

31.7%, $\chi^2=0.2499$, $p<0.05$). The features of the clinical manifestations of pneumonia at the time of admission to the hospital include: hyperthermic syndrome (97.5%), cough (90.8%), symptoms of intoxication (75.0%), shortness of mixed genesis (43.3%). The leading risk factors for the complicated course of non-hospital pneumonia, unspecified and against the background of coronavirus disease, include: the presence of concomitant diseases, previous antibiotic therapy, and violation of the calendar of preventive vaccinations. In the case of complicated pneumonia, the leading laboratory criteria were: neutrophilic leukocytosis and an increase in the level of D-dimer, which had the greatest significance and were directly correlated with the severity and duration of the disease.

Key words: children, pneumonia, course, diagnosis, complications.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Dutchuk O. V.: <https://orcid.org/0000-0003-1160-4099> ^{ABCDEF}

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Dutchuk Oksana Vasyilivna / Дутчук Оксана Василівна

Ivano-Frankivsk National Medical University / Івано Франківський національний медичний університет

Ukraine, 76000, Ivano-Frankivsk, 132 Konovalets str. / Адреса: Україна, 76000, м. Івано-Франківськ, вул. Кональця 132

Tel: +380969272450 / Тел.: +380969272450

E-mail: oksana.dutchuk2501@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article. / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 12.03.2024 / Стаття надійшла 12.03.2024 року

Accepted 19.08.2024 / Стаття прийнята до друку 19.08.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-3-174-367-374

UDC 616-053.2-007.21:575.113.2

Ryznychuk M. O.

POLYMORPHISM +1245G>T OF THE COL1A1 GENE IN CHILDREN WITH IDIOPATHIC SHORT STATURE

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

rysnichuk.mariana@gmail.com

The aim of the study was to determine the +1245G>T gene polymorphism of COL1A1 in children with idiopathic short stature (ISS).

A genetic study of 35 children with ISS who were treated at the V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine was conducted.

The average age of the examined children was 10.68±3.30 years. The polymorphism of the COL1A1 gene, namely +1245G>T(rs1800012), was determined by standard methods.

The G/G genotype was an unreliable risk factor for ISS (OR=1.56, (95%CI 0.66-3.48, $p=0.28$)). The dominant allele in the group of children studied is G ($pG=0.814$).

The allele frequencies in ISS children ($pG=0.814$, $qT=0.186$) do not correlate as 1:1, which indicates a violation of the allele frequency in this sample, which may be due to the small study group.

Patients with the T/G genotype have a non-significant risk of ISS (OR=1.17, (95%CI 0.51-2.72; $p=0.71$)). The G allele of the COL1A1 gene is significantly associated with the risk of ISS OR=1.95 (95%CI 0.99-2.82; $p=0.05$).

Key words: idiopathic short stature, children, +1245G>T polymorphism of the COL1A1 gene.

Connection of the publication with planned research works.

Research work of the State Institution “V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine, funded by the Ministry of Health “To study the state of the growth hormone/growth factors system in children and adolescents with endocrine pathology depending on the supply of vitamin D and variants of polymorphism of its receptor gene”. State registration number 0122U000420.

Introduction.

Child growth is an indicator of good health and a sensitive marker of disease [1].

Stunting is defined as being below the third percentile for age, sex, and race or two standard deviations (SD) below the mean [2].

Idiopathic short stature (ISS) is a condition in which short stature occurs in children with normal growth at birth and unimpaired body proportions. In this condition, the growth hormone level after stimulation (with clonidine or insulin) reaches normal values [3-5].

ISS is defined as a condition in which a person's height is more than 2 sigmas below the corresponding average height for a given age, sex, and population without signs of systemic, endocrine, nutritional, or chromosomal abnormalities [4]. ISS encompasses a heterogeneous group of children with many currently unidentified causes of short stature. It is estimated that approximately 60-80%

of all stunted children with a score of less than 2 sigma or even lower meet the definition of ISS [3]. This cohort includes children with constitutional growth, puberty, and familial shortness [5].

The collagen type 1 alpha 1 (*COL1A1*) gene encodes a protein chain that plays a vital role in bone flexibility. This chain comprises 90% of the organic bone matrix [6]. Many studies have been conducted on the association between *COL1A1* polymorphism and osteoporosis. One of the most studied single nucleotide polymorphisms (SNP) is the transcription factor Sp1 rs1800012 (+1245 G>T), a binding site located in the first intron of the *COL1A1* gene, an important region for the regulation of collagen transcription [7]. It was found that this polymorphism in the *COL1A1* gene affects bone strength by altering the binding affinity of the transcription factor Sp1. The presence of the T allele leads to abnormal production of the collagen $\alpha 1$ chain compared to the collagen $\alpha 2$ chain, adversely affecting the bone composition and mechanical strength [8].

The *COL1A1* gene, a key player in bone strength and health, is responsible for the production of Type I collagen, the main organic matrix protein involved in bone maturation, development, and mineralization [9]. Mutations in collagen synthesis, such as those seen in osteogenesis imperfecta syndrome, result in increased bone fragility and bone structure disorders [10]. However, the presence of specific genetic polymorphisms of the *COL1A1* gene can also lead to low bone mineral density and an increased risk of fractures in both adults and children [11, 12].

The intronic region of the *COL1A1* gene contains the Sp1 polymorphism, which is associated with the transcription start site. The polymorphism of this genotype leads to an increase in the activity of transcription and collagen synthesis. This violates the ratio of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ (2:1) of type I collagen. Ultimately, this leads to decreased bone strength due to impaired mineralization of osteoid tissue [13]. Normally, homozygous GG carriers have a balanced ratio of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains of type I collagen, but in heterozygous carriers, the ratio of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains is disturbed. Carriers of the GT genotype have fewer inorganic and more organic bone components, which affects bone strength and mineralization [14].

The aim of the study.

Determination of the +1245G>T gene polymorphism of *COL1A1* in patients with idiopathic short stature.

Object and research methods.

A genetic study was conducted of 35 prepubertal children with ISS who were treated at the V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.

In all subjects, the following were taken into account: sex and age of the subject, anthropometric data, vitamin D levels in the blood (summer months were excluded),

bone age, growth hormone levels after stimulation tests (clonidine and insulin), IGF-1 levels, and total and ionized calcium and phosphorus levels.

The average age of the patients (28 males, 7 females) was 10.68 ± 3.30 years. Stunting was $-2.19 (\pm 0.49)$ SDS. During the study, all children had normal thyroid-stimulating hormone levels.

The polymorphism of the *COL1A1* gene was determined, namely +1245G>T (rs1800012). DNA was isolated from peripheral blood using the "Quick-DNA™ Universal Kit" test system (ZymoResearch, USA) for molecular genetic testing.

The polymerase chain reaction (PCR) method was used to determine the polymorphic variants +1245G/T (rs1800012) of the *COL1A1* gene. The analysis of restriction fragment length polymorphism (RFLP) was performed using modified protocols with oligonucleotide primers manufactured by Metabion (Germany) and a commercial Dream Taq Green PCR MasterMix kit (Thermo Scientific, USA).

The amplicons, i.e., the products of amplification of DNA fragments, were subsequently subjected to hydrolytic digestion with restriction endonucleases ("Thermo Scientific", USA) under appropriate temperature conditions.

The resulting restriction fragments of the genes were stained with ethidium bromide and analyzed in an agarose gel ("CleaverScientific", UK) with horizontal electrophoresis (Multi Sub Midi, Cleaver Scientific Ltd) followed by photographic fixation of polymorphisms (fig.).

The study's results were statistically calculated using Microsoft Excel. All data were analyzed using nonparametric methods of variation statistics.

The normality of the genotype distribution in the patient and control groups was checked by the Hardy-Weinberg method (χ^2). The odds ratio (OR) was used to calculate risk factors using the MedCalc program (2006).

During the study, the basic principles of bioethics of the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997) and the WHO Declaration of Helsinki for the Ethical Principles of Medical Research Involving Human Participants (1964-2013) were followed. The Biomedical Ethics Committee of the V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine found no moral or legal violations during the study. Informed consent was obtained from the participants and their parents or guardians.

Research results and their discussion.

The control group included 96 practically healthy, unrelated adolescents [15].

The number of patients with the T/G genotype in the study group was practically no different from the control

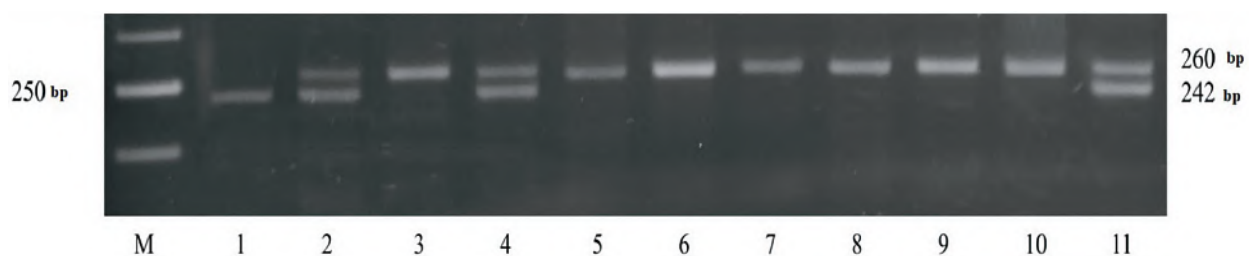


Figure – Electrophoregram of the +1245G/T (rs1800012) polymorphism variants of the *COL1A1* gene.

Notes: M – molecular weight marker; samples 3, 5–10 – GG genotype; samples 2, 4, 11 – GT genotype; sample 1 – TT genotype.

group. The number of children with the homozygous T/T genotype was 5.84 times less compared to the control group, and the percentage of patients with the G/G genotype was practically the same as in healthy individuals (**table 1**). The heterozygous T/G genotype does not significantly increase the risk of developing ISS, OR=1.17, (95%CI 0.51-2.72; p=0.71), and the presence of the homozygous T/T genotype, although it is pathological, was protective in our case, which may be due to the small sample (OR=0.15, 95%CI 0.02-1.15, p=0.07).

The homozygous G/G genotype in the study group is also a risk factor for the development of ISS, but not significantly (OR=1.56, (95%CI 0.66-3.48, p=0.28)).

The genetic analysis of children with ISS revealed the following data: carrying the G allele of the +1245G/T polymorphic locus (rs1800012) of the *COL1A1* gene is a significant risk factor for ISS OR=1.95 (95%CI 0.99-2.82; p=0.05).

The allele that predominated in the subjects was G, both in the control group (pG=0.693) and in the group of children with ISS (pG=0.814). The frequency of the T allele was 1.65 times lower in patients (qT=0.186) than in the group of healthy controls (qT=0.307; **table 2**).

The allele frequencies in ISS children (pG=0.814, qT=0.186) significantly differ from the 1:1 ratio, indicating a violation of the allele frequency in the study population, and this is possible due to the small sample.

The allele frequencies in patients with ISS differed sharply from those in the control group, which requires further study in a larger number of children, and the distribution of genotypes corresponded to the Hardy-Weinberg equilibrium (**table 3**).

In the cohort of Ukrainian children, as in the control group, homozygous G/G carriers predominated.

Despite the significant role of environmental and lifestyle factors in determining the individual peak of bone mass, individual genes involved in the regulation of bone metabolism have been identified to date. The presence of polymorphisms in some genes affects bone density, bone matrix composition, bone microarchitecture, and thus bone growth. Among the most common polymorphisms affecting bone metabolism is the *COL1A1* gene polymorphism [16, 17].

The *COL1A1* gene encodes the alpha chain of type I collagen, which is responsible for bone plasticity and resistance to stretching. A polymorphism in intron 1 of the *COL1A1* gene alters the binding site of the transcription factor Sp1, altering the production of alpha 1 chain and changing its ratio of 2:1 to alpha 2 chain, with a subsequent decrease in the functionality of mature type I collagen in bone [18, 19].

Various authors have studied This polymorphism well, and it is associated with susceptibility to osteoporosis and fracture incidence due to low bone density [20-23]. The GENOMOS consortium conducted a retrospective analysis of the association of more than 20,000 people from several European countries with the presence of the *COL1A1*+1245G/T (rs1800012) gene polymorphism and the development of osteoporosis, proving the existence of a weak positive correlation between the Sp1 polymorphism

Table 1 – Genotype distribution in healthy children and children with idiopathic short stature

<i>COL1A1</i> +1245G/T (rs1800012)	Patients with idiopathic short stature n (%)	Control n (%)*	OR (95% CI)	P
T/T	1(2,86)	16 (16,70)	0,15 (0,02-1,15)	0,07
T/G	11 (31,43)	27 (28,10)	1,17 (0,51-2,72)	0,71
G/G	23 (65,71)	53 (55,20)	1,56 (0,66-3,48)	0,28

Note: * – data from the source [15].

Table 2 – Frequencies of T and G alleles in children with idiopathic short stature

Group	Alleles	Abs. number	Frequency	OR (95% CI)	p
Patients with idiopathic short stature	T	13	0,186	0,61 (0,26-1,01)	0,05
	G	57	0,814	1,95 (0,99-3,82)	0,05
Control*	T	59	0,307	-	-
	G	133	0,693		

Note: * – data from the source [15].

Table 3 – Heidi-Weinberg equilibrium

Patient group	Genotype			χ^2
	T/T	T/G	G/G	
Patients with ISS (available genotype)	1	11	23	$\chi^2=0,05$ p=0,99
Patients with ISS (expected genotype)	1,21 (3,45%)	10,59 (30,24%)	23,21 (66,31%)	
Control (existing genotype)*	16	27	53	$\chi^2=11,06$ p=0,001
Control (expected genotype)*	9,09 (9,44%)	40,87 (42,57%)	46,07 (47,98%)	

Note: * – data from the source [5].

and the risk of vertebral fractures and a very weak association between the TT genotype and reduced bone mineral density [24].

Although the effects of this polymorphic variant are evident in later life, its impact on bone development must be clearly defined. The study by Cousminer D.L. showed the role of *COL1A1* polymorphism in children aged 6 to 20 years on bone mineral density depending on age (pre-pubertal, pubertal and postpubertal periods) [25]. It was proved that subjects homozygous for the TT genotype had a delay in bone growth during sexual development. In contrast to previous pediatric studies [21, 26, 27], both boys and girls were analyzed separately and it was found that girls with the TT polymorphism had lower bone mineral density before puberty and pubertal bone gain began later. These girls later “caught up” with bone mineral density in most parts of the skeleton after puberty, which is consistent with the weak correlation of this genotype with premenopausal bone mineral density [24].

In boys, the same pattern occurred as in girls, but boys with T/T alleles were shorter at puberty and continued to grow in postpuberty [28], which may be the case in ISS, as in our case.

Conclusions.

The risk of developing ISS is increased in the presence of the T/G genotype, but not significantly (OR=1.17, (95%CI 0.51-2.72; p=0.71)); and significantly, in the presence of the G allele of the +1245G/T locus (rs1800012) of the *COL1A1* gene (OR=1.95 (95%CI 0.99-2.82; p=0.05)).

The presence of the homozygous T/T allele is pathological, but in our study it is not a risk factor for ISS.

Prospects for further research.

Further study of the vitamin D levels in children with this pathology depending on the *COL1A1* gene polymorphism is planned.

**ПОЛІМОРФІЗМ +1245G>Т ГЕНА COL1A1 У ДІТЕЙ
ІЗ ІДІОПАТИЧНОЮ НИЗЬКОРОСЛІСТЮ**

Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна)

rysnychuk.mariana@gmail.com

Мета дослідження - визначення поліморфізму +1245G>Т гена COL1A1 у дітей із ідіопатичною низькорослістю (ІПН).

Проведено генетичне дослідження 35 дітей із ІПН, які перебували на лікуванні в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Вік обстежених дітей, у середньому становив $10,68 \pm 3,30$ років. Проведено визначення поліморфізму гена COL1A1, а саме +1245G>Т(rs1800012) за стандартною методикою.

Недостовірним чинником ризику ІПН є генотип G/G (OR=1,56, (95%CI 0,66-3,48, $p=0,28$)). Домінантним алелем у групі обстежених дітей є G ($pG=0,814$).

Частоти алелей у дітей ІПН ($pG=0,814$, $qT=0,186$) не співвідносяться як 1:1, що свідчить про порушення частоти алелів у даній вибірці, що може бути наслідком малої групи дослідження.

Пацієнти із генотипом T/G мають не достовірний ризик ІПН (OR=1,17, (95%CI 0,51-2,72; $p=0,71$)). Алель G гена COL1A1 достовірно асоціюється із ризиком ІПН OR=1,95 (95%CI 0,99-2,82; $p=0,05$).

Ключові слова: ідіопатична низькорослість, діти, поліморфізм +1245G>Т гена COL1A1.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дослідницька робота ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна із фінансуванням МОЗ «Вивчити стан системи гормон росту/ростові фактори у дітей та підлітків з ендокринною патологією в залежності від забезпеченості вітаміном D і варіантів поліморфізму гена його рецептора». Номер державної реєстрації 0122U000420.

Вступ.

Ріст дитини є показником задовільного здоров'я, і чутливим маркером захворювання [1].

Низький зріст – це ріст нижче третього перцентилля для віку, статі та раси або на два стандартні відхилення (SD) нижче середнього [2].

Ідіопатична низькорослість (ІПН) –це стан при якому трапляється низький зріст у дітей із нормальними ростовими показниками при народженні, не порушеними пропорціями тіла. При цьому стані рівень гормону росту після стимуляції (клонідином або інсуліном) сягає нормальних величин [3-5].

ІПН визначається як стан, при якому ріст людини більш ніж на 2 сигми нижче за відповідний середній ріст для даного віку, статі та певної популяції без ознак системних, ендокринних, харчових або хромосомних аномалій [4]. ІПН охоплює гетерогенну групу дітей, що складається з багатьох на сьогодні невідомих причин низького росту. За оцінками, приблизно 60-80% усіх низькорослих дітей із показником менше 2 сигм або навіть нижче відповідають визначенню ІПН [3]. До цієї когорти відносять дітей із конституційною затримкою росту та статевого дозрівання та сімейною низькорослістю [5].

Ген колагену типу 1 альфа 1 (COL1A1) кодує білковий ланцюг, який відіграє важливу роль у гнучкості кістки. Даний ланцюг займає 90% органічного матриксу кістки [6]. Було проведено безліч досліджень асоціації між поліморфізмом COL1A1 та остеопорозом. Одним з найбільш вивчених одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) є сайт зв'язування фактора тран-

скрипції Sp1 rs1800012 (+1245 G>T), розташований у першому інтроні гена COL1A1, важливого регіоні для регуляції транскрипції колагену [7]. Виявлено, що цей поліморфізм у гені COL1A1 впливає на міцність кісток внаслідок зміни спорідненості зв'язування з фактором транскрипції Sp1. Наявність алелі Т призводить до аномальної продукції ланцюга колагену $\alpha 1$ порівняно з ланцюгом колагену $\alpha 2$, що несприятливо впливає на склад та механічну міцність кісток [8].

Колаген типу I є одним із ключових білків, які відповідають за міцність та здоров'я кісток, оскільки це основний білок органічного матриксу, що бере участь у дозріванні, розвитку та мінералізації кісток [9]. Прикладом мутацій у синтезі колагену є синдром недосконалого остеогенезу, що супроводжується підвищеною ламкістю кісток та порушенням їх структури [10]. Але навіть наявність певних генетичних поліморфізмів гена COL1A1 також призводять до низької мінеральної щільності кісток та підвищують ризик переломів у дорослих і дітей [11, 12].

В інтронній ділянці гена COL1A1 розміщений поліморфізм Sp1, що пов'язується із сайтом початку транскрипції. Поліморфізм даного генотипу призводить до підвищення активності транскрипції та синтезу колагену. Це веде порушення співвідношення α -1 і α -2 (2:1) колагену I типу. I, в кінцевому результаті, це призводить до зменшення міцності кісток внаслідок порушеної мінералізації остеоїдної тканини [13]. У нормі гомозиготні носії GG мають збалансоване співвідношення ланцюгів α -1 і α -2 колагену I типу, але у гетерозиготних носіїв співвідношення ланцюгів α -1 і α -2 порушене. У носіїв генотипу GT менше неорганічних і більше органічних компонентів кістки, що впливає на її міцність та мінералізацію [14].

Мета дослідження.

Визначення поліморфізму +1245G>Т гена COL1A1 у пацієнтів із ідіопатичною низькорослістю.

Об'єкт і методи дослідження.

Проведено генетичне дослідження 35 дітей препубертатного віку із ІПН, які перебували на лікуванні

в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

В усіх досліджуваних враховувалося наступне: стать та вік досліджуваного, дані антропометрії, рівень віт. D у крові (виключення становили літні місяці), визначення кісткового віку, рівні гормону росту після стимуляційних тестів (клонідином та інсуліном), рівні ІПЧР-1, вміст загального та іонізованого кальцію та фосфору.

Вік пацієнтів (28 чоловічої статі, 7 жіночої статі) у середньому був $10,68 \pm 3,30$ років. Відставання у рості становило $-2,19 (\pm 0,49)$ SDS. Під час дослідження усі діти мали нормальний рівень тиреотропного гормону.

Визначено поліморфізм гену *COL1A1*, а саме $+1245G>T$ (rs1800012). Тест-системою «Quick-DNA™ Universal Kit» (Zymo Research, США) виокремлена ДНК з периферійної крові для проведення молекулярно-генетичного дослідження.

Для визначення поліморфних варіантів $+1245G/T$ (rs1800012) гену *COL1A1* використано метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) проводився за допомогою модифікованих протоколів з олігонуклеотидними праймерами виробництва «Metabion», Німеччина та комерційним набором Dream Taq Green PCR MasterMix («Thermo Scientific», США).

Амплікони, тобто продукти ампліфікації фрагментів ДНК у подальшому піддавалися гідролітичному розщепленню ендонуклеазами рестрикції виробництва «Thermo Scientific», США із дотриманням відповідних температурних умов.

Рестрикційні фрагменти генів, що утворилися були пофарбовані за допомогою бромистого етидію та проаналізовані в агарозному гелі («CleverScientific», Великобританія) із проведенням горизонтального електрофорезу (Multi Sub Midi, Cleaver Scientific Ltd) із подальшою фотофіксацією поліморфізмів (рис.).

Результати дослідження статистично обраховували за допомогою програми Microsoft Excel. Усі дані проаналізовані непараметричними методами варіаційної статистики.

Нормальність розподілу генотипів у групах пацієнтів та контролю перевіряли за законом Харді-Вайнберга (χ^2). Для визначення чинників ризику використовували співвідношення шансів (OR), яке розраховували за допомогою програми MedCalc (2006).

Під час проведення дослідження дотримувалися основних принципів біоетики Конвенції Ради Європи

Таблиця 1 – Розподіл генотипів у здорових дітей та в дітей із ідіопатичною низькорослістю

<i>COL1A1</i> +1245G/T (rs1800012)	Пацієнти з ідіопатичною низькорослістю n (%)	Контроль n (%)	OR (95% CI)	P
T/T	1 (2,86)	16 (16,70)	0,15 (0,02-1,15)	0,07
T/G	11 (31,43)	27 (28,10)	1,17 (0,51-2,72)	0,71
G/G	23 (65,71)	53 (55,20)	1,56 (0,66-3,48)	0,28

Примітка: * – дані з джерела [15].

Таблиця 2 – Частоти алелів T та G у дітей із ідіопатичною низькорослістю

Група	Алелі	Абс. кількість	Частота	OR (95% CI)	p
Пацієнти з ідіопатичною низькорослістю	T	13	0,186	0,61 (0,26-1,01)	0,05
	G	57	0,814	1,95 (0,99-3,82)	0,05
Контроль*	T	59	0,307	-	-
	G	133	0,693		

Примітка: * – дані з джерела [15].

Таблиця 3 – Рівновага Хайді-Вайнберга

Група пацієнтів	Генотип			χ^2
	T/T	T/G	G/G	
Пацієнти з ІПН (наявний генотип)	1	11	23	$\chi^2=0,05$ $p=0,99$
Пацієнти з ІПН (очікуваний генотип)	1,21 (3,45%)	10,59 (30,24%)	23,21 (66,31%)	
Контроль (наявний генотип)*	16	27	53	$\chi^2=11,06$ $p=0,001$
Контроль (очікуваний генотип)*	9,09 (9,44%)	40,87 (42,57%)	46,07 (47,98%)	

Примітка: * – дані з джерела [5].

про права людини та біомедицину (4 квітня 1997 р.), Гельсінської декларації ВООЗ про етичні принципи проведення медичних досліджень за участю людей (1964-2013). Комісією з біомедичної етики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В.П. Комісаренка НАМН України» не виявлено моральних і правових порушень під час дослідження. Отримано інформовану згоду учасників та їх батьків або опікунів.

Результати дослідження та їх обговорення.

За групу контролю взято 96 практично здорових, не споріднених підлітків [15].

У групі досліджуваних кількість пацієнтів із генотипом T/G практично не відрізнялася від групи контролю. Досліджуваних дітей із гомозиготним генотипом T/T було у 5,84 рази менше, порівняно з контролем, а процентне співвідношення пацієнтів із генотипом G/G практично не відрізнялась від здорових осіб (табл. 1). Гетерозиготний генотипу T/G не достовірно підвищує ризик розвитку ІПН, OR=1,17, (95%CI 0,51-2,72; $p=0,71$), а наявність гомозиготного генотипу T/T, хоча він є патологічним – був у нашому випадку про-

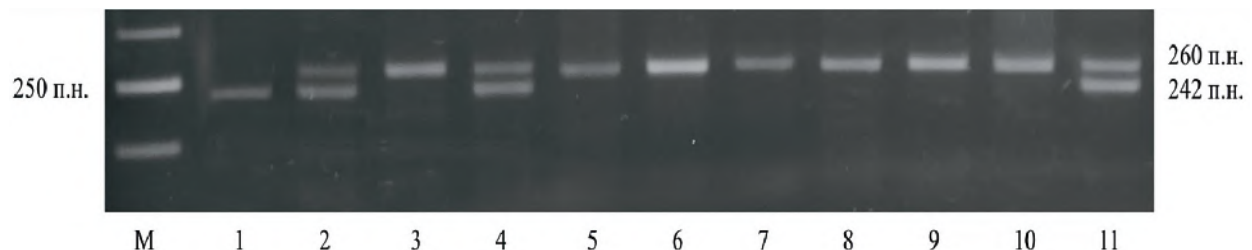


Рисунок – Електрофореграма варіантів поліморфізму $+1245G/T$ (rs1800012) гену *COL1A1*.

Примітки: М – маркер молекулярної ваги; зразки 3, 5-10 – генотип GG; зразки 2, 4, 11 – генотип GT; зразок 1 – генотип TT.

текторним, що може бути наслідком малої вибірки (OR=0,15, 95%CI 0,02-1,15, p=0,07).

Гомозиготний генотип G/G у досліджуваній групі також є чинником ризику розвитку ІПН, але не достовірно (OR=1,56, (95%CI 0,66-3,48, p=0,28)).

При генетичному аналізі у дітей із ІПН отримані наступні дані: носійство алелі G поліморфного локусу +1245G/T (rs1800012) гена COL1A1 достовірно є чинником ризику ІПН OR=1,95 (95%CI 0,99-2,82; p=0,05).

Алелем, який переважав у досліджуваних був G, як у контрольній групі (pG=0,693), так і в групі дітей із ІПН (pG=0,814). Частота алеля T була у 1,65 разів менша у пацієнтів (qT=0,186) у, ніж у групі здорових (qT=0,307; **табл. 2**).

Частоти алелів у дітей ІПН (pG=0,814, qT=0,186) суттєво відрізняються від відношення 1:1, що свідчить про порушення частоти алелів у популяції досліджуваних, і це можливо за рахунок малої вибірки.

Частоти алелів у пацієнтів із ІПН різко відрізнялися від таких у контрольній групі, що потребує подальшого дослідження на більшій кількості дітей, а розподіл генотипів відповідав рівновазі Харді-Вайнберга (**табл. 3**).

У когорті український дітей, як у контрольні групи переважали гомозиготні носії G/G.

Незважаючи на значну роль чинників навколишнього середовища та способу життя у визначенні індивідуального піку кісткової маси, на сьогодні визначені окремі гени, які беруть участь у регуляції кісткового метаболізму. Наявність поліморфізму деяких генів впливає на щільність кісток, склад кісткового матриксу, мікроархітектоніку кісток, а отже і на ріст самих кісток. Серед найпоширеніших поліморфізмів, що впливають на кістковий метаболізм є поліморфізм гена COL1A1 [16, 17].

Ген COL1A1 кодує альфа-ланцюг колагену типу I, що відповідає за пластичність кістки та її стійкість до розтягування. Поліморфізм в інтроні 1 гена COL1A1 змінює сайт зв'язування фактора транскрипції Sp1, змінюючи продукцію ланцюга альфа 1 і змінюючи його співвідношення 2:1 по відношенню до ланцюга альфа 2 з подальшим зниженням функціональності зрілого колагену типу I в кістках [18, 19].

Цей поліморфізм добре вивчений різними авторами та пов'язується із схильністю до остеопорозу та частою переломів внаслідок низької щільності кісткової тканини [20-23]. Консорціум GENOMOS провів

ретроспективний аналіз асоціації більш ніж 20000 людей із декількох європейських країн із наявністю поліморфізму гена COL1A1+1245G/T (rs1800012) та розвитком остеопорозу, довівши існування слабого позитивного корелятивного зв'язку між поліморфізмом Sp1 та ризиком переломів хребців та дуже слабого зв'язку між генотипом TT та зниженою мінеральною щільністю кісток [24].

Хоча наслідки впливу цього поліморфного варіанта очевидні у більш пізньому віці, його вплив на розвиток кісток чітко не визначено. Дослідження Cousminer D.L. показало роль поліморфізму варіанту COL1A1 у дитячому віці від 6 до 20 років на мінеральну щільність кісток залежно від віку (препубертатний, пубертатний та постпубертатний періоди) [25]. Доведено, що у досліджуваних, гомозиготних за генотипом TT, спостерігалася затримка нарощування кісткової тканини під час статевого розвитку. На відміну від попередніх педіатричних досліджень [21, 26, 27], були проаналізовані як хлопчики, так і дівчатка окремо і виявлено, що у дівчаток із поліморфізмом TT була нижча мінеральна щільність кісткової тканини до статевого дозрівання і пубертатне нарощування кісткової тканини починалося пізніше. Ці дівчатка пізніше «наздоганяли» мінеральну щільність кісток у більшості ділянок скелета після статевого дозрівання, що узгоджується зі слабкою кореляцією цього генотипу з пременопаузальною мінеральною щільністю кісток [24].

У хлопчиків траплялася та ж сама закономірність, що і у дівчат, але хлопчики із наявністю алелів T/T були меншого зросту в пубертатному віці, та продовжували рости в постпубертатному віці [28], що може бути при ІПН, як у нашому випадку.

Висновки.

Ризик розвитку ІПН підвищується за умов наявності генотипу T/G, але не достовірно (OR=1,17, (95%CI 0,51-2,72; p=0,71)); та достовірно, за умов носійства алелі G локусу +1245G/T (rs1800012) гена COL1A1 (OR=1,95 (95%CI 0,99-2,82; p=0,05)).

Наявність гомозиготної алелі T/T є патологічним, але у нашому дослідженні – не є чинником ризику ІПН.

Перспективи подальших досліджень.

Планується вивчити в подальшому рівні віт. D у дітей з даною патологією залежно від поліморфізму гена COL1A1.

References / Література

1. Rapaport R, Wit JM, Savage MO. Growth failure: 'idiopathic' only after a detailed diagnostic evaluation. *Endocr Connect*. 2021;10(3):R125-R138. DOI: [10.1530/EC-20-0585](https://doi.org/10.1530/EC-20-0585).
2. Kim YM, Lim HH, Kim E, Kim G, Kim M, So H, et al. Exploring the Genetic Causes for Postnatal Growth Failure in Children Born Non-Small for Gestational Age. *J Clin Med*. 2023;12(20):6508. DOI: [10.3390/jcm12206508](https://doi.org/10.3390/jcm12206508).
3. Al Shaikh A, Daftardar H, Alghamdi AA, Jamjoom M, Awidah S, Ahmed ME, et al. Effect of growth hormone treatment on children with idiopathic short stature (ISS), idiopathic growth hormone deficiency (IGHD), small for gestational age (SGA) and Turner syndrome (TS) in a tertiary care center. *Acta Biomed*. 2020;91(1):29-40. DOI: [10.23750/abm.v91i1.9182](https://doi.org/10.23750/abm.v91i1.9182).
4. Grimberg A, Allen DB. Growth hormone treatment for growth hormone deficiency and idiopathic short stature: new guidelines shaped by the presence and absence of evidence. *Curr Opin Pediatr*. 2017;29(4):466-471. DOI: [10.1097/MOP.0000000000000505](https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000505).
5. Cohen P, Rogol AD, Deal CL, Saenger P, Reiter EO, Ross JL, et al. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11):4210-7. DOI: [10.1210/jc.2008-0509](https://doi.org/10.1210/jc.2008-0509).
6. Zhang LQ, Liu H, Huang XF. Relation of JAGGED 1 and collagen type 1 alpha 1 polymorphisms with bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(10):7142-7.
7. Erdogan MO, Yildiz H, Artan S, Solak M, Taşcıoğlu F, Dündar U, et al. Association of estrogen receptor alpha and collagen type I alpha 1 gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2011;22(4):1219-25. DOI: [10.1007/s00198-010-1312-4](https://doi.org/10.1007/s00198-010-1312-4).
8. Hubacek JA, Weichetova M, Bohuslavova R, Skodova Z, Adamkova V, Stepan JJ. Genetic polymorphisms of TGF-beta, PAI-1, and COL1A-1, and determination of bone mineral density in Caucasian females. *Endocr Regul*. 2006;40(3):77-81.
9. Wawrzyniak A, Balawender K. Structural and Metabolic Changes in Bone. *Animals (Basel)*. 2022;12(15):1946. DOI: [10.3390/ani12151946](https://doi.org/10.3390/ani12151946).

10. Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, Marini JC. New perspectives on osteogenesis imperfecta. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(9):540-57. DOI: [10.1038/nrendo.2011.81](https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.81).
11. Kostik MM, Smirnov AM, Demin GS, Mnuskina MM, Scheplyagina LA, Larionova VI. Genetic polymorphisms of collagen type I $\alpha 1$ chain (COL1A1) gene increase the frequency of low bone mineral density in the subgroup of children with juvenile idiopathic arthritis. *EPMA J*. 2013;4(1):15. DOI: [10.1186/1878-5085-4-15](https://doi.org/10.1186/1878-5085-4-15).
12. Man SC, Chiriac M, Militaru MS, Trifa AP, Goia-Socol M, Georgescu CE. Association of COL1A1 SP1 and FOK-I VDR genetic polymorphisms in young male idiopathic osteoporosis. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2017;13(2):224-227. DOI: [10.4183/aeb.2017.224](https://doi.org/10.4183/aeb.2017.224).
13. Soibam D, Singh TA, Nandy P, Dewan SK, Baruah A. Sp1 Binding Site Polymorphism at COL1A1 Gene and Its Relation to Bone Mineral Density for Osteoporosis Risk Factor Among the Sikkimese Men and Women of Northeast India. *Indian J Clin Biochem*. 2019;34(2):230-233. DOI: [10.1007/s12291-017-0728-4](https://doi.org/10.1007/s12291-017-0728-4).
14. Singh M, Singh P, Singh S, Juneja PK, Kaur T. A haplotype derived from the common variants at the -1997G/T and Sp1 binding site of the COL1A1 gene influences risk of postmenopausal osteoporosis in India. *Rheumatol Int*. 2013;33(2):501-6. DOI: [10.1007/s00296-011-2192-4](https://doi.org/10.1007/s00296-011-2192-4).
15. Erdem M, Tüfekçi Ö, Kızıldağ S, Yılmaz Ş, Kızmaoğlu D, Eroğlu Filibeli B, et al. Investigation of the Relationship Between Fok1 and Col1A1 Gene Polymorphisms and Development of Treatment-Related Bone Complications in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Türk J Haematol*. 2019;36(1):12-18. DOI: [10.4274/tjh.galenos.2018.2018.0221](https://doi.org/10.4274/tjh.galenos.2018.2018.0221).
16. Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(6):2460-6. DOI: [10.1210/jcem.87.6.8621](https://doi.org/10.1210/jcem.87.6.8621).
17. Hampson G, Evans C, Pettitt RJ, Evans WD, Woodhead SJ, Peters JR, et al. Bone mineral density, collagen type 1 alpha 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1998;41(11):1314-20. DOI: [10.1007/s001250051071](https://doi.org/10.1007/s001250051071).
18. Jin H, Evangelou E, Ioannidis JP, Ralston SH. Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies. *Osteoporos Int*. 2011;22(3):911-21. DOI: [10.1007/s00198-010-1364-5](https://doi.org/10.1007/s00198-010-1364-5).
19. Lau EM, Choy DT, Li M, Woo J, Chung T, Sham A. The relationship between COL1A1 polymorphisms (Sp 1) and COL1A2 polymorphisms (Eco R1 and Puv II) with bone mineral density in Chinese men and women. *Calcif Tissue Int*. 2004;75(2):133-7. DOI: [10.1007/s00223-003-0008-6](https://doi.org/10.1007/s00223-003-0008-6).
20. Marini F, Parri S, Masi L, Ciuffi S, Guazzini A, Fabbri S, et al. COL1A1 Sp1 variation and bone phenotypes in an Italian population. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2013;10(2):133-8.
21. Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone*. 2003;32(6):711-7. DOI: [10.1016/s8756-3282\(03\)00087-5](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(03)00087-5).
22. Efsthadiou Z, Tsatsoulis A, Ioannidis JP. Association of collagen I alpha 1 Sp1 polymorphism with the risk of prevalent fractures: a meta-analysis. *J Bone Miner Res*. 2001;16(9):1586-92. DOI: [10.1359/jbmr.2001.16.9.1586](https://doi.org/10.1359/jbmr.2001.16.9.1586).
23. McClean E, Archbold GP, Taggart HM. Do the COL1A1 and Taq 1 vitamin D receptor polymorphisms have a role in identifying individuals at risk of developing osteoporosis? *Ulster Med J*. 2003;72(1):26-33.
24. Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML, Balcells S, Langdahl BL, Lips P, et al. Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. *PLoS Med*. 2006;3(4):e90. DOI: [10.1371/journal.pmed.0030090](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030090).
25. Cousminer DL, McCormack SE, Mitchell JA, Chesni A, Kindler JM, Kelly A, et al. Postmenopausal osteoporotic fracture-associated COL1A1 variant impacts bone accretion in girls. *Bone*. 2019;121:221-226. DOI: [10.1016/j.bone.2019.01.026](https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.01.026).
26. Sainz J, Van Tornout JM, Sayre J, Kaufman F, Gilsanz V. Association of collagen type 1 alpha1 gene polymorphism with bone density in early childhood. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(3):853-5. DOI: [10.1210/jcem.84.3.5575](https://doi.org/10.1210/jcem.84.3.5575).
27. Berg JP, Lehmann EH, Stakkestad JA, Haug E, Halse J. The Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I alpha 1 (COL1A1) gene is not associated with bone mineral density in healthy children, adolescents, and young adults. *Eur J Endocrinol*. 2000;143(2):261-5. DOI: [10.1530/eje.0.1430261](https://doi.org/10.1530/eje.0.1430261).
28. Mitchell JA, Cousminer DL, Zemel BS, Grant SF, Chesni A. Genetics of pediatric bone strength. *Bonekey Rep*. 2016;5:823. DOI: [10.1038/bonekey.2016.50](https://doi.org/10.1038/bonekey.2016.50).

ПОЛІМОРФІЗМ +1245G>T ГЕНА COL1A1 У ДІТЕЙ ІЗ ІДІОПАТИЧНОЮ НИЗЬКОРОСЛІСТЮ

Ризничук М. О.

Резюме. Метою нашого дослідження стало визначення поліморфізму +1245G>T гена COL1A1 у дітей із ідіопатичною низькорослістю.

Об'єкт і методи дослідження. Проведено генетичне дослідження 35 дітей із ідіопатичною низькорослістю, які перебували на лікуванні в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Середній вік дітей (28 хлопчик, 7 дівчат), включених у дослідження, становив 10,68±3,30 років. Проведено визначення поліморфізму гена COL1A1, а саме +1245G>T(rs1800012). Для визначення поліморфних варіантів +1245G/T (rs1800012) гену COL1A1 використовували метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ).

Результати. У групі хворих із ІПН частка генотипу T/G практично не відрізнялася з контролем. Пацієнтів із генотипом T/T – у 5,84 рази менше, ніж у контрольній групі. Наявність генотипу G/G у досліджуваній групі є чинником ризику розвитку ІПН, але не достовірно OR=1,56, (95%CI 0,66-3,48, p=0,28). Головним алелем в групі контролю є G (pG=0,693), так само, і в групі пацієнтів із ІПН (pG=0,814). Частота мінорного алеля T у пацієнтів (qT=0,186) у 1,65 разів менша, ніж у групі здорових осіб (qT=0,307).

Співвідношення частот алелів у дітей ІПН (pG=0,814, qT=0,186) суттєво відрізняється від співвідношення 1:1, що свідчить про порушення частоти алелів в українській популяції, і це можливо за рахунок малої вибірки.

Висновки. Наявність гетерозиготного генотипу T/G підвищує ризик розвитку ІПН, але не достовірно OR=1,17, (95%CI 0,51-2,72; p=0,71). Носійство алелі G поліморфного локусу +1245G/T (rs1800012) гена COL1A1 достовірно асоціюється з ризиком ІПН OR=1,95 (95%CI 0,99-2,82; p=0,05). Хоча носійство алелів T/T і є патологічним, в нашому дослідженні не доведено його вплив на ризик розвитку ідіопатичної низькорослості, що пов'язано, як ми думаємо, із малою вибіркою.

Ключові слова: ідіопатична низькорослість, діти, поліморфізм +1245G>T гена COL1A1.

POLYMORPHISM +1245G>T OF THE COL1A1 GENE IN CHILDREN WITH IDIOPATHIC SHORT STATURE

Ryznychuk M. O.

Abstract. The aim of our study was to investigate the +1245G>T polymorphism of the COL1A1 gene in children with idiopathic short stature (ISS).

Object and research methods. A genetic study was performed in 35 children with idiopathic short stature treated at the V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.

The mean age of the children included in the study (28 boys, 7 girls) was 10.68 ± 3.30 years. The polymorphism of the COL1A1 gene was determined to be +1245G>T(rs1800012). To determine the polymorphic variants +1245G/T(rs1800012) of the COL1A1 gene, the polymerase chain reaction (PCR) method was used, followed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis.

Results. In the group of patients with ISS, the proportion of the T/G genotype was practically the same as in the control group. Patients with the T/T genotype were 5.84 times less common than in the control group. The presence of the G/G genotype in the study group is a risk factor for the development of ISS, but not significant OR=1.56, (95%CI 0.66-3.48, $p=0.28$). The major allele in the control group is G ($pG=0.693$) as well as in the group of patients with ISS ($pG=0.814$). The frequency of the minor allele T in patients ($qT=0.186$) is 1.65 times lower than in the group of healthy individuals ($qT=0.307$).

The ratio of allele frequencies in children with ISS ($pG=0.814$, $qT=0.186$) differs significantly from the ratio of 1:1, which indicates a violation of the allele frequency in the Ukrainian population, and this is possible due to the small sample.

Conclusions. The presence of a heterozygous T/G genotype increases the risk of developing ISS, but not significantly OR=1.17, (95%CI 0.51-2.72; $p=0.71$). Carrying the G allele of the +1245G/T polymorphic locus (rs1800012) of the COL1A1 gene is significantly associated with the risk of ISS OR=1.95 (95%CI 0.99-2.82; $p=0.05$). Although the carriage of T/T alleles is pathological, our study did not prove its influence on the risk of idiopathic short stature, which we believe is due to the small sample size.

Key words: idiopathic short stature, children, +1245G>T polymorphism of the COL1A1 gene.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Ryznychuk M. O.: <https://orcid.org/0000-0002-3632-2138>^{ABCDEF}

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Ryznychuk Maryana Oleksandrivna / Ризничук Мар'яна Олександрівна

Bukovinian State Medical University / Буковинський державний медичний університет

Ukraine, 58002, Chernivtsi, 2 Teatralna Sq. / Адреса: Україна, 58002, м. Чернівці, Театральна пл. 2

Tel.: +380501920953 / Тел.: +380501920953

E-mail: rysnychuk.mariana@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article. / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 16.03.2024 / Стаття надійшла 16.03.2024 року
Accepted 21.08.2024 / Стаття прийнята до друку 21.08.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-3-174-374-385

UDC 616.33/.34-002-008.6-091.1:616.8-009.7]-053.2]](477)"364"

Slyusar N. A., Saltanova S. D.

THE CLINICAL COURSE OF FUNCTIONAL GASTROINTESTINAL DISORDERS ACCOMPANIED BY ABDOMINAL PAIN IN CHILDREN IN MARTIAL LAW

Bogomolets National Medical University (Kyiv, Ukraine)

nataliia.slyusar.p2@gmail.com

Functional gastrointestinal disorders (FGID) in children, according to their biopsychosocial model, occur as a result of the complex interaction of biological, psychoemotional and psychosocial factors through the gut-brain axis. Among school-age children, the most common are FGIDs accompanied by abdominal pain. For the third year, children in our country have been at the epicentre of martial law events due to Russia's full-scale invasion of Ukraine, which is the most potent stress factor for them that contributes to the occurrence of FGID and/or negatively affects their clinical course. The aim of the study was to investigate the peculiarities of the clinical course of FGID accompanied by abdominal pain in children under martial law. One hundred two children aged 6-17 years with functional dyspepsia and irritable bowel syndrome were examined. The study examined the features of pain and dyspeptic syndromes and the level of anxiety in children with these diseases. The clinical and anamnestic method was used to study the features of the clinical course of FGID accompanied by abdominal pain in children. The SCARED scale was used to determine the potential risks of development and the presence of emotional disorders associated with anxiety. Conclusions. The obtained data revealed the heterogeneity of the clinical picture in functional dyspepsia and irritable bowel syndrome in children under martial law, an increased level of anxiety, which should determine the treatment tactics for such patients.

Key words: functional gastrointestinal disorders, children, abdominal pain, functional dyspepsia, irritable bowel syndrome, martial law, anxiety.