

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-335

ОСТЕОПОРОЗ: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ И АДРЕНАЛИН-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ОСТЕОГЕНЕЗА

OSTEOPOROSIS: GENETIC PREDISPOSITION AND EPINEPHRINE-DEPENDENT MECHANISMS OF IMPAIRED OSTEOGENESIS

О. А. Краснова, П. И. Семенова, Ю. В. Сопова, И. Э. Неганова

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

O.A. Krasnova, P.I. Semenova, J.V. Sopova, I.E. Neganova

Institute of Cytology RAS, Saint Petersburg

✉ o.krasnova@incras.ru

Аннотация

Настоящее исследование выявило генотип-зависимое влияние адреналина на остеогенную дифференцировку мезенхимных стволовых клеток (МСК), специфичных для пациентов. В клетках с аллелью A/A полиморфизма rs1042713 гена *ADRB2* было выявлено значительное снижение минерализации при добавлении адреналина в остеоиндуциционную среду, тогда как у клеток с G/G-генотипом наблюдалось минимальное подавление дифференцировки в тех же условиях.

Abstract

The present study revealed a genotype-dependent effect of epinephrine on the osteogenic differentiation of osteoporotic patient-derived mesenchymal stem cells (MSCs). MSCs carrying the A/A allele of the rs1042713 polymorphism in the *ADRB2* gene, showed a significant two-fold reduction in Alizarin Red staining, whereas the G/G genotype demonstrated minimal negative impact on osteogenic differentiation.

Остеопороз — тяжелое метаболическое заболевание костной ткани (КТ), характеризующееся снижением ее минеральной плотности, нарушением микроархитектоники КТ и повышенным риском низкоэнергетических переломов. Ввиду бессимптомного течения на ранних стадиях заболевание часто диагностируется только после первого перелома, что значительно ограничивает эффективность терапии. Особую актуальность эта проблема приобретает у пациентов с коморбидными патологиями, включая эндокринные и сердечно-сосудистые нарушения, которые могут усугублять течение остеопороза [1].

В связи с этим особое значение приобретает поиск надежных прогностических маркеров, позволяющих выявлять лиц с повышенным риском развития остеопороза до манифестации клинических проявлений. Одним из перспективных направлений является исследование генетических факторов, в частности однокардионуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах, регулирующих гомеостаз костной ткани.

Особый интерес представляет полиморфизм rs1042713 (Gly16Arg) в гене $\beta 2$ -адренорецептора (*ADRB2*), который может влиять на процессы остеогенеза. Данный SNP является функциональным и приводит к изменению внутриклеточного ответа в зависимости от аллельного варианта [2]. Предполагается, что его роль может быть особенно значимой у пациентов с состояниями, сопровождающимися гиперадреналецией. Однако существующие данные об ассоциации этого полиморфизма с риском остеопороза остаются противоречивыми, что требует дальнейших исследований с применением пациент-специфичных клеточных линий, в том числе в условиях активации рецептора его естественным агонистом — адреналином.

Цель исследования — изучить влияние полиморфизма rs1042713 (Gly16Arg) гена *ADRB2* на остеогенную дифференцировку мезенхимных стволовых клеток от пациентов с остеопорозом в присутствии адреналина.

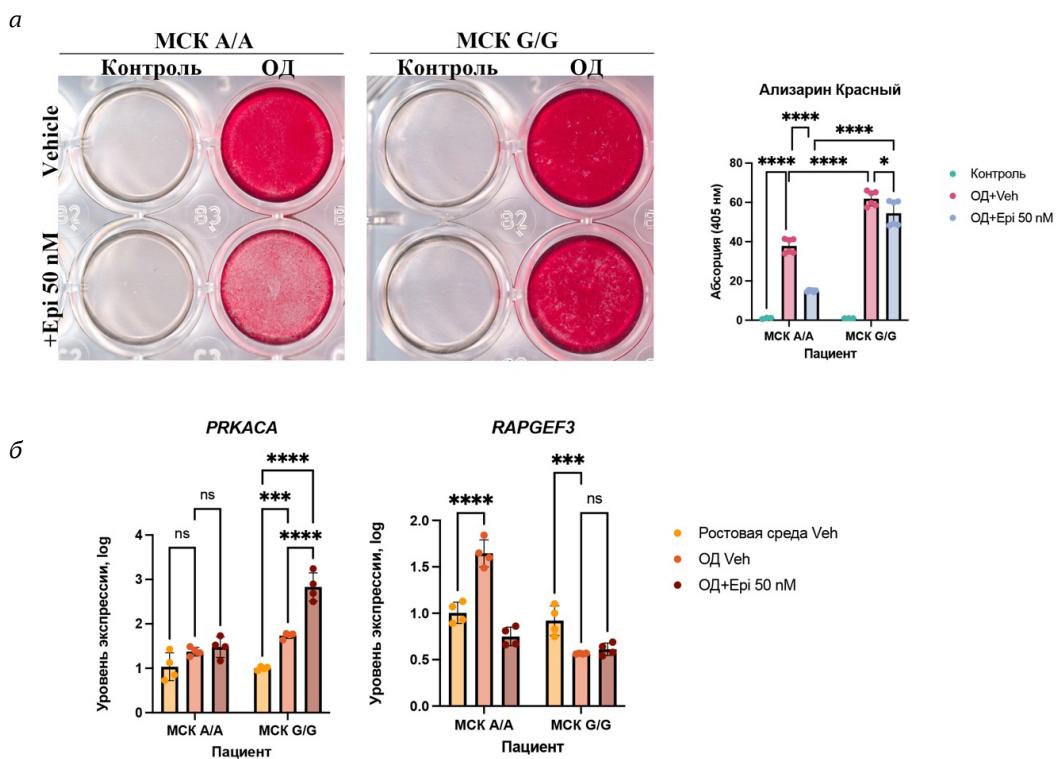
Материалы и методы

Были получены пациент-специфичные мезенхимные стволовые клетки (МСК) с аллельными вариантами A/A ($n = 3$) и G/G ($n = 3$) из костных биопсий пациентов, проходивших хирургическое лечение в НМИЦ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург. Эффективность остеогенной дифференцировки оценивали при культивировании клеток в остеоиндуциционной среде с добавлением 50 нМ адреналина, используя окрашивание ализариновым красным для качественного и количественного анализа минерализации матрикса. Дополнительно методом ПЦР в реальном времени анализировали экспрессию генов *PRKACA* (кодирует проте-

инкиназу А — ключевую мишень $\beta 2$ -адренорецептора) и *RAPGEF3* (кодирует белок EPAC1 — альтернативный сигнальный медиатор).

Результаты

Впервые показано, что степень негативного влияния адреналина на остеогенную дифференцировку зависит от генотипа по полиморфизму rs1042713. МСК с генотипом A/A демонстрировали более чем двукратное снижение минерализации при добавлении адреналина, в то время как в клетках G/G это снижение не превышало 10 % (см. рисунок, а). Анализ экспрессии генов выявил генотип-зависимые различия: в клетках G/G наблюдалось усиление экспрессии *PRKACA* (PKA) как при остеогенной дифференцировке, так и при добавлении адреналина, тогда как в клетках A/A уровень экспрессии этого гена оставался неизменным. Примечательно, что в клетках A/A при дифференцировке усиливалась экспрессия *RAPGEF3* (EPAC1) (см. рисунок, б).



Генотип-зависимые различия в ответе на адреналин: а — оценка способности минерализации синтезируемого матрикса с помощью окрашивания ализариновым красным; б — анализ экспрессии генов, вовлеченных в сигнальные пути $\beta 2$ -адренорецептора. Сокращения: ОД — остеогенная дифференцировка; Veh — vehicle, Epi — epinephrine (адреналин); * — $p > 0,05$, *** — $p > 0,001$, **** — $p > 0,0001$, ns — not significant, статистически незначимо

Таким образом, полученные результаты предполагают, что чувствительность МСК к действию адреналина генетически детерминирована: в клетках A/A при добавлении адреналина снижается эффективность остеогенной дифференцировки, тогда как клетки G/G сохраняют способность к дифференцировке.

Литература

- Liang B., Burley G., Lin S., Shi Y.-C. Osteoporosis pathogenesis and treatment // Cellular & Molecular Biology Letters. 2022. Vol. 27, No. 1. P. 72.
- Kondrashov A., Mohd Yusof N. A. N., Hasan A. et al. CRISPR/Cas9-mediated generation and analysis of N-terminus polymorphic models of β_2 -AR in isogenic hPSC-derived cardiomyocytes // Molecular Therapy Methods & Clinical Development. 2021. Vol. 20. P. 39–53.