

DOI 10.23946/2500-0764-2019-4-2-72-77

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА VDR

ВОЛКОВ А.Н.^{1,2}, ЦУРКАН Е.В.²¹ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия²ГАУЗ КО «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», г. Кемерово, Россия

REVIEW ARTICLE

POPULATION-GENETIC RESEARCH OF THE VDR GENE POLYMORPHISM

ALEXEY N. VOLKOV^{1,2}, ELENA V. TSURKAN²¹Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056), Russian Federation²Kemerovo Regional Clinical Hospital (22, Oktyabrskiy Prospekt, Kemerovo, 650061), Russian Federation

Резюме

Цель. Установление частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера BsmI (*rs1544410*) гена *VDR* в выборке жителей Кемеровской области.

Материалы и методы. Проведено генотипирование маркера *rs1544410* гена *VDR* у 232 человек (125 мужчин и 107 женщин), проживающих на территории Кемеровской области. Возраст обследованных варьировал в пределах 45 – 74 года при среднем значении $58,3 \pm 1,86$ года. Из цельной крови термокоагуляционным методом выделяли ДНК. Полученные образцы ДНК использовали для проведения аллель-специфической амплификации *rs1544410*. Рассчитывались частоты аллелей и генотипов изучаемого маркера.

Результаты. Преобладающим генотипом маркера *rs1544410* в изученной выбор-

ке был гетерозиготный вариант *G/A* с частотой 46,1%. Частота гомозиготного генотипа *A/A*, предрасполагающего к снижению минеральной плотности кости и остеопорозу, достигла 13,8%. Доля соответствующего аллеля *A* составила 36,9%. Соотношение генотипов *rs1544410* было сопоставимо с распределениями, характерными для этнически близких народностей.

Заключение. Высокая частота генотипа, предрасполагающего к снижению минерализации костной ткани, может являться одним из факторов, определяющих широкую распространенность остеопороза и сопутствующих заболеваний.

Ключевые слова: молекулярно-генетическая диагностика, *VDR*, минеральная плотность кости, остеопороз.

English ►

Abstract

Aim. To explore the prevalence of alleles and genotypes in *rs1544410* polymorphism within the *VDR* gene in the population of Kemerovo Region.

Materials and Methods. Genotyping was performed in 232 residents of Kemerovo region (125 men and 107 women, average $58,3 \pm 1,86$ (range 45-74) years of age). DNA was extracted from the peripheral blood utilizing a thermocoagulation method while genotyping was carried out by allele-specific polymerase chain reaction.

Results. Heterozygous (*G/A*) *rs1544410* genotype prevailed in the studied sample (46.1%). Homozygous genotype *A/A* associated with the reduced bone mineral density and osteopenia/osteoporosis was defined in 13.8% of individuals. The ratio of *rs1544410* genotypes was comparable with that of ethnically close populations.

Conclusion. High population frequency of the *A/A* genotype of the *rs1544410* polymorphism within the *VDR* gene may be one of the factors

determining the high prevalence of osteoporosis in the population of Kemerovo Region.

Keywords: molecular genetic diagnostics, VDR, bone mineral density, osteoporosis.

Введение

Выявление и популяционное исследование генетических маркеров частых мультифакториальных патологий является актуальной задачей медицинской генетики. Установление наследственной предрасположенности особенно важно в отношении распространенных заболеваний с поздней манифестацией и нечеткой клинической картиной в начале заболевания. В этом случае наличие у субъекта генетических маркеров патологии становится поводом для настороженности и принятия превентивных медико-профилактических мер.

К числу распространенных и социально значимых заболеваний относится остеопороз, связанный со снижением минерализации костей, изменением их архитектуры, приводящим к деформации и повышению ломкости костей [1]. По некоторым оценкам, до 30% женщин и 15% мужчин в тот или иной период жизни приобретают эту патологию в связи со снижением минеральной плотности кости (МПК). Вероятность поражения увеличивается с возрастом, что связано с дисбалансом процессов резорбции и восстановления костной ткани в ходе ее постоянного ремоделирования в течение жизни. При этом все больше внимания уделяется факторам наследственной предрасположенности к заболеванию [1, 2].

Многочисленные данные показывают, что ключевую роль в поддержании нормальной минерализации и прочности костей играет витамин D и ассоциированные с ним метаболические процессы [3-5]. Для эффективной абсорбции минералов из пищи необходимо не только простое присутствие витамина D, но и его правильное восприятие компетентными клетками. Это воздействие опосредуется внутриклеточным рецептором, получившим наименование VDR (от англ. – vitamin D receptor), который кодируется одноименным геном VDR [2].

К настоящему времени в гене VDR обнаружены различные мутации, изменяющие его активность. Одним из наиболее функционально значимых оказался полиморфный сайт BsmI (нуклеотидная замена G>A в 3'-UTR области, имеющая международный шифр rs1544410). Многочисленные исследования уровня минерализации кости, прежде

всего, у женщин, показали ассоциацию МПК с генетическим профилем rs1544410. Мутантный аллель A был признан маркером снижения МПК [6, 7]. С другой стороны, мета-анализ 26 независимых публикаций позволил установить протективное значение генотипа G/G в отношении остеопороза (OR=0,61; 95% CI, 0,40-0,92) [8].

Учитывая сказанное, можно предположить, что выявление носителей мутаций в гене VDR позволит не только выявить лиц с повышенным риском патологий опорно-двигательной системы, но и приблизительно оценить объем группы риска среди населения данной территории. Популяционно-генетические исследования маркера rs1544410 гена VDR среди населения отдельных регионов России проводились неоднократно. Вместе с тем, объемы использованных выборок не позволяют считать полученные результаты надежными и окончательными. Вероятно, в силу статистических причин ранее установленные частоты аллелей и генотипов существенно варьируют [9-11].

Цель исследования

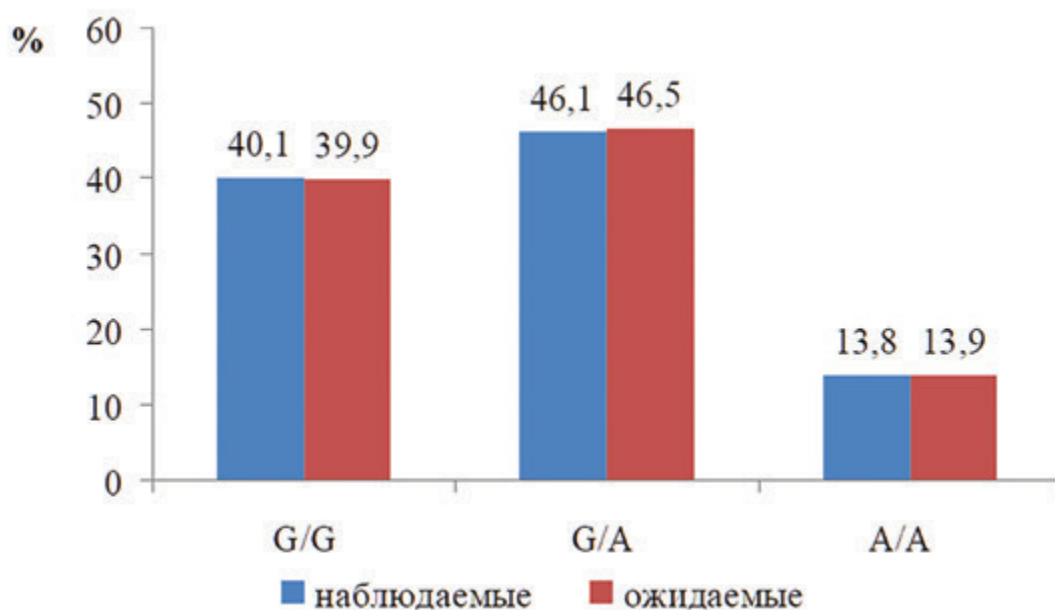
Установление частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера BsmI (rs1544410) гена VDR в выборке жителей Кемеровской области.

Материалы и методы

Выборка обследованных включала 232 человека (125 мужчин и 107 женщин), главным образом, русской этнической принадлежности, постоянно проживающих на территории Кемеровской области. Средний возраст участников составил $58,3 \pm 1,86$ года при возрастном диапазоне 45 – 74 года. Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили образцы венозной крови, собранные в вакуумные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Выделение ДНК осуществляли термокоагуляционным способом с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (ООО НПФ «Литех»). Генотипирование маркера rs1544410 гена VDR проводили с использованием тест-систем формата «SNP-экспресс» (ООО НПФ «Литех»), визуализацию результата ПЦР выполняли электрофоретическим способом в 3% агарозном геле с красителем бромистым этидием.

Рисунок 1.
Наблюдаемые
и ожидаемые
соотношения
генотипов
полиморфного
маркера BsmI
(rs1544410) гена VDR у
обследованных

Figure 1.
Observed and
expected ratios of
genotypes within
the rs1544410
polymorphism in the
VDR gene



Статистический анализ первичных данных включал расчет общих характеристик выборки обследованных: среднее арифметическое значение возраста, стандартная ошибка среднего значения, возрастной диапазон. Частотные показатели вычислялись как частное от деления количества генотипов или аллелей данного типа на их общее количество с последующим выражением в %. Сравнение распределений частот осуществляли с помощью теста χ^2 , отличия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Преобладающим генотипом маркера rs1544410 гена VDR в изученной нами выборке был гетерозиготный вариант G/A с частотой 46,1% (рисунок 1).

Частота гомозиготного генотипа A/A составила 13,8%. Доля соответствующего аллеля A достигла 36,9%. Экстраполируя полученные данные на население региона в целом, можно сделать предварительное заключение о высокой доле лиц с повышенным риском снижения минеральной плотности кости и сопутствующих патологий.

Теоретически любая мутация с негативным эффектом может привести к снижению уровня здоровья или репродуктивного потенциала носителей, а в крайнем случае – повысить их смертность. В масштабах популяции это приводит к естественному отбору против отдельных аллелей и генотипов. Как следствие, происходит элиминация неблагоприятных генетических вариантов с нарушением генетического

равновесия. Для выявления таких генетико-селективных процессов эмпирические частоты генотипов сопоставляются с ожидаемыми, которые рассчитываются согласно принципу Харди-Вайнберга, исходя из предположения о равновесности популяции [12].

Установленные в нашем исследовании частоты генотипов практически совпадали с ожидаемыми равновесными значениями ($\chi^2 = 0,021$; $p > 0,05$). Это позволяет заключить, что мутантный вариант A маркера rs1544410 гена VDR не обладает выраженным дезадаптивным значением для его носителя. Согласно данным исследований, снижение минеральной плотности кости под влиянием (или при участии) генетических факторов происходит, главным образом, в зрелом возрасте. В группу повышенного риска возникновения остеопороза и сопутствующих заболеваний попадают прежде всего женщины после наступления менопаузы [1, 2]. Очевидно к этому времени большинство носителей мутаций VDR успевают выполнить репродуктивную программу и вернуть в популяцию все типы аллелей, заключенные в их генотипе.

Небезынтересно также сопоставить полученные нами результаты с итогами ранее проведенных популяционно-генетических исследований мутаций VDR, касающиеся жителей России. Как было отмечено, маркер rs1544410 неоднократно привлекал внимание отечественных генетиков. При этом изучались небольшие по объему выборки, что требует осторожности при интерпретации сделанных заключений (таблица 1).

Этническая принадлежность <i>Population</i>	Генотипы VDR (rs1544410), % <i>VDR genotype (rs1544410), %</i>			Частота аллеля A, % <i>A allele frequency, %</i>	Источник <i>Reference</i>
	G/G	G/A	A/A		
русские (n = 232) <i>Russian (n = 232)</i>	40,1	46,1	13,8	36,9	собственные данные <i>Own data</i>
русские (n = 47) <i>Russian (n = 47)</i>	31,9	44,7	23,4	45,7	[9]
русские (n = 60) <i>Russian (n = 60)</i>	46,7	41,7	11,7	32,5	[10]
русские (n = 96) <i>Russian (n = 96)</i>	51,0	41,7	7,3	28,1	[11]
славяне (n = 186) <i>Slavs (n = 186)</i>	40,3	46,2	13,5	36,6	[13]
поляки (n = 545) <i>Polish (n = 545)</i>	40,0	45,0	15,0	38,0	[14]
испанцы (n = 679) <i>Spanish (n = 679)</i>	41,2	42,6	16,2	37,5	[15]
итальянцы (n = 252) <i>Italian (n = 252)</i>	36,9	45,2	17,9	40,5	[16]
британцы (n = 241) <i>British (n = 241)</i>	28,6	55,2	16,2	44,0	[17]
португальцы (n = 186) <i>Portuguese (n = 186)</i>	29,6	50,0	20,4	45,4	[18]

Таблица 1. Популяционно-генетические особенности полиморфного маркера BsmI (rs1544410) гена VDR у различных европеоидных этносов

Table 1. Distribution of rs1544410 polymorphism (VDR gene) alleles and genotypes in various Caucasian groups

Так, среди русских, проживающих в Забайкальском крае, установлена очень высокая частота генотипа A/A (23,4%), что соответствует максимальной известной частоте минорного аллеля A у русских вообще (45,7%) [9]. Доля генотипа A/A у женщин г. Москвы составила 11,7%, а доля патогенного аллеля A – 32,5% [10], что сопоставимо с нашими данными. Наконец, выборка русских европейской части РФ характеризовалась очень низкой встречаемостью мутантного варианта маркера rs1544410 (28,1%), что соответствовало доле гомозигот A/A 7,3% [11].

Столь широкое варьирование доли минорного генотипа A/A (от 7,3% до 45,7%) у представителей одного и того же этноса объяснить объективными причинами довольно сложно. Кроме того, в двух ранее цитированных исследованиях обнаружено преобладание генотипа G/G над гетерозиготным вариантом [10, 11], что не соответствует нашим данным. Поэтому мы провели дополнительный анализ результатов популяционно-генетического исследования VDR у других европеоидных этносов.

Наибольший интерес с этой точки зрения представляют исследования славянских народностей. Так, в выборке здоровых женщин ДНР доли генотипов G/G, G/A и A/A составили соответственно 40,3%, 46,2% и 13,5%, что практически совпадает с полученными нами результатами. При таком соотношении генотипов доля

минорного аллеля A составила 36,6% [13]. Обращают на себя внимание и данные польских исследователей, изучивших распределение генотипов rs1544410 среди 545 здоровых жителей Варшавы. Частоты трех генотипов составили 40%, 45% и 15%, а доля аллеля A – 38% [14].

Исследование выборок европеоидов Западной Европы не славянской принадлежности показало наличие сходных тенденций в распределении генотипических вариантов rs1544410. Повсеместно максимальной частотой обладает гетерозиготный генотип (42,6% – 50%). Наиболее редкий генотип A/A встречается у 16,2% – 20,4% населения, что несколько выше, чем у восточных европеоидов. Это связано с более высокой частотой минорного аллеля A (37,5% – 45,4%) [15-18].

Заключение

В изученной выборке жителей Кемеровской области преобладающим генотипом маркера rs1544410 гена VDR был вариант G/A с частотой 46,1%. Генотип A/A выявлен у 13,8% обследованных, что соответствовало частоте минорного аллеля A 36,9%. Соотношение генотипов достоверно не отличалось от равновесного и было сопоставимо с результатами ранее проведенных популяционно-генетических исследований среди других европеоидных этносов.

Высокая частота генотипа, предрасполагающего к снижению минерализации костной тка-

ни, может являться одним из факторов, определяющих широкую распространенность остеопороза и сопутствующих заболеваний. Вместе с тем следует понимать, что реализация генетической предрасположенности всегда осуществляется на фоне действия дополнительных экзо- и эндогенных этиологических факторов. Молекулярно-генетическая диагностика позволяет лишь выявить лиц из группы повышенного риска с целью профилактики патологий опорно-двигательной системы и улучшения качества жизни населения.

Источник финансирования

Данная работа не имела источников финансирования.

Funding

There is no funding for this project.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Литература / References:

- Drake MT, Clarke BL, Lewiecki EM. The pathophysiology and treatment of osteoporosis. *Clin Ther.* 2015; 37 (8): 1837-1850. doi: 10.1016/j.clinthera.2015.06.006.
- Ralston SH, de Crombrughe B. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. *Gen Dev.* 2006; 20 (18): 2492-2506. doi: 10.1101/gad.1449506.
- Yoshida T, Stern PH. How vitamin D works on bone. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2012; 41 (3): 557-569. doi: 10.1016/j.ecl.2012.04.003.
- Carlberg C, Molnar F. Current status of vitamin D signaling and its therapeutic applications. *Curr Top Med Chem.* 2012; 12 (6): 528-547. doi: 10.2174/156802612799436623.
- Laird E, Ward M, McSorley E, Strain JJ, Wallace J. Vitamin D and bone health; potential mechanisms. *Nutrients.* 2010; 2 (7): 693-724. doi: 10.3390/nu2070693.
- Li Y, Xi B, Li K, Wang C. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in Chinese women. *Mol Biol Rep.* 2012; 39 (5): 5709-5717. doi: 10.1007/s11033-011-1380-3.
- Pouresmaeili F, Jamshidi J, Azargashb E, Samangouee S. Association between vitamin D receptor gene BsmI polymorphism and bone mineral density in a population of 146 Iranian women. *Cell J.* 2013; 15 (1): 75-82.
- Jia F, Sun RF, Li QH, Wang DX, Zhao F, Li JM, et al. Vitamin D receptor BsmI polymorphism and osteoporosis risk: a meta-analysis from 26 studies. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2013; 17 (1): 30-34. doi: 10.1089/gtmb.2012.0267.
- Verkhoturova SV, Tsarenok SU, Gorbunov VV, Aksenova TA. Polymorphism of some genes of bone tissue metabolism (VDR Bsm1 c.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G->T) among the representatives of Russian and Buryat nationalities. *Osteoporosis and Bone Diseases.* 2017; 20 (1): 3-7. Russian (Верхотурова С.В., Царенок С.Ю., Горбунов В.В., Аксенова Т.А. Полиморфизм некоторых генов метаболизма костной ткани (VDR Bsm1 C.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G>T) у представительниц русской и бурятской национальностей // Остеопороз и остеопатии. 2017. Т. 20, № 1. С. 3-7). doi: 10.14341/osteo201713-6).
- Tagieva AN, Smetnik VP, Suhyh GT, Krylov MU, Grechenko AV, Makotkin VA, et al. Studying the role of genes of receptor vitamin D (VDR), estrogen receptor α (ESR α) and α 1 collagen 1 (COLIA1) in the development of postmenopausal osteoporosis. *Medical Genetics.* 2005; 4 (2): 90-95. Russian (Тагиева А.Н., Сметник В.П., Сухих Г.Т., Крылов М.Ю., Греченко А.В., Мякоткин В.А. и др. Изучение роли генов рецептора витамина D (VDR), α -рецептора эстрогенов (ESR α) и α -1-цепи коллагена 1-го типа (COLIA1) в заболеваемости остеопорозом у женщин в постменопаузе // Медицинская генетика. 2005. Т. 4, № 2. С. 90-95).
- Kozlov AI, Vershubskaya GG, Negasheva MA. Polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene in sampling of European Russia and Priuraliye population. *Perm Medical Journal.* 2016; 33 (5): 60-66. Russian (Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Негашева М.А. Полиморфизм гена рецептора витамина D (VDR) в выборках населения европейской России и Приуралья // Пермский медицинский журнал. 2016. Т. 33, № 5. С. 60-66).
- Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol.* 2009; 169 (4): 505-514. doi: 10.1093/aje/kwn359.
- Maylyan EA. The influence of vitamin D receptor gene 283 A>G (BsmI) polymorphism on osteoporosis in postmenopausal women. *Medical Bulletin of the Russian South.* 2016; 4: 32-38. Russian (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).
- Mostowska A, Lianeri M, Wudarski M, Olesinska M, Jagodzinski PP. Vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep.* 2013; 40 (2): 803-810. doi: 10.1007/s11033-012-2118-6.
- Correa-Rodríguez M, Carrillo-Ávila JA, Schmidt-Rio Valle J, González-Jiménez E, Vargas S, Martín J, et al. Genetic association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and obesity-related phenotypes. *Gene.* 2018; 640: 51-56. doi: 10.1016/j.gene.2017.10.029.
- Colombini A, Brayda-Bruno M, Lombardi G, Croiset SJ, Ceriani C, Buligan C, et al. BsmI, ApaI and TaqI polymorphisms in the vitamin D receptor gene (VDR) and association with lumbar spine pathologies: an Italian case-control study. *PLoS ONE.* 2016; 11 (5): e0155004. doi: 10.1371/journal.pone.0155004.
- Bretherton-Watt D, Given-Wilson R, Mansi JL, Thomas V, Carter N, Colston KW. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Br J Cancer.* 2001; 85 (2): 171-175. doi: 10.1054/bjoc.2001.1864.
- Carvalho C, Marinho A, Leal B, Bettencourt A, Boleixa D, Almeida I, et al. Association between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Portuguese patients. *Lupus.* 2015; 24 (8): 846-853. doi: 10.1177/0961203314566636.

Сведения об авторе

Волков Алексей Николаевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии с основами генетики и паразитологии; старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия.

Вклад в статью: выполнение молекулярно-генетического исследования, анализ результатов, написание статьи.
ORCID: 0000-0003-1169-715X

Цуркан Елена Владимировна, биолог медико-генетической консультации ГАУЗ КО «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», г. Кемерово, Россия.

Вклад в статью: выполнение молекулярно-генетического исследования.
ORCID: 0000-0002-6268-6242

Корреспонденцию адресовать:

Волков Алексей Николаевич,
650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а
E-mail: volkov_alex@rambler.ru

Для цитирования:

Волков А.Н., Цуркан Е.В. Популяционно-генетическое исследование полиморфизма гена VDR // Фундаментальная и клиническая медицина. 2019. Т. 4, № 2. С. 72-77. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-2-72-77>.

Статья поступила: 09.04.2019

Принята в печать: 31.05.2019

Authors

Dr. Alexey N. Volkov, PhD, Associate Professor, Department of Biology, Genetics and Parasitology; Senior Researcher, Central Research Laboratory, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

Contribution: conceived and designed the study; performed the genotyping; wrote the manuscript.
ORCID: 0000-0003-1169-715X

Dr. Elena V. Tsurkan, MD, Biologist, Unit for Genetic Counseling, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation.

Contribution: performed the genotyping.
ORCID: 0000-0002-6268-6242

Corresponding author:

Dr. Alexey N. Volkov,
22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation
E-mail: volkov_alex@rambler.ru

For citation:

Alexey N. Volkov, Elena V. Tsurkan. Population-genetic research of the VDR gene polymorphism. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019; 4 (2): 72-77. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-2-72-77>.

Received: 09.04.2019

Accepted: 31.05.2019