

Генетические полиморфизмы фарнезил-дифосфат синтазы (FDPS) и геранилгеранил-дифосфат синтазы (GGSP1) и эффективность терапии бисфосфонатами у российских женщин с постменопаузальным остеопорозом: пилотное исследование

Крылов М.Ю.¹, Никитинская О.А.¹, Самаркина Е.Ю.¹,
Демин Н.В.¹, Торопцова Н.В.¹

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия, ²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия
¹115522 Москва, Каширское шоссе, 34А;
²119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

¹V.A. Nasonova
Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia; ²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
¹34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522; ²8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991

Контакты: Михаил Юрьевич Крылов;
mekry@yandex.ru

Contact: Mikhail Krylov;
mekry@yandex.ru

Поступила 19.06.15

Минеральная плотность кости (МПК) на 60–80% обусловлена генетическими факторами, которые являются важным наследственным компонентом, определяющим предрасположенность к остеопорозу (ОП). Ранее было показано влияние отдельных полиморфных генов на эффективность проводимой противоостеопоротической терапии.

Цель исследования – изучить влияние полиморфизмов генов фарнезил-дифосфат синтазы (*FDPS*) и геранилгеранил-дифосфат синтазы 1 (*GGPS1*) на динамику МПК на фоне 12-месячной терапии бисфосфонатами (БФ) у женщин с постменопаузальным ОП.

Материал и методы. В исследование включены 53 женщины с ОП. МПК в позвоночнике и проксимальном отделе бедра определяли с помощью рентгеновской денситометрии до и после лечения БФ. Полиморфизмы -99A/C и -8188T ins/del генов *FDPS* и *GGPS1* исследованы методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. Динамика МПК была менее выражена у женщин с аллелью С полиморфизма -99A/C гена *FDPS* по сравнению с носителями генотипа AA: $2,3 \pm 3,6$ и $4,4 \pm 3,8\%$ ($p=0,062$) в позвоночнике; $0,6 \pm 3,1$ и $2,8 \pm 4,5\%$ ($p=0,075$) – в шейке бедра; $0,5 \pm 2,9$ и $2,5 \pm 2,8\%$ ($p=0,020$) – в области всего бедра соответственно. По данным денситометрии шейки бедра наблюдался значительно более слабый ответ на лечение БФ у больных – носителей мутантного генотипа del/del полиморфизма -8188T ins/del гена *GGPS1* по сравнению с диким генотипом ins/ins ($0,8 \pm 4,2$ и $4,1 \pm 2,5\%$ соответственно; $p=0,030$). В других областях измерения МПК достоверных различий для данного полиморфизма не выявлено.

Выводы. Представленное пилотное исследование показало, что изученные полиморфизмы генов *FDPS* и *GGPS1* могут быть предикторами ответа на терапию БФ у больных ОП. Для подтверждения наших результатов необходимы дальнейшие исследования, которые будут способствовать выбору наиболее эффективной терапии данного заболевания.

Ключевые слова: эффективность терапии; полиморфизмы; остеопороз; бисфосфонаты; фармакогенетика.

Для ссылки: Крылов МЮ, Никитинская ОА, Самаркина ЕЮ и др. Генетические полиморфизмы фарнезил-дифосфат синтазы (*FDPS*) и геранилгеранил-дифосфат синтазы (*GGPS1*) и эффективность терапии бисфосфонатами у российских женщин с постменопаузальным остеопорозом: пилотное исследование. Научно-практическая ревматология. 2016;54(1):49-52.

FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE (FDRS) AND GERANYLGERANYL DIPHOSPHATE SYNTHASE (GGSP1) GENE POLYMORPHISMS AND EFFICIENCY OF THERAPY WITH BISPHOSPHONATES IN RUSSIAN WOMEN WITH POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS: A PILOT STUDY Krylov M.Yu.¹, Nikitinskaya O.A.¹, Samarkina E.Yu.¹, Demin N.V.¹, Toroptsova N.V.¹

Genetic factors that are an important hereditary component determining a predisposition to osteoporosis (OP) are 60–80% responsible for bone mineral density (BMD). Some polymorphic genes have been previously shown to affect the efficiency of performed anti-osteoporotic therapy.

Objective: to study the impact of farnesyl diphosphate synthase (*FDRS*) and geranylgeranyl diphosphate synthase (*GGSP1*) gene polymorphisms on BMD changes during 12-month therapy with bisphosphonates (BP) in women with postmenopausal OP.

Subjects and methods. The investigation enrolled 53 women with OP. Spine and proximal femur BMD was determined using X-ray densitometry before and after BP treatment. The -99A/C and -8188T ins/del polymorphisms in the *FDPS* and *GGPS1* genes were investigated using real-time polymerase chain reaction.

Results and discussion. The BMD changes were less marked in women with the C allele of C/T -99/C polymorphism in the *FDPS* gene than those in carriers of the genotype AA: 2.3 ± 3.6 and $4.4 \pm 3.8\%$ ($p = 0.062$) in the spine; 0.6 ± 3.1 and $2.8 \pm 4.5\%$ ($p = 0.075$) in the femoral neck; 0.5 ± 2.9 and $2.5 \pm 2.8\%$ ($p = 0.020$) in the entire femur, respectively. Femoral neck densitometry showed a significantly weaker response to BP treatment in the patients carrying the mutant genotype del/del of *GGPS1* -8188T ins/del polymorphism than in those with the wild-type genotype ins/ins (0.8 ± 4.2 and $4.1 \pm 2.5\%$, respectively; $p = 0.030$). No significant differences for this polymorphism were found in other areas of BMD measurement.

Conclusion. The described pilot study has indicated that the examined *FDPS* and *GGPS1* gene polymorphisms may be predictors for a response to BP therapy in patients with OP. Further investigations that will contribute to the choice of the most effective therapy for this disease are needed to confirm our results.

Keywords: therapeutic efficiency; polymorphisms; osteoporosis; bisphosphonates; pharmacogenetics.

For reference: Krylov MYu, Nikitinskaya OA, Samarkina EYu, et al. Genetic polymorphisms of farnesyl diphosphate synthase (*FDPS*) and geranyl-geranyl diphosphate synthase (*GGPS1*) and efficiency of therapy with bisphosphonates in Russian women with postmenopausal osteoporosis: A pilot study. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2016;54(1):49-52 (In Russ.).
doi: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2016-49-52>

Остеопороз (ОП) – распространенное хроническое системное заболевание костной ткани, связанное с потерей ее массы и повышенным риском переломов. Для лечения ОП применяются различные по механизму действия лекарственные препараты, которые доказали свою эффективность в повышении минеральной плотности кости (МПК) и снижении риска переломов. Препаратами выбора считаются бисфосфонаты (БФ), которые ингибируют процесс костной резорбции. Увеличение МПК за 3 года перорального приема БФ достигает 8% в позвоночнике и 3,5% в бедре, при этом отмечается снижение риска переломов различной локализации до 50%. Однако у части пациентов это лечение не дает положительного эффекта, и только у 70–75% больных в клинических исследованиях было отмечено повышение МПК при назначении БФ [1–3]. Существование резистентных к БФ пациентов представляет потенциальную проблему для клиницистов [4]. Идентифицировать больных с отсутствием ответа или со слабым ответом на БФ можно по характеру динамики уровня биохимических маркеров костного метаболизма через 3 мес от начала лечения [5] или изменения МПК через 6–12 мес [6].

Наблюдаемые различия ответа на терапию могут быть связаны с комплексом генетических факторов. Так, А.М. Qureshi и соавт. [7] выявили достоверные ассоциации между генетическими полиморфизмами гена коллагена 1-го типа $\alpha 1$ и динамикой МПК на фоне лечения алендронатом. Увеличение МПК шейки бедра на фоне терапии этидронатом было связано с полиморфизмом рецептора витамина D [8, 9].

Лечение БФ приводит к снижению в сыворотке крови уровней фарнезил- и геранилгеранил-дифосфат синтаз, которые относятся к ферментам-мишеням биосинтеза изопреноидного пути остеокластогенеза, что инициирует процесс апоптоза остеокластов [10]. На основании этого мы предположили, что полиморфизмы генов, кодирующих эти ферменты (соответственно *FDPS* и *GGPS1*), могут быть генетическими маркерами ответа на терапию БФ.

Материал и методы

В исследование включены 53 женщины в постменопаузе с диагнозом ОП, который был подтвержден при костной денситометрии по Т-критерию менее $-2,5 \pm SD$ в любом из измеряемых аксиальных отделов скелета. Больные получали перорально БФ в течение 12 мес, комплаентность составила $>80\%$. В исследование не включались пациенты с признаками вторичного ОП. Все участники подписали информированное согласие.

МПК ($г/см^2$) поясничного отдела позвоночника (L_{1-IV}), шейки бедра (ШБ) и всего бедра (ВБ) была измерена методом ДХА (Hologic 4500A) до и после 12 мес лечения. К группе не ответивших на лечение были отнесены пациенты, у которых после 1 года терапии МПК не увеличивалась хотя бы в одной из измеряемых областей.

У всех пациентов из периферической крови была выделена ДНК с помощью коммерческого набора iPrep™ PureLink™ gDNA Blood Kit согласно прилагаемому

протоколу. Полиморфизмы $-99 A/C$ гена *FDPS* и $-8188T ins/del$ гена *GGPS1* были определены методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием флуоресцентных меток с помощью анализатора ABI 7300 (ABI, Foster City, CA, США). Меченые зонды и праймеры были синтезированы в компании «Синтол» (Москва).

Различия демографических характеристик между ответившими и не ответившими на лечение оценивались с использованием t-теста для независимых групп. Количественные данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение (SD). Обе группы анализировались отдельно по каждой изученной области скелета. Для анализа связи полиморфизмов изученных генов с величиной изменения в МПК L_{1-IV} , ШБ и ВБ в общей группе больных после проведенной терапии был использован ANOVA post hoc тест с поправкой Тьюки. Уровень $p < 0,05$ был принят за статистически значимый.

Статистический анализ был проведен при помощи пакета программ Statistica 6.0 (Stat Soft Inc., США).

Результаты

Характеристика изучаемой когорты представлена в табл. 1. Отсутствие ответа на терапию БФ было отмечено у 29 больных: у 10 (18,9%) в области L_{1-IV} , у 15 (28,3%) – в ШБ, у 12 (22,6%) – ВБ; у 7 (13,2%) – в двух и у 1 (1,9%) – во всех трех областях измерения. Между группами ответивших и не ответивших на лечение не выявлено статистически достоверных различий по возрасту, росту, массе тела, ИМТ и МПК.

Распределение частот генотипов в общей группе соответствовало закону Харди–Вайнберга, что было подтверждено при помощи теста χ^2 . Распределение частот генотипов было следующим: AA – 36 (68,0%), AC – 16 (30,0%) и CC – 1 (1,9%) для гена *FDPS* и ins/ins – 10 (18,9%), ins/del – 23 (43,4%) и del/del – 20 (37,7%) для гена *GGPS1*.

Ввиду низкой частоты гомозиготного CC-генотипа гена *FDPS* носители CC- и гетерозиготного AC-генотипа были объединены в одну группу (CC+AC-генотипы). Носители аллели C гена *FDPS* за время наблюдения имели достоверно менее выраженную динамику МПК ВБ по сравнению с носителями генотипа AA ($0,5 \pm 2,9$ и $2,5 \pm 2,8\%$; $p = 0,020$ соответственно). Различия динамики МПК L_{1-IV} и ШБ на фоне лечения БФ не достигали статистической достоверности ($p = 0,062$ и $p = 0,075$ соответственно; табл. 2). Следует отметить, что средние масса тела и ИМТ у носителей аллели C гена *FDPS* были достоверно ниже, чем у больных, не имеющих этой аллели: соответственно $57,1 \pm 7,0$ и $71,3 \pm 10,2$ кг ($p = 0,0007$) и $22,7 \pm 2,7$ и $27,8 \pm 3,9$ кг/ m^2 ($p = 0,0001$).

У носителей мутантного генотипа $-8188T del/del$ гена *GGPS1* повышение МПК ШБ после 12-месячного лечения БФ было значимо меньше, чем у носителей генотипа дикого типа ins/ins ($0,8 \pm 4,2$ и $4,5 \pm 2,5\%$ соответственно; $p = 0,030$; табл. 3). Для других областей измерения данной закономерности выявлено не было.

Таблица 1 Характеристики обследованной выборки, M±SD

Показатели	Вся группа (n=53)	Не ответившие на лечение (n=29)	Ответившие на лечение (n=24)	p
Возраст, годы	66,3±8,1	67,4±8,3	65,9±7,1	0,488
Рост, см	159,2±5,3	159,0±3,6	160,0±7,1	0,469
Масса тела, кг	66,5±11,3	64,4±12,3	68,3±9,9	0,216
ИМТ, кг/м ²	26,0±4,3	25,4±4,9	26,5±3,8	0,373
МПК L _{I-IV} , г/см ²	0,745±0,078	0,729±0,058	0,761±0,092	0,130
МПК ШБ, г/см ²	0,611±0,075	0,596±0,065	0,629±0,086	0,118
МПК ВБ, г/см ²	0,739±0,093	0,716±0,073	0,757±0,104	0,100

Примечание. ИМТ – индекс массы тела.

Также следует отметить, что пациенты с мутантным генотипом -8188T del/del, аналогично носителям аллели С гена *FDPS*, имели более низкий ИМТ по сравнению с носителями дикого генотипа -8188T ins/ins гена *GGPS1* (p=0,028).

Обсуждение

Известно, что увеличение МПК на фоне лечения БФ происходит медленно, однако в одном из исследований было показано, что любое улучшение МПК через 6 мес является предиктором последующего положительного эффекта БФ [6]. В нашей пилотной работе для идентификации ответивших и не ответивших на лечение БФ мы выбрали 12-месячный период вмешательства.

В настоящем исследовании впервые в России были изучены два генетических полиморфизма генов *FDPS* и *GGPS1* с целью выяснения их связи с динамикой МПК при использовании БФ. Идентификация генов, определяющих ответ костной ткани на БФ, весьма актуальна. В ранее проведенных исследованиях показаны неоднозначные результаты при изучении связи полиморфизма гена *FDPS* и МПК. Данные различались у представителей разных национальностей и в ряде случаев были связаны с этническими особенностями.

Согласно базе данных Нартар, доминирующей аллелью полиморфизма -99 A/C гена *FDPS* для европеоидной расы является аллель А, хотя для азиатской попу-

ляции ею является аллель С. В нескольких исследованиях не удалось обнаружить связи между полиморфизмом -99 A/C гена *FDPS* и МПК у корейских, испанских и датских женщин в постменопаузе [11–13]. В то же время в корейской когорте была выявлена связь полиморфизма гена *GGPS1* с увеличением МПК после лечения БФ в течение 1 года. Пациентки, в генотипе которых было две del-аллели полиморфизма -8188A ins/del гена *GGPS1*, имели более значительное повышение МПК ШБ по сравнению с носителями одной аллели del или лицами с ее отсутствием.

В нашем исследовании мы нашли достоверную связь полиморфизма -99 A/C гена *FDPS* с динамикой МПК ВБ на фоне 12-месячного курса лечения БФ, а также близкую к достоверности связь с позитивными изменениями МПК L_{I-IV} и ШБ. Данные, полученные нами, согласуются с результатами исследования М.Е. Levy и соавт. [14], которое показало связь генетических вариантов гена *FDPS* с показателями МПК у американских женщин в постменопаузе. Аналогичные данные были получены и в китайской выборке женщин [15].

Молекулы, которые кодируются генами *FDPS* и *GGPS1*, являются важными ферментами изопреноидного биосинтеза и служат основными мишенями для БФ. Молекулярные механизмы, которые могли бы объяснить различия МПК в зависимости от генетического полиморфизма этих ферментов, не установлены. Полиморфизмы -99 A/C гена *FDPS* и -8188T ins/del гена *GGPS1* находятся в промоторных областях обоих генов. Можно предполагать, что данные полиморфизмы способны изменять уровень транскрипции генов *FDPS* или *GGPS*, что в свою очередь может приводить к изменению концентрации соответствующих молекул в крови и как следствие влиять на эффективность терапии БФ [16]. Изученный полиморфизм гена *FDPS* может влиять на экспрессию гена и уровни фермента в течение всей жизни, как в период накопления костной массы, пик которой приходится на юношеский возраст (от 18 до 25 лет), так и в период ее потери, которая наиболее выражена у женщин в постменопаузе. У носителей генотипов с аллелем С в костной ткани может наблюдаться высокая активность остеокластов в постменопаузе, что приводит к высокой резорбции кости и низкой МПК. Для проверки данной гипотезы необходимы длительные исследования с использованием больших выборок пациентов. В нашей работе полиморфизмы генов *FDPS* и *GGPS1* были ассоциированы с массой тела и ИМТ. Поскольку изопреноидный путь биосинтеза включает оба этих фер-

Таблица 2 Динамика МПК на фоне 12-месячного лечения БФ в зависимости от наличия полиморфизма -99 A/C гена *FDPS*, %, M±SD

МПК	Генотип		p
	AA (n=36)	AC+CC (n=17)	
L _{I-IV}	4,4±3,8	2,3±3,6	0,062
ШБ	2,8±4,5	0,6±3,1	0,075
ВБ	2,5±2,8	0,5±2,9	0,020

Таблица 3 Динамика МПК на фоне 12-месячного лечения БФ в зависимости от наличия полиморфизма -8188T ins/del гена *GGPS1*, %, M±SD

МПК	Генотип			p
	ins/ins (n=10)	ins/del (n=23)	del/del (n=20)	
L _{I-IV}	4,0±2,4	4,1±3,6	3,1±4,6	0,568
ШБ	4,5±2,5	2,5±4,6	0,8±4,2	0,030
ВБ	2,5±4,8	1,8±2,9	1,6±1,6	0,449

мента и является важным компонентом синтеза стероидов, генетические варианты этих ферментов могут влиять также на массу тела и ИМТ.

Полученные результаты подтверждают участие изученных нами кандидатных генов в определении фармакогенетического эффекта БФ при лечении постменопаузального ОП. Требуется проведение дальнейших генетических исследований, которые в будущем помогут врачу в выборе лекарственных препаратов для лечения данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bilezikian JP. Efficacy of bisphosphonates in reducing fracture risk in postmenopausal osteoporosis. *Am J Med.* 2009;122:S14-S21. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.12.003
2. Gallagher JC, Rosen CJ, Chen P, et al. Response rate of bone mineral density to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone.* 2006;39:1268-75. doi: 10.1016/j.bone.2006.06.007
3. Bonnick S, Saag KG, Kiel DP, et al. Comparison of weekly treatment of postmenopausal osteoporosis with alendronate versus risedronate over two years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:2631-7. doi:10.1210/jc.2005-2602
4. Lewiecki EM. Nonresponders to osteoporosis therapy. *J Clin Densitom.* 2003;6:307-14. doi.org/10.1385/JCD:6:4:307
5. Kim SW, Park DJ, Park KS, et al. Early changes in biochemical markers of bone turnover predict bone mineral density response to antiresorbative therapy in Korean postmenopausal women with osteoporosis. *Endocr J.* 2005;52:667-74. doi: 10.1507/endocrj.52.667
6. Crilly RG, Sebaldt RJ, Hodsman AB, et al. Predictions subsequent bone density response to intermittent cyclical therapy with etidronate from initial density response in patients with osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2000;11:607-14. doi: 10.1007/s001980070082
7. Qureshi AM, Herd RJ, Blake GM, et al. COL1A1 Sp1 polymorphism predicts response of femoral neck bone density to cyclical etidronate therapy. *Calcif Tissue Int.* 2002; 70:158-63. doi: 10.1007/s00223-001-1035-9
8. Palomba S, Numis FG, Mossetti G, et al. Effectiveness of alendronate treatment in postmenopausal women with osteoporosis: relationship with BsmI vitamin D genotypes. *Clin Endocrinol (Oxford).* 2003;58:365-71. doi: 10.1046/j.13652265.2003.01724.x
9. Palomba S, Orio F Jr, Russo T, et al. BsmI vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorbative treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos Int.* 2005;16:943-52. doi: 10.1007/s00198-004-1800-5
10. Bergstrom JD, Bostedor RG, Masarachia PJ, Reszka G. Alendronate is a specific, nanomolar inhibitor of farnesyl diphosphate synthase. *Arch Biochem Biophys.* 2000;373:231-41. doi: 10.1007/abbi.1999.1502
11. Choi HJ, Choi JY, Cho SW, et al. Genetic polymorphism of geranylgeranyl diphosphate synthase (ggps1) predict bone density response to bisphosphonate therapy in Korean women. *Yonsei Med J.* 2010;51(12):231-8. doi: 10.3349/ymj.2010.51.2.231
12. Olmos JM, Zarrabeitia MT, Hernandez JL, et al. Common allelic variants of the farnesyl diphosphate synthase gene influence the response of osteoporotic women to bisphosphonates. *Pharmacogenom J.* 2012;12:227-32. doi: 10.1038/tpj.2010.88
13. Marini F, Falchetti A, Silvestri S, et al. Modulatory effect of farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS) rs2297480 polymorphism on the response to long-term amino-bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Curr Med Res Opin.* 2008 Sep;24(9):2609-15. doi: 10.1185/03007990802352894
14. Levy ME, Parker RA, Ferrell RE, et al. Farnesyl diphosphate synthase: a novel genotype association with bone mineral density in elderly women. *Maturitas.* 2007 Jul 20;57(3):247-52. doi: 10.1016/j.maturitas.2007.01.005
15. Liu Y, Liu H, Li M, et al. Association of farnesyl diphosphate synthase polymorphisms and response to alendronate treatment in Chinese postmenopausal women with osteoporosis. *Chin Med J (Engl).* 2014;127(4):662-8. doi: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20132382
16. Guo RT, Cao R, Liang PH, et al. Bisphosphonates target multiple sites in both cis- and trans-prenyltransferases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:10022-7. doi: 10.1073/pnas.0702254104

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке и концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.