

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Эпигенетическая регуляция ремоделирования костной ткани и ее роль в патогенезе первичного остеопороза

Б.И. Ялаев^{1, 2} , Р.И. Хусаинова^{1, 2, 3}

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия

 yalaev.bulat@yandex.ru

Аннотация. Раскрытие молекулярных механизмов развития первичного остеопороза имеет фундаментальное значение как с точки зрения понимания патогенеза заболеваний опорно-двигательного аппарата в целом, так и для выявления ключевых звеньев генетической и эпигенетической регуляции экспрессии генов ремоделирования костной ткани. Количество обнаруженных молекулярно-генетических маркеров остеопороза продолжает расти, однако существует очевидная необходимость описания их функциональных взаимодействий. Установлено, что такие взаимодействия сопряжены с контролем экспрессии ряда факторов транскрипции и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток по пути остеобластогенеза и адипогенеза, а моноцитарных предшественников – по пути остеокластогенеза. Кроме того, результаты эпигенетических исследований значительно расширили понимание роли посттрансляционных модификаций гистонов, ДНК-метилирования и РНК-интерференции как в молекулярном патогенезе первичного остеопороза, так и в регуляции развития костной ткани. Несмотря на это, знания не систематизированы и нуждаются в обобщении данных исследований роли эпигенетических модификаторов в развитии первичного остеопороза, и, что не менее важно, в описании влияния каждого известного эпигенетического механизма на отдельные молекулярные звенья процесса формирования и резорбции костной ткани в течение онтогенеза человека, в том числе у лиц пожилого возраста. Понимание того, какие молекулярно-генетические механизмы и регуляторные системы вовлечены в развитие данной нозологии, представляет потенциальный интерес для создания таргетной терапии, поскольку уже сейчас рассматривается вопрос о возможности применения микроРНК для узконаправленной регуляции генов. Кроме того, систематизация этих данных важна для изучения разницы массивов эпигенетических маркеров, в зависимости от расовой и этнической принадлежности. В представленной обзорной статье проанализированы соответствующие систематические обзоры и оригинальные статьи, собрана и классифицирована информация о современных достижениях в области изучения эпигенетических механизмов и их aberrаций при первичном остеопорозе, а также рассмотрены результаты исследований эпигенетических механизмов на отдельных функциональных звеньях ремоделирования костной ткани.
Ключевые слова: остеопороз; метилирование; микроРНК; ацетилирование.

Для цитирования: Ялаев Б.И., Хусаинова Р.И. Эпигенетическая регуляция ремоделирования костной ткани и ее роль в патогенезе первичного остеопороза. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):401-410. DOI 10.18699/VJGB-23-48

Epigenetic regulation of bone remodeling and its role in the pathogenesis of primary osteoporosis

B.I. Yalaev^{1, 2} , R.I. Khusainova^{1, 2, 3}

¹ Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

² Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia

 yalaev.bulat@yandex.ru

Abstract. Discovery of molecular mechanisms of primary osteoporosis development is fundamental to understand the pathogenesis of musculoskeletal diseases in general and for identifying key links in the genetic and epigenetic regulation of bone remodelling genes. The number of identified molecular genetic markers for osteoporosis is increasing but there is a need to describe their functional interactions. These interactions have been determined to be associated with the control of expression of a number of transcription factors and the differentiation of mesenchymal stem cells through the pathway of osteoblastogenesis or adipogenesis, and monocytic precursors through the pathway of osteoclastogenesis. The results of epigenetic studies have significantly increased the understanding of the role of post-translational modifications of histones, DNA methylation and RNA interference in the osteoporosis pathogenesis and in bone remodelling. However, the knowledge should be systematised and generalised accord-

ing to the results of research on the role of epigenetic modifiers in the development of osteoporosis, and the influence of each epigenetic mechanism on the individual links of bone remodelling during ontogenesis of humans in general, including the elderly, should be described. Understanding which mechanisms and systems are involved in the development of this nosology is of interest for the development of targeted therapies, as the possibility of using microRNAs to regulate genes is now being considered. Systematisation of these data is important to investigate the differences in epigenetic marker arrays by race and ethnicity. The review article analyses references to relevant reviews and original articles, classifies information on current advances in the study of epigenetic mechanisms in osteoporosis and reviews the results of studies of epigenetic mechanisms on individual links of bone remodelling. Key words: osteoporosis; methylation; microRNA; acetylation.

For citation: Yalaev B.I., Khusainova R.I. Epigenetic regulation of bone remodeling and its role in the pathogenesis of primary osteoporosis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(4): 401-410. DOI 10.18699/VJGB-23-48

Введение

Первичный остеопороз (ОП) – это возраст-ассоциированное заболевание многофакторной этиологии, в основе которого лежит нарушение баланса ремоделирования костной ткани, ведущее к снижению уровня минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и нарушению структуры микроархитектоники костей, что приводит к возникновению неправильной пространственной структуры губчатой и кортикальной кости (Yalaev et al., 2021). У лиц, предрасположенных к ОП, костная масса снижается до 26 %. Содержание минералов в позвоночнике у ~80 % женщин в возрасте 60–70 лет опускается ниже порогового значения, а в 85 лет – у более 90 % (Свешников, 2013). Согласно статистике, частота переломов у женщин составляет 33 %, у мужчин – 20 % (Marshall et al., 1996; Estrada et al., 2012; Li et al., 2020; Wiedl et al., 2020).

До недавнего времени ОП диагностировали только по вторичным признакам, например по низкому росту и болевому синдрому в костях (Lorentzon, Cummings, 2015). В 1940 г. американский эндокринолог Ф. Олбрайт, описывая постменопаузальный остеопороз, предположил, что он развивается вследствие дефицита эстрогена (Albright et al., 1940). На этой основе клиницистами была разработана устаревшая на сегодняшний день концепция двух форм ОП (одна из которых связана с дефицитом эстрогенов в менопаузе, а другая – с дефицитом кальция и старением скелета), характерных для обоих полов (Riggs et al., 1982).

По современным данным, ОП определяется как заболевание опорно-двигательного аппарата, ассоциированное не только с глубокими метаболическими изменениями в костях, но и с изменениями гомеостаза всего организма: нарушением обмена микроэлементов и эндокринной регуляции, а также сложным взаимодействием генетических и эндогенных факторов, а также факторов внешней среды, способствующих развитию сложного фенотипа заболевания (Foger-Samwald et al., 2020). Считается, что факторами риска ОП являются: женский пол, принадлежность к европеоидной или монголоидной расе (Thomas, 2007), раннее начало менопаузы, пожилой возраст, семейная отягощенность, недостаточная инсоляция, сопутствующие заболевания с нарушением всасывания микроэлементов костного матрикса, курение, алкоголизм, малоподвижный образ жизни, прием гормональных препаратов и ревматоидный артрит. Однако, несмотря на существование значимых и подтвержденных генетических маркеров ОП,

ДНК-тестирование не внедрено в практику диагностики, так как значимые популяционные различия в распределении частот рискованных маркеров не позволяют разработать универсальные тест-системы (de Souza, 2010; Bolland et al., 2011).

Первые многоцентровые молекулярно-генетические исследования, основанные на методе полногеномного поиска ассоциаций (GWAS), показали, что ОП связан с генами локальной и системной регуляции функции костных клеток. Основная доля рискованных маркеров, т. е. однонуклеотидных полиморфизмов, идентифицирована не в экзонах, а в интронах и промоторах регуляторных генов, генов факторов транскрипции, рецепторов (*ESR2*) и факторов роста (*FGF2*) (Rivadeneira et al., 2009; Estrada et al., 2012; Wood et al., 2015); некоторые маркеры обнаружены в последовательностях некодирующих РНК (нкРНК), в том числе микроРНК (Lei et al., 2011; Ялаев, Хусаинова, 2020). Значимый уровень ассоциаций с переломами выявлен среди генов системных и местных регуляторов (например, *RANKL* и *OPG*), трансмембранных рецепторов, а также генов WNT-сигналинга, ядерных транскрипционных факторов (*ZNF239* и др.) и ферментов, которые продуцируют или инактивируют локальные костные регуляторы (Raisz, 2005).

По результатам биоинформатических исследований был сделан вывод, согласно которому основные пути обогащения по функциональной принадлежности генов, связанных с модификациями гистонов и паттернами микроРНК, значительно ассоциированы с регуляцией факторов транскрипции *RUNX2*, *FGF2* и *SOX9*, а также связаны с регуляцией дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток (МСК) (Letarouilly et al., 2019). Таким образом, идентифицированы некоторые эпигенетические факторы патогенеза остеопороза, однако в настоящее время интереснее рассматривать молекулярный патогенез ОП с точки зрения отдельных функциональных звеньев в регуляции костного ремоделирования, в частности, каким образом эпигенетически регулируются сигнальные пути *RANK/RANKL/OPG*, WNT, фактор транскрипции *RUNX2* и др.

Роль ДНК-метилирования и микроРНК в регуляции системы *RANK/RANKL/OPG* при первичном остеопорозе

Для поддержания баланса ремоделирования костной ткани необходима контролируемая дифференцировка пред-

шественников остеобластов и остеокластов (моноядерных фагоцитов) (Soltanoff et al., 2009). Активность остеокластов в основном регулируется системой RANK/RANKL/OPG (рецептор-активатор ядерного фактора κ B/лиганд RANK/остеопротегерин). RANKL продуцируется остеобластами, и его связывание с RANK на поверхности остеокластов активирует экспрессию остеокластогенных генов (Tobeiha et al., 2020).

Ранее была показана роль полиморфизма генов данной системы в повышенном риске переломов и формировании низкого уровня МПКТ (Ялаев, Хусаинова, 2020). В последовательности гена *RANKL* выявлено два CpG-островка: один на восходящем потоке (upstream) с 18 CpG-сайтами, локализованный на расстоянии в 14415 пар нуклеотидов (п. н.) от сайта начала транскрипции основной изоформы TSS I, и один на нисходящем потоке с 59 CpG-сайтами, который начинается с 260 и заканчивается 615 нуклеотидом гена изоформы TSS I. В последовательности гена *OPG* обнаружен один остров размером 56 сайтов, охватывающих от -402 до +850 п. н. от сайта транскрипции изоформы TSS (Delgado-Calle et al., 2012). В работе (Wang et al., 2018) у группы пациентов из больницы Медицинского университета Гуанчжоу с остеопоротическими переломами уровень мРНК гена *RANKL* из клеток костной ткани бедренной кости был значимо выше по сравнению с контролем, при этом статус метилирования был понижен (Wang et al., 2018).

Известно, что нарушение регуляции экспрессии этих генов является ключевым звеном в развитии стероид-индуцированного остеонекроза головки бедренной кости и, как выяснилось, оно ассоциировано с повышенным уровнем ДНК-метилирования генов *OPG* и *RANK* и с пониженным уровнем – в гене *RANKL* (Sun et al., 2021). Ранее примечательные результаты были получены в 2012 г., когда J. Delgado-Calle с коллегами провели сравнительный анализ уровней экспрессии и профиля метилирования генов *RANKL* и *OPG* в образцах костной ткани от пациентов с остеопоротическими переломами шейки бедра и остеоартритом (ОА) тазобедренного сустава. Уровень экспрессии *RANKL* оказался значительно выше у пациентов с переломами ($p = 0.012$), при этом существенных изменений в уровне экспрессии гена *OPG* не наблюдалось. Соотношение лиганда RANKL к OPG было выше в образцах костной ткани с ОП (7.66 ± 0.23 против 0.92 ± 0.21 , $p = 0.002$). Анализ дифференциального метилирования позволил установить, что область промотора гена *RANKL* в восходящем потоке (upstream) сильно метилирована во всех образцах, а отдельные CpG-островки гена одинаково гипометилированы в группах сравнения (Delgado-Calle et al., 2012).

Существуют свидетельства о вкладе микроРНК в регуляцию системы RANK/RANKL/OPG. В 2014 г. С. Chen с коллегами опубликовали результаты измерения уровня микроРНК miR-503 в клетках периферической крови, сверхэкспрессия которой в CD14⁺ мононуклеарных клетках ингибировала остеокластогенез, индуцированный RANKL. В CD14⁺ от женщин с постменопаузальным остеопорозом исходный уровень miR-503 был ниже, чем в обычном контроле, и не имел изменений после ин-

дукции фактором RANKL, что говорит о прямой роли miR-503 в регуляции экспрессии RANK (Chen et al., 2014). miR-142-3p и miR-21-5p являются потенциальными биомаркерами ОП, так как высокоафинны с мРНК гена *OPG* и участвуют в регуляции нескольких сигнальных путей, вовлеченных в формирование костной ткани (Ge et al., 2007; Hu et al., 2020). Таким образом, эпигенетическая регуляция системы RANK/RANKL/OPG динамична и зависит от статуса ДНК-метилирования и ряда микроРНК.

Роль эпигенетических механизмов в регуляции дифференцировки костных клеток через изменение активности фактора RUNX2

Фактор транскрипции 2 (RUNX2) играет ключевую роль в дифференцировке остеобластов. Экспрессия гена преимущественно высока на ранних стадиях развития костных клеток, когда МСК дифференцируются в предшественники остеобластов, но закономерно снижается на стадии созревания остеоцитов (Stein et al., 2004).

Ген содержит несколько функциональных областей: домен активации, домен runt, домен PST и др. (Gomathi et al., 2020). С точки зрения эпигенетических регуляторов RUNX2 хорошо изучены микроРНК. В частности, miRNA-194 модулирует дифференцировку МСК (Gomathi et al., 2020) и ускоряет дифференцировку остеобластов путем регуляции ядерной транслокации RUNX2 сигнальным преобразователем STAT1 (Li J. et al., 2015). miR-133a-5p ингибирует экспрессию гена *RUNX2* на уровне транскрипции и трансляции путем связывания с 3'-нетранслируемым участком мРНК (Zhang et al., 2018).

На ранних стадиях созревания остеобластов miR-125b влияет на экспрессию гена *RUNX2*, афинно связываясь с 3'-нетранслируемым регионом гена, косвенно участвуя в образовании комплекса с Cbfb, ингибирующим дифференцировку этих клеток. Используя технологии микрочипов, P. Garmilla-Ezquerria с коллегами (2015) обнаружили значимое снижение уровня экспрессии гена miR-187-3p и индукцию miR-518f в костной ткани с низким уровнем МПКТ, а Y. Zhang с коллегами (2017) на основе биоинформатического анализа установили вовлеченность miR-221 в формирование низкого уровня минеральной плотности через регуляцию активности RUNX2 (Garmilla-Ezquerria et al., 2015; Zhang et al., 2017). В табл. 1 представлены несколько микроРНК, влияющих на активность данного фактора.

Фосфорилирование RUNX2 мобилизует регуляторные факторы хроматина и ускоряет созревание клеток МСК. RUNX2 фосфорилируется по специфическим остаткам серина 301 и 319, индуцируя созревание остеоцитов через MAPK-зависимый сигналинг (Ge et al., 2009; Li Y. et al., 2017) и BMP2-чувствительную транскрипцию (Afzal et al., 2005). Фосфорилирование S104 приводит к предотвращению деградации белков RUNX (Huang et al., 2001; Wee et al., 2002). Сигнальный путь ERK-MAPK играет решающую роль в регуляции экспрессии гена *RUNX2* и формировании костей (Ge et al., 2007). МКК6 – протеинкиназа с двойной специфичностью, которая участвует в пути передачи сигнала киназы MAP и способствует фосфорилированию RUNX2 (Ge et al., 2012). Кроме того, па-

Таблица 1. Факторы, участвующие в регуляции экспрессии RUNX2

МикроРНК	Функция	Литературный источник
miR-590-5p	Защита RUNX2 от деградации	Ge et al., 2012
miR-873-3p	Повышает активность RUNX2	Selvamurugan et al., 2009
miR-98	Снижает экспрессию гена <i>RUNX2</i>	Selvamurugan et al., 2000
miR-21-5p	Повышает активность RUNX2	Selvamurugan et al., 2017

ратгормон, являющийся одним из главных регуляторов уровня кальция в крови, активирует фосфорилирование фактора RUNX2 через сигнальный путь PKA. Этот процесс связан с активацией промотора гена *MMP13*, играющей важную роль в резорбции кости (Selvamurugan et al., 2000, 2009).

Посттрансляционная модификация гистонов, в частности метилирование гистонов, играет важную роль в формировании костной ткани. Так называемый белок JUMONJI считается фактором транскрипции и кодируется геном *JARID2*. Домен, содержащий 3 JMJD3, представляет собой гистоновую деметилазу, специфически катализирующую удаление триметилирования гистона H3K27me3. Выявлено, что JMJD3 угнетает дифференцировку остеобластов RUNX2. И, напротив, ингибирование активности JMJD3 снижает уровень промоторной активности *RUNX2* с одновременным увеличением активности H3K27me3 в промоторных областях (Yang et al., 2013).

Ацетилирование гистонов влияет на состояние компактизации хроматина, нейтрализуя положительный заряд гистоновых хвостов и уменьшая электростатические взаимодействия гистоновых хвостов с дезоксирибонуклеиновой кислотой. Исследования показали, что остеопороз, вызванный глюкокортикоидной терапией, приводит к снижению ацетилирования H3K9/K14 и H4K12 в регуляторных областях генов *RUNX2* и *OSX* и усилению гиперацетилирования H3K9/K14 и H4K12 в регуляторной области *PPARγ2* в МСК, извлеченных из костного мозга при остеопорозе. Транскрипционная активность гена фактора *RUNX2* усиливается ацетилтрансферазой P300 и никотинамидфосфорибозилтрансферазой (NAMPT), которые в свою очередь способствуют остеогенной дифференцировке МСК ацилированием H3K14 и клеток МС3Т3-Е1 через ацилирование H3K9 соответственно (Xu et al., 2021).

Таким образом, установлено чрезвычайно большое количество регуляторов экспрессии гена *RUNX2*, являющейся перспективной терапевтической моделью гена в культуральных исследованиях, так как блокирование или усиление активности этого гена и отслеживание уровня его экспрессии при индукции остеогенных линии позволяют идентифицировать ключевые переключатели дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток.

Роль эпигенетической регуляции WNT-сигнального пути в регуляции костного ремоделирования и патогенезе остеопороза

Сигнальный путь WNT – одна из важнейших систем, регулирующих эмбриональное развитие и дифференцировку

клеток. Этот путь представляет собой один из центральных звеньев контроля развития и ремоделирования костной ткани. Среди различных генов, вовлеченных в эту систему, метилирование промотора гена *SOST* (кодирующего склеростин) хорошо изучено на культурах остеобластов. Склеростин, вырабатываемый остеоцитами, ингибирует WNT-сигналинг и снижает темп формирования костной ткани. ДНК-метилирование гена необходимо для перехода остеобластов в остециты (Delgado-Calle et al., 2012). У женщин с первичным ОП в клетках подвздошной кости повышен уровень метилирования *SOST*, понижен уровень склеростина и усилен WNT-путь (Reppel et al., 2015).

Некоторые исследования показали, что деацетилирование гистонов при регуляции генов *WNT6*, *WNT10B*, *WNT10A* и *WNT1* ингибирует передачу сигналов WNT и повышает риск первичного остеопороза (Jing et al., 2018). Так, повышенный уровень деацетилазы HDAC5 снижает экспрессию гена *SOST* в остеоцитах, способствуя потере костной массы. Дефицит этой деацетилазы связан с ацетилированием лизина 27 гистона H3 и взаимодействием MEK2 с энхансером гена *SOST*, благодаря чему можно судить о значительной роли склеростина в регуляции созревания остеоцитов (Wein et al., 2016). Показано, что высокий уровень метилтрансферазы энхансера гомолога *zeste 2* (*EZH2*) подавляет остеогенную дифференцировку МСК, а низкий – снижает уровень метки H3K27me3 вблизи сайта начала транскрипции генов остеогенеза, включая *WNT10B* (Dudakovic et al., 2016). Гомолог *EZH2* повышает уровни H3K27me3 на промоторах *WNT1*, *WNT6* и *WNT10A* и ингибирует WNT-сигналинг (Jing et al., 2016).

С WNT-сигналингом связано множество регуляторных микроРНК: miR-433-3p ингибирует экспрессию гена *DKK1* (Dickkopf-1), усиливая дифференцировку остеобластов. Dickkopf-1 выполняет функцию антагониста сигнального пути WNT и усиливает резорбцию костей (Tang et al., 2017); miR-139-5p индуцирует сигнальный WNT-сигналинг через ингибирование NOTCH1 (Feng et al., 2020). R.E. Makitie с коллегами (2018) провели скрининг специально разработанной панели из 192 микроРНК у пациентов с генетически обусловленным нарушением передачи сигналов WNT с гетерозиготной миссенс-мутацией с. 652 T>G (p. C218G) в экзоне 4 гена *WNT1*, и оказалось, что уровни miR-22-3p, miR-34a-5p и miR-31-5p ниже у носителей мутации по сравнению с группой контроля (Makitie et al., 2018).

Еще один известный ингибитор остеогенной дифференцировки – miR-31, его уровень падает в МСК, дифференцирующихся в остеобласты. Это было подтверждено

S. Weilner с коллегами (2016), наблюдавшими повышение уровня этого микроРНК в плазме крови у пожилых пациентов с ОП (Weilner et al., 2016; Amjadi-Moheb, Akhavan-Niaki, 2019). miR-31 высвобождается из внеклеточных везикул эндотелиальных клеток и ингибирует остеогенез в стромальных стволовых клетках путем связывания с белком Фрайззлед 3. Кроме того, снижение уровня miR-199a-5p приводит к глюкокортикоид-опосредованному ингибированию остеогенеза (Shi et al., 2015). Недавно L. Duan с коллегами (2018) выявили, что высокий уровень miR-16-2* может способствовать развитию первичного ОП: нокдаун этой микроРНК может способствовать активации RUNX2. Данная микроРНК обладает сродством с мРНК гена *WNT5A* (Duan et al., 2018). Обнаружено, что miR-148a-3p усиливает как остеокластогенез (Cheng et al., 2013), так и адипогенез в остеогенных клетках-предшественниках (Gao et al., 2011). Уровни этой микроРНК в плазме крови значительно выше у пациентов с ОП по сравнению с контрольной группой без ОП (Bedene et al., 2016). miR-30e является еще одной важной микроРНК в патогенезе ОП, играя роль регулятора дифференцировки адипоцитов и остеобластов через ингибирование LRP6 (Wang et al., 2013). Таким образом, сигнальный путь WNT регулируется сложной эпигенетической системой, особенно микроРНК.

Роль некодирующих РНК в ремоделировании костной ткани

Наиболее изученными эпигенетическими факторами остеопороза считаются микроРНК (Ялаев, Хусаинова, 2020). Их условно делят на два класса: способствующие формированию костной ткани или его резорбции. В частности, идентифицированы несколько микроРНК, которые замедляют прогрессирование ОП. Так, miR-33-5p является механочувствительной микроРНК, позитивно регулирующей остеобластогенез через ингибирование белков группы высокой подвижности HMGA2 (Wang et al., 2016). miR-96 усиливает остеогенную дифференцировку, ингибируя фосфорилирование рецептора эпидермального фактора роста EGFR и экспрессию главных остеобластных факторов, RUNX2 и OSTERIX (Yang et al., 2014). miR-216a усиливает образование костей, регулируя с-Cbl-опосредованный путь PI3K/AKT (Li H. et al., 2015). В табл. 2 показаны микроРНК, разделенные по направлению действия в ремоделировании костей (Ялаев, Хусаинова, 2018).

miR-124 – положительный регулятор адипогенной и нейрогенной дифференцировки и также – отрицательный

регулятор миогенной и остеогенной дифференцировки. Она напрямую нацелена на гены гомеобокса *DLX3*, *DLX5* и *DLX2* (Qadir et al., 2015). В одном из фармакогенетических исследований у пациентов с ОП спустя три месяца лечения аналогом паратгормона Терипаратидом снижался уровень экспрессии miR-33, а через год – miR-133a. При этом отмечалась общая тенденция: прирост уровня МПКТ закономерно повышался вместе со снижением уровня экспрессии данных микроРНК. Помимо прямого воздействия паратгормона на супрессию активности гена *DKK-1*, посттранскрипционная регуляция *DKK-1* изменяется за счет уменьшения уровня микроРНК miR-33, что приводит к уменьшению негативного воздействия *DKK-1* на альтернативный регуляторный механизм, улучшающий оптимальный контроль WNT-сигналинга (Anastasilakis et al., 2018).

Интересны результаты исследований влияния длинных некодирующих РНК на регуляцию сиртуинов – никотинамидадениндинуклеотид-зависимых деацетилаз. Эти молекулы обладают широким спектром действия и ассоциированы с долголетием и противодействием возрастным заболеваниям. Выяснилось, что экспрессия гена *SIRT1* обратно пропорциональна экспрессии нкРНК HIF1A-AS1, а нкРНК HOXA-AS3 взаимодействует с E2H2 и необходима для триметилирования лизина-27 H3 (H3K27me3) фактора RUNX2. Следовательно, HOXA-AS3 значима для формирования костной ткани в целом (Yang et al., 2020).

Длинная нкРНК HOTAIR снижает экспрессию белков и ингибирует передачу сигнала WNT. Белок DKK1 снижает уровни белков С-мус, β-catenin, HOTAIR и RUNX2, что теоретически противодействует регуляторному эффекту HOTAIR (Zhang et al., 2019). Если уровень экспрессии нкРНК p21 низок, то WNT-сигналинг становится активнее за счет повышенной секреции E2, что в конечном итоге повышает темп формирования кости (Yang et al., 2019). Понижение уровня нкРНК H19 уменьшает уровень экспрессии гена *DKK4* (Li B. et al., 2017). Уровень нкРНК AK045490 значимо повышен и ингибирует формирование костей путем торможения ядерной транслокации β-катенина и подавления экспрессии *TCF1*, *LEF1* и *RUNX2* (Li et al., 2019). Аналогичным образом нкРНК AK016739 ингибирует остеогенную дифференцировку, поскольку может снижать экспрессию и активность факторов транскрипции остеобластогенеза (Yin et al., 2019).

Ингибирование нкРНК UCA1 способствует формированию костей через активацию пути BMP-2/(Smad1/5/8) в остеобластах (Zhang et al., 2019). Таким образом, микроРНК и длинные нкРНК остаются одними из наиболее

Таблица 2. МикроРНК, стимулирующие формирование или резорбцию костей

Эффекторы остеобластов	Стимуляторы остеокластогенеза	Ингибиторы остеокластов	Ингибиторы антагонистов WNT
miR-21	miR-214	miR-126-p	miR-29a
miR-216a	miR-183	miR-34a	miR-218
miR-96	miR-9718	miR-7b	miR-355-5p

изученных эпигенетических факторов, вовлеченных в патогенез первичного ОП, однако нуждаются в дальнейшей систематизации.

Эпигенетическая регуляция адипогенеза и остеобластогенеза

Механизмы взаимосвязи между формированием костной ткани и жировых клеток сложны и остаются областью активных исследований. Работы, проводимые на клеточных культурах остеобластов и МСК, убедительно показывают обратную связь между дифференцировкой МСК костного мозга в адипоциты или остеобласты. Дисбаланс между адипогенезом и остеогенезом предложен в качестве одного из механизмов развития ОП, однако сам фактор ожирения не всегда является предиктором повышенного риска остеопороза.

Важную роль в этой системе играют посттрансляционные модификации гистонов. Среди них метилирование гистонов имеет решающее значение, особенно в реорганизации хроматина. В частности, метилирование лизина в H4K20, H3K27 и H3K9 связано со снижением уровня транскрипции, тогда как метилирование H3K79, H3K36 и H3K4 – с активной транскрипцией генов (Huang et al., 2015).

Однако если речь идет об остеогенных индукторах, то важную роль в дифференцировке остеобластов играет ген гомеобокса *HOXA10*, так как он участвует в индукции трансляции белков *RUNX2*, щелочной фосфатазы и остеокальцина и, таким образом, стимулирует созревание костных клеток (Hassan et al., 2007). Обнаружено, что комбинация метилирования и деметилирования может функционировать как эпигенетический переключатель остеогенеза в адипогенез на основе активности *EZH2*, которая, в свою очередь, катализирует триметилирование гистона H3 на лизине 27 основных регуляторных генов (таких как *RUNX2*). При этом удаление этой метки лизин-деметилазой 6A ингибирует адипогенез и индуцирует остеобластогенез. Белки, на которые может быть нацелен *EZH2*, и которые участвуют в переключении МСК, – *HDAC9c* и *HDAC* (Chen et al., 2011). Выявлена прямая связь между увеличением уровня *EZH2* и снижением уровня экспрессии гена *HDAC9c* (Chen et al., 2016). Метилтрансферазная активность *EZH2* снижается за счет фосфорилирования и связана с остеогенной индукцией (Wei et al., 2011).

Известно, что при старении остеоцитов в костном мозге происходит накопление жировой ткани и одновременно с этим в межклеточной фазе растет число мезенхимальных стволовых клеток. С этой точки зрения интересно, что сверхэкспрессия *miR-1292* ускоряет старение стволовых клеток, полученных из жировой ткани человека, и ингибирует образование костей посредством сигнального пути *Wnt/β-катенина*, а *miR-10b* ингибирует жировую дифференцировку стволовых клеток через путь *TGF-β* (Xu et al., 2020).

Несколько связанных с костями клеток, в том числе мультипотентные костные мезенхимальные стволовые клетки, остеобласты, формирующие костную ткань, и остеокласты, разрушающие ее, находятся в симбиотических отношениях на протяжении всей жизни. Все больше

данных указывает на то, что эпигенетические модификации клеток, вызванные старением, способствуют нарушению ремоделирования кости и приводят к остеопорозу. Здесь задействован целый ряд эпигенетических механизмов, включая модификации ДНК/РНК, модификации гистонов, микроРНК (миРНК) и длинные некодирующие РНК (днРНК), а также ремоделирование хроматина (Yu et al., 2022). Таким образом, эпигенетические механизмы способны переключать направление дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток между остеобластогенезом и адипогенезом.

Результаты полногеномных исследований метилома

Молекулярно-генетические детерминанты эндотипов остеопороза, такие как риск переломов и уровень МПКТ, могут быть конвергированы через эпигеном в целом. J.A. Morris с коллегами (2017), заручившись технологическими возможностями метилчипа “Infinium HumanMethylation450”, провели полногеномный анализ метилома, измерив сайт-специфическое метилирование ДНК у 5515 лиц европейского происхождения. По итогу метаанализа полученных результатов они смогли идентифицировать CpG-сайт *cg23196985*, значимо ассоциированный с низким уровнем МПКТ с учетом поправки на множественность сравнений без учета гендерной принадлежности ($p_{BH} = 1.30 \times 10^{-2}$), и у лиц женского пола ($p_{BH} = 3.41 \times 10^{-5}$).

Сайт CpG *cg23196985* локализован в 5'-нетранслируемой области гена печеночной карбоксилазы 1 *CES1*, который экспрессируется в печени и периферической крови (Morris et al., 2017). J.G. Zhang с коллегами (2015), проведя транскриптомный анализ с использованием микрочипа “Affymetrix GeneChip Human Exon 1.0 ST Array” и анализ микроРНК на микрочипах Capitalbio Cor., а также секвенирование метилома у пациентов с низким уровнем МПКТ бедра и в контрольной группе, выделили наиболее обогащенные функциональные молекулярные пути, ассоциированные с ОП или вариабельностью МПКТ. Это сеть из 12 взаимодействующих генов и 11 микроРНК. Среди генов – *AKT1*, *STAT5A*, *PIK3R5* и др. Среди микроРНК – *miR-141* и *miR-675*, их уровни коррелируют с экспрессией данных генов и глобальным статусом ДНК-метилирования (Zhang et al., 2015).

D. Cheishvili с коллегами (2018) провели полноэпигеномный анализ у женщин без ОП и у женщин с ранним постменопаузальным ОП. Генами, в которых выявлены CpG-сайты со значительным уровнем дифференциального метилирования, оказались *ZNF267*, *ABLIM2*, *RHOJ*, *CDKL5*, *PDCD1*, *ABRA* и *HOJ* (Cheishvili et al., 2018). На уровне бедренной кости человека изучение профиля метилирования ДНК с использованием пиросеквенирования и исследования экспрессии генов на основе qRT-PCR показало, что статус метилирования ДНК обратно коррелирует с экспрессией генов *iNOS* и *COL9A1*, но не катаболических генов, включая *MMP13* и *IL1B*. Выявлено значительное деметилирование промотора гена остеокальцина между эмбриональной и взрослой стадиями развития, что демонстрирует важность метилирования ДНК на тканевом уровне (Curtis et al., 2022). Предполагается, что результаты

этих исследований подтверждают, что полноэпигеномный подход – достаточно надежный, для того чтобы позволить проводить широкомасштабные исследования женщин с риском развития ОП.

Заключение

Несмотря на большие достижения и широкий спектр проведенных работ в области изучения эпигенетики первичного остеопороза, знания все еще носят фрагментарный характер. Они описывают ключевые эпигенетические регуляторы ремоделирования костной ткани, однако выстроить целостную картину патогенеза остеопороза на основе этих данных, общую для всех ключевых патогенетических процессов в костной ткани, представляется трудным.

Известно, что ключевые эпигенетические изменения при остеопорозе сходятся на регуляции дифференцировки МСК, огромное значение имеет многоступенчатая система регуляции активности фактора транскрипции RUNX2, склеростина, белка DKK1, системы RANKL-RANK-OPG и факторов, вовлеченных в регуляцию WNT-сигналинга. Отдельным вопросом стоят систематизация и создание единой генетической сети огромного количества регуляторных микроРНК, которые влияют на ключевые сигнальные пути и факторы транскрипции, ассоциированные с остеопорозом. Однако эти микроРНК влияют на конечный риск развития остеопороза очень опосредованно, и все еще предстоит понять, каким образом можно систематизировать их по значимости и функциональной вовлеченности в патогенез ввиду их динамичности и различных уровней в зависимости от тканеспецифичности.

Предстоит разработать подходы, необходимые для внедрения методов ранней диагностики или таргетной терапии остеопороза. Задачу осложняют экспериментальные данные, полученные в ходе исследования метилома, в которых ключевыми и наиболее значимыми оказались другие гены, отличные от критически важных регуляторных факторов, таких как RUNX2, склеростин или DKK1. Приведенные в этом обзоре данные показывают, что эпигенетические модификации могут оказывать сильное влияние на детерминацию, дифференцировку и активность мезенхимальных стволовых клеток и, следовательно, могут способствовать патофизиологии возрастной потери костной массы. Результаты актуализируют дальнейшие фундаментальные исследования остеопороза и, благодаря имеющимся данным, расширяют горизонты для более точечного и детального подхода к новым эпигенетическим исследованиям этого заболевания и перспективам создания новых и эффективных методов персонализированной терапии.

Список литературы / References

Сवेशников А.А. Минеральная плотность костей скелета, масса мышц и проблемы профилактики переломов. М.: Академия Естествознания, 2013.
[Sveshnikov A.A. Mineral Density of Skeletal Bones, Muscle Mass, and Issues of Fracture Prevention. Moscow: Akademiya Yestestvoznaniya Publ., 2013. (in Russian)]
Ялаев Б.И., Хусаинова Р.И. Эпигенетика остеопороза. *Мед. генетика*. 2018;17(6):3-10. DOI 10.25557/2073-7998.2018.06.3-10.

[Yalaev B.I., Khusainova R.I. Epigenetics of osteoporosis. *Meditsinskaya Genetika = Medical Genetics*. 2018;17(6):3-10. DOI 10.25557/2073-7998.2018.06.3-10. (in Russian)]
Ялаев Б.И., Хусаинова Р.И. Изучение полиморфного варианта RS2910164 гена микроРНК *miR-146a* у пациентов с первичным остеопорозом. *Гены и клетки*. 2020;15(4):40-45. DOI 10.23868/202012007.
[Yalaev B.I., Khusainova R.I. Study of the rs2910164 polymorphic variant of *miR-146a* microRNA gene in patients with primary osteoporosis. *Geny i Kletki = Genes and Cells*. 2020;15(4):40-45. DOI 10.23868/202012007. (in Russian)]
Afzal F., Pratap J., Ito K., Ito Y., Stein J.L., Wijnen A.J., Stein G.S., Lian J.B., Javed A. Smad function and intranuclear targeting share a Runx2 motif required for osteogenic lineage induction and BMP2 responsive transcription. *J. Cell. Physiol.* 2005;204(1):63-72. DOI 10.1002/jcp.20258.
Albright F., Bloomberg E., Smith P.H. Postmenopausal osteoporosis. *Trans. Assoc. Am. Phys.* 1940;55:298-305.
Amjadi-Moheb F., Akhavan-Niaki H. Wnt signaling pathway in osteoporosis: Epigenetic regulation, interaction with other signaling pathways, and therapeutic promises. *J. Cell. Physiol.* 2019;234(9):14641-14650. DOI 10.1002/jcp.28207.
Anastasilakis A.D., Makras P., Pikilidou M., Tournis S., Makris K., Bisbinas I., Tsave O., Yovos J.G., Yavropoulou M.P. Changes of circulating MicroRNAs in response to treatment with teriparatide or denosumab in postmenopausal osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018;103(3):1206-1213. DOI 10.1210/jc.2017-02406.
Bedene A., Bedrac S.M., Jese L., Marc J., Vrtacnik P., Prezelj J., Kocjan T., Kranjc T., Ostanek B. MiR-148a the epigenetic regulator of bone homeostasis is increased in plasma of osteoporotic postmenopausal women. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2016;128(7):519-526. DOI 10.1007/s00508-016-1141-3.
Bolland M.J., Siu A.T., Mason B.H., Horne A.M., Ames R.W., Grey A.B., Gamble G.D., Reid I.R. Evaluation of the FRAX and Garvan fracture risk calculators in older women. *J. Bone Miner. Res.* 2011;26(2):420-427. DOI 10.1002/JBMR.215.
Cheishvili D., Parashar S., Mahmood N., Arakelian A., Kremer R., Goltzman D., Szyf M., Rabbani S.A. Identification of an epigenetic signature of osteoporosis in blood DNA of postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 2018;33(11):1980-1989. DOI 10.1002/jbmr.3527.
Chen C., Cheng P., Xie H., Zhou H.D., Wu X.P., Liao E.Y., Luo X.H. MiR-503 regulates osteoclastogenesis via targeting RANK. *J. Bone Miner. Res.* 2014;29(2):338-347. DOI 10.1002/JBMR.2032.
Chen Y.H., Chung C.C., Yeh S.P., Hsu J.L., Hung M.Ch., Su H.L., Li L.Y. Enhancer of zeste homolog 2 and histone deacetylase 9c regulate age-dependent mesenchymal stem cell differentiation into osteoblasts and adipocytes. *Stem Cells*. 2016;34(8):2183-2193. DOI 10.1002/stem.2400.
Chen Y.H., Yeh F.L., Yeh S.P., Ma H.T., Hung S.C., Hung M.C., Li L.Y. Myocyte enhancer factor-2 interacting transcriptional repressor (MITR) is a switch that promotes osteogenesis and inhibits adipogenesis of mesenchymal stem cells by inactivating peroxisome proliferator-activated receptor γ -2. *J. Biol. Chem.* 2011;286(12):10671-10680. DOI 10.1074/jbc.M110.199612.
Cheng P., Chen C., He H.B., Hu R., Zhou H.D., Xie H., Zhu W., Dai R.C., Wu X.P., Liao E.Y., Luo X.H. miR-148a regulates osteoclastogenesis by targeting V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B. *J. Bone Miner. Res.* 2013;28(5):1180-1190. DOI 10.1002/jbmr.1845.
Curtis E.M., Fuggle N.R., Cooper P., Harvey N.C. Epigenetic regulation of bone mass. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2022;36(2):101612. DOI 10.1016/j.beem.2021.101612.
Delgado-Calle J., Sanudo C., Fernandez A.F., Garcia-Renedo R., Fraga M.F., Riancho J.A. Role of DNA methylation in the regulation of the RANKL-OPG system in human bone. *Epigenetics*. 2012;7(1):83-91. DOI 10.4161/epi.7.1.18753.

- Duan L., Zhao H., Xiong Y., Tang X., Yang Y., Hu Z., Li C., Chen S., Yu X. miR-16-2* interferes with WNT5A to regulate osteogenesis of mesenchymal stem cells. *Cell. Physiol. Biochem.* 2018;51(3):1087-1102. DOI 10.1159/000495489.
- Dudakovic A., Camilleri E.T., Riester S.M., Paradise C.R., Gluscevic M., O'Toole T.M., Thaler R., Evans J.M., Yan H., Subramaniam M., Hawse J.R., Stein G.S., Montecino M., McGee-Lawrence M.E., Westendorf J.J., Wijnen A.J. Enhancer of zeste homolog 2 inhibition stimulates bone formation and mitigates bone loss caused by ovariectomy in skeletally mature mice. *J. Biol. Chem.* 2016; 291(47):24594-24606. DOI 10.1074/jbc.M116.740571.
- Dudakovic A., Camilleri E.T., Xu F., Riester S.M., McGee-Lawrence M.E., Bradley E.W., Paradise C.R., Lewallen E.A., Thaler R., Deyle D.R., Larson A.N., Lewallen D.G., Dietz A.B., Stein G.S., Montecino M.A., Westendorf J.J., Wijnen A.J. Epigenetic control of skeletal development by the histone methyltransferase Ezh2. *J. Biol. Chem.* 2015;290(46):27604-27617. DOI 10.1074/jbc.M115.672345.
- Estrada K., Styrkarsdottir U., Evangelou E., ... Ioannidis J.P.A., Kiel D.P., Rivadeneira F. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat. Genet.* 2012;44(5):491-501. DOI 10.1038/ng.2249.
- Feng Y., Wan P., Yin L., Lou X. The inhibition of microRNA-139-5p promoted osteoporosis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by targeting Wnt/beta-catenin signaling pathway by Notch1. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2020;30(3):448-458. DOI 10.4014/jmb.1908.08036.
- Foger-Samwald U., Dovjak P., Azizi-Semrad U., Kersch-Schindl K., Pietschmann P. Osteoporosis: pathophysiology and therapeutic options. *EXCLI J.* 2020;19:1017-1037. DOI 10.17179/excli2020-2591.
- Gao J., Yang T., Han J., Yan K., Qiu X., Zhou Y., Fan Q., Ma B. MicroRNA expression during osteogenic differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells from bone marrow. *J. Cell. Biochem.* 2011;112(7):1844-1856. DOI 10.1002/jcb.23106.
- Garmilla-Ezquerro P., Sanudo C., Delgado-Calle J., Perez-Nunez M.I., Sumillera M., Riancho J.A. Analysis of the bone MicroRNome in osteoporotic fractures. *Calcif. Tissue Int.* 2015;96(1):30-37. DOI 10.1007/s00223-014-9935-7.
- Ge C., Xiao G., Jiang D., Franceschi R.T. Critical role of the extracellular signal-regulated kinase-MAPK pathway in osteoblast differentiation and skeletal development. *J. Cell Biol.* 2007;176(5):709-718. DOI 10.1083/JCB.200610046.
- Ge C., Xiao G., Jiang D., Yang Q., Hatch N.E., Roca H., Franceschi R.T. Identification and functional characterization of ERK/MAPK phosphorylation sites in the Runx2 transcription factor. *J. Biol. Chem.* 2009;284(47):32533-32543. DOI 10.1074/jbc.M109.040980.
- Ge C., Yang Q., Zhao G., Yu H., Kirkwood K.L., Franceschi R.T. Interactions between extracellular signal-regulated kinase 1/2 and P38 Map kinase pathways in the control of RUNX2 phosphorylation and transcriptional activity. *J. Bone Miner. Res.* 2012;27(3):538-551. DOI 10.1002/JBMR.561.
- Gomathi K., Akshaya N., Srinaath N., Moorthi A., Selvamurugan N. Regulation of Runx2 by post-translational modifications in osteoblast differentiation. *Life Sci.* 2020;245:117389. DOI 10.1016/J.LFS.2020.117389.
- Hassan M.Q., Tare R., Lee S.H., Mandeville M., Weiner B., Montecino M., Wijnen A.J., Stein J.L., Stein G.S., Lian J.B. HOXA10 controls osteoblastogenesis by directly activating bone regulatory and phenotypic genes. *Mol. Cell. Biol.* 2007;27(9):3337-3352. DOI 10.1128/mcb.01544-06.
- Hu H., He X., Zhang Y., Wu R., Chen J., Lin Y., Shen B. MicroRNA alterations for diagnosis, prognosis, and treatment of osteoporosis: a comprehensive review and computational functional survey. *Front. Genet.* 2020;11:181. DOI 10.3389/FGENE.2020.00181/BIBTEX.
- Huang B., Li G., Jiang X.H. Fate determination in mesenchymal stem cells: A perspective from histone-modifying enzymes. *Stem Cell Res. Ther.* 2015;6(1):35. DOI 10.1186/s13287-015-0018-0.
- Huang G., Shigesada K., Ito K., Wee H.J., Yokomizo T., Ito Y. Dimerization with PEBP2 β protects RUNX1/AML1 from ubiquitin-proteasome-mediated degradation. *EMBO J.* 2001;20(4):723-733. DOI 10.1093/emboj/20.4.723.
- Jing H., Liao L., An Y., Su X., Liu S., Shuai Y., Zhang X., Jin Y. Suppression of EZH2 prevents the shift of osteoporotic MSC fate to adipocyte and enhances bone formation during osteoporosis. *Mol. Ther.* 2016;24(2):217-229. DOI 10.1038/mt.2015.152.
- Jing H., Su X., Gao B., Shuai Y., Chen J., Deng Z., Liao L., Jin Y. Epigenetic inhibition of Wnt pathway suppresses osteogenic differentiation of BMSCs during osteoporosis. *Cell Death Dis.* 2018;9(2):176. DOI 10.1038/s41419-017-0231-0.
- Lei S.F., Papasian C.J., Deng H.W. Polymorphisms in predicted miRNA binding sites and osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.* 2011;26(1):72-78. DOI 10.1002/jbmr.186.
- Letarouilly J.G., Broux O., Clabaut A. New insights into the epigenetics of osteoporosis. *Genomics.* 2019;111(4):793-798. DOI 10.1016/J.YGENO.2018.05.001.
- Li B., Liu J., Zhao J., Ma J.X., Jia H.B., Zhang Y., Xing G.S., Ma X.L. LncRNA-H19 modulates Wnt/ β -catenin signaling by targeting Dkk4 in hindlimb unloaded rat. *Orthop. Surg.* 2017;9(3):319-327. DOI 10.1111/os.12321.
- Li D., Tian Y., Yin C., Huai Y., Zhao Y., Su P., Wang X., Pei J., Zhang K., Yang C., Dang K., Jiang S., Zhiping M., Li M., Hao Q., Zhang G., Qian A. Silencing of lncRNA AK045490 promotes osteoblast differentiation and bone formation via β -catenin/TCF1/Runx2 signaling axis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(24):6229. DOI 10.3390/ijms20246229.
- Li H., Li T., Fan J., Li T., Fan L., Wang S., Weng X., Han Q., Zhao R.C. miR-216a rescues dexamethasone suppression of osteogenesis, promotes osteoblast differentiation and enhances bone formation, by regulating c-Cbl-mediated PI3K/AKT pathway. *Cell Death Differ.* 2015;22(12):1935-1945. DOI 10.1038/cdd.2015.99.
- Li H., Xiao Z., Quarles L.D., Li W. Osteoporosis: mechanism, molecular target and current status on drug development. *Curr. Med. Chem.* 2020;28(8):1489-1507. DOI 10.2174/0929867327666200330142432.
- Li J., He X., Wei W., Zhou X. MicroRNA-194 promotes osteoblast differentiation via downregulating STAT1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015;460(2):482-488. DOI 10.1016/J.BBRC.2015.03.059.
- Li Y., Ge C., Franceschi R.T. MAP kinase-dependent RUNX2 phosphorylation is necessary for epigenetic modification of chromatin during osteoblast differentiation. *J. Cell. Physiol.* 2017;232(9):2427-2435. DOI 10.1002/jcp.25517.
- Lorentzon M., Cummings S.R. Osteoporosis: the evolution of a diagnosis. *J. Intern. Med.* 2015;277(6):650-661. DOI 10.1111/joim.12369.
- Makitie R.E., Hackl M., Niinimäki R., Kakko S., Grillari J., Makitie O. Altered microRNA profile in osteoporosis caused by impaired WNT signaling. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018;103(5):1985-1996. DOI 10.1210/jc.2017-02585.
- Marshall D., Johnell O., Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *Br. Med. J.* 1996;312(7041):1254-1259. DOI 10.1136/bmj.312.7041.1254.
- Morris J.A., Tsai P.C., Joehanes R., Zheng J., Trajanoska K., Soerensen M., Forgetta V., Castillo-Fernandez J.E., Frost M., Spector T.D., Christensen K., Christiansen L., Rivadeneira F., Tobias J.H., Evans D.M., Kiel D.P., Hsu Y.H., Richards J.B., Bell J.T. Epigenome-wide association of DNA methylation in whole blood with bone mineral density. *J. Bone Miner. Res.* 2017;32(8):1644. DOI 10.1002/JBMR.3148.
- Qadir A.S., Um S., Lee H., Baek K., Seo B.M., Lee G., Kim G.S., Woo K.M., Ryoo H.M., Baek J.H. miR-124 negatively regulates osteogenic differentiation and *in vivo* bone formation of mesenchymal stem cells. *J. Cell. Biochem.* 2015;116(5):730-742. DOI 10.1002/JCB.25026.

- Raisz L.G. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J. Clin. Invest.* 2005;115(12):3318-3325. DOI 10.1172/JCI27071.
- Reppe S., Noer A., Grimholt R.M., Halldorsson B.V., Carolina M.G., Gautvik V.T., Olstad O.K., Berg J.P., Datta H., Estrada K., Hofman A., Uitterlinden A.G., Rivadeneira F., Lyle R., Collas P., Gautvik K.M. Methylation of bone SOST, its mRNA, and serum sclerostin levels correlate strongly with fracture risk in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 2015;30(2):249-256. DOI 10.1002/JBMR.2342.
- Riggs B.L., Wahner H.W., Seeman E., Offord K.P., Dunn W.L., Mazess R.B., Johnson K.A., Melton L.J. Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging. Differences between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes. *J. Clin. Invest.* 1982;70(4):716-723. DOI 10.1172/JCI110667.
- Rivadeneira F., Styrkarsdottir U., Estrada K., ... Stefansson K., Ioannidis J.P.A., Uitterlinden A.G. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 2009;41(11):1199-1206. DOI 10.1038/ng.446.
- Selvamurugan N., He Z., Rifkin D., Dabovic B., Partridge N. Pulsed electromagnetic field regulates microRNA 21 expression to activate TGF- β signaling in human bone marrow stromal cells to enhance osteoblast differentiation. *Stem Cells Int.* 2017;2017:2450327. DOI 10.1155/2017/2450327.
- Selvamurugan N., Pulumati M.R., Tyson D.R., Partridge N.C. Parathyroid hormone regulation of the rat collagenase-3 promoter by protein kinase A-dependent transactivation of core binding factor α 1. *J. Biol. Chem.* 2000;275(7):5037-5042. DOI 10.1074/JBC.275.7.5037.
- Selvamurugan N., Shimizu E., Lee M., Liu T., Li H., Partridge N.C. Identification and characterization of Runx2 phosphorylation sites involved in matrix metalloproteinase-13 promoter activation. *FEBS Lett.* 2009;583(7):1141-1146. DOI 10.1016/J.FEBSLET.2009.02.040.
- Shi C., Huang P., Kang H., Hu B., Qi J., Jiang M., Zhou H., Guo L., Deng L. Glucocorticoid inhibits cell proliferation in differentiating osteoblasts by microRNA-199a targeting of WNT signaling. *J. Mol. Endocrinol.* 2015;54(3):325-337. DOI 10.1530/JME-14-0314.
- Soltanoff C.S., Yang S., Chen W., Li Y.P. Signaling networks that control the lineage commitment and differentiation of bone cells. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2009;19(1):1-46. DOI 10.1615/CritRevEukarGeneExpr.v19.i1.10.
- Souza M.P.G. Osteoporosis diagnosis and treatment. *Rev. Bras. Ortop.* 2010;45(3):220-229. DOI 10.1016/S2255-4971(15)30361-X.
- Stein G.S., Lian J.B., Wijnen A.J., Stein J.L., Montecino M., Javed A., Zaidi S.K., Young D.W., Choi J.Y., Pockwinse S.M. Runx2 control of organization, assembly and activity of the regulatory machinery for skeletal gene expression. *Oncogene.* 2004;23(24):4315-4329. DOI 10.1038/sj.onc.1207676.
- Sun M., Cao Y., Yang X., An F., Wu H., Wang J. DNA methylation in the OPG/RANK/RANKL pathway is associated with steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2021;22(1):599. DOI 10.1186/s12891-021-04472-6.
- Tang X., Lin J., Wang G., Lu J. MicroRNA-433-3p promotes osteoblast differentiation through targeting DKK1 expression. *PLoS One.* 2017;12(6):0179860. DOI 10.1371/JOURNAL.PONE.0179860.
- Thomas P.A. Racial and ethnic differences in osteoporosis. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 2007;15(1):26-30. DOI 10.5435/00124635-20070001-00008.
- Tobeiha M., Moghadasian M.H., Amin N., Jafarnejad S. RANKL/RANK/OPG pathway: a mechanism involved in exercise-induced bone remodeling. *Biomed. Res. Int.* 2020;2020:6910312. DOI 10.1155/2020/6910312.
- Wang H., Sun Z., Wang Y., Hu Z., Zhou H., Zhang L., Hong B., Zhang S., Cao X. miR-33-5p, a novel mechano-sensitive microRNA promotes osteoblast differentiation by targeting Hmga2. *Sci. Rep.* 2016;6:23170. DOI 10.1038/SREP23170.
- Wang J., Guan X., Guo F., Zhou J., Chang A., Sun B., Cai Y., Ma Z., Dai C., Li X., Wang B. miR-30e reciprocally regulates the differentiation of adipocytes and osteoblasts by directly targeting low-density lipoprotein receptor-related protein 6. *Cell Death Dis.* 2013;4(10):845. DOI 10.1038/cddis.2013.356.
- Wang P., Cao Y., Zhan D., Wang D., Wang B., Liu Y., Li G., He W., Wang H., Xu L. Influence of DNA methylation on the expression of OPG/RANKL in primary osteoporosis. *Int. J. Med. Sci.* 2018;15(13):1480-1485. DOI 10.7150/ijms.27333.
- Wee H.J., Huang G., Shigesada K., Ito Y. Serine phosphorylation of RUNX2 with novel potential functions as negative regulatory mechanisms. *EMBO Rep.* 2002;3(10):967-974. DOI 10.1093/embo-reports/kvf193.
- Wei Y., Chen Y.H., Li L.Y., Lang J., Yeh S.P., Shi B., Yang C.C., Yang J.Y., Lin C.Y., Lai C.C., Hung M.C. CDK1-dependent phosphorylation of EZH2 suppresses methylation of H3K27 and promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Nat. Cell Biol.* 2011;13(1):87-94. DOI 10.1038/ncb2139.
- Weinler S., Schraml E., Wieser M., Messner P., Schneider K., Wassermann K., Micutkova L., Fortschegger K., Maier A., Westendorp R., Resch H., Wolbank S., Redl H., Jansen-Durr P., Pietschmann P., Grillari-Voglauer R., Grillari J. Secreted microvesicular miR-31 inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Ageing Cell.* 2016;15(4):744-754. DOI 10.1111/acer.12484.
- Wein M.N., Liang Y., Goransson O., Sundberg T.B., Wang J., Williams E.A., O'Meara M.J., Govea N., Beqo B., Nishimori S., Naganano K., Brooks D.J., Martins J.S., Corbin B., Anselmo A., Sadreyev R., Wu J.Y., Sakamoto K., Foretz M., Xavier R.J., Baron R., Bouxsein M., Gardella T.J., Divieti-Pajevic P., Gray N.S., Kronenberg H.M. SIKs control osteocyte responses to parathyroid hormone. *Nat. Commun.* 2016;7:13176. DOI 10.1038/ncomms13176.
- Wein M., Spatz J., Nishimori S., Doench J., Root D., Babij P., Naganano K., Baron R., Brooks D., Bouxsein M., Pajevic P.D., Kronenberg H.M. HDAC5 controls MEF2C-driven sclerostin expression in osteocytes. *J. Bone Miner. Res.* 2015;30(3):400-411. DOI 10.1002/jbmr.2381.
- Wiedl A., Forch S., Fenwick A., Mayr E. Fractures' associated mortality risk in orthogeriatric inpatients: a prospective 2-year survey. *Eur. Geriatr. Med.* 2020;12(1):61-68. DOI 10.1007/s41999-020-00392-1.
- Wood C.L., Stenson C., Embleton N. The developmental origins of osteoporosis. *Curr. Genomics.* 2015;16(6):411. DOI 10.2174/1389202916666150817202217.
- Xu F., Li W., Yang X., Na L., Chen L., Liu G. The roles of epigenetics regulation in bone metabolism and osteoporosis. *Front Cell Dev. Biol.* 2020;8:619301. DOI 10.3389/fcell.2020.619301.
- Xu Y., Ma J., Xu G., Ma D. Recent advances in the epigenetics of bone metabolism. *J. Bone Miner. Metab.* 2021;39(6):914-924. DOI 10.1007/s00774-021-01249-8.
- Yalaev B.I., Tyurin A.V., Mirgalieva R.I., Khusnutdinova E.K., Khusainova R.I. Investigating the role of osteoprotegerin gene polymorphic variants in osteoporosis. *Russ. Open Med. J.* 2021;10(1):e0101. DOI 10.15275/RUSOMJ.2021.0101.
- Yang D., Okamura H., Nakashima Y., Haneji T. Histone demethylase Jmjd3 regulates osteoblast differentiation via transcription factors Runx2 and osterix. *J. Biol. Chem.* 2013;288(47):33530-33541. DOI 10.1074/jbc.M113.497040.
- Yang K., Tian N., Liu H., Tao X.Z., Wang M.X., Huang W. LncRNAp21 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in the rat model of osteoporosis by the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019;23(10):4303-4309. DOI 10.26355/EURREV_201905_17935.
- Yang M., Pan Y., Zhou Y. miR-96 promotes osteogenic differentiation by suppressing HBEGF-EGFR signaling in osteoblastic cells. *FEBS Lett.* 2014;588(24):4761-4768. DOI 10.1016/J.FEBSLET.2014.11.008.
- Yang Y., Yujiao W., Fang W., Linhui Y., Ziqi G., Zhichen W., Zirui W., Shengwang W. The roles of miRNA, lncRNA and circRNA in the de-

- velopment of osteoporosis. *Biol. Res.* 2020;53(1):40. DOI 10.1186/s40659-020-00309-z.
- Yin C., Tian Y., Yu Y., Wang H., Wu Z., Huang Z., Zhang Y., Li D., Yang C., Wang X., Li Y., Qian A. A novel long noncoding RNA AK016739 inhibits osteoblast differentiation and bone formation. *J. Cell. Physiol.* 2019;234(7):11524-11536. DOI 10.1002/jcp.27815.
- Yu W., Wang H.L., Zhang J., Yin C. The effects of epigenetic modifications on bone remodeling in age-related osteoporosis. *Connect. Tissue Res.* 2022;1-12. DOI 10.1080/03008207.2022.2120392.
- Zhang J.G., Tan L.J., Xu C., He H., Tian Q., Zhou Y., Qiu C., Chen X.D., Deng H.W. Integrative analysis of transcriptomic and epigenomic data to reveal regulation patterns for BMD variation. *PLoS One.* 2015;10(9):0138524. DOI 10.1371/journal.pone.0138524.
- Zhang R.F., Liu J.W., Yu S.P., Sun D., Wang X.H., Fu J.S., Xie Z. LncRNA UCA1 affects osteoblast proliferation and differentiation by regulating BMP-2 expression. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019;23(16):6774-6782. DOI 10.26355/eurev_201908_18715.
- Zhang W., Wu Y., Shiozaki Y., Sugimoto Y., Takigawa T., Tanaka M., Matsukawa A., Ozaki T. miRNA-133a-5p inhibits the expression of osteoblast differentiation-associated markers by targeting the 3' UTR of *RUNX2*. *DNA Cell Biol.* 2018;37(3):199-209. DOI 10.1089/dna.2017.3936.
- Zhang Y., Gao Y., Cai L., Li F., Lou Y., Xu N., Kang Y., Yang H. MicroRNA-221 is involved in the regulation of osteoporosis through regulates *RUNX2* protein expression and osteoblast differentiation. *Am. J. Transl. Res.* 2017;9(1):126-135.

ORCID ID

B.I. Yalaev orcid.org/0000-0003-4337-1736
R.I. Khusainova orcid.org/0000-0002-8643-850X

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 122041400169-2), при частичной поддержке мегагранта Правительства Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-595), а также проекта Санкт-Петербургского государственного университета (№ 94034528).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 21.10.2022. После доработки 02.12.2022. Принята к публикации 02.12.2022.