

**РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА
ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА, РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D И САЙТОВ
СВЯЗЫВАНИЯ МИКРОРНК В РАЗВИТИИ ОСТЕОПОРОЗА**

© Б.И. Ялаев¹, А.В. Тюрин², Р.З. Нурлыгаянов³, Р.И. Хусаинова²

*¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное
подразделение Уфимского федерального исследовательского центра*

Российской Академии наук, г. Уфа, Россия

²Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

³Городская клиническая больница №21 г. Уфа, Россия

Проведено изучение полиморфных локусов гена остеопротегерина, который является одним из ключевых ингибиторов дифференциации остеокластов, рецептора витамина D, который системно вовлечен в разные пути метаболизма костной ткани и ряда сайтов связывания микроРНК, которые ассоциированы с остеопорозом по результатам полногеномных исследований ассоциаций (GWAS). Обнаружена значимость полиморфных вариантов rs11540149, rs6854081, rs10098470, rs10793442, rs1054204 сайтов связывания микроРНК, локусов rs3134069, rs3102734 и rs7844539 гена OPG и rs1544410 гена VDR в увеличении риска переломов в различных областях скелета и формировании низкого уровня минеральной плотности костной ткани. Полученные данные указывают на существование различий в молекулярном патогенезе ОП, связанных с механизмами, детерминированными половыми различиями в гормональной регуляции костного метаболизма и различном вкладе полиморфных

вариантов исследованных локусов в формирование риска развития данного заболевания.

Ключевые слова: микроРНК, остеопротегерин, рецептор витамина D, остеопороз, генетика, эпигенетика.

THE ROLE OF POLYMORPHIC VARIANTS OF THE OSTEOPROTEGERIN GENE, VITAMIN D RECEPTOR, AND MICRORNA BINDING SITES IN THE DEVELOPMENT OF OSTEOPOROSIS

© B.I. Yalaev¹, A.V. Tyurin², R.Z. Nurlygayanov³, R.I. Khusainova²

¹*Institute of Biochemistry and Genetics - a separate structural unit of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

²*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

³*City Clinical Hospital №21, Ufa, Russia*

Osteoporosis (OP) is one of the most common multifactorial diseases among the elderly population, which is characterized by a high risk of fractures and microarchitectural disorders of bone tissue. A comprehensive study of the genetic and epigenetic factors of this disease and the specifics of their contribution to the structure of OP pathogenesis is relevant [1-2]. The development of OP depends on genetic factors that determine 80% of the variability in the level of bone mineral density (BMD) and 25% of fractures [3]. We found an association of rs11540149, rs6854081, rs10098470, rs10793442, rs1054204 of microRNA binding sites, rs3134069, rs3102734 and rs7844539 of the OPG gene and rs1544410 of the VDR gene with the risk of fractures and the formation of low BMD. These data indicate differences in the pathogenesis of OP related to sexual differences in the regulation of bone metabolism and the different contribution of these loci to the risk of osteoporosis developing.

Keywords: *microRNA, osteoprotegerin, vitamin D receptor, osteoporosis, genetics, epigenetics.*

Введение

Остеопороз (ОП) – один из наиболее распространенных среди пожилого населения многофакторных заболеваний, который характеризуется высоким риском переломов и микроархитектурными нарушениями костной ткани. Актуальным представляется комплексное исследование генетических и эпигенетических факторов данного заболевания и их вклада в структуру патогенеза ОП [1-2]. Развитие ОП в значительной степени зависит от генетических факторов, которые определяют до 80% вариабельности уровня минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и в 25% случаях связаны с остеопоретическими переломами [3]. В последнее время обнаружена значимость полиморфизма сайтов связывания микроРНК, которые могут нарушать сродство регуляторных микроРНК с мРНК таргетных генов, в формировании остеопороза [4], однако роль данного типа полиморфизма в формировании фенотипа остеопороза еще предстоит выяснить. Гены остеопротегерина и рецептора витамина D активно исследуются в качестве значимых маркеров данного заболевания [5], однако существуют противоречивые данные о вкладе полиморфных вариантов этих генов в формировании переломов и низкого уровня МПКТ в различных популяциях мира и поэтому представляется актуальным поиск ассоциаций эндофенотипами остеопороза в популяциях Волго-Уральского региона России, имеющих свой уникальный генофонд, отличающийся от других регионов мира.

Цель исследования: поиск ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК: rs1061947 (с.*744C>T) и rs1061237 (с.*88T>C) - *COL1A1* (в гене коллагена 1 типа), rs1059277 (с.*1026 G>A - *COL10A1*), rs1031820 (с.*105C>T) (коллагена 10 типа) и rs9659030 (с.*1183A>G) - *COL11A1* (коллагена 11 типа), rs11540149 (с.*1865G>A – *VDR*) (рецептора витамина D), rs6854081 (с.*3156T>C - *FGF2*) (фактора

роста фибробластов 2 типа), rs1042673 (с.*811A>G - *SOX9*) (транскрипционного фактора), rs10793442 (с.*332G>T - *ZNF239*) (белка 239 типа цинковых пальцев), rs10098470 (с.*1073C>T - *TPD52*) (опухолевого белка D52), rs1054204 (с.*582 G>C - *SPARC*) (остеонектина), rs9509 (с.*146T>C - *MMP9*), rs1056628 (с.*39A>C - *MMP9*) (матриксной металлопротеиназы 9), rs1042840 (с.*949A>G - *MMP13*) (матриксной металлопротеиназы 13), rs5854 (с.*269C>T), rs470215 (с.*44A>C) и rs2239008 (с.*63C>T) - *MMP1* (матриксной металлопротеиназы 1), rs1544410 (9:с.1024+283G>A) - *VDR*, а также шесть полиморфных вариантов гена *OPG* rs3102735 (с.-1010A>G), rs3134069 (с.-928T>G), rs2073617 (с.-223C>T), rs2073618 (с.9C>G, р.Asn3Lys), rs3102734 (с.30+15C>T) и rs7844539 (с.817+8A>C) гена остеопротегерина (*OPG*) с низким уровнем минеральной плотности костной ткани и с остеопоротическими переломами различных локализаций у мужчин и женщин из Волго-Уральского региона России.

Материалы и методы

В настоящей работе была использована коллекция ДНК из 1324 человек, среди которых 828 женщин постменопаузального возраста (61,940±7,989 (Standard Deviation)) и 496 мужчин старше 45 лет (62,039±10,839 (Standard Deviation)). Выборка женщин состояла преимущественно из представителей двух этнических групп: русских (67%) и татар (31%), а также небольшого процента представителей других национальностей и метисов (2%), в выборке мужчин подавляющее большинство составляли русские (72%), в то время как остальная часть была сформирована из метисов русских и татар (28%). Выборки были разделены на группы сравнения по наличию переломов, остеопороза (Т-критерий <-2,5) и остеопении (Т-критерий от -2,5 до -1,0) (табл. 1-2).

Данные группы сравнивались отдельно и в коморбидности с целью выяснить, как исследуемые генетические локусы ассоциированы с

переломами и нарушением минерализации костной ткани, и влияют ли они одновременно на проявление этих фенотипов. Кроме того, пациенты с переломами были разделены на несколько групп в зависимости от их локализации: 1 группа – с переломами поясничного отдела позвоночника, 2 группа – с переломами периферийных костей, в том числе шейки бедра, голени, кистей рук, бедренной кости и др., 3 – группа с сочетанными переломами поясничного отдела позвоночника и периферийных костей скелета и 4 группа – с нетипичными переломами в локализациях, которые, как правило, менее всего подвержены переломам при остеопорозе (мизинцы ноги, лодыжки, ребра и др.).

Результаты и обсуждение

В результате проведенной работы обнаружено, что аллель А полиморфного варианта rs11540149 (с.*1865G>A), расположенного на 3'-нетранслируемой области мРНК гена *VDR* оказался значимо ассоциирован с переломами и низким МПКТ в общей группе мужчин, генотип GG локуса rs6854081 (с.*3156T>C) гена *FGF2* (фактор роста фибробластов) также оказался ассоциирован с переломами в общей выборке женщин и женщин татарской этнической принадлежности, аллель Т локуса rs10098470 (с.*1073C>T) гена *TPD52* (ген опухолевого белка D52) ассоциирован с переломами в общей выборке женщин, аллель А локуса rs10793442 (с.*332G>T) гена *ZNF239* (белок типа циноквых пальцев 239) с остеопорозом и остеопенией в общей выборке женщин и генотип GG локуса rs1054204 (с.*582G>C) гена *SPARC* (остеонектин) с переломами и низким уровнем МПКТ в общей выборке мужчин. Полиморфизм сайта связывания микроРНК может приводить к нарушению сродства с целевым участком в матричном РНК или с целевым участком в регуляторной последовательности самого гена (при участии комплекса RITS-РНК-индуцированного сайлесинга транскрипции гена), что, в данном случае, может быть связано с изменением отрицательной регуляции экспрессии

гена. Обнаружена значимость аллеля G ($\chi^2=5,405$, OR=1,488, ДИ=1,064-2,081, $p=0,02008$) и генотипа GG ($\chi^2=7,383$, OR=3,062, ДИ=1,336-7,020, $p=0,006584$) гена *VDR* (рецептор витамина D) в развитии остеопении в общей выборке мужчин. Также обнаружена значимость аллеля T и генотипа TG полиморфного варианта rs3134069 (245 T>G) и аллеля *T и генотипа TT локуса rs3102734 (1217C>T) гена *OPG* с развитием переломов в целом у женщин. Кроме того, обнаружена значимость аллеля TT полиморфного варианта rs3134069 (245 T>G) и аллеля T rs3102734 (1217C>T) гена *OPG* у женщин, а также генотипа CC rs2073617 (950 T>C) у мужчин с развитием переломов в шейке бедра и лучевых костях. Обнаружена значимость аллеля C полиморфного варианта rs7844539 (6890 A>C) гена *OPG* с низким уровнем МПКТ в поясничном отделе позвоночника, а также аллеля C полиморфного варианта rs3102734 (1217C>T) с низким уровнем МПКТ в шейке бедра у женщин.

Заключение

Таким образом, нами выявлена связь локусов сайтов связывания микроРНК в генах костного метаболизма – *VDR*, *FGF2*, *SPARC*, а также в генах с неизвестной функцией в костном метаболизме *TPD52*, *ZNF239*, выявленных в результате полногеномных исследований (GWAS), полиморфных вариантов генов *OPG* и *VDR* с низким уровнем МПКТ и риском возникновения переломов. Это демонстрирует, что при исследовании эпигенетических факторов остеопороза необходимо учитывать не только изменение паттернов микроРНК, но и также нарушение их сродства с сайтами связывания, потому как последние могут служить дополнительными факторами риска развития остеопороза и остеопоротических переломов. При этом только предстоит определить влияние эпигенетических механизмов на фенотипы остеопороза в зависимости от вариантов локусов сайта связывания микроРНК таргетных генов. В настоящее время гены остеопротегерина и рецептора витамина D

изучаются не только в связи с костным ремоделированием, но и с точки зрения патогенеза других заболеваний, так как они вовлечены в центральные системы клеточных сигнальных путей. Полученные результаты показывают значительную связь полиморфизма этих генов с остеопорозом, а потому актуализируют необходимость дальнейших исследований их роли в патогенезе многофакторных заболеваний опорно-двигательной системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-315-90083, а также в рамках государственного задания Минобрнауки России (№АААА-А16-116020350032-1). Образцы ДНК для исследования взяты из ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bernabei R., Martone A.M., Ortolani E. et al. Screening, diagnosis and treatment of osteoporosis: a brief review // Clinical cases in mineral and bone metabolism - 2014; - 11(3): - P. 201-207.
2. Ralston S.H., Uitterlinden A.G. Genetic of osteoporosis // Endocrine Reviews - 2010; - 31(5): - P. 629-662. doi: 10.1210/er.2009-0044.
3. Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К. Генетика остеопороза - Уфа: Гилем, - 2015. - 392 с.
4. Peschansky V.J., Wahlestedt C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation // Epigenetics - 2014; - 9(1) - P. 3-12.
5. Wu F., Zhou D., Shen G., Cui Y., Lv Q., Wei F. Association of VDR and OPG gene polymorphism with osteoporosis risk in Chinese postmenopausal women // Climacteric - 2019. - 2: - P. 208-212.

REFERENCES

1. Bernabei R., Martone A.M., Ortolani E. et al. Screening, diagnosis and treatment of osteoporosis: a brief review // *Clinical cases in mineral and bone metabolism* - 2014; - 11(3): - P. 201-207.
2. Ralston S.H., Uitterlinden A.G. Genetic of osteoporosis // *Endocrine Reviews* - 2010; - 31(5): - P. 629-662. doi: 10.1210/er.2009-0044.
3. Khusainova R.I., Khusnutdinova E.K. Genetika osteoporoza - Ufa: Gilem, - 2015. - 392 s.
4. Peschansky V.J., Wahlestedt C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation // *Epigenetics* - 2014; - 9(1) - P. 3-12.
5. Wu F., Zhou D., Shen G., Cui Y., Lv Q., Wei F. Association of VDR and OPG gene polymorphism with osteoporosis risk in Chinese postmenopausal women // *Climacteric* - 2019. - 2: - P. 208-212.