

ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ (VDR BSM1 C.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G->T) У ПРЕДСТАВИТЕЛЬНИЦ РУССКОЙ И БУРЯТСКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТЕЙ



© С.В. Верхотурова, С.Ю. Царенок, В.В. Горбунов, Т.А. Аксенова

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия Минздрава России, Чита, Россия

ЦЕЛЬ. Изучить частоту встречаемости генотипов полиморфного маркера генов ремоделирования костной ткани (рецептора витамина D Bsm1 c.IVS7G >A, лактазы LCT 13910 T>C и коллагена COL1A 12046 G->T) у здоровых и больных остеопорозом (ОП) женщин русской и бурятской национальностей.

МЕТОДЫ. Были обследованы 97 женщин с ОП: 49 русской и 48 бурятской национальностей в возрасте от 50 до 80 лет. Контрольную группу составили 123 здоровые женщины. Образцы ДНК были выделены из венозной крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В группе бурят с ОП происходило накопление рецессивного аллеля А гена VDR – Bsm1 c.IVS7G>A, который у индивидуумов повышает риск развития ОП. Аллель С полиморфизма (LCT) -13910 T>C ассоциирован с развитием ОП среди представительниц бурятской национальности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Женщины бурятской национальности при наличии аллеля А гена VDR Bsm1 c.IVS7G >A, аллеля С гена лактазы LCT -13910 T>C имеют более высокий риск развития ОП, чем русские женщины. Генотипы G/T и T/T полиморфизма гена COL1A 12046 G->T связаны с развитием остеопороза среди представительниц обеих национальностей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Остеопороз; полиморфизмы генов; генотип; национальности;

POLYMORPHISM OF SOME GENES OF BONE TISSUE METABOLISM (VDR BSM1 C.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G->T) AMONG THE REPRESENTATIVES OF RUSSIAN AND BURYAT NATIONALITIES

© S.V. Verkhoturova, S.U. Tsarenok, V.V. Gorbunov, T.A. Aksenova

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

AIM: to study the frequency of genotypes of the polymorphous markers of bone remodeling (vita-min D receptor gene Bsm1 c.IVS7G> A, the lactase gene LCT 13910 T> C and collagen gene COL1A 12046 G-> T) in healthy people and patients with osteoporosis (OP) among the indigenous population of Trans-baikalia of Russian and Buryat nationalities.

METHODS: 97 women with OP were examined: 49 Russian and 48 Buryat women aged from 50 to 80 years. 123 healthy women of the same age group were included in the control group. DNA sam-ples for molecular genetic analysis were taken from peripheral venous blood.

RESULTS: The recessive allele A of the VDR – Bsm1c.IVS7G> A polymorphism was accumulated in women of Buryat nationality, but the statistical significance was not observed (OR = 1.04, CI [0.68, 1.6]). C al-lele of LCT -13910 T> C polymorphism was associated with the development of OP among the representa-tives of Buryat nationality.

CONCLUSION: The gene allele VDR Bsm1 c.IVS7G> A and the LCT -13910 T>C leads to a higher risk of OP in women of Buryat nationality. The genotypes G/T and T/T of COL1A12046 G-> T are associated with the development of OP in people of both nationalities.

KEYWORDS: Osteoporosis; the polymorphism of genes; nationalities;

ОБОСНОВАНИЕ

Остеопороз – это мультифакториальное заболевание скелета, характеризующееся снижением минеральной плотности костной ткани и повышением риска переломов. По данным Всемирной Организации Здравоохранения остеопороз вышел по значимости на четвёртое место среди неинфекционных заболеваний после сердечно-сосудистой, онкологической патологии, диабета и представляет

большую социальную и медицинскую проблему для общества [1].

Хорошо известно, что своевременная профилактика и ранняя диагностика различных заболеваний являются актуальными вопросами современной медицины. В клинической практике риск развития мультифакториальных заболеваний определяют посредством молекулярного тестирования генов, получивших название кандидат-генов [1].

Таблица 1. Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов VDR Bsm1 c.IVS7 G >A среди больных ОП и здоровых женщин

Группа	Генотип, %			Аллель, p	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Русские, контроль (n=47)	15 (31,9%)	21 (44,7%)	11 (23,4%)	0,543	0,457
Русские с остеопорозом (n=49)	16 (32,7%)	26 (53%)*	7 (14,3%)*	0,592	0,408
Буряты, контроль (n=74)	40 (54%)*	33 (45%)	1 (1%)	0,764*	0,236
Буряты с остеопорозом (n=48)	25 (52%)	19 (39%)	4 (9%)	0,719	0,281

Примечания: * – статистическая значимость с группой клинического сравнения.

Таблица 2. Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов VDR Bsm1 c.IVS7 G >A среди больных ОП и здоровых женщин

Группа	Генотип, %			Аллель, p	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Русские, контроль (n=40)	16 (40%)*	22 (55%)*	2 (5%)*	0,68	0,33
Русские с остеопорозом (n=48)	10 (21%)*	34 (71%)*	4 (8%)*	0,563	0,44
Буряты, контроль (n=73)	42 (58%)*	31 (42%)*	0 (%)	0,79	0,21
Буряты с остеопорозом (n=47)	28 (60%)*	19 (40%)*	0 (%)	0,798	0,202

Примечания: * – статистическая значимость с группой клинического сравнения.

Близнецовые и семейные исследования показали, что минеральная плотность костной ткани (МПК) и обновление костей находятся под генетическим контролем. Гены-кандидаты можно разделить на пять основных категорий: гены ответственные за гомеостаз кальция; гены, мутации в которых приводят к гормональной дисфункции; гены ответственные за метаболизм и регуляцию остеобластов и остеокластов; гены, белковые продукты которых входят в матрикс костной ткани и гены ответственные за липопротеиновый обмен [1].

Буряты – коренное население Бурятии, Усть-Ордынского Бурятского автономного округа Иркутской области, Забайкальского края. Подверженность к многофакторным заболеваниям (сердечно-сосудистая патология, гестоз, хроническая обструктивная болезнь легких, сахарный диабет I типа) у бурят и русских определяется спектром различных генетических маркеров [2]. Так, в работе Т.П. Бардымовой установлено, что заболеваемость СД I типа среди бурятского населения ниже в 18 раз (2,14 на 100 тыс. человек), а распространенность ниже в 9 раз соответствующих российских показателей. Только 0,02 % лиц бурятской национальности страдает СД I типа (в промышленно развитых странах – от 4 до 6 %). Поздние сосудистые осложнения (диабетическая ретинопатия (22,7 %) и диабетическая нефропатия (10,6 %)) у больных СД I типа бурятской популяции встречаются реже, чем в общей популяции [3]. Однако исследования полиморфизма генов, принимающих участие в метаболизме костной ткани, до настоящего времени не проводились.

ЦЕЛЬ

Изучить частоту встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов ремоделирования костной ткани (гена рецептора витамина D Bsm1 c.IVS7G >A, гена лактазы LCT 13910 T>C и гена коллагена COL1A 12046 G->T) у здоровых и больных ОП женщин русской и бурятской национальностей.

МЕТОДЫ

В одномоментное исследование вошло 97 женщин с ОП: 49 русской и 48 бурятской национальностей в возрасте от 50 до 80 лет. В качестве контрольной группы для оценки распределения генотипов в популяциях было обследовано 123 здоровых женщины, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой. Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из периферической венозной крови. Для исследования была выбрана точка мутации гена рецептора витамина D (VDR) Bsm1 c.IVS7G >A, гена лактазы (LCT) -13910 T>C и гена коллагена COL1A 12046 G->T. В работе использовались стандартные наборы праймеров НПФ «Литех» – «SNP» (Москва). Визуализация продуктов амплификации выполнена с помощью электрофореза в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия, проходящем в ультрафиолетовом цвете. Диагноз ОП устанавливался согласно «Российским клиническим рекомендациям по остеопорозу» 2012 года, включая данные денситометрии и наличие остеопоротических переломов в анамнезе. Статистическая обработка данных проводилась с использованием on-line калькулятора (<http://gen-exp.ru/calculator.php>) а также программы для расчета относительного риска KRelRisk v 1.1 для Linux (<http://forum.disser.ru/index.php?showtopic=571>). Для сравнения частот генотипов и аллелей в двух группах использовали критерий χ^2 . Различия между группами при значении уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У 220 женщин было проведено молекулярно-генетическое исследование с определением следующих генных полиморфизмов: VDR – Bsm1 c.IVS7 G>A, LCT -13910 T>C, COL1A – 12046 G->T. Распределение аллелей и генотипов исследованных полиморфизмов у пациенток с ОП и здоровых женщин обеих национальностей представлено в таблицах 1–3.

Таблица 1. Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов VDR Bsm1 c.IVS7 G >A среди больных ОП и здоровых женщин

Группа	Генотип, %			Аллель, p	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Русские, контроль (n =48)	35 (72%)	13(28%)	0 (0%)	0,865	0,135*
Русские с остеопорозом (n=49)	32 (65%)	17 (35%)	0 (0%)	0,827	0,173*
Буряты, контроль (n=75)	73 (97,3%)	2 (2,7%)	0 (%)	0,987*	0,013
Буряты с остеопорозом (n=48)	46 (95,8%)	1 (2,1%)	1 (2,1%)	0,969*	0,031

Примечания: * – статистическая значимость с группой клинического сравнения.

При исследовании аллелей и генотипов по полиморфизму VDR – Bsm1 c.IVS7G>A (таблица 1) мы выявили, что генотип G/G достоверно чаще встречался среди здоровых женщин бурятской национальности ($p=0,01$). Генотипы G/A и A/A, содержащиеся в своём составе минорный аллель A, преобладали в группе русских женщин с ОП ($p=0,003$). При анализе частоты встречаемости аллелей так же было выявлено преобладание доминантного аллеля G в группе здоровых женщин бурятской национальности ($p=0,001$). Было установлено, что в группе в бурят с ОП происходило накопление минорного аллеля A, который у индивидуумов повышает риск развития ОП, однако статистической значимости выявлено не было (OR=1,04, ДИ [0,68; 1,6]).

При анализе связей распределения аллелей и генотипов полиморфизма LCT -13910 T>C (таблица 2) нами было установлено, что генотипы C/C и C/T среди женщин с ОП одинаково часто встречались среди представительниц обеих национальностей ($p=0,04$). Однако, следует отметить наличие в группе русских женщин рискованного мутантного генотипа T/T, способствующего сохранению лактазной активности ($p=0,0005$). Было выявлено, что аллель C ассоциирован с развитием ОП в большей степени среди представительниц бурятской национальности, однако статистической значимости получено не было (OR=1,04, ДИ [0,65; 1,6]).

При анализе частоты встречаемости G и T аллелей гена COL1A 12046 G->T (таблица 3) нами было выявлено, что среди женщин в обеих группах в большинстве случаев встречался гомозиготный доминантный аллель G, причем у представительниц бурятской национальности он встречался достоверно чаще – около 97% ($p=0,0003$), а минорный аллель T преобладал среди русских женщин (0,173) ($p=0,0003$). Так же было выявлено, что генотипы G/T и T/T полиморфизма гена COL1A 12046 G->T связаны с развитием ОП среди женщин обеих национальностей (OR 1,2 ДИ [0,8; 1,7]).

ОБСУЖДЕНИЕ

Эндокринная система витамина D играет важную роль в регуляции гомеостаза кальция и фосфата. Эта деятельность опосредована рецептором витамина D, который особым образом связывается с 25-дигидрокси-витамином D3 для регуляции развития архитектоники костной ткани, гормональной секреции инсулина а так же, иммунной функции. Ген рецептора витамина D (VDR) локализуется на 12-й хромосоме, имеет 11 экзонов и приблизительно 75 килобайт генома ДНК. В настоящее время исследовано влияние на МПК и риск развития переломов ряда полиморфизмов VDR, таких как FokI (Allele F/f, SNP C>T, rs2228570), Bsm I (Allele B/b,

SNP G>A, rs1544410), Apa I (Allele A/a, SNP C>A, rs 17879735) (Allele T/t, SNP T>C, rs 731236). Некоторые из этих исследований выявили значительную связь полиморфизма гена VDR с развитием остеопороза, в то время как другие, достоверной взаимосвязи не обнаружили. Данные несоответствия могут быть преходящими вследствие генетической гетерогенности, смешения национальностей, влияния внешней среды и генетического взаимодействия [4].

P. Garner et al. (2005) изучали связь полиморфизмов гена VDR с возникновением переломов, вертебральной (позвоночные) и невертебральной локализации [5]. Была выявлена ассоциация между увеличением частоты рецессивного аллеля B (A) единичного нуклеотидного полиморфизма в сайте рестрикции BsmI в восьмом интроне гена у женщин с впервые зарегистрированными переломами. Относительный риск подобных переломов для женщин с генотипом Bb (GA) составил 1.5 (95% DI, 0,95–2,40), а в случае наличия генотипа BB (AA) 2.10 (95% доверительный интервал, 1,16–3,79) по сравнению с женщинами несущими генотип bb (GG). [5].

С.В. Юренева и соавторы выявили взаимосвязь генотипа G/G полиморфизма rs1544410 гена VDR с увеличением риска переломов дистального отдела лучевой кости [6]. В нашем исследовании расчет относительного риска выявил положительную ассоциацию аллеля A гена VDR полиморфизма Bsm1 c.IVS7G >A с развитием ОП среди представительниц бурятской национальности (OR=1,04, ДИ [0,68; 1,6]). Среди русских женщин подобной взаимосвязи выявлено не было (OR=0,2, ДИ [0,7; 1,7]).

Ген COL1A1 кодирует аминокислотную последовательность альфа-1 цепь белка коллагена 1 типа. Коллаген представляет собой белковую основу соединительных тканей, в том числе костной. Благодаря коллагену костная ткань сочетает твердость и прочность с гибкостью и эластичностью. Полиморфизм гена COL1A1 представляет собой точечную замену нуклеотида гуанина на тимин, что приводит к нарушению сайта связывания для фактора транскрипции гена COL1A1 в области первого интрона. У носителей варианта T данного полиморфизма наблюдается нарушение нормального соотношения субъединиц в молекуле коллагена, что приводит к ухудшению его механических свойств, несовершенному остеогенезу, развитию синдрома Элерса-Данло и идиопатическому (спонтанному) остеопорозу. Вследствие этого носители варианта T, особенно женщины в постменопаузе, гомозиготные по данному варианту, подвержены остеопорозу, костным переломам. [7]. Идентификация полиморфизма регуляторной области гена COL1A1 оказалась наиболее продуктивной. Так S.F.A. Grant и соавторы установили, что G/T гетерозиготы имели более низкую минеральную плотность костной ткани нежели G/G

гомозиготы (СС) в двух популяциях британских женщин. У женщин, имеющих тяжелый остеопороз и компрессионные переломы позвонков в анамнезе, в 54% определялись генотипы с рецессивным аллелем Т (G/T и T/T), по сравнению с группой контроля – 27%. [8].

В нашем исследовании также была выявлена взаимосвязь между присутствием генотипов G/T и T/T полиморфизма гена COL1A 12046 G->T и развитием ОП среди женщин как русской, так и бурятской национальностей.

Ген LPH (LCT) кодирует аминокислотную последовательность фермента лактазы. Этот фермент вырабатывается в тонком кишечнике и участвует в расщеплении молочного сахара – лактозы. Лактаза обычно присутствует у детей, во взрослом состоянии (обычно в возрасте 3–10 лет) фермент перестает вырабатываться. Употребление молочных продуктов в этом случае приводит к кишечным расстройствам вследствие неусвоения лактозы.

Полиморфизм С-13910С>Т гена лактазы (LPH) влияет на выработку лактазы у взрослых. Эта область генома представляет собой элемент внутренней регуляции транскрипционной активности промотора гена лактазы. При этом нормальный вариант полиморфизма С связан со снижением синтеза лактазы во взрослом состоянии, а мутантный вариант Т – с сохранением у взрослых высокой лактазной активности. Таким образом, гомозиготные носители варианта С не способны к усвоению лактозы, в то время как го-

мозиготные носители варианта Т легко усваивают лактозу и хорошо переносят молочные продукты. Женщины в постменопаузе, располагающие вариантом С, имеют больший риск развития остеопороза и требуют назначения препаратов кальция. [9]. Мутантный аллель Т нами был обнаружен только среди представительниц русской национальности, что обуславливает сохранение лактазной активности в данной группе. Так же была подтверждена гипотеза об ассоциации аллеля С с развитием заболевания, однако только в группе женщин бурятской национальности.

ВЫВОДЫ

1. Женщины бурятской национальности при наличии аллеля А гена VDR полиморфизма Bsm1 c.IVS7G >A, аллеля С гена лактазы LCT -13910 T>C имеют более высокий риск развития остеопороза, чем русские женщины.
2. Наличие генотипов G/T и T/T полиморфизма гена COL1A 12046 G->T связано с развитием остеопороза среди представительниц обеих национальностей.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Москаленко М.В. Полиморфизм ряда генов метаболизма костной ткани и остеопороз у человека: Автореф. дисс. ... канд.мед.наук. – СПб; 2011. [Moskalenko MV. Polimorfizm ryada genov metabolizma kostnoy tkani i osteoporoz u cheloveka [dissertation]. Saint Petersburg; 2011. (in Russ.)]
2. Еремина Е.А., Кучер А.Н. Генетические факторы, предрасполагающие к развитию многофакторных заболеваний у представителей двух этнических групп Республики Бурятия // Сибирский медицинский журнал. — 2011. — Т. 108. — № 8. — С. 8–12. [Eremina ER, Kucher AN. Research of the genetic factors contributing to development of multifactorial diseases in representatives of two ethnic groups of the Buryat Republic. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011;108(8):8-12. (in Russ.)]
3. Бардымова Т.П. Этнические аспекты сахарного диабета у народов Прибайкалья: автореф. дисс. ... докт.мед.наук. – Иркутск, 2007. – 37 с. [Bardymova TP. Etnicheskie aspekty sakharnogo diabeta u narodov Pribaykal'ya. [dissertation] Irkutsk; 2007. 37 p. (in Russ.)]
4. Singh M, Singh P, Singh S, et al. Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism influences the risk of osteoporosis in postmenopausal women of Northwest India. *Arch Osteoporos*. 2013;8:147. doi: 10.1007/s11657-013-0147-y.
5. Garnero P, Munoz F, Borel O, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(8):4829-4835. doi: 10.1210/jc.2005-0364.
6. Юреньева С.В., Донников А.Е., Бордакова Е.В., и др. Клинико-прогностическое значение молекулярно-генетических факторов при постменопаузальном остеопорозе // Остеопороз и остеопатии. – 2015. – Т. 18. – №1. – С. 3-6. [Yureneva SV, Donnikov AE, Bordakova EV, et al. Clinical and prognostic significance of molecular genetic factors in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2015;18(1):3-6. (in Russ.)] doi: 10.14341/osteo201513-6
7. Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone*. 2003;32(6):711-717. doi: 10.1016/s8756-3282(03)00087-5.
8. Grant SF, Reid DM, Blake G, et al. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet*. 1996;14(2):203-205. doi: 10.1038/ng1096-203.
9. Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Hum Mol Genet*. 2003;12(18):2333-2340. doi: 10.1093/hmg/ddg244.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

Светлана Валерьевна Верхотурова, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней [Svetlana V. Verkhoturova, MD]; адрес: 672000 г. Чита, ул. Горького, 39А. [address: Chita, Gorkovo st., 39A, 672000; телефон: (3022) 212-317 доб. 304; e-mail: svetlanalahm@rambler.ru.

Светлана Юрьевна Царенок, к.м.н., ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней [Svetlana U. Tsarenok, MD, PhD, senior lecturer]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7065-5737>; eLibrary SPIN: 6086-0889; e-mail: sveta-tsarenok@yandex.ru. Владимир Владимирович Горбунов, профессор, д.м.н., заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней [Vladimir V. Gorbunov, MD, PhD, Professor]; eLibrary SPIN: 5628-2334; e-mail: gorbunovv2008@mail.ru. Татьяна Александровна Аксенова, д.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней [Tatiana A. Aksenova, MD, PhD, Professor assistant]; eLibrary SPIN: 3275-2360; e-mail: tatianaaks@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Верхотурова С.В., Царенок С.Ю., Горбунов В.В., Аксенова Т.А. Полиморфизм некоторых генов метаболизма костной ткани (VDR Bsm1 c.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G->T) у представительниц русской и бурятской национальностей. // Остеопороз и остеопатии. — 2017. — Т. 20. — №1. — С.3-7. doi: 10.14341/osteo201713-6

TO CITE THIS ARTICLE:

Verkhoturova SV, Tsarenok SU, Gorbunov VV, Aksenova TA. Polymorphism of some genes of bone tissue metabolism (VDR Bsm1 c.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G->T) among the representatives of Russian and Buryat nationalities. *Osteoporosis and bone diseases*. 2017;20(1):3-7. doi: 10.14341/osteo201713-6