

М.Ю. Крылов, Л.И. Беневоленская, В.А. Мякоткин

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт ревматологии РАМН, Москва

ПОЛИМОРФИЗМ A19G ГЕНА ЛЕПТИНА И ПОЛИМОРФИЗМЫ Gln223Arg И Lys109Arg ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНА ПРИ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

Контакты: Михаил Юрьевич Крылов epid@iramn.ru

Цель. Исследовать связь полиморфизма A19G гена лептина (LEP) и полиморфизмов Gln223Arg и Lys109Arg гена рецептора лептина (LEPR) с предрасположенностью к постменопаузальному остеопорозу (ОП).

Материал и методы. Полиморфизмы были изучены с помощью ПЦР-анализа среди 428 женщин (254 женщины с ОП и 174 здоровых женщин). Исследованы антропометрические, денситометрические, биохимические маркеры ремоделирования и стандартные клинико-биохимические показатели.

Результаты. Найдены статистически достоверные различия в распределении генотипов полиморфизма A19G гена LEP между группой женщин с ОП и контролем ($\chi^2 = 9,41$; $p = 0,009$). Частота 19GG-генотипа у больных ОП была достоверно выше, чем в контроле [OR=2,0; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,13–3,52 ($p = 0,011$)]. Выявлена сниженная минеральная плотность костной ткани (МПКТ) шейки бедра у носителей 19GG-генотипа гена LEP по сравнению с гетерозиготным генотипом ($p = 0,06$). У носителей гетерозиготного 223GlnArg-генотипа гена LEPR средние показатели МПКТ трохантера и всего бедра были статистически достоверно ниже, чем у пациенток с 223ArgArg-генотипом ($p = 0,013$). Носители 223GlnGln-генотипа имели более высокий рост по сравнению с пациентками с 223GlnArg-генотипом ($p = 0,04$). Не выявлено ассоциаций клинико-биохимических показателей с изученными полиморфизмами.

Выводы. Подтверждена роль A19G-полиморфизма гена лептина и Gln223Arg-полиморфизма гена рецептора лептина как важных генов-кандидатов, участвующих в формировании предрасположенности к остеопорозу.

Ключевые слова: ген лептина, ген рецептора лептина, однонуклеотидные полиморфизмы, остеопороз, минеральная плотность костной ткани

LEPTIN A19G POLYMORPHISM AND LEPTIN RECEPTOR Gln223Arg AND Lys109Arg POLYMORPHISMS IN POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS

M. Yu. Krylov, L. I. Benevolenskaya, V. A. Myakotkin

Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Contact: Mikhail Yuryevich Krylov epid@iramn.ru

Objective: to study an association of leptin (LEP) A19G polymorphism and leptin receptor (LEPR) Gln223Arg AND Lys109Arg polymorphisms with the predilection for postmenopausal osteoporosis (OP).

Subjects and methods. PCR analysis was used to examine the polymorphisms among 428 women (254 patients with OP and 174 healthy women). The anthropometric, densitometric, and biochemical markers of bone remodeling and standard clinical and biochemical parameters were studied.

Results. Statistically significant differences were found in the distribution of the genotypes of LEP A19G polymorphism between the women with OP and the controls ($\chi^2 = 9.41$; $p = 0.009$). In the patients with OP, the 19GG genotype frequency was significantly higher than that in the controls [OR = 2.0; 95% confidence interval (CI) 1.13–3.52 ($p = 0.011$)]. LEP 19GG genotype carriers were found to have lower mineral bone density (MBD) of the femoral neck than heterozygotes ($p = 0.06$). In LEPR 223GlnArg heterozygotes, the mean MBD of the trochanter and whole hip was statistically significantly lower than that in patients with the genotype 223ArgArg ($p = 0.013$). 223GlnGln carriers were taller than 223GlnArg ones ($p = 0.04$). There were no associations of the clinical and biochemical parameters with the polymorphisms studied.

Conclusion. Our study confirmed the role of LEP A19G and LEPR Gln223Arg polymorphisms as important candidate genes involved in the formation of a predilection for OP.

Key words: leptin gene, leptin receptor gene, single nucleotide polymorphisms, osteoporosis, bone mineral density

Известно, что у взрослых людей вариативность по костной массе на 60–80% определяется генетическими факторами [1]. В настоящее время изучен большой спектр генов, часть из которых ассоциированы с минеральной плотностью костной ткани (МПКТ) и риском возникновения остеопоротических переломов [2]. К ним относятся гены, кодирующие цитокины и их рецепторы, включая TGFB1 [3] и ИЛ 6 [4]; гены, принимающие участие в росте и метаболизме костной ткани: COL1A1 [5, 6], VDR [7, 8], SOST [9], LRP5 [10], — и гены, ответственные за гормональную активность яичников у женщин, — ESR1 [11, 12]. Некоторые из этих генов обладают плейотропными эффектами и ассоциированы с рядом метаболических заболеваний, таких как ожирение и инсулинорезистентность [13, 14].

Начиная с открытия в 1994 г., лептин стал объектом большого числа исследований с целью обнаружения факторов, регулирующих его выработку и ответственных за ожирение у людей [15]. Имеются достаточно убедительные доказательства, подтверждающие, что помимо участия в регуляции адипогенеза, воспаления и репродуктивных функций цитокиноподобный гормон лептин играет важную роль в регуляции роста и обмена костной ткани. J. A. Pasco и соавт. [16] выявили ассоциацию между концентрацией сывороточного лептина и массой костной ткани, что заставило авторов предложить гипотезу об участии циркулирующего лептина в регуляции костной массы. H. Blain и соавт. [17] показали, что уровень лептина является независимым предиктором массы тела и МПКТ шейки бедра у женщин в постменопаузе.

Таблица 1

Специфические пары праймеров и рестрикционные эндонуклеазы, использованные для анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов

Полиморфизм	Праймеры 5'–3'	Размер продукта	Эндонуклеаза
<i>LEP</i> A19G	F: 5'-CCCGCGAGGTGCACACTG-3' R: 5'-AGGAGGAAGGAGCGCGCC-3'	221	MspAII
<i>LEPR</i> Lys109Arg	F: 5'-TTTCCACTGTTGCTTTTCGGA-3' R: 5'-AAACTAAAGAATTTACTGTTG-AAACAAATGGC-3'	101	HaeIII
<i>LEPR</i> Gln223Arg	F: 5'-ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCC-AAATAG-3' R: 5'-AGCTAGCAAATATTTTGTAA-GCAATT-3'		MspI

Ген *LEP*, кодирующий синтез белка лептина человека, расположен на 7-й хромосоме в сегменте 31.3 [18]. Было показано существование нескольких полиморфизмов в 5' некодируемой области гена *LEP* [19, 20], из которых наиболее частым является A19G-полиморфизм. Проведенные исследования показали, что G-аллель в гомозиготном состоянии был ассоциирован с более низкими уровнями лептина по сравнению с AA- и AG-генотипами [20]. В то же время эти данные не были подтверждены в исследованиях во Франции и Финляндии [21, 22].

Функции лептина осуществляются с помощью связывания с лептиновым рецептором (*LEPR*), генетические варианты которого ассоциированы с большим спектром фенотипов, включая ожирение [23], гиперлипидемию [24], диабет 2-го типа [25], рак молочной железы [26] и фенотип, определяющий циркулирующие уровни воспалительных маркеров [27]. Основными и наиболее частыми полиморфизмами гена *LEPR* являются Gln223Arg и Lys109Arg. Роль полиморфизмов *LEPR* в детерминации лептинового профиля и МПКТ полностью не выяснена [28]. Показано, что Gln223Arg-полиморфизм гена *LEPR* играет важную роль в детерминации пика костной массы у корейских мужчин. Однако такая связь не обнаружена у женщин [29].

Целью настоящего исследования являлось изучение роли A19G-полиморфизма гена *LEP*, а также Gln223Arg- и Lys109Arg-полиморфизмов гена *LEPR* в формировании предрасположенности к постменопаузальному остеопорозу.

Материал и методы

Характеристика материала. Изучена выборка из 379 женщин в возрасте от 23 до 87 лет, проживающих в Московском регионе. Все они посетили Центр профилактики остеопороза НИИР РАМН в период с 2005 по 2008 г. для рутинного клинико-инструментального обследования состояния костной системы. Из них 254 женщины постменопаузального возраста (от 46 до 87 лет, в среднем $67,5 \pm 7,9$ года) составили группу больных с первичным остеопорозом (ОП). Все женщины были в естественной постменопаузе в течение 2 лет и более и не получали гормонозаместительной терапии. Ни одна из пациенток не принимала каких-либо лекарственных препаратов, которые могли влиять на МПКТ, таких как половые гормоны, глюкокортикоиды, кальций, витамин D и бисфосфонаты. У всех женщин отсутствовали заболевания, связанные с нарушениями костного метаболизма, такие как тиреоидит, диабет и заболевания почек. Остальные 174 здоровые неродственные женщины, проживающие в Москве или области, в возрасте от 23 до 84 лет (средний возраст $57,0 \pm 12,9$ года) составили группу сравнения.

Каждая исследуемая была опрошена с помощью стандартного опросника, включавшего вопросы качества

жизни, анамнез менструальной и репродуктивной функций, перенесенных заболеваний, использования медикаментозных препаратов, перенесенных переломов, наличия семейного остеопороза.

У всех исследуемых были измерены антропологические показатели, проведено костное денситометрическое исследование и взяты образцы крови для выделения ДНК и изучения стандартных биохимических показателей. Кроме того, у части пациенток с ОП исследованы уровни биохимических маркеров костного ремоделирования: остеокальцина (ОК) и С-концевого телопептида коллагена I-го типа (СТК). У всех исследованных женщин было получено информированное согласие для участия в настоящем исследовании.

Денситометрическое измерение МПКТ (в граммах на 1 см^2) у всех женщин было проведено в поясничном отделе позвоночника (L_1-L_{IV}) и проксимальном отделе бедра методом DEXA (Hologic, QDR 4500 W). Коэффициент вариабельности измерений составлял от 1 до 5%.

Диагноз ОП ставился на основании критериев ВОЗ (Т-счет $\geq -2,5 \text{ SD}$).

Генотипирование. Геномная ДНК была выделена из венозной крови всех женщин солевым методом [30]. A19G-варианты гена *LEP* и полиморфизмы Lys109Arg и Gln223Arg гена *LEPR* были амплифицированы с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием специфических праймеров с последующим расщеплением соответствующими эндонуклеазами (табл. 1). ПЦР-смесь состояла из $1 \times \text{Taq}$ полимеразного буфера (содержащего 2,5 mM MgCl_2), 200 мкмоль смеси деоксинуклеотид трифосфатов, 20 пмоль каждого ПЦР специфического праймера (компания «Синтол»), 1 ед. Taq полимеразы (компания «Хеликон») и 150–200 нг ДНК матрицы в общем объеме 20 мкл. Реакцию проводили в амплификаторе «Терцик» («ДНК Технология») или MyCycler (компания BioRad) при следующих условиях: начальная денатурация при 94°C – 3 мин с последующими 30 циклами денатурации при 94°C – 35 с, отжига праймеров при 50 – 60°C – 45 с (в зависимости от состава праймеров), элонгации при 72°C – 25 с и финальной достройкой при 72°C в течение 5 мин. Ампликоны подвергали гидролизу соответствующими эндонуклеазами (компания «Сибэнзим») в соответствии с рекомендациями производителя. Продукты гидролиза (на основании которых устанавливались генотипы) амплифицированных ДНК-фрагментов были идентифицированы в 2–3% агарозном или 8% полиакриламидном геле, окрашены этидиумом бромидом с последующей визуализацией в ультрафиолетовом свете.

Биохимические показатели маркеров ремоделирования костной ткани ОК и СТК были исследованы в сыворотке больных ОП с помощью коммерческих наборов (Roche Diagnostics GmbH, Германия) согласно рекоменда-

циям фирмы-производителя. Стандартные биохимические показатели — уровни кальция, фосфора и активность щелочной фосфатазы в сыворотке — были определены общепринятыми лабораторными методами.

Статистические методы. Различия в распределении частот генотипов и аллелей между группой больных и группой контроля определяли с помощью теста χ^2 . Эффект влияния генотипов *LEP* и *LEPR* на антропологические параметры, МПКТ, уровни биохимических маркеров ремоделирования и общеклинических показателей был оценен с помощью метода ANOVA и post-hoc теста или непараметрического t-критерия Манна–Уитни. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты

В табл. 2 представлены базовые значения средних антропометрических, денситометрических и биохимических показателей в группе больных и в контроле. Практически все средние значения антропометрических и денситометрических показателей, а также уровень кальция в сыворотке в группе женщин с ОП статистически достоверно отличались от контроля. Уровни фосфора и щелочной фосфатазы были сходными в обеих группах.

Анализ распределения частот изученных аллелей и генотипов у женщин с ОП и в контрольной группе представлен в табл. 3. Изучение частоты A19G-генотипов гена *LEP* у 248 пациенток с ОП и 120 женщин из контрольной группы показало статистически достоверные различия в их распределении ($\chi^2=9,4$; $p=0,009$). Частота 19GG-генотипа у больных ОП была достоверно выше, чем в контроле [OR=2,0; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,13–3,52 ($p=0,011$)]. Таким образом, вероятность возникновения ОП у носителей двойной дозы аллеля G была в 2 раза выше по сравнению с носителями других генотипов. Сравнение частоты комбинированного 19GG+19AG-генотипа в группе ОП и контроле показало незначительное снижение вероятности возникновения ОП [OR=1,9; 95% ДИ 1,1–3,23 ($p=0,014$)].

Носители 19GG-генотипа имели более низкий средний показатель МПКТ шейки бедра по сравнению с носителями гетерозиготного генотипа ($0,598 \pm 0,088$ и $0,620 \pm 0,076$ г/см²), однако различия не достигали статистически значимой величины ($p=0,06$).

Полиморфизм Gln223Arg гена *LEPR* был изучен у 254 женщин с ОП и у 125 женщин из контрольной груп-

Таблица 2

Характеристики изученной выборки

Характеристики	Больные (n=247)	Контроль (n=174)	p
Возраст, годы	67,4 ± 7,9	57,0 ± 12,9	<0,001
Масса тела, кг	64,7 ± 11,2	81,4 ± 13,6	<0,001
Рост, см	156,9 ± 7,1	160,0 ± 17,2	<0,050
ИМТ, кг/м ²	26,8 ± 8,0	31,4 ± 5,4	<0,001
МПКТ, г/см ² :			
L1–L4 позвоночника	0,716 ± 0,081	1,028 ± 0,084	<0,001
шейка бедра	0,616 ± 0,078	0,842 ± 0,066	<0,001
трохантер	0,549 ± 0,081	0,749 ± 0,083	<0,001
все бедро	0,742 ± 0,103	1,186 ± 0,117	<0,001
СТК сыворотки, нг/мл	0,422 ± 0,244		
Остеокальцин сыворотки, нг/мл	42,6 ± 18,2		
Кальций сыворотки, моль/л	2,41 ± 0,14	2,34 ± 0,13	<0,001
Фосфор сыворотки, моль/л	1,16 ± 0,76	1,12 ± 0,17	0,587
Щелочная фосфатаза сыворотки, ед/л	173,0 ± 60,6	172,4 ± 82,3	0,939

Примечание. Все значения представлены как $m \pm SD$. СТК — С-концевой телопептид коллагена 1-го типа; ОК — остеокальцин.

Таблица 3

Распределение аллелей и генотипов *LEP* (A19G), *LEPR* (Gln223Arg) и *LEPR* (Lys109Arg) полиморфизмов в группе женщин с остеопорозом и в контроле

Полиморфизмы	Частота аллелей и генотипов		p	OR (95% ДИ)
	больные, n (%)	контроль, n (%)		
A19G				
Аллели				
A	216 (44,0)	134 (0,56)	0,002	0,6 (0,44–0,84)
G	280 (56,0)	106 (0,44)	0,002	1,6 (1,19–2,26)
Генотипы				
AA	45 (18,1)	36 (30,0)	0,01	0,5 (0,30–0,89)
AG	126 (50,8)	62 (51,7)		
GG	77 (31,0)	22 (18,3)	0,011	2,0 (1,13–3,52)
Gln223Arg				
Аллели				
Gln	252 (49,0)	114 (45,6)	Нд	
Arg	264 (51,0)	136 (54,4)		
Генотипы				
GlnGln	60 (23,4)	26 (20,8)	Нд	
GlnArg	132 (52,4)	62 (49,6)		
ArgArg	62 (24,2)	37 (29,6)		
Lys109Arg				
Аллели				
Lys	161 (84,0)	128 (82,0)	Нд	
Arg	32 (16,0)	28 (18,0)		
Генотипы				
LysLys	66 (68,7)	55 (70,5)	Нд	
LysArg	29 (30,2)	18 (23,1)		
ArgArg	1 (1,0)	5 (6,4)		

Примечание. Нд — различия недостоверны.

пы (см. табл. 3). Статистически достоверных различий не наблюдалось.

Анализ средних антропологических показателей выявил связь Gln223Arg-полиморфизма гена *LEPR* с ростом у пациентов с ОП. Носители генотипа 223GlnGln имели достоверно более высокий рост по сравнению с носителями гетерозиготного генотипа

223GlnArg ($158,8 \pm 6,2$ и $156,1 \pm 7,7$ см соответственно, $p=0,04$).

Для Gln223Arg-полиморфизма гена *LEPR* также установлена связь с МПКТ. У носителей гетерозиготного 223GlnArg-генотипа средние показатели МПКТ трохантера и МПКТ всего бедра были статистически достоверно ниже, чем у пациенток с 223ArgArg-генотипом ($0,534 \pm 0,083$ и $0,572 \pm 0,070$ г/см² соответственно, $p=0,013$, и $0,724 \pm 0,103$ и $0,767 \pm 0,090$ г/см² соответственно, $p=0,035$).

Полиморфизм Lys109Arg гена *LEPR* был изучен у 96 пациенток с ОП и 78 женщин из контрольной группы (см. табл. 3). Статистически достоверных различий не выявлено. Средние значения антропологических и денситометрических данных также существенно не различались.

Распределение всех изученных полиморфизмов соответствовало закону Харди–Вайнберга.

Анализ биохимических показателей костного ремоделирования в группе пациентов с ОП выявил связь A19G-полиморфизма гена *LEP* со средним уровнем ОК сыворотки. Концентрация ОК в сыворотке была изучена у 46, а уровни СТК — у 134 пациенток. Женщины с 19GG-вариантом из группы ОП имели более высокие средние уровни ОК по сравнению с носителями 19AA-варианта ($51,0 \pm 16,3$ нг/мл против $30,6 \pm 12,7$ нг/мл, $p=0,01$).

В нашем исследовании мы не выявили зависимости содержания маркера резорбции костной ткани СТК, кальция, фосфора и щелочной фосфатазы у женщин с ОП от изученных полиморфизмов генов *LEP* и *LEPR*.

Обсуждение результатов

Частота G-аллеля в московской контрольной выборке здоровых женщин, равная 0,44, была сходна с его частотой в итальянской (0,38) и французской (0,36) популяциях, но достоверно отличалась от финской (0,67) [20–22]. Наиболее частый полиморфизм A19G гена *LEP* хорошо изучен при ожирении [21, 22]. Известно, что жировая ткань является важным источником синтеза эстрогенов у женщин в постменопаузе. Избыточное наличие жировой ткани ассоциируется с высокими уровнями инсулина [31, 32]. Эти гормоны участвуют в процессах костеобразования. Жировая ткань является также источником цитокинов, которые оказывают влияние на МПКТ [32]. Кроме того, показано, что у женщин с ОП количество адипоцитов в костном мозге выше, чем у женщин с нормальными показателями МПКТ [33]. Вместе с тем отмечено, что ожирение не связано с A19G-полиморфизмом гена *LEP* [22]. Авторы показали, что он не ассоциирован ни с одним из показателей, связанных с ожирением: массой тела, индексом массы тела (ИМТ), массой жира. В изученной нами выборке около 40% женщин с ОП имели повышенный ИМТ (>25 кг/м²), однако мы не установили связи ИМТ с A19G-полиморфизмом гена *LEP*. Данный полиморфизм также не был связан ни с одним из антропометрических показателей. Наши данные согласуются с результатами, полученными в финской популяции. Авторы показали отсутствие связи A19G-полиморфизма с возрастом, ростом и ИМТ [22]. В доступной литературе нам не встретилось исследований по ассоциации A19G-полиморфизма с МПКТ у женщин с ОП.

В группе пациенток с ОП нами впервые была выявлена статистически значимо повышенная частота 19GG-генотипа по сравнению с контролем.

Пациентки с 19GG-генотипом имели средний показатель МПКТ шейки бедра на 4% ниже по сравнению с носителями 19AA. Однако, с другой стороны, эти пациентки имели повышенные уровни ОК и СКТ сыворотки по сравнению с носителями 19AA-генотипа. Трактовать полученные данные сложно. Не исключено, что высокие уровни маркеров костеобразования и резорбции у носителей 19GG могут быть связаны с усиленным метаболизмом костной ткани. При этом скорость процесса резорбции кости может доминировать над скоростью образования новой костной ткани. С другой стороны, связь сниженной МПКТ и высоких значений маркера костеобразования может реализовываться на уровне трабекулярного строения кости. Полученные нами данные о связи уровня ОК с МПКТ в зависимости от A19G-полиморфизма гена *LEP*, с нашей точки зрения, требуют дальнейшего подтверждения на более значительных выборках.

Наши данные, показавшие ассоциацию Gln223Arg-полиморфизма гена *LEPR* с МПКТ трохантера и всего бедра согласуются с результатами U. Fairbrother и соавт. [34], которые сообщают, что гетерозиготные носители этого полиморфизма имели более низкие показатели МПКТ в обеих областях и более низкий рост. Кроме того, Gln223Arg-полиморфизм, по данным этих авторов, ассоциировался с риском развития переломов позвоночника ($OR=1,76$; $p=0,0004$). У молодых китайцев, молодых корейских и европейских мужчин Gln223Arg-полиморфизм был ассоциирован с пиком костной массы [28, 35]. Среди 270 взрослых европейцев были выявлены ассоциация Gln223Arg-полиморфизма с костной щелочной фосфатазой и отсутствие связи с МПКТ [36]. Интерпретация связи полиморфизмов гена *LEPR* с МПКТ затруднена из-за плеiotропных функций системы лептина. В одном из исследований [37] приведены потенциальные факторы, отвечающие за связь между уровнями лептина и костной массы. К ним относятся сниженные уровни гормонов, возраст наступления менопаузы, повышенная активность провоспалительных цитокинов, размеры тела, его состав, наличие ожирения. Мы не обнаружили связи Lys109Arg-полиморфизма гена *LEPR* с размерами тела, ИМТ и МПКТ у пациентов с ОП. При изучении полиморфизма Lys109Arg среди корейских женщин [29] авторы показали, что он ассоциирован с МПКТ, но только у женщин в пременопаузе. Это могло быть связано с различиями в уровнях половых гормонов, поскольку женщины в постменопаузе не получали гормонозаместительную терапию и показали сниженные средние уровни эстрадиола.

Настоящая работа имеет некоторые ограничения. Поскольку она является одномоментной, мы не смогли наблюдать изменений в показателях МПКТ или в скорости возникновения будущих переломов. Кроме того, не определены молекулярные механизмы выявленных ассоциаций. В целом не понятна причинная связь между заболеванием и установленной ассоциацией, что диктует необходимость продолжения генетических исследований данной патологии.

Изучение роли лептина, его рецептора, их генетических полиморфизмов, а также влияния центральной нервной системы (системы гипоталамуса) необходимо для уточнения патогенетических механизмов развития ОП и других вариантов патологии костей.

1. Rosen C.J., Beamer W.G., Donahue L.R. et al. Defining the genetics of osteoporosis: Using the mouse to understand man. *Osteoporosis Int* 2001;12:803–10.
2. Uitterlinden A.G., van Meurs J.B., Rivadeneira F. et al. Identifying genetic risk factors for osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006;6:16–6.
3. Tzakas P., Wong B.Y., Logan A.G. et al. Transforming growth factor beta-1 (TGFB1) and peak bone mass: Association between intragenic polymorphisms and quantitative ultrasound of the heel. *BMC Musculoskelet Disord* 2005;14:6–29.
4. Chung H.W., Seo J.-S., Hur S.E. et al. Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in premenopausal women. *J Hum Genet* 2003;48:243–8.
5. Grant S.F.A., Reid D.M., Blake G. et al. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type 1-alpha 1 gene. *Nat Genet* 1996;14:203–5.
6. Uitterlinden A.G., Burger H., Huang Q. et al. Relation of alleles of the collagen type 1-alpha-1 gene with bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1998;338:1016–21.
7. Baker A.R., McDonnell D.P., Hughes M. et al. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:3294–8.
8. Тагиева А.Н., Сметник В.П., Сухих Г.Т. и др. Изучение роли генов рецептора витамина D (VDR), альфа-рецептора эстрогенов (ERα) и альфа-1-цепи коллагена первого типа (COL1A1) в заболеваемости постменопаузальным остеопорозом. *Мед генет* 2005;4(2):90–5.
9. Uitterlinden A.G., Arp P.P., Paerper B.W. et al. Polymorphisms in the sclerosteosis/van Buchem disease gene (SOST) region are associated with bone-mineral density in elderly whites. *Am J Hum Genet* 2004;75:1032–45.
10. Mizuguchi T., Furuta I., Watanabe Y. et al. LRP5, low-density-lipoprotein-receptor-related protein 5, is a determinant for bone mineral density. *J Hum Genet* 2004;49:80–6.
11. Choi J.Y., Shin A., Park S.K. et al. Genetic polymorphisms OPG, RANK, and ESR1 and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2005;77:152–9.
12. Крылов М.Ю., Греченко А.В., Самаркина Е.Ю. и др. Ассоциация минеральной плотности костной ткани с полиморфизмами гена альфа-рецептора эстрогена (ESR) при постменопаузальном остеопорозе. *Науч-практич ревматол* 2005;1:8–11.
13. Ralston S.H. Genetic determinants of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol* 2005;17:475–9.
14. Ferrari S.L., Rizzoli R. Gene variants for osteoporosis and their pleiotropic effects in aging. *Mol Aspects Med* 2005;26:145–67.
15. Zhang Y., Proenca R., Maffei M. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425–32.
16. Pasco J.A., Henry M.J., Kotowicz M.A. et al. Serum leptin levels are associated with bone mass in no obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1884–7.
17. Blain H., Vuillemin A., Guillemin F. et al. Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1030–5.
18. Isse N., Ogawa Y., Tamura N. et al. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem* 1995;270:27728–33.
19. Mammes O., Betoulle D., Aubert R. et al. Novel polymorphism in the 5' region of LEP gene. *Diabetes* 1998;47:487–9.
20. Hager J., Clement K., Francke S. et al. A polymorphism in the 5' untranslated region of the human ob gene is associated with low leptin levels. *Int J Obes* 1998;22:200–5.
21. Lucantoni R., Ponti E., Berselli M.E. et al. The A19G Polymorphism in the 5' Untranslated Region of the Human Obese Gene Does Not Affect Leptin Levels in Severely Obese Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3589–91.
22. Karvonen K., Pesonen U., Heinonen P. et al. Identification of new sequence variant in the leptin gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3239–42.
23. Perusse L., Rankinen T., Zuberi A. et al. The human obesity gene map: The 2004 update. *Obes Res* 2005;13:381–490.
24. Van der Vleuten G.M., Kluijtmans L.A., Hijmans A. et al. The Gln223Arg polymorphism in the leptin receptor is associated with familial combined hyperlipidemia. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2006;30:892–8.
25. Park K.S., Shin H.D., Park B.L. et al. Polymorphisms in the leptin receptor (LEPR) – putative association with obesity and T2DM. *J Hum Genet* 2006;51:85–91.
26. Snoussi K., Strosberg A.D., Bouaouina N. et al. Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma. *BMC Cancer* 2006;20:6–38.
27. Zhang Y.Y., Gottardo L., Mlynarski W. et al. Genetic variability at the leptin receptor (LEPR) locus is a determinant of plasma fibrinogen and C-reactive protein levels. *Atherosclerosis* 2007;191(1):121–7.
28. Koh J.M., Kim D.J., Hong J.S. et al. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms Pvu II and XbaI influence association between leptin receptor gene polymorphism (Gln223Arg) and bone mineral density in young men. *Eur J Endocrinol* 2002;147:777–83.
29. Song K.H., Koh J.M., Hong J.S. et al. Lack of association between bone mineral density and leptin receptor gene polymorphism in young women and postmenopausal women. *Kor J Bone Metab* 2003;10:39–46.
30. 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.
31. Grodin J., Siiteri P., McDonald P. Source of estrogen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1973;36:207–14.
32. Reid I. Relationships among body mass, its components, and bone. *Bone* 2002;13:547–55.
33. Justensen J., Stenderup K., Ebbesen E.N. et al. Adipocyte tissue volume in bone marrow in increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology* 2001;2:165–71.
34. Fairbrother U., Tanko L., Walley A. et al. Leptin Receptor Genotype at Gln223Arg Is Associated With Body Composition, BMD, and Vertebral Fracture in Postmenopausal Danish Women. *J Bone Miner Res* 2007;22:544–50.
35. Jiao J., Meng X.W., Xing X.P. et al. Bone mineral density and leptin receptor polymorphism Gln223Arg in Han women in Beijing. *Zhong-hua Nei Ke Za Zhi* 2004;4:276–9.
36. Crabbe P., Goemaere S., Zmierzak H. et al. Are serum leptin and the Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor determinants of bone homeostasis in elderly men? *Eur J Endocrinol* 2006;154:707–14.
37. Rosen C.J., Ackert-Bicknell C., Beamer W.G. et al. Allelic differences in a quantitative trait locus affecting insulin-like growth factor-1 impact skeletal acquisition and body composition. *Pediatr Nephrol* 2005;20:255–60.

Поступила 06.04.2010