Алкор-Био»	Тиреотропный гормон (ТТГ)	0,05 / 0,0-15,0 мкМЕ/мл
	Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	0,25 / 0-100,0 мМЕ/мл
	Лютеинизирующего гормон (ЛГ)	0,25 / 0-100,0 мМЕ/мл
	Тестостерон общий	0,2 / 0,0-50,0 нмоль/л
«Хема»	Тестостерон свободный	0,06 / 0,0-100,0 нг/л
	Эстрадиол	6,8 / 0,0-5440,0 пг/мл

Наряду с исследованием гормонов сыворотку использовали также для определение уровней цитокинов – интерлейкинов 1 β (IL-1 β), 6 (IL-6), 10 (IL-10), 17A (IL-17A), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), остеопротегерина (OPG), лиганда активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL). Применяли метод иммуноферментного анализа и системы реагентов производства «Вектор-Бест» (РФ, Новосибирская обл., п. Кольцово), «eBiosciences» (San Diego, CA, США), «Biomedica Medizinprodukte» (GmbH & Co KG, Австрия). Характеристика использованных иммуноферментных тест систем представлена в таблице 2.5. Учет результатов производился при помощи анализатора иммуноферментного «LabLine-022» (LABLINE Diagnostics, Австрия).

**Перечень исследованных цитокинов и характеристики наборов реагентов
производства «Вектор-Бест» (РФ), «eBiosciences» (США), «Biomedica
Medizinprodukte» (Австрия)**

Производители	Показатели	Чувствительность / диапазон измерений
«Вектор-Бест»	Интерлейкин-1 β	1,0 / 0-250,0 пг/мл
	Интерлейкин-6	0,5 / 0-300,0 пг/мл
	Интерлейкин-10	1,0 / 0-500,0 пг/мл
	Фактор некроза опухоли - α (TNF- α)	1,0 / 0-250,0 пг/мл
«eBiosciences»	Интерлейкин-17А	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

2.3. Статистические методы исследования

Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных статистических программ для медико-биологических исследований «MedStat». 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).

Оценка статистических рядов полученных результатов показала, что для большинства исследуемых параметров характер распределения был отличным от

нормального. Поэтому описательную статистику осуществляли с применением непараметрических методов.

Определяли медиану (Me), интерквартильный размах, отражающий 25% и 75% квантили [Q1; Q3]. Для сравнения центров двух независимых выборок использовали U-тест Манна-Уитни, а для выявления статистически значимых изменений показателей в динамике лечения – Т-критерий Вилкоксона. Для множественных сравнений трех и более независимых выборок использовали ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, а затем для парных сравнений – критерий Данна. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s).

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

РАЗДЕЛ 3

АССОЦИАЦИИ ВОЗРАСТНЫХ, КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫХ И
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕНЩИН С
ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ АЛЕНДРОНОВОЙ
КИСЛОТОЙ

Для оценки влияния таких факторов, как возраст, рост, вес, длительность постменопаузы, а также генетических полиморфизмов генов *ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11* (*RANKL*) и *TNFRSF11B* (*OPG*) на количественные показатели прироста минеральной плотности кости в результате приема алендроновой кислоты было обследовано 136 пациентов с постменопаузальным ОП.

На начало терапии показатели (Me [Q25%; Q75%]) возраста и длительности постменопаузы у обследованных женщин составили соответственно 58,5 лет [54,0; 65,0] и 10,0 лет [4,0; 16,0]. Рост пациентов определялся в пределах от 144 см до 177 см, а вес – от 43 кг до 90 кг.

Обследование пациентов производили дважды – до начала терапии и по ее окончании. Всем женщинам назначали лечение постменопаузального ОП по стандартной схеме. Пациенты в течение 12 месяцев принимали препараты алендроновой кислоты (по 70 мг внутрь 1 раз в неделю), кальция (по 1000 мг в сутки) и холекальциферола (по 800 МЕ в сутки). Наряду с лекарственными препаратами всем больным рекомендовали сбалансированное питание, физические упражнения, устранение вредных привычек и другие общепринятые при остеопорозе лечебно-профилактические мероприятия.

До лечения и спустя 12 месяцев женщинам выполняли денситометрию костной ткани методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Исходя из результатов остеоденситометрии в динамике лечения, производили расчет показателей прироста минеральной плотности кости ($\Delta\text{МПК}$), выраженных в процентах:

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

где МПК₁ и МПК₂ – значения минеральной плотности кости до и по окончании курса терапии.

При сравнении результатов оценки конституциональных данных женщин до начала и через 12 месяцев лечения (таблица 3.1) было установлено, что увеличение на 1 год возраста и длительности постменопаузы сочеталось у пациентов с достоверной динамикой прироста показателей массы тела ($p=0,040$).

Таблица 3.1

Основные характеристики женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендронатом

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Me [Q25%; Q75%])		Р
	До начала терапии	Через 12 месяцев терапии	
Возраст, лет	58,5 [54,0; 65,0]	—	—
Рост, см	162,0 [158,0; 165,0]	162,0 [158,0; 165,0]	0,337
Вес, кг	67,5 [60,0; 73,0]	68,5 [60,0; 75,0]	0,040
Индекс массы тела	20,75 [18,6; 22,85]	21,1 [18,6; 23,15]	0,046
Длительность постменопаузы, лет	10,0 [4,0; 16,0]	—	—

Следует отметить, что вес женщин нарастал при неизменных значениях роста ($p=0,337$). Это обусловило статистически значимое повышение индекса массы тела ($p=0,046$).

Выполненная оценка показателей остеоденситометрии до и после лечения показала хорошую эффективность назначенной женщинам с постменопаузальным ОП терапии (таблица 3.2).

Таблица 3.2

Минеральная плотность костной ткани в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике 12-ти месячного курса лечения алендронатом

Участок денситометрии	Динамика показателей МПК (Ме [Q25%; Q75%], г/см ²)			Р
	МПК до лечения	МПК через 12 месяцев	ΔМПК, %	
Поясничные позвонки L1-L4 (n=134)	0,811 [0,727; 0,891]	0,844 [0,768; 0,910]	4,26 [1,00; 6,95]	<0,001
Шейка левого бедра (n=132)	0,649 [0,602; 0,710]	0,670 [0,607; 0,731]	2,42 * [-1,41; 5,53]	<0,001
Весь проксимальный отдел левого бедра (n=130)	0,765 [0,716; 0,853]	0,789 [0,741; 0,871]	2,76 [0,00; 5,95]	<0,001
Шейка правого бедра (n=120)	0,651 [0,592; 0,707]	0,678 [0,622; 0,726]	3,27 [0,00; 7,18]	<0,001
Весь проксимальный отдел правого бедра (n=117)	0,791 [0,731; 0,866]	0,817 [0,759; 0,903]	3,76 [-0,20; 6,65]	<0,001

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с аналогичным результатом в зоне поясничных позвонков L1-L4.

Причем, увеличение плотности костной ткани было отмечено во всех зонах денситометрии у женщин ($p < 0,001$). Показатели ΔМПК (Ме [Q25%; Q75%]) в шейке и проксимальном отделе левого бедра составили соответственно 2,42% [-

1,41; 5,53] и 2,76% [0,00; 5,95], а в аналогичных зонах справа – 3,27% [0,00; 7,18] и 3,76% [-0,20; 6,65] соответственно. Следует отметить, что прирост плотности костной ткани в поясничных позвонках L1-L4 был значительно выше, чем в зоне шейки левого бедра (4,26% [1,00; 6,95] против 2,42% [-1,41; 5,53]; $p < 0,05$).

Выполненный корреляционный анализ позволил оценить возможную роль конституциональных и возрастных факторов в лечении пациентов с постменопаузальным ОП (таблица 3.3). Исследование показало, что эффективность лечения не зависела от возраста женщин и длительности постменопаузального периода ($p > 0,05$). Не было обнаружено корреляционных связей между приростом значений МПК в различных зонах денситометрии и показателями массы тела и роста. Однако дальнейшей математической обработкой результатов исследования была установлена слабая положительная корреляционная связь между Δ МПК в проксимальном отделе правой бедренной кости и степенью увеличения ИМТ в динамике лечения ($p < 0,05$).

На следующем этапе математической обработки полученных результатов была выполнена оценка эффективности лечения женщин с постменопаузальным ОП в зависимости от генетических полиморфизмов. Для этого изучались ассоциации между степенью прироста плотности кости в различных участках скелета женщин и генотипами полиморфизмов rs2234693 (-397 T>C, PvuII) и rs9340799 (-351 G>A [XbaI]) гена *ESR1*, rs1800795 (-174 G>C) гена *IL-6*, rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* (RANKL) и rs3134069 (245 A>C) гена *TNFRSF11B* (OPG).

Результаты молекулярно-генетического тестирования женщин на полиморфизм rs2234693 гена *ESR1* позволили всех пациентов распределить в 3 группы в зависимости от полиморфных вариантов гена *ESR1*. Среди обследованных лиц гетерозиготный генотип по полиморфизму rs2234693 (СТ) имели 72 пациента (52,9%). Обладателей гомозиготных генотипов СС и ТТ было соответственно 28 (20,6%) и 36 (26,5%). Значения прироста МПК в различных участках скелета женщин трех выделенных групп представлены в таблице 3.4.

Показатели ранговой корреляции Спирмена между основными исходными характеристиками женщин и величиной прироста минеральной плотности костной ткани (Δ МПК, %) в различных участках скелета в результате лечения постменопаузального остеопороза алендронатом в течение 12 месяцев

Показатели	Срок обследования	Δ МПК в позвонках L1-L4	Δ МПК в левой бедренной кости		Δ МПК в правой бедренной кости	
			шейка	проксимальный отдел	шейка	проксимальный отдел
Возраст, лет	1	0,10	-0,03	-0,03	-0,08	0,12
Рост, см	1	-0,01	0,04	-0,12	-0,03	-0,11
	2	0,01	0,07	-0,15	-0,02	-0,08
Вес, кг	1	0,06	0,02	-0,06	0,08	0,04
	2	0,09	0,03	-0,03	0,07	0,05
ИМТ, кг/м ²	1	0,03	0,01	-0,03	0,08	0,05
	2	0,06	0,01	-0,01	0,08	0,07
Длительность постменопаузы, лет		0,04	-0,05	-0,04	-0,12	0,02
Прирост индекса массы тела, %		0,04	-0,13	0,07	-0,08	0,19 *

Примечание: * – $p < 0,05$; сроки обследования 1 и 2 – соответственно до лечения и спустя 12 месяцев.

Прирост минеральной плотности кости (Δ МПК) в результате 12 месячного курса лечения алендронатом у женщин с постменопаузальным ОП, имеющих различные генотипы полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*

Участок денситометрии	Показатели Δ МПК (Me [Q25%; Q75%]) в результате 12-ти месячного лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			Р	Р между группами
	ТТ (группа 1)	ТС (группа 2)	СС (группа 3)		
Позвонки L1-L4	2,53 [-0,28; 5,54] (n=37)	4,39 [1,75; 6,93] (n=71)	5,52 [1,66; 9,12] (n=26)	0,018	1-3: <0,05
Шейка левого бедра	2,70 [-1,56; 5,72] (n=36)	1,59 [-1,66; 5,20] (n=68)	3,90 [-0,84; 7,60] (n=28)	0,357	-
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,88 [0,42; 5,13] (n=36)	2,57 [-0,51; 6,69] (n=67)	2,77 [0,25; 7,34] (n=27)	0,752	-
Шейка правого бедра	3,20 [-0,75; 5,96] (n=32)	2,61 [0,0; 8,27] (n=66)	5,07 [1,97; 8,28] (n=22)	0,325	-
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,89 [0,17; 8,17] (n=32)	2,12 [-1,12; 5,90] (n=64)	4,41 [2,75; 8,75] (n=21)	0,091	-

Анализ показателей прироста минеральной плотности в проксимальных отделах левой и правой бедренных костей в зависимости от полиморфизма rs2234693 показал отсутствие различий между обладателями генотипов CC, CT и TT. Аналогично не было обнаружено ассоциаций генетического фактора и со значениями Δ МПК в шейках обеих бедренных костей. Таким образом, существенных различий по значениям Δ МПК в вышеуказанных зонах левой и правой бедренных костей в зависимости от исследованных полиморфных вариантов гена *ESR1* у женщин с постменопаузальным ОП в динамике лечения установлено не было ($p>0,05$).

Вместе с тем, следует обратить внимание на результаты денситометрии в поясничных позвонках L1-L4. Было установлено, что женщины с генотипом TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* имели в динамике лечения прирост плотности поясничных позвонков всего лишь на 2,53% [-0,28; 5,54], что было значительно меньше ($p<0,05$), чем у обладателей только генотипа CC (5,52% [1,66; 9,12]) или у всех остальных лиц (4,71% [1,75; 8,08]).

Исследование полиморфизма rs9340799 (-351 G>A [XbaI]) гена *ESR1* показало, что среди обследованных лиц генотипы AA, AG и GG имели соответственно 54 (39,7%), 62 (45,6%) и 20 (14,7%) пациентов. Изучение степени прироста МПК у женщин с различным генетическим профилем по полиморфизму rs9340799 гена *ESR1* (таблица 3.5) показало отсутствие ассоциаций между изученным генетическим полиморфизмом и эффективностью лечения ($p>0,05$). Значения Δ МПК у женщин с различным генетическим профилем полиморфизма rs9340799 при исследовании поясничных позвонков L1-L4 находились в пределах от 3,92% [1,03; 6,95] до 5,14% [1,67; 6,55], шейки левой и правой бедренных костей – от 1,67% [-2,04; 5,32] до 3,59% [-0,17; 5,74], всего проксимального отдела справа и слева – от 1,44% [-0,30; 8,10] до 4,34% [-0,16; 7,39].

Прирост минеральной плотности кости (Δ МПК) в результате 12 месячного курса лечения алендронатом у женщин с постменопаузальным ОП, имеющих различные генотипы полиморфизма rs9340799 (-351 G>A [XbaI]) гена *ESR1*

Участок денситометрии	Показатели Δ МПК (Ме [Q25%; Q75%]) в результате 12-ти месячного лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs9340799 гена <i>ESR1</i> :			Р	Р между группами
	AA (группа 1)	AG (группа 2)	GG (группа 3)		
Позвонки L1-L4	4,21 [0,90; 7,95] (n=53)	3,92 [1,03; 6,95] (n=61)	5,14 [1,67; 6,55] (n=20)	0,807	-
Шейка левого бедра	1,67 [-2,04; 5,32] (n=51)	2,40 [-1,38; 5,49] (n=61)	3,59 [-0,17; 5,74] (n=20)	0,603	-
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,50 [0,19; 6,03] (n=52)	2,96 [0,0; 5,95] (n=59)	1,44 [-0,30; 8,10] (n=19)	0,921	-
Шейка правого бедра	3,54 [-0,15; 8,87] (n=48)	3,10 [0,22; 6,39] (n=56)	3,01 [-0,82; 6,47] (n=16)	0,807	-
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,34 [-0,16; 7,39] (n=48)	3,43 [-0,39; 6,47] (n=54)	3,14 [-0,20; 6,22] (n=15)	0,842	-

Анализ результатов лечения женщин в зависимости от полиморфизма rs1800795 показал, что женщины с различными генетическими вариантами гена *IL-6* по полиморфизму rs1800795 существенно не различались достигнутым эффектом от лечения постменопаузального остеопороза препаратом алендроновой кислоты (таблица 3.6). Вместе с тем следует отметить, что пациенты с генотипом GG характеризовались близкой к статистической значимости тенденцией ($p=0,051$) к низкому приросту МПК в зоне шейки правого бедра. Значение Δ МПК в вышеуказанном участке скелета женщин с генотипом GG после 12-ти месячного курса лечения составило 0,78% [-1,06; 3,55], тогда как у остальных пациентов (CC+CG) аналогичный показатель равнялся 3,90% [0,62; 8,27].

Результаты исследования эффективности лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом, имеющими различные генотипы полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* (RANKL), представлены в таблице 3.7. Из 136 обследованных женщин получали курс терапии алендроновой кислотой 33 пациента с генотипом CC (24,3%) и 62 пациентов с генотипом CT (45,6%). Остальные же лица ($n=41$; 30,1%) были гомозиготными по аллелю T. Анализ показателей Δ МПК в поясничных позвонках L1-L4, в участках левой и правой бедренных костей в зависимости от полиморфных вариантов гена *TNFSF11* не позволил выявить влияние исследуемого генетического фактора на эффективность лечения остеопороза ($p>0,05$).

Для изучения ассоциаций полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* (OPG) со степенью прироста МПК обследованные женщины были распределены в 2 группы. В первую группу были отобраны женщины с генотипом AA ($n=104$). Вторую группу ($n=32$) составили пациенты с генотипом AC ($n=31$) и одна женщина, имеющая генотип CC ($n=1$). Результаты сравнительного анализа двух групп пациентов по показателю эффективности лечения представлены в таблице 3.8. Показатели Δ МПК в различных участках скелета женщин в двух группах существенно не отличались друг от друга ($p>0,05$).

Прирост минеральной плотности кости (Δ МПК) в результате 12 месячного курса лечения алендронатом у женщин с постменопаузальным ОП, имеющих различные генотипы полиморфизма rs1800795 гена *IL-6*

Участок денситометрии	Показатели Δ МПК (Me [Q25%; Q75%]) в результате 12-ти месячного лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена <i>IL-6</i> :			Р
	CC (n=30)	CG (n=77)	GG (n=27)	
Позвонки L1-L4	4,49 [1,44; 6,93] (n=30)	4,77 [0,75; 7,95] (n=77)	2,94 [1,00; 5,69] (n=27)	0,583
Шейка левого бедра	3,19 [-0,16; 5,65] (n=27)	1,81 [-1,58; 6,30] (n=78)	2,55 [-1,08; 5,16] (n=27)	0,820
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,57 [0,25; 6,52] (n=27)	2,86 [-1,09; 7,34] (n=77)	2,78 [0,82; 5,05] (n=26)	0,959
Шейка правого бедра	4,12 [0,28; 8,62] (n=28)	3,74 [0,62; 7,94] (n=69)	0,78 [-1,06; 3,55] (n=23)	0,126
Весь проксимальный отдел правого бедра	1,89 [-2,79; 5,67] (n=27)	4,47 [-0,06; 9,41] (n=68)	2,84 [0,75; 4,38] (n=22)	0,146

Прирост минеральной плотности кости (Δ МПК) в результате 12 месячного курса лечения алендронатом у женщин с постменопаузальным ОП, имеющих различные генотипы полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* (RANKL)

Участок денситометрии	Показатели Δ МПК (Ме [Q25%; Q75%]) в результате 12-ти месячного лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> :			Р
	СС (группа 1)	СТ (группа 2)	ТТ (группа 3)	
Позвонки L1-L4	2,79 [0,28; 6,51] (n=32)	4,67 [1,03; 6,40] (n=61)	5,16 [1,22; 8,08] (n=41)	0,511
Шейка левого бедра	2,55 [-1,38; 5,14] (n=31)	1,39 [-1,56; 5,20] (n=60)	3,15 [-0,16; 5,84] (n=41)	0,270
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,07 [-1,15; 7,82] (n=31)	2,81 [0,25; 5,38] (n=60)	2,96 [-0,15; 6,52] (n=39)	0,965
Шейка правого бедра	3,21 [-1,16; 7,76] (n=28)	3,10 [0,0; 7,69] (n=52)	3,37 [0,55; 6,71] (n=40)	0,965
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,76 [1,61; 8,09] (n=28)	2,29 [-0,61; 5,92] (n=51)	4,18 [-0,66; 7,04] (n=38)	0,236

Ассоциации генотипов полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* (OPG) с процентом прироста минеральной плотности костной ткани в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным ОП до и через 1 год после лечения препаратами алендроната, витамина D и кальция

Участок денситометрии	% прироста минеральной плотности кости (Me [Q25%; Q75%]) в динамике лечения у женщин с генотипами полиморфизма rs3134069 гена <i>TNFRSF11B</i> (OPG):		P
	AA	AC + CC (n=1)	
Позвонки L1-L4	3,97 [0,75; 6,82] (n=102)	5,29 [2,16; 8,24] (n=32)	0,114
Шейка левого бедра	2,41 [-1,45; 5,56] (n=99)	2,55 [-1,08; 4,45] (n=33)	0,914
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,92 [0,28; 5,95] (n=98)	1,38 [-0,90; 6,33] (n=32)	0,384
Шейка правого бедра	3,37 [-0,17; 7,44] (n=90)	2,97 [0,42; 6,58] (n=30)	0,682
Весь проксимальный отдел правого бедра	3,66 [-0,21; 7,39] (n=88)	4,36 [-0,11; 6,22] (n=29)	0,747

Таким образом, при обследовании 136 женщин с постменопаузальным ОП в динамике лечения установлена хорошая эффективность алендроновой кислоты. Прием вышеуказанного препарата в течение 12 месяцев приводит к увеличению плотности костной ткани у женщин во всех зонах денситометрии ($p < 0,001$). Причем, прирост МПК в поясничных позвонках L1-L4 значительно выше, чем в зоне шейки левого бедра ($p < 0,05$). Наряду с этим, к концу наблюдения у пациентов увеличиваются также вес тела ($p = 0,040$) и индекс массы тела ($p = 0,046$).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что эффективность лечения не зависит от возраста женщин, длительности постменопаузального периода, массы тела и роста ($p > 0,05$). Но при этом установлена слабая положительная корреляционная связь между Δ МПК в проксимальном отделе правой бедренной кости и степенью увеличения ИМТ в динамике лечения ($p < 0,05$).

Исследование генетических маркеров у женщин с постменопаузальным остеопорозом не позволило выявить ($p > 0,05$) влияния на эффективность лечения полиморфизмов rs9340799 (-351 G>A [XbaI]) гена *ESR1*, rs9594738 (C>T) гена *TNFSF11* (RANKL) и rs3134069 (245 A>C) гена *TNFRSF11B* (OPG). Однако установлено, что женщины с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* имеют в динамике лечения прирост плотности поясничных позвонков всего лишь на 2,53% [-0,28; 5,54], что значительно меньше ($p < 0,05$), чем у обладателей только генотипа СС (5,52% [1,66; 9,12]) или у всех остальных лиц (4,71% [1,75; 8,08]).

Кроме того, пациенты с генотипом GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* характеризуются близкой к статистической значимости тенденцией ($p = 0,051$) к низкому приросту МПК в зоне шейки правого бедра. Значение Δ МПК в вышеуказанном участке скелета женщин с генотипом GG после 12-ти месячного курса лечения составило всего лишь 0,78% [-1,06; 3,55], тогда как у остальных пациентов (СС+СГ) аналогичный показатель равнялся 3,90% [0,62; 8,27].

Полученные результаты свидетельствуют о наличии индивидуальной, в том числе генетически детерминированной, чувствительности женщин к лечению алендронатом. Знание закономерностей индивидуального ответа пациентов с

постменопаузальным остеопорозом на антиостеопоротическую терапию может быть использовано для разработки персонализированных схем терапии вышеуказанного заболевания.

ЭНДОКРИННЫЙ СТАТУС У ЖЕНЩИН С ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ АЛЕНДРОНАТОМ

4.1. Показатели гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом до и после 12-ти месячного курса приема алендроновой кислоты

По этиопатогенезу постменопаузальный остеопороз является многофакторным заболеванием. При этом огромное количество исследований свидетельствует о первостепенной и фундаментальной роли гормональных изменений, в частности снижения продукции эстрогенов, в потере костной массы женщинами в постменопаузе. С целью изучения гормональных особенностей у женщин с постменопаузальным остеопорозом было обследовано 136 пациентов с вышеуказанным заболеванием в динамике лечения алендроновой кислотой в течение 12 месяцев. Контрольными данными служили результаты исследования 75 здоровых женщин аналогичного возраста.

Исследование включало определение сывороточных концентраций эстрадиола, ФСГ, ЛГ, ТТГ, а также общей и свободной фракции тестостерона. Полученные результаты были проанализированы как в общей группе обследованных женщин до и после курса лечения, так и в подгруппах пациентов, имеющих различные генетические маркеры. Для этого все лица тестировались на полиморфизмы rs2234693 и rs9340799 гена *ESR1*, rs1800795 гена *IL-6*, rs9594738 гена *TNFSF11* и rs3134069 гена *TNFRSF11B*.

Выполненные исследования позволили выявить изменения уровней отдельных гормональных показателей при остеопоротических нарушениях у женщин в постменопаузе (таблица 4.1). Постменопаузальный остеопороз перед началом антиостеопоротического лечения характеризовался достоверно сниженными концентрациями ТТГ ($p=0,025$) и близкой к статистической значимости тенденцией к уменьшению содержания в сыворотке крови

тестостерона свободного ($p=0,079$). При этом по уровням эстрадиола, ФСГ, ЛГ и общего тестостерона пациенты с постменопаузальным остеопорозом существенно не отличались от здоровых женщин ($p>0,05$).

Таблица 4.1

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом**

Показатели	Содержание гормонов (Ме [Q25%; Q75%]) в сыворотке крови у:		Р
	здоровых женщин (n=75)	женщин с постменопаузальным остеопорозом (n=136)	
Эстрадиол, пг/мл	16,7 [11,3; 27,5]	17,5 [10,9; 27,2]	0,973
ФСГ, мМЕ/мл	60,2 [40,3; 74,7]	64,3 [43,9; 81,3]	0,279
ЛГ, мМЕ/мл	46,2 [38,8; 55,5]	46,2 [33,0; 60,6]	0,910
ТТГ, мкМЕ/мл	2,43 [1,59; 3,01]	1,91 [1,20; 2,87]	0,025
Тестостерон общий, нмоль/л	1,51 [0,65; 2,42]	1,49 [0,64; 2,35]	0,817
Тестостерон свободный, нг/л	1,69 [0,99; 3,06]	1,56 [0,70; 2,51]	0,079

В динамике лечения существенных изменений в концентрациях изученных гормонов установлено не было (таблица 4.2). Обращает внимание только лишь близкая к статистической значимости тенденция к нарастанию показателей тестостерона свободного ($p=0,062$).

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой**

Показатели	Содержание гормонов (Ме [Q25%; Q75%]) в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным остеопорозом (n=136)		Р
	До лечения	После лечения	
ТТГ, мкМЕ/мл	1,91 [1,20; 2,87]	2,04 [1,02; 3,03]	0,590
ФСГ, мМЕ/мл	64,3 [43,9; 81,3]	64,3 [38,6; 84,4]	0,907
ЛГ, мМЕ/мл	46,2 [33,0; 60,6]	48,1 [29,2; 67,1]	0,865
Тестостерон общий, нмоль/л	1,49 [0,64; 2,35]	1,54 [0,78; 2,57]	0,141
Тестостерон свободный, нг/л	1,56 [0,70; 2,51]	1,70 [1,00; 3,10]	0,062
Эстрадиол, пг/мл	17,5 [10,9; 27,2]	15,8 [9,8; 25,4]	0,251

К концу 12-ти месячного курса терапии постменопаузального остеопороза содержание в сыворотке крови женщин гормонов не отличалось от аналогичных показателей, определенных в контрольной группе ($p > 0,05$). Так, у пациентов прошедших курс терапии, сывороточные значения эстрадиола (15,8 [9,8; 25,4] пг/мл), ФСГ (64,3 [38,6; 84,4] мМЕ/мл) и ЛГ (48,1 [29,2; 67,1] мМЕ/мл) соответствовали показателям здоровых женщин (16,7 [11,3; 27,5] пг/мл, 60,2 [40,3;

74,7] мМЕ/мл и 46,2 [38,8; 55,5] мМЕ/мл соответственно). При этом значения p составили соответственно 0,280, 0,500 и 0,694.

Не было выявлено различий между больными с постменопаузальным остеопорозом после лечения и лицами контрольной группы также и по значениям ТТГ (2,04 [1,02; 3,03] мкМЕ/мл и 2,43 [1,59; 3,01] мкМЕ/мл соответственно; $p=0,215$), тестостерона общего (1,54 [0,78; 2,57] нмоль/л и 1,51 [0,65; 2,42] нмоль/л соответственно; $p=0,418$), тестостерона свободного (1,70 [1,00; 3,10] нг/л и 1,69 [0,99; 3,06] нг/л соответственно; $p=0,890$).

4.2. Ассоциации уровней гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом в зависимости от генетических полиморфизмов генов *ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11* (RANKL) и *TNFRSF11B* (OPG)

В таблице 4.3 представлены показатели эстрадиола, ФСГ, ЛГ, тестостерона общего и свободного, ТТГ в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом в зависимости от полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1*. Для изучения возможной роли вышеуказанного полиморфизма в регуляции продукции гормонов все пациенты с остеопорозом были распределены в 3 группы. Первую группу составили лица с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 ($n=36$), а вторую и третью – женщины, имеющие соответственно генотипы ТС ($n=72$) и СС ($n=28$).

Выполненный анализ показал, что содержание в сыворотке крови эстрадиола, ФСГ, ЛГ и ТТГ не различалось между пациентами с различными генотипами полиморфизма rs2234693 ни до, ни после курса терапии ($p>0,05$). Не было установлено достоверных связей генетического маркера и с показателями тестостерона общего и свободного. Хотя следует обратить внимание на то, что была выявлена близкая к статистической значимости ассоциация полиморфизма rs2234693 с уровнями тестостерона общего до ($p=0,090$) и после ($p=0,074$) лечения, а тестостерона свободного – после ($p=0,052$) лечения.

Необходимо отметить, что более детальный анализ результатов показал все-таки наличие достоверных связей полиморфизма rs2234693 с андрогеновым статусом. Так, было установлено, что обладатели аллеля Т (ТТ+ТС, n=108) до инициации лечения имели более низкое содержание в сыворотке крови тестостерона общего, чем гомозиготные по аллелю С пациенты (СС, n=28) – 1,36 [0,64; 2,30] нмоль/л против 1,91 [0,84; 2,50] нмоль/л ($p=0,046$). Эта же особенность андрогенового статуса у женщин с постменопаузальным остеопорозом с различными вариантами гена *ESR1* по полиморфизму rs2234693 сохранилась и после лечения. К концу 12-ти месячного курса терапии у обладателей генотипов ТТ или ТС (n=108) концентрация вышеуказанного гормона составила 1,40 [0,067; 2,40] нмоль, тогда как в группе сравнения (n=28) – у лиц с генотипом СС – 1,98 [1,25; 3,20] нмоль/л ($p=0,024$).

При повторном обследовании полиморфизм rs2234693 гена *ESR1* проявил себя также и наличием ассоциации с показателем тестостерона свободного. После лечения значения этого гормона у женщин с постменопаузальным остеопорозом, имеющих ТТ генотип (n=36), составили 1,40 [0,70; 2,45] нг/л, что было ниже аналогичного показателя в группе носителей аллеля С (генотипы ТС и СС, n=100) – 1,90 [1,20; 3,20] нг/л ($p=0,042$).

Кроме вышеизложенного, следует указать на то, что у женщин, имеющих генотип ТС, обнаружена динамика нарастания концентраций тестостерона свободного на фоне проведенного лечения ($p=0,027$). При этом продукция вышеуказанного гормона не изменялась при повторном обследовании относительно исходных данных ни в общей группе женщин ($p>0,05$), ни у обладателей генотипов ТТ ($p>0,05$) или СС ($p>0,05$).

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендронатом в
зависимости от генотипов полиморфизма rs2234693 (PvuII) гена *ESR1***

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			
		ТТ, n=36	ТС, n=72	СС, n=28	Р
Эстрадиол, пг/мл	1	15,9 [9,35; 26,0]	17,8 [10,35; 25,7]	21,8 [12,05; 30,2]	0,284
	2	16,4 [8,3; 24,45]	15,65 [9,6; 25,4]	16,15 [10,85; 25,1]	0,847
	Р	-	-	-	
ФСГ, мМЕ/мл	1	69,3 [44,2; 79,4]	63,9 [43,5; 84,7]	58,7 [43,0; 69,8]	0,523
	2	66,6 [36,2; 85,7]	61,8 [41,0; 83,0]	63,7 [34,2; 88,9]	0,968
	Р	-	-	-	
ЛГ, мМЕ/мл	1	45,1 [32,0; 63,8]	42,8 [32,9; 59,4]	51,4 [39,0; 62,4]	0,400
	2	53,3 [38,3; 70,2]	47,7 [27,5; 68,4]	40,5 [26,9; 59,8]	0,129
	Р	-	-	-	
ТТГ, мкМЕ/мл	1	1,86 [1,22; 2,95]	1,60 [1,00; 2,78]	2,15 [1,71; 2,97]	0,150
	2	2,39 [1,29; 2,90]	2,28 [1,00; 3,48]	1,69 [0,96; 2,79]	0,434
	Р	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs2234693 (-397 T>C,
PvuII) гена *ESR1***

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			
		ТТ, n=36	ТС, n=72	СС, n=28	Р
Тестостерон общий, нмоль/л	1	1,61 [0,84; 2,42]	1,15 [0,53; 2,09]	1,91 [0,84; 2,50]	0,090
	2	1,52 [0,66; 2,44]	1,31 [0,67; 2,40]	1,98 [1,25; 3,20]	0,074
	Р	-	-	-	
Тестостерон свободный, нг/л	1	1,43 [0,66; 2,51]	1,64 [0,66; 2,73]	1,65 [0,89; 2,41]	0,919
	2	1,40 [0,70; 2,45]	2,05 [1,20; 3,50]	1,75 [1,15; 2,25]	0,052
	Р	-	0,027	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Уровни гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой кислотой в зависимости от результатов детекции другого генетического полиморфизма гена *ESR1* (rs9340799; -351 G>A; XbaI) представлены в таблице 4.4. Результаты тестирования женщин на полиморфизм rs9340799 показал, что генотипы AA, AG, и GG имели соответственно 54, 62 и 20 пациентов.

Выделенные три группы женщин по генетическому профилю полиморфизма rs9340799 существенно не отличались концентрациями эстрадиола, ФСГ, ЛГ, ТТГ, тестостерона общего и свободного ни до, ни после терапии алендроновой кислотой ($p>0,05$).

Для сывороточных показателей пяти из шести гормонов не было установлено изменений также и в динамике лечения ($p>0,05$). Исключение составили лишь результаты определения содержания тестостерона свободного. До инициации лечения в группе обладателей генотипа AA полиморфизма rs9340799 значение вышеуказанного гормона составило 1,39 [0,63; 2,17] нг/л. После лечения же этот показатель достоверно увеличился до уровня 1,65 [1,00; 3,00] нг/л ($p=0,049$).

Для изучения возможного влияния полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* на сывороточные уровни гормонов у женщин постменопаузального возраста в динамике лечения остеопороза все пациенты были распределены в три группы (таблица 4.5). Исходя из генетического профиля, были выделены лица, имеющие генотипы вышеуказанного полиморфизма CC ($n=30$), CG ($n=78$) и GG ($n=28$). Анализ полученных в группах результатов гормональных исследований как до лечения, так и к концу терапии показал отсутствие ассоциаций полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* с сывороточными концентрациями всех изученных гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом ($p>0,05$).

Вместе с тем, обладатели генотипа CC отличались близкой к статистической значимости тенденцией к нарастанию уровней тестостерона свободного в динамике лечения ($p=0,084$). Не достигала достоверности и тенденция к снижению спустя 12 месяцев лечения содержания в сыворотке крови ФСГ у пациентов с генотипом GG ($p=0,091$). Однако наличие генотипа GG все-таки сочеталось с доказанным увеличением продукции в динамике терапии тестостерона свободного (1,23 [0,41; 2,49] нг/л до лечения; 2,00 [1,25; 3,20] нг/л после; $p=0,044$).

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендронатом в
зависимости от генотипов полиморфизма rs9340799 (XbaI) гена *ESR1***

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9340799 гена <i>ESR1</i> :			
		AA (n=54)	AG (n=62)	GG (n=20)	P
Эстрадиол, пг/мл	1	17,7 [11,4; 25,8]	16,4 [10,1; 28,2]	20,3 [12,1; 26,5]	0,757
	2	18,5 [10,8; 27,2]	14,0 [9,2; 21,6]	18,7 [10,3; 28,2]	0,214
	P	-	-	-	
ФСГ, мМЕ/мл	1	64,3 [43,5; 78,5]	62,6 [44,2; 82,4]	67,2 [42,0; 82,9]	0,914
	2	65,5 [45,6; 84,3]	62,7 [36,6; 82,5]	62,7 [38,4; 85,0]	0,964
	P	-	-	-	
ЛГ, мМЕ/мл	1	50,2 [34,5; 66,8]	42,2 [32,5; 59,7]	48,4 [31,0; 56,0]	0,368
	2	50,5 [31,0; 69,3]	47,6 [27,0; 64,8]	45,9 [25,7; 66,7]	0,508
	P	-	-	-	
ТТГ, мкМЕ/мл	1	1,91 [1,22; 2,87]	1,95 [1,10; 2,97]	1,78 [1,13; 2,67]	0,974
	2	2,32 [0,95; 3,10]	2,18 [1,40; 3,00]	1,74 [0,99; 2,92]	0,711
	P	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs9340799 (-351 G>A
[XbaI]) гена *ESR1***

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9340799 гена <i>ESR1</i> :			
		AA (n=54)	AG (n=62)	GG (n=20)	P
Тестостерон общий, нмоль/л	1	1,54 [0,60; 2,50]	1,52 [0,66; 2,34]	1,34 [0,69; 1,99]	0,918
	2	1,65 [0,89; 2,70]	1,31 [0,63; 2,39]	1,58 [0,59; 2,35]	0,551
	P	-	-	-	
Тестостерон свободный, нг/л	1	1,39 [0,63; 2,17]	1,67 [0,72; 2,77]	1,27 [0,66; 2,72]	0,400
	2	1,65 [1,00; 3,00]	1,75 [1,00; 3,00]	1,95 [0,95; 3,20]	0,954
	P	0,049	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs1800795 гена *IL-6***

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Ме [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена <i>IL-6</i> :			
		CC (n=30)	CG (n=78)	GG (n=28)	P
Эстрадиол, пг/мл	1	17,4 [11,4; 24,3]	17,2 [10,7; 28,2]	19,5 [11,1; 26,5]	0,676
	2	15,8 [10,4; 24,4]	15,7 [10,1; 24,1]	18,3 [9,4; 27,9]	0,980
	P	-	-	-	
ФСГ, мМЕ/мл	1	60,2 [40,2; 73,0]	62,6 [43,5; 84,4]	72,0 [46,3; 84,5]	0,363
	2	63,5 [40,6; 81,3]	67,4 [41,3; 86,6]	57,6 [35,2; 76,2]	0,441
	P	-	-	0,091	
ЛГ, мМЕ/мл	1	48,0 [33,4; 65,1]	42,2 [32,1; 57,8]	53,0 [34,7; 65,4]	0,329
	2	52,2 [31,0; 70,9]	46,0 [26,7; 62,3]	54,4 [31,6; 68,4]	0,324
	P	-	-	-	
ТТГ, мкМЕ/мл	1	1,97 [1,26; 3,11]	1,93 [1,21; 2,87]	1,77 [0,95; 2,54]	0,447
	2	2,67 [1,26; 3,64]	1,95 [1,04; 2,83]	1,88 [0,85; 3,48]	0,269
	P	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs1800795 гена *IL-6***

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Ме [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена <i>IL-6</i> :			
		CC (n=30)	CG (n=78)	GG (n=28)	P
Тестостерон общий, нмоль/л	1	1,52 [0,64; 2,10]	1,50 [0,70; 2,37]	1,44 [0,49; 2,34]	0,748
	2	1,57 [0,73; 2,58]	1,49 [0,82; 2,54]	1,54 [0,74; 2,35]	0,906
	P	-	-	-	
Тестостерон свободный, нг/л	1	1,62 [0,74; 2,48]	1,61 [0,73; 2,54]	1,23 [0,41; 2,49]	0,593
	2	1,85 [1,10; 3,50]	1,65 [0,90; 2,80]	2,00 [1,25; 3,20]	0,281
	P	0,084	-	0,044	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Используя стандартный алгоритм для изучения роли генетических маркеров в эндокринном статусе пациентов, нами были выделены 3 группы лиц с постменопаузальным остеопорозом в зависимости от генетического полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*, который кодирует экспрессию цитокина RANKL. Гомозиготные генотипы CC и TT вышеуказанного полиморфизма имели 32 и 42 женщины, а гетерозиготный генотип CT – 62 (таблица 4.6).

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендронатом в
зависимости от генотипов полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* (RANKL)**

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Ме [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> :			
		СС (n=32)	СТ (n=62)	ТТ (n=42)	Р
Эстрадиол, пг/мл	1	17,5 [10,6; 27,3]	18,1 [9,7; 29,5]	17,1 [11,4; 25,2]	0,681
	2	16,8 [10,5; 22,1]	15,1 [9,4; 24,4]	16,8 [10,4; 30,5]	0,238
	Р	-	-	-	
ФСГ, мМЕ/мл	1	65,8 [43,5; 78,8]	64,8 [40,8; 81,8]	62,9 [45,5; 81,0]	0,991
	2	66,9 [33,9; 85,1]	57,7 [34,2; 81,3]	73,0 [48,7; 91,1]	0,074
	Р	-	-	-	
ЛГ, мМЕ/мл	1	52,1 [38,1; 65,8]	40,0 [31,6; 57,6]	50,0 [34,3; 64,0]	0,119
	2	48,9 [28,8; 66,1]	49,5 [29,4; 71,4]	45,5 [27,8; 64,3]	0,713
	Р	-	-	-	
ТТГ, мкМЕ/мл	1	2,00 [1,49; 3,08]	1,94 [0,95; 2,87]	1,69 [1,10; 2,40]	0,426
	2	1,82 [1,09; 2,90]	2,35 [1,27; 3,59]	1,97 [0,69; 3,07]	0,408
	Р	-	0,139	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs9594738 гена
TNFSF11 (RANKL)**

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> :			
		СС (n=32)	СТ (n=62)	ТТ (n=42)	Р
Тестостерон общий, нмоль/л	1	1,71 [0,89; 2,23]	1,43 [0,65; 2,36]	1,23 [0,57; 2,12]	0,423
	2	1,40 [1,05; 2,31]	1,56 [0,60; 2,78]	1,61 [0,81; 2,42]	0,991
	Р	-	-	-	
Тестостерон свободный, нг/л	1	1,51 [0,57; 2,45]	1,50 [0,74; 2,40]	1,65 [0,66; 2,67]	0,997
	2	1,75 [0,70; 3,15]	1,70 [1,00; 3,10]	1,75 [1,20; 2,80]	0,971
	Р	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сравнительный анализ не позволил выявить достоверных различий между группами по уровням гормонов. Причем, отличия между обладателями генотипов СС, СТ и ТТ отсутствовали и до лечения, и после курса терапии ($p > 0,05$). Кроме того, не было выявлено статистически значимых изменений гормонов и в динамике приема алендроновой кислоты. Вместе с тем, стоит указать на тенденцию к более низким показателям ФСГ при генотипе СТ у женщин с постменопаузальным остеопорозом при повторном обследовании ($p = 0,074$).

Для изучения ассоциаций полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* с уровнями гормонов все женщины с постменопаузальным остеопорозом были распределены в 2 группы (таблица 4.7). Отдельно были выделены больные с генотипом АА вышеуказанного полиморфизма (n=103). В связи с редкой встречаемостью генотипа СС полиморфизма rs3134069 (1 случай), женщина с данным сочетанием аллелей была включена в одну группу с гетерозиготными лицами. Таким образом, вторую группу (n=33) составили лица с генотипом АС (n=32) и одна женщина, имеющая генотип СС (n=1).

Выполненная статистическая обработка материала показала, что полиморфизм rs3134069 гена *TNFRSF11B*, который кодирует цитокин OPG, не обнаружил ни одной ассоциации с изученными эндокринными факторами ($p>0,05$). А тенденция к увеличению в сыворотке крови в результате лечения тестостерона общего ($p=0,066$) и свободного ($p=0,080$) не достигала достоверной значимости.

Таким образом, установлено, что женщины с постменопаузальным остеопорозом характеризуются сниженными концентрациями ТТГ ($p=0,025$). Изменения уровней отдельных гормонов имеют ассоциации с изученными полиморфизмами. Обладатели аллеля Т (ТТ+ТС) полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* до лечения имеют сниженное содержание в сыворотке крови тестостерона общего ($p=0,046$). Эта особенность андрогенового статуса у женщин с постменопаузальным остеопорозом, имеющих генотипы ТТ или ТС полиморфизма rs2234693, сохранилась и после лечения ($p=0,024$).

Кроме того, по окончании терапии у женщин с постменопаузальным остеопорозом, имеющих ТТ генотип полиморфизма rs2234693, были выявлены и сниженные значения тестостерона свободного ($p=0,042$). А у обладателей генотипа ТС обнаружена динамика нарастания концентраций тестостерона свободного на фоне проведенного лечения ($p=0,027$).

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs3134069 гена
TNFRSF11B (OPG)**

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs3134069 гена <i>TNFRSF11B</i> :		
		AA (n=103)	AC+CC (n=32+1)	P
Эстрадиол, пг/мл	1	17,7 [11,4; 27,8]	15,3 [9,7; 23,3]	0,330
	2	15,7 [9,6; 25,7]	16,7 [10,5; 24,4]	0,984
	P	-	-	
ФСГ, мМЕ/мл	1	63,2 [42,7; 80,9]	68,8 [46,1; 81,6]	0,655
	2	64,9 [35,7; 85,8]	63,7 [42,9; 82,3]	0,664
	P	-	-	
ЛГ, мМЕ/мл	1	43,4 [32,5; 63,6]	50,0 [35,1; 59,7]	0,493
	2	47,2 [27,1; 66,6]	49,0 [32,8; 72,9]	0,344
	P	-	-	
ТТГ, мкМЕ/мл	1	1,72 [1,04; 2,87]	2,23 [1,62; 2,97]	0,411
	2	2,03 [1,00; 3,00]	2,52 [1,27; 3,11]	0,539
	P	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

**Концентрации гормонов в сыворотке крови у женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs3134069 гена
TNFRSF11B (OPG)**

Показатели	Срок обследования	Уровни гормонов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs3134069 гена <i>TNFRSF11B</i> :		
		AA (n=103)	AC+CC (n=32+1)	P
Тестостерон общий, нмоль/л	1	1,51 [0,64; 2,36]	1,23 [0,45; 2,29]	0,582
	2	1,47 [0,77; 2,40]	1,91 [0,90; 3,18]	0,184
	P	-	0,066	
Тестостерон свободный, нг/л	1	1,57 [0,63; 2,61]	1,47 [0,93; 2,20]	0,745
	2	1,70 [1,00; 3,10]	1,80 [1,10; 2,60]	0,883
	P	-	0,080	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Увеличение концентраций тестостерона свободного в динамике наблюдения было установлено и среди женщин, имеющих генотип AA другого полиморфизма гена *ESR1* – rs9340799 ($p=0,049$). Аналогичное нарастание сывороточных показателей тестостерона свободного также обнаружено и у носителей генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* ($p=0,044$).

Полученные данные целесообразно использовать как при разработке прогностических критериев для выявления предрасположенности к

постменопаузальному ОП, так и для индивидуализации лечебно-профилактических мероприятий.

РАЗДЕЛ 5

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ЖЕНЩИН С
ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ
АЛЕНДРОНАТОМ

**5.1. Уровни цитокинов в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным
остеопорозом до и после 12-ти месячного курса лечения алендронатом**

Степень потери костной массы у женщин с постменопаузальным остеопорозом зависит от соотношения между функциональными показателями остеобластов, которые обеспечивают костеобразование, и остеокластов, выполняющих резорбцию кости. Созревание и активность вышеуказанных клеток костной системы, а также обеспечение их функционального баланса обусловлены, в первую очередь, рядом цитокинов.

Исходя из вышеизложенного, нами была изучена у женщин с постменопаузальным остеопорозом системная продукция цитокинов, которые играют важную роль в метаболизме костной ткани и патогенезе остеопороза.

Исследование выполнялось дважды – перед началом 12-ти месячного курса лечения препаратом алендроновой кислоты и по его завершении. Обследование пациентов включало определение сывороточных уровней фактора некроза опухолей альфа (TNF- α), интерлейкинов IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, остеопротегерина (OPG) и лиганда активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL).

На первом этапе анализа полученных данных была выполнена сравнительная оценка цитокинового статуса у 136 женщин с постменопаузальным остеопорозом до лечения и 75 женщин контрольной группы (таблица 5.1).

**Сывороточные показатели цитокинов у женщин с постменопаузальным
остеопорозом**

Показатели	Содержание цитокинов (Ме [Q25%; Q75%]) в сыворотке крови:		Р
	здоровых женщин (n=75)	женщин с постменопаузальным остеопорозом (n=136)	
TNF- α , пг/мл	0,0 [0,0; 2,5]	0,45 [0,0; 4,4]	0,183
IL-1 β , пг/мл	2,0 [1,0; 4,4]	3,95 [1,1; 7,8]	0,035
IL-6, пг/мл	0,5 [0,0; 3,0]	2,95 [0,2; 5,8]	<0,001
IL-10, пг/мл	4,1 [2,6; 6,9]	5,5 [1,85; 8,85]	0,394
IL-17A, пг/мл	1,5 [0,0; 4,2]	2,2 [0,4; 5,7]	0,056
OPG, пг/мл	78,1 [48,0; 106,7]	85,3 [46,2; 152,4]	0,106
RANKL, пг/мл	3,3 [1,1; 5,6]	4,1 [2,7; 6,9]	0,033
OPG/RANKL	22,1 [10,1; 71,4]	21,45 [10,25; 38,65]	0,382

На момент начала антиостеопоротической терапии женщины характеризовались существенно повышенными значениями в сыворотке крови остеокластогенных цитокинов IL-1 β (3,95 [1,1; 7,8] пг/мл против 2,0 [1,0; 4,4] пг/мл в контроле; p=0,035) и RANKL (4,1 [2,7; 6,9] пг/мл против 3,3 [1,1; 5,6]

пг/мл в контроле; $p=0,033$). Кроме того, было обнаружено увеличение в 5,9 раз сывороточных уровней еще одного провоспалительного цитокина – IL-6 (2,95 [0,2; 5,8] пг/мл против 0,5 [0,0; 3,0] пг/мл в контроле; $p<0,001$). Наряду с этим была выявлена близкая к статистической значимости тенденция к увеличению значений IL-17A ($p=0,056$). Показатели же остальных цитокинов (TNF- α , IL-10, OPG), а также соотношения OPG/RANKL определялись на уровне контрольных значений ($p>0,05$).

На втором этапе анализа медиаторов межклеточного взаимодействия была выполнена оценка уровней цитокинов у женщин с постменопаузальным остеопорозом до и после проведенного курса лечения (таблица 5.2). При этом было установлено, что ассоциация постменопаузального ОП с повышенными сывороточными показателями RANKL, выявленная до терапии, была нивелирована спустя год лечения (3,85 [0,75; 7,05] пг/мл против 3,3 [1,1; 5,6] пг/мл в контроле; $p>0,05$). Наряду с этим и после лечения у пациентов сохранялись увеличенные концентрации IL-1 β (4,45 [1,8; 8,25] пг/мл против 2,0 [1,0; 4,4] пг/мл в контроле; $p=0,002$) и IL-6 (3,3 [0,05; 5,95] пг/мл против 0,5 [0,0; 3,0] пг/мл в контроле; $p<0,001$). Следует отметить динамику снижения содержания в сыворотке крови OPG – от 85,3 [46,2; 152,4] пг/мл перед лечением до 77,0 [47,7; 105,6] пг/мл после терапии ($p=0,013$). Это обусловило, конечно же, и снижение к концу терапии индекса OPG/RANKL ($p=0,010$).

**Содержание цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) в сыворотке крови женщин с
постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендроновой
кислотой**

Показатели	Женщины с остеопорозом (n=136)		Р
	До лечения	После лечения	
TNF- α , пг/мл	0,45 [0,0; 4,4]	0,35 [0,0; 3,95]	-
IL-1 β , пг/мл	3,95 [1,1; 7,8]	4,45 [1,8; 8,25]	-
IL-6, пг/мл	2,95 [0,2; 5,8]	3,3 [0,05; 5,95]	-
IL-10, пг/мл	5,5 [1,85; 8,85]	4,3 [1,85; 7,85]	-
IL-17A, пг/мл	2,2 [0,4; 5,7]	2,45 [0,0; 5,2]	-
OPG, пг/мл	85,3 [46,2; 152,4]	77,0 [47,7; 105,6]	0,013
RANKL, пг/мл	4,1 [2,7; 6,9]	3,85 [0,75; 7,05]	-
OPG/RANKL	21,45 [10,25; 38,65]	18,4 [9,8; 85,5]	0,010

5.2. Ассоциации генетических полиморфизмов генов *ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11* (*RANKL*) и *TNFRSF11B* (*OPG*) с уровнями цитокинов в сыворотке крови у женщин с постменопаузальным остеопорозом до и после 12-ти месячного курса лечения алендронатом

Наряду с изучением концентраций цитокинов в общей группе женщин с постменопаузальным остеопорозом была проведена также оценка их значений в зависимости от генетических полиморфизмов генов *ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11* и *TNFRSF11B*. Полученные результаты у женщин с различными генотипами полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1* представлены в таблицах 5.3 и 5.4. Следует отметить отсутствие особенностей в продукции TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 и IL-17A у носителей генотипов TT, TC и CC вышеуказанного полиморфизма ($p>0,05$). Обладатели различных вариантов гена *ESR1* не отличались между собой по уровням вышеуказанных цитокинов как до терапии, так и после ($p>0,05$). Не было существенных изменений концентраций TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A и в динамике лечения ($p>0,05$).

Анализ показателей OPG показал, что выявленное у женщин общей группы снижение его уровней в динамике лечения (от 85,3 [46,2; 152,4] пг/мл до 77,0 [47,7; 105,6] пг/мл; $p=0,013$), было обусловлено пациентами, имеющими генотип CC полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* (от 115,7 [65,0; 162,2] пг/мл до 82,8 [51,8; 107,8] пг/мл; $p=0,036$).

Исследование уровней медиатора воспаления RANKL в зависимости от полиморфных вариантов гена *ESR1* показало, что женщины с генотипом TT полиморфизма rs2234693 характеризовались существенно повышенной продукцией вышеуказанного цитокина как до ($p=0,011$), так и после проведенного лечения ($p=0,042$). Так, обладатели генотипа TT и при первом, и при втором обследовании имели более высокие показатели вышеуказанного цитокина (4,7 [3,35; 8,2] пг/мл и 5,6 [2,15; 9,55] пг/мл соответственно), чем у остальных пациентов (3,95 [2,1; 6,1] пг/мл и 3,5 [0,4; 6,2] пг/мл соответственно).

Сывороточные уровни TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-10 до и после лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1*

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Ме [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			
		ТТ, n=36	ТС, n=72	СС, n=28	Р
TNF- α (пг/мл)	1	0,7 [0,0; 4,6]	0,75 [0,0; 4,65]	0,0 [0,0; 3,4]	0,486
	2	0,0 [0,0; 3,0]	1,35 [0,0; 4,25]	0,45 [0,0; 3,15]	0,086
	Р	-	-	-	
IL-1 β (пг/мл)	1	3,35 [0,8; 5,15]	4,8 [1,45; 8,4]	3,5 [1,1; 6,0]	0,157
	2	4,35 [0,95; 9,75]	4,35 [2,3; 8,1]	4,65 [0,35; 7,1]	0,858
	Р	-	-	-	
IL-6 (пг/мл)	1	1,85 [0,0; 5,3]	3,0 [0,8; 5,1]	3,1 [0,0; 5,2]	0,186
	2	3,2 [0,0; 5,4]	2,65 [0,0; 5,8]	3,8 [2,1; 7,7]	0,280
	Р	-	-	-	
IL-10 (пг/мл)	1	5,15 [1,55; 9,4]	5,05 [2,05; 8,25]	6,05 [1,45; 9,25]	0,944
	2	5,1 [2,4; 7,55]	4,2 [1,05; 8,05]	4,1 [2,35; 8,7]	0,896
	Р	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сывороточные уровни IL-17A, OPG и RANKL в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs2234693 (-397 T>C, PvuII) гена *ESR1*

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Ме [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :			
		TT, n=36	TC, n=72	CC, n=28	P
IL-17A (пг/мл)	1	0,95 [0,0; 4,9]	2,55 [0,65; 5,75]	2,55 [1,1; 5,9]	0,150
	2	2,75 [0,35; 5,25]	2,4 [0,0; 4,95]	0,8 [0,0; 5,65]	0,609
	P	-	-	-	
OPG (пг/мл)	1	85,3 [34,7; 156,1]	81,6 [55,9; 147,0]	115,7 [65,0; 162,2]	0,505
	2	72,2 [39,6; 103,5]	77,4 [50,7; 105,6]	82,8 [51,8; 107,8]	0,800
	P	-	-	0,036	
RANKL (пг/мл)	1	4,7 * [3,35; 8,2]	4,0 [2,1; 6,0]	3,45 [2,1; 6,2]	0,040
	2	5,6 * [2,15; 9,55]	3,75 [0,5; 6,75]	3,05 [0,25; 5,75]	0,010
	P	-	-	-	
OPG/ RANKL	1	13,4 * [6,9; 28,7]	23,4 [13,8; 43,6]	23,7 [12,6; 56,6]	0,024
	2	13,55 * [7,85; 34,4]	20,1 [10,5; 114,9]	31,45 [14,7; 243,7]	0,009
	P	-	-	0,031	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения; * – $p < 0,05$ по сравнению с TC+CC.

По всей видимости, эта особенность в синтезе RANKL и обусловила ассоциацию полиморфизма rs2234693 со значениями индекса OPG/RANKL. До начала терапии носители генотипа ТТ имели существенно сниженные показатели OPG/RANKL (13,4 [6,9; 28,7] против 23,4 [13,0; 47,6] у остальных; $p=0,006$). Эта же отличительная особенность женщин с вышеуказанным генотипом сохранилась и по окончании курса терапии (13,55 [7,85; 34,4] против 23,3 [12,1; 157,0] у остальных; $p=0,027$). Важно отметить, что у обладателей генотипов ТТ и ТС соотношение OPG/RANKL в динамике лечения существенно не изменялось ($p>0,05$). Однако, наличие генотипа СС полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* сочеталось у женщин с достоверным приростом индекса OPG/RANKL ($p=0,031$).

Исследование ассоциаций второго изученного полиморфизма гена *ESR1* (rs9340799) с изменениями цитокинового статуса (таблица 5.5 и таблица 5.6) показало, что генотип АА вышеуказанного генетического маркера был связан с динамикой снижения синтеза IL-10 (от 6,35 [2,1; 9,1] пг/мл перед лечением до 3,75 [1,4; 7,5] пг/мл после; $p=0,014$). У этих же лиц в процессе лечения было выявлено и уменьшение продукции OPG (от 96,85 [56,2; 164,2] пг/мл до 74,25 [44,5; 105,5] пг/мл; $p=0,023$).

Ассоциации с уровнями отдельных цитокинов имел и полиморфизм rs1800795 гена *IL-6* (таблицы 5.7 и 5.8). Так, при сравнении пациентов с различными генотипами вышеуказанного полиморфизма было установлено, что женщины, гомозиготные по аллелю G, отличались от остальных пациентов (CG+CC) существенно увеличенной секрецией IL-6 как до терапии (4,85 [1,65; 8,25] пг/мл против 2,75 [0,0; 4,95] пг/мл; $p=0,002$), так и после (5,35 [3,7; 7,4] пг/мл против 2,45 [0,0; 4,85] пг/мл; $p=0,005$).

Изменения концентраций IL-6 сочетались у обладателей генотипа GG до начала лечения с повышенными значениями IL-17A и по сравнению с группой женщин, имеющих генотип CG ($p<0,05$), и по сравнению с носителями генотипа СС ($p<0,05$). После терапии эта связь была нивелирована ($p>0,05$). Кроме того, у пациентов с генотипом GG отмечалось снижение концентраций OPG в динамике

**Сывороточные уровни TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-10 в динамике лечения
женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в
зависимости от генотипов полиморфизма rs9340799 (XbaI) гена *ESR1***

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9340799 гена <i>ESR1</i> :			
		AA (n=54)	AG (n=62)	GG (n=20)	P
TNF- α (пг/мл)	1	1,05 [0,0; 4,2]	0,3 [0,0; 4,1]	0,65 [0,0; 4,75]	0,825
	2	0,55 [0,0; 4,1]	1,25 [0,0; 3,9]	0,0 [0,0; 3,75]	0,832
	P	-	-	-	
IL-1 β (пг/мл)	1	4,3 [1,6; 8,4]	3,35 [0,4; 5,8]	6,25 [1,8; 10,25]	0,111
	2	5,2 [3,1; 8,8]	4,4 [1,8; 7,7]	3,6 [0,85; 4,85]	0,137
	P	-	-	-	
IL-6 (пг/мл)	1	3,05 [0,5; 4,9]	2,9 [0,0; 5,6]	3,0 [0,0; 7,8]	0,866
	2	2,85 [0,0; 4,9]	2,65 [0,1; 6,3]	5,05 [3,15; 8,0]	0,089
	P	-	-	-	
IL-10 (пг/мл)	1	6,35 [2,1; 9,1]	4,4 [0,6; 7,7]	7,35 [5,0; 9,9]	0,061
	2	3,75 [1,4; 7,5]	5,4 [2,9; 9,4]	4,15 [0,95; 8,8]	0,170
	P	0,014	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сывороточные уровни IL-17A, OPG и RANKL в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs9340799 (-351 G>A [XbaI]) гена *ESR1*

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9340799 гена <i>ESR1</i> :			
		AA (n=54)	AG (n=62)	GG (n=20)	P
IL-17A (пг/мл)	1	3,15 [0,1; 5,3]	2,05 [0,2; 5,8]	3,0 [0,65; 6,75]	0,577
	2	2,5 [0,0; 5,7]	2,6 [0,0; 5,2]	1,85 [0,0; 4,75]	0,924
	P	-	-	-	
OPG (пг/мл)	1	96,85 [56,2; 164,2]	81,55 [44,7; 145,2]	68,7 [46,7; 145,9]	0,731
	2	74,25 [44,5; 105,5]	88,9 [56,6; 108,0]	62,75 [41,2; 95,5]	0,457
	P	0,023			
RANKL (пг/мл)	1	4,2 [2,1; 6,9]	4,05 [2,8; 6,1]	5,05 [2,4; 8,05]	0,654
	2	4,9 [1,5; 8,1]	3,25 [0,5; 6,4]	3,7 [0,35; 6,35]	0,269
	P	-	-	-	
OPG/ RANKL	1	21,8 [12,8; 40,6]	21,7 [10,2; 37,7]	18,0 [7,05; 53,9]	0,924
	2	17,45 [8,7; 51,1]	23,1 [12,1; 101,8]	32,85 [7,5; 136,9]	0,443
	P	-	-	0,053	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сывороточные уровни TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-10 в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs1800795 гена IL-6

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена IL-6:			
		CC (n=30)	CG (n=78)	GG (n=28)	P
TNF- α (пг/мл)	1	0,75 [0,0; 3,7]	0,0 [0,0; 4,2]	1,95 [0,0; 5,2]	0,198
	2	0,0 [0,0; 4,0]	0,85 [0,0; 4,2]	0,1 [0,0; 3,9]	0,787
	P	-	-	-	
IL-1 β (пг/мл)	1	4,6 [1,4; 6,2]	3,55 [0,4; 7,2]	4,85 [3,0; 11,6]	0,109
	2	5,4 [3,1; 8,5]	3,85 [0,9; 7,1]	4,95 [3,25; 9,15]	0,117
	P	-	-	-	
IL-6 (пг/мл)	1	2,85 [0,0; 5,3]	2,7 [0,0; 4,9]	4,85 * [1,65; 8,25]	0,018
	2	2,6 [0,0; 5,4]	2,45 [0,0; 4,6]	5,35 * [3,7; 7,4]	0,009
	P	-	-	-	
IL-10 (пг/мл)	1	3,75 [1,0; 7,7]	5,85 [2,1; 9,1]	6,55 [1,45; 9,7]	0,401
	2	3,9 [0,0; 5,0]	5,25 [2,3; 9,1]	4,65 [1,55; 8,1]	0,061
	P	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения; * – $p < 0,05$ по сравнению с CC+CG.

Сывороточные уровни IL-17A, OPG и RANKL в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs1800795 гена IL-6:

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Ме [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена IL-6:			
		CC (n=30)	CG (n=78)	GG (n=28)	P
IL-17A (пг/мл)	1	1,9 [0,0; 6,0]	1,85 [0,3; 5,2]	4,1 *,** [2,25; 6,65]	0,015
	2	2,25 [0,7; 6,1]	2,4 [0,0; 4,9]	3,95 [0,0; 5,7]	0,405
	P	-	-	-	
OPG (пг/мл)	1	94,1 [41,1; 126,4]	83,1 [45,3; 162,2]	99,7 [53,9; 165,4]	0,709
	2	94,05 [55,5; 120,8]	77,35 [50,5; 104,6]	62,5 [42,1; 93,6]	0,191
	P			0,019	
RANKL (пг/мл)	1	3,95 [2,0; 6,9]	4,3 [2,8; 6,2]	3,9 [2,4; 7,0]	0,760
	2	5,15 [1,5; 8,6]	3,45 [0,5; 7,0]	3,9 [0,4; 6,5]	0,194
	P	-	-	-	
OPG/ RANKL	1	19,35 [10,6; 39,0]	21,45 [9,5; 35,2]	22,25 [12,2; 49,1]	0,805
	2	18,15 [12,1; 51,1]	19,8 [10,9; 95,8]	22,9 [7,6; 170,8]	0,806
	P	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения; * - $p < 0,05$ по сравнению с CG; ** - $p < 0,05$ по сравнению с CC.

лечения постменопаузального остеопороза алендронатом (от 99,7 [53,9; 165,4] пг/мл перед лечением до 62,5 [42,1; 93,6] пг/мл после; $p=0,019$).

Ассоциаций полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* с уровнями других исследованных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-10, RANKL) выявлено не было как до назначения терапии женщинам с постменопаузальным остеопорозом алендронатом, так и по ее завершении через 12 месяцев ($p>0,05$).

Не было установлено связей ($p>0,05$) с сывороточными показателями ряда цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-17A, OPG, RANKL) и полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* (таблицы 5.9 и 5.10). Вместе с тем, необходимо указать, что в группе женщин, имеющих генотип CC вышеуказанного полиморфизма, была отмечена динамика нарастания индекса OPG/RANKL (от 21,95 [11,1; 38,6] перед лечением до 36,6 [11,8; 203,0] после; $p=0,012$). У этих же женщин нами была выявлена близкая к достоверной значимости тенденция к увеличению в динамике лечения IL-1 β ($p=0,094$).

Анализ ассоциаций полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* (OPG) с концентрациями исследованных цитокинов позволила выявить лишь одну связь (таблица 5.11 и 5.12). У женщин с генотипами AC или CC определялась динамика снижения сывороточных показателей OPG (от 89,4 [63,0; 172,4] пг/мл до 77,1 [39,0; 108,0] пг/мл; $p=0,044$) при сравнении результатов до и после лечения постменопаузального остеопороза.

Следует отметить, что эта особенность уровней OPG у женщин, имеющих генотипы AC или CC полиморфизма rs3134069, и обусловила описанную ранее динамику понижения концентраций вышеуказанного цитокина в общей группе пациентов (от 85,3 [46,2; 152,4] пг/мл до 77,0 [47,7; 105,6] пг/мл; $p=0,013$).

**Сывороточные уровни TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-10 в динамике лечения
женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в
зависимости от генотипов полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* (RANKL)**

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> :			
		CC (n=32)	CT (n=62)	TT (n=42)	P
TNF- α (пг/мл)	1	0,0 [0,0; 2,75]	0,75 [0,0; 4,7]	0,5 [0,0; 4,6]	0,809
	2	0,0 [0,0; 5,5]	1,2 [0,0; 4,6]	0,0 [0,0; 2,9]	0,243
	P	-	-	-	
IL-1 β (пг/мл)	1	2,6 [0,45; 8,05]	4,8 [1,1; 8,4]	3,95 [2,0; 5,8]	0,385
	2	5,75 [3,25; 10,4]	4,2 [1,4; 8,3]	4,3 [1,5; 6,1]	0,134
	P	0,094	-	-	
IL-6 (пг/мл)	1	3,1 [0,0; 6,65]	2,65 [0,5; 5,6]	3,15 [0,4; 5,3]	0,950
	2	2,45 [0,0; 4,55]	3,65 [0,0; 6,8]	3,25 [0,3; 5,4]	0,707
	P	-	-	-	
IL-10 (пг/мл)	1	6,25 [1,25; 9,15]	4,9 [0,7; 9,6]	5,85 [2,6; 7,2]	0,983
	2	5,25 [3,35; 7,95]	3,95 [0,8; 7,0]	4,3 [2,4; 9,1]	0,224
	P	-	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сывороточные уровни IL-17A, OPG и RANKL в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* (RANKL)

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i> :			
		CC (n=32)	CT (n=62)	TT (n=42)	P
IL-17A (пг/мл)	1	2,55 [0,2; 6,45]	2,8 [0,1; 6,1]	2,05 [0,8; 4,8]	0,939
	2	2,2 [0,0; 6,2]	2,45 [0,0; 5,1]	2,85 [0,0; 5,2]	0,654
	P				
OPG, (пг/мл)	1	104,7 [52,6; 167,3]	80,35 [46,1; 148,7]	88,55 [45,3; 164,2]	0,898
	2	89,1 [47,7; 119,5]	75,75 [45,8; 104,9]	70,75 [51,7; 104,1]	0,459
	P	-	-	-	
RANKL (пг/мл)	1	4,15 [2,6; 6,9]	4,05 [2,8; 6,1]	4,55 [2,3; 7,1]	0,743
	2	3,2 [0,3; 7,2]	5,1 [1,7; 8,0]	2,95 [0,8; 6,4]	0,182
	P	-	-	-	
OPG/ RANKL	1	21,95 [11,1; 38,6]	20,6 [10,2; 37,8]	22,9 [10,3; 41,1]	0,981
	2	36,6 [11,8; 203,0]	15,5 [7,2; 69,3]	22,15 [14,0; 114,9]	0,069
	P	0,012	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сывороточные уровни TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-10 в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* (OPG)

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs3134069 гена <i>TNFRSF11B</i> :		
		AA (n=103)	AC+CC (n=32+1)	P
TNF- α (пг/мл)	1	0,6 [0,0; 4,2]	0,0 [0,0; 4,8]	0,862
	2	0,0 [0,0; 3,9]	0,8 [0,0; 4,4]	0,382
	P	-	-	
IL-1 β (пг/мл)	1	3,7 [0,6; 7,3]	4,1 [2,0; 8,8]	0,188
	2	4,9 [2,4; 8,4]	3,2 [0,4; 5,8]	0,147
	P	-	-	
IL-6 (пг/мл)	1	2,7 [0,0; 5,3]	4,2 [0,5; 6,1]	0,175
	2	2,9 [0,0; 5,4]	4,2 [2,0; 7,6]	0,095
	P	-	-	
IL-10 (пг/мл)	1	6,0 [1,9; 8,8]	4,6 [1,6; 9,0]	0,660
	2	4,3 [2,1; 7,9]	4,1 [0,2; 7,0]	0,496
	P	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Сывороточные уровни IL-17A, OPG и RANKL в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs3134069 гена *TNFRSF11B* (OPG)

Показатели	Срок обследования	Уровни цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) у женщин с генотипами полиморфизма rs3134069 гена <i>TNFRSF11B</i> :		
		AA (n=103)	AC+CC (n=32+1)	P
IL-17A (пг/мл)	1	2,2 [0,2; 5,6]	2,9 [0,8; 5,8]	0,793
	2	2,5 [0,0; 5,2]	2,0 [0,0; 4,4]	0,827
	P	-	-	
OPG, (пг/мл)	1	84,4 [41,6; 148,0]	89,4 [63,0; 172,4]	0,233
	2	76,9 [50,5; 105,5]	77,1 [39,0; 108,0]	0,646
	P	-	0,044	
RANKL (пг/мл)	1	4,2 [2,9; 6,9]	3,3 [2,1; 5,4]	0,146
	2	3,7 [0,9; 7,0]	4,8 [0,5; 8,0]	0,935
	P	-	-	
OPG/ RANKL	1	20,0 [9,2; 37,7]	26,9 [16,2; 53,6]	0,055
	2	18,2 [10,3; 80,7]	23,1 [8,7; 113,5]	0,996
	P	-	-	

Примечание: сроки обследования 1 и 2 – соответственно до и после лечения.

Таким образом, при комплексном обследовании 136 пациентов с постменопаузальным остеопорозом установлено, что заболевание костной ткани у женщин характеризуется повышенными значениями в сыворотке крови остеокластогенных цитокинов IL-1 β ($p=0,035$), RANKL ($p=0,033$) и IL-6 ($p<0,001$). Причем, увеличенные концентрации IL-1 β ($p=0,002$) и IL-6 ($p<0,001$) сохранялись у пациентов и после лечения. Ассоциация же постменопаузального ОП с повышенными сывороточными показателями RANKL, выявленная до терапии, была нивелирована спустя год лечения. Следует отметить также динамику снижения содержания в сыворотке крови OPG ($p=0,013$), что обусловило, конечно же, и уменьшение к концу терапии индекса OPG/RANKL ($p=0,010$).

Наряду с выявленными особенностями цитокинового статуса в общей группе женщин с постменопаузальным остеопорозом необходимо указать и на наличие ассоциаций отдельных цитокинов с изученными генетическими полиморфизмами.

Следует обратить внимание на выявленную связь генотипа генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* с увеличенной продукцией провоспалительного цитокина RANKL как до ($p=0,011$), так и после проведенного лечения ($p=0,042$). Ведь генотип ТТ, как было указано ранее (смотри раздел 3), является генетическим предиктором низкого прироста МПК в поясничных позвонках L1-L4 в ответ на 12-ти месячный курс терапии алендронатом. Кроме того, носители генотипа ТТ имели существенно сниженные показатели OPG/RANKL как до начала ($p=0,006$), так и после терапии ($p=0,027$).

Полученные данные отражают важные патогенетические механизмы постменопаузального ОП, которые сохраняются у женщин и на фоне приема алендроновой кислоты. Необходимо отметить, что ряд изменений цитокинового статуса может быть обусловлен генетическими особенностями женщин. Результаты комплексного обследования пациентов в динамике лечения постменопаузального остеопороза целесообразно использовать для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

РАЗДЕЛ 6

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ СХЕМЫ
ЛЕЧЕНИЯ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА АЛЕНДРОНОВОЙ
КИСЛОТОЙ

Полученные при выполнении исследования результаты и сделанные выводы послужили основанием для разработки персонафицированной схемы лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом. Обследование пациентов с вышеуказанным заболеванием спустя 12 месяцев приема препарата алендроновой кислоты показало, в целом, хорошую эффективность лечения. Было установлено, что алендроновая кислота обеспечивает достоверное увеличение плотности костной ткани у женщин во всех зонах денситометрии – в поясничных позвонках L1-L4, проксимальных отделах и шейках правой и левой бедренных костей ($p < 0,001$).

Вместе с тем, следует обратить внимание на то, что степень прироста плотности кости в процессе лечения зависит от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Так, женщины с генотипом ТТ вышеуказанного полиморфизма гена *ESR1* имеют в динамике лечения увеличение костной массы поясничных позвонков L1-L4 всего лишь на 2,53% [-0,28; 5,54], что было значительно меньше ($p < 0,05$), чем у обладателей только генотипа СС (5,52% [1,66; 9,12]) или у всех остальных лиц (4,71% [1,75; 8,08]).

Низкий прирост МПК в поясничных позвонках L1-L4 у лиц с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* в ответ на 12-месячный курс лечения алендроновой кислотой сочетался с наличием определенных особенностей цитокинового и гормонального статуса.

Нами было установлено, что обладатели аллеля Т до инициации лечения имели более низкое содержание в сыворотке крови тестостерона общего, чем гомозиготные по аллелю С пациенты ($p = 0,046$). Эта же особенность андрогенового статуса у носителей аллеля Т полиморфизма rs2234693

сохранилась и после лечения ($p=0,024$). Кроме того, после лечения у женщин с генотипом ТТ были обнаружены сниженные значения тестостерона свободного ($p=0,042$).

Наряду с наличием ассоциаций с продукцией гормонов полиморфизм rs2234693 обнаруживал и связи с особенностями цитокинового статуса. В частности, женщины с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 характеризовались существенно повышенной системной продукцией цитокина RANKL как до ($p=0,011$), так и после проведенного лечения ($p=0,042$).

Предполагается, что полиморфные варианты гена *ESR1*, в частности полиморфизм rs2234693, обуславливают количественные и/или качественные нарушения в экспрессии альфа эстрогеновых рецепторов [96]. Это сопровождается снижением функциональной активности рецепторных молекул, а значит и уменьшением регулирующих эффектов эстрогенов на клетки-мишени в качестве лиганда. В связи с этим изменения в гене *ESR1* могут сопровождаться угнетением многочисленных геномных эффектов эстрогенов на клетки костной и других систем организма человека. Особенно ярко такой дефицит геномных эффектов может проявиться на фоне снижения продукции эстрогенов, что происходит у женщин в постменопаузе. Одним из проявлений недостаточности лиганд-рецепторных механизмов, обусловленных полиморфизмом rs2234693 гена *ESR1*, может быть повышенная скорость резорбции костной ткани, вследствие чего снижается ответ скелета женщин в постменопаузе на антиостеопоротическую терапию.

Таким образом, можно предположить, что причиной низкого ответа костной ткани позвонков L1-L4 на проведенное лечение постменопаузального ОП у женщин с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 явились «дефектные» рецепторы ESR, неблагоприятный эффект которых на результат лечения усиливается на фоне низкой продукции эстрогенов в постменопаузе. В результате наличие генотипа ТТ полиморфизма rs2234693 приводит к снижению благоприятного действия эстрогенов на активность остеобластов и их костеобразующий потенциал. Кроме того, снижается и регулирующее влияние

эстрогенов на иммунокомпетентные клетки. Это, как известно, приводит к стимуляции продукции провоспалительных цитокинов, которые обладают резорбционными свойствами и усиливают потерю костной массы.

В связи с вышеизложенным, было решено, что для женщин, имеющих генотип ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*, необходимо изменить схему терапии постменопаузального ОП. Для коррекции схемы терапии было предложено увеличение эстрогенового потенциала, усиления воздействия на эстрогеновые рецепторы. В связи с этим пациентам, имеющим генетические предикторы низкого ответа на лечение, стандартная схема терапии была дополнена приемом препарата фитоэстрогена.

Рекомендуемым препаратом фитоэстрогена был выбран «Менсе». «Менсе» – это комплекс изофлавонов сои, аминокислот бета-аланина и 5-гидрокситриптофана, а также витаминов. В качестве фитоэстрогена в препарате выступают изофлавоны сои, которые представлены в одной капсуле в количестве 25 мг.

В итоге пациентам с постменопаузальным остеопорозом, имеющим генотип ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*, к стандартному лечению алендронатом (по 70 мг внутрь 1 раз в неделю), препаратами витамина D (холекальциферол по 800 МЕ/сутки) и кальция (по 1000 мг/сутки) добавлялся прием вышеуказанного средства с эстрогеновой активностью (по 1 капсуле 2 раза в сутки).

Лечение с использованием разработанной схемы назначалось на период 12 месяцев. Всего в исследование было отобрано 68 женщин с постменопаузальным ОП. Из них 24 пациента имели генотип ТТ, 33 – генотип ТС и 11 – генотип СС полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Всем женщинам до и после лечения производилась остеоденситометрия. Эффективность терапии оценивалась по рассчитанному показателю ΔМПК. Контрольными данными служили результаты лечения женщин (n=136) с постменопаузальным ОП по стандартной схеме, которые были описаны в разделе 3.

Выполненные исследования показали хороший ответ костной ткани женщин с постменопаузальным ОП на проведенный 12-месячный курс терапии с использованием разработанной схемы лечения (таблица 6.1).

Таблица 6.1

Минеральная плотность костной ткани в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения с использованием разработанной схемы

Участок денситометрии	Минеральная плотность кости ($M \pm m$, г/см ²) в динамике лечения:			Р
	до	через 1 год	% прироста (Δ МПК)	
Поясничные позвонки L1-L4 (n=65)	0,717 [0,654; 0,771]	0,734 [0,693; 0,797]	4,53 [1,21; 7,56]	<0,001
Шейка левого бедра (n=67)	0,597 [0,532; 0,662]	0,608 [0,567; 0,681]	2,27 [-2,66; 9,45]	<0,001
Весь проксимальный отдел левого бедра (n=67)	0,716 [0,614; 0,782]	0,730 [0,624; 0,797]	2,63 [0,17; 5,25]	<0,001
Шейка правого бедра (n=67)	0,586 [0,540; 0,660]	0,622 [0,560; 0,672]	3,58 [-1,73; 8,74]	<0,001
Весь проксимальный отдел правого (n=67)	0,717 [0,655; 0,791]	0,745 [0,682; 0,811]	2,83 [-1,47; 5,73]	<0,001

Причем, существенный прирост МПК был отмечен во всех анализируемых зонах денситометрии женщин ($p < 0,05$), а степень увеличения минеральной плотности не зависела от участка скелета пациентов. Так, в поясничных позвонках L1-L4 показатель Δ МПК составил 4,53 [1,21; 7,56] %. Существенно не отличались ($p > 0,05$) от вышеуказанного значения, а также между собой уровни

прироста МПК в зонах проксимальных отделов левой (2,63 [0,17; 5,25] %) и правой (2,83 [-1,47; 5,73] %) бедренной кости, в шейках бедра слева (2,27 [-2,66; 9,45] %) и справа (3,58 [-1,73; 8,74] %).

Следует отметить, что предложенная схема терапии постменопаузального остеопороза по эффективности была сопоставима ($p>0,05$) со стандартным подходом (таблица 6.2). При использовании персонифицированной схемы в течение 12 месяцев показатели Δ МПК в различных участках денситометрии колебались в пределах от 2,27 [-2,66; 9,45] % до 4,53 [1,21; 7,56] %. Лечение же женщин с постменопаузальным остеопорозом по стандартной схеме сопровождалось увеличением МПК от 2,42 [-1,41; 5,53] % до 4,26 [1,00; 6,95] %

Для оценки возможного влияния полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* на эффективность использования предложенной схемы терапии постменопаузального ОП все пациенты были распределены в 2 группы. Первую группу составили 24 женщины с генотипом ТТ вышеуказанного полиморфизма. Во вторую были отобраны обладатели генотипов ТС ($n=33$) и АА ($n=11$).

В таблице 6.3 представлены результаты лечения пациентов двух групп. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии различий между группами в показателях Δ МПК как в зоне поясничных позвонков L1-L4, так и в левой и правой бедренных костей ($p>0,05$).

Наряду с изучением влияния полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* на эффективность лечения, была выполнена и оценка ответа костной ткани женщин с генотипом ТТ вышеуказанного полиморфизма на предложенную схему терапии по сравнению с аналогичным показателем у обладателей такого же генетического профиля, но получивших препараты по стандартной схеме. Результаты сравнительного анализа приведены в таблице 6.4.

Показатели прироста минеральной плотности костной ткани (Δ МПК) в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения по стандартной и разработанной схемам

Участок денситометрии	Прирост (%) минеральной плотности кости (Δ МПК) в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом:		Р
	по стандартной схеме	по разработанной схеме	
Поясничные позвонки L1-L4	4,26 [1,00; 6,95] (n=134)	4,53 [1,21; 7,56] (n=65)	>0,05
Шейка левого бедра	2,42 [-1,41; 5,53] (n=132)	2,27 [-2,66; 9,45] (n=67)	>0,05
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,76 [0,00; 5,95] (n=130)	2,63 [0,17; 5,25] (n=67)	>0,05
Шейка правого бедра	3,27 [0,00; 7,18] (n=120)	3,58 [-1,73; 8,74] (n=67)	>0,05
Весь проксимальный отдел правого бедра	3,76 [-0,20; 6,65] (n=117)	2,83 [-1,47; 5,73] (n=67)	>0,05

И предложенная, и обычная схема терапии характеризовались одинаковыми ($p>0,05$) показателями прироста минеральной плотности в проксимальных отделах бедренных костей и шейках бедра слева и справа. Однако в зоне поясничных позвонков L1-L4 была обнаружена достоверно более высокие значения Δ МПК ($p=0,047$) у женщин с персонифицированным подходом в лечении, чем у пациентов, принимавших стандартную терапию.

**Эффективность разработанных схем лечения женщин с
постменопаузальным остеопорозом через 1 год лечения в зависимости от
генотипов полиморфизма rs2234693 гена *ESR1***

Участок денситометрии	ΔМПК (Ме [Q25%; Q75%]) в результате 12-ти месячного лечения женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :		Р
	ТТ	ТС+СС	
Поясничные позвонки L1-L4	5,24 [1,39; 9,41] (n=23)	4,08 [0,45; 6,87] (n=42)	0,451
Шейка левого бедра	3,46 [-0,83; 14,1] (n=23)	1,70 [-3,08; 8,89] (n=44)	0,319
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,71 [1,35; 5,71] (n=23)	2,31 [0,17; 4,41] (n=44)	0,685
Шейка правого бедра	3,90 [-0,94; 8,72] (n=24)	3,57 [-1,97; 8,74] (n=43)	0,734
Весь проксимальный отдел правого бедра	3,73 [1,21; 5,61] (n=24)	2,20 [-1,73; 6,92] (n=43)	0,269

Таким образом, для лечения постменопаузального ОП у женщин с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* была разработана персонифицированная схема. К стандартному лечению алендронатом (по 70 мг внутрь 1 раз в неделю), препаратами витамина D (холекальциферол по 800 МЕ/сутки) и кальция (по 1000 мг/сутки) в курс лечения добавлялся прием фитоэстрогена (изофлавоны сои, капсулы по 25 мг 2 раза в сутки). Длительность полного курса терапии составляла 12 месяцев.

Эффективность разработанной схемы лечения постменопаузального остеопороза у женщин с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*

Участок денситометрии	ΔМПК (Ме [Q25%; Q75%]) в динамике лечения у женщин с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена <i>ESR1</i> :		Р
	по стандартной схеме	по разработанной схеме	
Поясничные позвонки L1-L4	2,53 [-0,28; 5,54] (n=37)	5,24 [1,39; 9,41] (n=23)	0,047
Шейка левого бедра	2,70 [-1,56; 5,72] (n=36)	3,46 [-0,83; 14,1] (n=23)	0,509
Весь проксимальный отдел левого бедра	2,88 [0,42; 5,13] (n=36)	2,71 [1,35; 5,71] (n=23)	0,949
Шейка правого бедра	3,20 [-0,75; 5,96] (n=32)	3,90 [-0,94; 8,72] (n=24)	0,466
Весь проксимальный отдел правого бедра	4,89 [0,17; 8,17] (n=32)	3,73 [1,21; 5,61] (n=24)	0,541

Предложенная схема терапии показала хорошую эффективность по показателям прироста минеральной плотности кости в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным ОП за 12 месяцев ($p < 0,001$). Полученные результаты терапии по разработанной методике были сопоставимы с показателями ΔМПК у женщин, принимавших препараты по стандартной схеме ($p > 0,05$). При этом была нивелирована существенная разница в ответе женщин на антиостеопоротическую терапию в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Обладатели генотипа ТТ вышеуказанного полиморфизма имели значения ΔМПК в зоне поясничных позвонков L1-L4 (5,24 [1,39; 9,41] %) на уровне аналогичного показателя женщин с генотипами ТС или СС (4,08 [0,45; 6,87] %).

При этом, необходимо отметить, лица с генотипом ТТ, которым был предложен персонифицированный подход, имели более высокие значения Δ МПК в поясничных позвонках L1-L4, чем у женщин с аналогичным генетическим профилем, но принимавших стандартные схемы антиостеопоротической терапии (5,24 [1,39; 9,41] % против 2,53 [-0,28; 5,54] %; $p=0,047$).

АНАЛИЗ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Постменопаузальный остеопороз – это широко распространенное во всем мире заболевание женщин, основной причиной которого является ассоциированное с возрастом снижение продукции эстрогенов. Системное прогрессирующее поражение костной системы, характеризующееся снижением минеральной плотности и нарушением микроархитектуры костной ткани, приводит к снижению прочности кости и увеличению риска переломов [140]. Такие переломы называют низкоэнергетическими, так как развиваются они даже при небольших механических и/или ударных нагрузках.

Чаще всего при ОП возникают переломы предплечья, поясничных позвонков, бедренной кости. Остеопоротические переломы нередко приводят к инвалидизации и существенно снижают качество жизни женщин [2, 15, 32, 35]. Переломы сопровождаются длительной неработоспособностью, ограничением подвижности, нередко прикованностью к постели или инвалидному креслу, неспособностью ухаживать за собой и выполнять простые действия в быту. Кроме того, переломы часто провоцируют психо-эмоциональные расстройства (депрессия, тревожность и т.д.) и обострение имеющейся у женщин в возрасте старше 50 лет различной хронической патологии. Наряду с высокими показателями инвалидизации и летальности, остеопоротические переломы у женщин обуславливают также и большие экономические затраты, направленные на лечение и реабилитацию больных, которые ложатся тяжелым бременем на семейный и государственный бюджеты. Все это определяет актуальность разработки инновационных подходов, направленных на увеличение эффективности лечебно-профилактических мероприятий при постменопаузальном ОП. Одним из перспективных путей совершенствования терапии заболевания является развитие индивидуализированного подхода, в основе которого лежат достижения фармакогенетики [112].

Фармакогенетика является важной составляющей нового направления медицинской науки – персонализированной медицины. Современные

молекулярные, генетические технологии позволяют, исходя из индивидуальных характеристик пациентов, устанавливать индивидуальную предрасположенность к различным заболеваниям, прогнозировать ответ на те, или иные лечебно-профилактические вмешательства. Знание фармакогенетических свойств лекарственных препаратов позволяет определять их безопасность и предсказывать их эффективность для каждого индивидуума. Фармакогенетическое тестирование, которое является перспективной технологией персонализированной медицины, уже внедряется в клиническую практику. Фармакогенетический подход начали использовать при выборе нестероидных противовоспалительных препаратов, средств для коррекции гемостаза, лечения анемических состояний, психических и отдельных инфекционных заболеваний, сердечно-сосудистой патологии и т.д. При этом фармакогенетике ОП до настоящего времени уделялось значительно меньше внимание.

Вместе с тем практический врач особенно нуждается в фармакогенетическом тестировании при лечении больных ОП [43, 112]. Ведь оценить эффект от назначенных антиостеопоротических препаратов можно только лишь спустя, как минимум, 12 месяцев, а то и через 3-5 лет [19]. И если выбранный для лечения препарат окажется не эффективным, то для женщины 1 год будет потрачен напрасно. И в течение всего этого года, несмотря на выполнение рекомендаций врача, у нее будет сохраняться высокий риск развития перелома.

Согласно современным международным и российским клиническим рекомендациям, препаратами первой линии для лечения постменопаузального остеопороза являются пероральные бисфосфонаты, среди которых наиболее востребованным является алендронат [1, 17, 48, 62, 109, 117, 140]. Алендронат – это первый бисфосфонат, который был зарегистрирован для лечения постменопаузального остеопороза.

Эффективность и безопасность вышеуказанного препарата в лечении женщин с остеопорозом была продемонстрирована результатами многочисленных

научных работ, в том числе ряда крупных многоцентровых рандомизированных плацебо-контролируемых исследований [79, 94, 119]. Хорошие результаты лечения алендронатом пациентов с остеопорозом подтверждаются и клинической практикой.

Вместе с этим необходимо учитывать, что для всех антиостеопоротических препаратов, в том числе и для бисфосфонатов, свойственна определенная вариабельность терапевтического эффекта. У ряда пациентов в ответ на лечение может быть слабый прирост минеральной плотности кости. Известно, что низкий прирост или отсутствие прироста показателей МПК, а в ряде случаев даже отрицательная динамика плотности кости после 12 месячного курса терапии ОП бисфосфонатами может отмечаться в 26-53 % случаев [43, 62, 121]. При этом необходимо учитывать, что хорошим эффектом от проводимой терапии считают ежегодный прирост минеральной плотности кости на 2-3% и более.

В связи с вышеизложенным в настоящее время важным и приоритетным направлением является поиск практических точек приложения фармакогенетики в профилактике и лечении остеопороза. Фармакогенетика предполагает использование генетического теста. Поэтому нами была изучена эффективность лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом алендроновой кислоты в зависимости от генотипов пяти полиморфизмов четырех генов – *ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11* (RANKL) и *TNFRSF11B* (OPG).

При анализе результатов лечения в общей группе пациентов с постменопаузальным остеопорозом было установлено, что прием женщинами по стандартной схеме препаратов алендроновой кислоты, кальция и витамина D обуславливает хороший терапевтический эффект. Полученные нами показатели прироста костной массы, которые в различных отделах скелета женщин составили от 2,42% [-1,41; 5,53] до 4,26% [1,00; 6,95], в целом сопоставимы с результатами других выполненных исследований [120].

Нами была установлена слабая положительная связь между эффективностью лечения (проксимальный отдел правой бедренной кости) и увеличением ИМТ во время курса терапии. Эта зависимость сочетается с

данными о чрезмерно быстрой потере костной массы женщинами, имеющими низкие показатели ИМТ [12, 13]. Так, значения ИМТ менее 20 кг/м² и/или вес менее 57 кг относятся к перечню основных факторов риска ОП и переломов костей [34]. При этом значения ИМТ у женщин в пределах нормы или даже повышенные являются благоприятными и снижают риск ОП.

В нашем исследовании также была выявлена близкая к достоверности связь генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* с низким ответом женщин на лечение по результатам денситометрии шейки бедренной кости справа ($p=0,051$). Данная неоднозначность, по всей видимости, свидетельствует о необходимости дальнейшего исследования фармакогенетической значимости вышеуказанного полиморфизма при лечении женщин с постменопаузальным ОП алендронатом. Подтверждением этому является ранее выявленная связь генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* с развитием постменопаузального ОП [29]. Кроме того, необходимо учитывать, что наличие аллеля G, в отличие от аллеля C, обуславливает увеличенную промоторную активность гена *IL-6*. В результате этого аллель G приводит к повышенной продукции остеокластогенного цитокина *IL-6*, что в наибольшей степени проявляется на фоне сниженного синтеза эстрогенов у женщин постменопаузального возраста [168].

Таким образом, при оценке эффективности лечения 136 женщин с постменопаузальным остеопорозом препаратом алендроновой кислоты была установлена положительная корреляционная связь между степенью увеличения в динамике терапии индекса массы тела и значениями Δ МПК в проксимальном отделе правой бедренной кости ($p<0,05$). Кроме того, было выявлено, что пациенты с генотипом GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* характеризуются близкой к статистической значимости тенденцией ($p=0,051$) к низкому приросту МПК в зоне шейки левого бедра.

Достоверно доказанным же в нашей работе генетическим фактором риска низкого терапевтического эффекта в ответ на 12 месячный курс лечения алендронатом явился генотип TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* ($p<0,05$). Следует отметить, что с вышеуказанным генотипом связывают также высокую

скорость потери костной массы в постменопаузе, развитие постменопаузального ОП и повышенный риск переломов [30, 58, 83, 91, 154]. В противовес генотипу ТТ другой гомозиготный профиль полиморфизма rs2234693 (СС) считают защитным генетическим маркером в отношении ОП.

Высокий риск остеопоротических нарушений, так же как и низкий эффект от приема алендроната у женщин с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 ген *ESR1*, по всей видимости, обусловлены одной и той же причиной. Ген *ESR1* кодирует эстрогеновые рецепторы альфа ER- α [166]. Полиморфный же вариант вышеуказанного гена, как считается, способен изменять структурно-функциональные свойства рецептора. Как следствие, чувствительность их к эстрогенам снижается. А ведь известно, что в результате связывания со своими рецепторами на клетках костной ткани эстрогены способны активировать в остеобластах и остеокластах десятки генов [38]. Результатом воздействия гормонов на клетки является повышение функциональной активности остеобластов и остеоцитов, увеличение апоптоза остеокластов и ингибция остеокластогенеза. Нарушение же функции ER- α вследствие генетической мутации может сопровождаться снижением благоприятных регулирующих эффектов эстрогенов на костную ткань и усилением ее резорбции.

Таким образом, было установлено, что эффективность лечения алендронатом постменопаузального ОП ассоциирована с полиморфизмом rs2234693 гена *ESR1*. Обладатели генотипа ТТ вышеуказанного полиморфизма имеют более низкий прирост в динамике лечения плотности поясничных позвонков L1-L4, чем у всех остальных пациентов (СС+СТ) или у женщин только с генотипом СС ($p < 0,05$). Исходя из вышеизложенного, результаты тестирования пациентов с постменопаузальным ОП перед началом терапии на полиморфизм rs2234693 ген *ESR1* могут быть полезными для практического врача при выборе препарата для каждой конкретной женщины и индивидуализации схем лечения.

Постменопаузальный ОП является мультифакторным заболеванием [26]. При этом внушительное количество исследований свидетельствует о первостепенной и фундаментальной роли в потере костной массы женщинами в

постменопаузе гормональных изменений, в первую очередь снижения продукции эстрогенов [39, 153].

Именно гипоестрогемия является причиной развития постменопаузального ОП [47]. На фоне сниженной продукции эстрогенов наблюдаются изменения количественных и качественных характеристик кости. Изменения костной структуры сопровождается нарушениями взаимосвязей между костными трабекулами, перфорациями трабекулярных пластинок, отрицательным балансом ремоделирования. И это создает условия для возникновения патологических переломов [36, 37, 38, 40, 55, 78].

Эстрогены обеспечивают нормальную минерализацию кости, закрытие эпифизов, активацию образования костного протеина. Эстрогены стимулируют остеобласты, повышают апоптоз остеокластов и снижают синтез провоспалительных цитокинов [31, 36].

В нашем исследовании установлено существенное снижение уровня эстрадиола в сыворотке крови у женщин в постменопаузе по сравнению с общепринятыми нормами гормона в репродуктивном возрасте. Причем, выявленная нами степень гипоестрогемии не зависела от наличия остеопоротических нарушений (16,7 [11,3; 27,5] пг/мл в контроле и 17,5 [10,9; 27,2] пг/мл в основной группе; $p>0,05$). Полученные нами данные согласуются с результатами проспективного Роттердамского исследования продолжительностью более 6 лет. Уровень эстрадиола у женщин с установленными деформациями тел позвонков и без них не различался ($p>0,05$) в двух группах пациентов, составив соответственно $20,5\pm 3,0$ пмоль/л и $23,0\pm 1,5$ пмоль/л [6]. По другим же данным уровни эстрадиола в сыворотке положительно коррелируют с минеральной плотностью кости [64].

Выявленное нами повышение уровней ФСГ у женщин в постменопаузе по сравнению с референсными значениями для репродуктивного возраста согласуется с общепринятыми представлениями об изменениях вышеуказанного гормона у женщин старше 50 лет до значений более 50 мМЕ/мл [153]. При этом концентрации ФСГ у пациентов с постменопаузальным ОП (64,3 [43,9; 81,3]

мМЕ/мл) не отличались ($p=0,279$) от аналогичных показателей в контрольной группе (60,2 [40,3; 74,7] мМЕ/мл).

Тестостерон обладает благоприятным действием на костную ткань – активирует анаболические процессы, снижает резорбцию костной ткани, стимулирует периостальный рост кости, способствует задержке в организме фосфора, калия, натрия и хлоридов. У женщин в постменопаузе его продукция снижается, вследствие чего угнетаются анаболические процессы в костной ткани и нарушается ее образование [16]. Если в нашем исследовании установлена всего лишь тенденция к снижению концентраций тестостерона свободного при ОП ($p=0,079$), то в других исследованиях была выявлена достоверная связь низких уровней общего и свободного тестостерона со снижением минеральной плотности кости у женщин в постменопаузе [167].

Гормоны щитовидной железы необходимы для нормального развития скелета и метаболизма костей у взрослых, но оказывают пагубное воздействие на костные структуры при дисфункции щитовидной железы [77]. Так, тяжелый гипертиреоз увеличивает вероятность ОП. Субклинический гипертиреоз при низком уровне ТТГ так же может влиять на метаболизм костей, приводя к снижению минеральной плотности костной ткани и повышенному риску переломов, что особенно актуально для женщин в постменопаузе [77].

Наши данные о более низких концентрациях ТТГ у женщин с постменопаузальным ОП согласуются с результатами других исследований. Показано, что уровни ТТГ были ниже в группе лиц с постменопаузальным ОП ($2,03 \pm 1,08$ против $2,40 \pm 1,24$ мМЕ/л в контроле; $p=0,040$), причем снижение содержания ТТГ было независимым фактором риска ОП [110]. Кроме того, была отмечена положительная корреляция ТТГ с минеральной плотностью кости [61, 89]. Таким образом, снижение уровня ТТГ может быть ранним индикатором возникновения ОП [90].

Кроме вышеизложенного, следует отметить, что одной из возможных причин тиреоидного дисбаланса, которая обуславливает его связь с ОП, является аутоиммунное заболевание щитовидной железы, которое связано со снижением

минеральной плотности костной ткани и высоким риском переломов у эутиреоидных женщин в постменопаузе [159]. Наличие в крови антител к тиреопероксидазе является потенциальным маркером повышенного риска переломов у таких пациенток.

Исследование иммунных факторов у больных с постменопаузальным ОП в динамике лечения алендронатом показало, что заболевание костной ткани у женщин характеризуется увеличенными концентрациями в сыворотке крови IL-1 β и IL-6 как до, так и после терапии ($p < 0,05$), а также RANKL до лечения ($p = 0,033$). Кроме того, была отмечена динамика снижения к концу терапии содержания в сыворотке крови OPG ($p = 0,013$), а также индекса OPG/RANKL ($p = 0,010$). Наличие у женщин с постменопаузальным ОП генотипа TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* было ассоциировано с повышенной продукцией RANKL и сниженными показателями индекса OPG/RANKL как до, так после проведенного лечения ($p < 0,05$). Обладатели генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* отличались стабильно увеличенными показателями IL-6 (до и после лечения), а также IL-17A до начала терапии ($p < 0,05$).

Полученные нами результаты о нарушениях цитокинового баланса согласуются с современными представлениями о патогенезе постменопаузального ОП. Известно, что сниженный синтез эстрогенов у женщин в постменопаузе сопровождается активацией Т лимфоцитов, что приводит к увеличению продукции ими провоспалительных цитокинов. Чрезмерные концентрации цитокинов путем прямых и опосредованных механизмов вызывают и поддерживают хроническую стимуляцию остеокластов. В итоге это приводит к усилению резорбционных процессов в костной ткани. Результаты, аналогичные нашим, были получены и в других исследованиях [66, 75, 150, 172]. Выводы, сделанные в этих работах, также подтверждают важную роль провоспалительных цитокинов в патогенезе ОП.

Гены *ESR1* и *IL-6* по праву относят к генам-кандидатам постменопаузального ОП. Предполагается, что полиморфизм гена *ESR1*, как отмечалось ранее, может вызывать изменения (снижение) функции эстрогеновых

рецепторов альфа ER- α [96]. Как следствие у обладателей полиморфного варианта гена *ESR1* может наблюдаться дефицит регулирующих эффектов эстрогенов не только на клетки костной системы, но и на лимфоциты. Это приводит к активации последних и увеличению продукции иммунокомпетентными клетками остеокластогенных цитокинов. По всей видимости, этим можно объяснить повышенный синтез RANKL при генотипе TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Ведь для вышеуказанного генотипа доказана и связь с повышенным риском переломов и развитием ОП [83, 154, 158].

При изучении нами роли полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* было установлено, что генотип GG вышеуказанного полиморфизма имеет ассоциацию с увеличением уровней *IL-6* и *IL-17A*. Причем, связь генотипа GG с изменением синтеза *IL-6* была свойственна как до, так и после лечения. Полученные результаты согласуются с доказательствами того, что аллель G обуславливает увеличенную промоторную активность гена *IL-6*. Как следствие, обнаруживается ассоциация между наличием этого аллеля и увеличенной продукцией цитокина *IL-6* [168]. По всей видимости, именно эта особенность женщин, имеющих генотип GG, и приводит к повышенному риску развития остеопоротических нарушений в постменопаузе [57, 59].

Полученные при выполнении работы результаты явились основанием для разработки персонифицированной схемы терапии постменопаузального ОП. Индивидуализированный подход был разработан исходя из особенностей реагирования на антиостеопоротическую терапию женщин в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*:

–генотип TT имеет ассоциацию с низким приростом МПК в поясничных позвонках L1-L4 в ответ на 12-месячный прием алендроната ($p < 0,05$);

–обладатели аллеля Т (ТТ+ТС) отличаются более низкими сывороточными концентрациями тестостерона общего, чем гомозиготные по аллелю С пациенты (СС) как до инициации лечения ($p = 0,046$), так и через 12 месяцев терапии ($p = 0,024$);

–наличие генотипа ТТ сочетается при повторном обследовании с более низкими показателями тестостерона свободного, чем у остальных пациентов ($p=0,042$);

–генотип ТТ характеризуется связью с существенно повышенной секрецией провоспалительного цитокина RANKL как до ($p=0,011$), так и после проведенного лечения ($p=0,042$);

–увеличение продукции RANKL обуславливает ассоциацию генотипа ТТ со сниженными показателями индекса OPG/RANKL до ($p=0,006$) и по окончании курса терапии ($p=0,027$).

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что причиной низкого ответа костной ткани позвонков L1-L4 на проведенное лечение постменопаузального ОП алендронатом, так же как и особенностей гормонального и цитокинового статуса у женщин с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* явилась обусловленная мутацией низкая активность рецепторов ER- α . По всей видимости, «дефектность» рецептора проявляется, в первую очередь, при снижении концентраций эстрогенов, что является отличительной особенностью женщин в постменопаузальный период.

Поэтому для женщин с генотипом с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* стандартная схема терапии должна быть дополнена эстрогенами. С этой целью был выбран препарат фитоэстрогенов.

Фитоэстрогены – это вещества растительного происхождения, функционально близкие к эстрогенам благодаря способности связываться с теми же рецепторами, что и гормоны. Разница заключается в том, что действие фитоэстрогенов значительно слабее. Однако их роль для женщины может быть вполне достаточной при физиологическом снижении продукции эстрогенов как для облегчения состояния женщины, так и для поддержания процессов ремоделирования костной ткани [24, 25, 46, 47, 67, 68, 103].

Основным классом фитоэстрогенов являются изофлавоны, которые содержатся в соевых бобах и клевере, так как они наиболее близки по структуре и действию к эстрогенам. Как богатые фитоэстрогенами соевые бобы, так и полученные из них растительные препараты обладают свойством снижать частоту симптомов менопаузы, риск развития остеопороза, сердечно-сосудистых заболеваний, онкологических заболеваний. Кроме того, потребление соевых продуктов коррелирует со значительным снижением уровня сывороточного холестерина, липопротеидов низкой плотности и триглицеридов.

Исходя из вышеизложенного, при лечении женщин с постменопаузальным ОП, имеющим генетические предикторы низкого ответа на лечение (генотип ТТ полиморфизма rs2234693), рекомендовалось к препаратам алендроновой кислоты, кальция и холекальциферола добавить фитоэстроген (изофлавоны сои).

Предложенная схема терапии показала хорошую эффективность по показателям прироста минеральной плотности кости в различных участках скелета у женщин с постменопаузальным ОП ($p < 0,05$). Полученные результаты терапии по разработанной методике были сопоставимы с показателями Δ МПК у женщин, принимавших препараты по стандартной схеме ($p > 0,05$). При этом была нивелирована существенная разница в ответе женщин на антиостеопоротическую терапию в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Обладатели генотипа ТТ вышеуказанного полиморфизма имели значения Δ МПК в зоне поясничных позвонков L1-L4 (5,24 [1,39; 9,41] %) на уровне аналогичного показателя женщин с генотипами ТС или СС (4,08 [0,45; 6,87] %).

Кроме того, лица с генотипом ТТ, которым был предложен персонифицированный подход, имели более высокие значения Δ МПК в поясничных позвонках L1-L4, чем у женщин с аналогичным генетическим профилем, но принимавших стандартные схемы антиостеопоротической терапии (5,24 [1,39; 9,41] % против 2,53 [-0,28; 5,54] %; $p = 0,047$).

ВЫВОДЫ

В диссертации представлено теоретическое обоснование и достигнуто новое решение актуальной научной задачи современной медицины – на основании комплексного анализа эндокринных и иммунных параметров, а также генетических полиморфизмов генов, кодирующих факторы гормонального и цитокинового статуса расширены представления о процессах, происходящих в организме женщин с постменопаузальным ОП при приеме препарата алендроновой кислоты, определены предикторы эффективности лечения ОП вышеуказанным препаратом и разработан эффективный персонифицированный подход к терапии заболевания.

1. Прием больными с постменопаузальным остеопорозом по стандартной схеме препаратов алендроновой кислоты, кальция и витамина D обуславливает увеличение ($p < 0,001$) плотности костной ткани во всех зонах денситометрии – прирост МПК в различных отделах скелета женщин составляет от 2,42% [-1,41; 5,53] до 4,26% [1,00; 6,95]. Генотип ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* имеет ассоциацию с низкими показателями прироста МПК в поясничных позвонках L1-L4 (2,53% [-0,28; 5,54] против 4,71% [1,75; 8,08] у остальных женщин; $p < 0,05$). Кроме того, установлена слабая положительная связь между эффективностью лечения по результатам денситометрии проксимального отдела правой бедренной кости и степенью нарастания ИМТ ($r_s = 0,19$; $p < 0,05$), а также близкая к достоверности ассоциация генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* с низким ответом женщин на лечение при оценке плотности шейки бедренной кости справа ($p = 0,051$).

2. Постменопаузальный ОП перед началом лечения характеризуется сниженными концентрациями ТТГ (1,91 [1,20; 2,87] мкМЕ/мл против 2,43 [1,59; 3,01] мкМЕ/мл; $p = 0,025$). Обладатели аллеля Т (ТТ+ТС) полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* отличаются более низкими сывороточными концентрациями тестостерона общего, чем гомозиготные по аллелю С пациенты (СС), как до инициации лечения (1,36 [0,64; 2,30] нмоль/л против 1,91 [0,84; 2,50] нмоль/л;

$p=0,046$), так и через 12 месяцев терапии (1,40 [0,067; 2,40] нмоль против 1,98 [1,25; 3,20] нмоль/л; $p=0,024$). Наличие генотипа ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* сочетается при повторном обследовании с более низкими, чем у остальных пациентов, показателями тестостерона свободного (1,40 [0,70; 2,45] нг/л против 1,90 [1,20; 3,20] нг/л; $p=0,042$).

3. Заболевание постменопаузальным ОП характеризуется повышенными значениями в сыворотке крови остеокластогенных цитокинов IL-1 β ($p=0,035$), RANKL ($p=0,033$) и IL-6 ($p<0,001$). Причем, увеличенные концентрации IL-1 β ($p=0,002$) и IL-6 ($p<0,001$) сохраняются у пациентов и после лечения. Сывороточные уровни OPG в динамике лечения снижаются ($p=0,013$), что обуславливает и уменьшение к концу терапии индекса OPG/RANKL ($p=0,010$). Генотип ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* характеризуется связью с существенно повышенной секрецией RANKL и сниженными показателями индекса OPG/RANKL как до ($p=0,011$ и $p=0,006$ соответственно), так и после проведенного лечения ($p=0,042$ и $p=0,027$ соответственно). Женщины с генотипом GG отличаются от остальных пациентов увеличенной секрецией IL-6 как до терапии ($p=0,002$), так и после ($p=0,005$), а также повышенной продукцией IL-17A перед инициацией лечения ($p<0,05$).

4. Разработанная персонифицированная схема антирезорбтивной терапии для женщин с постменопаузальным ОП, включающая прием препарата фитоэстрогена, позволяет нивелировать существенную разницу в эффективности лечения в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1*. Лица с генотипом ТТ вышеуказанного полиморфизма, которым был предложен персонифицированный подход, имеют более высокие значения Δ МПК в поясничных позвонках L1-L4, чем у женщин с аналогичным генетическим профилем, но принимавших стандартные схемы антиостеопоротической терапии (5,24 [1,39; 9,41] % против 2,53 [-0,28; 5,54] %; $p=0,047$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая высокую распространенность постменопаузального остеопороза практические врачи должны быть нацелены на раннюю, своевременную диагностику заболевания костной системы у женщин старше 50 лет. Показаниями для обследования пациента является наличие факторов риска остеопороза, клинических и анамнестических его признаков (низкие показатели веса, индекса массы тела, случаи низкоэнергетических переломов, недостаточность солнечной инсоляции, низкое потребление с пищей витамина D и кальция, курение, злоупотребление алкоголем и т.д.). Женщины с подозрением на ОП должны быть направлены на проведение остеоденситометрии методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии.

2. Женщинам с выявленным постменопаузальным ОП перед инициацией лечения необходимо рекомендовать наряду со стандартным клинико-лабораторным обследованием молекулярно-генетическое тестирование на полиморфизм rs2234693 гена *ESR1*.

3. Женщинам, имеющим постменопаузальный ОП, при наличии TT полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* с целью повышения эффективности лечения необходимо назначать персонифицированную схему терапии: алендронат (по 70 мг внутрь 1 раз в неделю), препараты витамина D (холекальциферол по 800 МЕ/сутки) и кальция (по 1000 мг/сутки), фитоэстрогена (изофлавоны сои по 50 мг/сутки).

4. 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

ВОЗ	– Всемирная Организация Здравоохранения
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМТ	– индекс массы тела
ЛГ	– лютеинизирующий гормон
МПК	– минеральная плотность костной ткани
ОБ	– остеобласты
ОК	– остеокласты
ОП	– остеопороз
ТТГ	– тиреотропный гормон
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ЭДТА	– антикоагулянт динатриевая соль этилендиаминтетраацетата
BMP	– костный морфогенетический белок
C-fms	специфический рецептор для M-CSF
ΔМПК	– прирост (%) минеральной плотности костной ткани в динамике лечения
DXA, DEXA	– двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (Dual-Energy X-ray Absorbtiometry)
ESR	– эстрогеновый рецептор
ESR1	– ген эстрогенового рецептора 1 типа
ER-α	– эстрогеновый рецептор альфа
ER-β	– эстрогеновый рецептор бета
GWAS	– полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies)

IFN- γ	- γ -интерферон
IL	- интерлейкин
<i>IL</i>	- ген, кодирующий интерлейкин
L1-L4	- поясничные позвонки L1, L2, L3, L4
M-CSF	- макрофагальный колониестимулирующий фактор
Me	- медиана
OPG	- остеопротегерин
Q1; Q3	- интерквартильный размах
RANK	- активатор рецептора ядерного фактора κ B
RANKL	- лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B
rs	- коэффициент ранговой корреляции Спирмена
TGF- β	- трансформирующий фактор роста бета
Th1	- Т хелперы 1 типа
Th2	- Т хелперы 2 типа
Th17	- Т хелперы 17 типа
TNF	- фактор некроза опухолей
<i>TNFRSF11A</i>	- ген, который кодирует активатор рецептора ядерного фактора κ B (RANK)
<i>TNFRSF11B</i>	- ген, который кодирует остеопротегерин (OPG)
<i>TNFSF11</i>	- ген, который кодирует лиганд активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL)
Treg	- Т лимфоциты регуляторные

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алгоритмы выбора терапии остеопороза при оказании первичной медико-санитарной помощи и организации льготного лекарственного обеспечения отдельных категорий граждан, имеющих право на получение государственной социальной помощи. Системный обзор и резолюция Экспертного совета Российской ассоциации по остеопорозу [Текст] / В.И. Мазуров, О.М. Лесняк, К.Ю. Белова [и др.] // Профилактическая медицина. – 2019. – Т. 22, № 1. – С.57-65.
2. Анализ летальности у пациентов с переломом проксимального отдела бедренной кости [Текст] / О.Б. Ершова, К.Ю. Белова, А.А. Дегтярев [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2015. – Т. 18, № 3. – С. 3-8.
3. Баранов, В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины [Текст] / Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
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. Гладкова, Е.Н. Анализ состояния оказания медицинской помощи и исходов у больных с переломом проксимального отдела бедра (данные популяционного исследования) [Текст] / Е.Н. Гладкова, В.Н. Ходырев, О.М. Лесняк // Остеопороз и остеопатии. – 2011. – Т. 14. – № 3. – С. 7-10.
6. Деревянченко, Л.В. Остеопороз позвоночника как мультидисциплинарная проблема [Текст] / Л.В. Деревянченко, В.Г. Помников // Здоровье – основа человеческого потенциала – проблемы и пути их решения. – 2010. – Т. 1, № 5. – С. 414.
7. Добровольская, О.В. Затраты на лечение больных с осложненным остеопорозом в течение одного года после перелома [Текст] / О.В. Добровольская, Н.В. Торопцова // Остеопороз и остеопатии. – 2016. – Т. 19, №

2. – С. 15-16.

8. Добровольская, О.В. Осложненный остеопороз: минеральная плотность костной ткани различных отделов скелета, качество жизни, приверженность терапии и затраты на лечение [Текст]: автореф. дисс. ... к-та мед. наук: 14.01.01 / Москва, 2016. – 23 с.

9. Добровольская, О.В. Экономические аспекты осложненного остеопороза: стоимость лечения в течение первого года после перелома [Текст] / О.В. Добровольская, Н.В. Торопцова, О.М. Лесняк // Современная ревматология. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 29–34.

10. Дымнова, С.Е. Качество жизни и основные аспекты реабилитации больных пожилого возраста с остеопорозом [Текст] / С.Е. Дымнова, В.В. Сергеева, А.Ю. Родионова // Вестник современной клинической медицины. – 2018. – Т. 11, № 6. – С. 62-67.

11. Захурдаева, Л.Д. Эстрогены: биологические и фармакологические эффекты [Текст] / Л.Д. Захурдаева // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2010. – № 8. – С. 41-45.

12. Игнатенко, Г.А. Клинико-анамнестические факторы риска развития постменопаузального остеопороза [Текст] / Г.А. Игнатенко, Э.А. Майлян, Н.А. Резниченко // Университетская клиника. – 2018. – Т. 28, № 4. – С. 5-10.

13. Ильина, И.Ю., Доброхотова Ю.Э. Постменопаузальный остеопороз: взгляд гинеколога [Текст] / И.Ю. Ильина, Ю.Э. Доброхотова // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4, № 6. – С. 358-363.

14. 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.

15. Качество жизни пациентов, перенесших остеопоротический перелом позвонков [Текст] / А.Г. Солодовников, О.М. Лесняк, О.В. Добровольская [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2018. – Т. 56, № 1. – С. 48-54.

16. Кишакевич, І.Т. Особливості патогенезу остеопорозу у жінок з природною менопаузою [Текст] / І.Т. Кишакевич // Педіатрія, акушерство та

гінекологія. – 2012. – Т. 75, № 5. – С. 78-79.

17. Комплексный подход к терапии остеопороза в постменопаузальном периоде в контексте международных клинических рекомендаций [Текст] / И.С. Захаров, Г.И. Колпинский, Н.В. Шаламанова [и др.] // Consilium Medicum. – 2019. – Т. 21, № 6. – С. 50-53.

18. Крылов, М.Ю. Поиск генетических маркеров, определяющих эффективность терапии бисфосфонатами у российских женщин с постменопаузальным остеопорозом: пилотное исследование [Текст] / М.Ю. Крылов, О.А. Никитинская, Е.Ю. Самаркина // Научно-практическая ревматология. – 2016. – Т. 54, № 4. – С. 412-417.

19. Крюкова, И.В. Возможности длительной терапии остеопороза [Текст] / И.В. Крюкова // Клиническая геронтология. – 2019. – № 3-4. – С. 57-63.

20. 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.

21. Ларина, В.Н. Патологический перелом при постменопаузальном остеопорозе: клиническое наблюдение [Текст] / В.Н. Ларина, К.В. Глибко, И.И. Чукаева // Лечебное дело. – 2018. – № 1. – С. 100-108.

22. Лесняк, О.М. Современные возможности медикаментозного лечения постменопаузального остеопороза и пути решения проблем комплаентности [Текст] / О.М. Лесняк, А.Г. Закроева // Лечащий Врач. – 2012. – № 7. – С. 94-99.

23. Лесняк, О.М. Международные научные проекты в области остеопороза: общие усилия, одна цель [Текст] / О.М. Лесняк // Российский семейный врач. – 2016. – Т. 20, № 2. – С. 43-46.

24. Мадянов, И.В. Альтернативные (негормональные) методы лечения менопаузальных расстройств. В помощь врачу-интернисту [Текст] / И.В. Мадянов, Т.С. Мадянова // Лечащий врач. – 2020. – № 3. – С. 26-29.

25. Мазитова, М.И. Фитоэстрогены в лечении климактерического синдрома как альтернатива гормональной терапии [Текст] / М.И. Мазитова, И.Р. Талипова, Р.Р. Мардиева // Акушерство, Гинекология и Репродукция. –

2020. – Т. 14, № 6. – С. 685–693.

26. Майлян, Э.А. Мультифакторность этиопатогенеза остеопороза и роль генов канонического WNT-сигнального пути [Текст] / Э.А. Майлян // Остеопороз и остеопатии. – 2015. – № 2. – С. 15-19.

27. Майлян, Э.А. Современные представления об этиологии и патогенезе постменопаузального остеопороза [Текст] / Э.А. Майлян // Проблемы остеологии. – 2015. – Т.18, №2. – С.3-11.

28. Майлян, Э.А. Регуляция витамином D метаболизма костной ткани [Текст] / Э.А. Майлян // Медицинский вестник Юга России. – 2017. – Т.8, №1. – С.12-20.

29. Майлян, Э.А. Уровни цитокинов у женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизмов генов IL-6, TNFSF11 и TNFRSF11B [Текст] / Э.А. Майлян // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация. – 2018. – Т. 41, № 2. – С. 235-244.

30. Майлян, Э.А. Риск постменопаузального остеопороза и уровни цитокинов в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена ESR1 [Текст] / Э.А. Майлян, Г.А. Игнатенко, Н.А. Резниченко // Забайкальский медицинский вестник. – 2018. – № 1. – С. 45-51.

31. Насонов, Е.Л. Клинические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению остеопороза [Текст] / Е.Л. Насонов, Л.И. Беневоленская, О.М. Лесняк // М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2006. – С. 231-239.

32. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) [Текст] / О.М. Лесняк, И.А. Баранова, К.Ю. Белова К.Ю. [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 155-168.

33. Остеопороз и его последствия в аспекте демографических прогнозов ожидаемой продолжительности жизни населения [Текст] / В.Е. Ершов, С.С. Родионова, А.В. Кривова, В.П. Захаров // Верхневолжский медицинский журнал. – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 7-11.

34. Остеопороз у пожилых пациентов [Текст] / Е.Н. Дудинская, Н.В.

Браилова, В.А. Кузнецова, О.Н. Ткачева // Остеопороз и остеопатия. – 2019. – Т. 22, № 3. – С. 34-40.

35. 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.

36. Поворознюк, В.В. Иммунологические аспекты постменопаузального остеопороза [Текст] / В.В. Поворознюк, Н.А. Резниченко, Э.А. Майлян // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2013. – № 3. – С. 21-26.

37. Поворознюк, В.В. Роль иммунных факторов в патогенезе постменопаузального остеопороза [Текст] / В.В. Поворознюк, Н.А. Резниченко, Э.А. Майлян // Проблемы остеологии. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 3-7.

38. Поворознюк, В.В. Современные представления о механизмах прямой регуляции эстрогенами процессов ремоделирования костной ткани [Текст] / В.В. Поворознюк, Н.А. Резниченко, Э.А. Майлян // Проблемы остеологии. – 2013. – № 4. – С. 19-23.

39. Поворознюк, В.В. Регуляция эстрогенами ремоделирования костной ткани [Текст] / В.В. Поворознюк, Н.А. Резниченко, Э.А. Майлян // Репродуктивная эндокринология. – 2014. – Т. 15, № 1. – С. 14-18.

40. Рожинская, Л.Я. Современные стратегии профилактики и лечения постменопаузального остеопороза [Текст] / Л.Я. Рожинская // Медицинский совет. – 2012. – № 7. – С. 20-23.

41. 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.

42. Тихомиров, А.Л. Современная негормональная коррекция менопаузальных нарушений [Текст] / А.Л. Тихомиров, В.В. Казенашев, Т.А.

Юдина // Медицинский Совет. – 2016. – № 12. – С. 102-105.

43. Фармакогенетика бисфосфонатов в лечении постменопаузального остеопороза. Обзор литературы [Текст] / А.И. Монахова, Е.В. Егорова, В.В. Лялина, Г.И. Сторожаков // Лечебное дело. – 2013. – № 3. – С. 53-58.

44. 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.

45. Хусаинова, Р.И. Молекулярно-генетические основы остеопороза [Текст] / Р.И. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова // Биомика. – 2014. – Т. 6, № 1. – С. 24-51.

46. Яргин, С.В. Фитоэстрогены сои: эффективность в период менопаузы и возможные побочные эффекты [Текст] / С.В. Яргин // Международный эндокринологический журнал. – 2020. – Т. 16, № 4. – С. 361-365.

47. 2015 Guidelines for Osteoporosis in Saudi Arabia: Recommendations from the Saudi Osteoporosis Society [Text] / Y. Al-Saleh [et al.] // Ann. Saudi Med. – 2015. – Vol. 35, № 1. – P. 1-12.

48. 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, S.M. Petak, N. Binkley [et al.] // Endocr Pract. – 2016. – Vol. 22. – P. 1-42.

49. An atlas of genetic influences on osteoporosis in humans and mice [Text] / J.A. Morris, J.P. Kemp, S.E. Younten // Nat Genet. – 2019. – Vol. 51, № 2. – P. 258-266.

50. 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, G. Russomanno, G. Corbi [et al.] // Int J Mol Sci. – 2015. – Vol. 16, № 3. – P. 5452-5466.

51. 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.

52. A road map for understanding molecular and genetic determinants of osteoporosis [Text] / T.L. Yang, H. Shen, A. Liu // Nat Rev Endocrinol. – 2020. – Vol. 16, № 2. – P. 91-103.

53. Arron, J.R. Bone versus immune system [Text] / J.R. Arron, Y. Choi // Nature. – 2000. – V.408. – P.535-536.

54. Asada, N. Communication of bone cells with hematopoiesis, immunity and energy metabolism [Text] / N. Asada, M. Sato, Y. Katayama // Bonekey Rep. – 2015. – № 4. – P. 748.

55. A semi-mechanistic model of bone mineral density and bone turnover based on a circular model of bone remodeling [Text] / E. van Schaick [et al.] // Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics. – 2015. – Vol. 42, № 4. – P. 315-32.

56. Association Between Geranylgeranyl Pyrophosphate Synthase Gene Polymorphisms and Bone Phenotypes and Response to Alendronate Treatment in Chinese Osteoporotic Women [Text] / L.W. Han, D.D. Ma, X.J. Xu [et al.] // Chin. Med. Sci. J. – 2016. – Vol. 31. № 1. – P. 8-16.

57. Association between interleukin-6 gene polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis [Text] / Z. Wang, Y. Yang, M. He [et al.] // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. – 2013. – Vol. 17, № 12. – P. 898-909.

58. 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, N. Kara, G. Alayli, L. Tomak // Gene. – 2013. – Vol. 515, № 1. – P. 167-172.

59. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density [Text] / Y. Ni, H. Li, Y. Zhang [et al.] // Journal of Bone and Mineral Metabolism. – 2014. – Vol. 32, № 2. – P. 167-173.

60. B cells and T cells are critical for the preservation of bone homeostasis and attainment of peak bone mass in vivo [Text] / Y. Li, G. Toraldo, A. Li [et al.] // Blood. – 2007. – Vol. 109, № 9. – P. 3839-3848.

61. Begić, A. Influence of thyroid hormones on bone density [Text] / A. Begić, A. Begić, A. Arnautović-Halimić // Med. Glas. (Zenica). – 2020. – Vol. 17, № 1. – P. 35-40.
62. Bone metabolism genes variation and response to bisphosphonate treatment in women with postmenopausal osteoporosis [Electronic Resource] / P. Marozik, V. Alekna, E. Rudenko [et al.] // PLoS One. – 2019. – Vol. 14, № 8. – e0221511. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221511>
63. Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured human peripheral blood leukocytes [Text] / J.E. Horton, L.G. Raisz, H.A. Simmons [et al.] // Science. – 1972. – V.177. – P.793-795.
64. Bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis and their correlation with bone mineral density and menopause duration [Text] / C.V. Gurban [et al.] // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2019. – Vol. 60, № 4. – P. 1127-1135.
65. Boudin, E. Mechanisms in endocrinology: Genetics of human bone formation [Text] / E. Boudin, W. Van Hul // Eur. J. Endocrinol. – 2017. – Vol. 177, (2):69-83.
66. Changes of serum cytokines-related Th1/Th2/Th17 concentration in patients with postmenopausal osteoporosis [Text] / J. Zhang, Q. Fu, Z. Ren [et al.] // Gynecol. Endocrinol. – 2015. – Vol. 31, № 3. – P. 183-190.
67. Chen, L.R. Medical Treatment for Osteoporosis: From Molecular to Clinical Opinions [Text] / L.R. Chen, N.Y. Ko, K.H. Chen // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20, № 9. – P. 2213.
68. Chen, L.R. Utilization of Isoflavones in Soybeans for Women with Menopausal Syndrome: An Overview [Text] / L.R. Chen, K.H. Chen // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, № 6. – P. 3212.
69. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis [Text] / F. Cosman [et al.] // Osteoporos. Int. – 2014. – Vol. 25, № 10. – P. 2359-2381.
70. Complement C3a and C5a modulate osteoclast formation and inflammatory response of osteoblasts in synergism with IL-1 β [Text] / A. Ignatius, P. Schoengraf, L. Kreja [et al.] // J. Cell. Biochem. – 2011. – Vol. 112, № 9. – P. 2594-

2605.

71. 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.

72. 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.

73. Cytokines in Inflammatory Disease [Text] / S. Kany, J.T. Vollrath, B. Relja // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 23. – P.6008.

74. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis [Electronic Resource] / S.M. Jung, K.W. Kim, C.W. Yang [et al.] // *J Immunol Res.* – 2014. – Vol. 2014. – P.263625. Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2014/263625>

75. Cytokine profiles in osteoporosis suggest a proresorptive bias [Text]/ F. Azizieh, R. Raghupathy, D. Shehab [et al.] // *Menopause.* – 2017. – Vol. 24, № 9. – P. 1057–1064.

76. Delgado-Calle, J. Role and mechanism of action of sclerostin in bone [Text] / J. Delgado-Calle, A.Y. Sato, T. Bellido // *Bone.* – 2017. – Vol. 96. – P. 29-37.

77. Delitala, A.P. Thyroid Hormone Diseases and Osteoporosis [Text] / A.P. Delitala, A. Scuteri, C. Doria // *J. Clin. Med.* – 2020. – Vol. 9, № 4. – P. 1034.

78. Dual pathways to endochondral osteoblasts: a novel chondrocyte-derived osteoprogenitor cell identified in hypertrophic cartilage [Text] / J. Park [et al.] // *Biology open.* – 2015. – Vol. 4, № 5. – P. 608-621.

79. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial [Text] / D.M. Black, A.V. Schwartz, K.E. Ensrud [et al.] // *JAMA* 2006. – Vol. 296, № 24. – P. 2927-2938.

80. Estimating prevalence of osteoporosis: examples from industrialized countries [Text] / S.W. Wade, C. Strader, L.A. Fitzpatrick [et al.] // *Arch*

Osteoporos. – 2014. – Vol. 9. – P. 182.

81. 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>

82. Estrogen Hormone Biology [Text] / K.J. Hamilton [et al.] // Curr. Top. Dev. Biol. – 2017. – Vol. 125. – P. 109-146.

83. Estrogen receptor α (ESR1) IVS1-397T>C polymorphism lowers risk of fracture [Text] / J. Wang, G. Feng, H. Li [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2015. – Vol. 8, № 8. – P. 12696-12705.

84. 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.

85. Estrogen Receptors in Cell Membranes: Regulation and Signaling [Text] / J. Saczko [et al.] // Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol. – 2017. – Vol. 227. – P. 93-105.

86. Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology [Text] / M. Almeida [et al.] // Physiol. Rev. – 2017. – Vol. 97, № 1. – P. 135-187.

87. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women [Text] / J.A. Kanis, E.V. McCloskey, H. Johansson H. [et al.] // Osteoporos. Int. – 2013. – Vol. 24, № 1. – P. 23-57.

88. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women [Text] / J.A. Kanis, C. Cooper, R. Rizzoli, J.Y. Reginster // Osteoporos Int. – 2019. – Vol. 30, № 1. – P. 3-44.

89. Evaluation 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.

90. Evaluation of Thyroid Hormone Status and Bone Density Ratio in Euthyroid Postmenopausal Women in Early and Late Stage of Bone Loss [Text] / A. Arnautovic-Halimic [et al.] // Mater Sociomed. – 2019. – Vol. 31, № 2. – P. 115-118.

91. Evolution of ER α and VDR gene polymorphisms in relation to bone

mineral density in Turkish postmenopausal women [Text] / O. Kurt H. Yilmaz-Aydogan, M. Uyar [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, № 6. – P. 6723-6730.

92. Evolution of Genetic Techniques: Past, Present, and Beyond [Electronic Resource] / A.A. Durmaz [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2015. – Vol. 2015. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4385642/>

93. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? [Text] / Q. Chen, P. Shou, C. Zheng [et al.] // Cell. Death. Differ. – 2016. – Vol. 23, № 7. – P. 1128-1139.

94. Fracture Intervention Trial Fracture risk reduction with alendronate in women with osteoporosis: the Fracture Intervention Trial. FIT Research Group [Text] / D.M. Black, D.E. Thompson, D.C. Bauer [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85, № 11. – P. 4118–4124.

95. 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/>

96. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation [Text] / W.F. Li, S.X. Hou, B. Yu [et al.] // Hum Genet. – 2010. – Vol. 127, № 3. – P. 249-285.

97. Genomic and metabolomic patterns segregate with responses to calcium and vitamin D supplementation [Text] / M.O. Elnenaei [et al.] // Br. J. Nutr. – 2011. – Vol. 105, № 1. – P. 71-79.

98. Geusens, P. Osteoimmunology and osteoporosis [Text] / P. Geusens, W.F. Lems // Arthritis Res. Ther. – 2011. – Vol. 13, № 5. – P. 242.

99. Ginaldi, L. Osteoimmunology and Beyond [Text] / L. Ginaldi., M. De Martinis // Curr. Med. Chem. – 2016. – V.23, №33. – P.3754-3774.

100. Hospitalizations for osteoporosis-related fractures: Economic costs and clinical outcomes [Text] / D. Weycker, X. Li, R. Barron [et al.] // Bone Rep. – 2016. – Vol. 5. – P. 186-191.

101. IL-33/IL-31 Axis in Osteoporosis [Text] / M. De Martinis, M.M. Sirufo,

M. Suppa, L. Ginaldi // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 1239.

102. Influence of inflammatory conditions provided by macrophages on osteogenic ability of mesenchymal stem cells [Text] / G. Vallés, F. Bensiamar, L. Maestro-Paramio [et al.] // *Stem. Cell. Res. Ther.* – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 57.

103. Isoflavone-enriched soybean leaves attenuate ovariectomy-induced osteoporosis in rats by anti-inflammatory activity [Text] / C.L. Xie, K.H. Park, S.S. Kang [et al.] // *J. Sci. Food Agric.* – 2021. – Vol. 101, № 4. – P. 1499-1506.

104. 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.

105. Kenkre, J.S. The bone remodelling cycle [Text] / J.S. Kenkre, J. Bassett // *Ann. Clin. Biochem.* – 2018. – Vol. 55, № 3. – P. 308-327.

106. Khalid, A.B. Estrogen receptors alpha and beta in bone [Text] / A.B. Khalid, S.A. Krum // *Bone.* – 2016. – Vol. 87. – P. 130-135.

107. Kim, B.J. Coupling factors involved in preserving bone balance [Text] / B.J. Kim, J.M. Koh // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2019. – Vol. 76, № 7. – P. 1243-1253.

108. Krum, S.A. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone [Text] / S.A. Krum // *J. Cell. Biochem.* – 2011. – № 2. – P. 401-408.

109. Langdahl, B.L. Overview of treatment approaches to osteoporosis [Electronic Resource] / B.L. Langdahl // *Br. J. Pharmacol.* – 2020. Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/bph.15024>

110. Low Normal TSH Levels and Thyroid Autoimmunity are Associated with an Increased Risk of Osteoporosis in Euthyroid Postmenopausal Women [Text] / L. Yang [et al.] // *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* – 2021. – Vol. 21, № 5. – P. 859-865.

111. LRP5 polymorphisms and response to alendronate treatment in Chinese postmenopausal women with osteoporosis [Text] / P.R. Zhou, H.J. Liu, E.Y. Liao [et al.] // *Pharmacogenomics.* – 2014. – Vol. 15, № 6. – P. 821-831.

112. Marini, F. Pharmacogenetics of osteoporosis [Text] / F. Marini, M.L. Brandi // *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 28, № 6. – P. 783.

113. 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.

114. Mesenchymal Stem Cells: Cell Fate Decision to Osteoblast or Adipocyte and Application in Osteoporosis Treatment [Text] / L. Hu, C. Yin, F. Zhao [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 2. – P. 360.

115. Meshcheryakova, A. Sphingosine 1-phosphate signaling in bone remodeling: multifaceted roles and therapeutic potential [Text] / A. Meshcheryakova, D. Mechtcheriakova, P. Pietschmann // *Expert. Opin. Ther. Targets.* – 2017. – Vol. 21, № 7. – P. 725-737.

116. Michalski, M.N. Macrophages and skeletal health [Text] / M.N. Michalski, L.K. McCauley // *Pharmacol Ther.* – 2017. – Vol. 174. – P. 43-54.

117. Molecular-Based Treatment Strategies for Osteoporosis: A Literature Review [Electronic Resource] / Y. Ukon, T. Makino, J. Kodama [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 10. – E2557. Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms20102557>.

118. Mori, S. Genome-wide association study for Osteoporosis [Text] / S. Mori // *Clin. Calcium.* – 2016. – Vol. 26, № 4. – P. 537-543.

119. Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. Fosamax International Trial Study Group [Text] / H.A. Pols, D. Felsenberg, D.A. Hanley [et al.] // *Osteoporos Int.* – 1999. – Vol. 9, № 5. – P. 461–468.

120. New horizons in treatment of osteoporosis [Electronic Resource] / O. Tabatabaei-Malazy, P. Salari, P. Khashayar, B. Larijani // *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2017. – Vol. 25, № 1. – P. 2.
Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5297185/>

121. Nguyen, T.V. Pharmacogenomics of osteoporosis: opportunities and challenges [Text] / T.V. Nguyen, J.A. Eisman // *J. Musculoskelet Neuronal Interact.* – 2006. – № 6. – P. 62-72.

122. NF- κ B-Mediated Regulation of Osteoclastogenesis [Text] / B.F. Boyce, Y. Xiu, J. Li [et al.] // Endocrinol. Metab. (Seoul). – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 35-44.
123. Ono, T. Osteoimmunology in bone fracture healing [Text] / T. Ono, H. Takayanagi // Curr Osteoporos Rep. – 2017. – V.15, №4. –P. 367-375.
124. Ono, T. Recent advances in osteoclast biology [Text] / T. Ono, T. Nakashima // Histochem. Cell. Biol. – 2018. – Vol. 149, № 4. – P. 325-341.
125. Osteoblast-induced osteoclast apoptosis by fas ligand/FAS pathway is required for maintenance of bone mass [Text] / L. Wang, S. Liu, Y. Zhao [et al.] // Cell. Death. Differ. – 2015. – Vol. 22, № 10. – P. 1654-1664.
126. Osteoblast-osteoclast interactions [Text] / X. Chen, Z. Wang, N. Duan [et al.] // Connect Tissue Res. – 2018. – Vol. 59, № 2. – P. 99-107.
127. Osteoclast-derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation [Text] / K. Matsuoka, K.A. Park, M. Ito [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 2014. – Vol. 29, № 7. – P. 1522-1530.
128. Osteoclast-Derived Extracellular Vesicles: Novel Regulators of Osteoclastogenesis and Osteoclast-Osteoblasts Communication in Bone Remodeling [Text] / F.L. Yuan, Q.Y. Wu, Z.N. Miao [et al.] // Front Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 628.
129. Osteoclast-secreted SLIT3 coordinates bone resorption and formation [Text] / B.J. Kim, Y.S. Lee, S.Y. Lee [et al.] // J. Clin. Invest. – 2018. – Vol. 128, № 4. – P. 1429-1441.
130. Osteoimmunology: A Current Update of the Interplay Between Bone and the Immune System [Text] / C. Guder, S. Gravius, C. Burger [et al.] // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 11. – P. 58.
131. Osteoimmunology' Offers New Perspectives for the Treatment of Pathological Bone Loss [Text] / H. Liu, T. Luo, J. Tan [et al.] // Curr. Pharm. Des. – 2017. – V. 23, № 41. – P. 6272-6278.
132. Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying the Immune and Skeletal Systems [Text] / K. Okamoto, T. Nakashima, M. Shinohara M. [et al.] //

Physiol Rev. – 2017. – Vol. 97, № 4. – P. 1295-1349.

133. Osteoimmunology: The Nexus between bone and immune system [Text] / H.Y. Dar, Z. Azam, R. Anupam [et al.] // Front. Biosci. (Landmark Ed). – 2018. – Vol. 23. – P. 464-492.

134. Osteoporosis: the current status of mesenchymal stem cell-based therapy [Text] / J. Phetfong, T. Sanvoranart, K. Nartprayut [et al.] // Cell Mol Biol Lett. – 2016. – Vol. 21. – P.12.

135. P4 medicine and osteoporosis: a systematic review [Text] / K. Kodrič, K. Čamernik, D. Černe [et al.] // Wien. Klin. Wochenschr. – 2016. – Vol. 128 (Suppl 7). – P. 480-491.

136. Paracrine and endocrine actions of bone-the functions of secretory proteins from osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts [Text] / Y. Han, X. You, W. Xing // Bone Res. – 2018. – № 6. – P. 16.

137. 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.

138. Pathway: A Mechanism Involved in Exercise-Induced Bone Remodeling [Electronic Resource] / M. Tobeiha, M.H. Moghadasia, N. Amin, S. Jafarnejad [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2020. – Vol. 2020. – P.6910312. Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2020/6910312>

139. Pharmacogenomics Study for Raloxifene in Postmenopausal Female with Osteoporosis [Text] / H.F. Lu, P.H. Chou, G.H. Lin [et al.] // Dis. Markers. – 2020. – Vol. 31. – P. 8855423.

140. Pharmacological Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: An Endocrine Society* Clinical Practice Guideline [Text] / R. Eastell, C.J. Rosen, D.M. Black [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2019. – Vol. 104, № 5. – P. 1595-1622.

141. Polymorphisms in key bone modulator cytokines genes influence bisphosphonates therapy in postmenopausal women [Text] / C.A. Lima, N.R. Javorski, A.P. Souza [et al.] // Inflammopharmacology. – 2017. – Vol. 25, № 2. – P.

191-201.

142. Postmenopausal osteoporosis [Electronic Resource] / R. Eastell, T.W. O'Neill, L.C. Hofbauer [et al.] // *Nat Rev Dis Primers*. – 2016. – Vol. 2. – P. 16069. Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.69>.

143. Rachner, T.D. Osteoporosis: now and the future [Text] / T.D. Rachner, S. Khosla, L.C. Hofbauer // *Lancet*. – 2011. – № 9. – P. 1276–1287.

144. 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.

145. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond [Text] / T. Ono, M. Hayashi, F. Sasaki, T. Nakashima // *Inflamm. Regen.* – 2020. – Vol. 40. – P. 2.

146. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks [Text] / D.S. Amarasekara, H. Yun, S. Kim [et al.] // *Immune Netw.* – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 8.

147. 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.

148. 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.

149. Sclerostin is expressed in osteoclasts from aged mice and reduces osteoclast-mediated stimulation of mineralization [Text] / K. Ota, P. Quint, M. Ruan [et al.] // *J. Cell. Biochem.* – 2013. – Vol. 114, № 8. – P. 1901-1907.

150. Serum osteopontin levels in relation to bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women [Text] / Q.S. Wei, L. Huang, X. Tan [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2016. – Vol. 76, № 1. – P. 33-39.

151. SOST polymorphisms and response to alendronate treatment in postmenopausal Chinese women with osteoporosis [Text] / P.R. Zhou, X.J. Xu, Z.L.

Zhang [et al.] // Pharmacogenomics. – 2015. – Vol. 16, № 10. – P. 1077-1088.

152. Srivastava, R.K. Immunoporosis: Immunology of Osteoporosis-Role of T Cells [Text] / R.K. Srivastava, H.Y. Dar, P.K. Mishra // Front Immunol. – 2018. – V.9. – P.657.

153. STRAW 10 Collaborative Group. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging [Text] / S.D. Harlow [et al.] // Menopause. – 2012. – Vol. 19, № 4. – P. 387-395.

154. 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. 86, № 12. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3903335/>

155. The analysis of DKK1 polymorphisms in relation to skeletal phenotypes and bone response to alendronate treatment in Chinese postmenopausal women [Text] / J.Y. Wang, P.R. Zhou, Y. Liu [et al.] // Pharmacogenomics. – 2016. – Vol. 17, № 3. – P. 209-217.

156. 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.

157. The effect of vitamin D receptor BsmI genotype on the response to osteoporosis treatment in postmenopausal women: a pilot study [Text] / M. A. Creatsa, P. Pliatsika, G. Kaparos [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Res. – 2011. – Vol. 37, № 10. – P. 1415-1422.

158. The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in Slovak postmenopausal women [Text] / V. Mondockova, M. Adamkovicova, M. Lukacova [et al.] // BMC Med. Genet. – 2018. – Vol. 19, № 1. – P. 174.

159. The impact of thyroid autoimmunity (TPOAb) on bone density and fracture risk in postmenopausal women [Text] / S.P. Polovina [et al.] // Hormones (Athens). – 2017. – Vol. 16, № 1. – P. 54-61.

160. The macrophage polarization regulates MSC osteoblast differentiation in vitro [Text] / L. Gong, Y. Zhao, Y. Zhang, Z. Ruan // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2016. – Vol. 46, № 1. – P.65-71.

161. 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/>

162. The role of cytokines in postmenopausal osteoporosis [Text] / S.D. Brincat, M. Borg, G. Camilleri, J. Calleja-Agius // *Minerva Ginecol.* – 2014. – Vol. 66, № 4. – P.391-407.

163. 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.

164. The shift in the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis of mesenchymal stem cells mediated by glucocorticoid receptor [Text] / L. Han, B. Wang, R. Wang [et al.] // *Stem. Cell. Res. Ther.* – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 377.

165. Updating osteoimmunology: regulation of bone cells by innate and adaptive immunity [Text] / M.C. Walsh, N. Takegahara, H. Kim, Y. Choi // *Nat Rev Rheumatol.* – 2018. – Vol. 14, № 3. – P. 146-56.

166. Urano, T. Genetics of osteoporosis [Text] / T. Urano, S. Inoue // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2014. – Vol. 452, № 2. – P. 287-293.

167. Vitamin D Metabolites and Sex Steroid Indices in Postmenopausal Women with and without Low Bone Mass [Text] / N.M. Al-Daghri [et al.] // *Metabolites.* – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 86.

168. Wang, C. Effect of interleukin-6 polymorphism on fracture risk [Text] / C. Wang, J. Ge, S. Ni // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, № 6. – P. 9599-9602.

169. Weitzmann, M.N. Bone and the Immune System [Text] / M.N. Weitzmann // *Toxicol Pathol.* – 2017. – Vol. 45, № 7. – P. 911-924.

170. Weitzmann, M.N. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory

tale [Text] / M.N. Weitzmann, R. Pacifici // J. Clin. Invest. – 2006. – Vol. 116, №5. – P.1186-1194.

171. 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/>

172. 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.

173. Zheng, H. 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 // Pharmacogenet. Genomics. – 2016. – Vol. 26, № 1. – P. 12-19.

174. Zhu, X. Twelve years of GWAS discoveries for osteoporosis and related traits: advances, challenges and applications [Text] / X. Zhu, W. Bai, H. Zheng // Bone Res. – 2021. – Vol. 9, № 1. – P. 23.

175. Zuo, H. Nuclear Receptors in Skeletal Homeostasis [Text] / H. Zuo, Y. Wan // Curr. Top. Dev. Biol. – 2017. – Vol. 125. – P. 71-107.