

УДК 616.711-007.55: 575.1

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА И ОСТЕОГЕНЕЗА У ДЕТЕЙ С ДЕФОРМАЦИЯМИ ПОЗВОНОЧНИКА

¹Виссарионов С.В., ¹Кокушин Д.Н., ¹Филиппова А.Н., ²Костик М.М.,
¹Ларионова В.И.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера»,
Санкт-Петербург, e-mail: info@roturner.ru;

²ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, Санкт-Петербург

Проведен сравнительный анализ распределения частоты аллелей и генотипов по полиморфизмам -3731A/G (Cdx2) и +61968T/C (TaqI) гена VDR и -1997G/T и +1245G/T (Sp1) гена COL1A1 у пациентов со сколиотической деформацией позвоночника различной этиологии и у детей без ортопедической патологии. Генотип tt/GG гена VDR встречается в группе детей с врожденным сколиозом более чем в 2 раза чаще, чем в группе детей, не имеющих сколиотической деформации позвоночника, соответственно в 11% и 5,2% случаев ($\chi^2=4,17$; d.f.=1; p=0,04). В группе детей с идиопатическим сколиозом этот генотип выявлен в 8,7% случаев. Не выявлено статистических различий в носительстве этого генотипа в группах пациентов с идиопатическим сколиозом и у детей без искривления позвоночного столба. Установлено, что дети-носители аллеля «t(C)» и генотипа «tt(CC)» среди пациентов с врожденным сколиозом встречались достоверно чаще по сравнению с детьми, не имеющих искривления позвоночного столба ($\chi^2=6,79$; d.f.=2; p=0,03). Выявлено, что носительство аллеля t гена VDR можно рассматривать как маркер повышенного риска развития врожденного сколиоза.

Ключевые слова: гены, остеогенез, врожденный сколиоз, идиопатический сколиоз

POLYMORPHISM OF GENES OF BONE METABOLISM AND OSTEOGENESIS IN CHILDREN WITH SPINAL DEFORMITIES

¹Vissarionov S.V., ¹Kokushin D.N., ¹Filippova A.N., ²Kostik M.M.,
¹Larionova V.I.

¹Turner Scientific Research Institute for Children's Orthopedics under the Ministry of Health of the
Russian Federation, Saint-Petersburg, e-mail: info@roturner.ru;

²Saint-Petersburg Pediatric Medical University under the Ministry of Health of the Russian Federation,
Saint-Petersburg

A comparative analysis of the frequency distribution of alleles and genotypes for polymorphisms -3731A / G (Cdx2) and + 61968T / C (TaqI) VDR gene and -1997G / T and + 1245G / T (Sp1) COL1A1 gene in patients with scoliotic spinal deformity of various etiologies as well as in children without any orthopedic abnormalities was carried out. Genotype tt / GG of the gene VDR is found in children with congenital scoliosis more than two times frequently than in the group of children without scoliotic deformities of the spine, 11% and 5.2% of cases, respectively ($\chi^2 = 4,17$; df = 1; p = 0,04). In the group of children with idiopathic scoliosis, this genotype was detected in 8.7% of cases. There were no statistical differences among carriers of this genotype in patients with idiopathic scoliosis and in children without deformity of the spine. It was stated that children that are carriers of the allele «t (C)» and genotype «tt (CC)» were found significantly more frequently among patients with congenital scoliosis than children who did not have spinal deformities ($\chi^2 = 6,79$; df = 2; p = 0,03). It was revealed that the carriage of the allele t of the gene VDR can be regarded as a marker of increased risk of congenital scoliosis.

Keywords: genes, osteogenesis, congenital scoliosis, idiopathic scoliosis

На протяжении последних десятилетий появилось достаточное количество исследований, посвященных поиску этиологических факторов формирования и развития искривлений позвоночного столба у детей. Возникающие деформации позвоночника могут быть обусловлены, как аномалией развития тел позвонков, так и появляться в процессе роста и развития ребёнка при анатомически правильной их форме. При этом в первом случае выявляемые после рождения ребёнка

искривления позвоночника являются врожденными, во втором – идиопатические.

Общезвестно, что сколиоз является мультифакторным заболеванием, развитие которого обусловлено как генетической предрасположенностью, так и воздействием различных факторов внешней среды [5]. В качестве «кандидатных» генов, оказывающих определенное воздействие на формирование деформаций позвоночника, рассматриваются гены, которые вовлечены

в процессы костного метаболизма и остеогенеза. Среди многочисленного числа генов, относящихся к этой группе, наиболее значимыми являются ген рецептора витамина D (VDR) и ген коллагена I типа (COL1A1) [1, 4].

Витамин D и его метаболиты играют ключевую роль в костном обмене и фосфорно-кальциевом гомеостазе, влияют на рост и дифференцировку клеток в различных органах-мишенях [3, 7]. Кроме того известно, что витамин D является лигандом для ядерного рецептора, кодируемого геном VDR, являющегося регулятором активности многих генов-мишеней путём его взаимодействия со специфическими последовательностями ДНК в промоторных областях этих генов [6]. Установлено, что под воздействием кальцитриола, или витамина D₃, снижается экспрессия гена коллагена I типа [2, 8].

Анализ результатов ряда научных работ позволил сделать вывод, что структурные изменения генов рецептора витамина D и коллагена I типа могут быть связаны с формированием и прогрессированием деформаций позвоночника различного генеза. В связи с этим данное исследование является актуальным с точки зрения проведения молекулярно-генетического тестирования – 3731A/G (Cdx2) и +61968T/C (TaqI) гена VDR и –1997G/T (PCOL2) и +1245G/T (Sp1) гена COL1A1 у пациентов со сколиотической деформацией позвоночника различной этиологии и здоровых детей с изучением распределения частот аллелей и генотипов по полиморфизмам и анализу взаимосвязи молекулярно-генетических маркеров с развитием сколиоза.

Материалы и методы исследования

Проведено обследование 195 детей с врождённым сколиозом в возрасте от 6 месяцев до 17 лет. В первую группу сравнения вошли 145 пациентов с идиопатическим сколиозом II – IV степеней тяжести в возрасте от 12 до 18 лет, во вторую группу – 278 детей в возрасте от 1 года до 18 лет, у которых на момент осмотра отсутствовали признаки искривления позвоночного столба. В табл. 1 представлены результаты распределения исследуемых групп детей по полу и возрасту.

Материалом исследования служила ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Определение TaqI, Cdx2 полиморфизмов гена рецептора витамина D (VDR) осуществлялось методом ПДРФ с использованием рестриктаз TaqI, Cdx2. Определение Sp1 полиморфизмов гена αI цепи коллагена I типа (COL1A1) проводили методом ПДРФ с использованием рестриктазы BseII. Определение 1997G/T (rs1107946) полиморфизма гена αI цепи коллагена I типа (COL1A1) проводили методом ПДРФ с использованием рестриктазы BstMAI. Статистическая обработка данных осуществлена в программе Statistica 5.5. Для оценки соответствия распределения генотипов по изученным полиморфным маркерам равновесию Харди-Вайнберга и для сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов по изученным полиморфизмам в группах пациентов с врожденным и идиопатическим сколиозом, а также в группе детей, не имеющих сколиотической деформации, использовали критерий χ² Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение

Распределение частот аллелей и генотипов генов VDR и COL1A1 по всем изученным полиморфизмам в анализируемых выборках обследованных пациентов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Результаты распределения аллелей и генотипов по полиморфизмам гена VDR – +61968T>C, –3731A>G и гена COL1A1 – +1245 G>T, –1997 G>T у пациентов, страдающих врожденным и приобретенным сколиозом, и детей, не имеющих деформаций позвоночника, представлены в табл. 2.

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов по полиморфизму +61968T>C гена VDR в группах пациентов со сколиотической деформацией позвоночника и детей, не имеющих деформаций позвоночника, выявил различия в их распределении. Среди пациентов с врожденным сколиозом чаще встречались дети- носители аллеля «t(C)» (0,377 vs 0,292; χ²=6,51; d.f.=1; p=0,01) и генотипа «tt (CC)» (0,149 против 0,081; χ²=6,79; d.f.=2; p=0,03) по сравнению с детьми, не имеющих сколиотической деформации позвоночника. Отношения шансов для носителей генотипа «ТТ» со-

Таблица 1

Распределение детей в исследуемых группах по полу и возрасту

Гр. Пол	Врождённый сколиоз n, %	Средний возраст (годы)	Идиопатический сколиоз n, %	Средний возраст (годы)	Контроль n, %	Средний возраст (годы)
Мальчики	63 (40,9)	7,2 (±0,4)	15 (10,3)	15,4 (±0,1)	124 (44,7)	11,2 (±0,2)
Девочки	91 (59,1)		130 (89,7)		154 (55,3)	
Всего	154 (100)		145 (100)		278 (100)	

ставило 0,66 (95%CI 0,44–0,99), а для генотипа «tt(CC)» – 1,99 (95%CI 1,07–3,70). Выявлено, что носительство аллеля t гена VDR можно рассматривать как маркер повышенного риска развития врождённого сколиоза. Сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов по полиморфизму –3731A>G гена VDR и полиморфизмам (+1245 G>T, –1997 G>T) гена COL1A1 не выявил достоверных различий в группах детей, имеющих врожденный и идиопатический

сколиоз. Необходимо отметить, что не было выявлено достоверных различий в распределении аллелей и генотипам по изученным полиморфным маркерам при сравнении их частот среди пациентов с различными типами сколиоза и контрольной группой. Проведён анализ распределения сочетания аллелей и генотипов гена VDR (+61968T>C, –3731A>G) в группах пациентов с врожденным и идиопатическим сколиозом и в группе детей без деформации позвоночника.

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов генов VDR (+61968T>C, –3731A>G) и COL1A1 (+1245 G>T, –1997 G>T) в группах пациентов с врожденным, идиопатическим сколиозом и без деформации позвоночника

Гены, аллели, генотипы	Частоты аллелей и генотипов		
	BC	Контроль	ИС
VDR			
TaqI (+61968T/C)	N=154	N=271	N=145
T/T	0,396	0,498	0,448
T/t (T/C)	0,455	0,421	0,428
t/t (C/C)	0,149	0,081	0,124
Статистика	$\chi^2=6,79$; d.f.=2; p=0,03		$\chi^2=2,31$; d.f.=2; p=0,31
T*	0,623	0,708	0,662
t**	0,377	0,292	0,338
Статистика	$\chi^2=6,51$; d.f.=1; p=0,01		$\chi^2=1,91$; d.f.=1; p=0,17
Cdx2(-3731A/G)	N=154	N=269	N=145
A/A	0,052	0,026	0,028
A/G	0,266	0,279	0,310
G/G	0,682	0,695	0,662
Статистика	$\chi^2=1,94$; d.f.=2; p=0,38		$\chi^2=0,48$; d.f.=2; p=0,79
A	0,185	0,165	0,183
G	0,815	0,835	0,817
Статистика	$\chi^2=0,53$; d.f.=1; p=0,47		$\chi^2=0,40$; d.f.=1; p=0,53
COL1A1			
Sp1 (+1245 G/T)	N=154	N=276	N=145
S/S (G/G)	0,675	0,714	0,724
S/s (G/T)	0,292	0,272	0,248
s/s (T/T)	0,032	0,014	0,028
Статистика	$\chi^2=1,88$; d.f.=2; p=0,39		$\chi^2=1,07$; d.f.=2; p=0,59
S*	0,821	0,850	0,848
s**	0,179	0,150	0,152
Статистика	$\chi^2=1,17$; d.f.=1; p=0,28		$\chi^2=0,00$; d.f.=1; p=0,96
PCOL2 (-1997 G/T)	N=154	N=268	N=145
G/G	0,701	0,690	0,697
G/T	0,253	0,280	0,262
T/T	0,045	0,030	0,041
Статистика	$\chi^2=0,94$; d.f.=2; p=0,62		$\chi^2=0,48$; d.f.=2; p=0,79
G	0,828	0,830	0,828
T	0,172	0,170	0,172
Статистика	$\chi^2=0,01$; d.f.=1; p=0,93		$\chi^2=0,01$; d.f.=1; p=0,92

Примечание. d. f. – число степеней свободы, T* и S* – аллели, не имеющие сайта для рестриктазы, t** и s** – аллели, имеющие сайт для рестриктазы.

Носительство генотипа tt/GG гена VDR (+61968T>C, -3731A>G) встречалось в группе детей с врожденным сколиозом более чем в 2 раза чаще, чем в группе детей, не имеющих деформации позвоночника – соответственно у 11% и 5,2% случаев ($\chi^2=4,17$; d.f.=1; $p=0,04$). В группе детей с идиопатическим сколиозом этот генотип выявлен у 8,7% больных. Кроме того, необходимо отметить, что не выявлено статистических различий в носительстве этого генотипа в группах пациентов с идиопатическим сколиозом и у детей без искривления позвоночного столба.

Сравнительный анализ распределения сочетания аллелей и генотипов гена COLA1(+1245 G>T, -1997 G>T) в исследуемых группах пациентов показал, что генотипы ss/TT и ss/TG не встречались у пациентов, как имеющих сколиотическую деформацию позвоночника, так и в группе детей, не имеющих искривлений позвоночника. Кроме того, необходимо отметить, что не выявлено различий в распределении комбинаций аллелей и генотипов COLA1 (+1245 G>T, -1997 G>T) в группах пациентов с врожденным сколиозом и детей, не имеющих деформацию позвоночника ($\chi^2=3,08$; d.f.=6; $p>0,05$), а также в группах пациентов с идиопатическим сколиозом и детей без сколиоза ($\chi^2=1,07$; d.f.=6; $p>0,05$). Анализ в группах пациентов с врожденным и идиопатическим сколиозом также не выявил различий в распределении комбинаций аллелей и генотипов COLA1 (+1245 G>T, -1997 G>T) ($\chi^2=1,92$; d.f.=6; $p>0,05$).

Заключение

В ходе проведенного исследования установлено, что дети-носители аллеля «t(C)»

и генотипа «tt(CC)» среди пациентов с врожденным сколиозом встречались достоверно чаще по сравнению со здоровыми детьми. Аналогичная тенденция отмечалась при генотипе tt/GG гена VDR в группе пациентов с врожденным сколиозом – она встречалась более чем в 2 раза чаще, чем в группе детей, не имеющих сколиотической деформации позвоночника.

Список литературы

1. Александрова А.А., Балахонов А.В., Беляева И.В. и соавт. Системная патология соединительной ткани // Руководство для врачей. – СПб., 2014. – 368 стр.
2. Artaza J.N., Norris K.C. Vitamin D reduces the expression of collagen and key profibrotic factors by inducing an antifibrotic phenotype in mesenchymal multipotent cells // *Journal of Endocrinology*. – 2009. – Vol. 200. – P.207–221.
3. Baldock P.A., Thomas G.P., Hodge J.M., Baker S.K., Dressel U. et al. Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast // *J. Bone Min. Res.* – 2006. – Vol. 21. – P. 1618– 1626.
4. Brown M.A., Haughton M.A., Grant S.F.A., Gunnell A.S., Henderson N.K. Genetic control of bone density and turnover: role of the collagen 1 α 1, estrogen receptor and vitamin D receptor genes // *J. Bone Min. Res.* – 2001. – Vol. 16, №4. – P. 758–764.
5. Giampietro P.F., Blank R.D., Cathleen L.R., Merchant S., Jacobsen F.S. et al. Congenital and idiopathic scoliosis: clinical and genetic aspects // *Clin. Med. Res.* – 2003. – Vol. 1, № 2. – P. 125–136.
6. Miamoto K., Kesterson R.A., Yamamoto H., Taketani Y., Nishiwaki E. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promotor // *Mol. Endocrinol.* – 1997. – Vol. 11. – P. 1165–1179.
7. Pike J.W., Zella L.A., Meyer M.B., Fretz J.A., Kim S. Molecular actions of 1,25-Dihydroxy vitamin D3 on genes involved in calcium homeostasis // *J. Bone Min. Res.* – 2007. – Vol. 22, suppl. 2 – P. 16–19.
8. White C., Gardiner E., Eisman J. Tissue specific and vitamin D responsive gene expression in bone // *Mol. Biol. Rep.* – 1998. – Vol. 25, №1. – P. 45–61.