

БІОХІМІЯ

УДК: 612.67.017.11.612.43

Н.І. БАЛАЦЬКА

ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»
вул. Вишгородська, 67, Київ, 04114

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВІТАМІНУ D, ВТОРИННИМ ГІПЕРПАРАТИРЕОЗОМ І СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИМ СТАНОМ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

У статті наведено результати дослідження зв'язку між генотипом поліморфізму гена рецептора вітаміну D, вторинним гіперпаратиреозом та структурно-функціональним станом кісткової тканини жінок. Встановлено, що для носіїв генотипу Vb характерно: високі показники мінеральної щільності кісткової тканини та, відповідно, низький відсоток розвитку остеопорозу та його ускладнень (переломів), найнижча частота тяжкого дефіциту вітаміну D і вторинного гіперпаратиреозу.

Ключові слова: поліморфізм гена рецептора вітаміну D, дефіцит вітаміну D, вторинний гіперпаратиреоз, структурно-функціональний стан кісткової тканини

Рецептори вітаміна D (RVD) належать до ядерних внутрішньоклітинних рецепторів (до яких також відносять рецептори стероїдних гормонів, щитоподібної залози і ретинової кислоти) підтипу PPR. Дана група рецепторів регулює експресію генів, які контролюють функції проліферації, диференціації, метаболізму, транспорту іонів, апоптозу тощо [5].

RVD мають високу спорідненість із гормональною формою вітаміну D – 1,25(OH)₂D₃. Секреція останнього залежить від потреб організму в кальції та фосфорі. За гіпокальціємії підвищується рівень паратгормону, який стимулює активність ниркової 1α-гідроксилази та сприяє синтезу 1,25(OH)₂D₃. 1,25(OH)₂D₃ зв'язується із RVD та підвищує абсорбцію кальцію в тонкому кишківнику за допомогою TRPV6 та інших генів транслокації кальцію [6, 10, 11].

На сьогодні відсутня єдина думка щодо зв'язку між поліморфізмом окремих генів і станом кісткової тканини, оскільки в одних наукових працях такий зв'язок знаходять, в інших – ні [2, 3, 8]. Розбіжності в результатах дослідження багато дослідників пояснюють існуванням відмінностей у будові самого геному, в особливостях харчування (передусім у рівні споживання кальцію та вітаміну D), а також впливу чинників довкілля на організм людини в різних регіонах світу [7].

Метою дослідження було встановити зв'язок між поліморфізмом гена RVD та вторинним гіперпаратиреозом і структурно-функціональним станом кісткової тканини (СФСКТ) у жінок постменопаузального періоду.

Матеріал і методи досліджень

Обстежено 178 жінок постменопаузального періоду, середній вік яких склав (57,0±1,2) років. У дослідження було включено жителів західного (36,5 %), східного (24,7 %) та північного (38,8 %) регіонів України. Усім обстеженим проводилася ультразвукова денситометрія п'яткової кістки апаратом SAHARA (Hologic) за допомогою якої визначали швидкість поширення

ультразвуку через кістку (ШПУ, м/с), широкосмугове ослаблення ультразвуку (ШОУ, дБ/МГц), індекс міцності кістки (ІМ, %) та екстрапольований показник мінеральної щільності кісткової тканини (eМЩКТ).

Вміст 25(ОН) вітаміну D (25(ОН)D) та інтактного паратгормону (іПТГ) в сироватці крові визначали за допомогою електрохемілюмінесцентного методу на аналізаторі Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, Німеччина) тест-системами cobas.

Оцінку вітамін-D статусу здійснювали згідно останньої класифікації [4], відповідно до якої: дефіцит вітаміну D (ДВД) встановлюється при вмісті 25(ОН)D у сироватці крові нижче 50 нмоль/л, недостатність вітаміну D діагностується при рівнях 25(ОН)D у сироватці крові між 75 та 50 нмоль/л. Концентрація 25(ОН)D у сироватці крові в межах 75-150 нмоль/л вважається нормою. Тяжкий ДВД – це стан при якому рівень 25(ОН)D у сироватці крові нижче 25 нмоль/л.

Поліморфізм рецепторів вітаміну D визначали за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) – RLFP (Restricted Length Fragment Polymorphism), яка забезпечує визначення точкових мутацій за допомогою специфічної ендонуклеази Bsm I, остання додавалася до зразків після процедури ампліфікації. Після аналізу зразки класифікували як BB, Bb або bb (великі літери представляють відсутність, маленькі – наявність місць рестрикції для ендонуклеази Bsm I).

Статистичний аналіз проводили з визначенням параметричних та непараметричних критеріїв. При аналізі використовували пакети програм “Statistika 6.0” Copyright© StatSoft, Inc. 1984-2001, Serial number 31415926535897.

Результати досліджень та їх обговорення

Згідно досліджень поліморфізму гена RVD всі пацієнти були розділені на три групи: перша із генотипом bb – 86 пацієнтів, друга із генотипом Bb – 67 осіб та третя включала 25 жінок із генотипом BB.

Клінічна характеристика обстежених представлена в таблиці 1. Групи достовірно не відрізнялися за основними показниками.

Таблиця 1

Клініко-анамнестична характеристика обстежених жінок

показник \ генотип	bb, %	Bb, %	BB, %
n	86	67	25
вік, роки	57,49±1,74	56,74±2,04	56,23±3,21
ріст, м	163,5±0,85	163,9±0,74	165,8±1,83
маса, кг	74,05±2,01	78,02±1,76	79,08±2,83
ІМТ, кг/м ²	27,57±0,65	29,17±0,73	28,69±0,81

Серед обстежених жінок рівень 25(ОН)D у сироватці крові в межах норми зареєстровано у 4,5 %, недостатність – у 10,1 %, а дефіцит – у 85,4 % випадків. Глибокий ДВД мали 46,6 % осіб.

Вторинний гіперпаратиреоз було виявлено у 29,2 % обстежених. Високий рівень іПТГ серед жінок обумовлений тим, що в групу обстежених північного регіону в переважній більшості включали осіб із вторинним гіперпаратиреозом для вивчення ролі поліморфізму гену VDR. Остеопороз зареєстровано у 28 (15,7 %) осіб, остеопенію – у 31,5 %, а нормальний СФСК – в 94 (52,8 %) оглянутих. В анамнезі життя 28,7 % обстежених мали низькоенергетичні переломи.

Вивчення поліморфізму гену RVD bb показало, що він виявлявся в 86 (48,3 %) осіб, Bb реєструвався у 67 (37,6 %) оглянутих, генотип BB мав місце у 25 (14,1 %) обстежених.

Як засвідчують дані таблиці 2, поліморфізм гену RVD bb реєструвався з однаковою частотою серед жителів як західного, так і східного та північного регіонів (46,2, 47,7 та 44,7 % відповідно). Поліморфізм гену RVD BB був вищим (20,5 %) у жителів східного регіону і майже удвічі нижчим у жителів північних областей (10,5 %) та однаково часто реєструвався як в осіб західного, так і центрального регіонів.

Розподіл обстежених за поліморфізмом гену RVD, %

Регіон дослідження	Генотип		
	bb	Bb	BB
Захід, n=65	46,2	41,5	12,3
Схід, n=44	47,7	31,8	20,5
Північ, n=38	44,7	42,1	10,5

Характеристики пацієнтів залежно від генотипу занесені в таблицю 3. Аналіз даних представлених у названій таблиці показав, що пацієнти достовірно не відрізнялися за віком. Також не було виявлено суттєвої різниці середнього рівня 25(OH)D та іПТГ у сироватці крові обстежених. Було проведено порівняльний аналіз частоти остеопорозу, переломів, вторинного гіперпаратиреозу, дефіциту та важкого дефіциту вітаміну D залежно від генотипу обстежених (табл. 3). Встановлено, що при генотипі Bb реєструвалася найнижча частота остеопорозу (7,4 проти 22,1 % при генотипі bb) та переломів (23,1 проти 29,2 % при генотипі BB). У жінок із генотипом bb реєструється високий відсоток остеопорозу (22,1 %), а у носіїв генотипу BB – високий відсоток переломів (29,2 %).

Таблиця 3

Характеристика обстежених відповідно до поліморфізму гену RVD

Показник	Генотип		
	bb, %	Bb, %	BB, %
	n=86	n=67	n=25
Вік	57,49±1,74	56,74±2,04	56,23±3,21
25(OH)D, нмоль/л	31,78±2,52	31,97±2,31	25,92±2,64
іПТГ, пг/мл	53,45±2,41	52,15±2,79	53,45±3,75
Остеопороз, %	22,1	7,4	16,0
Переломи, %	27,4	23,1	29,2
ДВД, %	82,6	85,1	96,0
Тяжкий ДВД, %	48,8	41,8	52,0
Вторинний гіперпаратиреоз, %	29,1	28,4	32,0

Найвищий відсоток ДВД (96 % проти 82,6 при генотипі bb) та вторинного гіперпаратиреозу зареєстровано у пацієнтів із генотипом BB (32,0 проти 28,4 % при генотипі Bb). Тяжким ДВД страждали носії генотипу BB (52 %) проти (41,8 %) осіб із генотипом Bb.

Показники СФСКТ були вищими у пацієнтів із генотипом Bb та достовірно відрізнялися порівняно з обстеженими із генотипом bb (табл. 4).

Таблиця 4

Показники структурно-функціонального стану кісткової тканини у жінок постменопаузального періоду із різним генотипом VDR

T-score	-1,70 [-2,20; -0,90]	-0,90** [-1,60; -0,55]	-0,95* [-1,40; -0,40]
ІМ, %	81,59±2,15	87,78±1,95*	86,82±3,23
eМЩКТ, г/см ²	0,440±0,014	0,479±0,012*	0,473±0,020
ШПУ, м/с	1527,1±3,6	1535,4±3,2	1533,8±5,9
ШОУ, дБ/МГц	64,53±1,87	71,41±1,89*	70,69±2,76

Примітка. * – достовірність різниці показників порівняно з групою, яка мала генотип bb (p<0,05).

Таким чином, жінки, у яких генотип Bb, мають кращі показники СФСКТ і, відповідно, нижчий відсоток остеопорозу та переломів. Жінки, які проживають на сході і частіше (20,5 %) є носіями генотипу BB, мають високий ризик щодо виникнення переломів, ДВД та важкого ДВД і вторинного гіперпаратиреозу. Особи, які є носіями генотипу bb, мають високий ризик розвитку остеопорозу та вторинного гіперпаратиреозу.

Отримані нами результати підтверджуються дослідженнями інших науковців. Так, Р. Garnero et al. [9] вивчали зв'язок поліморфізму гену VDR з виникненням вертебральних і невертебральних переломів. Автори виявили зв'язок між частотою алеля В у жінок та вперше зареєстрованих переломів. Відносний ризик подібних переломів для жінок з генотипом Bb склав 1,5 (95 % довірчий інтервал, 0,95-2,40), а в разі наявності генотипу BB – 2,10 (95 % довірчий інтервал, 1,16-3,79) порівняно із жінками з генотипом bb. У роботі Пішель І.М. [1] було встановлено зв'язок між частотою виникнення переломів та наявністю генотипу bb гену VDR (BsmI; 51,0 %) в українських жінок постменопаузального віку. Відносний ризик виникнення переломів у пацієток із цим генотипом порівняно з носіями В алелі (BB/bb) склав 1,76 (95 % CI: 1,14-2,70; $p < 0,02$). Зв'язку між генотипом і мінеральною щільністю кісткової тканини в даному спостереженні не було встановлено.

Результати проведеного дисперсійного аналізу зв'язку між рівнем 25(OH)D у сироватці крові та іПТГ в обстежених жінок представлені на рис. 1.

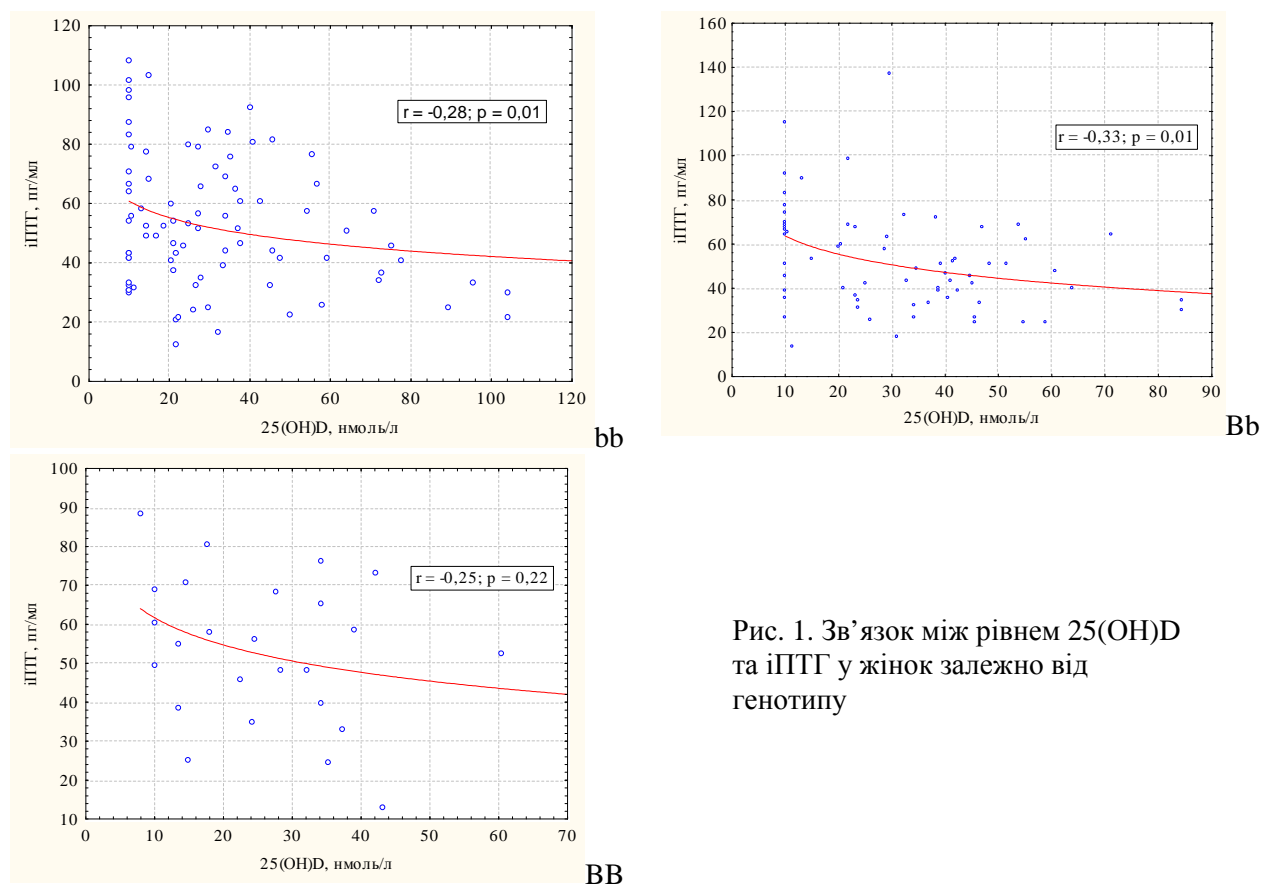


Рис. 1. Зв'язок між рівнем 25(OH)D та іПТГ у жінок залежно від генотипу

Дані рисунку 1 засвідчують, що в осіб із генотипом bb існує негативний кореляційний зв'язок між рівнем 25(OH)D та іПТГ у сироватці крові ($r = -0,28$, $p < 0,01$). В обстежених із генотипом Bb зв'язок між рівнем 25(OH)D та іПТГ у сироватці крові був також негативним, суттєвим, проте вже середньої сили ($r = -0,33$, $p < 0,01$), а в жінок із генотипом BB зв'язку між 25(OH)D та іПТГ у сироватці крові не виявлено.

Таким чином, жінки із генотипом Bb мають достовірно вищі показники структурно-функціонального стану кісткової тканини, такі як індекс міцності ($p < 0,05$), еМЩКТ ($p < 0,05$) та (ШПУ) ($p < 0,05$) порівняно з жінками, які є носіями генотипу bb. У жінок із генотипом Bb відзначається нижча частота остеопорозу, переломів та вторинного гіперпаратиреозу. Встановлено, що у жінок із генотипом BB відсутній зв'язок між рівнем 25(OH)D та іПТГ у сироватці крові, проте виявляється зв'язок у пацієток, які є носіями генотипу bb ($r = -0,28$, $p < 0,01$) та Bb ($r = -0,33$, $p < 0,01$).

Висновки

Встановлено зв'язок між генотипом поліморфізму гена рецептора вітаміну D та структурно-функціональним станом кісткової тканини. Для носіїв генотипу Vb характерно: високі показники мінеральної щільності кісткової тканини, які обумовлюють низький відсоток розвитку остеопорозу та його ускладнень (переломів), найнижча частота важкого дефіциту вітаміну D і вторинного гіперпаратиреозу.

1. *Пішель І. М.* Взаємозв'язок імунної системи та структурно-функціонального стану кісткової тканини: вікові та генетичні аспекти: дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : 14.03.03 – нормальна фізіологія / І. М. Пішель. – К., 2011. – 320 с.
2. *Bikle D.* Extrarenal synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D and its health implications / D. Bikle // *Clin. Rev. Bone Miner. Metab.* – 2009. – Vol. 7, № 2. – P. 114–125.
3. *Coactivator* function defines the active estrogen receptor alpha cisrome / M. Lupien, J. Eeckhoute, C. A. Meyer [et al.] // *Mol. Cell Biol.* – 2009. – Vol. 29, № 12. – P. 3413–3423.
4. *Holick M. F.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an edrocrine society clinical practice / M. F. Holick, N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96, № 7. – P. 191–193.
5. *Nuclear* vitamin D receptor: structure-function, molecular control of gene transcription, and novel bioactions / G. K. Whitfield, P. W. Jurutka, C. A. Haussler [et al.] // *Vitamin D / D. Feldman, J. W. Pike, F. H. Glorieux eds.* – 2nd ed. – Oxford, UK : Elsevier Academic Press, 2005. – P. 219–261.
6. *Rescue* of the skeletal phenotype of vitamin D receptor-ablated mice in the setting of normal mineral ion homeostasis: formal histomorphometric and biomechanical analyses / M. Amling, M. Priemel, T. Holzmann [et al.] // *Endocrinology.* – 1999. – Vol. 140, № 11. – P. 4982–4987.
7. *The nuclear* vitamin D receptor controls the expression of genes encoding factors which feed the “fountain of youth” to mediate healthful aging / M. R. Haussler, C. A. Haussler, G. K. Whitfield [et al.] // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 121, № 1–2. – P. 88–97.
8. *The nuclear* vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed / M. R. Haussler, G. K. Whitfield, C. A. Haussler [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 1998. – Vol. 13, № 3. – P. 325–349.
9. *Vitamin D* receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density / P. Garnero, F. Munoz, O. Borel [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2005. – Vol. 28, № 4. – P. 312–321.
10. *Vitamin D* receptor: molecular signaling and actions of nutritional ligands in disease prevention / M. R. Haussler, C. A. Haussler, L. Bartik [et al.] // *Nutr. Rev.* – 2008. – Vol. 66 (10 Suppl. 2). – P. 98–112.
11. *Vitamin D:* molecular mechanism of action / S. Christakos, P. Dhawan, B. Benn [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1116. – P. 340–348.

Н.И. Балацкая

ГУ «Институт геронтологии имени Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины»

СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D, ВТОРИЧНЫМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗОМ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ СОСТОЯНИЕМ КОСТНОЙ ТКАНИ

В статье представлены результаты исследования связи между генотипом полиморфизма гена рецептора витамина D, вторичным гиперпаратиреозом и структурно-функциональным состоянием костной ткани женщин. Установлено, что для носителей генотипа Vb характерны: высокие показатели минеральной плотности костной ткани и, соответственно, низкая частота развития остеопороза и его осложнений (переломов), низкая частота тяжелого дефицита витамина D и вторичного гиперпаратиреоза.

Ключевые слова: полиморфизм гена рецептора витамина D, дефицит витамина D, вторичный гиперпаратиреоз, структурно-функциональное состояние костной ткани

N.I. Balatska

D.F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine

ASSOCIATION BETWEEN THE POLYMORPHISMS OF VITAMIN D GENE RECEPTORS, SECONDARY HYPERPARATHYROIDISM AND STRUCTURAL-FUNCTIONAL STATE OF BONE TISSUE

The article demonstrates the results of the study of the relationship between genotype of vitamin D receptor polymorphism, secondary hyperparathyroidism, and structural-functional state of bone tissue. It was established that the genotype Bb characterized: high bone mineral density, low incidence of osteoporosis and its complications (fractures), the low incidence of severe vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism

Key words: gene polymorphisms of vitamin D receptor, vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism, structural-functional state of bone tissue

Рекомендує до друку

Надійшла 10.10.2012

В.В. Грубінко

УДК 615.32:634.745 + 615.9:549.25] .001.5

І.З. КЕРНИЧНА

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського
майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001

**ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
ЕКСТРАКТУ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО
УРАЖЕННЯ СОЛЯМИ ЦИНКУ ТА КУПРУМУ**

Вивчено антиоксидантні властивості 10 % екстракту з листків калини звичайної в організмі білих щурів після ураження солями цинку та купруму. Встановлено, що дія екстракту призвела до покращення активності показників антиоксидантного захисту, що дозволяє рекомендувати його для пригнічення активованих процесів вільнорадикального окиснення в ураженому солями цинку та купруму організмі щурів.

Ключові слова: антиоксидантний захист, щури, печінка, сироватка крові, екстракт з листків калини звичайної

Живі організми постійно піддаються впливу важких металів, що надходять із забрудненого навколишнього середовища. Надлишкова їх кількість призводить до різних токсичних ефектів. До групи важких металів належить мідь та цинк. Основними джерелами надходження даних хімічних елементів в організм є продукти харчування, питна вода, атмосферне повітря [9, 12]. Вказані важкі метали ініціюють перекисне окиснення білків та ліпідів, впливають на активність ферментів антиоксидантного захисту [11].

Одним із важливих завдань пошуку сучасних лікарських засобів є здатність останніх впливати на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стан антиоксидантної системи організму (АОС). Однак, незважаючи на успіхи хімічної промисловості у створенні вискоєфективних ліків, лікарські рослини залишаються актуальними та цікавими для вивчення та дослідження їх фармакологічної активності.

На увагу заслуговує калина звичайна (*Viburnum opulus* L.) з родини (Caprifoliaceae), яка зростає по всій території України. Офіційною лікарською сировиною калини звичайної є кора (*Cortex Viburni*) та плоди (*Fructus Viburni*). У попередніх наших дослідженнях було доведено, що листки калини звичайної містять цілий комплекс біологічно активних речовин, таких як вітаміни, флавоноїди, дубильні речовини, макро- та мікроелементи. Відомо, що всі