

и реджекция – отторжение иммунной системой (высокие дозы излучения стимулируют выработку CD8+Т-лимфоцитов, которые участвуют в иммунном ответе). Для учета влияния этих параметров в формулу (5) включается кубический компонент, в результате чего она приобретает вид:

$$E = -\ln \ln(S) = \sum_{i=1}^N (\alpha d_i + \beta d_i^2 - \gamma d_i^3).$$

На сегодняшний день модель LQ является наиболее часто используемой в клинической практике моделью, но нужно помнить о том, что и она имеет ограничения, являясь упрощенной моделью поражения клеток и пользоваться ей нужно с осторожностью в связи с оценкой возможного риска осложнений от дозы и облучаемого объема, основанных на выводах QUANTEC в условиях современной медицинской визуализации, оптимизации дозиметрического планирования облучения, новых подходов к проведению сеансов ЛТ.

В радиобиологии ни одна теория не может приниматься без клинической практики, поскольку только клиническая практика является основным критерием истинности. Радиобиологические модели применяются для расчета дозы излучения и числа фракций, сравнения биологического эффекта облучения при разных режимах фракционирования, представления физических величин (поглощенная доза, интенсивность излучения) в виде клинических показателей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Джойнер, М. С., ван дер Когель, О. Дж. Основы клинической радиобиологии / пер. с англ. – Москва: Бин. Лаборатория знаний, 2020. – 600 с.
2. Бученков, И. Э., Батян, А. Н., Зиматкина, Т. И. [и др.]. Радиобиология: вчера, сегодня, завтра : курс лекций / МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ; Гродненский государственный медицинский университет. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 203 с.
3. Маскевич, С. А., Батян, А. Н., Зиматкина, Т. И. [и др.]. Радиобиология: медико-экологические проблемы: монография / МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ; Гродненский государственный медицинский университет; под ред. С.А. Маскевича. – Минск: ИВЦ Минфина, 2019. – 256 с.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ С РАЗВИТИЕМ ОСТЕОПОРОЗА В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

### THE RELATIONSHIP OF POLYMORPHIC VARIANTS OF ESTROGEN RECEPTOR GENES WITH THE DEVELOPMENT OF OSTEOPOROSIS IN THE BELARUSIAN POPULATION

**Н. А. Гурская<sup>1</sup>, Е. В. Кобец<sup>1,2</sup>**  
**N. A. Gurskaya<sup>1</sup>, K. V. Kobets<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
 г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Лаборатория генетики человека, Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,  
 г. Минск, Республика Беларусь

<sup>1</sup>Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Laboratory of Human Genetics, Institute of Genetics and Cytology  
 of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Нарушение гормонального баланса считается одним из факторов, влияющих на развитие остеопороза (ОП). Изучение молекулярно-генетических аспектов данного факта позволит в дальнейшем подбирать более эффективный курс терапии ОП. Половые гормоны, являясь активаторами экспрессии ряда генов, регулирующих метаболизм костной ткани, действуют опосредованно через специфические рецепторы. Нами были рассмотрены полиморфные варианты генов эстрогеновых рецепторов *ESR1* и *ESR2*, кодирующие  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицы эстрогенового рецептора соответственно.

Среди изученных полиморфных вариантов *ESR1* (rs9340799, rs2234693, rs1801132) и *ESR2* (rs3020444) нами была выявлена ассоциация генотипа T/T гена *ESR1* (PvuII) rs2234693 с риском развития ОП ( $p=0,026$ ) в белорусской популяции.

A violation of the hormonal balance is considered one of the factors affecting the development of osteoporosis (OP). The study of the molecular and genetic aspects of this fact will allow us to select a more effective course of OP therapy in the future. Sex hormones, as activators of the expression of a number of genes that regulate bone

metabolism, act indirectly through specific receptors. We considered polymorphic variants of the estrogen receptor genes *ESR1* and *ESR2*, encoding the  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of the estrogen receptor, respectively.

Among the studied polymorphic variants of *ESR1* (rs9340799, rs2234693, rs1801132) and *ESR2* (rs3020444), we identified an association of the T/T genotype of the *ESR1* (PvuII) rs2234693 gene with the risk of developing OP ( $p=0.026$ ) in the Belarusian population.

**Ключевые слова:** минеральная плотность костной ткани; остеопороз; эстрогеновые рецепторы, ESR.

**Keywords:** bone mineral density; osteoporosis; estrogen receptors, ESR.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-1-245-248>

Остеопороз (ОП) – многофакторное заболевание, которое характеризуется низкой минеральной плотностью костной ткани (МПКТ), встречающееся примерно у 30 % населения после 50 лет. ОП рассматривается как частая причина инвалидизации, смертности, высоких расходов на здравоохранение во всем мире. По результатам эпидемиологических исследований, ОП страдают около 75 миллионов человек среди населения таких стран, как США, Великобритания, Франция и Япония. В Республике Беларусь к 70 годам – более половины всего женского населения и около 20% мужского имеют выраженный остеопенический синдром или ОП [1].

Среди причин развития ОП выделяют воздействие различных внешних факторов и генетическую предрасположенность к снижению МПКТ. Влияние экзогенных факторов на развитие первичного ОП хорошо изучено к ним относят: нарушение сбалансированного питания, курение, злоупотребление алкоголем, гиподинамию, низкую массу тела, раннюю менопаузу у женщин и др. При ОП изменения МПКТ могут быть объяснены вкладом генетических факторов [2]. Поскольку ОП относят к метаболическим заболеваниям, то для оценки риска его развития необходимо рассматривать сложные сети взаимодействующих функциональных генов.

Важной особенностью обладает костная ткань для поддержания прочности и адаптации к физической нагрузке: в ней осуществляется непрерывный процесс ремоделирования т.е. баланс деградации (резорбции) и образования новой кости. Активность остеорезорбирующих остеокластов и костеобразующих остеобластов регулируется гормонами, витаминами, факторами роста, простагландинами, костными морфогенетическими белками, цитокинами и т.д. Нарушение баланса между костной резорбцией и костеобразованием может привести к изменению микроархитектуры костной ткани, что зачастую приводит к низкотравматическим переломам с длительным периодом восстановления после них [3].

На регуляцию резорбции через регуляцию остеобластогенеза оказывают влияние половые гормоны, такие как тестостерон (Т) и эстроген (Э). Действие Т и Э опосредовано через взаимодействие с высокоспецифичными рецепторами (AR и ESR), при последующей активации генов-мишеней во многих тканях [4]. Дефицит Э сказывается на удлинении фазы резорбции в результате уменьшения апоптоза ОК, укорачивается фаза формирования из-за ускоренного апоптоза ОБ [5]. Риск развития ОП на фоне снижения уровня Э и А у человека сейчас активно изучается, как и рассматриваются генетические особенности этиопатогенеза ОП.

Эстрогеновые рецепторы ER- $\alpha$  и  $\beta$  кодируются двумя генами *ESR1* и *ESR2*, соответственно. Эстрогеновые рецепторы имеют схожие структурные домены, которые отвечают за аналогичные функциональные особенности, однако за счёт разного аминокислотного состава имеют отличающуюся специфичность в ответ на воздействие гормонального сигнала [6].

*ESR1* является одним из генов-кандидатов для оценки риска развития ОП, состоит из 8 экзонов и 7 интронов, расположенных на 6 хромосоме (6q25.1). Необходимо отметить тот факт, что ассоциация полиморфизма гена *ESR1* с МПКТ может варьировать в популяциях. Мутации гена *ESR1* могут влиять на структурно-функциональные характеристики ER- $\alpha$  и тем самым снижать рецепторную чувствительность к воздействию эстрогенов. Нарушение рецепции ER- $\alpha$  может сопровождаться усилением резорбции костной ткани. Наиболее изучены два функционально значимых полиморфных варианта гена *ESR1* PvuII T>C (rs2234693) и XbaI A>G (rs9340799) [7]. Эти два варианта были впервые изучены у постменопаузальных женщин Японии, гаплотип СА по этим маркерам увеличивает риск потери МПКТ и переломов [8]. Однако, в мета-анализе было показано, что у носителей генотипа GG по сайту рестрикции XbaI более высокий уровень МПКТ и снижен риск переломов по сравнению с носителями аллеля А [9].

Ген *ESR2* расположен на 14 хромосоме (14q23.2) и состоит из 8 экзонов. Изучение полиморфизма гена *ESR2* началось в 1998 г. на японской популяции с описания взаимосвязи уровня МПКТ с количеством динуклеотидных CA-повторов в 5 интроне гена, что в дальнейшем было подтверждено и другими исследователями [10]. Для полиморфных вариантов rs1256112, rs3020444 и rs1152588 гена *ESR2*, была обнаружена ассоциация с МПКТ позвоночника у мужчин, в то же время для женщин была обнаружена ассоциация только с одним из них - rs3020444 [11]. В крупном китайском исследовании случай-контроль, была выявлена ассоциация аллеля С полиморфного варианта T-1213C гена *ESR2* с низким уровнем МПКТ и высоким риском остеопоротических переломов [12].

Вопросы взаимосвязи уровня половых гормонов и их влияние на развитие остеопороза сейчас активно изучаются. Обнаружены некоторые ассоциации полиморфных вариантов генов эстрогеновых рецепторов с МПКТ

и переломами для других популяций. Задачей нашего исследования было рассмотреть влияние полиморфных вариантов генов *ESR1* (rs9340799, rs2234693, rs1801132), *ESR2* (rs3020444) на предрасположенность к остеопорозу в белорусской популяции.

### Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили образцы тотальной ДНК, выделенной из периферической крови и буккального эпителия. Биологический материал был собран на базе Минского городского центра профилактики остеопороза при 1 ГКБ и любезно предоставлен профессором Руденко Э.В. Были заполнены документы по информированному согласию пациентов на участие в научном исследовании.

По данным денситометрии были отобраны 250 образцов биологического материала пациентов с ОП и 93 образца лиц контрольной группы с нормальными показателями МПКТ.

Генотипирование по полиморфным вариантам изучаемых генов *ESR1* (rs9340799, rs2234693, rs1801132), *ESR2* (rs3020444) осуществлялось методом ПЦР в реальном времени (Real Time PCR) с TaqMan зондами компании Thermo Fisher Scientific.

Структура базы данных выполнена с использованием электронных таблиц MS Excel.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы R (<http://www.r-project.org/>) для Windows с помощью дополнительных пакетов для анализа генетических данных «SNPassoc» (версия 1.9-2). Наблюдаемые частоты генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (PBX) с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Для оценки ассоциации между риском костных переломов и исследуемыми вариантами генов применяли коэффициент отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом, показывающий, во сколько раз выше вероятность иметь патологию при наличии определенного генотипа. Для оценки различий между количественными и качественными показателями исследуемых групп использовали линейную и логистическую регрессии, соответственно. Оценку вероятности проводили с помощью точного теста Фишера. Логистическая регрессия также применялась для сравнения частот аллелей, генотипов и гаплотипов между исследуемыми группами.

### Результаты и обсуждения

Для оценки взаимосвязи полиморфных вариантов изучаемых генов *ESR1* (rs9340799, rs2234693, rs1801132), *ESR2* (rs3020444) с развитием ОП был проведён анализ частот генотипов у пациентов с ОП и лиц контрольной группы. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение частот генотипов по полиморфному варианту *ESR1* rs9340799 среди пациентов с остеопорозом и контрольной группы

Ген, rs	Генотип	Остеопороз, %	Контроль, %	OR (95% CI)	Значение P
<i>ESR1</i> , rs9340799	A/A	42,0	36,6	1,00	0,63
	A/G	44,4	47,3	0,82 (0,48-1,38)	
	G/G	13,6	16,1	0,73 (0,36-1,51)	
<i>ESR1</i> , rs2234693	C/C	22,5	26,9	1,00	<b>0,026</b>
	T/C	50,0	59,1	1,01 (0,57-1,79)	
	T/T	27,5	14,0	2,35 (1,10-5,03)	
<i>ESR1</i> , rs1801132	C/C	63,8	65,6	1,00	0,89
	G/C	32,5	30,1	1,11 (0,66-1,87)	
	G/G	3,7	4,3	0,87 (0,26-2,94)	
<i>ESR2</i> , rs3020444	A/A	49,0	49,5	1,00	0,29
	A/G	40,6	45,2	0,91 (0,55-1,49)	
	G/G	10,4	5,4	1,96 (0,71-5,41)	

В ходе анализа результатов генотипирования по полиморфному варианту гена *ESR1* (PvuII) rs2234693 наблюдаемые частоты генотипов C/C в группах пациентов и контроля имеют значения 22,5% и 26,9% соответственно. Генотип T/T при этом встречается чаще в группе пациентов с ОП, чем в контрольной группе 27,5% против 14,0%. Различия между анализируемыми группами имеют статистически значимые различия **P = 0,026** (OR = 2,35; CI95% (1,10-5,03). Таким образом наличие генотипа T/T можно рассматривать как важный показатель, предрасполагающий к развитию ОП и снижению МПКТ. Это может быть обусловлено воздействием данного полиморфного варианта на взаимодействие эстрогенового рецептора с эстрогеновым гормоном, что впоследствии

приводит к ухудшению экспрессии подконтрольных генов, непосредственно влияющих на МПКТ. К сожалению, за отсутствием сведений об уровне гормонов проверить эту версию пока что нет возможности.

Согласно полученным данным в результате генотипирования не было выявлено статистически значимых различий по генотипам между исследуемыми группами по полиморфным вариантам *ESR1* (XbaI) rs9340799 ( $P = 0,63$ ), rs1801132 ( $P = 0,89$ ), *ESR2* rs3020444 ( $P = 0,29$ ). Следовательно, данные полиморфные варианты вносят меньший вклад в предрасположенность к ОП в белорусской популяции, что несколько отличается от результатов зарубежных исследований. Также эффекты от данных однонуклеотидных замен могут иметь опосредованное действие на костную ткань через воздействие на не рассмотренные в данной работе метаболические пути. Для оценки данного влияния будут проводиться дальнейшие исследования и комплексный анализ большего количества полиморфных вариантов генов, кодирующих белки из генной сети.

### Выводы

При оценке предрасположенности к развитию остеопороза нами были рассмотрены полиморфные варианты генов эстрогеновых рецепторов *ESR1* (rs9340799, rs2234693, rs1801132) и *ESR2* (rs3020444). Согласно полученным данным нами выявлено, что носительство генотипа T/T гена *ESR1A* (PvuII) rs2234693 увеличивает риск развития остеопороза в белорусской популяции ( $P=0,026$ ; OR = 2,35; CI95%(1,10-5,03)). При этом остальные рассмотренные полиморфные варианты не имеют статистически значимых различий по частотам генотипов между группами пациентов и контроля.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Руденко Э.В. Остеопороз: диагностика, лечение и профилактика / Э.В. Руденко. – Минск : Бел. Навука, 2001. – 153 с.
2. Boudin, E. Genetics of human bone formation / E. Boudin, W. V. Hul. – European Journal of Endocrinology, 2017. – Vol. 177, №2, P. 69–83
3. Richards, J.B. Genetics of osteoporosis from genome wide association studies: advances and challenges / J. B. Richards, H. F. Zheng, T.D. Spector. – Nat Rev Genet, 2012. – Vol.13, P. 576–588
4. Теппермен, Д. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Д. Теппермен, Х. Теппермен. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
5. Hughes, D. E. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF- $\beta$  / Hughes D. E., Dai A. [et al.] // Nat. Med. – 1996. – Vol. 2. – P. 1132 – 1136. ; Manolagas, S. C. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis / S.C. Manolagas // Endocr. Rev. – 2000. – Vol. 21. – P. 115 – 137.
6. Dauvois, S. The antiestrogen ICI 162780 disrupts estrogen receptor nucleocytoplasmic shuttling / S. Dauvois, R. White, M.G. Parker. – J. Cell Sci, 1993. – Vol.106, №4, P. 1377–1388.
7. Майлян, Э. А. Риск постменопаузального остеопороза и уровни цитокинов в зависимости от полиморфизма rs2234693 гена *ESR1* / Э. А. Майлян, Г. А. Игнатенко, Н. А. Резниченко. – ЭНИ Забайкальский медицинский вестник, 2018. – №1, С. 45–51.
8. Kobayashi, N. Estrogen receptor alpha polymorphism as a genetic marker for bone loss, vertebral fractures and susceptibility to estrogen / Kobayashi N, Fujino T. [et al.] // Maturitas. – 2002. – Vol. 41. – № 3. – P. 193 – 201.; Albagha, O. M. Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone / Albagha O. M., Pettersson U. [et al.] // J. Med. Genet. – 2005. – Vol. 42. – № 3. – P. 240–246.
9. Ioannidis J. P. Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis / J. P. Ioannidis, I. Stavrou [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 2002. – Vol 17. – № 11. – P. 2048–2060.
10. Tsukamoto, K. Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus / K. Tsukamoto, S. Inoue, T. Hosoi [et al.] // J. Hum. Genet. – Vol. 43. – 1998. – P.73–74.
11. Ichikawa, S. Polymorphisms in the estrogen receptor  $\beta$  (*ESR2*) gene are associated with bone mineral density in caucasian men and women / S. Ichikawa, D. L. Koller [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – Vol. 90. – Iss. 11. – 2005. – P. 5921 – 5927.
12. Kung, A. W. C. T-1213C polymorphism of estrogen receptor beta is associated with low bone mineral density and osteoporotic fractures / A. W. C. Kung, B. M. H. Lai [et al.] // Bone. – Vol. 39. – Iss. 5. – 2006. – P. 1097–1106.