

# АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА rs1107946 ГЕНА COL1A1 С ОСТЕОПОРОЗОМ

**Зафар Закирович ИБРАГИМОВ, Кодиржон Тухтабаевич БОБОЕВ, & Тимур Рауфович АЛИМОВ**

*Отдел молекулярной медицины и клеточных технологий, лаборатория медицинской генетики, НИИ гематологии и переливания крови МЗ РУз, Республика Узбекистан*

**Для цитирования:** З.З. Ибрагимов, К.Т. Бобоев, & Т.Р. Алимов, Ассоциация полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 с остеопорозом. *Journal of Biomedicine and Practice*, 2018, vol. 1, issue, 2, pp.26–32

Статья поступила в редакцию 16 апреля 2018 г.

Рекомендована в печать 11 мая 2018 г.

**Контактная информация:** Т.Р. Алимов, Отдел молекулярной медицины и клеточных технологий, лаборатория медицинской генетики, Научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови МЗ РУз, улица Бунёдкор 42А, Ташкент, Республика Узбекистан, 100097, тел: (+99871)2736339, (+99893)5543103, факс:(+99871)2736316, e-mail: altirar@rambler.ru

<http://dx.doi.org/10.26739/2181-9300-2018-2-4>

## АННОТАЦИЯ

Результаты генетического анализа показали, что в основной группе ассоциация полиморфизма rs1107946 гена альфа-1 цепи коллагена 1-го типа (COL1A1) играет важную роль в риске развития остеопороза. Присутствие аллеля А и генотипов С/А и А/А данного полиморфизма значительно увеличивает, а протективного аллеля С и генотипа С/С снижает риск возникновения остеопороза в Узбекистане.

**Ключевые слова:** полиморфизм rs1107946, COL1A1, аллель, генотип, остеопороз.

## Association of polymorphism rs1107946 gene COL1A1 with osteoporosis

**Zafar Zakirovich IBRAGIMOV, Kodirjon Tukhtabaevich BOBOEV, & Timur Raufovich ALIMOV**

*Department of Molecular Medicine and Cell Technologies, Laboratory of Medical Genetics, Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Republic of Uzbekistan*

**Corresponding author:** T.R. Alimov, Department of Molecular Medicine and Cell Technologies, Laboratory of Medical Genetics, Research Institute of Hematology and Blood Transfusion Ministry of Health of Uzbekistan, Bunyodkor street 42A, Tashkent, Republic of Uzbekistan, 100097, tel: (+99871) 2736339, (+99893) 5543103, fax:(+99871)2736316, E-mail: altirar@rambler.ru

## ANNOTATION

The results of the genetic analysis showed that the frequency of alpha-1 of the collagen chain of the first type (COL1A1) gene alleles studied in patients and controls was significantly different. It was revealed that in the basic group the association of polymorphism rs1107946 COL1A1 gene plays an important role in the osteoporosis. The presence of an allele A and C/A and A/A genotypes of this polymorphism significantly increases and carrier allele genotype C and C/C lowers the risk of osteoporosis in Uzbekistan.

**Key words:** polymorphism rs1107946, COL1A1, allele, genotype, osteoporosis.

## COL1A1 генининг rs1107946 полиморфизми остеопороз билан ассоциацияси

**Зафар Закирович ИБРАГИМОВ, Кодиржон Тухтабаевич БОБОЕВ, & Тимур Рауфович АЛИМОВ**

**Мурожаат:** Т.Р. Алимов, Молекуляр тиббиёт ва хужайра технологиялар бўлими, тиббиёт генетикаси лабораторияси, ЎзР ССВ Гематология ва қон қуйиш илмий текшириш институти, Бунёдкор кўчаси 42А, Тошкент, Ўзбекистон Республикаси, 100097, тел: (+99871)2736339, (+99893)5543103, факс:(+99871)2736316, E-mail: altirar@rambler.ru

## АННОТАЦИЯ

Ушбу мақолада остеопороз патогенезида иштирок этадиган, коллаген 1-типнинг 1-альфа занжири (COL1A1) генинг rs1107946 полиморфизми текширилган. Тадқиқот натижалар шуни кўрсатадики, остеопороз хавфи ривожланишида COL1A1 ахамияти даражада бўлиб, бу остеопороз ривожланишида иштироки борлигини кўрсатади. Аллел А, гетерозиготали С/А ҳамда гомозиготали А/А генотипларининг мавжудлиги Ўзбекистонда остеопороз хавфини статистик жиҳатдан сезиларли равишда оширади, аксинча, С аллели ва С/С генотипи остеопороз хавфи ривожланишини камайтиради.

**Калит сўзлар:** полиморфизм rs1107946, COL1A1, аллель, генотип, остеопороз

### Введение

Остеопороз (ОП) – системное метаболическое заболевание, в основе которого лежат процессы нарушения костного ремоделирования с повышением резорбции костной ткани и снижением костеобразования. Значительная вариабельность распространенности ОП до конца не изучена и объясняется в различных источниках как наследственным характером, региональными особенностями питания, так и размерами и массой скелета, а также уровнем физической активности [1,3]. Одной из актуальных проблем современной фундаментальной науки и практической медицины является прогнозирование развития ОП.

Многочисленные эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что патогенез ОП на 15-25% обусловлен воздействием факторов окружающей среды и на 75-85% генетической предрасположенностью [4,10,11,12,13]. В настоящее время эти гены объединены в локальные и интегральные генные сети, регулирующие процесс остеогенеза и костного ремоделирования [1,7]. В последнее время наиболее интенсивные исследования генетической предрасположенности ОП затрагивают, в том, числе и ключевые гены матрикса костной ткани, в частности, ген альфа-1 цепи коллагена I типа (COL1A1) полиморфизм которого по данным исследователей ассоциирован с уменьшением МПКТ различной степени. Коллаген типа I является наиболее распространенным белком в соединительной ткани и необходим для нормальной костной функции. Тройная спираль коллагена I состоит из двух цепей  $\alpha 1$  (I) и одной цепи  $\alpha 2$  (I), кодируемой генами COL1A1 и COL1A2 соответственно. Генетические варианты этих двух генов могут вызывать нормальное изменение МПКТ и прочности кости [2,8]. Целью настоящего исследования явилась оценка влияния полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 на риск развития остеопороза в Узбекистане.

### Материалы и методы исследования.

Обследуемая группа состояла из 272 человек, проживающих на территории Узбекистана. Группу условно-здоровых лиц, не имеющих в анамнезе переломов, составило 137 человек в возрасте 36-75 лет (средний возраст  $61,0 \pm 7,8$  год). В основную группу вошли 135 пациентов в возрасте 40-65 лет (средний возраст  $53,3 \pm 6,4$  года), из которых 98 больных ОП и 37 пациентов с остеопенией (ОСП).

Выделение ДНК производили при помощи набора для выделения ДНК «Ампли Прайм Рибо-преп» (ООО «Некст Био», Россия) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Определение концентрации полученного препарата нуклеиновых кислот в пробах проводили спектрофотометрически на приборе NanoDrop-2000 (NanoDrop Technologies, США). Тестирование полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 проводили на ПЦР-амплификаторе Rotor Gene 6000 (Corbett, Австралия), с использованием тест-системы компании «Синтол» (Россия), согласно инструкции производителя.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью компьютерного пакета статистических программ «WINPEPI 2016, Version 11.65» и «EpiCalc 2000 Version 1.02».

### Результаты и обсуждение.

В узбекской популяции частота аллеля А полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 составила 18%, что по данным литературы соответствует показателям его распространения среди европеоидов (табл. 1) [14, 15]. Распределение генотипов в контрольной и основной группах соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (РХВ). Для популяционной группы было показано относительно низкое генное разнообразие: уровень ожидаемой гетерозиготности,  $H_{exp}$ , соответствует 0,298, где  $0,2 < H_{exp} < 0,3$ . Коэффициент  $D^*$  принимает отрицательные значения, что говорит о недостатке гетерозигот, уровень которого соответствует оптимальным значениям ( $D^* = -0,070$ ).

Частота распределения аллелей С и А гена COL1A1 в основной группе составила: 70,7% и 29,3% (69,9% и 30,1% – в группе с ОП и 73,0 и 27,0% в группе с ОСП, соответственно) и в контрольной группе – 81,8% и 18,2%, соответственно. В обеих исследованных группах генотип С/С оказался преобладающим, его частота в исследованных группах больных и контроля колебалась от 50,0% – до 67,9%, соответственно, генотип С/А встречается в основной группе с

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 в группах пациентов и контроля

№	Группы	n	Частота распределения:									
			аллели				генотипы					
			C		A		C/C		C/A		A/A	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа	135	191	70,7	79	29,3	68	50,4	55	40,7	12	8,9
a	Остеопороз	98	137	69,9	59	30,1	49	50	39	39,8	10	10,2
b	Остеопения	37	54	73,0	20	27,0	19	51,4	16	43,2	2	5,4
2	Контрольная группа	137	224	81,8	50	18,2	93	67,9	38	27,7	6	4,4

частотой 40,7%. При этом частоты встречаемости данного генотипа в исследованных подгруппах больных с ОП и ОСП составляли 39,8% и 43,2%, соответственно. В ходе исследования было выявлено статистически незначимое отличие частот гомозигот A/A в изучаемых группах: в контроле – 4,4%, в основной группе – в 2 раза больше. При этом, частоты генотипа AA почти в 2 раза отличаются в подгруппах с ОП и ОСП и составляют 10,2 и 5,4%, соответственно.

Для оценки ассоциативной связи полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 с риском развития ОП проведен сравнительный анализ частот генотипов и аллелей в исследованных группах больных и контроля (табл. 2).

В основной группе по сравнению с популяционной выборкой показано статистически значимое уменьшение частоты аллеля C, т.е. данный аллель оказывает протективный эффект ( $\chi^2=9,11$ ;  $p<0,01$ ;  $RR=0,75$ ;  $95\% CI: 0,63-0,89$ ). Соответственно, для дикого гомозиготного C/C генотипа также показана статистически значимая обратная связь с формированием ОП и ОСП ( $RR=0,70$ ;  $95\% CI: 0,55-0,89$ ,  $\chi^2=8,63$ ;  $p<0,01$ ). Для аллеля A было показано наличие прямой, статистически значимой связи с заболеванием,  $RR=1,33$  ( $95\% CI: 1,12-1,58$ ). Гетерозиготный генотип C/A встречается чаще в основной группе – в 1,4 раза ( $RR=1,40$ ;  $95\% CI: 1,09-1,79$ ;

Таблица 2.

Ассоциативная связь между полиморфизмом rs1107946 гена COL1A1 и риском развития ОП и ОСП

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие					
		Относительный риск		Отношение шансов		$\chi^2$	p-value
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
Основная группа (n=135)	C	0,75	0,63–0,89	0,54	0,36–0,81	9,11	0,0025
	A	1,33	1,12–1,58	1,85	1,24–2,77		
	C/C	0,70	0,55–0,89	0,48	0,29–0,79	8,63	0,0033
	C/A	1,40	1,09–1,79	1,98	1,18–3,32	6,74	0,0094
	A/A	1,58	1,09–2,29	2,74	0,98–7,65	3,91	0,048
	C/A+A/A	1,43	1,13–1,81	2,08	1,27–3,41	8,63	0,0033

ОП (n=98)	C	0,70	0,56–0,87	0,52	0,34–0,80	9,01	0,0027
	A	1,43	1,15–1,77	1,93	1,25–2,97		
	C/C	0,65	0,49–0,88	0,47	0,28–0,81	7,64	0,0057
	C/A	1,47	1,07–2,01	1,95	1,11–3,43	5,41	0,019
	A/A	1,81	1,16–2,82	3,16	1,09–9,22	4,82	0,028
	C/A+A/A	1,53	1,13–2,06	2,11	1,24–3,61	7,64	0,0057
ОСП (n=37)	C	0,68	0,44–1,06	0,60	0,33–1,10	2,79	0,095
	A	1,47	0,95–2,29	1,66	0,91–3,02		
	C/C	0,58	0,33–1,03	0,50	0,24–1,04	3,47	0,095
	C/A	1,75	0,98–3,12	2,06	0,96–4,43	3,51	0,061
	A/A	1,47	0,41–5,24	1,63	0,31–8,71	0,33	0,56
	C/A+A/A	1,71	0,97–3,01	2,00	0,96–4,19	3,47	0,095

$\chi^2=6,74$ ;  $p<0,01$ ), а при гомозиготном генотипе A/A – более чем в 1,5 раза (RR=1,58; 95% CI: 1,09–2,29;  $\chi^2=3,91$ ;  $p<0,05$ ), при сочетании неблагоприятных генотипов C/A+A/A – в 1,43 раза (RR=1,43; 95% CI: 1,13–1,81;  $\chi^2=8,63$ ;  $p<0,01$ ).

Дальнейшее исследование связи изучаемого полиморфизма гена COL1A1 с ОСП и ОП в основной группе показало, что шанс обнаружить C аллель статистически значимо ниже в основной группе пациентов, по сравнению с условно-здоровыми лицами (OR=0,54; 95% CI: 0,36–0,81;  $\chi^2=9,11$ ;  $p<0,01$ ). При этом, шанс обнаружения A аллеля в этой группе повышается почти в 2 раза, по сравнению контролем (OR=1,85; 95% CI: 1,24–2,77), что позволяет связывать с наличием данного аллеля предрасположенность к развитию ОП.

Гомозиготный C/C генотип имел защитный эффект по отношению к заболеванию, т.к., шанс выявить данный генотип статистически значимо ниже в выборке больных по сравнению с условно-здоровыми лицами (OR=0,48; 95% CI: 0,29–0,79;  $\chi^2=8,63$ ;  $p<0,01$ ). Встречаемость гетерозиготного генотипа C/A среди больных в основной группе почти в 2 раза превышает его значения в контрольной группе (OR=1,98; 95% CI: 1,18–3,32;  $\chi^2=6,74$ ;  $p<0,05$ ), гомозиготного генотипа A/A – более чем в 2,7 раза (OR=2,74; 95% CI: 0,98–7,65;  $\chi^2=3,91$ ;  $p<0,05$ ), а комбинация

Таблица 3.

Оценка прогностической значимости генотипов полиморфизма C/A гена COL1A1 в развитии ОП

Генотипы	Se, % (95% CI)	Sp, % (95% CI)	AUC	OR, (95% CI)	$\chi^2$	P
AA	17 (9–29)	94 (87–98)	0,550	3,2 (1,1–9,2)	4,82	0,028
CA + AA	50 (40–60)	68 (59–75)	0,590	2,1 (1,2–3,6)	7,64	0,006

неблагоприятных генотипов C/A+A/A – в 2 раза (OR=2,08; 95% CI:1,27–3,41;  $\chi^2=8,63$ ;  $p<0,05$ ) соответственно.

Исследование связи полиморфизма гена COL1A1 в подгруппах больных показало сохранение данной тенденции только в подгруппе с ОП, тогда как в подгруппе с ОСП выявлены статистически незначимые показатели для генотипов C/A и A/A ( $p>0,05$ ).

Для изучения прогностической значимости исследуемых полиморфизмов в качестве самостоятельных генетических маркеров для прогнозирования риска развития ОСП и ОП были определены следующие показатели: чувствительность - Se, специфичность - Sp и прогностическая эффективность маркера – AUC (табл. 3).

Как видно из таблицы 3, при исследовании полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 в подгруппе больных с ОП для генотипа A/A - Se =17, 95% CI: 9–29, для генотипов C/A+AA – Se=50; 95% CI:40–60. Однако, отмечены высокие значения специфичности для генотипа A/A (Sp=94%; 95% CI: 87–98%). Показатели AUC для рисков генотипов не превышают 0,6.

Дальнейшее изучение ассоциативной связи полиморфного варианта rs1107946 гена COL1A1 в узбекской популяции показало наличие повышенного риска ОСП (RR=1,33; 95%CI: 1,12-1,58; OR=1,85; 95%CI: 1,24-2,77) и ОП (RR=1,43; 95%CI: 1,15-1,77; OR=1,93; 95%CI: 1,25-2,97), при носительстве неблагоприятного А аллеля. Возможным механизмом данной связи является изменения в структуре коллагеновых волокон, связанных с заменой цепи  $\alpha 2$  в коллагене I типа на цепь  $\alpha 1$ . В итоге формируется волокно, состоящее из трех цепей  $\alpha 1$  из-за повышенной секреции данной цепи, вызванной полиморфизмом rs1107946 в промоторной области гена COL1A1 (Garcia-Giralt N. et al 2002, 2005). Такие изменения в основном волокне матрикса костной ткани могут быть причиной постепенного снижения минеральной плотности костной ткани (МПКТ), что проявляется как ОСП, так и ОП, приводящие к переломам старческого возраста. Однако, последующие исследования в различных этнических группах показали противоречивые результаты относительно наличия ассоциации данного полиморфизма с изменением МПКТ [5, 6, 9, 14, 16].

#### **Заключение:**

1. В Узбекистане частота встречаемости полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 минорного А аллеля составила 18%.

2. Наличие аллеля А и C/A и A/A генотипов rs1107946 полиморфизма гена COL1A1 достоверно повышает, а носительство аллеля С и генотипа C/C понижает риск развития остеопороза.

3. Прогностическая эффективность полиморфизма rs1107946 гена COL1A1 прогнозирования риска развития остеопороза составила 0,59.

#### **Благодарность:**

Выражаю благодарность руководителю Отдела молекулярной медицины и клеточных технологий НИИ Гематологии и переливания крови МЗ РУз – Хамиду Якубовичу Каримову.

Также выражаю благодарность коллективу и директору Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра травматологии и ортопедии МЗ РУз Азизову Мирхакиму Жавхаровичу и за помощь в организации сбора необходимого для проведения исследований материала.

#### **Список литературы:**

1. Baranov V. S. i dr. (red.). (2009). Geneticheskiy passport – osnova individualnoy i prediktivnoy meditsinyi. [Genetic passport - the basis of individual and predictive medicine]. SPb.: Izd-vo N-L.; 528s.

2. Maylyan E. A. (2017). Rol polimorfizma-1997 C>A gena COL1A1 v razvitii osteoporoza razlichnyih uchastkov skeleta u zhenshin v postmenopauzalnom vozraste [Role of polymorphism-1997 C>A gene COL1A1 in the development of osteoporosis of various parts of the skeleton in postmenopausal women]. Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoy meditsinskoy akademii, 16 (1), 105-110.

3. Pasieshvili L. M., Bobro L. N. (2008). Rol zabolevaniy pischevaritelnogo kanala v formirovanii i progressirovanii vtorichnogo osteoporoza [The role of digestive canal diseases in the formation and progression of secondary osteoporosis]. Suchasna gastroenterologiya, (4), 12-18.

4. Emaus, N., Wilsgaard, T., & Ahmed, L. A. (2014). Impacts of body mass index, physical activity, and smoking on femoral bone loss: the Tromsø study. Journal of Bone and Mineral Research, 29(9), 2080-2089.

5. Falcón-Ramírez, E., Hidalgo-Bravo, A., Barredo-Prieto, B. A., Pineda-Gómez, E., & Valdés-Flores, M. (2016). Association of the COL1A1 gene polymorphisms in Mexican postmenopausal women with fracture or with low bone mineral density at the hip. Aging clinical and experimental research, 28(3), 567-571.

6. Gonzalez-Bofill, N., Husted, L. B., Harsløf, T., Tofteng, C. L., Abrahamsen, B., Eiken, P., ... &

- Langdahl, B. L. (2011). Effects of COL1A1 polymorphisms and haplotypes on perimenopausal bone mass, postmenopausal bone loss and fracture risk. *Osteoporosis International*, 22(4), 1145-1156.
7. Jin H, Ralston SH. Analysis of transcriptional regulation in bone cells. *Methods Molecular Biology*, (816), 233-247.
  8. Linjawi, S. A., Tork, S. E., & Shabiah, R. M. (2016). Genetic association of the COL1A1 gene promoter? 1997 G/T (rs1107946) and Sp1+ 1245 G/T (rs1800012) polymorphisms and keloid scars in a Jeddah population. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46(2), 414-423.
  9. Majchrzycki, M., Bartkowiak-Wieczorek, J., Wolski, H., Drews, K., Bogacz, A., Czerny, B., ... & Seremak-Mrozikiewicz, A. (2015). Polymorphisms of collagen 1A1 (COL1A1) gene and their relation to bone mineral density in postmenopausal women. *Ginekologia polska*, 86(12), 907-914.
  10. Ralston, S. H., & Uitterlinden, A. G. (2010). Genetics of osteoporosis. *Endocrine reviews*, 31(5), 629-662.
  11. Richards, J. B., Kavvoura, F. K., Rivadeneira, F., Stykárssdóttir, U., Estrada, K., Halldórsson, B. V., ... & Amin, N. (2009). Collaborative meta-analysis: associations of 150 candidate genes with osteoporosis and osteoporotic fracture. *Annals of internal medicine*, 151(8), 528-537.
  12. Richards, J. B., Rivadeneira, F., Inouye, M., Pastinen, T. M., Soranzo, N., Wilson, S. G., ... & Valdes, A. M. (2008). Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *The Lancet*, 371(9623), 1505-1512.
  13. Urano, T., & Inoue, S. (2014). Genetics of osteoporosis. *Biochemical and biophysical research communications*, 452(2), 287-293.
  14. Xie, P., Liu, B., Zhang, L., Chen, R., Yang, B., Dong, J., & Rong, L. (2015). Association of COL1A1 polymorphisms with osteoporosis: a meta-analysis of clinical studies. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(9), 14764-14781.
  15. Yu, K. H., Tang, J., Dai, C. Q., Yu, Y., & Hong, J. J. (2015). COL1A1 gene-1997G/T polymorphism and risk of osteoporosis in postmenopausal women: a meta-analysis. *Genetics and molecular research: GMR*, 14(3), 10991-10998.
  16. Zhang, L. Q., Liu, H., & Huang, X. F. (2014). Relation of JAGGED 1 and collagen type 1 alpha 1 polymorphisms with bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *International journal of clinical and experimental pathology*, 7(10), 7142-7147.

