

Полиморфизм гена трансформирующего фактора роста бета 1 при постменопаузальном остеопорозе

М.Ю. Крылов, К.А. Маслова, Т.А. Короткова, Н.А. Торопцова,
О.А. Никитинская, Н.В. Демин, В.А. Мякоткин, Л.И. Беневоленская
НИИ ревматологии РАМН, Москва

Резюме

Трансформирующий фактор роста бета-1 (ТФР-β1) представлен в костной ткани в большей степени по сравнению с другими ростовыми факторами. Он продуцируется остеобластами и обладает способностью тормозить пролиферацию остеокластов, активировать и стимулировать пролиферацию и дифференциацию преостеобластов. Описано несколько полиморфизмов этого гена, располагающихся в разных областях его последовательности.

Цель. Изучить связи полиморфизма С-509Т, расположенного в промоторной области гена ТФР-β1, с минеральной плотностью костной ткани.

Материал и методы. Полиморфизм С-509Т был изучен с помощью ПЦР-ПДРФ анализа среди 159 пациенток с остеопорозом (ОП) и 152 здоровых индивидумов. Минеральная плотность костной ткани (МПКТ) определялась в грудном отделе позвоночника и стандартных областях проксимального отдела бедра с помощью рентгеновского костного денситометра.

Результаты. Распределения С-509Т частот аллелей и генотипов были сходными и статистически не отличались между группой с ОП и нормальным контролем. Средний показатель МПКТ шейки бедра женщин с ОП был статистически достоверно выше у носителей гомозиготного генотипа СС и гетерозиготного СТ генотипа по сравнению с носителями мутантного гомозиготного ТТ генотипа: $0,617 \pm 0,091$ г/см², $0,626 \pm 0,064$ г/см² и $0,555 \pm 0,074$ г/см² соответственно ($p < 0,005$, ANOVA). Сходные различия в средних показателях МПКТ между этими генотипами были найдены в разных областях бедра и всего бедра в целом. Анализ МПКТ у носителей СС + СТ генотипов показал наличие более высоких средних показателей МПКТ всех областей бедра по сравнению с носителями ТТ генотипа среди женщин с ОП. Не установлено связи носительства гомозиготного мутантного генотипа с риском развития переломов.

Ключевые слова: остеопороз, минеральная плотность костной ткани, SNP полиморфизм TGF-β1 гена

Остеопороз — распространенное заболевание, поражающее одну из трех женщин и одного из 10 мужчин в возрасте после 50 лет, которое характеризуется комбинацией сниженной костной массы скелета и изменениями микроархитектоники кости. Близнецовые и семейные исследования показали, что индивидуальная вариабельность костной массы на 50-80% детерминирована генетическими факторами [1-3]. Вместе с тем, по-видимому, этот эффект обусловлен комбинированным влиянием нескольких генов, каждый из которых вносит лишь незначительный вклад в вариабельность костной

массы [4]. Для выявления генов, участвующих в детерминации костной массы, используют два разных подхода: анализ сцепления в семьях и изучение генов-кандидатов в группах больных и контроля. Анализ сцепления наиболее трудоемкий по сравнению с анализом больной-контроль.

Трансформирующий фактор роста бета-1 (ТФР-β1) является наиболее частой из 3-х изоформ ТФР-β в сыворотке и костной ткани. ТФР-β1 продуцируется остеобластами как неактивный пропептид, который встраивается во вновь образующийся костный матрикс. В процессе костной резорбции пропептид активируется кислым содержимым зоны резорбции, расположенной под остеокластом. ТФР-β1 тормозит активность остеокластов и стимулирует пролиферацию и дифференциацию преостеобластов. Таким образом, эффект ТФР-β1 в костном ремоделирова-

нии заключается в его положительном влиянии на процесс костеобразования [5,6]. Важная роль ТФР- β 1 в костном обмене делает его удобным кандидатным геном, который детерминирует костную массу и может predispose к риску возникновения переломов. Помимо участия в механизмах ремоделирования костной ткани, ТФР- β 1-ген вовлекается в патогенез других заболеваний, ассоциированных с генетической компонентой, таких как рак [7,8], аутоиммунные заболевания [9], атеросклероз [10,11].

В ТФР- β 1-гене обнаружен ряд полиморфизмов, расположенных в разных его областях.

В промоторной области обнаружены несколько полиморфизмов, связанных с заменой одного нуклеотида на другой (SNP): (G-1639A), (C-1348T), (G-800A), (C-509T), два в 1 экзоне: (T29T) и (G74C), приводящие к замене лейцина на пролин и аргинина на пролин соответственно, один – (T241C) во 2 экзоне, один – (713-8delC) в 4 интроне, один – (C788T) в 5 экзоне и один – (T861-20C) в 5 интроне. Показано, что C-1348T полиморфизм ассоциирован с сывороточными уровнями ТФР- β 1 [12]. CC генотип T29C полиморфизма ассоциирован с повышенной костной массой и сниженным риском развития переломов позвоночника [13,14]. Как было показано *in vitro*, G74C полиморфизм ассоциируется с продукцией ТФР- β 1 [15], predisposed к инфаркту миокарда и показателями систолического и диастолического давления крови [16]. Полиморфизм T861-20C, локализованный в 5 интроне, ассоциируется со сниженной костной массой бедра [17]. В недавнем отечественном исследовании получены данные об участии C-509T полиморфизма ТФР- β 1-гена в predisposedности к язвенной болезни желудка [18].

Целью настоящего исследования было изучение связи C-509T полиморфизма гена ТФР- β 1 с минеральной плотностью костной ткани при остеопорозе и в контрольной группе российских женщин.

Материал и методы

В исследование включены 311 не родственных женщин в возрасте от 18 до 85 лет, проживающих в Московском регионе. У 159 находящихся в постменопаузе пациенток (ср.возраст $66,1 \pm 8,6$ года) был диагностирован первичный остеопороз, переломы в анамнезе имели 95 из них. Контрольную группу составили 93 женщины постменопаузального возраста без остеопороза (ср. возраст $65,0 \pm 7,6$ года) и 59 молодых женщин – студенток в возрасте 17-18 лет. Женщины постменопаузального возраста из группы сравнения не принимали медицинских препаратов, влияющих на костную массу, в отличие от пациенток с остеопорозом. У всех исследуемых было получено информированное согласие после объяснения цели обследования, и они прошли обследование в Центре профилактики остеопороза Института ревматологии РАМН. У всех лиц были измерены антропометрические показатели, прове-

дено клинико-инструментальное обследование и взяты образцы крови для выделения ДНК и проведения стандартных лабораторных тестов (кальций, фосфор и щелочная фосфатаза сыворотки).

Денситометрическое измерение минеральной плотности костной ткани (МПКТ г/см²) в основной и контрольной группах женщин было проведено в поясничном отделе позвоночника (L1-L4) и стандартных участках бедра: шейке бедра, трохантере, межвертельной области, треугольнике Варда, определена общая минеральная плотность бедра, используя метод DEXA (Hologic QDR4500). Коэффициент вариальности повторных измерений у одного и того же человека колебался от 1% до 2%.

Диагноз остеопороза (ОП) ставился на основании критериев ВОЗ (Т-критерий МПКТ $\leq -2,5$ SD)¹.

Генотипирование. Геномная ДНК была выделена из венозной крови стандартным солевым методом с использованием протеиназы К [19]. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) была проведена в объеме 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1 ед. термостабильной Taq ДНК полимеразы, 100 ng ДНК, 0,25 μ M каждого праймера, 250 μ M dNTPs, 2,5 mM MgCl₂ и ПЦР буфер следующего состава: 67 mM трис-гидрохлорида, pH 8,8, 16,6 mM сульфата аммония и 0,01% Tween-20. В качестве прямого праймера использовали 5'-GGCAGTTGGCGAGAACAGT-3', в качестве обратного – 5'-ACCCAGAACGGAAGGAGAGT-3' согласно P. Prasad с соавт. [20]. Рестрикционный анализ амплификатов (600 пар нуклеотидов – п.н.) проводили с использованием эндонуклеазы Bse21I (СибЭнзим, Новосибирск), согласно рекомендациям производителя. Продукты рестрикции анализировали в 2% агарозном геле с последующим окрашиванием этидиум бромидом и визуализацией в UV-свете. Генотипы обозначали как CC- гомозиготный вариант с наличием сайта рестрикции для Bse21I и размерами (489 п.н. и 111 п.н.). Гомозиготный мутантный генотип обозначали как TT – отсутствие сайта рестрикции (600 п.н.) и CT – как гетерозиготный генотип (600 п.н., 489 п.н. и 111 п.н.).

Статистический анализ данных был проведен с помощью пакета программ Statistica (версия 6.0; StatSoft), Оценка различий в распределении частот генотипов изучаемого полиморфизма ТФР- β 1 гена между группой женщин с ОП и группой здоровых индивидуумов, проводили с использованием χ^2 -теста. Ассоциативность между Bse21I генотипами и МПКТ изучаемых областей скелета была протестирована с помощью метода ANOVA или t-критерия Стьюдента для непарных данных. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

1 -Согласно критериям ВОЗ, остеопороз определяется как снижение минеральной плотности костной ткани на 2,5 стандартного отклонения и более от средних значений этого показателя у взрослых лиц молодого возраста

Результаты

Распределение частот аллелей и генотипов С-509Т полиморфизма гена ТФР-β1 в группе здоровых женщин постменопаузального возраста и в группе молодых здоровых женщин не выявили статистически достоверных различий в их распределении ($\chi^2 = 1,91$, $p = 0,38$). Отсутствие различий в распределении частот С-509Т аллелей и генотипов между двумя группами контроля позволило объединить их в общую контрольную группу численностью в 152 чел.

Распределение частот С-509Т аллелей и генотипов среди больных ОП и в контрольной группе представлено в табл. 1. Частоты аллелей и генотипов статистически достоверно не отличались в изучаемых группах. Не выявлено также различий в распределении частот аллелей и генотипов изучаемого полиморфизма между группой женщин с переломами и группой женщин без переломов в анамнезе.

Таблица 1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ГЕНА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА (ТФР-β1) ГРУППЕ БОЛЬНЫХ ОСТЕОПОРОЗОМ (Б) В ГРУППЕ КОНТРОЛЯ (К)

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов			
	Б n (%)	К n (%)	χ^2	OR
Частота аллелей				
С	0,676	0,662	н.д.	1,27
Т	0,324	0,338		
Частота генотипов				
СС	73 (45,9)	60 (39,5)	н.д.	1,30
СТ	69 (43,4)	69 (45,4)	н.д.	0,92
ТТ	17 (10,7)	23 (15,1)	н.д.	0,67

ке и проксимальном отделе бедра в группах больных ОП и контроля, представленной здоровыми женщинами в постменопаузе. В группе женщин с ОП гомозиготные носители генотипа СС и носители гетерозиготного СТ генотипа имели статистически достоверно более высокие показатели МПКТ шейки бедра (ш.б.) по сравнению с носителями мутантного гомозиготного генотипа ТТ ($0,617 \pm 0,091$ г/см² и $0,626 \pm 0,064$ г/см², против $0,555 \pm 0,083$ г/см², $p < 0,05$ соответственно). Сходные статистически значимые различия наблюдались для МПКТ трохантера (трох.), где носители СТ генотипа имели более высокие показатели МПКТ по сравнению с мутантным ТТ генотипом ($0,554 \pm 0,077$ г/см² против $0,507 \pm 0,083$ г/см², $p < 0,05$). Средние показатели общей МПКТ бедра у носителей СС и СТ генотипов были также статистически достоверно выше по сравнению с мутантным ТТ генотипом ($0,747 \pm 0,106$ г/см², и $0,749 \pm 0,102$ г/см² против $0,683 \pm 0,116$ г/см², $p < 0,05$, соответственно). Сходная картина наблюдалась при анализе МПКТ треугольника Варда ($0,420 \pm 0,102$ г/см² и $0,430 \pm 0,075$ г/см² против $0,361 \pm 0,077$ г/см², $p < 0,05$, соответственно) (табл.2.) Различия в МПКТ разных участков бедра в группе женщин с ОП сохраняли статистически достоверные отличия при комбинации СС + СТ генотипов по сравнению с ТТ генотипом (табл. 3). В группе носителей генотипов СС и СТ сохранялись статистически достоверные различия в более высоких средних показателях МПКТ всех отделов бедра по сравнению с носителями генотипа ТТ.

Следует отметить, что показатель OR (отношение шансов) наличия остеопоротических переломов у носителей обоих СС и СТ генотипов составлял 0,72, однако он был статистически не значим ($p = 0,567$).

Таблица 2

СРЕДНИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МПКТ В РАЗНЫХ ОБЛАСТЯХ СКЕЛЕТА У ЗДОРОВЫХ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ ОП В ЗАВИСИМОСТИ ОТ С-509Т ГЕНОТИПА ТФР-β1 ГЕНА

Генотипы	Группа	МПКТ поз. г/см ²	МПКТ ш.б. г/см ²	МПКТ трох. г/см ²	МПКТ м.в. г/см ²	МПКТ общ. г/см ²	МПКТ Варда г/см ²
СС	Контроль N = 42	$1,023 \pm 0,064$	$0,847 \pm 0,070$	$0,736 \pm 0,070$	$1,178 \pm 0,104$	$1,006 \pm 0,135$	$0,673 \pm 0,087$
	Больные N = 73	$0,723 \pm 0,088$	$0,617^* \pm 0,091$	$0,549 \pm 0,084$	$1,199 \pm 0,115$	$0,747^* \pm 0,106$	$0,420^* \pm 0,102$
СТ	Контроль N = 40	$1,022 \pm 0,088$	$0,837 \pm 0,057$	$0,755 \pm 0,065$	$1,196 \pm 0,115$	$1,020 \pm 0,077$	$0,671 \pm 0,097$
	Больные N = 69	$0,723 \pm 0,076$	$0,626^* \pm 0,064$	$0,554^* \pm 0,077$	$0,883 \pm 0,141$	$0,749^* \pm 0,102$	$0,430^* \pm 0,075$
ТТ	Контроль N = 12	$1,037 \pm 0,147$	$0,821 \pm 0,076$	$0,754 \pm 0,128$	$1,182 \pm 0,175$	$1,007 \pm 0,075$	$0,649 \pm 0,061$
	Больные N = 17	$0,696 \pm 0,087$	$0,555^* \pm 0,074$	$0,507^* \pm 0,083$	$0,816 \pm 0,153$	$0,683^* \pm 0,116$	$0,361^* \pm 0,077$

Значения МПКТ представлены как среднее $\pm$ SD г/см², * $p < 0,05$

МПКТ поз. — минеральная плотность костной ткани позвоночника

МПКТ ш.б. — шейки бедра

МПКТ трох. — трохантера

МПКТ м.в. — межвертельное пространство

МПКТ общая — всё бедро

МПКТ Варда — треугольник Варда

Индивидуумы с СС и СТ генотипами имели более высокие показатели МПКТ во всех измеренных областях среди пациенток с ОП по сравнению с носителями мутантного ТТ генотипа. В табл. 2 представлены средние показатели МПКТ в позвоноч-

Носители генотипа СС имели статистически достоверно более высокий средний показатель уровня сывороточной щелочной фосфатазы по сравнению с носителями генотипа СТ ($189,1 \pm 59,9$ ед./л против $165,5 \pm 48,3$ ед./л, $p < 0,05$ соот-

Таблица 3

СРЕДНИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МПКТ РАЗНЫХ ОБЛАСТЕЙ СКЕЛЕТА У НОСИТЕЛЕЙ СС + СТ ГЕНОТИПОВ И ТТ
ГЕНОТИПОВ ТФР-β1 ГЕНА У ЖЕНЩИН С ОП

Генотипы	МПКТ поз. г/см2	МПКТ ш.б. г/см2	МПКТ трох.г/ см2	МПКТ м.в. г/см2	МПКТ общ. г/см2	МПКТ Варда г/см2
СС+СТ N=142	0,723 ±0,082	0,621* ±0,077	0,551* ±0,080	1,197* ±0,128	0,748* ±0,104	0,425* ±0,088
ТТ N = 17	0,696 ±0,087	0,555* ±0,074	0,507* ±0,083	0,816* ±0,153	0,683* ±0,116	0,361* ±0,077

Значения МПКТ представлены как среднее ± SD г/см2, *p < 0,05

ветственно). Не выявлено достоверных различий в средних значениях уровней кальция и фосфора сыворотки крови между разными ТФР-β1 С-509Т генотипами.

Обсуждение

Целью настоящего исследования было изучение связи генетических вариантов С-509Т полиморфизма ТФР-β1 гена с МПКТ при ОП среди постменопаузальных женщин, проживающих в Московском регионе России. Мы нашли, что распределение частот аллелей и генотипов С-509Т полиморфизма ТФР-β1 гена в исследуемых группах здорового контроля и больных ОП было сходным и не отличалось от соответствующих распределений, найденных другими исследователями [16,21,22]. При анализе связи изученных генотипов с фенотипами МПКТ было обнаружено, что носители аллеля С в группе больных ОП имеют более высокие показатели МПКТ в ряде областей бедра, в отличие от МПКТ позвоночника. Показаны статистически достоверные различия в МПКТ шейки бедра, трохантера, общей МПКТ всего бедра и МПКТ треугольника Варда у носителей указанного аллеля по сравнению с мутантным Т аллелем. Эти данные не изменялись после стандартизации МПКТ показателей по возрасту (Z-счету). Наши исследования не выявили различий в средних показателях МПКТ позвоночника и разных отделов бедра в зависимости от С-509Т генотипов среди здоровых индивидуумов. На генетическую природу связи С аллеля с более высокой МПКТ бедра указывают данные, полученные при анализе дозозависимого эффекта этого аллеля. В группе женщин с ОП сохранились статистически достоверные различия в средних показателях МПКТ шейки бедра, трохантера, межвертельного пространства, общей МПКТ бедра и МПКТ треугольника Варда у носителей двух или одной дозы аллеля С по сравнению с гомозиготным мутантным ТТ генотипом. При анализе связи изучаемого полиморфизма со стандартными биохимическими показателями была обнаружена ассоциация генотипа СС с более высоким уровнем щелочной фосфатазы сыворотки по сравнению с генотипом СТ (p < 0,05). Это согласуется с высоким средним показателем МПКТ проксимального отдела бедра у больных ОП, поскольку этот маркер отражает степень формирования костной массы.

В литературе существует достаточно много данных о связи полиморфизмов ТФР-β1 гена с вариативностью костной массы при ОП. Однако имеет-

ся не так много информации относительно ассоциации С-509Т полиморфизма промоторной области ТФР-β1 гена при ОП. При изучении С-509Т полиморфизма среди японских постменопаузальных женщин авторы нашли ассоциацию ТТ генотипа с низкой МПКТ и ОП [23]. В корейской популяции женщин в менопаузе такой ассоциации ни с МПКТ, ни с ОП не было обнаружено [24]. С другой стороны, при изучении 8 полиморфизмов ТФР-β1 гена среди датских женщин [25] авторы показали, что генотип ТТ (Т816-20С) полиморфизма ассоциировался с повышенными показателями МПКТ позвоночника и бедра и отсутствием переломов. Наши данные не согласуются с результатами большого популяционного исследования, проведенного группой исследователей [26]. В когорте из 2975 британских женщин при изучении 5 SNP полиморфизмов гена ТФР-β1, включая С-509Т, авторы не обнаружили достоверных ассоциаций индивидуальных SNP с костной массой, ее потерей в течение 6-лет наблюдения, маркерами костного ремоделирования и переломами. Авторы считают, что изученные полиморфизмы ТФР-β1 не влияют на МПКТ женщин в британской популяции.

Значение полиморфизма С-509Т показано при ряде других заболеваний. В исследовании [27] в китайской популяции Тайваня обнаружена сниженная частота СС генотипа С-509Т полиморфизма у больных с ревматической лихорадкой. Авторы предполагают, что этот генотип играет протективную роль в предрасположенности к ревматической лихорадке. В исследовании [28] обнаружена ассоциация С-509Т полиморфизма гена ТФР-β1 с инфарктом миокарда у мужчин. В недавнем исследовании отечественных авторов [18] найдено, что С-509Т полиморфизм ТФР-β1 гена связан с предрасположенностью к язвенной болезни желудка.

Наши данные указывают на связь С-509Т полиморфизма ТФР-β1 гена с МПКТ. В российской популяции двойная доза мутантного аллеля Т детерминирует сниженную МПКТ бедра, не связанную с риском развития переломов. Нам не удалось подтвердить статистически достоверную протективную роль аллеля С в отношении риска переломов, хотя полученное значение OR = 0,73 может указывать на такую вероятность при увеличении выборки женщин с ОП. Мы предполагаем, что С-509Т генотипы ТФР-β1 гена могут по-разному, в зависимости от аллеля, модулировать экспрессию ТФР-β1 гена и таким образом определять фенотип вариативности костной ткани. Полученные данные показывают,

что низкая МПКТ не всегда может приводить к повышенному риску развития переломов. Среди других фенотипов костной ткани, способствующих возникновению переломов, могут находиться факторы, связанные с нарушением микроархитектоники трабекулярной кости, ее геометрии и прочности. Поэтому изучение других полиморфизмов ТФР-β1 гена и их гаплотипов, которые могут оказывать

влияние на продукцию мРНК ТФР-β1 гена и ее стабильность, может помочь уточнить механизмы и патофизиологию ассоциаций риска переломов с костной массой в российской популяции.

Настоящее исследование выполнено при частичной грантовой поддержке компании Servier

ЛИТЕРАТУРА

1. Pocock N.A., Eisman J.A., Hooper J.L. et al. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J. Clin. Invest.*, 1987, 80, 706-10.
2. Slemenda C.W., Christian J.C., Williams C.J. et al. Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimate. *J. Bone Mineral. Res.*, 1991, 6, 561-7.
3. Soroko S.B., Barrett-Connor E., Edelstein S.L., et al. Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton the Rancho Bernardo Study. *J. Bone Mineral. Res.*, 1994, 9, 761-9.
4. Gueguen R., Jouanny P., Guillemin F. et al. Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. *J. Bone Miner. Res.*, 1995, 10, 2017-22.
5. Bonewald L.F. Regulation and regulatory activities of transforming growth factor beta. *Crit. Rev. Eukariot Gene Exp.*, 1999, 9, 33-44.
6. Bonewald L.F., Mundy G.R. Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin. Orthop.*, 1990, 250, 261-70.
7. Ivanovic V., Melman A., Davis-Joseph B. et al. Elevated plasma levels of TGFB-beta 1 in patients with invasive prostate cancer. *Nat. Med.* 1995, 1, 282-284.
8. Pirce D.F.Jr., Gorska A.E., Chityl A. et al. Mammary tumor suppression by transforming growth factor beta 1 transgenic expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, 4254-8.
9. Kulkarni A.B., Ward J.M., Yaswen L. et al. Transforming growth factor-beta 1 null mice. An animal model for inflammatory disorders. *Am. J. Pathol.*, 1995, 146, 264-75.
10. Grainger D.J., Kemp P.R., Liu A.C. et al. Activation of transforming growth factor-beta is inhibited in transgenic apolipoprotein (a) mice. *Nature*, 1994, 370, 460-2.
11. Grainger D.J., Kemp P.R., Metcalf J.C. et al. The serum concentration of active transforming growth factor-beta is severely depressed in advanced arteriosclerosis. *Nat. Med.*, 1995, 1, 74-9.
12. Grainger D.J., Heaathcote K., Chiano M. et al. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta 1. *Hum. Mol. Genet.*, 1999, 8, 93-7.
13. Yamada Y., Miyauchi A., Goto J. et al. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta 1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J. Bone Miner. Res.*, 1998, 13, 1569-76.
14. Yamada Y., Miyauchi A., Takagi Y. et al. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta 1 gene with prevalent vertebral fractures in Japanese women. *Am. J. Med.*, 2000, 109, 244-7.
15. Award M.R., El Gamel A., Hasleton P. et al. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta 1 gene: association with transforming growth factor-beta 1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation*, 1998, 66, 1014-20.
16. Cambien F., Ricard S., Molloy H. et al. Polymorphisms of the transforming growth factor-beta 1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. The Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde (ECTIM) Study. *Hypertension*, 1996, 28, 881-7.
17. Keen R.W., Snieder H., Molloy H. et al. Evidence of association and linkage disequilibria between a novel polymorphism in the transforming growth factor-beta 1 gene and hip bone mineral density: a study of female twins. *Rheumatology (Oxford)*, 2001, 40, 48-54.
18. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Belugin D.A. et al. Analysis of common transforming growth factor beta-1 gene polymorphisms in gastric and duodenal ulcer disease: Pilot study. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007, 22(4), 555-64.
19. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells *Nucleic Acids Res.*, 1988, 16, 12-5.
20. Prasad P., Tiwari A.K., Kumar K.M.P. et al. Association of TGFβ1, TNFα, CCR2 and CCR5 gene polymorphisms in type-2 diabetes and renal insufficiency among Asian Indians. *BMC Med. Genet.*, 2007, 8, 20-7.
21. Crilly A., Hamilton J., Clark C.J. et al. Analysis of the transforming growth factor β1 gene polymorphisms in patients with systemic sclerosis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2002, 61, 678-81.
22. Pokorny V., Chau J., Wu L. et al. Transforming growth factor beta 1 gene (HSTGFB1) nucleotide T869C (codon 10) polymorphism is not associated with prevalence or severity of rheumatoid arthritis in a Caucasian. *Ann. Rheum. Dis.*, 2003, 62, 907-8.
23. Yamada Y., Miyauchi A., Takagi Y. et al. Association of the C-509T polymorphism, alone or in combination with the T869C polymorphism, of the transforming growth factor beta-1 gene with bone mineral density

- and genetic susceptibility to osteoporosis in Japanese women. *J. Mol. Med.*, 2001, 79, 149-6.
24. Park B.L., Han I.K., Lee H.S. et al. Identification of novel variants in the transforming growth factor beta-1 (TGFB1) gene and association analysis with bone mineral density. *Hum. Mut.*, 2003, 22, 257-8.
 25. Langdahl B.L., Carstens M., Stenkjaer L. et al. Polymorphisms in the transforming growth factor beta-1 gene and osteoporosis. *Bone*, 2003, 32, 297-10.
 26. McGuigan F.E., Macdonald H.M., Bassiti A. et al. Large-scale population-based study shows no association between common polymorphisms of the TGFB1 gene and BMD in women. *J. Bone Miner. Res.*, 2007, 22(2), 195-202.
 27. Chou H.T., Chen C.H., Tsai C.H., Tsai F.J. Association between transforming growth factor-beta 1 gene C-509T and T869C polymorphisms and rheumatic heart disease. *Am. Heart J.*, 2004, 148(1), 181-6.
 28. Koch W., Hoppmann P., Mueller J.C. et al. Association of transforming growth factor-β1 gene polymorphisms with myocardial infarction in patients with angiographically proven coronary heart disease. *Arterioscler. Thrombos. Vasc. Biol.*, 2006, 26, 11-4.

Поступила 29.04.08

Abstract

M.Y. Krylov, K.A. Maslova, T.A. Korotkova, N.V. Toroptsova, O.A. Nikitinskaya, N.V. Demin, V.A. Myakotkin, L.I. Benevolenskaya

Transforming growth factor β1 gene polymorphisms in postmenopausal osteoporosis

Objective. Transforming growth factor β1 (TGF β1) prevails among growth factors in bone. It is produced by osteoblasts and is able to hamper osteoclast proliferation, activate and stimulate osteoblasts precursors proliferation and differentiation. At present several polymorphisms located in different regions of its sequence have been described for this gene. Several studies have shown an association between some polymorphisms of this gene and bone mass. The objective of the present study was to examine relationship between C-509T polymorphism located in gene TGF β1 promoter region with bone mineral density (BMD). There are only a few studies of relationship of this polymorphism with bone mass in European population. Such data for Russian population are not available.

Material and methods. C-509T polymorphism was studied with PCR analysis in 159 pts with osteoporosis and in 152 healthy individuals. BMD was assessed in thoracic spine and standard regions of proximal femur with an X-ray bone densitometer.

Results. C-509T allele frequencies and genotypes distribution were similar in osteoporosis and control. Mean femur neck BMD in women with osteoporosis was significantly higher in carriers of homozygote CC and heterozygote CT genotypes in comparison with homozygote TT genotype: $0,617 \pm 0,091$ g/sm², $0,626 \pm 0,064$ g/sm² and $0,555 \pm 0,074$ g/sm² respectively ($p < 0,005$, ANOVA). Similar differences of BMD values between these genotypes were found in different femur regions and the whole femur. BMD analysis in CC+CT genotype carriers revealed presence of higher mean BMD values in all femur regions in comparison with TT genotype carriers among women with osteoporosis. Homozygote mutant genotype was not associated with fracture risk.

Key words: osteoporosis, bone mineral density, SNP TGF β1 gene polymorphism