

© Майлян Э.А., 2018  
УДК 618.173-097.11/3:575  
DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-2-X-X

## Уровни цитокинов у женщин постменопаузального возраста в зависимости от отдельных полиморфизмов генов VDR, COL1A1, LRP5

Э.А. Майлян

*Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, Донецк, Украина*

**Цель:** изучить сывороточные уровни про- и противовоспалительных цитокинов при постменопаузальном остеопорозе и их изменения в зависимости от отдельных полиморфных вариантов генов VDR, COL1A1 и LRP5. **Материалы и методы:** обследовано 180 женщин в постменопаузальном возрасте (60,0±0,77 лет). Остеоденситометрия выполнялась методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Детекция полиморфизмов 283 A>G (BsmI, rs1544410) гена VDR, -1997 C>A (rs1107946) и 1546 (6252) G>T (Sp1 S>s, rs1800012) гена COL1A1, 3989 C>T (Ala-1330Val, rs3736228) и 1999 G>A (Val667Met, rs4988321) гена LRP5 осуществлялась методом ПЦР в режиме реального времени. В образцах сыворотки крови при помощи иммуноферментного анализа определялись уровни интерлейкинов (IL) -1β, -4, -6, -8, -10, -17A, фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), гамма интерферона (INF-γ), остеопротегерина (OPG), лиганда активатора рецептора ядерного фактора κB (RANKL). **Результаты:** женщины с постменопаузальным остеопорозом характеризуются существенным (P<0,05) увеличением концентраций в сыворотке крови IL-1-β, IL-8, IL-17A, TNF-α, RANKL и снижением уровней IL-4, IL-10. У обладателей генотипа GG полиморфизма rs1544410 отмечено (P<0,05) повышение уровней IL-1-β, RANKL, индекса OPG/RANKL и снижение значений IL-10. Женщины с генотипами GT или TT полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 отличаются (P<0,05) снижением значений IL-10, OPG, индекса OPG/RANKL, а лица, имеющие генотипы CA или AA полиморфизма rs1107946 гена COL1A1, – увеличением уровней IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, RANKL. Для носителей генотипа GA полиморфизма rs4988321 и генотипов CT или TT полиморфизма rs3736228 гена LRP5 установлено снижение концентраций IL-10 (P<0,05). **Заключение:** полученные данные могут быть использованы для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий для женщин.

**Ключевые слова:** цитокины, полиморфизмы, остеопороз, женщины, постменопауза.

**Для цитирования:** Майлян Э.А. Уровни цитокинов у женщин постменопаузального возраста в зависимости от отдельных полиморфизмов генов VDR, COL1A1, LRP5. *Медицинский вестник Юга России.* 2018;9(2):X-X. DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-2-X-X

**Контакты:** Майлян Эдуард Апетнакович, mea095@yandex.ru.

## Cytokine levels in postmenopausal women depending on individual VDR, COL1A1, LRP5 gene polymorphisms

E.A. Maylyan

*M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk, Ukraine*

**Objective:** to study pro- and anti-inflammatory cytokines serum levels at postmenopausal osteoporosis and their changes depending on separate polymorphic options of VDR, COL1A1 and LRP5 genes. **Materials and methods:** 180 postmenopausal women (60,0±0,77 years) were examined. The osteodensitometry was carried out by dual-energy x-ray absorptiometry method. Detection of 283 A>G (BsmI, rs1544410) polymorphisms of VDR gene, -1997 C>A (rs1107946) and 1546 (6252) G>T (Sp1 S>s, rs1800012) of COL1A1 gene, 3989 C>T (Ala1330Val, rs3736228) and 1999 G>A (Val667Met, rs4988321) of LRP5 gene was carried out by real-time PCR method. Enzyme-linked immunosorbent assay was used for definition of serum levels of interleukin (IL) -1β, -4, -6, -8, -10, -17A, tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interferon gamma (INF-γ), osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL). **Results:** it was established that women with postmenopausal osteoporosis had (P<0,05) increased serum IL-1-β, IL-8, IL-17A, TNF-α, RANKL concentration and decreased IL-4, IL-10 levels. Patients with GG genotype of rs1544410 polymorphism had also increased (P<0,05) IL-1-β, RANKL levels, OPG/RANKL index and decreased IL-10 values. Women with GT or TT genotypes of rs1800012 polymorphism of COL1A1 gene had (P<0,05) decreased IL-10, OPG values, OPG/RANKL index, but persons with CA or AA genotypes of rs1107946 polymorphism of COL1A1 gene had increased IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, RANKL levels. IL-10 concentration decrease (P<0,05) was established for patients with GA genotype of rs4988321 polymorphism and CT or TT genotypes of rs3736228 polymorphism of LRP5 gene. **Conclusion:** the obtained data reflect important pathogenetic aspects of postmenopausal osteoporosis and can be used for development of individualized treatment-and-prophylactic actions for women.

**Keywords:** cytokines, polymorphisms, osteoporosis, women, postmenopause.

**For citation:** Maylyan E.A. Cytokine levels in postmenopausal women depending on individual VDR, COL1A1, LRP5 gene polymorphisms. *Medical Herald of the South of Russia*. 2018;9(2):X-X. (In Russ.) DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-2-X-X

**Corresponding author:** Edward A. Maylyan, mea095@yandex.ru.

## Введение

Остеопороз (ОП) — это хроническое системное прогрессирующее метаболическое заболевание скелета, которое характеризуется снижением минеральной плотности костной ткани и нарушением ее микроархитектоники, вследствие чего повышается риск возникновения переломов. Наиболее актуальным по распространенности, социальной и экономической значимости является постменопаузальный ОП.

В настоящее время основным объективным подходом в диагностике ОП является определение методом денситометрии минеральной плотности костной ткани, которая существенно зависит от внешних и генетических факторов [1]. Причем вклад генетической составляющей в этиопатогенез заболевания достигает 60-80 % [2-4]. Выполненные исследования показали, что показатели минеральной плотности различных участков скелета у женщин постменопаузального возраста имеют ассоциации с отдельными полиморфизмами генов рецептора витамина D (VDR), 1-альфа цепи коллагена I типа (COL1A1), белка, связанного с рецептором липопротеинов низкой плотности 5 типа (LRP5). Было установлено, что постменопаузальный ОП в области поясничных позвонков L1-L4 имеет ассоциации с генотипом GG полиморфизма rs1544410 гена VDR [5]. Остеопоротические изменения в зоне проксимальных отделов правого и левого бедра, а также шейк правой и левой бедренных костей реже развиваются у женщин с генотипом CC и чаще у носителей генотипа CA и аллеля A полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 [6]. Увеличенный риск развития постменопаузального ОП характерен для женщин, имеющих генотип GT и аллель T полиморфизма rs1800012 гена COL1A1, тогда как генотип GG данного полиморфизма сочетается с низкой вероятностью формирования заболевания [7]. Кроме того, среди женщин, имеющих ОП поясничных позвонков L1-L4 и левой бедренной кости, увеличена частота регистрации генотипа CT и аллеля T полиморфизма rs3736228, генотипа GA и аллеля A полиморфизма rs4988321 гена LRP5, а среди здоровых женщин чаще регистрируются генотипы CC и GG вышеуказанных полиморфизмов [8].

Последние достижения в изучении патогенеза постменопаузального ОП свидетельствуют о ключевой роли в развитии заболевания иммунных факторов. Обусловленные дефицитом эстрогенов изменения баланса цитокинов у женщин постменопаузального возраста вызывают угнетение остеобластогенеза, увеличение активности и количества остеокластов, что способствует усилению резорбции костной ткани [9, 10]. Учитывая генетическую составляющую в этиопатогенезе ОП и важную роль ци-

токинов в регуляции костного метаболизма, тем не менее, к настоящему времени отсутствуют работы, направленные на исследование особенностей статуса цитокинов у женщин постменопаузального возраста, имеющих различные полиморфные варианты генов VDR, COL1A1 и LRP5.

Цель исследования: изучить сывороточные уровни провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при постменопаузальном остеопорозе, а также их изменения в зависимости от полиморфизмов rs1544410 гена VDR, rs1107946 и rs1800012 гена COL1A1, rs3736228 и rs4988321 гена LRP5.

## Материалы и методы

Работа выполнена в Донецком Национальном медицинском университете. Обследованы 180 женщин в постменопаузальном возрасте (60,0±0,77 лет). В исследование не отбирались женщины, принимавшие заместительную гормональную и антиостеопоротическую терапию, глюкокортикостероидные препараты. Исключались также пациенты с наличием овариоэктомии, эндокринных и метаболических расстройств, гематологических заболеваний, неопластических состояний, хронических заболеваний почек и печени, аутоиммунной патологии, системных заболеваний соединительной ткани, хронических воспалительных заболеваний.

Женщинам выполнялась остеоденситометрия поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов и шейк левой и правой бедренных костей методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Использовались денситометры «Discovery W QDR Series X-Ray Bone Densitometer» (HOLOGIC Inc., США) и «Prodigy» (GE Medical Systems LUNAR, США). Результаты выражались в виде показателей минеральной плотности кости и T-критерия.

В образцах сыворотки крови женщин определялись уровни интерлейкинов (IL) -1 $\beta$ , -4, -6, -8, -10, -17A, фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), гамма-интерферона (INF- $\gamma$ ), остеопротегерина (OPG), лиганда активатора рецептора ядерного фактора  $\kappa$ B (RANKL). Исследования выполнялись с помощью иммуноферментных тест-систем производства «Вектор-Бест» (п. Кольцово, Новосибирская обл., РФ), «eBiosciences» (San Diego, CA, США), «Biomedica Medizinprodukte» (GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Германия).

Тестирование полиморфизмов 283 A>G (BsmI, rs1544410) гена VDR, -1997 C>A (rs1107946) и 1546 (6252) G>T (Sp1 S>s, rs1800012) гена COL1A1, 3989 C>T (Ala-1330Val, rs3736228) и 1999 G>A (Val667Met, rs4988321) гена LRP5 осуществляли методом полимеразной цепной

реакции с использованием соответствующих наборов и амплификатора ДТ-96 производства «ДНК-Технология» (Москва, РФ).

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась при помощи программ «MedStat» и «STATISTICA for Windows 6.0» (StatSoft, Inc.). Для проверки распределения показателей на нормальность использовался критерий хи-квадрат ( $\chi^2$ ). В связи с тем что распределение большинства изученных показателей отличалось от нормального, в описательной статистике использовались непараметрические методы. Вычислялись медиана (Me), ошибка медианы (m). Для парных сравнений центров независимых выборок использовался W-критерий Вилкоксона. Статистически значимыми отличия считались при  $P < 0,05$ .

### Результаты

На первом этапе проведения статистического анализа полученных данных была выполнена оценка уровней цитокинов в сыворотке крови женщин в зависимости от состояния их костной системы. Для этого, исходя из результатов остеоденситометрии, все обследованные были распределены в 3 группы – здоровые ( $n=37$ , показатели T-критерия до  $-1,0$  стандартных отклонений от пиковой костной массы), с остеопенией ( $n=84$ , значения T-критерия ниже  $-1,0$  до  $-2,5$  стандартных отклонений) и ОП ( $n=59$ , T-критерий равен  $-2,5$  стандартных отклонений и ниже). При этом контрольная группа, группы женщин с остеопенией и ОП существенно не отличались по

возрасту (соответственно  $59,0 \pm 1,71$ ,  $60,5 \pm 1,09$  и  $60,0 \pm 1,44$  лет,  $P > 0,05$ ) и длительности постменопаузального периода (соответственно  $10,0 \pm 1,73$ ,  $10,0 \pm 1,09$  и  $12,0 \pm 1,22$  лет,  $P > 0,05$ ).

Установлено, что пациенты с ОП, по сравнению с контрольной группой, характеризовались (табл.1) более высокими значениями в сыворотке крови IL-1- $\beta$  ( $P < 0,001$ ), IL-8 ( $P=0,048$ ), IL-17A ( $P=0,002$ ), TNF- $\alpha$  ( $P=0,031$ ), RANKL ( $P=0,032$ ) и сниженными уровнями IL-4 ( $P=0,027$ ), IL-10 ( $P < 0,001$ ). Аналогичной направленности различия были выявлены также и между группами женщин с ОП и остеопенией по уровням IL-1- $\beta$  ( $P=0,017$ ), IL-8 ( $P=0,031$ ), IL-10 ( $P=0,018$ ), IL-17A ( $P < 0,001$ ), TNF- $\alpha$  ( $P=0,002$ ), RANKL ( $P=0,023$ ). Необходимо отметить, что больные остеопенией также отличались от контрольной группы значениями IL-1- $\beta$  (увеличение,  $P=0,004$ ) и IL-10 (снижение,  $P=0,008$ ).

Наряду с этим не было установлено особенностей трех групп женщин по сывороточным показателям INF- $\gamma$  и OPG ( $P > 0,05$ ). Кроме того, не было обнаружено различий между выделенными группами и по индексу OPG/RANKL, значения которого у здоровых женщин и пациентов с ОП и остеопенией составил соответственно  $28,0 \pm 21,1$ ,  $25,1 \pm 6,65$  и  $23,1 \pm 16,6$  ( $P > 0,05$ ).

Для изучения ассоциаций полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 с уровнями цитокинов обследованные женщины были распределены в 2 группы. Отдельно были выделены женщины с генотипом CC ( $n=126$ ), который в ранее выполненных исследованиях обнаруживал связь с низким риском развития ОП [6]. Вторую группу ( $n=54$ ) составили пациенты с генотипом CA ( $n=46$ ) и небольшое

Таблица/ Table 1.

### Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста, имеющих остеопению и остеопороз Cytokines serum concentrations in postmenopausal women with osteopenia and osteoporosis.

Показатель Indexes	Уровни показателей (Me $\pm$ m, пг/мл) среди женщин: Indexes level (Me $\pm$ m, pg/ml) among women:			P между группами P between groups
	Здоровых healthy (группа 1) (group 1), n=37	с остеопенией with osteopenia (группа 2) (group 2), n=84	с остеопорозом with osteoporosis (группа 3) (group 3), n=59	
IL-1- $\beta$	1,7 $\pm$ 0,29	2,2 $\pm$ 0,20	2,8 $\pm$ 0,18	1-2: 0,004; 1-3: <0,001 2-3: 0,017
IL-4	2,2 $\pm$ 0,40	2,1 $\pm$ 0,15	1,6 $\pm$ 0,19	1-3: 0,027
IL-6	0,4 $\pm$ 0,65	0,9 $\pm$ 0,25	1,3 $\pm$ 0,83	1-3: 0,052
IL-8	5,7 $\pm$ 4,36	8,05 $\pm$ 1,10	10,3 $\pm$ 3,11	1-3: 0,048; 2-3: 0,031
IL-10	4,1 $\pm$ 0,69	3,05 $\pm$ 0,30	2,0 $\pm$ 0,27	1-2: 0,008; 1-3: <0,001 2-3: 0,018
IL-17A	1,4 $\pm$ 0,49	1,65 $\pm$ 0,327	3,0 $\pm$ 0,772	1-3: 0,002; 2-3: <0,001
TNF- $\alpha$	0,0 $\pm$ 0,50	0,0 $\pm$ 0,26	0,0 $\pm$ 0,70	1-3: 0,031; 2-3: 0,002
INF- $\gamma$	9,5 $\pm$ 1,21	8,8 $\pm$ 0,63	9,6 $\pm$ 0,72	-
OPG	74,7 $\pm$ 9,85	73,35 $\pm$ 6,95	94,2 $\pm$ 9,73	-
RANKL	2,5 $\pm$ 0,32	2,6 $\pm$ 0,21	3,3 $\pm$ 0,47	1-3: 0,032; 2-3: 0,023

Таблица/ Table 2.

**Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от генотипов полиморфизма 283 A>G (BsmI, rs1544410) гена рецептора витамина D (VDR)**  
**Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on vitamin D receptor gene (VDR) 283 A>G (BsmI, rs1544410) polymorphism genotypes**

Показатель <i>Indexes</i>	Уровни показателей (Me±m) среди женщин с генотипами полиморфизма 283 A>G (BsmI, rs1544410) гена VDR: <i>Indexes level (Me±m) among women with VDR gene 283 A&gt;G (BsmI, rs1544410) polymorphism genotypes:</i>			P между группами <i>P between groups</i>
	AA, n=26 (группа 1) <i>(group 1)</i>	AG, n=84 (группа 2) <i>(group 2)</i>	GG, n=70 (группа 3) <i>(group 3)</i>	
IL-1-β (пг/мл) <i>(pg/ml)</i>	1,95±0,22	2,0±0,14	2,8±0,23	1-3: <0,001 2-3: <0,001
IL-4 (пг/мл) <i>(pg/ml)</i>	1,1±0,24	2,05±0,20	1,85±0,19	1-2: 0,004 1-3: 0,035
IL-8 (пг/мл) <i>(pg/ml)</i>	8,65±5,23	6,8±1,94	11,8±2,21	2-3: 0,012
IL-10 (пг/мл) <i>(pg/ml)</i>	3,1±0,74	3,3±0,35	2,1±0,28	1-3: 0,019 2-3: <0,001
RANKL (пг/мл) <i>(pg/ml)</i>	1,9±0,54	2,4±0,21	3,3±0,36	1-3: <0,001 2-3: <0,001
OPG/RANKL	33,2±16,13	29,6±15,55	17,4±3,07	1-3: 0,009 2-3: <0,001

количество лиц, имеющих генотип AA (n=8). Аналогичным образом были выделены две группы женщин и по полиморфизму rs1800012 гена COL1A1, исходя из того, что увеличенный риск развития постменопаузального ОП имеет связь с генотипом GT и аллелем T, а генотип GG, наоборот, ассоциирован с низкой вероятностью заболевания [7].

Сравнительный анализ женщин с различными вариантами полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 (табл. 3) показал, что лица, имеющие генотипы CA или AA, по сравнению с носителями генотипа CC имели более высокие уровни IL-4 (P=0,006), IL-6 (P=0,023), IL-8 (P=0,023), IL-10 (P=0,012), RANKL (P=0,022). Женщины с генотипами GT или TT полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 отличались от обладателей генотипа GG сниженными значениями IL-10 (P=0,007), OPG (P=0,013), индекса OPG/RANKL (P=0,042).

Следует отметить, что ни один из вышеуказанных полиморфизмов гена COL1A1 не показал ассоциаций (P>0,05) с показателями IL-1, IL-17A, TNF-α, INF-γ. Не было обнаружено различий и среди женщин в зависимости от полиморфизмов гена LRP5 (табл.4) как по концентрациям вышеуказанных цитокинов, так и ряда других (IL-4, IL-6, IL-8, OPG, RANKL). Вместе с тем, лица с генотипом GA полиморфизма rs4988321 имели более низкие значения IL-10, чем носители генотипа GG (P=0,003). Аналогичное снижение содержания в сыворотке крови IL-10 было определено (P=0,007) и у женщин, имеющих генотипы CT или TT полиморфизма rs3736228.

### Обсуждение

Таким образом, выполненные исследования демонстрируют существенные изменения статуса цитокинов

при постменопаузальном ОП, который характеризуется увеличением сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов IL-1-β, IL-8, IL-17A, TNF-α, RANKL и снижением уровней противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10. Полученные результаты согласуются с современными представлениями о роли иммунной системы в развитии постменопаузального ОП [9–11]. В настоящее время доказано, что снижение уровня эстрогенов в постменопаузу сопровождается усилением пролиферации и активацией Т-клеток, а также ингибированием их апоптоза. Вследствие этого увеличивается количество активированных Т-лимфоцитов и повышается продукция ими провоспалительных цитокинов. Итогом данных изменений является хроническая стимуляция остеокластов, приводящая к усилению резорбции костной ткани и развитию ОП. В связи с этим считают, что в патогенезе потери костной массы ключевую роль играют иммунные нарушения, а ОП называют хроническим иммуноопосредованным заболеванием [9, 10].

Анализ уровней цитокинов в зависимости от генетических маркеров показал, что те генотипы полиморфизмов генов VDR, COL1A1 и LRP5, которые в ранее выполненных исследованиях показали связь с повышенным риском ОП [5–8], в большинстве своем обнаруживали ассоциации с увеличением концентраций провоспалительных цитокинов и снижением противовоспалительных. И это естественно, так как вышеуказанные генотипы (генотип GG полиморфизма BsmI гена VDR и др.) чаще регистрируются именно среди больных ОП.

Вместе с тем необходимо отметить особенности цитокинового статуса женщин с некоторыми полиморфными вариантами изученных генов. Так, была установлена связь полиморфизмов rs3736228 и rs4988321 гена LRP5 с изменением уровней всего лишь одного цитокина (IL-

Таблица/ Table 3  
Содержание цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от отдельных полиморфизмов гена COL1A1  
*Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on some COL1A1 gene polymorphisms*

Показатели <i>Indexes</i>	Уровни показателей (Me±m) среди женщин с различными генотипами полиморфизмов гена COL1A1: <i>Indexes level (Me±m) among women with different genotypes of COL1A1 gene polymorphisms:</i>			
	-1997 C>A (rs1107946)		1546 (6252) G>T (Sp1 S>s, rs1800012)	
	CC (n=126)	CA (n=46) + AA (n=8)	GG (n=130)	GT (n=47) + TT (n=3)
IL-4 (пг/мл) (pg/ml)	1,7±0,14	2,4±0,25	1,9±0,16	1,8±0,21
IL-6 (пг/мл) (pg/ml)	0,75±0,36	1,4±0,69	0,9±0,40	1,1±0,57
IL-8 (пг/мл) (pg/ml)	7,85±1,66	10,9±2,93	7,9±1,93	10,25±1,6
IL-10 (пг/мл) (pg/ml)	2,7±0,27	3,6±0,42	3,1±0,29	2,3±0,30
OPG (пг/мл) (pg/ml)	75,4±5,83	84,5±9,53	85,5±5,88	60,1±8,99
RANKL(пг/мл) (pg/ml)	2,7±0,21	3,1±0,44	2,9±0,20	2,85±0,51
OPG/RANKL	24,4±10,9	26,0±7,59	28,0±10,2	21,3±10,9
		P		P
		0,006		0,699
		0,023		0,791
		0,023		0,280
		0,012		0,007
		0,281		0,013
		0,022		0,742
		0,419		0,042

Таблица/ Table 4  
Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от отдельных полиморфизмов гена LRP5  
*Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on some LRP5 gene polymorphisms*

Показатели <i>Indexes</i>	Уровни показателей (Me±m) среди женщин с различными генотипами полиморфизмов гена LRP5: <i>Indexes level (Me±m) among women with different genotypes of LRP5 gene polymorphisms:</i>			
	1999 G>A (Val667Met, rs4988321)		3989 C>T (Ala1330Val, rs3736228)	
	GG (n=157)	GA (n=23) + AA (n=0)	CC (n=125)	CT (n=51) + TT (n=4)
IL-4 (пг/мл) (pg/ml)	1,9±0,14	1,7±0,30	1,8±0,16	2,2±0,21
IL-6 (пг/мл) (pg/ml)	0,9±0,32	1,3±1,39	0,8±0,37	1,0±0,66
IL-8 (пг/мл) (pg/ml)	8,2±1,62	10,0±3,04	8,2±1,93	8,9±1,92
IL-10 (пг/мл) (pg/ml)	3,1±0,24	1,7±0,70	3,1±0,27	2,2±0,43
OPG (пг/мл) (pg/ml)	80,3±5,54	76,2±9,42	82,1±6,29	76,2±7,96
RANKL (пг/мл) (pg/ml)	2,8±0,22	3,1±0,40	2,8±0,25	3,0±0,34
OPG/RANKL	25,4±9,05	21,0±7,78	27,4±10,81	23,6±8,70
		P		P
		0,479		0,287
		0,594		0,497
		0,419		0,981
		0,003		0,007
		0,530		0,959
		0,689		0,589
		0,589		0,650

10), а полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* — только двух цитокинов (IL-10 и OPG). Важно отметить, что достоверные ассоциации концентраций в сыворотке OPG было свойственны только с генотипами полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*. При этом изменений уровней OPG в зависимости от других изученных полиморфизмов, также как и от состояния костной системы женщин, установлено не было.

К настоящему времени возможные механизмы, которыми можно было бы объяснить связи генотипов полиморфизмов генов *COL1A1* и *LRP5* с изменениями иммунных показателей, остаются неизвестными. Не исключено, что роль данных полиморфизмов в развитии ОП даже и не обусловлена прямым их влиянием на продукцию цитокинов. А выявленные связи с уровнями цитокинов опосредованы другими причинами, обусловленными сложными взаимодействиями в системах «ген-ген», «ген-внешние факторы». Ведь ОП является полигенным заболеванием. В его этиопатогенезе участвуют многие взаимовлияющие друг на друга гены, фенотипические проявления которых реализуются под воздействием широкого спектра внешних факторов (наличие и выраженность дефицита эстрогенов, витамина D и кальция, гиподинамия, курение, расовые различия и т.д.). Подтверждением этому является мнение о том, что мутации в гене *COL1A1*, участвующем в образовании коллагена, являются причиной структурно-функциональных изменений основного компонента соединительной ткани и тем самым способствуют развитию ОП. В частности, одной из таких мутаций является полиморфизм rs1800012 в гене *COL1A1*, который приводит к увеличению соотношения  $\alpha$ -1 и  $\alpha$ -2 цепей коллагена и, в конечном итоге, к ухудшению костной микроархитектуры и увеличению риска переломов [12, 13].

Известно, что мутации гена *LRP5* могут оказывать непосредственное действие на функцию костных клеток, процессы костеобразования и резорбции костной ткани. Белок, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности 5 типа, который кодируется геном *LRP5*, является важным фактором в реализации сигналов по каноническому Wnt-сигнальному пути [14]. Канонический ( $\beta$ -катенин-зависимый) Wnt-сигнальный путь — один из важнейших молекулярных сигнальных путей, который регулирует эмбриональное развитие и дифференцировку клеток, в том числе клеток костной системы. Нарушения Wnt-сигнализации, которые могут быть обусловлены мутациями гена *LRP5*, в сторону увеличения сопровождаются повышением интенсивности костеобразования, а в сторону уменьшения — снижением костной массы и нарушениям скелета [15]. Вместе с этим, необходимо указать на важную роль канонического Wnt-сигнального пути в регуляции не только костных клеток, но и клеток иммунной системы [16]. Исходя из этого, можно предположить, что влияние полиморфизмов гена *LRP5* на риск развития ОП может быть опосредовано и через воздействие на функцию дендритных клеток, лимфоцитов. В том числе показано, что снижение *LRP5*/6-опосредованной сигнализации в дендритных клетках приводит к усилению дифференцировки эффекторных

T-клеток, увеличению производства провоспалительных цитокинов и уменьшению продукции IL-10 [17–19]. Это согласуется с полученными нами результатами, демонстрирующими связь генотипа GA полиморфизма 1999 G>A (Val667Met, rs4988321) и генотипов CT или TT полиморфизма 3989 C>T (Ala1330Val, rs3736228) гена *LRP5* со снижением уровней в сыворотке крови IL-10.

Механизмы, посредством которых мутации гена *VDR*, в том числе полиморфизм BsmI, участвуют в развитии остеопоротических изменений до настоящего остаются дискуссионными. Предполагается, что аллели риска обуславливают снижение экспрессии данного рецептора [15], что сопровождается уменьшением регулирующих эффектов витамина D на клетку. Возникает картина дефицита витамина D даже при его достаточном количестве. Результатом этого является угнетение геномных эффектов витамина, направленных на абсорбцию кальция в эпителии кишечника. Развивается и недостаточность непосредственных механизмов воздействия витамина на клетки костной системы, в том числе остеобласты [20]. Все это может быть важными звеньями патогенеза ОП. Кроме того, страдает и регулирующее действие витамина D на иммунные клетки. К настоящему времени установлена его важная функция в обеспечении иммунного ответа, в том числе в подавлении чрезмерной продукции провоспалительных цитокинов и повышении образования IL-10 [21]. По всей видимости, наличие генотипа GG полиморфизма 283 A>G (BsmI, rs1544410) сочетается со снижением эффектов витамина D на клетки иммунной системы, что может сопровождаться теми изменениями в цитокиновом балансе, которые были выявлены в нашей работе, а именно увеличением уровней IL-1- $\beta$ , RANKL, индекса OPG/RANKL и снижением показателей IL-10.

### Заключение

Таким образом, установлено, что женщины с постменопаузальным остеопорозом характеризуются существенным ( $P<0,05$ ) увеличением концентраций в сыворотке крови IL-1- $\beta$ , IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ , RANKL и снижением уровней IL-4, IL-10. Полиморфные варианты генов *VDR*, *COL1A1* и *LRP5*, которые обнаруживали ассоциации с развитием постменопаузального остеопороза, в большинстве случаев имели аналогичной направленности ассоциации с изменениями уровней вышеуказанных цитокинов. Вместе с тем были обнаружены и особенности цитокинового статуса у женщин в зависимости от генетических полиморфизмов. Полученные данные отражают важные патогенетические аспекты постменопаузального остеопороза, в том числе в зависимости от генетических факторов, и могут быть использованы для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

*Исследование не имело спонсорской поддержки.*

*Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Boudin E., Van Hul W. Mechanisms in endocrinology: Genetics of human bone formation. // *Eur J Endocrinol.* – 2017. – V.177(2). – P.69-83. doi: 10.1530/EJE-16-0990.
2. Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетические основы остеопороза. // *Биомика.* – 2014. – Т. 6. – №1. – С. 24–51.
3. Rocha-Braz M.G., Ferraz-de-Souza B. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility. // *Arch Endocrinol Metab.* – 2016. – V. 60(4). – P.391-401. doi: 10.1590/2359-3997000000178.
4. Urano T., Inoue S. Genetics of osteoporosis. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2014. – V.452(2). – P.287-293. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.07.141
5. 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. doi: 10.21886/2219-8075-2016-4-32-38
6. Майлян Э.А. Роль полиморфизма -1997 C>A гена COL1A1 в развитии остеопороза различных участков скелета у женщин в постменопаузальном возрасте // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* – 2017. – Т. 16. – №1. – С. 105-110.
7. Майлян Э.А. Полиморфизм Sp1 гена COL1A1 и риск развития остеопороза у женщин в постменопаузальном возрасте // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2017. – №1. – С. 90-94. doi: 10.25207/1608-6228-2017-1-90-94.
8. Майлян Э.А. Ассоциации отдельных полиморфизмов генов LRP5 и IL-6 с постменопаузальным остеопорозом // *Сибирское медицинское обозрение.* – 2017. – №6. – С. 98-103. doi: 10.20333/2500136-2017-6-98-103.
9. Ginaldi L., De Martinis M. Osteoimmunology and Beyond. // *Curr Med Chem.* – 2016. – V.23(33). – P. 3754-3774.
10. Liu H., Luo T., Tan J., Li M., Guo J. Osteoimmunology' Offers New Perspectives for the Treatment of Pathological Bone Loss. // *Curr Pharm Des.* – 2017. – V.23(41). – P.6272-6278. doi: 10.2174/1381612823666170511124459
11. Поворознюк В.В., Резниченко Н.А., Майлян Э.А. Роль иммунных факторов в патогенезе постменопаузального остеопороза // *Проблемы остеологии.* – 2013. – Т. 16. – №3. – С. 3-7.
12. Dytfeld J., Marcinkowska M., Drwęska-Matelska N., Michalak M., Horst-Sikorska W., Słomski R. Association analysis of the COL1A1 polymorphism with bone mineral density and prevalent fractures in Polish postmenopausal women with osteoporosis. // *Arch Med Sci.* – 2016. – V.12(2). – P.288-294. doi: 10.5114/aoms.2016.59253
13. Kurt-Sirin O., Yilmaz-Aydogan H., Uyar M., Seyhan M.F., Isbir T., Can A. Combined effects of collagen type I alpha1 (COL1A1) Sp1 polymorphism and osteoporosis risk factors on bone mineral density in Turkish postmenopausal women. // *Gene.* – 2014. – V.540(2). – P.226-231. doi: 10.1016/j.gene.2014.02.028
14. Lerner U.H., Ohlsson C. The WNT system: background and its role in bone. // *J Intern Med.* – 2015. – V.277(6). – P.630-649. doi: 10.1111/joim.12368
15. Li W.F., Hou S.X., Yu B., Li M.M., Férec C., Chen J.M. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. // *Hum Genet.* – 2010. – V.127(3). – P.249-285. doi: 10.1007/s00439-009-0773-z
16. Pai S.G., Carneiro B.A., Mota J.M., Costa R., Leite C.A., Barroso-Sousa R. et al. Wnt/beta-catenin pathway: modulating anticancer immune response. // *J Hematol Oncol.* – 2017. – V.10(1). – P.101. doi: 10.1186/s13045-017-0471-6

## REFERENCES

1. Boudin E, Van Hul W. Mechanisms in endocrinology: Genetics of human bone formation. *Eur J Endocrinol.* 2017;177(2):69-83. doi: 10.1530/EJE-16-0990
2. Husainova RI, Husnutdinova EK. Genetics of osteoporosis. *Biomika.* 2014;6(1):24–51. (in Russ.)
3. Rocha-Braz MG, Ferraz-de-Souza B. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(4):391-401. doi: 10.1590/2359-3997000000178
4. Urano T, Inoue S. Genetics of osteoporosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014;452(2):287-293. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.07.141
5. Maylyan EA. The influence of vitamin D receptor gene 283 A>G (BSMI) polymorphism on osteoporosis in postmenopausal women. *Medical Herald of the South of Russia.* 2016;(4):32-38. (In Russ.) doi: 10.21886/2219-8075-2016-4-32-38
6. Maylyan EA. Role of COL1A1 gene -1997 C>A polymorphism in osteoporosis development in skeleton various sites in postmenopausal women. *Vestnik of Smolensk State Medical Academy.* 2017;16(1):105-110. (In Russ.)
7. Maylyan EA. COL1A1 gene Sp1 polymorphism and osteoporosis risk in postmenopausal women. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2017;(1):90-94. (In Russ.) doi: 10.25207/1608-6228-2017-1-90-94
8. Maylyan EA. Associations between separate LRP5 and IL-6 genes polymorphisms and postmenopausal osteoporosis. *Siberian Medical Review.* 2017;(6):98-103. (In Russ.) doi: 10.20333/2500136-2017-6-98-103
9. Ginaldi L, De Martinis M. Osteoimmunology and Beyond. *Curr Med Chem.* 2016;23(33):3754-3774.
10. Liu H, Luo T, Tan J, Li M, Guo J. Osteoimmunology' Offers New Perspectives for the Treatment of Pathological Bone Loss. *Curr Pharm Des.* 2017;23(41):6272-6278. doi: 10.2174/1381612823666170511124459
11. Povoroznyuk VV, Reznichenko NA, Maylyan EA. Role of immune factors in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *Problems of osteology.* 2013;16(3):3-7. (In Russ.)
12. Dytfeld J, Marcinkowska M, Drwęska-Matelska N, Michalak M, Horst-Sikorska W, Słomski R. Association analysis of the COL1A1 polymorphism with bone mineral density and prevalent fractures in Polish postmenopausal women with osteoporosis. *Arch Med Sci.* 2016;12(2): 288-294. doi: 10.5114/aoms.2016.59253
13. Kurt-Sirin O, Yilmaz-Aydogan H, Uyar M, Seyhan MF, Isbir T, Can A. Combined effects of collagen type I alpha1 (COL1A1) Sp1 polymorphism and osteoporosis risk factors on bone mineral density in Turkish postmenopausal women. *Gene.* 2014;540(2):226-231. doi: 10.1016/j.gene.2014.02.028
14. Lerner UH, Ohlsson C. The WNT system: background and its role in bone. *J Intern Med.* 2015;277(6):630-649. doi: 10.1111/joim.12368
15. Li WF, Hou SX, Yu B, Li MM, Férec C, Chen JM. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. *Hum Genet.* 2010;127(3):249-285. doi: 10.1007/s00439-009-0773-z
16. Pai SG, Carneiro BA, Mota JM, Costa R, Leite CA, Barroso-Sousa R et al. Wnt/beta-catenin pathway: modulating anticancer immune response. *J Hematol Oncol.* 2017;10(1):101. doi: 10.1186/s13045-017-0471-6
17. Fu C, Liang X, Cui W, Ober-Blobaum JL, Vazzana J, Shrikant PA et al. Beta-Catenin in dendritic cells exerts opposite functions in cross-priming and maintenance of CD8+ T cells through regulation of IL-10. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112:2823-2828. doi: 10.1073/pnas.1414167112

17. Fu C., Liang X., Cui W., Ober-Blobaum J.L., Vazzana J., Shrikant P.A. et al. Beta-Catenin in dendritic cells exerts opposite functions in cross-priming and maintenance of CD8+ T cells through regulation of IL-10. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2015. – V.112. – P.2823-2828. doi: 10.1073/pnas.1414167112
18. Hong Y., Manoharan I., Suryawanshi A., Shanmugam A., Swafford D., Ahmad S. et al. Deletion of LRP5 and LRP6 in dendritic cells enhances antitumor immunity. *Oncoimmunology*. 2015;5(4):e1115941. doi: 10.1080/2162402X.2015.1115941
19. Suryawanshi A., Manoharan I., Hong Y., Swafford D., Majumdar T., Taketo M.M. et al. Canonical WNT signaling in dendritic cells regulates Th1/Th17 responses and suppresses autoimmune neuroinflammation. // *J Immunol*. – 2015. – V.194. – P.3295-3304. doi: 10.4049/jimmunol.1402691
20. Майлян Э.А., Резниченко Н.А., Майлян Д.Э. Регуляция витамином D метаболизма костной ткани. // *Медицинский вестник Юга России*. – 2017. – №1. – С. 12-20. doi: 10.21886/2219-8075-2017-1
21. Поворознюк В.В., Резниченко Н.А., Майлян Э.А. Внескелетные эффекты витамина D. // *Боль. Суставы. Позвоночник*. – 2014. – №1-2. – С. 19-25.
18. Hong Y, Manoharan I, Suryawanshi A, Shanmugam A, Swafford D, Ahmad S et al. Deletion of LRP5 and LRP6 in dendritic cells enhances antitumor immunity. *Oncoimmunology*. 2015;5(4):e1115941. doi: 10.1080/2162402X.2015.1115941
19. Suryawanshi A, Manoharan I, Hong Y, Swafford D, Majumdar T, Taketo MM et al. Canonical WNT signaling in dendritic cells regulates Th1/Th17 responses and suppresses autoimmune neuroinflammation. *J Immunol*. 2015;194:3295-3304. doi: 10.4049/jimmunol.1402691
20. Maylyan EA, Reznichenko NA, Maylyan DE. Vitamin D regulation of bone metabolism. *Medical Herald of the South of Russia*. 2017;(1):12-20. (In Russ.) doi: 10.21886/2219-8075-2017-1
21. Povoroznyuk VV, Reznichenko NA, Maylyan EA. Extraskel-et al Effects of Vitamin D. *Pain. Joints. Spine*. 2014;(1-2):19-25. (In Russ.)

#### Информация об авторе

**Майлян Эдуард Анетнакович** – к.м.н., доцент, кафедра клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии Донецкого национального медицинского университета им. М.Горького; Донецк, Украина. ORCID 0000-0003-2845-7750. E-mail: mea095@yandex.ru

#### Information about the author

**Edward A. Maylyan** – PhD, Associate Professor, Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology, M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk, Ukraine. ORCID 0000-0003-2845-7750. E-mail: mea095@yandex.ru

Получено / Received: 20.12.2017

Принято к печати / Accepted: 04.02.2018