

Статья поступила в редакцию 9.01.2017 г.

Захаров И.С., Мозес В.Г., Ушакова Г.А., Колпинский Г.И.,  
Глушков А.Н., Гордеева Л.А., Рудаева Е.В.  
Кемеровский государственный медицинский университет,  
Институт экологии человека СО РАН,  
г. Кемерово

## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CYP1B1 В ФОРМИРОВАНИИ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА

**Цель исследования.** Изучить роль полиморфизма гена CYP1B1 (Leu432Val, rs1056836) в формировании постменопаузального остеопороза.

**Материалы и методы.** Выполнено исследование минеральной плотности кости, полиморфизма гена CYP1B1 Leu432Val, а так же концентрации малонового диальдегида в плазме крови у женщин русской этнической группы в постменопаузе, проживающих в Кемеровской области.

**Результаты.** У женщин, имеющих полиморфный вариант Val/Val гена CYP1B1, уровень минеральной плотности кости поясничных позвонков был ниже по сравнению с носительницами генотипов Leu/Val и Leu/Leu ( $p = 0,02$ ).

**Заключение.** Результаты проведенного исследования могут быть использованы в комплексном прогнозировании остеопоротических изменений и стратификации пациентов для проведения остеоденситометрии.

**Ключевые слова:** минеральная плотность кости; полиморфизм генов; CYP1B1.

Zakharov I.S., Mozes V.G., Ushakova G.A., Kolpinsky G.I., Glushkov A.N., Gordeeva L.A., Rudaeva E.V.  
Kemerovo State Medical University,  
Institute of Human Ecology, Kemerovo

### ROLE OF CYP1B1 GENE POLYMORPHISM IN THE DEVELOPMENT OF POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS

**Objective** – to study the role of polymorphism (Leu432Val, rs1056836) of the CYP1B1 gene in the development of postmenopausal osteoporosis.

**Materials and Methods.** We studied bone mineral density, gene polymorphism CYP1B1 Leu432Val, as well as the concentration of malondialdehyde in the blood plasma of women of Russian ethnic groups in postmenopausal women living in the Kemerovo region.

**Results.** In women who have a polymorphic variant of Val/Val gene CYP1B1 the level of bone mineral density of the lumbar vertebrae was lower as compared to individuals with genotypes Leu/Val and Leu/Leu ( $p = 0,02$ ).

**Conclusions.** The results of the study can be used in complex prediction of osteoporotic changes and stratification of patients for bone densitometry.

**Key words:** bone mineral density; gene polymorphism; CYP1B1.

Существенное уменьшение уровня эстрогенов в постменопаузальном периоде приводит к нарушению баланса между костеобразованием и резорбцией костной ткани. Гипоэстрогения является важным патогенетическим звеном в формировании постменопаузального остеопороза.

В постменопаузе продуцируется в основном эстрон, который менее активен, чем эстрадиол. В метаболизме эстрогенов заслуживает внимания процесс гидроксирования, который имеет несколько вариантов: CYP1A1 способствует образованию 2-гидроксиэстрона (2-OHE<sub>1</sub>), обладающего низкой активностью, в свою очередь CYP1B1 ведёт к синтезу 4-гидроксиэстрона (4-OHE<sub>1</sub>) и 16-гидроксиэстрона (16-OHE<sub>1</sub>), являющихся метаболически активными соединениями. Также известно, что ряд ферментов цитохрома P<sub>450</sub>, которые участвуют в обмене эстрогенов, играют роль в инактивации некоторых ксенобиотиков и поллютантов, при этом синтезируя промежуточные

агенты, обладающие токсическим действием [1]. Существуют публикации, демонстрирующие высокий уровень формирования промежуточных продуктов инактивации у лиц, имеющих аллель 432Val. В ряде работ показано значение гена CYP1B1 в развитии некоторых патологических процессов и заболеваний, как у мужчин, так и у женщин: миомы тела матки, рака тела матки, рака предстательной железы, хронической обструктивной болезни легких, открытоугольной глаукомы [2]. В то же время необходимо указать, что роль полиморфизма гена CYP1B1 неоднозначна и зависит от популяционных и этнических особенностей. Например, у лиц, имеющих генотипы Leu/Val и Val/Val, отмечалась большая частота миеломной болезни [3]. Выявлена связь генотипа Val/Val с формированием ХОБЛ [4]. У женщин Китая был определен высокий риск возникновения рака молочной железы при замене Val на Leu [5].

Существуют публикации, свидетельствующие о влиянии гена CYP1B1 на развитие окислительного стресса [1]. Было отмечено, что токсических веществ табачного дыма, такие как бензо[а]пирен, за счёт ферментов CYP1A1, CYP1A2 и CYP1B1 способствуют активации остеокластов [6].

При изучении американской популяции продемонстрировано участие полиморфизма гена CYP1B1

#### Корреспонденцию адресовать:

ЗАХАРОВ Игорь Сергеевич,  
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а,  
ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России.  
Тел.: 8 (3842) 46-51-62.  
E-mail: isza@mail.ru

на показатели минеральной плотности кости [7]. Однако в популяции женщин Словакии не выявлено связи между полиморфными вариантами гена CYP1B1 (Leu432Val) и уровнем колебания костной массы [8].

Возможно, влияние полиморфизма гена CYP1B1 на минеральную плотность кости связано с популяционными особенностями, так как каждая популяция характеризуется своим уникальным генотипом. Это в свою очередь сказывается на фенотипе. Также важную роль в экспрессии генов играют внешние факторы, такие как ксенобиотики и промышленные поллютанты. Климато-географические характеристики Кузбасса способствуют накоплению экологически вредных веществ, что неизбежно ведёт к увеличению заболеваемости по различным нозологиям, в том числе и к патологии костной системы и соединительной ткани [9]. Распространённость остеопороза у жительниц Кемеровской области после 50-ти лет составляет 27,9 %, а после 70-ти лет остеопороз диагностируется у половины обследованных [10].

Таким образом, изучение влияния полиморфизма гена CYP1B1 (Leu432Val) на уровень минеральной плотности костной ткани у женщин в постменопаузальном периоде, проживающих в промышленном регионе, является актуальным.

**Цель исследования** — изучить роль полиморфизма гена CYP1B1 (Leu432Val, rs1056836) в формировании постменопаузального остеопороза у женщин русской этнической группы в постменопаузе, проживающих в Кемеровской области.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для достижения поставленной цели было обследовано 217 женщин, находящихся в постменопаузальном периоде, средний возраст которых составил  $64,8 \pm 10,4$  лет. С целью изучения показателей минеральной плотности костной ткани выполнена двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия денситометром Lunar-DPX-NT (GE Healthcare). Проводилась оценка двухмерной минеральной плотности кости I-IV поясничных позвонков ( $\text{г}/\text{см}^2$ ).

Выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови осуществлялось с использованием метода фенол-хлороформной экстракции с последующим осаждением

этанолом, образцы ДНК хранили при температуре  $-20^\circ\text{C}$ . Генотипирование CYP1B1 (с.1294 C>G, Leu432Val, rs1056836) проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК, с последующим плавлением амплификационных продуктов и анализом кривых плавления в режиме реального времени. В работе применяли коммерческие тест-системы ООО «СибДНК» (г. Новосибирск). Амплификацию проводили с использованием системы детекции ПЦР CFX96 (Bio-Rad, США) в соответствии с инструкциями.

Определение малонового диальдегида (МДА) в плазме крови, осуществлялось методом спектрофотометрии, основанном на оценке продукта реакции с тиобарбитуровой кислотой в кислой среде в присутствии ионов  $\text{Fe}^{2+}$ . Единицы измерения МДА —  $\text{мкмоль}/\text{л}$ .

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России. Статистическая обработка проводилась с применением программ StatSoft Statistica 6.1. Нормальность распределения показателей оценивалась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Количественные показатели описывались с помощью медианы (Me) и квартилей. Для определения статистической значимости различий между количественными признаками нескольких независимых групп применялся Н-критерий Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдаемые частоты генотипов гена CYP1B1 у женщин изучаемой выборки были сопоставимы с их ожидаемыми частотами, соответствующая распределению Харди-Вайнберга ( $p = 0,94$ ) (рис.).

Частоты генотипов гена CYP1B1 были сопоставимы с данными ранее опубликованных исследований, в которых участвовали лица европейского происхождения [11, 12] (табл. 1).

При изучении показателей минеральной плотности кости в зависимости от генотипов гена CYP1B1 было выявлено, что у носительниц гомозиготного генотипа Val/Val наблюдалось статистически значимое

### Сведения об авторах:

ЗАХАРОВ Игорь Сергеевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: isza@mail.ru

МОЗЕС Вадим Гельевич, доктор мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

УШАКОВА Галина Александровна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

КОЛПИНСКИЙ Глеб Иванович, доктор мед. наук, профессор, кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

ГЛУШКОВ Андрей Николаевич, доктор мед. наук, директор, Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, Россия.

ГОРДЕЕВА Людмила Александровна, канд. биол. наук, зав. лабораторией иммуногенетики, Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, Россия.

РУДАЕВА Елена Владимировна, канд. мед. наук, доцент, кафедра акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

снижение МПК поясничных позвонков по сравнению с женщинами, имеющими генотипы Val/Leu и Leu/Leu ( $p = 0,02$ ). Данные представлены в таблице 2.

Ферменты CYP1B1 у женщин в постменопаузе принимают участие в метаболизме эстрогенов, метаболизируя эстрон в более активные формы: 4-гидроксистерон и 16-гидроксистерон. В то же время, система цитохромов P<sub>450</sub> инактивирует ряд ксенобиотиков и поллютантов. В первой фазе метаболизма данных агентов образуются соединения, которые приводят к активации окислительного стресса.

На основании проведенного исследования выявлено, что у лиц с генотипом Val/Val отмечалась большая концентрация малонового диальдегида плазмы крови по сравнению с генотипами Leu/Val и Leu/Leu ( $p = 0,001$ ). Данные представлены в таблице 3.

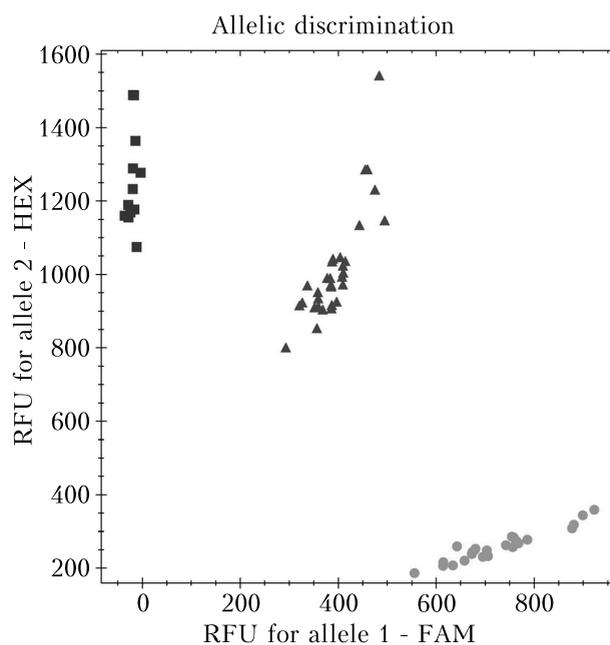
Высокий уровень МДА свидетельствует об агрессивном течении окислительного стресса. Согласно данным литературы [13], повышение проокислительной активности ассоциировано с увеличением остеокластогенеза и формированием остеопоротических изменений.

Однако представленные данные не согласуются с результатами ранее опубликованного исследования N. Napoli et al. (2009), где, напротив, генотип Val/Val был ассоциирован с более высоким уровнем костной массы по сравнению с генотипами Leu/Val и Leu/Leu [7]. Возможно, это связано как с популяционными особенностями, так и с воздействием экстрагенетических индукторов. В то же время, прослеживается параллель с научными работами, показывающими влияние ксенобиотиков и поллютантов на различные процессы организма в зависимости от генотипа гена CYP1B1 (Leu432Val). Было продемонстрировано, что именно генотип Val/Val имел ассоциации с более агрессивным течением окислительного стресса и более значимыми обменными нарушениями [1, 14].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном исследовании была отмечена детерминирующая роль полиморфизма гена CYP1B1 (Leu432Val) в снижении показателей минеральной плотности кости у женщин в постменопаузальном периоде, которые проживают в экологически неблагоприятных условиях. Результаты исследования могут использоваться при проведении комплексного про-

**Рисунок**  
**Распределение генотипов CYP1B1 в исследуемой группе**  
**Figure**  
**The distribution of the CYP1B1 genotypes in the study group**



- носители гомозигот по аллелю Val/Val / carriers homozygous for the allele Val/Val;
- носители гомозигот по аллелю Leu/Leu / carriers homozygous for the allele Leu/Leu;
- ▲ носители гетерозигот Leu/Val / heterozygote carriers Leu/Val.

**Таблица 1**  
**Частоты встречаемости аллелей и генотипов гена CYP1B1 (Val432Leu) у женщин Кемеровской области**  
**Table 1**  
**The frequencies of alleles and genotypes CYP1B1 gene (Val432Leu) in women of the Kemerovo region**

Аллели/генотипы	432Leu	432Val	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val
Частота (абс., %)	259 (60,0)	175 (40,0)	77 (35,6)	105 (48,1)	35 (16,2)

гнозирования остеопоротических изменений и стратификации пациентов при решении вопроса о выполнении остеоденситометрии.

### Information about authors:

ZAKHAROV Igor Sergeevich, MD, PhD, associate professor, department of obstetrics and gynecology N 1, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: isza@mail.ru

MOZES Vadim Gelievich, MD, PhD, professor, department of obstetrics and gynecology N 1, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: vadimmoses@mail.ru

USHAKOVA Galina Alexandrovna, MD, PhD, head of department of obstetrics and gynecology N 1, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia.

KOLPINSKY Gleb Ivanovich, MD, PhD, professor of radiology, radiotherapy and oncology department, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia.

GLUSHKOV Andrey Nikolaevich, MD, PhD, director, Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia.

GORDEEVA Lyudmila Alexandrovna, MD, PhD, head of laboratory of immunogenetics, Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia.

RUDAeva Elena Vladimirovna, MD, PhD, associate professor, department of obstetrics and gynecology N 1, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia.

Таблица 2

Минеральная плотность кости поясничных позвонков у женщин в постменопаузе в зависимости от генотипов CYP1B1  
Table 2  
Bone mineral density of the lumbar vertebrae in postmenopausal women, depending on the genotype CYP1B1

Генотипы	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	N	$\chi^2$	Уровень значимости, p
МПК (L <sub>1</sub> -L <sub>2</sub> ), г/см <sup>2</sup>	1,018 ± 0,218	0,989 ± 0,194	0,918 ± 0,258	7,87	3,99	0,02

Таблица 3

Концентрация малонового диальдегида плазмы крови у женщин  
постменопаузального периода в зависимости от генотипов CYP1B1  
Table 3  
The concentration of MDA in blood plasma in postmenopausal women, depending on the genotype CYP1B1

Генотипы	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	N	$\chi^2$	Уровень значимости, p
МДА, мкмоль/л	7,9 ± 2,0	8,0 ± 2,1	9,25 ± 3,3	13,41	5,69	0,001

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

- Nock NL, Cicek MS, Li Li, Xin Liu, Rybicki BA, Moreira A, Plummer S J, Casey G, Witte JS. Polymorphisms in estrogen bioactivation, detoxification and oxidative DNA base excision repair genes and prostate cancer risk. *Carcinogenesis*. 2006; 27 (9): 1842-1848.
- Gehan A. El-Shennawy, Abd-Alla A. Elbially, Anwar E. Isamil, Manal M. Elbehery. Is Genetic Polymorphism of ESR1, CYP1A1 and CYP1B1 Risk Factor for Development of Uterine Leiomyoma? *Egyptian Journal of Medical Microbiology*. 2010; 19 (1): 19-26.
- Davis S, Zhang Y, Zheng T, Rothman N, Lan Q, Zahm SH, Chanock SJ, Baris D, De Roos AJ, Gold LS, Brown EE, Severson R, Milliken K. Associations of common variants in genes involved in metabolism and response to exogenous chemicals with risk of multiple myeloma. *Cancer Epidemiol*. 2009; (33): 276-280.
- Korytina GF, Akhmadishina LZ, Zagidullin SZ, Victorova TV. Analysis of genetic factors involving in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease: contribution of xenobiotic biotransformation and antioxidant defense genes. *Pulmonology*. 2013; (1): 25-31. Russian (Корытина Г.Ф., Ахмадишина Л.З., Загидуллин Ш.З., Викторова Т.В. Анализ генетических факторов, вовлеченных в развитие ХОБЛ //Пульмонология. 2013. № 1. С. 25-31.)
- Haiyan Jiao, Chunlian Liu, Weidong Guo, Liang Peng, Yintao Chen, Francis L. Martin. Association of CYP1B1 Polymorphisms with Breast Cancer: A Case-Control Study in the Han Population in Ningxia Hui Autonomous Region, P. R. China. *Biomarker Insights*. 2010; (5): 21-27.
- Iqbala J, Sunc Li, Caod J, Yuenc T, Luc P, Babe I, Adrian Leua N, Srinivasana S, Wagagef S, Hunterf CA, Nebertg DW, Zaidic M, Avadhani NG. Smoke carcinogens cause bone loss through the aryl hydrocarbon receptor and induction of Cyp1 enzymes. *PNAS*. 2013; 110 (27): 11115-11120.
- Napoli N, Rini GB, Serber D, Giri T, Yarramaneni J, Bucchieri S, Camarda L, Di Fede G, Camarda MR, Jain S, Mumm S, Armamento-Villareal R. The Val432Leu polymorphism of the CYP1B1 gene is associated with differences in estrogen metabolism and bone density. *Bone*. 2009; (44): 442-448.
- Omelka R, Krajcovicova V, Spankova J, Durisova J, Martiniakova M, Galbavy D, Bauerova M. No association between the CYP1B1/Leu432Val polymorphism and osteoporosis-related traits in Slovak postmenopausal women. *Bone Abstracts*. 2013; (1): 276.
- Glebova LA, Koskina EV, Bachina AV, Chukhrov YuS. Assessment of risk for population health in industrial centres of Kuzbass. *Sanitary doctor*. 2013; (7): 61-63. Russian (Глебова Л.А., Коськина Е.В., Бачина А.В., Чухров Ю.С. Оценка риска для здоровья населения в промышленных центрах Кузбасса //Санитарный врач. 2013. № 7. С. 61-63.)
- Kolpinsky GI, Zakharov IS. Diagnosis and prognosis of postmenopausal osteoporosis. Kemerovo: «Int». 2015. 202 p. Russian (Колпинский Г.И., Захаров И.С. Диагностика и прогнозирование постменопаузального остеопороза. Кемерово: «Инт», 2015. 202 с.)
- Oskina NA, Boyarskikh UA, Lazarev AF, Petrova VD, Ganov DI, Lifshits GI, Filipenko ML. Single nucleotide polymorphism rs1056836 of gene CYP1B1 are associated with prostate cancer. *Vestnik NSU*. 2010; 10 (3): 27-31. Russian (Оськина Н.А., Боярских У.А., Лазарев А.Ф., Петрова В.Д., Ганов Д.И., Лифшиц Г.И., Филипенко М.Л. Изучение ассоциации однонуклеотидной полиморфной замены rs1056836 гена CYP1B1 с риском развития рака предстательной железы //Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2010. Т. 8, № 3. С. 27-31.)
- García-Closas M, Herbstman J, Schiffman M, Glass A, Dorgan JF. Relationship between serum hormone concentrations, reproductive history, alcohol consumption and genetic polymorphisms in pre-menopausal women. *Int. J. Cancer*. 2002; 102: 172-178.
- Zakharov IS, Kolpinsky GI, Ushakova GA, Wavin GV. The role of oxidative stress in the formation of postmenopausal osteoporosis. *Gynecology*. 2014; (1): 41-44. Russian (Захаров И.С., Колпинский Г.И., Ушакова Г.А., Вавин Г.В. Роль оксидативного стресса в формировании постменопаузального остеопороза //Гинекология. 2014. № 1. С. 41-44.)
- Butts S, Sammel M, Greer C, Rebbeck T, Boorman D, Freeman E. Cigarettes, genetic background, and menopausal timing: the presence of single nucleotide polymorphisms in cytochrome P450 genes is associated with increased risk of natural menopause in European-American smokers. *Menopause*. 2014; 21 (7): 694-701.

