

Zyablicev D. S., Larin A. S. Оцінка ризику розвитку постменопаузного остеопорозу: роль поліморфізмів RS1800012 і RS1107946 гена COL1A1 та RS731236 і RS11568820 гена VDR = Assessment of post-menopausal osteoporosis development risk: role of polymorphisms RS1800012, RS1107946 of a gene of COL1A1 and RS731236 and RS11568820 of a gene of VDR. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(2):333-340. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.18861](https://doi.org/10.5281/zenodo.18861)
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%282%29%3A333-340>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/569107>
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.18861>
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011 – 2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.
Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.
The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).
© The Author (s) 2015;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 20.10.2014. Revised 18.01.2015. Accepted: 25.02.2015.

УДК 618.173:616.8+616.4]+616.71-008.64:575

**ОЦІНКА РИЗИКУ РОЗВИТКУ ПОСТМЕНОПАУЗНОГО ОСТЕОПОРОЗУ: РОЛЬ
ПОЛІМОРФІЗМІВ RS1800012 І RS1107946 ГЕНА COL1A1 ТА RS731236 І
RS11568820 ГЕНА VDR
ASSESSMENT OF POST-MENOPAUSAL OSTEOPOROSIS DEVELOPMENT RISK:
ROLE OF POLYMORPHISMS RS1800012, RS1107946 OF A GENE OF COL1A1 AND
RS731236 AND RS11568820 OF A GENE OF VDR**

**Д. С. Зяблицев, О. С. Ларін
D. S. Zyablicev, A. S. Larin**

**Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації
ендокринних органів і тканин МОЗ України,
м. Київ, Україна
Ministry of Healthcare of Ukraine
Ukrainian science-practical centre of endocrine surgery, transplantation of endocrine
organs and tissues
Kyiv, Ukraine**

Abstract

Aim: to define the risk of the development of postmenopausal osteoporosis (PO) in dependence of polymorphisms rs731236 and rs11568820 of VDR gene and rs1800012 and rs1107946 of COL1A1 gene. Single nucleotide polymorphisms have defined by means of polymerase chain reaction with electroforetic detection. As a result of research the following conclusion were drawn: major homozygote CC of polymorphism rs 731236 of VDR gene had a

protective influence (OR=0,18) concerning development of PO whereas minor genotype TT of this one considerably increased the risk of PO (OR=5,42); major homozygous genotype AA of polymorphism rs11568820 of VDR gene had decreased (OR=0,19), and minor homozygous genotype GG had increased (OR=8,00) the risk of development of PO. The risk of development of PO in the presence of major genotype GG of polymorphism rs1800012 of COL1A1 gene had decreased (OR=0,19), and presence of homozygote TT in this genotype had increased the risk of development of PO (OR=4,50); major homozygote GG of polymorphism rs1107946 of COL1A1 gene had promoted decrease (OR=0,15) the risk of development of PO; minor homozygote TT of this polymorphism, as well as in the previous cases, had increased (OR=3,34) risk of development of PO. Thus, presence at the studied polymorphisms of minor alleles (especially in homozygous option) significantly increased risk of development of PO.

Key words: postmenopausal osteoporosis, gene VDR, gene COL1A1, rs1800012, rs1107946, rs731236, rs11568820.

Резюме

ОЦЕНКА РИСКА РАЗВИТИЯ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА: РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ RS1800012 И RS1107946 ГЕНА COL1A1 И RS731236 И RS11568820 ГЕНА VDR. Цель работы – определение риска развития постменопаузального остеопороза (ПО) в зависимости от полиморфизмов rs731236 и rs11568820 гена VDR и rs1800012 и rs1107946 гена COL1A1. Однонуклеотидные полиморфизмы определяли с помощью полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией. В результате исследования были сделаны следующие выводы: мажорная гомозигота CC полиморфизма rs731236 гена VDR имела протэктивное влияние (OR=0,18) в отношении развития ПО, тогда как минорный генотип TT этого полиморфизма значительно увеличивал риск ПО (OR=5,42); мажорный гомозиготный генотип AA полиморфизма rs11568820 гена VDR снижал (OR=0,19), а минорный гомозиготный генотип GG повышал (OR=8,00) риск развития ПО. Риск развития ПО при наличии мажорного генотипа GG полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 снижался (OR=0,19), а наличие гомозиготы TT в этом генотипе увеличивала риск развития ПО (OR=4,50); мажорная гомозигота GG полиморфизма rs1107946 гена Col1A1 способствовала снижению (OR=0,15) риска развития ПО; а минорная гомозигота TT этого полиморфизма, как и в предыдущих случаях, увеличивала (OR=3,34) риск развития ПО. Таким образом, присутствие в изученных полиморфизмах минорных аллелей (особенно в гомозиготном варианте) существенно увеличивало риск развития ПО.

Ключевые слова: постменопаузальный остеопороз, ген VDR, ген COL1A1,

rs1800012, rs1107946, rs731236, rs11568820.

Резюме

Мета роботи - визначення ризику розвитку постменопаузного остеопорозу (ПО) в залежності від поліморфізмів rs731236 і rs11568820 гена VDR та rs1800012 і rs1107946 гена COL1A1. Однонуклеотидні поліморфізми визначали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з електрофоретичною детекцією. В результаті дослідження були зроблені наступні висновки: мажорна гомозигота CC поліморфізму rs731236 гена VDR мала протективний вплив (OR=0,18) щодо розвитку ПО, тоді як мінорний генотип TT цього поліморфізму значно збільшував ризик ПО (OR=5,42); мажорний гомозиготний генотип AA поліморфізму rs11568820 гена VDR знижував (OR=0,19), а мінорний гомозиготний генотип GG підвищував (OR=8,00) ризик розвитку ПО. Ризик розвитку ПО за наявності мажорного генотипу GG поліморфізму rs1800012 гену COL1A1 знижувався (OR=0,19), а наявність гомозиготи TT в цьому генотипі збільшувала ризик розвитку ПО (OR=4,50); мажорна гомозигота GG поліморфізму rs1107946 гену CollA1 сприяла зниженню (OR=0,15) ризику розвитку ПО; а мінорна гомозигота TT цього поліморфізму, як і в попередніх випадках, збільшувала (OR=3,34) ризик розвитку ПО. Таким чином, наявність у вивчених поліморфізмах мінорних алелей (особливо в гомозиготному варіанті) суттєво збільшувало ризик розвитку ПО.

Ключові слова: постменопаузний остеопороз, ген VDR, ген COL1A1, rs1800012, rs1107946, rs731236, rs11568820

Вступ

Постменопаузний остеопороз (ПО) – системне захворювання скелету багатофакторної природи, яке виникає у жінок в період постменопаузи, як наслідок дефіциту статевих гормонів, перед усім естрогенів. Характерними його рисами є зниження кісткової маси, особливо мінеральної щільності хребців, шийки стегнової кістки та порушення мікроархітекtonіки кісткової тканини. Це призводить до зниження міцності кістки та підвищення ризику розвитку переломів [2].

Геномний механізм розвитку ПО являє собою взаємодію багатьох генів-кандидатів. В літературі широко розглядається роль гена рецептора до вітаміну D (VDR) та гена колагену 1 типу (COL1A1). Так, VDR є медіатором дії 1,25-дигідроксивітаміну D₃ на кісткову тканину. Цей механізм реалізується шляхом модуляції транскрипції генів-мішеней та регуляції всмоктування кальцію в кишківнику і мінеральній щільності кістки

[7]. Поліморфізми rs731236 і rs11568820 гена VDR пов'язані з розвитком багатьох м'язево-скелетних порушень [8]. При цьому є дані, що генотип TT rs731236 (TaqI) поліморфізму асоційовано з низькою мінеральною щільністю кісток, та підвищеним ризиком розвитку остеопорозу. Це супроводжується зниженням синтетичних процесів в кістковій тканині [6]. Є дані, щодо впливу поліморфізму rs11568820 (Cdx2) на мінеральну щільність кістки поперекового відділу хребта та шийки стегнової кістки [11].

Нормальна експресія гена COL1A1 розглядається як визначальний фактор щільності кісткової тканини [9]. Поліморфізми rs1800012 (Sp1) і rs1107946 (T1997G) гена COL1A1 асоційовані як зі зниженою мінералізацією кістки, так і зі зниженням її міцності, підвищенням ламкості, порушенням геометрії кісткової тканини [10]. Поліморфізм rs1800012 представляє делецію або заміну гуаніну (гліцину) на тимін в 1245 позиції в сайті зв'язку з транскрипційним фактором Sp1 гену COL1A1 – в молекулі проколагену з'являється перелом чи загин, нормальна трійна спіраль проколагену не утворюється [1]. Прогресуюче зменшення кісткової маси та, відповідно, збільшення частоти переломів також зв'язано з даним видом поліморфізму [3]. За даними [12], існує сильний зв'язок поліморфізму rs1107946 з мінералізацією кісткової тканини в ділянці остистих відростків поперекових хребців.

Тому **метою** роботи стало визначення ризику розвитку ПО в залежності від поліморфізмів rs731236 і rs11568820 гена VDR та rs1800012 і rs1107946 гена COL1A1.

Матеріал і методи

Досліджені 74 жінки у постменопаузному періоді, серед яких 30 пацієнок (40,5 %) без ПО склали контрольну групу генетичних досліджень (контроль). 44 жінки з проявами ПО (59,5 %) увійшли до групи дослідження (випадки). Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) виявляли однонуклеотидні поліморфізми rs731236 та rs11568820 гена VDR та rs1800012 й rs1107946 гена COL1A1. ПЛР проводили за стандартом: виділення ДНК, проведення реакції ампліфікації зі специфічними праймерами, ферментативний гідроліз продуктів ампліфікації, електрофоретичне розподілення в поліакриламідному гелі із подальшою реєстрацією отриманих фрагментів ДНК у минушому УФ-світлі. Статистичні розрахунки здійснювали з використанням програми «STATISTIKA 7.0» (StatSoft, Inc.). Достовірність різниць в розподіленні генотипів між групами, а також відповідність розподілення до закону Харді-Вайнберга (HWE) оцінювали за допомогою аналізу таблиць зчеплення за критерієм χ^2 . Розподіл генотипів в групах з ПО і без нього вважали достовірним при відповідності до HWE для груп контролів та випадків. Ступінь асоціації генотипів з наявністю ПО визначали за величиною відношення шансів (OR), що характеризує відносний ризик (шанси) розвитку захворювання в залежності від генотипу

досліджуваного гена. Про достовірне підвищення ризику свідчить величина OR більше за 1, на достовірне зниження – величина менша за 1 (за умови потрапляння до достовірного інтервалу, CI=95 %).

Результати та їх обговорення

HWE для групи без і за наявності ПО для поліморфного варіанту гена VDR rs731236 виконувався ($\chi^2=0,15$; $p=0,97$). Як видно з даних табл. 1, була виявлена залежність розподілення генотипів поліморфізму rs731236 гена VDR від наявності або відсутності ПО ($p(\chi^2)=0,04$). Наявність мажорної гомозиготи CC знижувало ризик розвитку ПО в 5,5 рази (OR=0,18; CI=0,04-0,88), тоді, як гомозигота мінорного генотипу TT збільшувала ризик розвитку захворювання в 5,4 рази (OR=5,42; CI=0,98-29,92).

Таблиця 1. Достовірність різниць у розподіленні генотипів поліморфізму rs731236 гена VDR між групами жінок без і за наявності ПО ($p(\chi^2)$) і величини відношення шансів (OR) в залежності від генотипу

Генотипи	Контроль	Випадки	χ^2	$p(\chi^2)$	OR	95 % достовірний інтервал
CC	14	6	6,44	0,04	0,18	0,04 - 0,88
CT	12	18			1,04	0,27 - 3,96
TT	4	20			5,42	0,98 - 29,92

Таким чином, можна стверджувати, що у досліджуваних хворих наявність мажорної гомозиготи поліморфізму rs731236 гена VDR - CC мало протективний ефект по відношенню до розвитку ПО, тоді як наявність мінорної гомозиготи TT - навпаки, сприяло розвитку ПО. Ризик розвитку ПО в першому випадку було знижено в 5,5 рази, а у другому підвищено в 5,4 рази.

HWE для групи без і за наявності ПО для поліморфних варіантів гена VDR rs11568820 виконувався ($\chi^2=0,18$; $p=0,96$). Як видно з даних табл. 2, була виявлена залежність розподілення генотипів поліморфізму rs11568820 гена VDR від наявності або відсутності ПО ($p(\chi^2)=0,04$). Наявність мажорної гомозиготи AA знижувало ризик розвитку ПО в 5,3 рази (OR=0,19; CI=0,04-0,86), тоді як гомозигота мінорного генотипу GG збільшувала ризик у 8 разів (OR=8,00; CI=0,88-72,70).

Таблиця 2. Достовірність різниць у розподіленні генотипів поліморфізму

rs11568820 гена VDR між групами жінок без і за наявності ПО ($p(\chi^2)$) і величини відношення шансів (OR) в залежності від генотипу

Генотипи	Контроль	Випадки	χ^2	$p(\chi^2)$	OR	95 % достовірний інтервал
AA	16	8	6,49	0,04	0,19	0,04 - 0,86
AG	12	20			1,25	0,33 - 4,73
GG	2	16			8,00	0,88 - 72,70

Тобто, наявність гомозиготного мажорного генотипу AA поліморфізму rs11568820 гена VDR мало протективний ефект по відношенню до розвитку ПО, тоді як гомозиготний мінорний генотип GG, навпаки, був пов'язаний з розвитком ПО. Ризик розвитку ПО в першому випадку був знижений в 5,3 рази, а у другому – підвищений в 8,0 разів.

HWE для групи без і за наявності ПО для поліморфних варіантів rs1800012 гена Col1A1 виконувався ($\chi^2=4,12$; $p=0,13$). Як видно з даних табл. 3, була виявлена залежність розподілення генотипів поліморфізму rs1800012 гена Col1A1 від наявності або відсутності ПО ($p(\chi^2)=0,06$). Наявність мажорної гомозиготи GG знижувало ризик розвитку ПО в 5,1 рази (OR=0,19; CI=0,047-0,824), тоді як гомозигота мінорного генотипу TT збільшувала ризик в 4,5 рази (OR=4,50; CI=0,810-24,986).

Таблиця 3. Достовірність різниць у розподіленні генотипів поліморфізму rs1800012 гена Col1A1 між групами жінок без і за наявності ПО ($p(\chi^2)$) і величини відношення шансів (OR) в залежності від генотипу

Генотипи	Контроль	Випадки	χ^2	$p(\chi^2)$	OR	95% достовірний інтервал
GG	18	10	5,82	0,06	0,19	0,047 - 0,824
GT	8	16			1,57	0,374 - 6,611
TT	4	18			4,50	0,810 - 24,986

HWE для групи без ПО і з ним для поліморфних варіантів rs1107946 гена Col1A1 виконувався ($\chi^2=1,01$; $p=0,63$). Як видно з даних табл. 4, виявлена залежність розподілення генотипів поліморфізму rs1107946 гена Col1A1 від наявності або відсутності ПО ($p(\chi^2)=0,03$).

Таблиця 4. Достовірність різниць у розподіленні генотипів поліморфізму rs1107946 гена Coll1A1 між групами жінок без і за наявності ПО ($p(\chi^2)$) і величини відношення шансів (OR) в залежності від генотипу

Генотипи	Контроль	Випадки	χ^2	$p(\chi^2)$	OR	95 % достовірний інтервал
GG	18	8	6,87	0,03	0,15	0,03 - 0,66
GT	6	16			2,29	0,49 - 10,60
TT	6	20			3,34	0,73 - 15,21

Наявність мажорної гомозиготи GG поліморфізму rs1107946 гена Coll1A1 знижувало ризик розвитку ПО в 6,6 рази (OR=0,15; CI=0,03-0,66). Мінорна гомозигота TT збільшувала ризик в 3,3 рази (OR=3,34; CI=0,73-15,21).

Тобто, наявність гомозиготного мажорного генотипу GG поліморфізму rs1107946 гена Coll1A1 мало протективний ефект у відношенні розвитку ПО, а гомозиготний мінорний генотип TT, навпаки, був пов'язаний з розвитком ПО. Ризик розвитку ПО в першому випадку був знижений в 6,6 рази, а у другому – підвищений в 3,3 рази.

Висновки:

1) Мажорна гомозигота CC поліморфізму rs731236 гена VDR мала протективний вплив (OR=0,18), щодо розвитку ПО, тоді як мінорний генотип TT цього поліморфізму значно збільшував ризик ПО (OR=5,42).

2) Щодо поліморфізму rs11568820 гена VDR спостерігалася схожа картина: мажорний гомозиготний генотип AA знижував (OR=0,19), а мінорний гомозиготний генотип GG підвищував (OR=8,00) ризик розвитку ПО.

3) Ризик розвитку ПО за наявності мажорного генотипу GG поліморфізму rs1800012 гену COL1A1 знижувався (OR=0,19). Наявність гомозиготи TT в цьому генотипі збільшувала ризик розвитку ПО (OR=4,50).

4) Мажорна гомозигота GG поліморфізму rs1107946 гену Coll1A1 сприяла зниженню (OR=0,15) ризику розвитку ПО. Мінорна гомозигота TT цього поліморфізму, як і в попередніх випадках, збільшувала (OR=3,34) ризик розвитку ПО.

Список літератури:

1. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. чл. корр. РАН, проф. Е. С. Северина, проф. А. Я. Николаева. – 2-е изд. Испр. И доп. – М.:ГЭОТАР – МЕД, 2002. – 448 с.: ил. Серия «XXI века».

2. Гинекология: национальное руководство /под. ред. В. И. Кулакова, И. Б. Манухина, Г. М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011, с. 848.
3. Гольцер Б. И. Определение генетически опосредованного риска развития остеопороза. Профилактика остеопороза / Б. И. Гольцер // Архив новостей. – 2010. – №6 (12). – С. 112–116.
4. Зяблицев Д. С. Вплив поліморфізму гена COL1A1 (+1245 G\T) на розвиток остеопорозу у жінок в постменопаузальному періоді // Питання експериментальної та клінічної медицини / Збірник статей, випуск 17, том 4. Донецьк, 2013, с.29-34.
5. Зяблицев Д. С. Зв'язок однонуклеотидних поліморфізмів гена VDR з рівнем остеопорозу гормонів при постменопаузальному остеопорозі // Міжнародний ендокринологічний журнал / Спеціалізований рецензований науково-практичний журнал № 2 (66), 2015 Київ – с. 43-48.
6. О возможной связи развития остеопении с биохимическими и генетическими маркерами костного метаболизма у спортсменов после интенсивной физической нагрузки. Часть 2 / В. С. Огангов, О. Л. Виноградова, Н. С. Дудов, В. С. Баранов, А. С. Миненков, А. В. Бакулин, В. Е. Новиков, О. Е. Кабицкая, М. В. Москаленко, А. С. Глотов, О. С. Глотов, Д. В. Попов / Оригинальные статьи / Остеопороз и остеопатии № 2, 2008, с. 2-5.
7. Романов Г. Н., Силин А. Е., Руденко Э.В. Частота встречаемости полиморфизма гена рецептора к витамину D у женщин с постменопаузальным остеопорозом в республике Беларусь, г. Минск, Республика Беларусь Журнал «Боль. Суставы. Позвоночник» 3(07), 2012 <http://www.mif-ua.com/archive/article/34576>.
8. Collagene type 1 α 1 gene polymorphism in idiopathic osteoporosis men / P. Peris, L. Alvarez, J. Oriola, N. Guanabense, A. Monagal, M. J. Martinez de Osaba, J. Jo, F. Pons, A. M. Ballesta, J. Munoz-Gomez / British Society for Rheumatology / Rheumatology 2000 №39, p. 1222-1225.
9. Liu H., He H., Li S., Yang L., Wang P., Liu C., Wei X., Wu T., He C. / Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of osteoarthritis: a meta-analysis / Exp Biol Med (Maywood) № 239(5) 2014 / p. 559-567.
10. Marozik P., Mosse I., Alekna V., Rudenko E., Tamulaitiene M., Ramanau H., Strazdiene V., Ameliyanovich M., Byshnev N., Gonchar A., Kundas L., Zhur K. / Association between polymorphisms of VDR, COL1A1, and LCT genes and bone mineral density in Belarusian women with severe postmenopausal osteoporosis / Medicina 49 (4) 2013, Kaunas p. 177-184.
11. Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis / Kuen Tak Suh, Il-Soo Eun, Jung Sub Lee / European Spine Journal № 19(9) September 2010, p. 1545–1550. 10 Published online 2010 Apr 2. doi: [10.1007/s00586-010-1385-y](https://doi.org/10.1007/s00586-010-1385-y)
12. Stewart T. L., Roschger P., Misof B. M., Mann V., Fratzl P., Klaushofer K. Association of COL1A1 Sp1 alleles with defective bone nodule formation in vitro and abnormal bone mineralization in vivo / Calcified Tissue International, 77 (2), 2005, p. 113-118.