

### Проверка контрастности

С помощью этой проверки вы измерите шкалу контрастности путем измерения в воздухе и воде. Выполняется оценка центральной интересующей области, на дисплей выводится соответствующее среднее значение (ME) и стандартное отклонение (SD).

### Проверка положения стола

Используя данную процедуру контроля, проверяется, будет ли реальное положение стола пациента соответствовать тому положению, которое отображается на экране. Для проведения этого измерения устанавливается рулетка на подвижную часть стола пациента таким образом, чтобы метка 0 мм совпадала с неподвижной частью стола пациента. а после устанавливается на стол пациента груз весом 100 кг.

### Проверка воздуха СТДИ

В рамках этой проверки измеряется доза по оси системы. Ионизационная камера зацентрирована в аксиальном направлении на оси системы. Плоскость среза должна проходить через центр камеры. К ионизационной камере подключен соответствующий дозиметр.

### Отчет ежедневного контроля качества

Изображения, полученные при измерениях Daily Quality (Качестве ежедневно), сохраняются в виде изображений «Quality Assurance Patient» в браузере пациентов. Новые изображения переписывают старые. Все значения измерений Daily Quality (Качество ежедневно) сохраняются в отчетах о проверке стабильности.

Достижение высоких стандартов эффективности и надежности радиоизотопной диагностики возможно только при условии разработки качественных протоколов обследования пациентов, создания методологии и порядка проведения процедур гарантии качества работы оборудования и алгоритмов диагностики злокачественных новообразований при использовании радиофармпрепаратов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Quality assurance and quality control in nuclear facilities and activities. – Vienna : IAEA, 2020. – 136 p.
2. Минский городской клинический онкологический диспансер: Отделение радиоизотопной диагностики [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.mgkod.by/o-dispansere/strukturnye-podrazdeleniya/struktura/719-otdelenie-radioizotopnoj-diagnostiki> . Дата доступа: 15.03.2021.
3. The management system for facilities and activities : Safety Requirements : No. GS-R-3. – Vienna : IAEA, 2006. – 48 p.

## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ВАРИАНТОВ ГЕНА VDR С УРОВНЕМ ВИТАМИНА D В СЫВОРОТКЕ ПАЦИЕНТОВ С КОСТНО-МЫШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ANALYSIS OF ASSOCIATION OF VDR GENE VARIANTS WITH SERUM VITAMIN D LEVEL IN PATIENTS WITH BONE-MUSCULAR DISEASE

**А. В. Яршевич<sup>1</sup>, П. М. Морозик<sup>1,2</sup>**

**A. Yarshevich<sup>1</sup>, P. Marozik<sup>1,2</sup>**

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

г. Минск, Республика Беларусь

[peppu\\_rjaja@mail.ru](mailto:peppu_rjaja@mail.ru)

<sup>2</sup>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>Institute of Genetics and Cytology of the NAS Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Патология костно-мышечной системы рассматривается в ряду мультифакториальных заболеваний, патогенез которых является комплексным и обусловлен взаимодействием средовых и эндогенных факторов. Важную роль в прогрессировании патологии, играют нарушения в метаболизме и снижении чувствительности к витамину D. Исследования последних двух десятилетий показали: разнообразные биологические действия активного метаболита витамина D – 1,25-дигидроксивитамина D (кальцитриола) – осуществляются посредством модуляции экспрессии генов, которые опосредованы взаимодействием с внутриклеточным рецептором витамина D (VDR).

VDR является продуктом соответствующего гена – VDR, который определяет его структуру и функциональную активность. В этом гене выявлено определенное количество полиморфных вариантов, которые могут влиять на экспрессию гена.

Currently, the pathology of the musculoskeletal system is considered in several multifactorial diseases, the pathogenesis of which is complex and is due to the interaction of environmental and endogenous factors. An important role in the progression of pathology is played by disorders in metabolism and a decrease in sensitivity to vitamin D. Studies of the past two decades have shown that the various biological actions of the active metabolite of vitamin D – 1,25-dihydroxy vitamin D (calcitriol) – are carried out by modulating the expression of genes that are mediated by interaction with the intracellular vitamin D receptor (VDR).

VDR is a product of the corresponding gene – VDR, which determines its structure and functional activity. In this gene, a certain number of polymorphic variants have been identified that can affect gene expression.

*Ключевые слова:* метаболизм, кальцитриол, полиморфизм гена, минерализация костей, гены-кандидаты.

*Keywords:* metabolism, calcitriol, gene polymorphism, bone mineralization, candidate genes.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-146-149>

## Введение

Витамин D является важным жирорастворимым витамином и стероидным прогормоном, который играет важнейшую роль в минерализации костей. Он регулирует концентрацию кальция и фосфора в крови, а также обеспечивает их достаточное количество для высвобождения гидроксиапатита кальция в костный матрикс. Уже давно наблюдается связь дефицита витамина D с рахитом у детей и остеопорозом у взрослых. В добавок, помимо заболеваний опорно-двигательного аппарата, существует целый ряд распространенных заболеваний, которые имеют важное значение для общественного здравоохранения, в том числе: рак, аутоиммунные воспалительные заболевания, инфекционные заболевания, сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет, все они взаимосвязаны с витамином D [1].

Существует две формы витамина D, витамин D<sub>2</sub> (эргокальциферол), в основном потребляется с пищей; и витамин D<sub>3</sub> (холекальциферол), в основном синтезируется в коже из провитамина D<sub>3</sub> (7-дегидрохолестерин) при воздействии ультрафиолетового излучения солнечного света.

Синтезируемый кожей, витамин D<sub>3</sub> и витамин D<sub>2</sub>, поступивший с пищей, транспортируются в печень, где происходит метаболизм фермента 25-гидроксилаза (CYP2R1) в его основную циркулирующую форму, 25-гидроксивитамин D [25 (OH) D].

25 (OH) D биологически не действует на метаболизм кальция в физиологических концентрациях и требует дальнейшего гидроксилирования ферментом 25 (OH) D-1 $\alpha$ -гидроксилазы (CYP27B1) в почках для выработки его биологически активной формы 1,25-гидроксивитамина D [1,25 (OH) 2D]. Это и есть метаболический путь, ведущий к синтезу активного витамина D [3].

Оба метаболита витамина D [25 (OH) D и 1,25 (OH) 2D] содержатся в сыворотке крови, их содержание можно измерить с целью проведения генетических исследований метаболизма витамина D. Хотя 1,25 (OH) 2D является наиболее активной формой витамина D и выполняет основную биологическую функцию, он имеет более короткий период полураспада и концентрацию: в 1000 раз ниже, чем 25 (OH) D. Следовательно, запасы витамина D в организме лучше всего отследить по уровню циркуляции более стабильного и распространенного 25 (OH) D [1].

Вариации последовательности ДНК, которые часто встречаются в популяции, называются «полиморфизмами» и могут иметь истинные биологические эффекты. Их обилие в геноме человека, а также высокая частота в человеческой популяции сделали их мишенями для объяснения различий в риске распространенных заболеваний. Недавние исследования показали, что существует много полиморфизмов в гене рецептора витамина D (VDR), но влияние полиморфизмов гена VDR на функцию белка VDR и сигнализацию в значительной степени неизвестно [3].

Изучение генетических детерминант витамина D может расширить знания о присущих ему признаках, помочь в скрининге дефицита витамина D, а также в развитии индивидуальных рекомендаций о его пользе. Генетические варианты, связанные с витамином D могут служить инструментальными переменными для последующей менделевской рандомизации, помогут провести анализ и выявить причинно-следственные связи между витамином D, а также другие свойства, включая здоровье костей. Кроме того, общая этиология между витамином D и другими признаками может быть выяснена с помощью количественной оценки общегеномной генетической корреляции или идентификации плеотропных локусов. Многие недавние достижения и усилия в области генетики уже выделили несколько генов, связанных с витамином D.

Гены-кандидаты, связанные с уровнем витамина D, можно разделить на несколько категорий; i-гены которые участвуют в производстве 25 (OH) D (приток), ii-гены, участвующие в последующей активации 25 (OH) D в активный лиганд 25 (OH) D и гормон (отток), iii-носитель особенности белка (который связывается с молекулой 25 (OH) D и активным лигандом 25 (OH) D, iv-рецептор и связанные с ним коактивирующие белки (вливают на исполнительную способность лиганда-рецептора), и другие v-процессы второго порядка, которые влияют на регуляторные пути, такие как кальций и (или) концентрации паратироидного гормона[4].

Витамин D и его активные метаболиты, участвующие в процессах минерализации костной ткани, поддержания кальциевого гомеостаза и ремоделировании костной ткани опосредуются через рецептор-VDR. Рецептор VDR экспрессируется на клеточных поверхностях кишечника, щитовидной железы и почек и играет ключевую роль в гомеостазе кальция[2].

Человеческий ген VDR локализован на коротком плече хромосомы 12 и состоит из 9 экзонов, которые кодируют 427 аминокислотных белков [ ]. В гене VDR было обнаружено несколько распространенных вариаций полиморфной последовательности. Также установлено, что генотипы связаны с широким спектром заболеваний костно-мышечной системы, а именно с рассеянным склерозом, остеопорозом, витамин D-зависимым рахитом II типа и другими сложными заболеваниями [5].

Мутации в функциональных областях гена VDR влияют на метаболизм минералов, в особенности кальция и, следовательно, плотность костной ткани. В последние годы было проведено множество исследований для изучения корреляции между вариантами гена VDR и риском остеопороза [3].

По данным Международного фонда остеопороза адекватный уровень витамина D в крови предположительно составляет 30 нг/мл [5]. Поэтому для выявления лиц с повышенным риском патологии костно-мышечной системы важно выявить варианты генов, которые отвечают за низкий уровень МПКТ. Это позволит предложить индивидуальный клинический подход для профилактики развития этих заболеваний.

### Материалы и методы

В исследовании приняло участие 350 пациенток с постменопаузальным остеопорозом и низкоэнергетическими переломами в анамнезе (группа ПМО, средний возраст 62,8±3,3 года), в контрольную группу – 243 постменопаузальных женщин с нормальными значениями МПКТ, без переломов в анамнезе (группа КОН, средний возраст 62,2±5,4 года). Критерии включения в исследование: женский пол, продолжительность менопаузы не менее 3 лет. Критерии исключения: наличие сопутствующих заболеваний или прием медикаментов, оказывающих влияние на метаболизм костной ткани (кроме препаратов для лечения остеопороза (препараты кальция, витамин D, бисфосфонаты, деносу-маб). Все включенные в исследование женщины подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Состояние МПКТ исследовали методом двуэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (ДРА) с помощью рентгеновского денситометра LUNAR Prodigy фирмы GE (США) с программным обеспечением CORE v8.5. Измеряли показатели МПКТ поясничных позвонков (L1–L4) и шеек бедренных костей. Диагноз постменопаузального остеопороза (ПМО) устанавливался на основании показателей T-критерия для женщин европеоидной расы в соответствии с рекомендациями ВОЗ: T ≥ -1,0 – норма, T = -1,0... -2,5 – остеопения, T ≤ -2,5 – остеопороз. Результаты измерений МПКТ представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка (в г/см<sup>2</sup>). В качестве биологического материала для генотипирования использовали тотальную геномную ДНК, выделенную из Buccal epithelium с помощью коммерческих наборов Нуклеосорб-А (ОДО «Праймтех», Беларусь) согласно инструкции производителя. Анализ полиморфных вариантов VDR ApaI rs7975232, BsmI rs1544410, TaqI rs731236, FokI rs2228570 и Cdx2 rs11568820 осуществляли с помощью коммерческих наборов праймеров и зондов TaqMan® компании AppliedBiosystems (США) в соответствии с инструкцией производителя. Для детекции флуоресценции, а также первичной обработки результатов использовали программное обеспечение CFX Manager 3.1 прибора CFX96, BIO-RAD (США). Во время каждой постановки ПЦР применяли положительный и отрицательный контроли. Для статистической обработки результатов исследования использовали программу R (<http://www.r-project.org/>) для Windows.

### Результаты и обсуждение

Результаты генотипирования пациентов исследуемых групп по пяти маркерам представлены в таблице 1. Распределение частот генотипов по всем анализируемым полиморфным вариантам гена VDR в исследуемых группах не отличалось от ожидаемого распределения Харди–Вайнберга (p > 0,05).

Таблица 3 – Распределение частот генотипов вариантов гена VDR среди пациентов с остеопорозом (ПМО) и контрольной группой (КОН)

Вариант	Генотип	ПМО, %	КОН, %	Коэффициент OR (95% ДИ)	P
VDR ApaI rs7975232	C/C	23,8	31,3	1	<b>0,027</b>
	C/A	45,1	46,9	1,3 (0,8–1,9)	
	A/A	31,1	21,8	<b>1,9 (1,2–3,0)</b>	
VDR BsmI rs1544410	C/C	23,3	37,0	1	<b>0,006</b>
	C/T	46,6	44,4	<b>1,7 (1,1–2,5)</b>	
	T/T	30,1	18,5	<b>2,6 (1,6–4,2)</b>	
VDR TaqI rs731236	G/G	24,4	37,9	1	<b>0,001</b>
	A/G	47,8	46,6	<b>1,7 (1,2–2,5)</b>	
	A/A	27,9	18,5	<b>2,3 (1,5–3,7)</b>	
VDR FokI rs2228570	G/G	26,6	32,3	1	0,45
	A/G	49,7	50,8	4,5 (2,4–8,7)	
	A/A	23,7	16,9	29,3 (3,6–241,0)	
VDR Cdx2 rs11568820*	C/C	70,7	66,2	1	0,3
	C/T + T/T	29,3	33,8	0,8 (0,6–1,2)	

(\*) – использовалась доминантная модель наследования

Как показывают результаты, представленные в табл. 1, статистически значимая ассоциация с риском GVI была выявлена для вариантов ApaI rs7975232, BsmI rs1544410 и TaqI rs731236 гена *VDR*. Частота встречаемости генотипа BsmI T/T была существенно выше в группе ПМО (30,1%) по сравнению с контролем (18,5%, OR=2,6, 95% ДИ 1,6–4,2, P=0,006). Среди носителей гомозиготного генотипа A/A варианта TaqI rs731236, риск остеопороза был повышен (OR=2,3, 95% ДИ 1,5–3,7, P=0,001). Повышенный риск заболевания также был выявлен для носителей гетерозиготных генотипов по маркерам BsmI и TaqI. Кроме того, среди пациентов с ПМО, частота гомозиготного генотипа ApaI A/A (31,1%) была выше по сравнению с контрольной группой (21,8%, OR=1,9, 95% CI 1,2–3,0, P=0,027).

Особый интерес представляет анализ ассоциации уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови с вариантами гена *VDR*. С помощью множественного регрессионного анализа была выявлена связь уровня 25(OH)D с вариантом *VDR* TaqI rs731236 (рис. 1, А). С вариантами ApaI rs7975232, BsmI rs1544410, FokI rs2228570 и Cdx2 rs11568820 статистически значимой ассоциации выявлено не было.

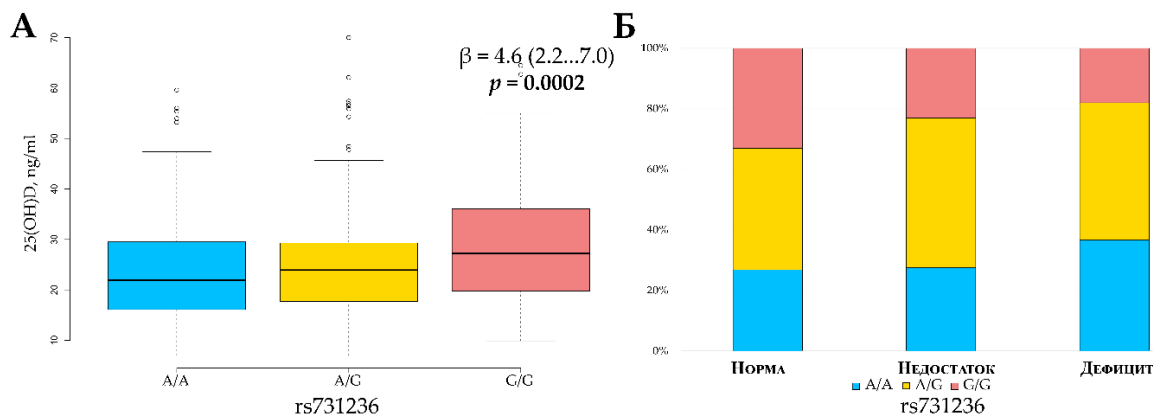


Рис. 1 – Ассоциация уровня 25(OH)D с генотипами *VDR* TaqI 731236 (А) и их распределение в группах с различным статусом витамина Д (Б)

Особо стоит отметить, что для варианта TaqI rs731236 была выявлена достоверная ген-дозовая-зависимость с уровнем 25(OH)D – максимальный уровень витамина Д наблюдался у носителей генотипа G/G, минимальный – у носителей генотипа A/A, у гетерозигот – промежуточный (ANOVA тест P = 0,0005). С помощью  $\chi^2$ -критерия, мы также оценили распределение генотипов TaqI rs731236 в разных группах участников исследования в соответствии со статусом витамина Д (норма, недостаток, дефицит), в результате чего была выявлена статистически достоверные различия ( $\chi^2 = 12,8$ , P = 0,012, рис. 1, Б). Частота встречаемости генотипа G/G была выше среди участников исследования с нормальным уровнем витамина Д, в то время как генотип A/A был связан с дефицитом витамина Д.

Таким образом, нами выявлены информативные генетических маркеры, статистически значимо ассоциированные с риском развития постменопаузального остеопороза, а также с уровнем витамина Д. Выявление неблагоприятных вариантов гена *VDR* позволит оценивать индивидуальный риск остеопороза, что позволит существенно повысить качество его профилактики и терапии, снизить вероятность возникновения осложнений, повысить качество жизни.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Altieri B, Muscogiuri G, Barrea L, Mathieu C, Vallone CV, Mascitelli L, Bizzaro G, Altieri VM, Tirabassi G, Balercia G, Savastano S, Bizzaro N, Ronchi CL, Colao A, Pontecorvi A, Della Casa S. Does vitamin D play a role in autoimmune endocrine disorders? / Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders. 2017;18:335–346.
2. Hunter D, De Lange M, Snieder H, MacGregor AJ, Swaminathan R, Thakker RV, Spector TD. Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation / Journal of Bone and Mineral Research. 2001;16:371–378.
3. Jones G, Strugnelli SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. / Physiological Review. 1998;78:1193–1231.
4. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. J Biol Chem 1922;53:293–8.
5. Favus MJ, Goltzman D. Regulation of calcium and magnesium / In: Rosen CJ (ed.). Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 8th edition. – Ames, IA: Wiley–Blackwell; 2013. p. 173–9.