

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 16, №2

2017



УДК 618.173:616.71-007.234]+615.356:575

МИНЕРАЛЬНАЯ ПЛОТНОСТЬ КОСТНОЙ ТКАНИ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА rs9594759 ГЕНА TNFSF11

© Майлян Э.А.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецкая Народная Республика, 283003, Донецк, пр. Ильича, 16

Резюме: целью исследования явилось изучение показателей остеоденситометрии различных участков скелета у женщин в постменопаузу, имеющих различные генотипы полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11. Обследовано 483 женщины постменопаузального возраста. Исследование включало выполнение денситометрии методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии и детекцию полиморфизма rs9594759 гена TNFSF11 методом ПЦР. Установлено, что в отличие от обладателей генотипов СТ и ТТ, женщины с генотипом СС полиморфизма rs9594759 характеризуются более высокими показателями минеральной плотности кости и Т-критерия в зоне поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, в том числе шеек левого и правого бедра ($p=0,002$ – $p<0,001$). Связь полиморфизма rs9594759 с остеопоротическими изменениями костной ткани дистального отдела предплечья недоминантной руки не установлена ($p>0,05$). Полученные данные целесообразно использовать при разработке прогностических критериев для выявления предрасположенности к заболеванию.

Ключевые слова: ген TNFSF11, полиморфизм rs9594759, минеральная плотность кости, женщины, постменопауза

BONE MINERAL DENSITY IN POSTMENOPAUSAL WOMEN DEPENDING ON TNFSF11 GENE rs9594759 POLYMORPHISM

Maylyan E.A.

Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk People's Republic, 283003, Donetsk, Illich Av., 16

Summary: the study of osteodensitometry indicators at skeleton various sites in postmenopausal women with various genotypes of TNFSF11 gene rs9594759 (C>T) polymorphism was the research objective. 483 postmenopausal women were examined. The study included densitometry with dual-energy X-ray absorptiometry and detection of TNFSF11 gene rs9594759 polymorphism by the PCR method. As opposed to CT and TT genotypes carriers, women with CC genotype of rs9594759 polymorphism had higher rates of bone mineral density and T-criterion in the region of L1-L4 lumbar vertebrae, left and right femoral proximal departments, including left and right femoral necks ($p=0.002$ – $p<0.001$). The association between rs9594759 polymorphism with osteoporotic changes in bone tissue of forearm distal department of the non-dominant arm was not revealed ($p>0.05$). It is expedient to use the obtained data when developing prognostic criteria for detection of predisposition to the disease.

Key words: TNFSF11 gene, rs9594759 polymorphism, bone mineral density, women, postmenopause

Введение

Остеопороз, в том числе постменопаузальный, является классической мультифакториальной патологией, генетическая составляющая которой, формируясь за счет взаимодействия многих генов, определяет до 60-80% случаев заболевания [6, 9]. Это доказано результатами многочисленных эпидемиологических и молекулярно-генетических исследований, семейных и близнецовых наблюдений. Подтверждением важной роли полиморфизмов ряда генов в развитии постменопаузального остеопороза служат и результаты исследований, выполненных в России и странах СНГ [1-3, 5, 7].

Одним из генов кандидатов остеопороза является ген TNFSF11, который кодирует RANKL. Молекула RANKL относится к цитокинам суперсемейства фактора некроза опухолей и является ключевым регулятором остеокластов и ремоделирования костной ткани. Предполагается, что

мутации вышеуказанного гена могут приводить к изменению структурно-функциональных свойств молекул RANKL и, как следствие, изменять активность остеокластов и интенсивность резорбции костной ткани. Одной из таких мутаций может быть однонуклеотидный полиморфизм rs9594759 [7, 8]. Однако, комплексных исследований, посвященных изучению связи полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 с показателями минеральной плотности кости (МПК) различных участков скелета, в том числе по данным центральной и периферической остеоденситометрии, у женщин в постменопаузальном возрасте, не выполнялось.

Цель исследования – изучить уровни МПК поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, в том числе шеек левого и правого бедра, а также дистального отдела предплечья недоминантной руки у женщин в постменопаузальном возрасте в зависимости от генотипов полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11.

Методика

В исследование были включены результаты обследования 483 женщин в постменопаузальном возрасте со стойким отсутствием менструаций как минимум в течение одного года. Критериями исключения явились прием заместительной гормональной и антиостеопоротической терапии, глюкокортикостероидных препаратов, наличие овариоэктомии, эндокринных и метаболических расстройств, гематологических заболеваний, неопластических состояний, хронических заболеваний почек и печени, аутоиммунной патологии, системных заболеваний соединительной ткани, хронических воспалительных заболеваний. Анкетирование и осмотр женщин включал определение возраста, роста, веса и длительности постменопаузального периода. Индекс массы тела (ИМТ) вычисляли по формуле $ИМТ = m/h^2$, где m – масса тела (кг), h – рост (м).

При выполнении остеоденситометрии использовались денситометры «Discovery W QDR Series X-Ray Bone Densitometer» (HOLOGIC Inc., США) и «Prodigy» (GE Medical Systems LUNAR, США). Двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия проводилась на уровне поясничных позвонков L1-L4 ($n=483$), проксимальных отделов левой ($n=480$) и правой ($n=303$) бедренной кости, в том числе зоны шейки левого ($n=384$) и правого ($n=303$) бедра, а также дистального отдела костей предплечья недоминантной руки ($n=96$). Результаты остеоденситометрии представлялись в виде показателей МПК и T-критерия.

Выделение ДНК из периферической крови женщин и детекцию полиморфизма осуществляли с помощью соответствующих наборов производства «ДНК-Технология» (Москва, РФ) методом ПЦР в режиме реального времени. Учет реакции производился на амплификаторе детектирующем ДТ-96 («ДНК-Технология», Москва, РФ).

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программ «MedStat» и «STATISTICA for Windows 6.0» (StatSoft, Inc.). Для проверки распределения показателей на нормальность использовался критерий хи-квадрат (χ^2). В связи с тем, что распределение отдельных показателей отличалось от нормального, в описательной статистике использовались непараметрические методы. Вычислялись медиана (Me), ошибка медианы (me). Для парных сравнений центров независимых выборок использовался W-критерий Вилкоксона. Соответствие распределения данных закону Hardy-Weinberg оценивали с помощью критерия χ^2 . Статистически значимыми отличия считались при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Распределение генотипов полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 в группе обследованных женщин соответствовало равновесию Hardy-Weinberg (табл. 1). При этом аллель С был выявлен в 471 (48,8%), а аллель Т – в 495 случаях (51,2%).

Таблица 1. Соответствие закону Hardy-Weinberg распределения генотипов полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 у обследованных женщин ($n=483$) в постменопаузальном возрасте

Генотипы полиморфизма rs9594759 гена TNFSF11	Установленные частоты		Ожидаемые частоты		P
	abc	%	abc	%	
CC	115	23,8	114,8	23,8	0,97
CT	241	49,9	241,4	50,0	
TT	127	26,3	126,8	26,2	

Возраст отобранных в исследование лиц был в пределах от 38 до 87 лет, а среднее его значение ($Me \pm me$) составило $61,0 \pm 0,50$ лет. Средний показатель длительности постменопаузального периода на момент обследования составил $12,0 \pm 0,49$ лет при минимальном и максимальном его значениях 1 год и 40 лет соответственно. ИМТ равнялся $27,6 \pm 0,27$.

Анализ вышеуказанных характеристик женщин в зависимости от результатов молекулярно-генетического тестирования показал, что обладатели генотипов СС, СТ и ТТ существенно не различались ($p > 0,05$) показателями возраста и ИМТ (табл. 2). Однако, лица, имеющие генотип СС полиморфизма rs9594759, характеризовались более низкими значениями длительности постменопаузы, чем носители генотипов СТ ($p = 0,024$) и ТТ ($p = 0,009$).

Таблица 2. Основные характеристики обследованных женщин в постменопаузальном возрасте в зависимости от генотипа полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11

Показатели	Уровни показателей ($Me \pm me$) среди женщин с генотипом:			Р между группами
	СС, n=115 (группа 1)	СТ, n=241 (группа 2)	ТТ, n=127 (группа 3)	
Возраст, лет	$60,0 \pm 0,89$	$61,0 \pm 0,70$	$61,0 \pm 1,07$	1-2: 0,333 1-3: 0,297 2-3: 0,838
Индекс массы тела	$28,0 \pm 0,54$	$27,3 \pm 0,40$	$27,6 \pm 0,51$	1-2: 0,169 1-3: 0,239 2-3: 0,917
Длительность постменопаузы, лет	$10,0 \pm 0,98$	$13,0 \pm 0,67$	$15,0 \pm 1,00$	1-2: 0,024 1-3: 0,009 2-3: 0,282

В общей группе обследованных женщин уровни МПК и Т-критерия в зоне поясничных позвонков L1-L4 составили соответственно $0,868 \pm 0,010$ г/см² и $-1,60 \pm 0,09$. Средние показатели МПК шейки левого бедра и всего проксимального отдела левой бедренной кости у женщин были определены на уровнях соответственно $0,685 \pm 0,007$ и $0,817 \pm 0,008$ г/см², а соответствующие им значения Т-критерия составили $-1,50 \pm 0,07$ и $-1,00 \pm 0,07$.

Для выяснения возможного влияния генетического фактора на вышеуказанные показатели остеоденситометрии все женщины были распределены в 3 группы, исходя из генотипов полиморфизма rs9594759 (C>T). Это позволило выявить ассоциации полиморфных вариантов гена TNFSF11 со значениями денситометрии поясничных позвонков L1-L4, шейки левой бедренной кости и всего проксимального отдела левого бедра (табл. 3). Женщины с генотипом СС имели более высокие средние уровни МПК и Т-критерия в вышеуказанных участках скелета, чем лица с генотипами СТ и ТТ ($p = 0,002 - p < 0,001$). При этом обладатели генотипов СТ и ТТ существенно не различались ($p > 0,05$) между собой результатами исследования как поясничных позвонков L1-L4, так и проксимального отдела левого бедра, в том числе шейки левой бедренной кости.

Выполнение остеоденситометрии костей правого бедра показало, что в общей группе женщин средние значения МПК и Т-критерия составили соответственно $0,689 \pm 0,008$ и $-1,4 \pm 0,075$ для шейки бедренной кости и $0,818 \pm 0,034$ г/см² и $-1,0 \pm 0,077$ для всего проксимального отдела правого бедра. Анализ вышеуказанных характеристик костей правого бедра позволил выявить, что установленные результаты остеоденситометрии костей правого бедра в общей группе женщин существенно не отличались от данных, полученных слева ($P > 0,05$). Кроме того, справа и слева были выявлены аналогичные ассоциации генотипов полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 со значениями МПК и Т-критерия.

В табл. 4 представлены результаты статистического анализа показателей денситометрии костей правого бедра в зависимости от исследуемых генетических маркеров. Представленные данные свидетельствуют о том, генотип СС сочетался у женщин постменопаузального возраста с более высокими значениями МПК и Т-критерия исследованных участков правого бедра, чем генотипы СТ и ТТ ($p = 0,001 - p < 0,001$). При этом различий между обладателями генотипов СТ и ТТ по показателям остеоденситометрии как всего проксимального отдела бедренной кости, так и шейки правого бедра установлено не было ($p > 0,05$).

Таблица 3. Показатели денситометрии поясничных позвонков L1-L4 и проксимального отдела левого бедра у женщин в постменопаузальном возрасте в зависимости от полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11

Показатели денситометрии	Уровни показателей ($Me \pm me$) в группах женщин с генотипом:			P между группами
	CC (группа 1)	CT (группа 2)	TT (группа 3)	
Минеральная плотность поясничных позвонков L1-L4, г/см ²	0,920±0,022 (n=115)	0,860±0,014 (n=241)	0,859±0,019 (n=127)	1-2: 0,002 1-3: <0,001 2-3: 0,307
T-критерий на уровне поясничных позвонков L1-L4	-1,20±0,201 (n=115)	-1,70±0,130 (n=241)	-1,80±0,172 (n=127)	1-2: 0,002 1-3: <0,001 2-3: 0,295
Минеральная плотность шейки левого бедра, г/см ²	0,749±0,015 (n=100)	0,664±0,010 (n=181)	0,681±0,014 (n=103)	1-2: <0,001 1-3: <0,001 2-3: 0,529
T-критерий на уровне шейки левого бедра	-0,90±0,135 (n=100)	-1,70±0,085 (n=181)	-1,50±0,126 (n=103)	1-2: <0,001 1-3: <0,001 2-3: 0,488
Минеральная плотность всего проксимального отдела левого бедра, г/см ²	0,862±0,017 (n=114)	0,791±0,010 (n=240)	0,812±0,016 (n=126)	1-2: <0,001 1-3: <0,001 2-3: 0,432
T-критерий на уровне всего проксимального отдела левого бедра	-0,70±0,142 (n=114)	-1,25±0,084 (n=240)	-1,10±0,128 (n=126)	1-2: <0,001 1-3: 0,001 2-3: 0,430

Выполнением периферической денситометрии дистального отдела предплечья установлено, что средний уровень T-критерия в общей группе женщин равнялся $-2,10 \pm 0,20$. При этом вышеуказанный показатель не обнаруживал зависимость ($p > 0,05$) от полиморфных вариантов гена TNFSF11 (табл. 4).

Таблица 4. Показатели денситометрии правого бедра и дистального отдела предплечья у женщин в постменопаузальном возрасте в зависимости от полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11

Показатели денситометрии	Уровни показателей ($Me \pm me$) в группах женщин с генотипом:			P между группами
	CC (группа 1)	CT (группа 2)	TT (группа 3)	
Минеральная плотность шейки правого бедра, г/см ²	0,750±0,016 (n=84)	0,662±0,012 (n=136)	0,669±0,016 (n=83)	1-2: <0,001 1-3: <0,001 2-3: 0,435
T-критерий на уровне шейки правого бедра	-0,90±0,141 (n=84)	-1,70±0,104 (n=136)	-1,60±0,144 (n=83)	1-2: <0,001 1-3: <0,001 2-3: 0,454
Минеральная плотность всего проксимального отдела правого бедра, г/см ²	0,872±0,017 (n=84)	0,789±0,076 (n=136)	0,820±0,018 (n=83)	1-2: <0,001 1-3: 0,001 2-3: 0,202
T-критерий на уровне всего проксимального отдела правого бедра	-0,60±0,140 (n=84)	-1,30±0,109 (n=136)	-1,00±0,146 (n=83)	1-2: <0,001 1-3: 0,001 2-3: 0,195
T-критерий на уровне дистального отдела предплечья	-1,50±0,554 (n=14)	-2,10±0,232 (n=59)	-2,00±0,442 (n=23)	1-2: 0,115 1-3: 0,433 2-3: 0,595

Обсуждение результатов исследования

Постменопаузальный остеопороз является широко распространенной хронической прогрессирующей системной патологией скелета женщин. Пониманию механизмов развития постменопаузального остеопороза способствовало открытие системы регуляторных белков RANKL-RANK-OPG, которая контролирует резорбцию кости в физиологических и патологических условиях [4]. Молекула RANKL является ключевым регулятором ремоделирования костной ткани, играет важную роль в развитии и активации остеокластов. RANKL вызывает дифференцировку предшественников остеокластов и стимулирует резорбтивную функцию зрелого остеокласта. Поэтому нарушения в работе системы RANKL-RANK-OPG в целом и количественные, структурно-функциональные изменения молекул RANKL в частности играют важную роль в патогенезе остеопороза. Среди причин, способных влиять на функцию RANKL, могут быть мутации в гене TNFSF11, который кодирует синтез вышеуказанных молекул.

В нашей работе установлено, что генотип СС полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 является защитным фактором, а генотипы СТ и ТТ, наоборот, предрасполагающими генетическими факторами к снижению показателей остеоденситометрии поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, в том числе шеек левого и правого бедра у женщин постменопаузального возраста. Полученные нами результаты согласуются с выводами, полученными при обследовании 1873 жителей США европейского происхождения и подтвердившими роль мутаций гена TNFSF11 в снижении МПК как поясничных позвонков, так и бедренной кости [10]. Аналогичной направленности связи генотипов и аллелей полиморфизма rs9594759 с минеральной плотностью поясничных позвонков были выявлены и при обследовании 236 женщин в постменопаузе, проживающих в Москве и Московской области [7]. Однако, в отличие от наших результатов, в данной работе не была установлена роль полиморфизма rs9594759 в развитии остеопороза шейки бедренной кости, а денситометрия всего проксимального отдела бедра и костей предплечья не выполнялась. Совместное исследование ученых Исландии, Дании и Австралии [8], выполнивших анализ результатов обследования женщин и мужчин, также показало наличие связи полиморфизма rs9594759 с результатами денситометрии поясничных позвонков, но не бедренной кости.

Полученные нами результаты, а также выводы других исследователей подтверждают роль полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 в развитии остеопоротических изменений костной ткани. Вместе с тем, нельзя не отметить наличие определенных противоречий имеющих к настоящему времени данных, которые касаются влияния вышеуказанного полиморфизма на те или иные участки скелета. Эти разногласия, по всей видимости, обусловлены сложностью патогенеза заболевания, его многофакторной, полигенной природой. В связи с этим, на конечный результат исследования могут влиять не только особенности его дизайна (количество наблюдений и т.д.), но и ряд других не всегда учитываемых факторов, которые способны ослаблять или усиливать генетическую детерминированность заболевания. К таким факторам можно отнести особенности образа жизни и питания, экологические условия проживания и работы, степень ультрафиолетового облучения, возраст, длительность менопаузы и т.д. Значимость данных факторов в развитии остеопороза находит подтверждение, по крайней мере, отчасти, и в нашем исследовании. Так, для генотипа СС полиморфизма rs9594759 установлен благоприятный эффект на МПК скелета женщин. Вместе с этим женщины с данным генетическим профилем отличались от остальных и меньшим сроком постменопаузального периода, что также может оказывать влияние на степень остеопоротических проявлений.

Заключение

Таким образом, сравнительный анализ групп женщин постменопаузального возраста с различными генотипами полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 показал, что в зоне поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов левой и правой бедренных костей, в том числе шеек левого и правого бедра, у лиц с генотипом СС определяются более высокие показатели минеральной плотности кости, чем у обладателей генотипов СТ и ТТ ($p=0,002$ – $p<0,001$). Роль полиморфизма rs9594759 в развитии остеопоротических изменений костной ткани дистального отдела предплечья недоминантной руки не установлена ($p>0,05$). Полученные результаты исследования свидетельствуют о важной роли полиморфизма rs9594759 (C>T) гена TNFSF11 в формировании постменопаузального остеопороза и могут быть использованы для разработки прогностических критериев с целью выявления предрасположенности к заболеванию и своевременного назначения лечебно-профилактических мероприятий.

Литература (References)

1. Майлян Э.А. Влияние полиморфизма 283 A>G (BSMI) гена рецептора витамина D на развитие остеопороза у женщин в постменопаузе // Медицинский вестник Юга России. – 2016. – №4. – С. 32-38. [Maylyan E.A. *Medicinskij vestnik Juga Rossii*. Medical Herald of the South of Russia. – 2016. – N4. – P. 32-38. (In Russian)]
2. Майлян Э.А. Роль полиморфизма -1997 C>A гена COL1A1 в развитии остеопороза различных участков скелета у женщин в постменопаузальном возрасте // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2017. – Т.16, №1. – С. 105-110. [Maylyan E.A. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2017. – V.16, N1. – С. 105-110. (In Russian)]
3. Мякоткин В.А., Крылов М.Ю., Гусева И.А. и др. Молекулярно-генетическое тестирование предрасположенности к остеопорозу у женщин в постменопаузе в Москве // Научно-практическая ревматология. – 2011. – Т.49, №2. – С. 15-20. [Mjakotkin V.A., Krylov M.Ju., Guseva I.A. i dr. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija*. Rheumatology Science and Practice. – 2011 – V.49, N2. – P. 15-20. (In Russian)]
4. Поворознюк В.В., Резниченко Н.А., Майлян Э.А. Иммунологические аспекты постменопаузального остеопороза // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2013. – №3. – С. 21-26. [Povoroznyuk V.V., Reznichenko N.A., Maylyan E.A. *Bol'. Sustavy. Pozvonochnik*. Pain. Joints. Spine. – 2013. – N3. – P. 21-26. (In Russian)]
5. Хусаинова Р.И., Селезнева Л.И., Валиев Р.Р., Хуснутдинова Э.К. Изучение молекулярно-генетических основ развития постменопаузального остеопороза в Волго-Уральском регионе // Медицинская генетика. – 2009. – №5. – С. 12-19. [Husainova R.I., Selezneva L.I., Valiev R.R., Husnutdinova E.K. *Medicinskaja genetika*. Medical Genetics. – 2009. – N5. – P. 12-19. (In Russian)]
6. Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетические основы остеопороза // Биомика. – 2014. – Т.6, №1. – С. 24-51. [Husainova R.I., Husnutdinova E.K. *Biomika*. Biomics. – 2014. – V.6, N1. – P. 24-51. (In Russian).]
7. Юренева С.В., Донников А.Е., Бордакова Е.В. и др. Клинико-прогностическое значение молекулярно-генетических факторов при постменопаузальном остеопорозе // Остеопороз и остеопатии. – 2015. – №1. – С. 3-6. [Jureneva S.V., Donnikov A.E., Bordakova E.V. i dr. *Osteoporoz i osteopatii*. Osteoporosis and Osteopathy. – 2015. – N1. – P. 3-6. (In Russian)]
8. Stykarsdottir U., Halldorsson B.V., Gretarsdottir S. et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures // *New England Journal Of Medicine*. – 2008. – V.358, N22. – P.2355-2365.
9. Urano T., Inoue S. Genetics of osteoporosis // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2014. – V.452, N2. – P. 287-293.
10. Xiong D.H., Shen H., Zhao L.J. et al. Robust and comprehensive analysis of 20 osteoporosis candidate genes by very high-density single-nucleotide polymorphism screen among 405 white nuclear families identified significant association and gene-gene interaction // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2006. – V.21, N11. – P. 1678-1695.

Информация об авторе

Майлян Эдуард Анетнакович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького. E-mail: mea095@yandex.ru