

A Kucukural, Y Zhang // Nature Protocols. – 2010. – 5. – P. 725-738. doi: 10.1038/nprot.2010.5.

13. Kenniston J.A., Lemmon M.A. Dynamin GTPase regulation is altered by PH domain mutations found in centronuclear myopathy patients / J.A. Kenniston, M.A. Lemmon // EMBO J. – 2010. – 29. – P.3054–3067. doi: 10.1038/emboj.2010.187.

14. Mild functional differences of dynamin 2 mutations associated to Centronuclear myopathy and Charcot-Marie-Tooth peripheral neuropathy / OS Koutspoulos, C Koch, V Tosch, et.al. // PLoS One. – 2011. – 6. – e277498. doi: 10.1371/journal.pone.0027498.

15. MRI in DNM2-related centronuclear myopathy: evidence for highly selective muscle involvement / J Schessl, L Medne, Y Hu, et.al. // Neuromuscul Disord. – 2007. – 17. – P.28-32. DOI: 10.1016/j.nmd.2006.09.013

16. Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy / M. Bitoun, S. Maugenre, PY Jeannet, et. al. // Nat Genet. – 2005. – 37. – P. 1207–1209. DOI: 10.1038/ng1657

17. Neumann S. Dual role of BAR domain-containing proteins in regulating vesicle release catalyzed by the GTPase, dynamin-2 / S. Neumann, S.L. Schmid // J Biol Chem. – 2013. – 288. – P. 25119-25128. doi: 10.1074/jbc.M113.490474

18. Overlapping molecular pathological themes link Charcot-Marie-Tooth neuropathies and hereditary spastic paraplegias / V Timmerman, VE Clowes, E Reid // Exp Neurol. – 2013. – 246. – P.14-25. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.01.010.

19. Overlapping role of dynamin isoforms in synaptic vesicle endocytosis / A Raimondi, SM Ferguson, X Lou, et.al. // Neuron. – 2011. – 70. – P.1100-1114. doi: 10.1016/j.neuron.2011.04.031

20. Pharmacologic rescue of axon growth defects in a human iPSC model of hereditary spastic paraplegia SPG3A / PP Zhu, KR Denton, TM Pierson, et.al. // Hum Mol Genet. – 2014. – 23. – P. 5638-5648. doi: 10.1093/hmg/ddu280.

21. Phenotypic spectrum of dynamin 2 mutations in Charcot-Marie-Tooth neuropathy / KG Claeys, S Züchner, M Kennerson, et.al. // Brain. – 2009. – 132. – P. 1741-1752. doi: 10.1093/brain/awp115

22. Praefcke G.J. The dynamin superfamily: universal membrane ablation and fission molecules? / GJ Praefcke, HT McMahon // Nature Rev Mol Cell Biol. – 2004. – 5. – P. 133-147. DOI: 10.1038/nrm1313

23. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm / P. Kumar, S. Henikoff, P.C.

Ng // Nat Protoc. – 2009. – 4. – P.1073-1081. doi: 10.1038/nprot.2009.86.

24. Romero N.B. Centronuclear myopathies / N.B. Romero, M. Bitoun // Semin Pediatr Neurol. – 2011. – 18. – P.250-256. doi: 10.1016/j.spen.2011.10.006.

25. The I-TASSER Suite: Protein structure and function prediction / J Yang, R Yan, A Roy, et.al. // Nature Methods. – 2015. – 12. – P. 7-8. doi: 10.1038/nmeth.3213.

26. The phenotype of "pure" autosomal dominant spastic paraplegia / A Durr, A Brice, M Serdaru, et.al. // Neurology. – 1994. – 44. – P. 1274-1277. DOI: 10.1212/wnl.44.7.1274

27. Two novel mutations in dynamin-2 cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease / GM Fabrizi, M Ferrarini, T Cavallaro, et.al. // Neurology. – 2007. – 69. – P. 291-295. DOI: 10.1212/01.wnl.0000265820.51075.61

28. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis / E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, et.al. // J Comput Chem. – 2004. – 25. – P. 1605–1612. DOI: 10.1002/jcc.20084

29. Zhang Y. I-TASSER server for protein 3D structure prediction / Y. Zhang // BMC Bioinformatics. – 2008. – 9. – P. 40. doi: 10.1186/1471-2105-9-40.

Н.Г. Плехова, Е.В. Крукович, Д.А. Каблуков, Т.А. Шуматова, В.С. Елисеева

ВАРИАНТЫ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ КОЛЛАГЕНА I ТИПА (COL1A1), РЕЦЕПТОРОВ К КАЛЬЦИТОНИНУ (CALCR) И ВИТАМИНУ D (VDR) И ПАРАМЕТРЫ КОСТНО-МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ ПОДРОСТКОВ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

DOI 10.25789/YMJ.2020.69.02

УДК 616.71-007.1-053(571.63)

В соотношении с физиологическими параметрами состояния костно-мышечной системы (КМС) у здоровых подростков Приморского края изучена распространенность вариантов нуклеотидной последовательности генов rs1800012 IVS1 c.2046 G>T коллагена COL1A1; rs1801197 c.1377 T>C рецептора кальцитонина CALCR и rs731236 c.1056 T>C внутриклеточного рецептора витамина D VDR. Генетическое тестирование позволило выявить распространенность «неблагоприятных» аллелей и их сочетаний в изученных генах, регулирующих обмен кальция у подростков, и определить связь между генотипами и наличием переломов, нарушением осанки, что дает возможность выделения группы обследуемых с высоким риском развития заболеваний КМС.

Ключевые слова: ген коллагена I типа, ген рецептора кальцитонина, ген рецептора витамина D, костно-мышечная система.

The prevalence of nucleotide sequence variants of genes collagen COL1A1 rs1800012 IVS1 c.2046 G>T, and receptors of calcitonin CALCR rs1801197 c.1377 T>C and the intracellular vitamin D VDR rs731236 c.1056 T>C in healthy teenagers of the Primorsky Territory was studied in correlation with physiological parameters of the musculoskeletal system status. Genetic testing made it possible to identify the prevalence of "unfavorable" alleles and their combinations in the studied genes, regulating calcium metabolism in teenagers, and to determine the relationship between genotypes and the presence of fractures and impaired posture, that allowed distinguishing a group of subjects with a high risk of developing MSS diseases.

Keywords: gene of type I collagen, gene of calcitonin receptor, gene of vitamin D receptor, musculoskeletal system.

Тихоокеанский ГМУ, г. Владивосток: ПЛЕХОВА Наталья Геннадьевна – д.б.н., зав. ЦНИЛ, проф., pl_nat@hotmail.com, КРУКОВИЧ Елена Валентиновна – д.м.н., проф. Ин-та педиатрии, bim1964@mail.ru, КАБЛУКОВ Денис Александрович – аспирант Ин-та педиатрии, kablukovdenis@mail.ru; ШУМАТОВА Татьяна Александровна – д.м.н., проф., директор Ин-та педиатрии, shumatova@gmail.ru, ЕЛИСЕЕВА Виктория Сергеевна – н.с. ЦНИЛ, vic-eliseeva@mail.ru.

Введение. В подростковый период наряду с перестройкой гормональной системы происходит окончательное формирование опорно-двигательного аппарата, что сопровождается максимальным повышением минеральной плотности костной ткани [1, 7]. Показано, что метаболические нарушения формирования костной ткани приводят к торможению линейного роста детей и могут являться причиной возникновения сколиоза и ювенильного остеопороза [5, 9]. В структуре функциональных и хронических заболеваний у детей нарушения и заболевания костно-мышечной системы (КМС) находятся на I–III ранговом месте, и, по некоторым данным, у 67 % определяется вторая группа здоровья, связанная

с ее нарушениями [6, 10]. Активность происходящего в препубертатный период ремоделирования костной ткани зависит от степени экспрессии генов, инициирующих синтез различных белков [2]. К таким белкам относятся матриксные (коллаген I типа), регуляторные, принимающие участие в обмене кальция, цитокины, ростовые факторы и их рецепторы, а также ферменты метаболизма костной ткани.

К одному из основных регуляторов кальций-фосфорного обмена в организме относится кальцитонин, который синтезируется в парафолликулярных клетках щитовидной железы и оказывает ингибирующее рецепторопосредованное действие на активность остеокластов, снижая скорость резорбции костной ткани [4]. Ген рецептора к кальцитонину *CALCR* локализован в хромосоме 7q21.3 и кодирует изоформу 1 субсемейства G-белка (G protein-coupled receptors) [19]. Замена цитозина на тимин (C>T) в 17-м экзоне гена *CALCR* в положении 1340 (rs1801197) ведет к замене аминокислоты пролина (CCG) на лейцин (CTG) в положении 463 молекулы белка-рецептора и, как показано, находится в положительной корреляции с плотностью костной ткани [16]. В процессе обмена кальция и фосфатов костной ткани принимает также участие витамин D, гормонально-активная форма которого кальцитриол 1,25(OH)₂D₃ взаимодействует с рецепторами клеточ-мишеней [11]. Рецептор к кальцитриолу (VDR), или NR111, относится к семейству внутрицитозольных, ядерных, принимает участие в транскрипции и механизмах синтеза белков и кодируется геном, локализованным в 12-й хромосоме (12q13) [11, 23]. Степень экспрессии этого рецептора обуславливает влияние кальцитриола на минеральную плотность костной ткани и формирование скелета [17]. Причем кинетика и степень накопления кальция в пубертатный период зависит от наличия различных вариантов гена *VDR* [24]. Наиболее перспективным в диагностическом отношении при определении механизмов развития остеопороза является выявление вариантов гена *VDR* в экзоне 2 FokI (rs10735810), между 8-м и 9-м экзонами BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) [25].

Интерес представляют также данные о сопряжении экспрессии ряда генов, принимающих участие в посттрансляционной модификации структурообразующего протеина костной ткани – коллагена I типа, состоящего из двух полипептидных цепей $\alpha 1$ и

$\alpha 2$ [15, 22]. Информацию о его структуре несут два гена: *COL1A1* (ген $\alpha 1$ цепи) и *COL1A2* (ген $\alpha 2$ цепи). Показано, что варианты полиморфизма гена *COL1A1* могут являться причиной широкого спектра заболеваний, от остеопороза до летальных форм несовершенного остеогенеза при синдроме Элерса-Данло [14, 15, 18]. Таким образом, доказана роль вариаций нуклеотидных последовательностей генов коллагена I типа, рецепторов к кальцитонину и витамину D в развитии различных остеопатологий у взрослой популяции населения, причем продемонстрировано, что эти заболевания являются возраст-зависимыми [8, 12, 21, 25]. Тогда как соотношение вариантов указанных генов с параметрами физикального обследования опорно-двигательного аппарата подростков дает возможность получить дополнительную информацию о развитии возможных патологических изменений. Учитывая известные данные о преимущественном наличии у детей в возрасте 7-17 лет второй группы здоровья, связанной с нарушениями и заболеваниями КМС, возникает необходимость изучения распределения вариантов указанных генов. Так как продемонстрировано значительное этническое различие распределения генетических детерминант, связанных с приобретением пика костной массы и архитектуры КМС и/или остеопорозом, подобное сравнительное исследование также представляет определенный интерес [4, 18, 20, 21, 24, 25].

Цель настоящего исследования: изучить распространенность полиморфных вариантов генов коллагена I типа (*COL1A1*) и рецепторов к кальцитонину (*CALCR*) и витамину D (*VDR*) в соотношении с параметрами физикального обследования КМС у подростков Приморского края.

Материалы и методы исследования. Выборку для исследования формировали из числа учащихся, проходивших плановые медицинские осмотры в среднеобразовательных учреждениях Приморского края (апрель-май 2018 г.). После подписи информированного согласия родителями, опекунами или попечителями на использование данных обследования в научных целях проводили клинический осмотр с определением группы здоровья (рекомендации Института гигиены детей и подростков, приказ МЗ РФ № 621 от 30.12.2003 г. и № 514н от 10.08.2017 г.). Также изучались истории развития ребенка (форма 112/у). Оценку физического разви-

тия осуществляли с использованием региональных таблиц процентильного типа. Проводилось измерение роста и веса, путем осмотра спереди, сзади и в профиль оценивались форма грудной клетки, осанка (определялось различие между измерениями шейных и поясничных сагиттальных изгибов позвоночника), форма ног, снимались физиометрические показатели (жизненная емкость легких, сила сжатия кистей рук, количество подтягиваний на высокой перекладине для мальчиков, на низкой перекладине для девочек). Дополнительно для изучения физического развития проводилась фотоплантография.

Молекулярно-генетическое исследование. Для молекулярно-генетического анализа, который проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, использовали образцы ДНК, выделенные из цельной венозной крови (объем 4 мл) методом фенольно-хлороформной экстракции с помощью набора ДНК-сорб (AmpliSens biotechnologies, Россия). ПЦР амплификацию образцов ДНК с чистотой $A_{260}/A_{280}=1,8\pm 0,1$ и концентрацией в диапазоне 50-100 нг/мкл выполняли в объеме 25 мкл. Показатель чистоты препарата ДНК вычисляли по отношению значений оптической плотности при длине волн поглощения образцов 260/230 нм, учитывали значение коэффициента от 1,8 до 2,2.

Определение вариантов генов цепи коллагена $\alpha 1$ *COL1A1*:c.104–441G>T (rs1800012), рецептора кальцитонина *CALCR*:c.1377C>T *CALCR* (rs1801197) и внутриклеточного рецептора витамина D *VDR*:c.1056T>C (rs731236) проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на амплификаторе PicoReal (Финляндия). Использовали наборы реактивов *COL1A1*-тест, *CALCR*-тест и *VDR*-тест (ГеноТехнология, Россия). По окончании ПЦР-амплификации, согласно протоколам в инструкциях к наборам, определяли значение порогового цикла (*Ct*) по кривой флуоресценции образца. Использовались олигонуклеотидные зонды, меченные 6-карбоксы-4',5'-дихлор-2',7'-диметоксифлуоресцеином (6-JOE). Значение стандартного отклонения *Ct* для повторов каждой анализируемой пробы не превышало 0,5.

Статистические методы. Количественные показатели физикальных характеристик КМС оценивали с применением критерия Стьюдента, регрессионного анализа данных и вычисляли

Таблица 1

Параметры состояния костно-мышечной системы у подростков

Возраст	15,607 (15;17)
Пол	Муж – 38,4 % Жен – 61,6 %
Группа здоровья	1-я – 1,8 %; 2-я – 98,2 %
Длина тела, см	163,4 (140;180)
Масса тела, кг	60 (40;80)
Индекс массы тела	22,4 (16;30)
Осанка, типы	без нарушений – 40,2 %; кифоз – 15,2; лордоз – 3,6; выпрямленная – 42 %
Телосложение	нормостеник – 79,5 %; гиперстеник – 8,5; астеник – 12 %
Сколиоз, классификация по В.Д. Чаклину	нет – 63,3 %; I степень – 34 %; II степень – 2,7 %
Форма ног	правильная – 68,9 %; Х – образная – 30,1; О – образная – 1 %
Вальгус/варус	вальгус – 7,1 %; варус – 1,8 %
Вальгусная деформация первого пальца стопы (Hallux valgus)	S – 66,1 %; D – 60,7 %
Плоскостопие - поперечное - продольное	I степень – 33 %; II степень – 54,5 %; III степень – 2,7 % I степень – 28,6 %; II степень – 7,1 %
Смещение костей таза	Нет – 82,2 %; правое – 8,8; левое – 8,8 %
Гипермобильность суставов	Нет – 79,8 %; наличие – 20,2 %
Переломы, % в зависимости от количества: 0 – нет; 1; 2; 3 и более	0 – 67,9 %; 1 – 25,9; 2 – 4,5 %; 3 – 1,8 %
Вывихи: % в зависимости от количества: 0 – нет; 1; 2; 3 и более	0 – 88,4 %; 1 – 9,8; 2 – 1,8 %

критерий Фишера. Ассоциацию между вариантами исследуемых генов и параметрами физикального обследования вычисляли путем расчета отношения шансов (OR) и соответствующего 95% доверительного интервала (CI). Однородность данных определяли с использованием Q-критерия на основе χ^2 -квадрат, значимость объединенного OR определяли с помощью Z-теста при $p < 0,05$. Критерий Фишера использовался для оценки согласия с равновесием Харди-Вайнберга при уровне значимости $p < 0,05$. Для выполнения статистического анализа использовалось программное обеспечение Review Manager 5.1.

Результаты и обсуждение. При комплексной оценке факторов роста (106 учащихся в возрасте 15-17 лет) выявлены статистически значимые гендерные различия по показателям длины и массы тела, окружности грудной клетки (ОКГ, $p \geq 0,005$). Распределение по группам здоровья обследуемых лиц показало, что всего 2 чел. (1,8 %) соответствовали 1-й группе, тогда как все остальные составили 2-ю (табл.1). Правильная осанка наблюдалась у 40,25% детей, причем у мальчиков этот показатель преобладал и составлял 79 чел. (73%), у девочек – 59 (54 %). Кифотическая, гиперлордоз и гиперкифотическая осанка чаще отмечалась у девочек, чем у мальчиков: 16 и 10 (15 и 9 %) чел. соответственно. Выпрямленная спина (малая выраженность изгибов позвоночника, при сниженной подвижности ребер, наличие боковых искривлений позвоночника) также отмечалась чаще у девочек (24 чел., 22 %), чем у мальчиков (15, 14 %). Результаты фотоплантографии показали наличие поперечного плоскостопия I-й степени у 29 чел. (27 %), II степени у 39 (63 %) и III степени у 5 (5 %) обследуемых (табл.1). Продольное плоскостопие I степени обнаруживалось у 42 чел. (39 %), II степени у 9 обследуемых (8 %) и III степени не выявлялось. Наличие нормального развития стопы отмечалось только у 10 (9 %) обследуемых. Таким образом, приведенные нами данные демонстрируют необходимость изучения физиологических параметров состояния костно-мышечной системы у подростков с целью своевременного получения информации. Особенное значение приобретают данные фотоплантографии, так как известно, что плоскостопие оказывает негативное влияние на рациональное распределение нагрузки на вышележащие суставы и приводит к более серьезным нарушениям осанки [5, 6].

Также показано, что при сопряженности антропометрических параметров и показателей системы кровообращения у детей, страдающих плоскостопием и сколиозом, отмечается увеличение частоты сердечных сокращений, возрастание ударного и минутного объема крови [7, 9].

Полиморфизм гена COL1A1:c.104–441G>T при замене гуанина на тимин функционально проявляется нарушением связывания фактора транскрипции в области первого интрона. Наследование мутации гена COL1A1 аутосомно-доминантное и обнаруживается у мужчин и женщин с одинаковой частотой. Вероятность возникновения болезни КСМ (остеопороз, переломы костей в анамнезе) у детей при условии наследования мутации этого гена от одного из родителей составляет 50 %. Согласно данным генетического исследования мы разделили обследуемых на группы по генотипам SS (GG, генотип 0), ss (TT, II генотип), Ss (GT, I генотип). Количество носителей гетерозиготного генотипа (Ss) составило 37,3 % у мальчиков и 53,0 % у девочек, гомозиготный генотип SS (GG) – у 2,0 и 7,8 % соответственно, и ss (TT) генотип не обнаружен (табл. 2). Показано, что распределение носителей генотипов в зависимости от наличия разрыва связок коленного сустава (GG

– 82,2% GT – 16,7%, TT – 1,1%) значимо отличалось ($p=0,036$) от группы обследуемых без указанной патологии (GG – 71,4% GT – 26,5%, TT – 2,2%) [22]. В нашем исследовании у носителей гетерозиготного генотипа Ss (GT) полиморфного маркера гена COL1A1 достоверно чаще отмечались переломы ($p=0,12$, табл. 3), чем у носителей гомозиготного генотипа Ss (GT). Распределение генотипов COL1A1:c.104–441G>T в зависимости от нарушения осанки также показало значимое различие между группами обследуемых ($p=0,07$ и $p=0,0003$, табл. 4).

Однонуклеотидная замена тимина на цитозин (T>C) в 17-м экзоне гена рецептора кальцитонина (CALCR) в положении 1340 (rs1801197) может привести к изменению функциональной активности кодируемого белка. Данное изменение рецепторов остеокластов проявляется активацией процесса резорбции костной ткани и развитием остеопороза, наличие которого чаще отмечается у носителей варианта полиморфизма гомозиготной формы CC [23]. При изучении вариантов полиморфных вариантов гена рецептора кальцитонина rs 1801197 CALCR:c.1377C>T р. P447L определено преобладание гетерозиготного TC (80,4 %), тогда как гомозиготные генотипы CC и TT обнаруживались у

13,7 и 5,9 % (табл. 2). Несмотря на известные данные о преимущественной заболеваемости остеопорозом носителей гомозиготной формы CC, нами не установлено связи между наличием переломов и носителями этого генотипа, тогда как значимая связь ($p=0,14$, табл. 3) была обнаружена в отношении носителей TT генотипа. Распределение носителей генотипов в зависимости от нарушения осанки показало, что достоверно чаще оно обнаруживалось у носителей двух генотипов – гомозиготного TT ($p=0,0001$) и гетерозиготного CT ($p=0,0005$, табл. 4).

генотип TT гена TaqI VDR чаще встречался среди девочек, чем среди мальчиков (19,6 и 3,9 % соответственно), с преобладанием в 5 раз (табл. 2). Причем у носителей гетерозиготного CT и гомозиготного TT чаще отмечалось наличие переломов ($p=0,09$, табл. 3; $p=0,01$, табл. 4).

По данным исследователей, носительство вариантов полиморфизма генов коллагена первого типа (COL1A1 (rs1800012)), рецепторов кальцитонина (CALCR 1340 (rs1801197)) и витамина D (TaqI VDR (rs 731236)) ассоциировано с развитием заболеваний,

остеопороза, а гетерозиготный генотип CT этого гена чаще встречался у женщин с переломами [3]. Результаты нашего исследования выявили, что от 3,8 до 50 % обследованных имели такие сочетания в различных вариантах, причем у 46,15 % обнаружено сочетание двух «неблагоприятных» аллелей: аллеля G полиморфизма гена коллагена I типа (rs1800012 COL1A1) и аллеля T полиморфизма TaqI гена рецептора витамина D, а 33,3 % обследованных имели сочетание сразу 3 аллелей «предрасположенности» (табл. 5).

Показано, что в обследованной когорте подростков Приморского края преобладающими являются носители гетерозиготных генотипов Ss (GT) (87,3 %, ген коллагена COL1A1) и CT (80 % - ген рецептора кальцитонина и 66,7 % - ген внутриклеточного рецептора витамина D соответственно). У носителей гетерозиготного Ss (GT) гена COL1A1 чаще встречалось наличие гетерозиготного генотипа CT генов рецептора кальцитонина (CALCR) и витамина D VDR. Интерес представляет обнаруженная связь между генотипами изученных полиморфизмов гомозиготного TT гена рецептора кальцитонина и гетерозиготного CT гена внутриклеточного рецептора витамина D VDR с наличием переломов и нарушением осанки, особенно у девочек. В целом, полученные результаты указывают на сочетанное влияние генов на минеральный обмен в организме, что начинает проявляться уже в подростковый период на фенотипическом уровне. На наш взгляд, особое внимание необходимо уделять обследуемым с сочетанием нескольких «неблагоприятных» полиморфизмов генов, поскольку именно для них опасность нарушения обменных процессов наиболее высока.

В настоящее время имеются многочисленные доказательства, что под влиянием «изменяемых» факторов, действующих в пренатальном, детском или юношеском возрасте, снижается величина запрограммированной пиковой массы костной ткани, что может стать причиной развития не только ювенильной формы системного остеопороза, но и его постменопаузальной и сенильной форм [3, 13]. Продemonстрировано, что наличие переломов у родителей (в частности, перелом бедра) повышает риск возникновения переломов вне зависимости от минеральной плотности костной ткани [22]. Носительство неблагоприятных аллелей в генах коллагена первого типа (rs 1800012 Col1A1), G-1997 (rs 1107946 Col1A1), рецептора кальцитонина

Таблица 2

Распределение генотипов у обследованных подростков

Ген коллагена rs1800012 COL1A1:c.104-441G>T, (n=88)			
Вариант генотипа	SS (GG)	ss (TT)	Ss (GT)
Мужской	2,0	0	37,3
Женский	7,7	0	53,0
Ген рецептора кальцитонина rs 1801197 CALCR:c.1377C>T (n=88)			
Варианты генотипа	CC	TT	CT
Мужской	8	2,0	29,0
Женский	6	4,0	51,0
Ген внутриклеточного рецептора витамина D rs731236 TaqI VDR:c.1056T>C (n=88)			
Варианты генотипа	CC	TT	CT
Мужской	3,9	3,9	31,4
Женский	5,9	19,6	35,3

Примечание. В табл. 3 и 4 различие статистически значимо при $p<0,5$.

В отношении полиморфизма гена внутриклеточного рецептора витамина D VDR установлено, что TT генотип ассоциирован с тенденцией к задержке скорости роста, связанной с нарушением костного метаболизма и остеосинтеза при активации костной резорбции [24]. При изучении распределения аллелей rs731236 TaqI VDR:c.1056T>C нами обнаружено, что носители аллеля C составили 94 % обследуемых (табл. 5). Гомозиготный

связанных с быстрой потерей минеральной плотности костной ткани и развитием остеопороза [2, 11-16, 21, 23]. Показано наличие корреляции между полиморфизмом гена рецептора кальцитонина C₁₃₇₇T и снижением минеральной плотности костной ткани в поясничном отделе позвоночника в постменопаузальный период у женщин [13], также обозначена прямая связь между аллелями TT варианта TaqI rs731236 гена VDR и наличием

Таблица 3

Коэффициент корреляции между наличием переломов и вариантами генотипов

Генотип	N	Коэффициент Фишера	
		Эмпирический	Критический, $\alpha=0,05$
COL1A1:c.104-441G>T			
SS (GG)	88	0,79; p=0,072	1,31
Ss (GT)	88	2,47; p=0,123*	
rs 1801197 CALCR:c.1377C>T			
CC	88	1,63; p=0,211	1,31
TT	88	2,125; p=0,141*	
CT	88	0,36; p=0,851	
rs731236 TaqI VDR:c.1056T>C (n=88)			
CC	88	0,52; p=0,473	1,31
TT	88	0,53; p=0,471	
CT	88	2,88; p=0,091*	

Таблица 4

Распределение генотипов обследуемых (%) в зависимости от наличия переломов, плоскостопия и нарушения осанки

	COL1A1:c,104-441G>T		rs 1801197 CALCR:c,1377C>T			rs731236 TaqI VDR:c,1056T>C		
	SS (GG)	sS (GT)	CC	TT	CT	CC	TT	CT
Наличие переломов (N=27)	23,1	53,85	3,85	15,4	57,7	7,7	23,1	46,2
Нет переломов (N=61)	22,95	16,4	3,28	27,7	8,23	8,2	1,6	29,5
t-критерий эмп.	2,01 <i>p=0,561</i>	2,0* <i>p=0,073</i>	1,99 <i>p=0,111</i>	2,0 <i>p=0,984</i>	2,01* <i>p=0,062</i>	2,0 <i>p=0,431</i>	2,02* <i>p=0,054</i>	2,0* <i>p=0,012</i>
Плоскостопие, продольное (N=36)	19,4	69,4	13,9	30,6	47,2	8,3	22,2	61,1
Плоскостопие не обнаружено (N=78)	23,1	65,4	10,3	24,3	55,1	11,5	18,0	60,3
t-критерий эмп.	1,99 <i>p=0,662</i>	2,0 <i>p=0,674</i>	2,0 <i>p=0,621</i>	2,0 <i>p=0,655</i>	2,0 <i>p=0,654</i>	2,0 <i>p=0,653</i>	2,0 <i>p=0,612</i>	2,0 <i>p=0,933</i>
Нарушение осанки (N=48)	31,25	18,75	4,2	39,6	6,25	10,4	2,1	37,5
Нет нарушения (N=37)	8,1	56,7	5,4	2,7	56,75	8,1	18,9	37,8
t-критерий эмп.	1,99* <i>p=0,0008</i>	1,99* <i>p=0,0003</i>	1,99 <i>p=0,95</i>	1,99* <i>p=0,0001</i>	1,98* <i>p=0,0005</i>	1,98 <i>p=0,354</i>	2,0 <i>p=0,182</i>	2,0 <i>p=0,931</i>

(rs1801197 CALCR) и витамина D (TaqI rs 731236 VDR) ассоциируется с развитием заболеваний, связанных с потерей минеральной плотности костной ткани и развитием остеопороза [8, 13, 24]. Также показано, что у носителей гетерозиготного генотипа коллагена COL1A1 чаще встречаются переломы и нарушение осанки, что согласуется с результатами других исследований связи между наличием аллеля Т и прочности костей у детей школьного возраста [18]. Таким образом, при наличии тех или иных факторов риска и своевременной диагностике ранних доклинических стадий остеопороза возможно предотвращение таких жизнеугрожающих осложнений, как переломы тел позвонков и шейки бедра. При этом тестирование аллельных вариантов указанных генов открывает широкие возможности для профилактики патологии костной системы, так как позволяет эффективно выявлять лица с высоким риском заболевания задолго до появления признаков патологических изменений опорно-двигательного аппарата и является областью исследований превентивной медицины.

Заключение. Таким образом, генетическое тестирование позволило, во-первых, выявить распространенность «неблагоприятных» аллелей и их сочетаний в изученных генах (от 3,8 до 50 %), регулирующих обмен кальция у подростков; во-вторых, определить связь между генотипами и наличием переломов и нарушением осанки, что дает возможность выделения группы обследуемых с высоким риском развития заболеваний КМС. На наш взгляд, особенного внимания требует от педиатров подростковый возраст детей, ко-

торый характеризуется не только резким изменением гормонального статуса организма, но и максимальным повышением роста трубчатых костей и позвонков при увеличении минеральной плотности костной ткани и мышечной массы. В этот период влияние различных экзо- и эндогенных стимулов на формирование пика костной массы и, возможно, риска развития остеопенического синдрома является решающим. Данные проведенного анализа подтверждают необходимость введе-

ния динамических исследований показателей здоровья КМС в социально-гигиеническом мониторинге здоровья детей в качестве обязательного элемента. Несмотря на небольшой объем выборки нашего исследования, его результаты позволяют оценить вклад генетических полиморфизмов в развитие КМС, что в дальнейшем даст возможность использования таких данных в качестве прогностических показателей при организации персонализированных профилактических программ.

Таблица 5

Распределение полиморфизмов и аллелей генов у обследованных подростков и сочетание вариантов исследованных генов

Полиморфизм	Распределение в % (n=88)
rs1800012 COL1A1:c,104-441 G>T	SS (GG) 9,7
	Ss (GT) 90,3
	ss (TT) 0
	S 100
rs 1801197 CALCR:c,1377 C>T	CC 11,5
	TT 29,5
	CT 59
	C 44,4
	T 55,6
rs731236 TaqI VDR:c,1056 T>C	CC 12,8
	TT 20,5
	CT 66,7
	C 56,1
	T 43,9
Сочетание вариантов исследованных генов	
Генотипы, %	
Ss + CT (rs1800012 COL1A1:c,104-441; rs731236 TaqI VDR:c,1056)	46,15
Ss + CT (rs1800012 COL1A1:c,104-441; rs 1801197 CALCR:c,1377)	50
CT + CT (rs731236 TaqI VDR:c,1056; rs 1801197 CALCR:c,1377)	37,2
TT + TT (rs731236 TaqI VDR:c,1056; rs 1801197 CALCR:c,1377)	3,8
Ss + CT + CT (rs1800012 COL1A1:c,104-441; rs731236 TaqI VDR:c,1056; rs 1801197 CALCR:c,1377)	33,3

Протокол исследования одобрен независимым междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 24.10.2016 г.).

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России в рамках выполнения внутривузовского гранта.

Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Литература

1. Баранов А.А. Возрастные особенности изменений биохимических маркеров костного ремоделирования у детей / А.А. Баранов, Л.А. Щеплягина, М.И. Баканов // Российский педиатрический журнал. – 2002. – № 3. – С. 7–12.
2. Baranov A.A. Age-related features of changes in biochemical markers of bone remodeling in children / A.A. Baranov, L.A. Sheplyagina, M.I. Bakanov // Russian pediatric magazine. – 2002. – №3. – P. 7–12.
3. Баранов В.С. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья. Методические рекомендации / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, А.С. Глотов // Журнал акушерства и женских болезней. Приложение. – 2009. – 25 с.
4. Baranov V.S. Determination of hereditary predisposition to some common diseases during pregnancy. Genetic map of reproductive health. Guidelines / V.S. Baranov, T.E. Ivashchenko, A.S. Glotov // Journal of Obstetrics and Women's Diseases. Annex. – 2009. – 25 p.
5. Генетические предикторы переломов проксимального отдела бедра у женщин с остеопорозом г. Красноярск / В.С. Мордовский, Е.В. Капустина, А.С. Кенс, С.Ю. Никулина // Наука 21 века. Проблемы и перспективы. – 2016. – Т. 1, № 4. – С. 29–31.
6. Genetic predictors of proximal femur fractures in women with osteoporosis of Krasnoyarsk / V.S. Mordovsky, E.V. Kapustina, A.S. Kents, S.Yu. Nikulina // Science of the 21 century. Problems and prospects. – 2016. – №1 (4). – P. 29–31.
7. Изучение полиморфизма rs11801197 гена рецептора кальцитонина (CALCR) у женщин и детей Москвы с различным уровнем костной прочности / Н.М. Шилина, Е.Ю. Сорокина, Т.А. Иванушкина [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 1. С. 28–34.
8. The study of polymorphism rs11801197 of the calcitonin receptor gene (CALCR) in women and children of Moscow with different levels of bone strength / N.M. Shilina, E.Yu. Sorokina, T.A. Ivanushkina [et al.] // Nutrition issues. – 2007. – №86 (1). – P. 28–34.
9. Мирская Н. Диагностика нарушений и заболеваний костно-мышечной системы современных школьников: подходы, терминология, классификация / Н. Мирская, А. Коломенская // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – №8(3). – С. 10–13.
10. Mirskaya N. Diagnosis of disorders and diseases of the musculoskeletal system of modern students: approaches, terminology, classification / N. Mirskaya, A. Kolomenskaya // Questions of modern pediatrics. – 2009. – №8 (3). – P. 10–13.
11. Причины формирования и факторы риска патологии костно-мышечной системы у детей и подростков / Е.В. Крукович, Н.А. Догарина, Д.А. Каблук, Н.Г. Плехова // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №5. – С. 54–62.
12. Causes of formation and risk factors for pathology of the musculoskeletal system in children and adolescents / E.V. Krukovich, N.A. Dogarina, D.A. Kablukov, N.G. Plekhova // Modern problems of science and education. – 2017. – №5. – P. 54–62.
13. Репина И.В. Минеральная плотность костей скелета детей и подростков / И.В. Репина, А.А. Свешников, Т.А. Ларионова // Гений ортопедии. – 2008. – № 2. – С. 108–113.
14. Repina I.V. The mineral density of the bones of the skeleton of children and adolescents / I.V. Repina, A.A. Sveshnikov, T.A. Larionova // The genius of orthopedics. – 2008. – №2. – P. 108–113.
15. Хусаинова Р. Поиск генетических маркеров остеопоротических переломов у женщин / Р. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова // Остеопороз и остеопатии. – 2006. – Т. 19, № 2. – С. 36–40.
16. Khusainova R. Search for genetic markers of osteoporotic fractures in women / R. Khusainova, E.K. Khusnutdinova // Osteoporosis and osteopathy. – 2006. – №19 (2). – P. 36–40. DOI: <https://doi.org/10.14341/osteo2016236-36>
17. Щеплягина Л.А. Клиническая оценка костной массы у детей / Л.А. Щеплягина, Т.Ю. Моисеева, И.В. Круглова // Научно-практическая ревматология. – 2005. – № 1. – С. 79–84.
18. Sheplyagina L.A. Clinical evaluation of bone mass in children / L.A. Sheplyagina, T.Yu. Moiseva, I.V. Kruglova // Scientific and Practical Rheumatology. – 2005. – №1. – P. 79–84.
19. Яценко А.К. Влияние потенциальных факторов риска на формирование биологической зрелости детского организма в условиях современного города России / А.К. Яценко, Л.В. Транковская, И.Л. Иванова // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – Т. 3, № 65. – С. 21–24. DOI: [10.17238/PmJ1609-1175.2016.3.21-25](https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2016.3.21-25).
20. Yatsenko A.K. The influence of potential risk factors on the formation of the biological maturity of the child's organism in the conditions of the modern city of Russia / A.K. Yatsenko, L.V. Trankovskaya, I.L. Ivanova // Pacific Medical Journal. – 2016. – №3 (65). – P. 21–24. DOI: [10.17238/PmJ1609-1175.2016.3.21-25](https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2016.3.21-25).
21. Association between calcitonin receptor Alu1 gene polymorphism and bone mineral density: A meta-analysis / Q. Xiong, L. Xin, L. Zhang [et al.] // Exp Ther Med. – 2015. – Vol. 9 (1). – P. 65–76. DOI: [10.3892/etm.2014.2083](https://doi.org/10.3892/etm.2014.2083)
22. Associations between VDR Gene Polymorphisms and Osteoporosis Risk and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women: A systematic review and Meta-Analysis / L. Zhang, X. Yin, J. Wang [et al.] // Sci Rep. 2018; 8(1):981. DOI: [10.1038/s41598-017-18670-7](https://doi.org/10.1038/s41598-017-18670-7).
23. Association of calcium and phosphate balance, Vitamin D, PTH, and calcitonin in patients with adolescent idiopathic scoliosis / A. Gozdzińska, M. Jaskiewicz, Knapik-Czajka [et al.] // Spine (Phila Pa 1976). – 2016. – Vol. 41(8). – P. 693–697. DOI: [10.1097/BRS.0000000000001286](https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000001286).
24. COL1 C-propeptide cleavage site mutations cause high bone mass osteogenesis imperfect / K. Lindahl, A.M. Barnes, N. Fratzl-Zelman [et al.] // Hum Mutat. – 2011. – Vol. 32(6) – P. 598–609. DOI: [10.1002/humu.21475](https://doi.org/10.1002/humu.21475).
25. Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans / JC Marini, A. Forlino, WA Cabral [et al.] // Hum. Mutat. Mar. – 2007. – Vol. 28(3). – P. 209–221. DOI: [10.1002/humu.20429](https://doi.org/10.1002/humu.20429)
26. Dehghan M. Calcitonin receptor Alu1 (rs1801197) and Taq1 calcitonin genes polymorphism in 45- and over 45-year-old women and their association with bone density / M. Dehghan, R. Pourahmad-Jaktaji, Z. Farzaneh // Acta Inform Med. – 2016. – Vol. 24(4). – P. 239–243. DOI: [10.5455/aim.2016.24.239-243](https://doi.org/10.5455/aim.2016.24.239-243)
27. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms: Review / A.G. Uitterlinden, Y. Fang, J.B.J. van Meurs [et al.] // Gene. – 2004. – Vol. 338. – P.143–156. DOI: [10.1210/jc.2008-1575](https://doi.org/10.1210/jc.2008-1575)
28. Genetic polymorphisms of collagen type I α1 chain (COL1A1) gene increase the frequency of low bone mineral density in the subgroup of children with juvenile idiopathic arthritis / M.M. Kostik, A.M. Smirnov, G.S. Demin [et al.] // EPMA J. – 2013 – Vol. 4(1). – P. 15. DOI: [10.1186/1878-5085-4-15](https://doi.org/10.1186/1878-5085-4-15).
29. Human calcitonin receptor-like receptor for adrenomedullin: genomic structure, eight single-nucleotide polymorphisms, and haplotype analysis / I. Nakazawa, T. Nakajima, H. Harada [et al.] // J Hum Genet. – 2001. – Vol. 46(3). – P.132–136. DOI: [10.1007/s100380170100](https://doi.org/10.1007/s100380170100)
30. Influence of biological factors on injuries occurrence in the Polish population / M. Stepień-Słodkowska, K. Ficek, M. Kaczmarczyk [et al.] // Ann Agric Environ Med. – 2016. – Vol. 23(2). P. 315–318. DOI: [10.5604/12321966.1203897](https://doi.org/10.5604/12321966.1203897)
31. The study of rs1800012 polymorphism of alpha1-chains of collagen type 1 gene in Moscow women and children with different level of bone strength / N.M. Shilina, E.Yu. Sorokina, T.A. Ivanushkina [et al.] // Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. – 2015. – Vol. 84(4). – P. 74–82.
32. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women / J.A. Kanis, H. Johansson, A. Oden [et al.] // Osteoporos. Int. – 2007. – Vol. 18(8). – P.1033–1046. DOI: [10.1007/s00198-007-0343-y](https://doi.org/10.1007/s00198-007-0343-y)
33. Vitamin D activation of functionally distinct regulatory miRNAs in primary human osteoblasts / T.S. Lisse, R.F. Chun, S. Rieger, [et al.] // J Bone Miner Res. – 2013. – Vol. 28 (6). – P. 1478–14788. DOI: [10.1002/jbmr.1882](https://doi.org/10.1002/jbmr.1882).
34. Vitamin D binding protein genotype is associated with serum 25-hydroxyvitamin D and PTH concentrations, as well as bone health in children and adolescents in Finland / M. Pekkinen, E. Saarnio, H.T. Viljakainen [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9(1). – P. e87292. DOI: [10.1371/journal.pone.0087292](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087292). eCollection 2014.
35. Zhang H. Association of calcitonin receptor gene polymorphism with bone mineral density in postmenopausal Chinese women: a meta-analysis / H. Zhang, X. Tao, J. Wu // Arch Gynecol Obstet. – 2015. – Vol. 291(1). – P. 165–172. DOI: [10.1007/s00404-014-3378-2](https://doi.org/10.1007/s00404-014-3378-2)