



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОСТЕОПОРОЗА
(обзор по материалам зарубежной печати)**

Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук
Россия, Республика Башкортостан, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71
тел./факс: (347) 235-60-88, e-mail: ritakh@mail.ru

Резюме

В представленном обзоре отражены достижения в области генетики остеопороза, а также современные подходы и направления дальнейшего исследования заболевания. Остеопороз занимает значимое место среди заболеваний с высокой смертностью и является причиной более 8,9 млн. ежегодных переломов во всем мире, характеризуется низкой минеральной плотностью костной ткани (МПКТ) и микроархитектурными нарушениями костной ткани. Распространенность остеопороза широко варьирует, достигая 5-10 кратных различий между географическими регионами, что, вероятно, обусловлено наследственным характером величины скелета и региональными особенностями рациона питания и физической активности, а также особенностями генетической структуры популяций. В исследовании генетики остеопороза началась новая эра открытий с началом полногеномных исследований ассоциаций (GWAS) сотен тысяч однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) с уровнем МПКТ и остеопоротическими переломами, идентифицированы новые локусы, ассоциированные с остеопорозом, не обнаруженные в предыдущих исследованиях кандидатных генов.

Ключевые слова: остеопороз, минеральная плотность костной ткани, переломы, полногеномное исследование ассоциаций

Введение

Остеопороз – распространенное заболевание, которым страдают порядка 200 миллионов человек во всем мире [Reginster, 2006]. Он характеризуется низкой минеральной плотностью костной ткани (МПКТ) и микроархитектурными нарушениями кости, которые вместе значительно увеличивают риск переломов [Anonymous, 1993]. В результате высокой распространенности, остеопороз несет прямую ответственность за ~ 1,5 млн. переломов в год, по оценкам специалистов стоимость медицинских услуг по их лечению составляет \$ 17 млрд. только в США [Gass, 2006]. Остеопоротические переломы ложатся огромным бременем на общественное здравоохранение с точки зрения смертности и заболеваемости: по статистике в первые 6 месяцев после перелома шейки бедра, смертность составляет 18% [Tosteson A.N., 2007]. Мета-

анализ показал, что смертность через 1 год после перелома бедра была более чем в два раза выше у мужчин, чем у женщин [Haentjens, 2010]. Наиболее распространенными являются переломы бедра и позвоночника, хотя могут быть затронуты любые кости. Остеопороз часто рассматривается как заболевание женщин, однако заболевание также сильно сказывается на здоровье мужчин. По оценкам, в США в 2005-2006 годах у 20 % женщин и 4% мужчин был диагностирован остеопороз, с увеличением частоты до 48% у женщин и 12% у мужчин в возрасте старше 85 лет [United States Bone and Joint Initiative, 2013]. Кроме того, было подсчитано, что до половины всех женщин и от одной четверти до трети всех мужчин в возрасте старше 50 лет могут получить перелом бедра в течение их последующей жизни [Ngyuen, 2007]. Хотя мужчины на момент перелома бедра, как

правило, моложе, чем женщины, качество жизни при этом у них становится значительно хуже, чем у женщин, из-за наличия возможных сопутствующих патологий и высоких показателей послеоперационного инфицирования [Sterling, 2011]. Рост смертности также обусловлен последствиями компрессионных переломов позвоночника [Pongchaiyakul, 2005]. Кроме того остеопоретический перелом часто сопровождается хронической болью, функциональными ограничениями и психологическими трудностями, которые включают в себя страх падения и социальную изоляцию [Hallberg, 2004].

Своевременная диагностика и лечение остеопороза существенно снижает риск переломов, повышает выживаемость и качество жизни пациентов [Lyles, 2007].

С середины 1990-х годов по 2007 год были сделаны многочисленные попытки идентифицировать отдельные гены, обуславливающие наследственный компонент остеопороза [Ralston, 2010]. Эти попытки были основаны на анализе сцепления кандидатных генов и исследования их ассоциаций в семьях или на модельных животных. Идентификация локусов количественных признаков (QTL-quantitative trait loci), детерминирующих полиморфизм комплексных признаков методами позиционного клонирования, не дала ожидаемых результатов, а воспроизводимость ассоциаций генов-кандидатов была низкой. В результате было обнаружено очень мало генов-кандидатов остеопороза [Ralston, 2010].

Ситуация начала меняться с 2007 года с публикации первого исследования полногеномного анализа ассоциации (GWAS) с МПКТ и морфологией костных черт в исследовании «Framingham Osteoporosis Study» [Kiel, 2007]. При GWAS исследовании, сотни тысяч однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, ОНП) генотипируются у десятков тысяч людей и проверяется их влияние на количественные фенотипы, такие как МПКТ, или определяются различия в частотах аллелей между больными и контролем [Altshuler, 2008]. После этой публикации было проведено более 25 исследований GWAS для связанных с остеопорозом фенотипов, которые определили почти 100 независимых ассоциаций [Styrkarsdottir, 2008; Richards, 2008; Rivadeneira, 2009; Zheng, 2011].

Усилия, направленные на определение конкретных генов, участвующих в патогенезе заболевания, должны обеспечить дальнейшее понимание молекулярных основ остеопороза и, в конечном итоге, привести к разработке новых терапевтических мишеней и стратегий его профилактики и лечения.

Генетические факторы остеопороза

То, что предрасположенность к остеопорозу имеет генетический компонент, хорошо известно. На самом деле, МПКТ – важный предиктор риска перелома, является одним из

самых наследуемых признаков у человека. Результаты близнецовых и семейных исследований неизменно показывают, что до 80% варибельности МПКТ обусловлено генетическими факторами [Rosock, 1987]. Уровень МПКТ меняется с возрастом, и его возрастная вариация также находится под генетическим контролем [Makovey, 2007]. Более того, количественные ультразвуковые параметры кости [Howard, 1998] и маркеры метаболизма кости [Tokita, 1994] также высоко наследуемы и 40-65% дисперсии этих черт обусловлено генетическими различиями между отдельными людьми.

Были проведены многочисленные генетические исследования варибельности МПКТ из-за его широкого использования и приемлемости как инструмента скрининга и в результате этих исследований показано, что генетические факторы составляют 60% - 80% от общей изменчивости уровня МПКТ [Rosock, 2002]. Seeman с соавторами более 20 лет назад продемонстрировали, что низкий уровень МПКТ является существенным механизмом, определяющим семейные случаи переломов. Они показали, что МПКТ в поясничном отделе позвоночника и шейки бедра была ниже у дочерей женщин с остеопоретическими переломами, чем у дочерей женщин, не имеющих остеопороз [Seeman, 1989]. Была зарегистрирована значительная наследуемость МПКТ в юношеском возрасте и пременопаузе у взрослых [Hui, 2006; Shaffer, 2010], что свидетельствовало о генетическом вкладе в приобретение пика костной массы. Предполагается также, что гены вносят значительный вклад в варибельность возраст-зависимой потери костной массы, а на самом деле имеется несколько исследований, где сообщалось об умеренной наследуемости костной потери [Hui, 2006; Makovey, 2007]. Тем не менее, точную оценку генетического вклада в потерю костной массы сделать сложно из-за трудностей в надежной оценке уровня МПКТ, т.к. специфические траектории изменения МПКТ являются нелинейными и сильно зависят от возраста, что делает крайне важным проведение многократных измерений в течение времени в стандартизированном формате [Mitchell, 2011]. Несмотря на эти трудности, были идентифицированы гены, ассоциированные с изменением МПКТ, продукты которых могут участвовать в метаболических путях, которые больше вовлечены в склонность к потере уровня МПКТ, чем в приобретение пика костной массы.

С начала 1990-х годов до середины последнего десятилетия поиск генов, обуславливающих предрасположенность к остеопорозу, был затруднен и не имел больших успехов. С внедрением технологии полногеномного анализа ассоциаций ситуация стала меняться. За короткий период времени исследования GWAS значительно ускорили темпы открытия генов, что привело к идентификации почти 100 независимых

ассоциаций с признаками, связанными с остеопорозом. Однако, исследования GWAS не выявляют точные «причинные» гены и не предоставляют функциональный контекст ассоциаций.

Ранние попытки определить конкретные гены, связанные с изменением уровня МПКТ и риском переломов были сосредоточены на выявлении биологически мотивированных генов-кандидатов и тестировании конкретных вариантов генотипов. Несмотря на большое количество опубликованных результатов положительных ассоциаций, за редким исключением (например, гены рецептора эстрогена 1 (ER1) и рецепторы, связанные с белками липопротеинов низкой плотности 4 и 5 (LRP4, LRP5)), большинство ассоциаций, о которых сообщалось, оказалось трудно воспроизвести. В течение последних 6-7 лет, с использованием достижений в области геномных технологий, были опубликованы результаты многочисленных полногеномных исследований ассоциаций однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) с уровнем МПКТ и со связанными с ним фенотипами. Важно понимать, что подход GWAS предназначен для проверки гипотезы ассоциации признака с генетическими вариантами, которые распространены в популяции, то есть, как правило, вариантами с частотами аллелей 5% или более.

Полногеномные исследования ассоциаций

Изучение генетических вариантов, связанных со сложными фенотипами с помощью подхода полногеномных исследований ассоциаций имеет определенные преимущества перед другими подходами: 1) GWAS имеет большую статистическую мощность, чем при использовании анализа сцепления для выявления частых специфичных для болезни генетических вариантов с низкой пенетрантностью [Hirschhorn, 2005]; 2) имеет большую разрешающую способность с генотипированием миллионов однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП, SNP) в геноме, чтобы сузить локусы, обуславливающие болезнь, в одном гене или даже одного полиморфного варианта, вместо сцепленного "локуса" который включает в себя от 10 до 100 генов; 3) использует "независимый" подход [Pe'er, 2006], не требующий предварительных знаний о молекулярном участии генов-кандидатов в патофизиологии заболевания, что предоставляет возможности для открытия нового гена и 4) открывает перспективу сокращения времени и усилий, необходимых для поиска новых генетических детерминант для многофакторных заболеваний.

Полногеномные исследования ассоциаций стали возможными благодаря нескольким предшествующим открытиям: 1) феномену неравновесия по сцеплению (LD) в геноме человека [Rannala, 2001; Reich, 2001]; 2) очевидности концепции "частые заболевания/частые варианты" [Reich, 2001]; 3)

проекту «НарМар» (для частых вариантов последовательностей с частотами минорных аллелей > 1%) [Altshuler, 2010], проекту «1000 Геномов» (для более глубокого анализа как частых, так и редких вариантов последовательностей) [MacArthur, 2012], а также структурных вариантов [Sudmant, 2010], 4) разработке технологий с высокой пропускной способностью с алгоритмами точного генотипирования [Ragoussis, 2009], требующихся для генотипирования сотен тысяч миллионов ОНП параллельно, их стоимость позволила генотипировать большое количество людей, которые были хорошо охарактеризованы фенотипически и 5) разработке методов статистического анализа миллионов импутированных ОНП, фактически не генотипированных, а взятых из базы данных НарМар, на основе структуры сцепления (LD) в эталонных популяциях, а так же эффективному тестированию вариантов, ассоциированных с фенотипом [Li, 2010]. Исследования GWAS получили такое широкое распространение, что был создан каталог открытий на веб-сайте Национального института исследований генома человека (<http://genome.gov/GWASStudies>).

Вместо того, чтобы сосредоточиться на биологически правдоподобных генах-кандидатах, в полногеномных исследованиях ассоциаций сканируется весь геном. Как правило, сотни тысяч однонуклеотидных полиморфных вариантов (частоты минорных аллелей ОНП >5%) используются для идентификации хромосомных участков, где расположены гены, которые могут влиять на исследуемый признак. GWAS можно рассматривать как большую серию исследований генов-кандидатов «случай-контроль», но выполняемую в одном эксперименте на основе технологии чипов. GWAS является подходом «свободным от гипотезы», потому что на его основе не делается никаких предположений о месте и/или функциональной значимости ассоциированных локусов или их продуктов [Hirschhorn and Daly, 2005]. Более того, включение в исследование тысяч людей означает, что метод GWAS увеличил мощность для выявления вариантов генов с весьма скромным эффектом. Таким образом, большой размер выборки является преимуществом, но это также может быть недостатком, потому что варианты с низкой величиной эффекта, идентифицированные GWAS исследованиями, могут иметь меньшее клиническое значение. Тем не менее, метод GWAS был весьма успешным для выявления генетического вклада в развитие сложных признаков.

Применение метода GWAS при изучении остеопороза началось позже, чем в других областях. Самое раннее GWAS по остеопорозу исследовало связь между 71000 генетическими вариантами и уровнем МПКТ в различных отделах скелета и выявило доказательство ассоциаций 40 ОНП (табл. 1).

Результаты GWAS исследований остеопороза

Публикация	GWAS							Репликация результатов		
	Объект иссл-я МПКТ	Популяция	Средний возраст	Численность выборки (% женщин)	ОНП на чипе	Кандидатные гены	Выборка (% женщин)	Новые гены/локусы (ассоциация с МПКТ)	Ассоциация с переломами	
Kiel et al., 2007	позвонки, шейка бедра, бедро	европейцы	62.5 (29–86)	1141 (57%)	100 К	<i>MTHFR, ESR1, LRP5, VDR, CYP19, COL1A1, CDH9, NR5A2, DCC</i>	-	-	-	
Styrkarsdottir et al., 2008	позвонки, бедро	европейцы	63.6 (18–98)	5861 (87%)	300 К	<i>ESR1-Сборка97, TNFRSF11B-COLEC10, TNFSF11-AKAP11</i>	7925 (79%)	<i>ZBTB40-WNT4, MHC (позвонки)</i>	<i>ZBTB40- WNT4, MHC, LRP4, SPTBN1 LRP5</i>	
Richards et al., 2008	позвонки, шейка бедра	европейцы	59.9	2094 (100%)	314 К	<i>LRP5 (позвонки), TNFRSF11B-COLEC10</i>	6463 (88%)			
Styrkarsdottir et al., 2009	позвонки, бедро	европейцы	64.0 (18–99)	6865 (87%)	300 К	<i>TNFRSF11A (бедро), SOST (бедро)</i>	8510 (83%)	<i>MHC (позвонки), SP7-AAAS (позвонки), MARK3 (бедро)</i>	<i>SOST</i>	
Timpson et al., 2009	все тело (whole body)	европейцы	9.9	1518 (51%)	315 К	<i>OSMR, CTNNB1</i>	4178 (49%)	<i>SP7-AAAS</i>		
Xiong et al., 2009	позвонки, бедро	европейцы	50.3	1000 (50%)	379 К	<i>TGFBR3 ADAMTS18</i>	4925 (63%), Китайцы 2955 (51%) Tobago 908 (0%)	<i>TGFBR3 (позвонки), ADAMTS18 (бедро)</i>		
Cho et al., 2009	большая берцовая кость, луч	корейцы	52.2 (40–69)	8842 (53%)	2.1 M imputed	<i>FAM3C</i>	7861 Корейцы	<i>FAM3C (луч и пятка)</i>		
Rivadeneira et al., 2009	позвонки, шейка бедра	европейцы	60.9 (18–96)	19195 (74%)	2.5 M imputed	<i>ZBTB40, ESR1, TNFRSF11B, LRP5, SP7, TNFSF11, TNFRSF11A.</i>	Нет данных	Позвонки: <i>ZBTB40, GPR177, SPTBN1, MEPE, ESR1, STARD3NL, FLJ42280, TNFRSF11B, DCDC5, LRP5, SP7, TNFSF11, FOXC2, CRHR1, TNFRSF11A</i> Шейка бедра: <i>ZBTB40, GPR177, CTNNB1, MEF2C, ESR1, FLJ42280, TNFRSF11B, SOX6, ARHGAP1, HDAC5.</i>		

Guo et al., 2010	шейка бедра	европейцы	50.3	983 (50%)	342 К	<i>PTH-FAR1</i>	2557 (55%)	<i>IL21R</i>	
Tan et al., 2010	запястье	европейцы	50.3	1000 (50%)	379 К	<i>SOX6</i>	1626 (51%) Китайцы	<i>SOX6</i>	
Koller et al., 2010	позвонки, шейка бедра	европейцы	33.2 (25–45)	1524 (100%)	548 К	<i>CATSPERB</i>	669 (100%) Афроамери- канцы	<i>CATSPERB</i> (шейка бедра)	
Paternoster et al., 2010	Больше-берцовая кость	европейцы	17.1 (13–25)	1934 (28%)	2.4 М imputed	<i>TNFSF11</i>	2803 (52%) 1052 (0%)		
Hsu et al., 2010	позвонки, шейка бедра	европейцы	60.8 (29–86)	3569 (57%)	433 К	<i>TNFRSF11B-COLEC10</i> (позвонки)	7721 (72%)	<i>WLS</i> (позвонки), <i>SOX6</i> (позвонки)	
Kung et al., 2010	позвонки, шейка бедра	китайцы	50.0	большие 424 (100%); контроль 376 (100%)	488 К	<i>RNF144A</i> , <i>MPP7</i> , <i>JAG1</i>	Китайцы 13913 (81%),	<i>JAG1</i> (позвонки)	<i>JAG1</i>
Duncan et al., 2011	позвонки, шейка бедра, бедро	европейцы	55–85	Большие: 900 (100%); Контроль: 1055 (100%)	2.5 М imputed	<i>TNFRSF11B-COLEC10</i> , <i>TNFSF11-АКАР11</i> (позвонки)	20898 (100%)	<i>WNT4 - ZBTB40</i> , <i>MEF2C</i> , <i>SOX6</i> , <i>FLI42280</i> , <i>GALNT3</i> , <i>RSPO3-RPS4XP9</i> (шейка бедра)	<i>GALNT3</i>
Kou et al., 2011	позвонки, шейка бедра	японцы	60.2	1557 (52%)	224 К	<i>PLCL1</i> , <i>DOCK6</i> , <i>MEF2C</i>	большие: 2092 (100%), контроль: 3114 (85%)	<i>FONG</i>	<i>FONG</i>
Estrada et al., 2012	позвонки, шейка бедра	европейцы	59.6	32961 (70%)	2.5 М imputed	<i>С6orf97-ESR1</i> , <i>LRP5</i> , <i>SOST</i> , <i>TNFSF11-АКАР11</i> , <i>TNFRSF11A</i> , <i>TNFRSF11B</i>	50933 (77%); большие 31016; контроль 102444	<i>ABC2</i> , <i>ARHGAP1-LRP4</i> , <i>AXIN1</i> , <i>C12orf23</i> , <i>C17orf53-HDAC5</i> , <i>CPN1</i> , <i>CRHR1 - MAPT - WNT3</i> , <i>CTNNB1</i> , <i>DCDC5</i> , <i>DHH - RHEBL1</i> , <i>ERC1 - WNT5B</i> , <i>LEKR</i> , <i>FOXLI</i> , <i>FUBP3</i> , <i>GALNT3</i> , <i>GPATCH1-WDR88-LRP3</i> , <i>HOXC4-HOXC6</i> , <i>IDUA</i> , <i>JAG1</i> , <i>MARK3</i> , <i>MBL2 - DKK1</i> , <i>ZBTB40</i> ; шейка бедра: <i>ANAPC1</i> , <i>C18orf19</i> , <i>WNT4</i> ,	<i>C18orf19</i> (FAM210A), <i>DKK1</i> , <i>LRP5</i> , <i>MEPE</i> , <i>SLC25A13</i> , <i>SPTBN1</i> , <i>C17orf53</i> , <i>CTNNB1</i> , <i>DCDC5</i> , <i>FUBP3</i> , <i>RPS6KA5</i> , <i>SOST</i> , <i>STARD3NL</i> , <i>WNT4</i> ,

Zhang L et al., 2013	позвонки, шейка бедра	европейцы китайцы (Хан) афро- американцы испанцы корейцы	11140 (76,2%)	58,1 (32-70)	500К	ZBTB40, GPRI77, FGFRL1, MEPE, MEF2C, C6orf97, ESR1, FLJ42280, SHFM1, FAM3C, WNT16, TNFRSF11B, SOX6, LRP5, AKAP11, FOXLI	9258 (71,77%)	DNM3, KLHDC5 – PTHLH, MEF2C; NTANI, PKDCC, SALL1 –CYLD, SIDT1 - KIAA2018, SLC25A13, SMG6, SOX6, SOX9, XKR9 –LACTB 2; позвонки: C7orf58, CDKALI-SOX4, FAM9B -FAM9A, INSIG2,, KCNMA1, LIN7C, MEPE, MPP7 PTX4 - CLCN7, RPS6KA5, RSPO3, SP7, SPTBN1, SUPT3H - RUNX2, TXNDC3 -STARD3NL, WL, WNT4, WNT16 -FAM3C SMOC1, CLDN14	WNT16, ZBTB40
-------------------------	--------------------------	--	------------------	-----------------	------	--	------------------	---	------------------

Некоторые из них были расположены в генах, ранее ассоциированных с остеопорозом: *MTHFR*, *ESR1*, *LRP5*, *VDR* и *COL1A1* [Kiel, 2007], но, ни одна из этих ассоциаций не достигла уровня полногеномной значимости ($P < 5 \times 10^{-8}$) [Styrkarsdottir, 2008]. В другом GWAS исследовании были изучены 300000 локусов в исландской популяции, и было показано, что варианты в генах *ZBTB40*, *ESR1*, *OPG*, *RANKL* и локус в области 6p21 ассоциированы с МПКТ на уровне полногеномной значимости. В этом исследовании некоторые локусы также предположительно были ассоциированы с риском переломов, в том числе варианты в хромосомных регионах 1p36 и 2p16, в генах *OPG*, *LRP4*, *RANK* и *MHC*. В то же время, комбинированное исследование, включающее изучение как кандидатных генов, так и GWAS, в Великобритании и Роттердамской когорте, обнаружило, что варианты генов *TNFRSF11B* и *LRP5* были связаны с МПКТ, в то время как вариант гена *LRP5* также был ассоциирован с риском переломов [Richards, 2008].

В настоящее время, с применением технологии GWAS, проведен поиск ассоциаций ОНП с уровнем МПКТ в разных участках скелета: в поясничном отделе позвоночника [Kiel, 2007; Styrkarsdottir, 2008; Xiong, 2009; Richards, 2008; Rivadeneira, 2009; Koller, 2010; Kung, 2010; Hsu, 2010; Duncan, 2011; Kou, 2011; Estrada, 2012], в шейке бедра [Kiel, 2007; Richards, 2008; Koller, 2010; Kung, 2010; Hsu, 2010; Rivadeneira, 2009; Duncan, 2011; Kou, 2011; Estrada, 2012; Guo, 2010], в бедренной кости [Styrkarsdottir, 2008; Xiong, 2009; Duncan, 2011], всего тела [Timpson, 2009], в запястье [Tan, 2010], в луче, в голени [Cho, 2009] и в корковом объеме большеберцовой кости с помощью периферической количественной компьютерной томографии (pQCT) [Paternoster, 2010], а также анализ структуры бедра (HSA) [Kiel, 2007; Hsu, 2010; Zhao L.J., 2010], перелома бедра [Guo, 2010] и болезни Педжета [Albagha, 2011].

Большинство исследований проведено с использованием ДНК-чипов, содержащих от 300 тыс. до 550 тыс. ОНП. Для того, чтобы иметь возможность непосредственно сравнить результаты исследований разных авторов с применением различных ДНК-чипов, в крупномасштабных GWAS исследованиях также использовались около 2 млн. частых ОНП ($MAF \geq 5\%$), импутированных из базы данных *HarMap* на основе структуры генетического сцепления (LD) в европейских популяциях [Rivadeneira, 2009; Cho, 2009; Paternoster, 2010; Albagha, 2011; Duncan, 2011; Estrada, 2012]. Это усиливает эффективность исследований без дополнительного генотипирования и, таким образом, позволяет более комплексно исследовать ассоциации без каких-либо дополнительных затрат.

Большинство GWAS исследований скелетных фенотипов использовали образцы смешанных популяций женщин до менопаузы, женщин в постменопаузе и мужчин в широком

возрастном диапазоне (18-99 лет), хотя средний возраст, как правило, составлял 50 лет или более. Существует общее убеждение, что это, вероятно, будет способствовать выявлению специфичных генетических вариантов, характерных для мужчин и женщин, предрасположенных к остеопорозу, и у которых генетическая регуляция роста костей в более молодом возрасте и потеря костной массы может быть разной. Тем не менее, большинство GWAS исследований были сделаны с привлечением всех имеющихся образцов, чтобы максимально увеличить размер выборки, и, таким образом усилить статистическую мощность. Несколько GWAS исследований были проведены только на детских выборках [Timpson, 2009], подростках [Paternoster, 2010], женщинах репродуктивного возраста [Koller, 2010], женщинах в постменопаузе [Kung, 2010; Duncan, 2011], и пожилых женщинах [Richards, 2008]. Однако относительно небольшие размеры выборок ограничили статистическую мощность этих исследований. Большая часть GWAS исследований населения Восточной Азии (за исключением Kung, 2010; Kou, 2011; Cho, 2009; Guo, 2010), привлекли образцы ДНК и европейского происхождения.

Полиморфный вариант rs1021188, расположенный вблизи гена *TNFRSF11* (*RANKL*), был ассоциирован с корковым объемом МПКТ у подростков. Ассоциация этого локуса не зависела от других ОНП, расположенных внутри или рядом с этим геном, которые были ассоциированы с МПКТ шейки бедра и позвонков у взрослых в других GWAS исследованиях. Локус в гене *CATSPERB* [Koller, 2010] был ассоциирован с МПКТ шейки бедра только у женщин в пременопаузе. Этот локус расположен на расстоянии около 500 т.п.о. от локуса *RPS6KA5*, который был ассоциирован с МПКТ шейки бедра и позвоночника у пожилых мужчин и женщин [Estrada, 2012]. *FONG* локус был ассоциирован с МПКТ только в японской популяции [Kou, 2011]. С другой стороны, локусы в генах *Jag1* [Kung, 2010] и *FAM3C* [Tan, 2010] были ассоциированы с МПКТ в популяциях и Восточной Азии, и Европы. Большая часть опубликованных результатов GWAS исследований скелетных фенотипов не имела достаточной мощности, чтобы проверить генетические эффекты, специфичные для пола. Был найден только один локус в области Xp22.31 (рядом с геном *FAM9B*), ассоциированный с МПКТ позвоночника у мужчин [Estrada, 2012; Liu, 2012].

Одно исследование GWAS выполнялось на корковом объеме МПКТ большеберцовой кости с помощью pQCT измерения сечения кости (коркового или губчатой кости), дающего возможность изучить различные скелетные отсеки в кости, что невозможно при использовании двумерной рентгеновской остеоденситометрии (DEXA) [Paternoster, 2010]. Локус rs1021188 в гене *TNFRSF11* (*RANKL*), ассоциированный с кортикальным объемом МПКТ, не зависит от ранее идентифицированного ОНП (rs9594738) в той

же области, ассоциированного с МПКТ, измеренного с помощью DEXA [Styrkarsdottir, 2008]. Этот результат показывает аллельную неоднородность *RANKL* локуса. Локус rs1021188 был также связан с увеличением эндостальной окружности, указывая на то, что *RANKL* может регулировать эндостальное расширение.

Несколько GWAS исследований выполнялись в популяциях Европы с целью поиска ассоциаций с тазобедренной геометрией, в том числе, с соотношением корковой толщины бедра, площадью поперечного сечения вала угла шейки бедренной кости, потерей устойчивости ширины шейки бедра в самом узком месте, длиной шейки бедра и проксимальным размером бедренной кости [Kiel, 2007; Liu, 2008; Hsu, 2010; Zhao, 2010]. Ассоциации с потерей устойчивости ширины шейки бедра в самом узком месте (NW) на уровне полногеномной значимости были найдены для ОНП, расположенного в области 1p13.2 (*RAP1A*) и 18q11.2 (*OSBPL1A*) [Hsu, 2010]. Ассоциации на уровне полногеномной значимости с валом угла шейки бедренной кости были найдены для ОНП, расположенного на хромосоме 2q11.2 (*TBC1D8*) [Hsu, 2010]. Полиморфизм в гене *RTP3* был ассоциирован с корковой толщиной (BR) бедренной кости в популяциях Европы и Китая [Zhao, 2010].

Самое крупное GWAS исследование, опубликованное на сегодняшний день - исследование консорциума по поиску генетических факторов остеопороза (GEFOS), которое включало более 32000 образцов из 17 различных популяций и независимую выборку из более 50000 человек для репликации исследований [Estrada, 2012]. В этом исследовании выявлено 56 локусов, в значительной степени ассоциированных с МПКТ, 14 из которых были также ассоциированы с переломами. С тех пор были идентифицированы несколько дополнительных локусов, в том числе в «неевропейских» популяциях, в результате чего общее количество локусов, ассоциированных с уровнем МПКТ, достигло 66 [Richards, 2012]. Эффект этих локусов одинаково мал, на каждый приходится гораздо меньше, чем 1% от общей вариабельности МПКТ и даже суммарно все идентифицированные локусы составляют менее 6% от общей вариабельности МПКТ шейки бедра [Estrada, 2012].

Два мета-анализа GWAS показали, что варианты генов *ZBTB40*, *ESR1*, *LRP4*, *LRP5*, *TNFRSF11*, *SOST* и *TNFRSF11A* были ассоциированы с МПКТ [Rivadeneira, 2009; Richards, 2012], а варианты генов *LRP5*, *SOST* и *TNFRSF11A* были ассоциированы с риском переломов [Richards, 2012]. Общие результаты GWAS исследований и мета-анализов GWAS показывают, что гены, вовлеченные в RANK-RANKL-OPG пути (гены *TNFRSF11B*, *TNFRSF11A* и *TNFRSF11*), Wnt- β -катениновый путь (гены *LRP5*, *LRP4* и *SOST*), эстрогеновые эндокринные пути (ген *ESR1*) и область 1p36 (ген *ZBTB40*) были в значительной степени ассоциированы с остеопорозом. Последний

мета-анализ GWAS с участием 81949 случаев заболевания и 102444 контроля идентифицировал 56 локусов, которые ассоциированы с МПКТ, 13 из которых были ассоциированы и с переломами [Estrada, 2012]. Некоторые из этих локусов или ОНП кластеры расположены в пределах или вблизи генов, которые кодируют белки, участвующие в системе RANK-RANKL-OPG, дифференциации мезенхимальных стволовых клеток, эндохондральном окостенении и Wnt сигнальном пути.

С целью идентификации новых генетических вариантов, связанных с минеральной плотностью костной ткани, и подтверждения ранее выявленных, был проведен трехступенчатый мета-анализ полногеномных ассоциаций в выборке, состоящей из 27061 человек. В стадии 1 проанализированы семь GWAS исследований и у 11140 человек проведен поиск ассоциаций с уровнем МПКТ в поясничном отделе позвоночника, бедра и шейки бедра, в стадии 2 проведена репликация 33 ОНП у 9258 человек и в стадии 3 – новая валидация трех ОНП у 6663 человек. Объединив результаты всех трех этапов, определены два новых локуса, которые ранее не были ассоциированы с МПКТ на уровне полногеномной значимости ($p=5,0 \times 10^{-8}$): 14q24.2 (*rs227425*, $p=3,98 \times 10^{-13}$, *SMOCl*) в объединенной выборке мужчин и женщин и 21q22.13 (*rs170183*, $p=4,15 \times 10^{-9}$, *CLDN14*) у женщин. Два недавно выявленных ОНП были также значимыми генетическими факторами развития остеопороза (GEFOS, $n=32960$, сводные результаты). В ходе исследования были подтверждены 13 локусов, которые, как сообщалось ранее, были ассоциированы с МПКТ: 1p36.12 (*ZBTB40*), 1p31.3 (*GPR177*), 4p16.3 (*FGFRL1*), 4q22.1 (*MEPE*), 5q14.3 (*MEF2C*), 6q25 0,1 (*C6orf97*, *ESR1*), 7q21.3 (*FLJ42280*, *SHFM1*), 7q31.31 (*FAM3C*, *WNT16*), 8q24.12 (*TNFRSF11B*), 11p15.3 (*SOX6*), 11q13.4 (*LRP5*), 13q14.11 (*AKAP11*) и 16q24 (*FOXL1*). Анализ экспрессии генов в остеогенных клетках показал потенциальную функциональную значимость двух генов-кандидатов (*SMOCl* и *CLDN14*) в костном метаболизме [Zhang, 2014].

На сегодняшний день реплицировано 66 локусов, ассоциированных с МПКТ по результатам GWAS исследований. "Реплицированные" локусы определяются как: 1) ОНП с полногеномным уровнем значимости ассоциаций на этапе открытия (GWAS) и статистическая значимость на стадии репликации; 2) ОНП, не достигшие полногеномного уровня значимости ассоциаций на первой стадии исследований, но с полногеномным уровнем значимости ассоциаций при совместном мета-анализе первого этапа GWAS и стадии репликации; или 3) ОНП близкие к полногеномному уровню значимости ассоциаций на первой стадии, но достигшие статистической значимости на этапе репликации после применения коррекции на множественное тестирование. Полногеномный уровень значимости P (α -уровень) варьировал между исследованиями ($\alpha=6 \times 10^{-7}$ до

5×10^{-8}), в зависимости от количества генотипированных и импутированных ОНП, а также в зависимости от методов, которые были применены для коррекции множественного тестирования. Аннотация главных ассоциированных ОНП несколько проблематична, так как во многих случаях они могут быть расположены в нескольких генах или в межгенных участках.

Следует отметить, что большинство генов, связанных с МПКТ (за исключением *LRP5*), выявленных в исследованиях генов-кандидатов не были подтверждены GWAS исследованиями. Среди 66 локусов, ассоциированных с МПКТ при GWAS исследованиях, были подтверждены только семь генов (*LRP5*, *SOST*, *ESR1*, *TNFRSF11B*, *TNFRSF11A*, *TNFSF11*, и *PTH*) из почти 100 ранее выявленных ассоциаций кандидатных генов [Ralston, 2010]. Это явление не является чем-то необычным и характерно для GWAS исследований и других сложных признаков или фенотипов, таких как сахарный диабет 2 типа и артериальное давление. Существует несколько потенциальных объяснений этого феномена, которые включают: 1) ложноотрицательные результаты GWAS исследований из-за очень строгих требований к уровню значимости; 2) недостаточная статистическая мощность для выявления ранее идентифицированных ассоциаций со скромными генетическими эффектами; 3) генетическая гетерогенность субпопуляций внутри мета-анализа GWAS исследований (например, различные географические точки и различные основные характеристики), что делает затруднительным обнаружение генетических ассоциаций; 4) генетические эффекты с сильными ген-генными и ген-средовыми взаимодействиями; 5) ложноположительные результаты предыдущих ассоциаций кандидатных генов из-за небольшого размера выборки и без соответствующей репликации.

Другими словами, GWAS исследования обнаружили новые генетические варианты, которые ранее не были выявлены. Идентификация новых вариантов, связанных с МПКТ, явно удалась и стала убедительной демонстрацией силы GWAS. Тем не менее, большинство регионов протяженностью 10 - 50 т.п.о., идентифицированных при GWAS исследованиях, содержат большое количество генов, поэтому существует неопределенность в отношении этих генов в качестве причинных вариантов. Более того, большинство вариантов, выявленных GWAS, находятся в некодирующих областях генома, и их функциональное значение до сих пор не определено. Несмотря на то, что полиморфные варианты, включенные в GWAS исследования, как правило, нейтральны (т.е. не имеют функциональных эффектов), они могут быть сцеплены с многочисленными окружающими ОНП, которые могут влиять на экспрессию генов или их функцию [Farber, 2012].

В большинстве GWAS исследований, представленных к настоящему времени, процент дисперсии, объясняющийся всеми ассоциированными локусами, скромнен. Из всех скелетных фенотипов, GWAS исследование болезни Педжета дало наибольшую долю риска (~13% от семейного риска болезни Педжета) [Albarga, 2011]. О самом сильном эффекте одного ОНП сообщили в GWAS исследовании китайской популяции [Xiong, 2009]. Локус в гене *ADAMTS18* объяснил примерно 3,8% от общего изменения МПКТ бедра, а в гене *TGFBR3* объяснил 1,2% общей дисперсии МПКТ позвоночника [Xiong, 2009]. С другой стороны, в GWAS исследованиях популяций Европы, на большую часть ОНП приходится лишь от 0,09 до 0,5% дисперсии МПКТ. Rivadeneira с соавторами [2009] предполагают, что все ассоциированные с МПКТ локусы 20 GWAS исследований вместе объяснили только 2,9% вариации МПКТ позвоночника и 1,9% вариации уровня МПКТ шейки бедра в европейских популяциях. Как сообщили в крупнейшем мета-анализе GWAS, 56 локусов, ассоциированных с МПКТ, вместе объяснили только 5,8% вариативности МПКТ шейки бедра [Estrada, 2012].

Таким образом, все вышеперечисленные факты свидетельствуют о том, что результаты GWAS исследований до настоящего времени не объяснили большинства генетических различий в вариативности МПКТ, несмотря на достаточную мощность исследований для определения скромных генетических эффектов. Этот феномен "недостающей или пропавшей наследуемости" обычно выявляют и при исследовании многих других сложных признаков и фенотипов. Другие примеры включают нахождение 12,5% дисперсии в наследуемости роста (180 локусов GWAS) [Lango, 2010], 4% дисперсии в наследуемости индекса массы тела (ИМТ) (32 локуса GWAS) [Speliotes, 2010] и 16% дисперсии в наследуемости язвенного колита (47 локусов GWAS) [Anderson, 2011].

Несмотря на перспективы открытия новых генов, связанных со скелетными фенотипами, тайна «недостающей наследуемости» вызывает сомнения в значимости GWAS исследований и гасит надежду их использования для развития персонализированной медицины. Был предложен ряд объяснений феномена «недостающей наследуемости», в том числе: 1) недостаточный размер выборки для обнаружения вариантов с меньшим эффектом; 2) частые ОНП в качестве «суррогатных» маркеров плохо ассоциированы с причинными вариантами/функциональными вариантами; 3) аллельная неоднородность с несколькими независимыми вариантами в одном и том же локусе; 4) редкие варианты (незначительная частота аллеля <1%), которые плохо обнаруживаются существующими методами генотипирования; 5) другие структурные вариации и 6) недостаточный учет ген-генных и ген-средовых взаимодействий; 7) синтетические ассоциации (объединение нескольких вариантов фенотипа) [Dickson, 2010; Anderson, 2011].

Таким образом, на сегодняшний день GWAS исследования выявили более 60 локусов, ассоциированных с остеопорозом, и предоставили ценную информацию о генетической составляющей заболевания. Будущие исследования GWAS с участием большего числа индивидов, несомненно, идентифицируют еще больше локусов, ассоциированных с фенотипами остеопороза, и обеспечат гораздо более четкое представление о характере и составе генетической архитектуры заболевания.

Генетические факторы риска переломов

Наследственный компонент риска переломов в значительной степени обусловлен генетическими факторами, вовлеченными в формирование уровня МПКТ, однако, ряд исследователей предположили, что многочисленные гены оказывают влияние на предрасположенность к переломам независимо от показателей МПКТ [Andrew, 2005; Ralston and Uitterlinden, 2010]. Эта точка зрения имеет практическое значение, так как все процедуры, направленные на предотвращение переломов, существующие в настоящее время в клинических испытаниях, основываются на измерении костной массы. Таким образом, новые методы лечения, которые нацелены на независимые от определения уровня МПКТ механизмы переломов, могут быть полезны сами по себе или в комбинации с существующими процедурами, особенно для пациентов с высоким риском переломов. Текущие масштабные мета-анализы GWAS, посвященные выявлению риска переломов, могут определить первые независимые от МПКТ мишени переломов.

Обнаружить гены, участвующие в развитии переломов, сложнее, чем выявить гены, вовлеченные в вариабельность МПКТ, в связи с гораздо меньшими размерами выборок пациентов с переломами, доступными для исследований, и сложностью фенотипа перелома. Как отмечалось ранее, достаточно трудно идентифицировать гены/ОМП, связанные с промежуточными чертами.

Исследования близнецов показали, что наследуемость остеопоретических переломов зависит от возраста, будучи менее выраженной у пожилых людей [Ralston and Uitterlinden, 2010]. Перелом, как конечное последствие остеопороза, является частым событием у пожилых людей и связан с серьезными клиническими последствиями. В возрасте 50 лет риск перелома составляет ~ 50% для женщин и ~ 30% для мужчин [Nguyen, 2008]. У женщин пожизненный риск перелома бедра фактически эквивалентен или выше, чем риск инвазивного рака молочной железы [Nguyen, 2008]. У мужчин пожизненный риск переломов бедра и позвоночника (17%) сопоставим с пожизненным риском рака простаты [Shortt and Robinson, 2005]. Существуют убедительные доказательства того, что люди с уже случившимся переломом имеют повышенный риск последующего перелома [Center, 2007] и снижения продолжительности жизни [Center, 1999]. По данным этого же автора, у лиц с

рецидивирующими остеопоретическими переломами увеличивается уровень смертности. Кроме того, относительный риск смерти у мужчин с переломом значительно выше (в 1,8 раза), чем у женщин (в 1,4 раза) [Center, 1999; Bliuc, 2009].

По различным оценкам, в развитии остеопоретических переломов в целом на долю генетических факторов приходится около 25% [Michaëlsson, 2005], в том числе, 25-54% - переломов запястья, [Andrew, 2005] и до 48% - переломов бедра [Michaëlsson, 2005]. Несмотря на данные о большом вкладе генетических факторов в развитие переломов, этот фенотип является сложным признаком для использования в генетических исследованиях, т.к. риск перелома зависит от целого ряда различных физиологических факторов, включая МПКТ и возрастные снижения микроархитектуры и качества кости, мышечной силы, состояния сердечно-сосудистой системы и статуса витамина D (табл. 2).

Поскольку каждый из этих факторов сам по себе находится, по меньшей мере, частично, под генетическим контролем, варианты генов, которые влияют на предрасположенность к переломам в целом, или через какие-либо факторы, можно легче обнаружить при анализе самого фактора, а не перелома.

Несколько эпидемиологических исследований, проведенные в течение последних трех десятилетий, определили ключевые факторы риска, предрасполагающие к переломам. Эти факторы риска включают: старение, низкий уровень МПКТ или низкий вес тела, наличие перелома, падений и длительного применение кортикостероидов [Nguyen, 2005].

Уровень МПКТ является непрерывным показателем и отношение между МПКТ и риском переломов непрерывно, т.е. не существует точного порогового значения для определения риска возникновения перелома. Лечение людей с низким уровнем МПКТ приводит к так называемой «профилактике парадокса» [Rose, 1985], т.е. большое количество людей, у которых будет перелом, имеют нормальный уровень МПКТ и не находятся в группе повышенного риска развития остеопороза. Действительно, эмпирические данные показывают, что среди лиц в возрасте ≥ 60 лет, 55% женщин и 74% мужчин с переломом не имеют остеопороз (другими словами, низкий МПКТ) [Nguyen, 2007]. Неполный учет частоты будущих переломов только на основе определения уровня МПКТ предполагает, что и другие факторы играют важную роль в определении риска переломов. Действительно, хрупкость костей обусловлена также «нескелетными» факторами, такими как, склонность к падениям, которая зависит от нервно-мышечной функции, мышечной силы и осанки [Nguyen T., 1993]. Предрасположенность к переломам - сложный фенотип, в том смысле, что это совокупность прочности кости и «нескелетных» факторов, и каждый из них может быть выявлен с помощью генетических факторов [Nguyen, 2005]. Например, человек с остеопорозом и наличием

перелома предположительно имеет больший риск перелома, чем лица с остеопорозом без истории перелома. Кроме того, человек с остеопорозом может иметь тот же риск переломов, что и человек

без остеопороза, если их генетические профили различны.

Таблица 2

Локусы, ассоциированные с МПКТ шейки бедра/позвоночника и с переломами на уровне полногеномной значимости

Метаболический/ сигнальный пути	Ближайший кандидатный ген	Локус	Полиморфизм	Ассоциация с переломами
Wnt	<i>AXIN1</i>	16p13.3	rs9921222	
	<i>CTNNB1</i>	3p22.1	rs430727	+
	<i>ERC1/WNT5B</i>	12p13.33	rs2887571	
	<i>JAG1</i>	20p12.2	rs3790160	
	<i>LRP5</i>	11q13.2	rs3736228	+
	<i>MBL2/DKK1</i>	10q21.1	rs1373004	+
	<i>MEF2C</i>	5q14.3	rs1366594	
	<i>RSPO3</i>	6q22.32	rs13204965	
	<i>SOST</i>	17q21.31	rs4792909	+
	<i>WLS</i>	1p31.3	rs12407028	
	<i>WNT16/FAM3C</i>	7q31.31	rs3801387	+
	<i>WNT4</i>	1p36.12	rs7521902	+
	RANK-RANKL-OPG	<i>OPG (TNFRSF11B)</i>	8q24.12	rs2062377
<i>RANK (TNFRSF11A)</i>		18q21.33	rs884205	
<i>RANKL (TNFRSF11)</i>		13q14	rs9533090	
Внутрихрящевое окостенение	<i>CDKA1/SOX4</i>	6p22.3	rs9466056	
	<i>MEPE/SPP1/IBSP</i>	4q21.1	rs6532023	+
	<i>SOX6</i>	11p15.2	rs7108738	
	<i>SOX9</i>	17q24.3	rs7217932	
	<i>SP7</i>	12q13.13	rs2016266	
	<i>SUPT3H/RUNX2</i>	6p21.1	rs11755164	
	Другие	<i>ABCF2</i>	7q36.1	rs7812088
<i>ADAMTS18</i>		16q23	rs11864477	
<i>AKAP11</i>		13q14.11	rs9533090	
<i>ALDH7A1</i>		5q31	rs13182402	+
<i>ANAPC1</i>		2q13	rs17040773	
<i>ARHGAP1</i>		11p11.2	rs7932354	
<i>C12orf23</i>		12q23.3	rs1053051	
<i>C16orf38/CLCN7</i>		16p13	rs13336428	
<i>C18orf19/FAM210A</i>		18p11.21	rs4796995	+
<i>C6ORF97/ESR1</i>		6q25.1	rs4869742	
<i>C7orf58</i>		7q31	rs13245690	
<i>CPN1</i>		10q24.2	rs7084921	
<i>CRHR1</i>		17q12	rs9303521	
<i>CYLD</i>		16q12.1	rs1564981	
<i>DHH</i>		12q13.12	rs12821008	
<i>DNM3</i>		1q24.3	rs479336	
<i>FAM9B/KAL1</i>		Xp22.31	rs5934507	
<i>FLJ42280/SHFM1</i>		7q21.3	rs7781370	
<i>FOXL1/FOXC2</i>		16q24.1	rs10048146	
<i>FUBP3</i>		9q34.11	rs7851693	+
<i>GALNT3</i>		2q24.3	rs1346004	
<i>GPATCH1</i>		19q13.11	rs10416218	
<i>HDAC5</i>		17q21	rs228769	
<i>HOXC6</i>		12q13.13	rs736825	
<i>IDUA</i>		4p16.3	rs3755955	
<i>INSIG2</i>		2q14.2	rs1878526	
<i>KCNMA1</i>		10q22.3	rs7071206	
<i>KIAA2018</i>		3q13.2	rs1026364	

	<i>KLHDC5/PTHLH</i>	12p11.22	rs7953528	
	<i>LEKRI</i>	3q25.31	rs344081	
	<i>LIN7C/DCDC5</i>	11p14.1	rs10835187	+
	<i>MARK3</i>	14q32.32	rs11623869	
	<i>MPP7</i>	10p11.23	rs3905706	
	<i>NTANI</i>	16p13.11	rs4985155	
	<i>PKDCC</i>	2p21	rs7584262	
	<i>RPS6KA5</i>	14q32.12	rs1286083	+
	<i>SLC25A13</i>	7q21.3	rs4727338	+
	<i>SMG6</i>	17p13.3	rs4790881	
	<i>SPTBN1</i>	2p16.2	rs4233949	Y
	<i>STARD3NL</i>	7p14.1	rs6959212	+
	<i>TXNDC3</i>	7p14.1	rs10226308	
	<i>XKR9/LACTB2</i>	8q13.3	rs7017914	
	<i>ZBTB40</i>	1p36.12	rs6426749	+

Таким образом, любая оценка риска переломов должна включать все факторы риска. Логичным шагом было бы построить многомерные алгоритмы прогнозирования риска, которые сочетают генетические и негенетических факторы для идентификации лиц с высоким риском переломов.

Данные семейных исследований показывают, что риск перелома увеличивается в семьях, но не в строгом соответствии законам Менделя. Ключевой мерой генетического влияния на фенотип является индекс наследственности, который определяется как степень, в которой генетические индивидуальные различия способствуют индивидуальным различиям в наблюдаемых признаках. Примерно 25-35% дисперсии в предрасположенности к переломам объясняется генетическими факторами [Michaëlsson, 2005]. Индекс наследуемости риска переломов выше у более молодых людей и становится все слабее у пожилых. На самом деле, среди людей в возрасте ≥ 80 лет генетический компонент риска переломов бедра составляет $<3\%$ [Michaëlsson, 2005]. Этот факт позволяет предположить, что перелом шейки бедра у пожилых людей в значительной степени объясняется средовыми факторами. Проявлением этого генетического влияния является то, что женщины, чьи матери имели перелом бедра, имеют двукратное увеличение риска перелома шейки бедра, что, возможно связано с семейной историей низкого уровня МПКТ [Seeman, 1989]. Аналогичные результаты наблюдались и у пожилых мужчин [Evans, 1988]. Мета-анализ показал, что семейная история перелома шейки бедра у родителей связана с увеличением риска любого перелома и 2-х, 3-х кратным увеличением риска перелома шейки бедра у 50% их детей [Kanis, 2004]. Таким образом, биометрические исследования представили доказательства того, что предрасположенность к переломам частично определяется генетическими факторами. Важным следствием этих выводов является то, что генетическая гетерогенность, по крайней мере, частично, объясняется фенотипической гетерогенностью остеопороза и переломов.

В свете знаний того, что генетические факторы влияют на риск возникновения перелома, с начала 1990-х годов был предпринят поиск генов, которые сцеплены или ассоциированы с переломами. Общим эпидемиологическим подходом к поиску генов является исследование ассоциации кандидатных генов, при котором конкретные варианты ДНК анализируются у больных и у неродственных здоровых индивидов. С использованием этого подхода выявлен ряд полиморфных вариантов генов, причастных к риску перелома. Среди них гены, кодирующие рецептор витамина D, остеокальцин [Kanis, 2004], антагонист рецептора интерлейкина 1, кальций-чувствительный рецептор, $\alpha 2$ -HS-гликопротеин, остеооптин, остеоонектин, рецептор эстрогена α , интерлейкин 6, рецептор кальцитонина, коллаген типа 1 $\alpha 1$ и $\alpha 2$, паратиреоидный гормон и трансформирующий фактор роста $\alpha 1$ [Ralston and Uitterlinden, 2010]. Тем не менее, результаты большинства исследований ассоциаций кандидатных генов были плохо воспроизведены в последующих исследованиях, главным образом, из-за отсутствия статистической мощности [Huang, 2003] и ложноположительных результатов [Nguyen, 2005].

Даже с технологическими достижениями в анализе ДНК, определение конкретных генов, ассоциированных с риском переломов, не является простой задачей. Трудность заключается не только в определении фенотипа, но и в аналитической стратегии. Перелом является клиническим событием и как дискретный признак является конечным следствием кумулятивного ухудшения прочности костей и нарушения структуры костной ткани, оба признака находятся под сильным генетическим влиянием. Таким образом, можно утверждать, что перелом является гетерогенным фенотипом не только с точки зрения клинических проявлений, но и с точки зрения факторов риска. Например, в то время как падение является основным фактором риска для перелома бедра, оно мало способствует риску переломов позвоночника. Эта неоднородность имеет серьезные последствия в поиске генов, связанных с остеопорозом. Так называемый «ген перелома» может обуславливать

уровень МПКТ, структуру кости, или мышечную силу. Кроме того, ген, который ассоциирован с переломом бедра, может и не обуславливать переломы позвоночника.

Исследование «случай-контроль» широко используется для идентификации генов, связанных с переломом, но имеет ряд недостатков. Выбор подходящего популяционного контроля может быть проблемой, особенно для переломов, т.к. они могут возникнуть позже у людей из контрольной группы. Любая статистически значимая ассоциация между определенным вариантом гена и переломом не обязательно может указывать на причинную связь, потому что ассоциация могла возникнуть из-за неравновесия по сцеплению и стратификации популяции [Campbell and Rudan, 2002]. Большинство исследований кандидатных генов ориентировано на один ген, поэтому пороговое значение P для признания значимости обычно устанавливается на уровне 0,05. Таким образом, если неоднократно исследовать 20 независимых вариантов, можно было бы ожидать, что только одна ложноположительная ассоциация была бы получена случайно [Huang, 2003]. Не удивительно, что десятилетние исследования кандидатных генов также сопровождаются увеличением числа противоречивых выводов и ложноположительных результатов.

На сегодняшний день опубликовано только одно полногеномное исследование ассоциаций с переломами в небольшой когорте «случай-контроль» (350 случаев перелома бедра и 350 человек из контрольной группы) китайцев старшего возраста [Guo, 2010], и обнаружен полиморфизм rs13182404, ассоциированный с переломом шейки бедра на уровне полногеномной значимости ($p=2,1 \times 10^{-9}$) после объединения этапов обнаружения и репликации с общей выборкой, состоящей из 740 случаев перелома бедра и 866 контроля. Риск (отношение шансов) перелома бедра составил 2,25 (95% ДИ 1.72-2.94), который является крупнейшим размером эффекта, связанным с остеопоретическими переломами в рамках GWAS исследований скелетных фенотипов. Этот полиморфизм локализован в области 5q31, в гене альдегиддегидрогеназы семейства 7, член A1 (*ALDH7A1*), который деградирует и выводит токсины ацетальдегида, ингибирующего пролиферацию остеобластов и приводящего к снижению образования костной ткани [Guo, 2009].

При проведении GWAS исследований МПКТ, некоторые исследователи также рассмотрели и ассоциации ОНП, наиболее значимо ассоциированных с МПКТ, с переломами. Среди 68 локусов, ассоциированных с МПКТ по результатам GWAS исследований, 21 локус был также ассоциирован с риском переломов. Они расположены в следующих хромосомных областях: 1p36 (*ZBTB40-Wnt4*), 2q24-q31 (*GALNT3*), 2q33.1 (*FONG*), 3p21 (*CTNNB1*), 4q21.1 (*MEPE*), 6p21.3 (*MHC*), 7p14-p13 (*STARD3NL*), 7q21.3 (*SLC25A13*), 7q31 (*WNT16*), 9q34.11 (*FUBP3*), 10q11.2 (*DKK1*), 11p11.2 (*LRP4*), 11p14.1 (*DCDC5*), 11q13.4 (*LRP5*),

2p21 (*SPTBN1*), 14q31-q32.1 (*RPS6KA5*), 17q11.2 (*SOST*), 17q21.31 (*C17orf53*), 18p11.21 (*C18orf19*, недавно названный *FAM210A*) и 20p12.1-p11.23 (*Jag1*). Эти локусы являются статистически значимыми после коррекции Бонферрони для многократного тестирования [Hsu, 2012; Richards, 2012]. Большинство из этих выводов были получены в GWAS исследовании 31016 случаев остеопоретических переломов и 102444 человек без переломов из более чем 40 когорт, являющихся частью консорциума GEFOS/GENOMOS [Estrada, 2012].

Локусы генов *Jag1* [Kung, 2011], *FONG* [Kou, 2011], и *ALDH7A1* [Guo, 2010] были ассоциированы с риском переломов только в популяциях Восточной Азии. Риск (отношение шансов) остеопоретических переломов варьировал в диапазоне от 1,05 (95% ДИ 1.02-1.08) для ОНП, расположенного в локусе *C17orf53* [Estrada, 2012] до 1,43 (95% ДИ 1.08-1.75) для ОНП, расположенного в гене *Jag1* [Kung, 2011]. Hsu с соавторами для сравнения величины размера эффекта для каждого ОНП «перевернули» аллели и сообщили об отношении шансов для частого аллеля в популяциях, вместо редкого [Hsu., 2012]. В этом случае, оба варианта в локусе *C17orf53* и гене *Jag1* были на самом деле ассоциированы с уменьшением риска остеопоретических переломов, а «незначительные» аллели были связаны с повышенным риском переломов. Для большинства аллелей риска других локусов отношение шансов меньше 1,1, особенно в популяциях Европы, что свидетельствует о том, что эффект отдельных локусов на риск возникновения остеопоретических переломов весьма скромнен. Это контрастирует с тем фактом, что низкий уровень МПКТ объясняет от 10 до 50% риска остеопоретических переломов, в зависимости от пола, возраста и изученных популяций. Во всех случаях, ассоциация ОНП с переломом показала одинаковое направление эффекта, как и ассоциации ОНП с уровнем МПКТ (уменьшение уровня МПКТ и повышение риска переломов). Одним из примечательных выводов этих GWAS исследований является то, что генетические варианты OPG-RANK-RANKL пути, участвующего в остеокластогенезе (гены *TNFRSF11B*, *TNFRSF11A* и *TNFSF11*), не были ассоциированы с остеопоретическими переломами, несмотря на то, что являются самыми последовательными результатами, ассоциированными с уровнем МПКТ в различных исследованиях и популяциях.

Несмотря на некоторые из указанных выше несоответствий, касающихся выводов GWAS исследований МПКТ и остеопоретических переломах, топ-выводы GWAS, которые были ассоциированы с остеопоретическими переломами, преимущественно связаны с костной морфологией (*LRP4*, *GALNT3*, *DKK1*) и развитием, например, минерализацией (*Wnt4*, *MEPE*), дифференциацией остеобластов (*CTNNB1*, *DKK1*, *LRP5*, *Wnt4*, *SOST*) и остеокластов (*Jag1*, *CTNNB1*). Некоторые гены вовлечены в Wnt/ β -катениновый сигнальный путь,

в том числе гены *CTNNB1*, *DKK1*, *LRP5*, *SOST*, *Wnt4* и *WNT16*. Некоторые из них также принимают участие в диабетической нефропатии или нарушении обмена глюкозы, в том числе гены *CTNNB1*, *DKK1*, *LRP5*, *SLC25A13*, *Wnt4* и *WNT16*. Для остальных генов необходимо дальнейшее выяснение их причастности к биологической функции и/или процессам, связанным с костным метаболизмом.

Патогенетические пути, вовлеченные в развитие остеопороза

Одной из целей GWAS исследований является получение информации о патогенезе заболевания путем выяснения участия ассоциированных локусов в новых молекулярных путях. Многие из 66 локусов, ассоциированных с МПКТ, действительно расположены в генах, которые участвуют в путях, связанных с костной биологией, таких как сигнальные пути Wnt/ β -катенина, RANK/RANKL/остеопротегерина (OPG), дифференциации мезенхимальных стволовых клеток и внутрихрящевого окостенения, хотя, участие этих путей в патофизиологии остеопороза в целом, было известно до появления метода GWAS.

Wnt/ β -катениновый сигнальный путь, который является посредником во взаимодействии Wnt белков с их рецепторами, вызывает накопление β -катенина в цитоплазме и затем перемещает его в ядро, где он участвует в транскрипции генов. Важность этого пути для «доревья»костей была впервые признана с открытием мутацией в гене *LRP5* как причины остеопороза (pseudoglioma синдромом) [Gong, 2001] и в настоящее время понятно, что этот путь является критически важным для различных процессов, в том числе дифференциации костных клеток, пролиферации и апоптоза [Wang, 2014]. RANK-RANKL-OPG путь является важным регулятором костной резорбции, который включает в себя рецептор активатора ядерного фактора κ B (RANK), его лиганд (RANKL), и OPG, так называемый ложный рецептор RANKL. RANK экспрессируется остеокластами и их предшественниками, RANKL экспрессируется на поверхности остеобластов, а OPG производится остеобластами. RANKL, связываясь со своим рецептором RANK, контролирует дифференцировку, пролиферацию и выживание остеокластов.

Процесс дифференциации мезенхимальных стволовых клеток весьма актуален для костной ткани, т.к. они являются мультипотентными стромальными клетками, которые могут дифференцироваться в различные типы клеток, в том числе в остеобласты, хондроциты и адипоциты [Clarke, 2008]. Внутрихрящевое окостенение включает процессы, активные в течение эмбрионального развития скелета млекопитающих.

В GWAS исследованиях обнаружены новые локусы, ассоциированные с остеопорозом, которые не были обнаружены в предыдущих исследованиях ассоциации кандидатных генов,

которые участвуют в ключевых биологических путях метаболизма костей, в частности Wnt сигнализации (*AXIN1*, *LRP5*, *CTNNB1*, *DKK1*, *FOXC2*, *HOXC6*, *LRP4*, *MEF2C*, *PTHLH*, *RSPO3*, *SFRP4*, *TGFBR3*, *WLS*, *Wnt3*, *Wnt4*, *WNT5*, *WNT16*); развития костей: окостенения (*CLCN7*, *CSF1*, *MEF2C*, *MEPE*, *PKDCC*, *PTHLH*, *RUNX2*, *SOX6*, *SOX9*, *SPP1*, *SP7*); дифференциации мезенхимальных стволовых клеток (*FAM3C*, *MEF2C*, *RUNX2*, *SOX4*, *SOX9*, *SP7*); дифференциации остеокластов (*Jag1*, *RUNX2*) и TGF-сигнализации (*FOXL1*, *SPTBN1*, *TGFBR3*). Обнаружено, что у нокаутированных мышей (Mouse Genome Informatics database) в развитие скелетных фенотипов вовлечены гены, выявленные в результате GWAS исследований остеопороза у человека, включая *GALNT3*, *AXIN1*, *CLCN7*, *CTNNB1*, *CYLD*, *DKK1*, *FOXL1*, *HOXC6*, *IBSP*, *IDU*, *LRP4*, *MEPE*, *PKDCC*, *PTHLH*, *RUNX2*, *RSPO3*, *SOST*, *SOX6*, *SOX9*, *SP7*, *SPP1*, *TGFBR3* и *WLS*.

Несмотря на растущее число полиморфных вариантов ДНК, ассоциированных с уровнем МПКТ, лишь немногие из них привели на сегодняшний день к серьезным новым идеям в биологии кости, во многом потому, что они расположены в генах, вовлеченных в уже известные пути, или в межгенных участках, либо в генах с неизвестными функциями. Чтобы полнее использовать результаты GWAS исследований необходимо интегрировать дополнительную информацию, например, экспрессию причастных генов, и функциональный анализ выявленных ОНП и кандидатных генов. В крупном мета-анализе Консорциума «GEFOS» по изучению генетических факторов развития остеопороза, многие из выявленных ОНП расположены в генах RANK-RANKL-OPG, мезенхимальной дифференциации стволовых клеток и Wnt сигнальных путей [Estrada, 2012]. Интеграция данных по экспрессии с выводами GWAS может выявить наиболее биологически значимые гены-кандидаты, что было сделано в GWAS исследованиях, проведенных в рамках «Framingham Study» [Hsu, 2010] и консорциума по изучению генетических факторов развития остеопороза «GENOMOS/GEFOS» [Estrada, 2012]. При анализе 180 ОНП, ассоциированных с ростом, в предыдущих мета-анализах GWAS, Lui и др. использовали базы данных крысы, мыши и человека для идентификации генов, экспрессирующихся в ростовых пластинах, чтобы помочь локализовать причинный ген среди многих ассоциированных локусов [Lui, 2012].

Hsu с соавторами [2010] обнаружили, что: 1) ген *RAP1A* ассоциирован с костными фенотипами у B6xC3H F2 мышей; 2) полиморфный локус rs494453 гена *RAP1A*, расположенного в интроне 2, был также значительно ассоциирован с экспрессией гена *RAP1A* в первичных остеобластах человека; и 3) экспрессия *RAP1A* отличалась в остеобластах различной степени созревания и предположительно ген *RAIPA* является перспективным геном, связанным со структурой

охарактеризовать структуру этого нового гена и назвали его «FONG», молекулярное участие которого в скелетной биологии необходимо изучить дополнительно.

Хотя GWAS исследования обеспечивают беспристрастный «безгипотезный» подход для скрининга генетических детерминант черт целого генома, простые статистические сигналы не обеспечивают предсказания столь необходимых функциональных последствий основных биологических процессов, связанных с патофизиологией заболеваний. Более половины из ОНП, ассоциированных с полногеномным уровнем значимости, находятся в межгенных участках (между двумя или несколькими генами). В связи с ограниченным пониманием структуры генома человека, это становится проблемой для аннотирования межгенных ОНП с соседними генами и характеристики биологических следствий полиморфизма в межгенных участках. Для решения этой проблемы предложен подход системной геномики с использованием правдоподобия на основе моделирования сети причинно-следственных связей для построения регуляторных сетей [Hsu, 2010]. Путем интеграции экспериментов по профилированию экспрессии генов (транскриптом) из тканей человека (QTL экспрессия и ОНП), а также клеток экспериментальных моделей животных (таких как PTH-стимулированный остеокластогенез и остеобластогенез эмбриональных стволовых клеток) и результатов GWAS исследований создаются модели для будущих функциональных проверок. В дополнение к генотипам в модели будут включены профилирование экспрессии генов из клеточных, животных моделей и тканей человека, а также данные эпигенетики, транскриптомики и протеомики в клеточных моделях [Hsu, 2010]. Такой подход может привести к лучшему пониманию генетических сигналов ассоциаций, обеспечивая системный вид биологических процессов, лежащих в основе предрасположенности к заболеваниям скелета.

Прогностические модели риска развития переломов

Одним из ожидаемых применений результатов проекта «Геном человека» является использование полученных генетических данных для раннего выявления предрасположенности к многофакторным заболеваниям, в том числе, для прогнозирования риска возникновения переломов. Интерес к индивидуальной оценке риска переломов стимулируется в последнее десятилетие результатами, полученными в GWAS исследованиях. Некоторые основные их преимущества вытекают из использования генетического профилирования как прогностического фактора риска переломов. Генетический профиль индивида не зависит от времени, поэтому риск перелома для индивида может быть предсказан в молодом возрасте, задолго до того, как обычные факторы риска станут

полезными в любом предсказательном смысле. Хотя в настоящее время не существует «генетической» терапии для лиц с высоким риском переломов, использование генетических маркеров может помочь провести индивидуальное консультирование по вопросам профилактики переломов, здоровья костей и ориентации лечения.

Индивидуальная оценка риска должна применяться в соответствии с жесткими принципами доказательной медицины. До сих пор специального тестирования эффективности индивидуальных методов лечения, выбранных на основе многомерных оценок риска, не проводилось. Таким образом, не ясно, будет ли превентивное лечение лиц, которые выбираются на основе их абсолютного риска, приводить к последующему сокращению у них числа переломов. Тем не менее, по результатам вторичного анализа клинических исследований было показано, что лечение женщин с вероятностью риска переломов 24% привело к снижению риска на 23% [McCloskey, 2007]. Эти данные согласуются с гипотезой, что лечение лиц с высоким или умеренным абсолютным риском, может уменьшить частоту переломов.

Доказано, что лечение (с помощью лекарств, которые либо уменьшают костную резорбцию, либо увеличивают остеогенез) людей, у которых уже произошел низкотравматичный перелом, или уровень МПКТ соответствует остеопорозу, снижает вероятность последующих переломов [Hopkins, 2011]. При этом у половины женщин с переломами бедра ранее не было других переломов, а уровень МПКТ не находился в диапазоне, характерном для остеопороза [Wainwright, 2005], и алгоритм прогнозирования, основанный на измерении МПКТ и клинических данных о переломах, не вполне подходит для выявления физических лиц, у которых в будущем случится перелом. Поэтому важно понять, может ли применение генетических маркеров улучшить точность предсказания перелома. Существующие прогностические модели для выявления людей с высоким риском переломов включают клинические факторы и антропометрические характеристики, но не учитывают генетические факторы.

Полногеномные исследования ассоциаций с остеопорозом, проведенные в последнее десятилетие, выявили несколько генетических вариантов, имеющих отношение к риску переломов. Эти генетические варианты являются распространенными, но имеют очень скромные масштабы эффекта. Эффект влияния отдельных генетических вариантов, как для МПКТ, так и риска переломов, весьма незначителен. Действительно, медиана отношения шансов для 32 ОНП, ассоциированных с переломами, была 1,06 (1.2-1.15) (рис. 2). Другими словами, единичный маркер увеличивает шансы переломов примерно на 5%, а максимальное увеличение с помощью ОНП было только 15% (rs6696981). Это не удивительно, учитывая, что GWAS основан на гипотезе «распространенный вариант - распространенное

заболевание», которая предполагает, что многофакторные заболевания обусловлены несколькими частыми генетическими вариантами, каждый из которых имеет скромный эффект, и

существует проблема в использовании этих генетических данных для индивидуализированной оценки риска переломов на основе генетического профиля человека [Nguyen and Eisman, 2013].

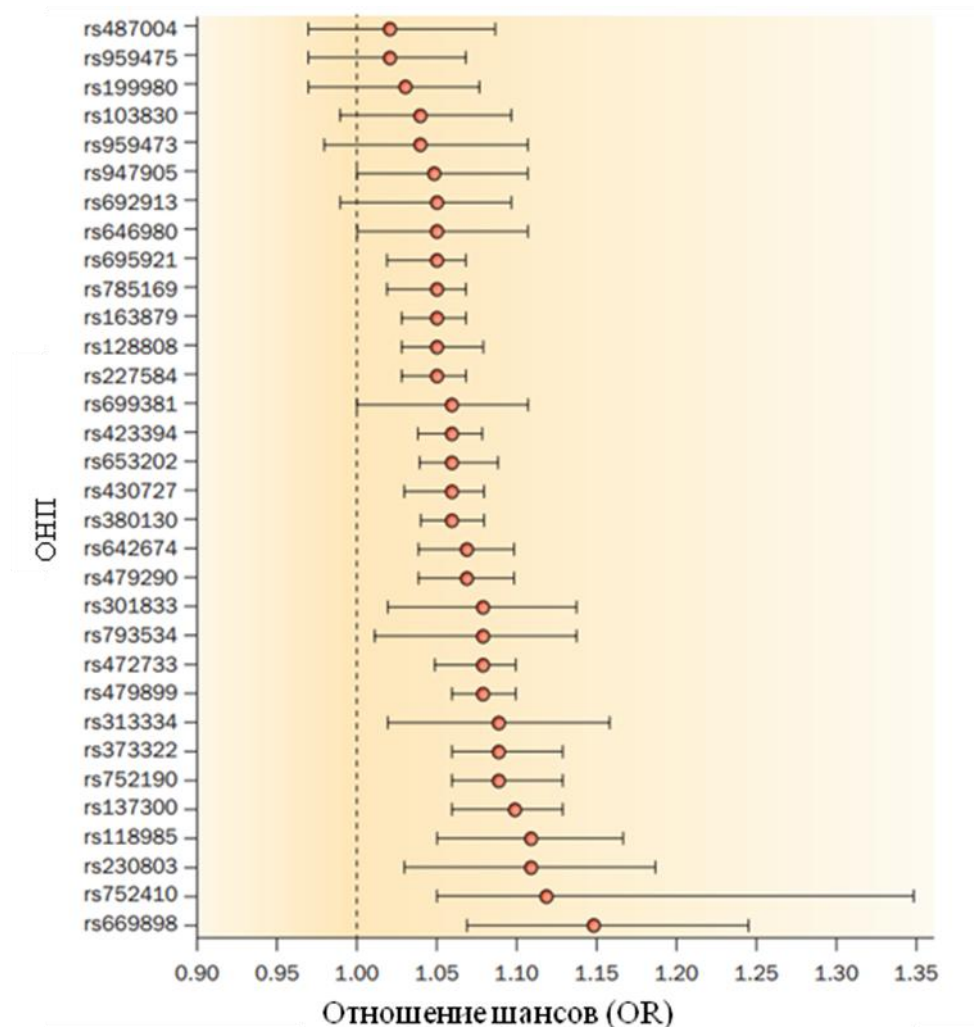


Рис. 2. Относительный риск и 95% ДИ для 32-х полиморфных вариантов, ассоциированных с переломами (по Nguyen T.V. & Eisman J.A., 2013 с модификациями).

По результатам проспективных исследований установлено, что дискриминационное значение прогностических моделей, основанных на клинических факторах риска, определяется от умеренного до среднего, варьируя от 0,7 до 0,8 [Nguyen, 2007; 2008]. Tran с соавторами улучшили модель прогнозирования путем добавления в нее полиморфного варианта rs1800012 гена $\alpha 1$ цепи коллагена 1 типа (*COL1A1*), который ассоциирован с риском переломов во многих исследованиях [Tran et al., 2009]. Этот полиморфизм, который расположен в сайте связывания Sp1 в первом интроне гена *COL1A1*, имеет незначительную частоту аллелей у европеоидов, примерно 19%, а у лиц, гомозиготных по этому варианту наблюдается 2-4-х кратное увеличение риска переломов. Добавление этого варианта к модели прогнозирования перелома бедра увеличили показатель лишь незначительно,

от 0,86 до 0,88, и наблюдалось небольшое улучшение реклассификации - от нормального до высокого риска [Tran, 2009]. В крупном мета-анализе Консорциума по изучению генетических факторов развития остеопороза, суммарная оценка генотипов на основе 62 локусов была скромной в предсказании остеопороза (составляя 0,59); добавление в модель показателей возраста и веса увеличило значение дискриминации незначительно (от 0,75 до 0,76) [Estrada, 2012]. Кроме того, можно было ожидать, что варианты, ассоциированные с МПКТ, имеют очень маленькую прогностическую ценность для моделей, которые уже включают уровень МПКТ в качестве клинического признака.

Хотя однонуклеотидные варианты имеют очень малый эффект, существует теоретическая польза для рассматривания нескольких вариантов риска в совокупности для генетического профилирования. Одна проблема состоит в том, что

многие из известных генетических маркеров, ассоциированных с риском переломов, проявляют свое действие через МПКТ, и, следовательно, их дополнительное прогностическое значение, как ожидается, будет очень незначительным. Эмпирические исследования и результаты моделирования показали, что полезность одного генетического варианта для оценки риска переломов очень ограничена, но профиль из 50 генетических вариантов, каждый из которых имеет отношение шансов от 1.02 до 1.15, может повысить точность прогнозирования переломов [Nguyen and Eisman, 2013]. Однако, учитывая сложность фенотипа перелома, кажется маловероятным, что ассоциированные с ним ОНП будут иметь большой эффект.

Были предприняты попытки оценить вклад генетических вариантов в риск развития переломов при остеопорозе, используя локусы, ассоциированные с МПКТ. Исследование с применением моделирования позволило также предположить, что генетическое профилирование может повысить точность прогноза перелома, который оценивается только с применением клинических факторов риска (например, пола, МПКТ FN, история переломов, падение в течение последних 12 месяцев, и возраст) и помочь в выявлении пациентов группы высокого риска [Tran, 2011]. Анализ результатов проспективного исследования 2836 датских женщин в возрасте 55 - 86 лет показал, что только возраст и вес предсказывают остеопороз с вероятностью 75% [Estrada, 2012]. 56 локусов, ассоциированных с МПКТ по результатам GWAS исследования, вместе показали значительную, но скромную возможность прогнозирования остеопороза с вероятностью 59% (95% ДИ, 56-62%). Добавление этих локусов в модель вместе с возрастом и весом не существенно повышает предсказательную способность, вероятность остеопороза составила 76% (95% ДИ, 74-78%). Аналогичная картина наблюдалась и для прогнозирования перелома. Несмотря на крайне низкие значения p ($P < 5 \times 10^{-8}$) для многих ОНП, которые были ассоциированы с МПКТ на полногеномном уровне значимости, генетические локусы риска, полученные при GWAS исследованиях, не в состоянии предсказать лиц с низкой МПКТ или переломом с учетом возраста и веса.

Одним из потенциальных ограничений растущих объемов выборки при GWAS исследовании является возможность гетерогенности большого количества когорт. Мета-анализ стал обычной частью GWAS исследований, и все же только мета-анализ обеспечивает оптимальную возможность найти эффекты, однородные для всей когорты. Неоднородность информации (наследственный генетический фон, ковариация генотипов и фенотипов) влияет не только на статистическую мощность, но и увеличивает потенциал для ложноположительных результатов [Nakaoka and Inoue, 2009]. Это делает

необходимым структурировать информацию о когортах в максимально возможной степени.

Существуют статистические методы для ретроспективного изучения потенциальной гетерогенности различных исследований или количественных фенотипических показателей, а также устройств, применяемых для их оценки (например, МПКТ) [Higgins and Thompson, 2002]. При существовании неоднородности применяются соответствующие статистические методы, такие как мета-анализ случайных эффектов или смешанных эффектов [Nakaoka and Inoue, 2009]. В GWAS исследованиях обычно используется мета-анализ фиксированных эффектов, обеспечивая более узкие доверительные интервалы и значительно более низкие значения P для вариантов, чем мета-анализ случайных эффектов, когда присутствует неоднородность [Nakaoka and Inoue, 2009]. С другой стороны, мета-анализ случайных эффектов или смешанных эффектов предполагает, что средний эффект (каждого ОНП) в каждом исследовании разный, а средства, как правило, выбраны из распределения Гаусса, дисперсия которого (сумма гетерогенности между исследованиями) оценивается с помощью модели [DerSimonian and Laird, 1986].

Кроме того, неоднородность влияет не только на статистическую мощность и приводит к потенциально ложным выводам в GWAS исследованиях, но и снижает точность предсказания риска развития заболеваний (таких как риск переломов) при применении баллов генетического риска для популяции, которая находится в гетерогенной среде (ген-средовые взаимодействия) и/или обладает гетерогенным генетическим фоном. С целью разработки стандартизированных процедур, которые могут применяться разными исследователями, при сборе медицинской информации и для определения ковариаций и фенотипов создан проект «PhenX» (<https://www.phenx.org>).

С ограничением плотности генотипирования генома, усилия GWAS сосредоточились на частых ОНП ($MAF \geq 5\%$). Большинство из ассоциированных ОНП, вероятно, не будут причинными или функциональными. Недостающая наследуемость предполагает, что небольшая часть большого числа частых причинных вариантов и большая доля небольшого числа редких причинных вариантов будут способствовать здоровью индивида. Причинные варианты, которые не находятся в неравновесии по сцеплению с генотипированными маркерами (например, большинство ОНП в ДНК-чипе), вероятно, будут очень редкими (<1%) и редкими (<5%) вариантами [Li, 2010].

Редкие варианты, по прогнозам, проявляют сильные величины эффекта, чем частые варианты, в соответствии с тем, что функциональные аллельные варианты подвергаются отбору [Kryukov, 2009]. Недавние исследования выявили скопление редких вариантов генов, связанных со сложными признаками, такими как липиды в

сыворотке [Romeo, 2007], диабет 1 типа, спорадические синдромы эпилепсии [Heinzen, 2010], артериальное давление [Ji, 2008], потеря слуха, спорадический аутизм [O'Roak, 2011], а также опухоли. Эти исследования показали, что сложные фенотипы могут быть обусловлены как частыми, так и несколькими редкими полиморфными вариантами генов, кодирующих белки. Хотя исходные сигналы, обнаруженные при GWAS исследованиях, являются частыми вариантами, открытие редких вариантов в том же регионе может иметь решающее значение.

Существуют противоречивые мнения относительно использования общедоступных случайных выборок в качестве опорных панелей, таких как международный проект «НарМар» и проект «1000 Геномов» [1000 Genomes Project Consortium, 2010; MacArthur, 2012] для поиска причинных вариантов, ассоциированных с болезнью в конкретных популяционных исследованиях. Это особенно верно для тех групп населения, которые не представлены в проектах, потому что связанные с заболеванием причинные варианты могут не присутствовать в общедоступных панелях [Dickson, 2010].

Несмотря на потенциал для индивидуального прогнозирования риска переломов, применение генетических открытий в клинической практике остается серьезной

проблемой. Вопрос в том, как оценить полезность генов в прогнозировании переломов и какие расчеты являются подходящими для оценки. Простые меры ассоциации, такие как отношение шансов, не являются адекватными [Pere, 2010]. Полезность генетического варианта с точки зрения прогнозирования риска переломов следует оценивать с точки зрения дискриминации, и что более важно, реклассификации, как описано ниже.

Дискриминация показывает, как хорошо генетический вариант может отделить людей, которые будут иметь перелом, от тех, у кого его потенциально не будет. Основным показателем дискриминации является площадь (ROC) под характеристической кривой (AUC), которую можно интерпретировать как вероятность того, что для набора случайно выбранных пар «перелом/нет перелома», результат теста будет выше у пациентов с переломами, чем у людей, без перелома (рис. 3). В действительности, AUC представляет собой компромисс между чувствительностью и специфичностью и, таким образом, глобальную оценку прогностической точности [Wray, 2010]. Например, значимые различия, имеющие прогностическое значение между двумя моделями прогнозирования, не обязательно отражаются на AUC. Кроме того, AUC не имеет прямого клинического значения и, следовательно, не имеет пользы для принятия клинического решения.

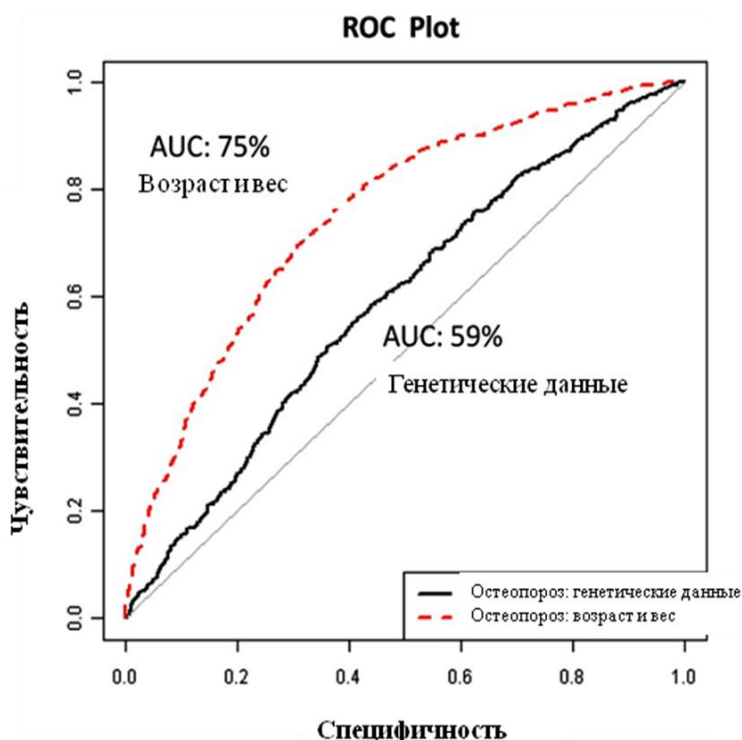


Рис. 3. Пример ROC плота, предсказывающего риск остеопороза на основе только генетических данных (AUC 59%) и с учетом возраста и веса (AUC 75%) (по Hsu&Kiel, 2012 с модификациями)

Клинически значимым маркером является реклассификация рисков [Pencina, 2008]. Человек может быть классифицирован как индивид «высокого риска» или «низкого риска», а с

дополнительными факторами риска (например, генетическим) категория риска может измениться. Рассмотрим модель прогнозирования с клиническими факторами риска, а также модель

прогностических факторов плюс генетические варианты. Если генетические варианты полезны, то их добавление должно привести к увеличению доли лиц, классифицированных в группе высокого риска перелома по сравнению с группой низкого риска и, наоборот. Чистую разницу между двумя пропорциями реклассификации называют чистой улучшенной реклассификацией [Cook, 2008]. Таким образом, когда решение в отношении лечения основано на пороге риска, NRI может быть полезным для создания клинического решения для индивида [Michaëlsson, 2005].

Если предположить, что 5-летняя частота переломов в общей популяции составляет 10% и, что порог риска для решения лечения составляет 20% (другими словами, люди с прогнозируемым риском >20% считаются людьми «высокого риска»), то можно показать, путем моделирования, что генетический вариант с OR=1.1-1.4 связан с AUC 0.52-0.55, и почти нулевой чистой улучшенной реклассификацией; генетический вариант, который имеет отношение шансов 3, является редким явлением, может привести к AUC 0,76 и NRI 20% [Pere, 2010].

Относительный риск перелома шейки бедра для генотипа *COL1A1* составил в одном из исследований 3,7 [Nguyen, 2005]. AUC для модели, в том числе возраста и МПК был 0,83, но когда *COL1A1* генотип был добавлен в модель, AUC увеличился незначительно - до 0,85, [Tran, 2009]. Ни один из генетических вариантов, определенных GWAS, не достиг этой величины ассоциации (OR>1,5). В совокупности эти данные свидетельствуют, что вклад любого одного гена для прогнозирования риска переломов, независимо от того, насколько большой его эффект, ограничен и не применим в клинических условиях [Wason, 2011].

Предрасположенность к переломам зависит от нескольких генетических вариантов, и только один любой генетический вариант минимально способствует точности оценки риска перелома. Тем не менее, Pere с соавторами разработали методику для проведения исследований по моделированию, чтобы проверить полезность генетического профилирования [Pere et al., 2010]. Для 50 генетических вариантов, каждый из которых имеет отношение шансов ~ 1,1, значение AUC, как ожидается, будет 0,63, однако NRI составляет ~ 5%. Тем не менее, генетическое профилирование для 50 генетических вариантов, каждый из которых имеет отношение шансов ~ 1,3, AUC, как ожидается, будет 0,80, а NRI составит 15%. Таким образом, авторы заключают, что генетическое профилирование может иметь прогностическую ценность для оценки риска переломов.

На самом деле, генетическое профилирование является только одним из компонентов оценки риска переломов, таких как клинические факторы, антропометрические данные и другие важные компоненты. Действительно, существующие модели оценки риска переломов, такие как калькулятор риска переломов «Garvan»

или номограммы [Nguyen, 2007; 2008] и FRAX® [Kanis, 2008] включают только клинические факторы риска. Прогностическая производительность этих моделей была смешана с AUC в пределах от 0,65 до 0,80, в зависимости от типа перелома и географического региона популяции. Остается вопрос о вовлеченности генетических вариантов (в виде генетического профилирования), которые в моделях оценки риска могут принести дополнительную пользу в плане прогнозирования риска переломов для человека.

Этот вопрос был частично изучен в модельных исследованиях, в которых набор из 50 независимых генетических вариантов (с частотой аллелей 0.01-0.60) был смоделирован так, чтобы шансы для переломов составляли от 1.01 до 3.0 [Tran, 2011]. Добавляя имитацию генетического профилирования (в форме простого расчета риска) в обычную клиническую модель факторов риска, AUC увеличилась с 0,77 до 0,88, причем большая часть улучшения касалась специфичности, а не чувствительности [Tran, 2011]. Эти результаты показывают, что генетическое профилирование может повысить точность прогнозирования перелома, однако, это исследование основано на некоторых довольно оптимистичных допущениях, которые могли переоценить вклад генов в прогнозировании переломов [Tran, 2011].

Любое улучшение прогностической ценности генетического профилирования должно быть взвешено относительно его стоимости. В настоящее время, стоимость генотипирования 50 ОНП является более низкой по сравнению с анализом маркеров костного метаболизма. Однако, поскольку технологии улучшаются, стоимость генотипирования в будущем будет снижена. Таким образом, личное генетическое профилирование, в обозримом будущем, вероятно, станет более доступным. На популяционном уровне, стоимость генетического профилирования для риска переломов следует рассматривать в связи с тяжестью и расходами, связанными с переломом, прогностического значения генетического профилирования и имеющихся ресурсов.

Следует отметить, что все аналитические модели, рассматриваемые до сих пор, являются несколько упрощенным. Эти модели предполагают, что генетические варианты унаследованы независимо и что их воздействие является независимым друг от друга. Хотя никакого эффекта ген-генного взаимодействия не было идентифицировано, такой эффект может быть идентифицирован в будущем, когда будут накоплены достаточные данные. На индивидуальном уровне взаимодействие генов предсказывает, что два человека могут иметь различный риск переломов, даже если у них одни и те же генотипы в одном локусе. На популяционном уровне, эпистаз предполагает, что неоднородность и неполная пенетрантность перелома не ожидается. Тем не менее, на сегодняшний день, взаимодействие генов, которое может частично объяснить феномен пропавшей наследуемости,

было проигнорировано почти во всех исследованиях [Zuk, 2012].

Конечно, факторы окружающей среды, в том числе гормоны и поведенческие факторы, также способствуют предрасположенности к переломам [Center, 1999]. Риск перелома, гипотетически, зависит от взаимодействия между инвариантными по времени генами и факторами окружающей среды. Следовательно, риск перелома для человека должен быть рассмотрен не только с точки зрения ген-генных взаимодействий, но и с точки зрения взаимодействий генотипа и среды. Тем не менее, почти во всех генетических исследованиях остеопороза эти взаимодействия также не были рассмотрены.

Недавние исследования показали, что межгенные взаимодействия могут составлять значительную часть наследуемости сложных фенотипов [Zuk, 2012]. На сегодняшний день несколько GWAS исследований включили тестирование взаимодействия генов в связи с тем, что сначала основное внимание было уделено тестированию одиночных локусов. Кроме того, статистическое тестирование взаимодействия по отношению к линейной модели (например, модели линейной регрессии) не может непосредственно следовать биологическим или функциональным взаимодействиям в генетике. Был предложен полный анализ взаимодействий всех пар GWAS локусов, однако это требует много времени и этот анализ не показывает трехстороннего, четырёхстороннего, или даже более высокого порядка взаимодействия [Marchini, 2005]. Таким образом, статистические инструменты для анализа сложных межгенных взаимодействий все еще предстоит разработать.

Последние исследования показывают, что гендерная генетическая архитектура влияет на множество фенотипов человека, в том числе на репродуктивные, физиологические, сложные признаки и болезни. Некоторые из основных механизмов могут быть связаны с дифференциальной регуляцией генов у мужчин и женщин. На уровне МПКТ наблюдается сильный половой диморфизм. Одним из объяснений этой гендер-зависимой предрасположенности к остеопорозу и риску переломов является вероятность того, что различия между мужчинами и женщинами лежат в основе генетических эффектов, определяющих хрупкость костей [Karasik and Ferrar, 2008]. Недавно проведено GWAS исследование по выявлению влияния полового диморфизма на МПК позвоночника и шейки бедра у 25000 лиц из семи когорт и воспроизведены главные выводы у дополнительных 24000 пациентов [Liu, 2012]. Несмотря на большие усилия, никакого существенного ген-гендерного взаимодействия не было найдено. Чтобы иметь достаточную мощность (80%) и обнаружить ген-гендерные сигналы взаимодействия (объясняющие 0,08% от общей дисперсии), будут необходимы, по крайней мере, 50000 субъектов. Эти результаты позволяют

предположить, что эффекты ген-гендерного взаимодействия незначительны и требуются еще большие объемы выборки для их выявления.

На сегодняшний день существует ограниченное количество исследований генетических детерминантов в ответ на использование антирезорбтивных препаратов, используемых для замедления потери костной массы при остеопорозе. С увеличением знаний о молекулах и метаболических путях, которые ответственны за баланс между формированием кости и костной резорбцией, можно представить, что медикаментозное лечение может быть уточнено и оптимизировано в соответствии с индивидуальным генетическим профилем пациента. Степень реализации этого трудно предсказать, потому что это может зависеть не только от того, как отдельные ДНК-локусы влияют на ответ при лечении, но, возможно, и совокупность их комбинаций. Таким образом, генетическое профилирование, при интеграции с существующими моделями оценки риска, может сообщить более точный прогноз риска переломов у индивидуума.

Новые подходы и направления в исследовании остеопороза

Полногеномные исследования предназначены для выявления ассоциаций с высоким разрешением через беспристрастное сканирование генома. Однако, как уже говорилось, GWAS не свойственно идентифицировать отдельные причинные гены, а также эти исследования не обеспечивают нас функциональной информацией. Это важный момент, так как новые методы лечения зависят от открытия генов и выяснения их функции. Кроме того, ясно, что сложные костные фенотипы, такие как МПК, не определяются исключительно кумулятивными эффектами отдельных генетических влияний, но являются результатом возникающих свойств биологических сетей [Schadt, 2009]. Это приводит к необходимости разработки новых подходов, которые могут расширить, дополнить и повысить эффективность результатов GWAS исследований, генерируя системный уровень заболевания [Nadeau, 2011]. Как и для многих других многофакторных заболеваний, будущее геномных исследований при остеопорозе почти наверняка будет включать тщательное исследование роли редких вариантов, открытых путем глубокого секвенирования генов-кандидатов остеопороза, а также тех, которые обнаружены с помощью различных других методов, в том числе экзомного секвенирования, и проекта «1000 геномов». Исследование ассоциаций, направленное на поиск редких вариантов, будет потенциально полезно по двум причинам. Во-первых, потому что GWAS не использует варианты с незначительными частотами аллелей (менее 5%), и прямое генотипирование этих полиморфных вариантов является единственным способом оценить низкочастотный спектр аллельной вариации. Во-

вторых, редкие варианты, находящиеся в экзонах генов, могут нарушать функцию гена, таким образом, потенциально оказывать большое влияние на проявление фенотипа. Даже если эти мутации встречаются редко, их идентификация может предоставить важную информацию о роли этого конкретного гена (и, возможно, молекулярного пути) в биологии костей.

В дополнение к ОНП, варианты количества копий (CNVs) составляют значительную часть геномной изменчивости [Redon, 2006] и влияют на 20% вариации в экспрессии генов [Mileyko, 2008]. CNVs, как правило, больше, чем 1 т.п.о. длины ДНК, является структурным изменением геномной последовательности, что приводит к аномальному количеству копий сегмента ДНК в клетке. В ряде исследований была проведена оценка CNVs в ДНК-чипах, которые использовались для генотипирования ОНП, и анализ ассоциаций CNVs генома с переломом шейки бедра [Yang, 2008], геометрией тазобедренного сустава [Deng, 2010; Liu, 2011], и уровнем МПКТ [Deng, 2010]. Частые CNV делеции (76,8% случаев гомозигот по делеции), захватывающие ген *UGT2B17*, были ассоциированы с переломом бедра у китайцев в исследовании «случай-контроль»; выборки на стадии GWAS состояли из 350 человек с переломами бедра и 350 - без переломов, на стадии репликации результатов - 399 индивидов с переломами бедра и 400 человек в качестве контроля [Yang, 2008]. По сравнению с индивидами с делецией обеих копий гена *UGT2B17*, лица, несущие, по крайней мере, одну копию *UGT2B17* имели повышенный риск перелома бедра OR=1,58 (95% ДИ, 1.12-2.22). Тем не менее, эта ассоциация не была воспроизведена в последующем исследовании 1347 пожилых европейских женщин (34,1% людей с гомозиготными делециями) [Chew, 2011].

Другие подходы к идентификации генетических вариантов, ассоциированных с МПКТ и/или риском переломов, находятся в зачаточном состоянии. Эпигенетические факторы, которые не изменяют саму последовательность ДНК, а скорее, экспрессию гена, могут играть важную роль. Наиболее известными эпигенетическими механизмами являются метилирование ДНК и модификации гистонов, которые действуют на уровне транскрипции генов, и микроРНК, которые действуют на пост-транскрипционном уровне. Эпигенетические маркеры могут изменить программу дифференциации клеток, в том числе дифференциацию линии остеобластов, и/или могут быть важными регуляторами костного ремоделирования в остеокластогенезе [Delgado-Calle, 2012a]. На самом деле, последние данные свидетельствуют о том, что механизмы метилирования могут повлиять на транскрипцию RANKL и экспрессию OPG [Delgado-Calle, 2012b]. Предполагается, что эпигенетические маркеры могут быть модифицированы факторами питания, эмбриональными (внутриматочными) факторами роста и/или другими факторами окружающей

среды, хотя в настоящее время не ясно, какие модифицирующие факторы и ключевые эпигенетические маркеры наиболее актуальны для остеопороза. Решение этих вопросов затруднено по ряду причин, в том числе определение соответствующих эпигенетических маркеров и измерения клеточной и/или тканевой специфичности эпигенетических маркеров. Несмотря на эти проблемы, исследование эпигенетического контроля регуляции костного метаболизма может иметь практические последствия, например, некоторые деметилирующие агенты уже используются для лечения опухолевых заболеваний [Santos, 2010].

Совершенно иной методологический подход для идентификации новых мишеней остеопороза использовался Hayashi с сотрудниками [Hayashi et al., 2012]. Они предположили, что культивируемые остеобласты мыши выделяют белки в дополнение к остеопротегерину (мощный ингибитор остеокластов), которые регулируют метаболизм костей. Авторы фракционировали среды из культивированных остеобластов, полученных из остеопротегерин-дефицитных мышей, и идентифицировали белок Semaphorin-3A в полученных остеобластах, который ингибирует образование остеокластов. Важно отметить, что этот белок не только подавляет резорбцию кости остеокластами, но и увеличивает образование остеобластов костной ткани. У Semaphorin-3A-дефицитных мышей была идентифицирована остеопения, а внутривенное введение Semaphorin-3A предотвратило индуцированную овариэктомией потерю костной массы.

Semaphorin-3A снижает костную резорбцию и повышает остеогенез через различные сигнальные пути. Ингибирующее действие на резорбцию кости было опосредовано через связывание Semaphorin-3A с Neuropilin-1, который мешал RANKL-индуцированной дифференциации остеокластов путем ингибирования immunoreceptor tyrosine-based activation motif (мотива тирозин-основанной активации иммунорецептора) и RhoA сигнальных путей. Напротив, стимулирующий эффект Semaphorin-3A на формирование костной ткани был достигнут при посредничестве канонического Wnt / β -катенина сигнального пути. Текущие методы лечения остеопороза не в состоянии разъединить костную резорбцию и формирование кости. Антирезорбтивное лечение ингибирует резорбцию костей и, в то же время, хотя и в меньшей степени, также ингибирует образование костной ткани, в то время как анаболическое лечение увеличивает образование костной ткани и, хотя и в меньшей степени, усиливает костную резорбцию [Hayashi, 2012; Zaidi and Iqbal, 2012]. Таким образом, механизм действия Semaphorin-3A очень необычен, т.к. разъединяет два компонента костной ткани, что может быть использовано для терапевтического использования и может привести к новому классу двойного действия терапевтических агентов для остеопороза.

Подходы глубокого ресеквенирования предоставляют возможность тестировать ассоциации со всеми вариантами последовательности ДНК (частыми и редкими вариантами, а также структурными вариантами), которые, в некоторой степени, более подробные, чем текущие GWAS исследования [Li Y., 2010]. Глубокий анализ целевых регионов генома у лиц с экстремальными фенотипами может быть наиболее перспективной стратегией для доступа к редким генетическим вариантам, и такой подход имеет большой потенциал для обнаружения значимых структурных вариантов, отсутствующих на чипах, применяемых в GWAS исследованиях. Сейчас активно начинает применяться тестирование ассоциаций между редкими, структурными вариантами и скелетными фенотипами. Исследователи, участвующие в близнецовых исследованиях «Framingham» (Великобритания), многоцентровом исследовании остеопороза в Канаде, исследовании сердца «Cardiovascular Heart Study», женского здоровья «Women's Health Study» и «Rotterdam Study» (Нидерланды) начали активно использовать методы секвенирования генома следующего поколения и полноэкзомное секвенирование с целью поиска локусов, не выявленных в предыдущих GWAS исследованиях [Hsu and Kiel, 2012]. Первые результаты этих усилий должны быть получены в ближайшем будущем.

С развитием технологий для массивного параллельного генотипирования ОНП, расширяется емкость коммерческих чипов, что позволяет повысить мощность GWAS «следующего поколения» до 5 миллионов ОНП в ДНК-чипах от Affymetrix и Illumina [Hoffmann, 2011]. Кроме того, недавнее появление экзомных чипов (ExOME) также позволит выявить как частые, так и раритетные функциональные варианты в экзонах. Эти чипы намного более доступны, чем секвенирование следующего поколения целой экзомной последовательности, и такие исследования осуществляются в настоящее время в десятках научных центров по всему миру, изучающих скелетные фенотипы.

Для большинства многофакторных заболеваний с гетерогенной патофизиологией не может быть точно определен только один фенотип. Часто схожие эндофенотипы заболевания могут быть ассоциированы с теми же наборами генов [Goh, 2007]. Одновременное тестирование эндофенотипов заболевания является мощным подходом для идентификации генов предрасположенности и выявления плеiotропных эффектов генов, непосредственно влияющих на несколько черт. Изучая многочисленные скелетные эндофенотипы, включая МПКТ бедра, позвоночника, пятки и геометрических тазобедренных показателей, в исследовании остеопороза «Framingham» был сделан вывод, что большинство сходств между количественными фенотипами костей могут быть связаны с плеiotропными эффектами генов [Karasik, 2010].

Другой подход к поиску плеiotропии заключается в привлечении результатов крупных GWAS консорциумов и исследование перекрывающихся высокозначимых ОНП между двумя фенотипами. Несколько генов, ассоциированных с уровнем МПКТ позвоночника и шейки бедра, также были ассоциированы и с другими «нескелетными» фенотипами, такими как камни в почках (ген *CLDN14*) [Thorleifsson, 2009], уровень глюкозы натощак (ген *ITGA1*) [Billings, 2012], язвенный колит (ген *Wnt4-ZBTB40*) [Anderson, 2011], болезнь Крона (ген *TNFSF11*) [Franke, 2010], рост человека (гены *MEF2C* и *FUBP3*) [Lango, 2010] и рак молочной железы (*C6orf97-ESR1*) [Zheng, 2009]. Эти наблюдения позволяют предположить, что плеiotропные генетические эффекты могут существовать между МПКТ и другими фенотипами, которые традиционно не рассматриваются вместе с костными фенотипами.

Для использования результатов GWAS исследований разработан подход многомерной ассоциации генома (эмпирические, взвешенные в сочетании с линейной статистикой испытаний) для моделирования нескольких фенотипов одновременно по всему геному [Hsu and Chen, 2011]. Преимущество использования этого подхода заключается в том, что необходимы только общие статистические данные испытаний GWAS анализов, а не данные индивидуального уровня, и данный подход не зависит от отдельных лиц, потерявших один из нескольких фенотипов. Этот метод был применен в больших мета-анализах GWAS исследований для изучения потенциальных плеiotропных эффектов при формировании уровня МПКТ и репродуктивного здоровья (например, возраст наступления менархе и менопаузы), МПКТ и мышечной массы тела [Hsu, 2011].

Заключение

Таким образом, в последние годы в области изучения генетики многофакторных заболеваний в целом и остеопороза, в частности, наблюдается существенный прогресс. В отличие от наследственных заболеваний, вызванных мутациями в одном гене, развитию сложных заболеваний способствует множество генов и факторов окружающей среды. Выявление соответствующих генов, связанных со сложными заболеваниями, было затруднено, отчасти потому, что каждый причинный ген дает только малый вклад в общую наследуемость [Altshuler, 2008]. На сегодняшний день GWAS исследования выявили более 60 локусов, ассоциированных со скелетными фенотипами, и предоставили ценную информацию о генетической архитектуре скелета. С применением независимого подхода GWAS и в дальнейшем ожидается выявление большего количества генов, участвующих в регуляции метаболизма костной ткани по сравнению с традиционными исследованиями генов-кандидатов. Кроме того, высокая разрешающая способность SNP (ОНП) картирования обеспечивает большую

мощность, чем при использовании исследования сцепления для выявления вариантов подверженности к болезни с низкой пенетрантностью. Исследования GWAS выявили ключевые биологические пути, которые влияют на вариабельность МПКТ, особенно Wnt сигнализация, развитие костей (окостенение), дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток, дифференциацию остеокластов и передачу сигналов TGF. Более половины локусов, ассоциированных с вариабельностью МПКТ, выявленных при GWAS исследованиях, не имеют известной биологической функции, связанной со здоровьем костной системы. Это новые локусы, которые вместе объясняют примерно 5,8% от вариабельности уровня МПКТ. Чтобы собрать достаточные объемы выборки, GWAS исследования способствовали росту международного сотрудничества, ранее не имевшего прецедента в биологической науке. С ростом сотрудничества и прогресса технологий секвенирования/генотипирования, вполне вероятно, что будут изучены более разнообразные популяции и будет обнаружено больше локусов. Наиболее перспективные результаты GWAS исследований требуют идентификации функциональных вариантов, секвенирования целевых регионов и, в конечном счете, всего генома.

Оценка индивидуального риска переломов в настоящее время базируется на обычных клинических факторах, однако, выявлено несколько частых генетических вариантов, ассоциированных с переломами [Nguyen, 2007; 2008]. Эти генетические варианты, вместе с установленными клиническими факторами, могли бы стать полезным индексом риска переломов человека. Тем не менее, неполная точность прогноза, вероятно, связанная с неполным охватом соответствующих вариантов, и непринятие во внимание потенциального ген-генного и взаимодействий генотипа и среды, по-прежнему остается серьезной проблемой [Zuk, 2012]. С быстрым развитием технологии секвенирования ДНК, вероятно, будет идентифицировано больше вариантов с низкой частотой, но с большим размером эффекта. Достижения в области моделирования будут совершенствовать генетическое профилирование и позволит лучше оценить риск переломов и индивидуализировать профилактику перелома. Ожидается, что в ближайшие годы системная генетика обеспечит гораздо более четкое представление о характере и составе генетической архитектуры остеопороза [Farber, 2012].

Новые подходы к изучению молекулярных основ предрасположенности к переломам и формированию уровня МПКТ приведут к новым открытиям метаболических или сигнальных путей, которые окажутся мишенями для новых лекарственных препаратов.

Список литературы

1. 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing // *Nature*. – 2010. – V. 467. – P.1061–1073.
2. Albagha O.M., Wani S.E., Visconti M.R., et al. Genome-wide association identifies three new susceptibility loci for Paget's disease of bone // *Nat Genet*. – 2011. – V. 43. – P. 685–689.
3. Altshuler D., Daly M.J., Lander E.S. Genetic mapping in human disease // *Science*. – 2008. – V. 322. – P. 881–888.
4. Altshuler D.M., Gibbs R.A., Peltonen L., et al. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations // *Nature*. – 2010. – V. 467. – P. 52–58.
5. Anderson C.A., Boucher G., Lees C.W., et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47 // *Nat Genet*. – 2011. – V. 43. – P. 246–252.
6. Andrew T., Antoniadou L., Scragg K.J., et al. Risk of wrist fracture in women is heritable and is influenced by genes that are largely independent of those influencing BMD // *J Bone Miner Res*. – 2005. – V. 20. – P. 67–74.
7. Anonymous: Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis // *The American Journal of Medicine*. – 1993. – V. 94. – P. 646–650.
8. Bacon C.J., Bolland M.J., Ames R.W., et al. Prevalent dietary supplement use in older New Zealand men // *N. Z. Med. J.* – 2011. – V. 124. – P. 55–62.
9. Billings L., Hsu Y.H., Ackerman R., et al. Leveraging genome-wide association data to detect genetic pleiotropy at loci associated with glycemic and skeletal phenotypes // *Diabetes*. – 2012. – V. 61. P. 2176–2186.
10. Bliuc D., Nguyen N.D., Milch V.E., et al. Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women // *JAMA*. – 2009. – V. 301. – P. 513–521.
11. Campbell H. & Rudan I. Interpretation of genetic association studies in complex disease // *Pharmacogenomics J*. – 2002. – V. 2. – P. 349–360.
12. Center J.R., Bliuc D., Nguyen T.V. & Eisman J.A. Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women // *JAMA*. – 2007. V. 297. – P. 387–394.
13. Center J.R., Nguyen T.V., Sambrook P.N. & Eisman J.A. Hormonal and biochemical parameters in the determination of osteoporosis in elderly men // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. – 1999. – V. 84. P. 3626–3635.
14. Chew S., Mullin B.H., Lewis J.R., et al. Homozygous deletion of the UGT2B17 gene is not associated with osteoporosis risk in elderly Caucasian women // *Osteoporos Int*. – 2011. – V. 22. – P. 1981–1986.

15. Cho I., Yamanishi S., Cox L., et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity // *Nature*. - 2012. - V. 488. - P. 621–626.
16. Cho Y.S., Go M.J., Kim Y.J., et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits // *Nat Genet*. - 2009. - V. 41. - P. 527–534.
17. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology // *Clin J Am Soc Nephrol*. - 2008. - V. 3. - Suppl 3. - S131–S139.
18. Cook N.R. Statistical evaluation of prognostic versus diagnostic models: beyond the ROC curve // *Clin. Chem*. - 2008. - V. 54. P. 17–23.
19. Delgado-Calle J., Garmilla P., Riancho JA. Do epigenetic marks govern bone mass and homeostasis? // *Curr Genomics*. - 2012a. - V. 13. - P. 252–263.
20. Delgado-Calle J., Sañudo C., Fernández A.F., et al. Role of DNA methylation in the regulation of the RANKL-OPG system in human bone // *Epigenetics*. - 2012b. - V. 7. - P. 83–91.
21. Deng F.Y., Zhao L.J., Pei Y.F., et al. Genome-wide copy number variation association study suggested VPS13B gene for osteoporosis in Caucasians // *Osteoporos Int*. - 2010. - V. 21. P. 579–587.
22. Der Simonian R., Laird N. Meta-analysis in clinical trials // *Control Clin Trials*. - 1986. - V. 7. - P. 177–188.
23. Dickson S.P., Wang K., Krantz I., et al. Rare variants create synthetic genome-wide associations // *PLoS Biol*. - 2010. - V. 8:e1000294.
24. Duncan E.L., Danoy P., Kemp J.P., et al. Genome-wide association study using extreme truncate selection identifies novel genes affecting bone mineral density and fracture risk // *PLoS Genet*. - 2011. - V. 7. - e1001372.
25. Estrada K., Styrkarsdottir U., Evangelou E., et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture // *Nat Genet*. 2012. V. 44. P. 491–501.
26. Evans R.A., Marel G.M., Lancaster E.K. et al. Bone mass is low in relatives of osteoporotic patients // *Ann. Intern. Med*. - 1988. - V. 109. - P. 870–873.
27. Farber Charles R. Systems Genetics: A Novel Approach to Dissect the Genetic Basis of Osteoporosis // *Curr Osteoporos Rep*. - 2012. - V. 10(3). P. 228–235.
28. Franke A., McGovern D.P., Barrett J.C., et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci // *Nat Genet*. - 2010. - V. 42. - P.1118–1125.
29. Gass M., Dawson-Hughes B.. Preventing osteoporosis-related fractures: an overview // *Am J Med*. - 2006. - V. 119. - S3–S11.
30. Goh K.I., Cusick M.E., Valle D., et al. The human disease network // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2007. - V. 104. P. 8685–8690.
31. Gong Y., Slee R.B., Fukai N., et al; Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development // *Cell*. - 2001. - V. 107. - P. 513–523.
32. Guo Y., Tan L.J., Lei S.F., et al. 2010. Genome-wide association study identifies ALDH7A1 as a novel susceptibility gene for osteoporosis // *PLoS Genet*. - V. 6. - e1000806.
33. Haentjens P., Magaziner J., Colon-Emeric C.S., et al. Meta-analysis: excess mortality after hip fracture among older women and men // *Ann Intern Med*. - 2010. V. 152. - P. 380–390.
34. Hallberg I., Rosenqvist A.M., Kartous L., et al. Health-related quality of life after osteoporotic fractures // *Osteoporos Int*. - 2004. - V.15. - P. 834–841.
35. Hayashi M., Nakashima T., Taniguchi M., et al. Osteoprotection by semaphorin 3A // *Nature*. - 2012. - V. 485. - P. 69–74.
36. Heinzen E.L., Radtke R.A., Urban T.J., et al. Rare deletions at 16p13.11 predispose to a diverse spectrum of sporadic epilepsy syndromes // *Am J Hum Genet*. - 2010. - V. 86. P. 707–718.
37. Higgins J.P., Thompson S.G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis // *Stat Med*. - 2002. - V. 21. P. 1539–1558.
38. Hirschhorn J.N., Daly M.J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits // *Nat Rev Genet*. - 2005. - V. 6. - P. 95–108.
39. Hoffmann T.J., Kvale M.N., Hesselson S.E., et al. Next generation genome-wide association tool: design and coverage of a high-throughput European-optimized SNP array // *Genomics*. 2011. V. 98. P. 79–89.
40. Hopkins R.B., Goeree R., Pullenayegum E., et al. The relative efficacy of nine osteoporosis medications for reducing the rate of fractures in post-menopausal women // *BMC Musculoskelet Disord*. - 2011. - V. 12. P. 209.
41. Howard G.M., Nguyen T.V., Harris M., et al. Genetic and environmental contributions to the association between quantitative ultrasound and bone mineral density measurements: a twin study // *J. Bone Miner. Res*. - 1998. - V. 13. - P. 1318–1327.
42. Hsu Y., Beck T.J., Brown S.J., et al. Meta-analysis of genome-wide association study (GWAS) identifies several genes for hip bone geometry in Caucasians: the Genetic Factors for Osteoporosis (GEFOS) Consortium // *J Bone Miner Res*. - 2010. - V. 25 (Suppl 1):S448.
43. Hsu Y.H., Chen X., Zillikens C., et al. Multi-phenotype genome-wide association meta-analysis on both lean body mass and BMD identified novel pleiotropic genes that affected skeletal muscle and bone metabolism in European descent Caucasian populations // *J Bone Miner Res*. 2011. V. 26: (Suppl 1):S56.
44. Hsu Y.H., Kiel D.P. Clinical review: Genome-wide association studies of skeletal phenotypes: what we have learned and where we are headed. //

- Clin Endocrinol Metab. – 2012. V. 97. - E1958-77.
45. Huang, Q. Y., Recker, R. R. & Deng, H. W. Searching for osteoporosis genes in the post-genome era: progress and challenges // Osteoporos. Int. - 2003– V. 14. P. 701–715.
 46. Hui S.L., Koller D.L., Foroud T.M., et al. Heritability of changes in bone size and bone mass with age in premenopausal white sisters // J Bone Miner Res. - 2006. V. 21. – P. 1121–1125.
 47. Ji W., Foo J.N., O’Roak B.J., et al. Rare independent mutations in renal salt handling genes contribute to blood pressure variation // Nat Genet. - 2008. – V. 40. - P. 592–599.
 48. Kanis, J. A., Johansson H., Oden A., et al. A family history of fracture and fracture risk: a meta-analysis // Bone. – 2004. – V. 35. P. 1029–1037.
 49. Kanis, J. A., Johnell, O., Oden, A., Johansson, H. & McCloskey, E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK // Osteoporos. Int. -2008. V. 19. P. 385–397.
 50. Karasik D., Hsu Y.H., Zhou Y., et al. Genome-wide pleiotropy of osteoporosis-related phenotypes: the Framingham Study // J Bone Miner Res. - 2010. – V. 25. P. 1555–1563.
 51. Kiel D.P., Demissie S., Dupuis J., et al. Genome-wide association with bone mass and geometry in the Framingham Heart Study // BMC Med Genet. – 2007. – V. 8 (Suppl 1):S14.
 52. Koller D.L., Ichikawa S., Lai D., et al. Genome-wide association study of bone mineral density in premenopausal European-American women and replication in African-American women // J Clin Endocrinol Meta b. - 2010. – V. 95. – P. 1802–1809.
 53. Kou I., Takahashi A., Urano T., et al. Common variants in a novel gene, FONG on chromosome 2q33.1 confer risk of osteoporosis in Japanese // PLoS One. - 2011. - 6:e19641.
 54. Kryukov GV, Shpunt A, Stamatoyannopoulos JA, Sunyaev SR. 2009. Power of deep, all-exon resequencing for discovery of human trait genes // PNAS USA. - V. 106. - P. 3871–3876.
 55. Kung A.W.C., Xiao S-M., Cherny S., et al. Association of JAG1 with bone mineral density and osteoporotic fractures: a genome-wide association study and follow-up replication studies // American Journal of Human Genetics. – 2010. – V. 86. – P. 229–239.
 56. Lango Allen H., Estrada K., Lettre G., et al. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height // Nature. - 2010. – V. 467. - P. 832–838.
 57. Li Y., Willer C.J., Ding J., et al. MaCH: using sequence and genotype data to estimate haplotypes and unobserved genotypes // Genet Epidemiol. - 2010. – V. 34. - P. 816–834.
 58. Liu C.T., Estrada K., Yerges-Armstrong L.M., et al. Assessment of gene-by-sex interaction effect on bone mineral density // J Bone Miner Res. - 2012. – V. 27. – P. 2051–64.
 59. Liu S.L., Lei S.F., Yang F., et al. Copy number variation in CNP267 region may be associated with hip bone size // PLoS One. - 2011. - 6:e22035.
 60. Liu Y.Z., Wilson S.G., Wang L., et al. Identification of PLCL1 gene for hip bone size variation in females in a genome-wide association study // PLoS One. - 2008. - 3:e3160.
 61. Lui J.C., Nilsson O., Chan Y., et al. Synthesizing genome-wide association studies and expression microarray reveals novel genes that act in the human growth plate to modulate height // Hum Mol Genet. – 2012. V. 21. P. 5193–5201.
 62. Lyles K.W., Colon-Emeric C.S., Magaziner J.S., et al; HORIZON Recurrent Fracture Trial. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture // N Engl J Med. – 2007. V. 357. P. 1799–1809.
 63. MacArthur D.G., Balasubramanian S., Frankish A., et al. A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes // Science. - 2012. – V. 335. – P. 823–828.
 64. Makovey J., Nguyen T.V., Naganathan V., et al. Genetic effects on bone loss in peri- and postmenopausal women: a longitudinal twin study // J Bone Miner Res. – 2007. – V. 22. – P. 1773–1780.
 65. Marchini J, Donnelly P, Cardon LR. Genome-wide strategies for detecting multiple loci that influence complex diseases // Nat Genet. - 2005. – V. 37. – P. 413–417.
 66. McCloskey E. et al. Efficacy of clodronate on fracture risk in women selected by 10-year fracture probability // J. Bone Miner. Res. – 2007. - V. 22 (Suppl. 1). - S131.
 67. Michaëlsson K, Melhus H, Ferm H, Ahlbom A, Pedersen NL. Genetic liability to fractures in the elderly // Arch Intern Med. – 2005. - V.165. - P. 1825–1830.
 68. Mileyko Y., Joh R.I., Weitz J.S. Small-scale copy number variation and large-scale changes in gene expression // PNAS USA. - 2008. – V. 105. - P. 16659–16664.
 69. Mitchell B.D., Yerges-Armstrong L.M. The genetics of bone loss: challenges and prospects // J Clin Endocrinol Metab. – 2011. – V. 96. - P. 1258–1268.
 70. Nadeau J., Dudley A.M. Genetics // Systems genetics Science. – 2011. - V. 331. - P. 1015–1016.
 71. Nakaoka H., Inoue I. Meta-analysis of genetic association studies: methodologies, between-study heterogeneity and winner’s curse // J Hum Genet. - 2009. – V. 54. - P. 615–623.
 72. Nguyen N.D., Eisman J.A., Center J.R., Nguyen T.V. Risk factors for fracture in nonosteoporotic men and women // J Clin Endocrinol Metab. – 2007. - V. 92. – P. 955–962.
 73. Nguyen N.D., Frost S.A., Center J.R., et al. Development of prognostic nomograms for individualizing 5-year and 10-year fracture risks // Osteoporos Int. -2008. – V. 19. P. 1431–1444.

74. Nguyen N.D., Pongchaiyakul C., Center J.R., et al. Identification of high-risk individuals for hip fracture: a 14-year prospective study // *J. Bone Miner. Res.* - 2005. - V. 20. - P. 1921–1928.
75. Nguyen T.V., Eisman J.A.. Genetic profiling and individualized assessment of fracture risk. // *Nat Rev Endocrinol.* - 2013. - V. 9. - P.153-161.
76. O’Roak B.J., Deriziotis P., Lee C., et al. Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations // *Nat Genet.* - 2011. - V. 43. - P. 585–589.
77. Paternoster L., Lorentzon M., Vandenput L., et al. Genome-wide association meta-analysis of cortical bone mineral density unravels allelic heterogeneity at the RANKL locus and potential pleiotropic effects on bone // *PLoS Genet.* - 2010. - 6:e1001217.
78. Peacock M., Turner C.H., Econs M.J., et al. Genetics of osteoporosis // *Endocrine Reviews.* - 2002. - V. 23. P. 303–326.
79. Pe’er I., de Bakker P.I., Maller J., et al. Evaluating and improving power in whole-genome association studies using fixed marker sets // *Nat Genet.* - 2006. - V. 38. - P. 663–667.
80. Pencina M.J., D’Agostino R.B. Sr D’Agostino R.B. Jr & Vasan R.S. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond // *Stat. Med.* - 2008. - V. 27. - P. 157–172.
81. Pepe M.S., Gu J.W. & Morris D.E. The potential of genes and other markers to inform about risk // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* - 2010. - V. 19. - P. 655–665.
82. Pocock N.A., Eisman J.A., Hopper J.L., et al. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study // *J. Clin. Invest.* - 1987. - V. 80. - P. 706–710.
83. Pongchaiyakul C., Nguyen N.D., Jones G., et al. Asymptomatic vertebral deformity as a major risk factor for subsequent fractures and mortality: a long-term prospective study // *J Bone Miner Res.* - 2005. - V. 20. - P. 1349–1355.
84. Ragoussis J. Genotyping technologies for genetic research // *Annu Rev Genomics Hum Genet.* - 2009. - V. 10. - P. 117–133.
85. Ralston, S. H. & Uitterlinden, A. G. Genetics of osteoporosis // *Endocr. Rev.* -2010. V.31. P. 629–662.
86. Rannala B., Reeve J.P. High-resolution multipoint linkage-disequilibrium mapping in the context of a human genome sequence // *Am J Hum Genet.* - 2001. - V. 69. - P. 159–178.
87. Redon R., Ishikawa S., Fitch K.R., et al. Global variation in copy number in the human genome // *Nature.* - 2006. - V. 444. - P. 444–454.
88. Reginster J-Y., Burlet N. Osteoporosis: a still increasing prevalence // *Bone.* -2006. V. 38. S4–9.
89. Reich D.E., Cargill M., Bolk S., et al. Linkage disequilibrium in the human genome // *Nature.* - 2001. - V. 411. - P. 199–204.
90. Richards J.B., Rivadeneira F., Inouye M., et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study // *Lancet.* - 2008. - V. 371. - P. 1505–1512.
91. Richards J.B., Zheng H.F., Spector T.D. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges // *Nat Rev Genet.* - 2012. - V. 13. - P. 576–588.
92. Rivadeneira F., Styrkarsdottir U., Estrada K., et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies // *Nat Genet.* - 2009. - V. 41. P. 1199–1206.
93. Romeo S., Pennacchio L.A., Fu Y., et al. Population-based resequencing of ANGPTL4 uncovers variations that reduce triglycerides and increase HDL // *Nat Genet.* - 2007. - V. 39. P. 513–516.
94. Rose G. Sick individuals and sick populations // *Int. J. Epidemiol.* - 1985. - V. 14. P. 427–432.
95. Santos F.P., Kantarjian H., Garcia-Manero G., et al. Decitabine in the treatment of myelodysplastic syndromes // *Expert Rev Anticancer Ther.* - 2010. - V. 10. - P. 9–22.
96. Seeman E., Hopper J.L., Bach L.A., et al. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis // *N Engl J Med.* - 1989. - V. 320. - P. 554–558.
97. Shaffer J.R., Kammerer C.M., Dressen A.S., et al. Rate of bone loss is greater in young Mexican American men than women: the San Antonio Family Osteoporosis study // *Bone.* 2010. V. 47. P. 49–54.
98. Shortt N.L. & Robinson C.M. Mortality after low-energy fractures in patients aged at least 45 years old // *J. Orthop. Trauma.* - 2005. - V. 19. - P. 396–400.
99. Sjogren, K., Engdahl C., Henning P. et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice // *J. Bone Miner. Res.* - 2012. - V. 27. - P. 1357–1367.
100. Sterling RS. Gender and race/ethnicity differences in hip fracture incidence, morbidity, mortality, and function // *Clin Orthop Relat Res.* - 2011. V. 469. - P. 1913–1918.
101. Styrkarsdottir U., Halldorsson B.V., Gretarsdottir S., et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures // *N Engl J Med.* - 2008. - V. 358. P. 2355–2365.
102. Sudmant P.H., Kitzman J.O., Antonacci F., et al. Diversity of human copy number variation and multicopy genes // *Science.* - 2010. - V. 330. P. 641–646.
103. Tan L., Liu R., Lei S., et al. A genome-wide association analysis implicates SOX6 as a candidate gene for wrist bone mass // *Sci China Life Sci.* - 2010. - V. 53. P. 1065–1072.
104. Thorleifsson G., Holm H., Edvardsson V., et al. Sequence variants in the CLDN14 gene associate with kidney stones and bone mineral density // *Nat Genet.* - 2009. - V. 41. P. 926–930.
105. Timpson N.J., Tobias J.H., Richards J.B., et al. Common variants in the region around Osterix are associated with bone mineral density and growth in childhood // *Hum Mol Genet.* 2009. V. 18. P. 1510–1517.

106. Tokita, A., Engdahl C., Henning P., et al. Genetic influences on type I collagen synthesis and degradation: further evidence for genetic regulation of bone turnover // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1994. – V. 78. – P. 1461–1466.
107. Tosteson A.N., Gottlieb D.J., Radley D.C., et al. Excess mortality following hip fracture: the role of underlying health status // *Osteoporos Int.* – 2007. – V. 18. – P. 1463–1472.
108. Tran B.N., Nguyen N.D., Center J.R., et al. Enhancement of absolute fracture risk prognosis with genetic marker: the collagen 1 alpha 1 gene // *Calcif Tissue Int.* – 2009. – V. 85. – P. 379–388.
109. Tran B.N., Nguyen N.D., Nguyen V.X., et al. Genetic profiling and individualized prognosis of fracture // *J Bone Miner Res.* – 2011. – V. 26. – P. 414–419.
110. United States Bone and Joint Initiative. The burden of musculoskeletal diseases in the United States. – 2011. – Available from: <http://www.boneandjointburden.org/>. Accessed September 4, 2013.
111. Wainwright S.A., Marshall L.M., Ensrud K.E., et al; Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Hip fracture in women without osteoporosis // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2005. – V. 90. P. 2787–2793.
112. Wang Y., Li Y.P., Paulson C., et al. Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease // *Front Biosci.* – 2014. – V. 19. – P. 379–407.
113. Wray N.R., Yang, J., Goddard, M. E. & Visscher, P. M. The genetic interpretation of area under the ROC curve in genomic profiling // *PLoS Genet.* – 2010. – V. 6. – e1000864.
114. Xiong D.H., Liu X.G., Guo Y.F., et al. Genome-wide association and follow-up replication studies identified ADAMTS18 and TGFBR3 as bone mass candidate genes in different ethnic groups // *Am J Hum Genet.* – 2009. – V. 84. – P. 388–398.
115. Yang T.L., Chen X.D., Guo Y., et al. Genome-wide copy-number-variation study identified a susceptibility gene, UGT2B17, for osteoporosis // *Am J Hum Genet.* – 2008. – V. 83. – P. 663–674.
116. Zaidi, M. & Iqbal, J. Translational medicine: Double protection for weakened bones // *Nature.* – 2012. – 485. – P. 47–48.
117. Zhang L., Choi H.J., Estrada K., et al. Multistage genome-wide association meta-analyses identified two new loci for bone mineral density // *Hum Mol Genet.* – 2014. – V. 23(7). – P.1923–33.
118. Zhao L.J., Liu X.G., Liu Y.Z., et al. Genome-wide association study for femoral neck bone geometry // *J Bone Miner Res.* – 2010. – V. 25. – P. 320–329.
119. Zheng H.F., Spector T.D., Richards J.B. Insights into the genetics of osteoporosis from recent genome-wide association studies // *Expert Rev Mol Med.* – 2011. – V. 13. – e28.
120. Zheng W., Long J., Gao Y.T., et al. Genome-wide association study identifies a new breast cancer susceptibility locus at 6q25.1 // *Nat Genet.* – 2009. – V. 41. –P. 324–328.
121. Zuk O., Hechter E., Sunyaev S.R., Lander E.S. The mystery of missing heritability: genetic interactions create phantom heritability // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2012. – V. 109. – P. 1193–1198.

GENETICS OF OSTEOPOROSIS

Khusainova R.I., Khusnutdinova E.K.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences
Russia, Republic of Bashkortostan, 450054, Ufa, Pr. Octyabrya, 71
tel. / fax: (347) 235-60-88, e-mail: ritakh@mail.ru

Summary

This review reflects the achievements in the field of genetics of osteoporosis, as well as modern approaches and directions for further research of the disease. Osteoporosis occupies a prominent place among the diseases with high mortality and causes more than 8.9 million annual fractures worldwide, and is characterized by low bone mineral density (BMD) and microarchitectural bone disorders. The prevalence of osteoporosis varies widely, reaching 5-10 fold differences between geographical regions, which is probably due to the hereditary nature of the magnitude of the skeleton and regional peculiarities of diet and physical activity, as well as features of the genetic structure of populations. The study of genetics of osteoporosis began a new era of discovery with the beginning of genome-wide association studies (GWAS) of hundreds of thousands single nucleotide polymorphisms (SNPs) with BMD level and osteoporotic fractures, identified new loci associated with osteoporosis, which were not detected in previous studies of candidate genes.

Keywords: osteoporosis, bone mineral density, fractures, genome-wide association studies