

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Донецк – 2021

Работа выполнена в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», г. Донецк

Научные руководители: доктор медицинских наук, доцент,
Майлян Эдуард Апетнакович
доктор медицинских наук, профессор
Чурилов Андрей Викторович

Официальные оппоненты: **Резниченко Наталья Анатольевна**
доктор медицинских наук, доцент,
Медицинская академия имени С.И.
Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И.
Вернадского», профессор кафедры акушерства,
гинекологии и перинатологии №1

Симрок Василий Васильевич
доктор медицинских наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный
медицинский университет», профессор кафедры
акушерства и гинекологии №1

Ведущая организация: **Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Дагестанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации**

Защита состоится «11» февраля 2022 года в 11.00 часов на заседании диссертационного совета Д 01.011.03 при Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького» по адресу: г. Донецк, ул. Полоцкая, 2а, Республиканский онкологический центр им. проф. Г.В. Бондаря.
Тел. (062) 332-70-35, e-mail: spec-sovet-01-011-03@dnmu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке организации по адресу:
г. Донецк, пр. Ильича, 16; dnmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 202__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 01.011.03

С.Э. Золотухин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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 (Eastell R. et al., 2016).

Медицинская и социально-экономическая значимость ОП определяется широкой и повсеместной распространенностью заболевания, а также его последствиями в виде низкоэнергетических переломов (Лесняк О.М., Закроева А.Г., 2012; Поворознюк В.В., Орлик Т.В., 2015; Лесняк О.М., 2016).

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 (Ларина В.Н. и соавт., 2018; Ершов В.Е. и соавт., 2019). 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 (Лесняк О.М. и соавт., 2018). 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 (Лесняк О.М. и соавт., 2018).

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 (Добровольская О.В., Торопцова Н.В., 2016; Добровольская О.В. и соавт., 2016).

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 (Гладкова Е.Н. и соавт., 2011). При этом в первый год после вышеуказанного перелома до 45% больных умирает (Ершова О.Б. и соавт., 2015; Добровольская О.В., 2016; Дымнова С.Е. и соавт., 2018).

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 (Захаров И.С. и соавт., 2019; Мазуров В.И. и соавт., 2019; Camacho P.M. et al., 2016; Eastell R. et al., 2019; Marozik P. et al., 2019). Минимальная продолжительность непрерывного применения алендроната, как правило, составляет 3–5 лет (Крюкова И.В., 2019). 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 (Монахова А.И. и соавт., 2013; Nguyen T.V., Eisman J.A., 2006; Marozik P. et al., 2019).

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 (Кузнецова И.В., 2016; Фомина Л.А., Зябрева И.А., 2017; Ginaldi L., De Martinis M., 2016; Almeida M. et al., 2017; Liu H. et al., 2017; Ono T., Takayanagi H., 2017; Chen X. et al., 2018; Srivastava R.K. et al., 2018; Walsh M.C. et al., 2018).

Учитывая важную роль в этиопатогенезе также и генетических факторов, несомненно, есть основа и для развития персонализированного 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 (Sabik O.L., Farber C.R., 2017; Morris J.A. et al., 2019; Yang T.L. et al., 2020; Zhu X. et al., 2021).

В настоящее время имеются свидетельства о влиянии отдельных генетических полиморфизмов на эффект антиостеопоротической терапии у

женщин с постменопаузальным ОП (Крылов М.Ю. и соавт., 2016; Creatsa M. et al., 2011; Zhou P.R. et al., 2014; Conti V. et al., 2015; Zhou P.R. et al., 2015; Han L.W. et al., 2016; Wang J.Y. et al., 2016; Zheng H., 2016; Lima C.A. et al., 2017]. 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 ГОУ ВПО ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО «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 кВ) 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 постменопаузального ОП препаратом алендроновой кислоты у «неответчиков». 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 также 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 ГОУ 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 21 странице и 6 рисунками на 3 страницах. Список использованной литературы содержит 175 научных публикаций, из них 46 – изложены кириллицей, 129 – латиницей и занимает 20 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 279 женщин. 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 I этапа было отобрано 136 женщин с подтвержденным постменопаузальным ОП. Контрольными служили данные обследования 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.

Женщины с постменопаузальным ОП были обследованы дважды – до начала приема антиостеопоротических препаратов и через 12 месяцев терапии. Курс терапии продолжительностью 12 месяцев был стандартным и включал прием алендроновой кислоты («Алендронат», по 1 таблетке 1 раз в неделю внутрь) и комплексного препарата витамина D и кальция («Кальций-Д3 Никомед Форте», по 1 таблетке 2 раза в сутки внутрь).

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

Результаты, полученные на I 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 персонафицированной схемы лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом.

На II этапе работы с целью оценки разработанной персонифицированной схемы терапии было обследовано 68 женщин с постменопаузальным ОП.

Лечение с использованием разработанных схем назначалось пациентам длительностью 12 месяцев. До и по окончании лечения производилась остеоденситометрия и оценивалась эффективность терапии по рассчитанному показателю прироста минеральной плотности кости (Δ МПК). Контрольными данными служили результаты лечения женщин ($n=136$) с постменопаузальным ОП по стандартной схеме. Дизайн исследования отражен на рисунке 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) и разработки персонифицированной схемы лечения. 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 1. Дизайн исследования

Женщинам выполняли инструментальные и лабораторные методы исследования. Остеоденситометрию осуществляли методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии с помощью денситометра «Discovery W QDR Series X-Ray Bone Densitometer» (HOLOGIC Inc., США). 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*. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяли содержание эстрадиола, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), тиреотропного гормона (ТТГ), общей и свободной фракций тестостерона, а также 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).

Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «MedStat». В связи с тем, что для большинства исследуемых параметров характер распределения был отличным от нормального, использовали непараметрические методы статистического анализа. Определяли медиану (Me), интерквартильный размах [Q1; Q3]. Для сравнения центров двух независимых выборок использовали U-тест Манна-Уитни, а для выявления статистически значимых изменений показателей в динамике лечения – T-критерий Вилкоксона. Для множественных сравнений трех и более независимых

выборки 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 $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Анализ результатов обследования 136 женщин с постменопаузальным ОП показал, что через 12 месяцев лечения увеличение на 1 год возраста и длительности постменопаузы сочеталось у пациентов с достоверной динамикой прироста показателей массы тела ($p = 0,040$) и индекса массы тела ($p = 0,046$).

Выполненная оценка показателей остеоденситометрии до и после лечения показала хорошую эффективность назначенной женщинам с постменопаузальным ОП терапии. Причем, увеличение плотности костной ткани было отмечено во всех зонах денситометрии у женщин ($p < 0,001$). Показатели Δ МПК (Me [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. 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 ($r_s = 0,19$; $p < 0,05$).

Анализ показателей прироста минеральной плотности в проксимальных отделах и шейках левой и правой бедренных костей в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* показал отсутствие различий между обладателями генотипов CC, CT и TT ($p > 0,05$). 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]).

Изучение степени прироста МПК у женщин с различным генетическим профилем по полиморфизму rs9340799 гена *ESR1* 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].

Анализ результатов лечения женщин в зависимости от полиморфизма rs1800795 показал, что женщины с различными генетическими вариантами гена *IL-6* по полиморфизму rs1800795 достоверно не различались достигнутым эффектом от лечения постменопаузального остеопороза препаратом алендроновой кислоты ($p > 0,05$). 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].

Анализ показателей Δ МПК в поясничных позвонках L1-L4, в участках левой и правой бедренных костей в зависимости от полиморфных вариантов гена *TNFSF11* (полиморфизм rs9594738) не позволил выявить влияние исследуемого генетического фактора на эффективность лечения остеопороза ($p > 0,05$). При этом прирост минеральной плотности в различных участках скелета женщин с различными генотипами полиморфизма rs9594738 колебался от 1,39% [-1,56; 5,20] в зоне шейки левого бедра до 5,16% [1,22; 8,08].

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 свидетельствуют о том, что показатели Δ МПК в различных участках скелета женщин в двух группах существенно не отличались друг от друга ($p > 0,05$).

Таким образом, при обследовании 136 женщин с постменопаузальным ОП в динамике лечения установлена хорошая эффективность назначения препарата алендроновой кислоты. Прием вышеуказанного препарата в течение 12 месяцев приводит к увеличению плотности костной ткани у женщин во всех зонах денситометрии ($p < 0,001$). 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 гена *ESR1*, rs9594738 гена *TNFSF11* (RANKL) и rs3134069 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.

Выполненные исследования эндокринного статуса позволили установить, что постменопаузальный остеопороз перед началом антиостеопоротического лечения характеризовался достоверно сниженными концентрациями ТТГ (1,91 [1,20; 2,87] мкМЕ/мл против 2,43 [1,59; 3,01] мкМЕ/мл в контроле; $p = 0,025$) 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 ($p > 0,05$).

Важно отметить, что в динамике лечения существенных изменений в концентрациях изученных гормонов установлено не было. Кроме того, 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). Не было выявлено различий ($p > 0,05$) 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), тестостерона общего (1,54 [0,78; 2,57] нмоль/л и 1,51 [0,65; 2,42] нмоль/л соответственно), тестостерона свободного (1,70 [1,00; 3,10] нг/л и 1,69 [0,99; 3,06] нг/л соответственно).

Исследование ассоциаций уровней гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом в зависимости от генетических полиморфизмов генов *ESR1*, *IL-6*, *TNFSF11* и *TNFRSF11B* показал наличие достоверных связей полиморфизма rs2234693 с андрогеновым статусом. 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 ($p>0,05$).

Результаты обследования женщин в зависимости от полиморфизма rs9340799 гена *ESR1* показали увеличение содержания в сыворотке крови тестостерона свободного в группе обладателей генотипа АА полиморфизма – от 1,39 [0,63; 2,17] нг/л перед лечением до уровня 1,65 [1,00; 3,00] нг/л после лечения ($p=0,049$).

Наличие генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* 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; $p=0,044$).

Анализ полученных в группах результатов гормональных исследований как до лечения, так и к концу терапии показал отсутствие ассоциаций остальных изученных полиморфизмов (rs9594738 гена *TNFSF11*, rs3134069 гена *TNFRSF11B*) с сывороточными концентрациями всех изученных гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом ($p>0,05$).

Сравнительная оценка цитокинового статуса у 136 женщин с постменопаузальным остеопорозом до лечения и 75 женщин контрольной группы показала, что 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 ($p>0,05$).

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 ($p = 0,010$).

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*.

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).

По всей видимости, эта особенность в синтезе RANKL и обусловила ассоциацию полиморфизма rs2234693 со значениями индекса OPG/RANKL. До начала терапии носители генотипа TT 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 TT и TC соотношение OPG/RANKL в динамике лечения существенно не изменялось ($p > 0,05$). Однако, наличие генотипа CC полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* сочеталось у женщин с достоверным приростом индекса OPG/RANKL (от 23,7 [12,6; 56,6] до 31,45 [14,7; 243,7]; $p = 0,031$).

Исследование ассоциаций второго изученного полиморфизма гена *ESR1* (rs9340799) с изменениями цитокинового статуса показало, что генотип AA 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*. 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 ($p<0,05$) значениями IL-17A (4,1 [2,25; 6,65] пг/мл) и по сравнению с группой женщин, имеющих генотип CG (1,85 [0,3; 5,2] пг/мл), и по сравнению с носителями генотипа CC (1,9 [0,0; 6,0] пг/мл). После терапии эта связь была нивелирована ($p>0,05$). Кроме того, у пациентов с генотипом GG отмечалось снижение концентраций OPG в динамике 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*. 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. 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; $p=0,013$).

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 TT 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 TT, 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 TT 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.

Полученные при выполнении исследования результаты и сделанные выводы послужили основанием для разработки персонализированной 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 TT 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 CC (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 TT 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 T до инициации лечения имели более низкое содержание в сыворотке крови тестостерона общего, чем гомозиготные по аллелю C пациенты ($p=0,046$). Эта же особенность андрогенового статуса у носителей аллеля T 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 (Li W.F. et al., 2010). 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 Δ МПК. 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. 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. При использовании персонафицированной 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).

Полученные данные о результатах лечения пациентов двух групп 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 ($p > 0,05$). Так, обладатели генотипа ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* в результате лечения по предложенной схеме имели прирост минеральной плотности в зоне поясничных позвонков L1-L4 (5,24% [1,39; 9,41]), в шейках бедренных костей слева (3,46% [-0,83; 14,1]) и справа (3,90 [-0,94; 8,72]), в проксимальных отделах левого (2,71% [1,35; 5,71]) и правого бедра (3,73% [1,21; 5,61]) на уровнях, сопоставимых ($p > 0,05$) с аналогичными показателями в группе

пациентов, имеющих ТС или СС генотипы (4,08% [0,45; 6,87]; 1,70 [-3,08; 8,89]; 3,57 [-1,97; 8,74]; 2,31 [0,17; 4,41] и 2,20 [-1,73; 6,92] соответственно).

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.

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 (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 ($rs = 0,19$; $p < 0,05$), 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 персонафицированная 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 персонафицированный 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 ТТ полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* с целью повышения эффективности лечения необходимо назначать персонафицированную 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 РАБОТ, В КОТОРЫХ ОПУБЛИКОВАНЫ ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ

1. Роль цитокинов в ремоделировании костной ткани и патогенезе постменопаузального остеопороза [Текст] / Г.А. Игнатенко, И.Г. Немсадзе, Е.Д. Мирович, А.В. Чурилов, Э.А. Майлян, И.С. Глазков, З.С. Румянцева // Медицинский вестник Юга России. – 2020. – Т. 11, № 2. – С. 6-18. Соискатель провела поиск, анализ и обобщение литературных данных, подготовила текст статьи.

2. Роль цитокинов в ремоделировании костной ткани в норме и патологии [Текст] / Г.А. Игнатенко, Э.А. Майлян, И.Г. Немсадзе, З.С. Румянцева, А.В. Чурилов, И.С. Глазков, Е.Д. Мирович // Таврический медико-биологический вестник. – 2020. – Т. 23, № 1. – С. 133-139. Соискатель провела поиск, анализ и обобщение литературных данных, подготовила текст статьи.

3. Распространенность и медико-социальная значимость постменопаузального остеопороза [Текст] / Э.А. Майлян, А.Г. Адунц, И.Г. Немсадзе, Н.И. Костецкая // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2020. – Т. 24, № 4. – С.478-485. Соискатель провела поиск, анализ и обобщение литературных данных, сбор клинического материала исследования, выполнила статистическую обработку данных исследования, сформулировала выводы.

4. Цитокиновый статус женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендронатом [Текст] / Э.А. Майлян, А.В. Чурилов, И.Г. Немсадзе, З.С. Румянцева, И.С. Глазков // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 5-11. Соискателю принадлежит подбор клинического материала исследования, проведение статистической обработки данных исследования, анализ результатов, подготовка статьи.

5. Эффективность лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена эстрогенового рецептора 1 типа [Текст] / Э.А. Майлян, А.В. Чурилов, И.Г. Немсадзе, Е.И. Беседина, И.С. Глазков // Таврический медико-биологический вестник. – 2021. – Т. 24, № 1. – С. 41-46. Соискатель разработала концепцию и дизайн исследования, провела поиск, анализ и обобщение литературных данных, собирала клинико-anamnestические и лабораторные данные женщин; выполняла математическую обработку результатов; участвовала в написании статьи.

6. Показатели гормонов у женщин с постменопаузальным остеопорозом до

и после 12-ти месячного курса приема алендроновой кислоты [Текст] / И.Г. Немсадзе, Э.А. Майлян, А.В. Чурилов, Н.И. Костецкая, Д.В. Зяблицев, Д.А. Лесниченко, В.В. Мишин, О.К. Межова // Медико-социальные проблемы семьи. – 2021. – Т. 26, № 2. – С. 53-58. Соискатель выполнила клиническую часть работы, статистическую обработку данных, анализ литературных источников, обобщение результатов.

7. Эффективность лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендронатом в зависимости от отдельных факторов [Текст] / А.В. Чурилов, Э.А. Майлян, И.Г. Немсадзе, Д.А. Лесниченко, Е.Д. Мирович // Университетская клиника. – 2021. – № 2 (39). – С. 94-99. Соискатель провела сбор клинического материала исследования, проведение статистической обработки данных исследования, формулирование выводов.

8. Динамика уровней цитокинов у женщин с постменопаузальным остеопорозом, принимающих препарат алендроновой кислоты [Текст] / И.Г. Немсадзе, А.В. Чурилов, Э.А. Майлян, Е.Д. Мирович, Д.А. Лесниченко // Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. – 2021. – Вып. 3 (165). – С. 47-52. Соискатель разработала концепцию и дизайн исследования, провела поиск, анализ и обобщение литературных данных, собрала клиничко-anamнестические и лабораторные данные женщин; выполнила математическую обработку результатов; участвовала в написании статьи.

9. Чурилов, А.В. Уровни отдельных цитокинов у женщин с постменопаузальным остеопорозом [Текст] / А.В. Чурилов, И.Г. Немсадзе // Университетская клиника. – «Наука побеждать ... болезнь»: сб. материалов III Международного медицинского форума Донбасса, 14-15 ноября 2019 г, Донецк. – Донецк, 2019. – Приложение. – С. 447.

10. Эпидемиологическая характеристика постменопаузального остеопороза в Донецком регионе [Текст] / Э.А. Майлян, А.Г. Адунц, И.Г. Немсадзе, Н.И. Костецкая // Университетская клиника. – «Наука побеждать ... болезнь» : материалы IV Международного медицинского форума Донбасса, 12-13 ноября 2020 г., Донецк. – Донецк, 2020. – Приложение. – С. 314-315.

11. Остеоиммунология – новая область научных знаний [Текст] / Э.А. Майлян, А.В. Чурилов, И.Г. Немсадзе, Е.Д. Мирович, И.С. Глазков И.С. // Университетская клиника. – «Наука побеждать ... болезнь» : материалы IV Международного медицинского форума Донбасса, 12-13 ноября 2020 г., Донецк. – Донецк, 2020. – Приложение. – С. 315-316.

12. Немсадзе, И.Г. Гормональный статус и эффективность алендроната при постменопаузальном остеопорозе [Текст] / И.Г. Немсадзе // «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины»: сб. материалов 82-го Международного конгресса молодых ученых, г. Донецк. – Донецк, 2020. – С. 266.

13. Майлян, Э.А. Влияние эстроген-рецепторного статуса на эффективность лечения постменопаузального остеопороза [Текст] / Э.А. Майлян, А.В. Чурилов, И.Г. Немсадзе // Боткинские чтения: сб. тезисов Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием, 29-30 апреля 2020 г., Санкт-Петербург. – СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2020. – С. 170-171.

14. Чурилов, А.В. Эффективность лечения постменопаузального остеопороза бисфосфонатами в зависимости от полиморфных вариантов гена эстрогеновых рецепторов 1 типа [Текст] / А.В. Чурилов, Э.А. Майлян, И.Г. Немсадзе // Сб. науч. трудов VIII съезда терапевтов Забайкальского края, 24-25 сентября 2020 г., г.Чита. – Чита: РИЦ ЧГМА, 2020. – С. 100-101.

15. Адунц, А.Г. Распространенность постменопаузального остеопороза в Донецком регионе [Текст] / А.Г. Адунц, И.Г. Немсадзе // Инновации в фундаментальной и клинической медицине: материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, 9-10 декабря 2020, г. Нальчик. – Нальчик, 2020. – С. 335-340.

16. Немсадзе И.Г. Концентрации отдельных цитокинов в сыворотке крови женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения алендронатом [Текст] / И.Г. Немсадзе // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Сб. науч. трудов: XI межвузовская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием, посвященная 10-летию Саратовского медицинского университета «РЕАВИЗ» «Научная весна 2021». – Самара – Саратов – Москва – Санкт-Петербург. – 2021. – № 2 (50), Приложение, – С. 173-174.

17. Немсадзе И.Г. Влияние полиморфизма rs2234693 на эффективность алендроната при постменопаузальном остеопорозе [Текст] / И.Г. Немсадзе // Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин: сб. науч. тр. V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых, аспирантов, студентов, г.Саранск. – Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2021. – С. 180-181.

18. Влияние полиморфизма rs2234693 гена эстрогенового рецептора 1 типа на эффективность лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом [Текст] / Э.А. Майлян, А.В. Чурилов, И.Г. Немсадзе, И.С. Глазков // Боткинские чтения: сб. тезисов Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием, 23-24 апреля 2021 г., Санкт-Петербург. – СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2021. – С. 171-172.

19. Эффективность лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом препаратом алендроновой кислоты [Текст] / А.В. Чурилов, Э.А. Майлян, И.Г. Немсадзе, Е.Д. Мирович // Боткинские чтения: сб. тезисов Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием, 23-24 апреля 2021 г., Санкт-Петербург. – СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2021. – С. 307-308.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ИМТ	- индекс массы тела
ЛГ	- лютеинизирующий гормон
МПК	- минеральная плотность костной ткани
ОП	- остеопороз
ТТГ	- тиреотропный гормон
ФСГ	- фолликулостимулирующий гормон
ΔМПК	- прирост (%) минеральной плотности костной ткани в динамике лечения
ESR	- эстрогеновый рецептор

<i>ESR1</i>	- ген эстрогенового рецептора 1 типа
GWAS	- полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies)
IL	- интерлейкин
<i>IL</i>	- ген, кодирующий интерлейкин
L1-L4	- поясничные позвонки L1, L2, L3, L4
Me	- медиана
OPG	- остеопротегерин
Q1; Q3	- интерквартильный размах
RANKL	- лиганд активатора рецептора ядерного фактора κB
rs	- коэффициент ранговой корреляции Спирмена
TNF	- фактор некроза опухолей
<i>TNFRSF11A</i>	- ген, который кодирует активатор рецептора ядерного фактора κB (RANK)
<i>TNFRSF11B</i>	- ген, который кодирует остеопротегерин (OPG)
<i>TNFSF11</i>	- ген, который кодирует лиганд активатора рецептора ядерного фактора κB (RANKL)