

## GENETYCZNE WYZNACZNIKI OSTEOPOROZY

### GENETIC MARKERS OF OSTEOPOROSIS

Henryk Włodzimierz WITAS i Wioletta Izabela WUJCICKA

Zakład Biologii Molekularnej Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego  
w Łodzi

*Streszczenie:* Osteoporoza to przewlekła choroba metaboliczna, charakteryzująca się postępującym ubytkiem masy kostnej i dezorganizacją struktury przestrzennej kości. Zmiany chorobowe są skutkiem działania szeregu czynników, w tym dziedzicznych. Prawidłowy proces przebudowy kości (ang. *bone remodeling*) jest wynikiem równowagi pomiędzy osteoklastogenezą i osteoblastogenezą, dwoma podstawowymi procesami, których przebieg kontroluje szereg białek. Proliferacja i różnicowanie osteoklastów przebiega w obecności białek: PU.1, MITF, M-CSF, c-Src, PI-3K, c-Fms, RANK, NFATc1, NFκB i cFos/Fra-1. Aktywowanie fazy resorpcji podczas ciągłej przebudowy kości uzależnione jest od bezpośredniego kontaktu osteoblastów i osteoklastów, w którym pośredniczą m.in. receptory RANK z powierzchni osteoklastów i ligandy RANKL – cytokiny wydzielane przez osteoblasty. Szlak sygnalizacji Wnt i związane z nim białka LRP-5, LRP-6 oraz koreceptory białek Wnt są także zaangażowane w regulację funkcji osteoblastów. Już ponad trzy dziesięciolecia trwa poszukiwanie i identyfikacja genów/alleli predysponujących do fenotypu osteoporozy. Trzy najczęściej badane geny to: *VDR*, *COL1A1* i *ER*. Wszystkie analizowane geny przyporządkowano do czterech grup czynników biologicznych: cytokin, czynników wzrostowych, białkowych składników macierzy kości oraz hormonów kalcytropowych i ich receptorów. Kolagen typu I to białko fibrylarne, główny składnik macierzy kości, *VDR* – cytoplazmatyczny receptor witaminy D regulujący ekspresję docelowych genów i podobnie jak *ER* – receptor estrogenowy, odpowiadający za utrzymanie homeostazy kości. Pomimo nieustalonych jeszcze szczegółowo oddziaływań pomiędzy poszczególnymi allelami genu *LRP-5* i ekspresją i/lub funkcją transmembranowego białka LRP-5, sugeruje się ich możliwy wpływ na zmiany wartości parametru BMD oraz stopień ryzyka wystąpienia fenotypu osteoporozy. Z patofizjologią osteoporozy związane są, oprócz polimorficznych postaci genu *TGFβ-1*, także mutacje cytokin prozapalnych IL-1 i IL-6, których synteza związana jest m.in. z poziomem estrogenów u kobiet. Analizowane zmiany struktury pierwszorzędowej genetycznych wyznaczników osteoporozy to m.in. polimorficzne miejsca restrykcyjne *BsmI*, *ApaI*, *EcoRV*, *FokI* i *TaqI* genu *VDR* i ich związek z wartością BMD szyjki kości udowej oraz kośćca całego szkieletu. Szczególne zainteresowanie badaczy budzi polimorfizm Sp1 genu *COL1A1*, który według niektórych jest wyznacznikiem zmian struktury przestrzennej kości. Inne, badane warianty alleliczne genów-kandydatów związanych z fenotypem osteoporozy są podatne na trawienie enzymami *BstI*, *PvuII* i *XbaI* w genie *ERα*; polimorficzne miejsca restrykcyjne *PvuII* genu *CD38*, a także mutacje genów *OSCAR* i *RUNX2*. Pomimo szeregu prowadzonych dotychczas badań nad genetycznym podłożem osteoporozy pojawiło się wiele rozbieżnych wyników. Badania uwzględniające wiele czynników wpływają-

cych na fenotyp choroby doprowadzą zapewne do zidentyfikowania molekularnego wyznacznika użytecznego w diagnostyce i leczeniu osteoporozy.

*Słowa kluczowe:* osteoporoza, BMD, przebudowa kości, *COL1A1*, *VDR*, *ER*, *LRP-5*, *RUNX2*.

*Summary:* Osteoporosis is a chronic systemic disease characterized by progressive loss of bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue. Bone lesions are caused by different factors, including hereditary ones. A process named bone remodeling is the effect of balanced osteoclastogenesis and osteoblastogenesis, two primary processes controlled by a number of proteins. The osteoclasts proliferation and differentiation are regulated by: PU.1, MITF, M-CSF, c-Src, PI-3K, c-Fms, RANK, NFATc1, NFκB and cFos/Fra-1 proteins. Activation of bone resorption during remodeling depends on the direct interaction of osteoblasts and osteoclasts. Osteoblast cell surface protein RANK interacts with its ligand RANKL – the cytokine secreted by osteoblasts. Despite that, Wnt signalling pathway proteins and their coreceptors – LRP-5 and LRP-6 proteins, are involved in regulation of osteoblast function. Over 3 decades passed since identification of genes/alleles responsible for osteoporosis phenotype. The most intensively studied genes up to now are *VDR*, *COL1A1* and *ER*. Genes involved were invented as four groups of biological factors: cytokines, growth factors, bone matrix proteins and calciotropic hormones and receptors. Type I collagen is a fibrillar protein, the main constituent of bone matrix, *VDR* is cytoplasmic vitamin D receptor as well as *ER*, estrogen receptor, which regulates expression of target genes involved in bone homeostasis. The correlation between particular *LRP-5* alleles and function of transmembrane *LRP-5* protein is not clear, however it is suggested that polymorphisms of *LRP-5* gene may contribute to BMD alterations, thus influencing the risk of developing osteoporosis. Besides allelic variants of *TGFβ-1* gene, a number of mutations of proinflammatory cytokines *IL-1* and *IL-6* genes exist, of which translation products correlates with the level of estrogens in women which in turn may influence osteoporotic pathophysiology. Among sequence alterations analysed are polymorphic restriction sites *BsmI*, *ApaI*, *EcoRV*, *FokI* and *TaqI* of *VDR* gene and their association with femoral-neck and total skeleton BMD. Researchers are particularly interested in polymorphism at Sp1 binding site in *COL1A1* gene, which is suggested to be a genetic marker of microarchitectural bone deterioration. Moreover, there are a number of polymorphisms associated with osteoporotic phenotype i.e. *BstI*, *PvuII* i *XbaI* in *ERα* gene, *PvuII* in *CD38* gene as well as others in *OSCAR* and *RUNX2* genes. Despite a huge number of data on genetic background of osteoporosis, there are still many discrepancies. However genetic research on osteoporosis will surely lead to unequivocal identification of molecular markers which could be finally useful for diagnostic and therapeutic purposes.

*Key words:* osteoporosis, BMD, bone remodeling, *COL1A1*, *VDR*, *ER*, *LRP-5*, *RUNX2*.

## 1. WSTĘP

Zgodnie z raportem przygotowanym przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) osteoporoza stanowi coraz częściej problem dotyczący ludzi zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się. Aktualnie, na osteoporozę choruje około 75 mln ludzi na świecie, w tym, co trzecim chorym jest kobieta w wieku pomenopauzalnym. Osteoporoza w Polsce zagraża, co najmniej 5 milionom kobiet i 4 milionom mężczyzn, stając się istotnym problemem zdrowotnym i ekonomicznym. Znaczenie społeczne opisywanego problemu zdrowotnego ilustruje fakt, że złamanie szyjki kości udowej, zwane również „ostatnim złamaniem” jest trzecią co do częstości przyczyną zgonów w Polsce po chorobach krążenia i chorobach nowotworowych.

Pojęcie *osteoporoza* wywodzi się z języka greckiego (*osteon* – kość i *poros* – otwór, dziura, próżnia), w dokładnym tłumaczeniu oznaczając porowatość kości. *Osteoporoza* to przewlekła, uwarunkowana wieloczynnikowo choroba metaboliczna układu kostnego,

przejawiająca się zmniejszeniem gęstości masy kostnej, powodującej zmiany jej struktury i w następstwie wzrost ryzyka złamań kości [32, 37]. Choroba towarzyszyła człowiekowi najpewniej od zarania dziejów, ale dopiero niedawno stała się poważnym problemem społecznym. Niewątpliwie, fakt zwiększenia średniej długości życia człowieka [30] przyczynił się do rozpoznania problemu. Już na początku XIX wieku wybitny angielski chirurg sir Astley Cooper, próbując wyjaśnić fakt częstszych złamań kości u ludzi starszych, opisał rozluźnianie struktury tkanki kostnej, nasilające się wraz z wiekiem. Mniej więcej w tym samym czasie Johan Lobstein wprowadził pojęcie osteoporozy, chociaż, jak dzisiaj wiadomo, terminem tym określił wtedy zmiany chorobowe znane dzisiaj pod nazwą wrodzonej łamliwości kości – *osteogenesis imperfecta* [30].

Wśród poznanych czynników ryzyka zachorowania na osteoporozę wymieniane są: szczupła budowa ciała, wiek powyżej 65 lat, okres menopauzalny, niedostateczne wchłanianie wapnia i witaminy D, nadmierne spożycie kawy, alkoholu, coca-coli, palenie papierosów i długotrwałe unieruchomienie. Wiadomo także, że fenotyp osteoporotyczny jest bardziej prawdopodobny u osób chorych na nadczynność tarczycy lub przynależność do cukrzycy, chorobę Cushinga, nowotwory oraz u pacjentów, u których przez dłuższy czas stosowano sterydoterapię, terapię przeciwzakrzepową lub przeciwpadaczkową.

Oprócz właściwego stylu życia, odpowiedniej diety i ćwiczeń fizycznych podczas kształtowania szkieletu człowieka oraz utrzymania równowagi dynamicznej zmian masy kostnej u osób dorosłych i starszych udział predyspozycji odziedziczonej po rodzicach jest znaczący i stanowi od 50 do 85% [10, 15]. Fenotypowe zmiany osteoporotyczne charakteryzowane są zmianą wartości powszechnie przyjętych wskaźników opisujących jakość tkanki kostnej, tj. BMD (ang. *Bone Mineral Density*), BUA (ang. *Broadband Ultrasound Attenuation*), VOS (ang. *Velocity Of Sound*), odpowiadających za 50–85% zmian masy kostnej [40]. Liczne i niejednoznaczne wyniki uwarunkowań genetycznych osteoporozy obejmują analizę wpływu szeregu czynników genetycznych także na inne wyznaczniki ryzyka złamań kości, w tym zmiany geometrii szyjki kości udowej, siłę mięśni, wyznaczniki metabolizmu układu kostnego, wskaźnik BMI (ang. *Body Mass Index*), a także wiek i menopauzę [40]. Spośród wielu sposobów identyfikacji genów warunkujących fenotyp osteoporozy lub z nim związanych, najczęściej przeprowadzana jest analiza związku pomiędzy poszczególnymi miejscami polimorficznymi w genach-kandydatach z manifestowanymi fenotypowo zmianami osteoporotycznymi oraz badania nierównowagi sprzężeń. W niniejszym artykule dokonaliśmy przeglądu literatury opisującej związki szeregu badanych wariantów polimorficznych genów z fenotypem osteoporozy.

## 2. PODSTAWY MOLEKULARNE PROCESU KOSTNIENIA

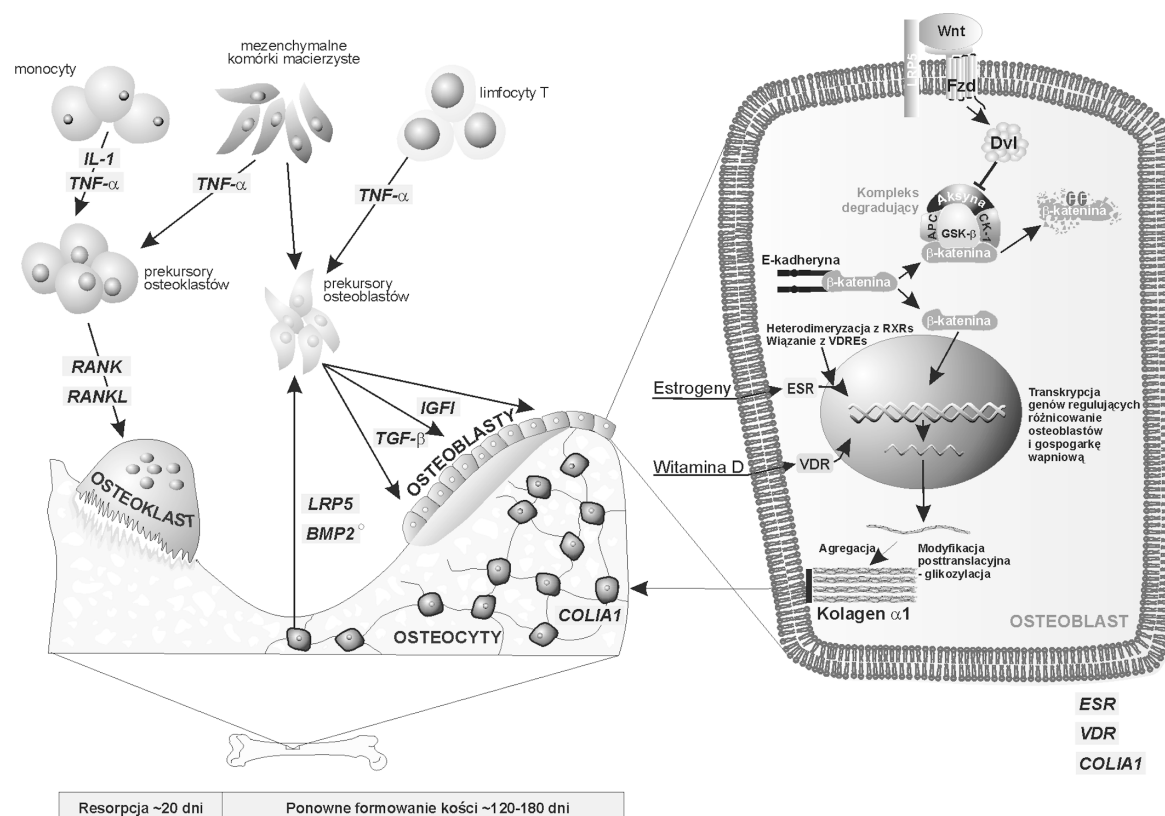
Określenie genetycznego podłoża osteoporozy, choroby uwarunkowanej wieloczynnikowo, wymaga znajomości podstaw molekularnych procesu kostnienia, na który składa się osteoklastogeneza i osteoblastogeneza. Istniejąca równowaga między nimi odpowiada za proces przebudowy kości (ang. *bone remodeling*) [36].

*Osteoklasty* – komórki kościogubne wywodzą się z monocytów, od których odróżnia je spolaryzowana lokalizacja poszczególnych białek wewnątrzkomórkowych i charakterystyczny kształt, sprzyjające przyleganiu do kości i jej resorpcji. Produkują także swoiste białka, np. katepsynę K [36]. Pierwszym, który przyczynia się do powstania linii osteoklastów, jest czynnik transkrypcyjny PU.1, który warunkując powstawanie późnych komórek monocytarnych odpowiada jednocześnie za nieswoiste różnicowanie wczesnych komórek monocytarnych [36]. Następnie, należący do rodziny białek MITF (ang. *Microphthalmia-associated Transcription Factor*), czynnik M-CSF (ang. *Macrophage Colony-Stimulating Factor*), związany z błoną lub występujący w postaci rozpuszczonej, warunkuje proliferację i przeżywanie prekursorów osteoklastów, a także odpowiada za aktywność dojrzałych osteoklastów (ich rozprzestrzenianie, ruchliwość i organizację cytoszkieletu) [36]. W procesie tym udział biorą kinazy c-Src (ang. *cellular-Sarcoma*) i PI-3K (ang. *PhosphatidyloInositol 3-Kinase*) działające na białko c-Fms – receptor czynnika M-CSF, zlokalizowany na prekursorach osteoklastów. Na komórkach tych ekspresji ulega także receptor RANK (ang. *Receptor Activator of NFκB*), z którym oddziałuje cytokina RANKL (ang. *Receptor Activator of NFκB Ligand*) należąca do rodziny czynników TNF (ang. *Tumor Necrosis Factor*). Efektem tego jest aktywacja czynników transkrypcyjnych: NFATc1 (ang. *Nuclear Factor of Activated T cells transcription complex 1*), NFκB (ang. *Nuclear Factor κB*) i cFos/Fra-1 (ang. *cellular Finkel-Biskis-Jenkins murine osteosarcoma*). Czynniki NFATc1 kieruje komórki prekursorowe na drogę osteoklastogenezy nawet, kiedy brakuje RANKL. Nie wiemy dokładnie, w jaki sposób czynnik NFκB wpływa na dojrzałe osteoklasty, choć stwierdzono, że delecja genu kodującego czynnik transkrypcyjny NFκB odpowiada za niezależną od osteoklastów, rzadką, dziedziczną chorobę – marmurowatość kości, zwaną również chorobą Albersa i Schönberga. Kostnienie wymaga białka c-Fos, ponieważ odpowiada ono za osteoklastogenezę monocytarnych prekursorów osteoklastów, niezależnie od rozwoju makrofagów [30].

Oddziaływanie RANK/RANKL może być zakłócone przez rozpuszczalne OPG (ang. *OsteoProteGerin*) [36]. Czynniki biorące udział w resorpcji tkanki kostnej mogą także stymulować aktywność białka COX2 (ang. *CycloOxygenase-2*) [30], warunkując w rezultacie wzmocnioną odpowiedź na cytokinę RANKL oraz OPG, za pośrednictwem prostaglandyn [30].

Ostatnio wskazano także na znaczenie szlaku sygnalizacji Wnt (ang. *Wingless-type*) w procesie regulacji funkcji osteoblastów [30]. Białka Wnt podczas pierwszego etapu transmisji sygnału komórkowego przyłączają się do ich receptorów błonowych (białek Fz, ang. *Frizzled*) [13]. Z sygnalizowaniem Wnt związane są także szlak β-katenin oraz oddziaływanie białka BMP2 (ang. *Bone Morphogenetic Protein 2*). Białko SOST (ang. *SclerOSTin*) hamuje aktywność zarówno BMP2, jak i przemian Wnt. Koreceptorami białek Wnt są białka LRP-5 (ang. *Low density lipoprotein Receptor-related Protein 5*) i LRP-6 (ang. *Low density lipoprotein Receptor-related Protein 6*). Wewnątrzkomórkowa domena białka LRP-5 wiąże aktynę – białko o charakterze rusztowania (ang. *scaffolding protein*), wiążące szereg innych białek w tym: APC (ang. *Adenomatous Polyposis Coli*), Gsk3 (ang. *Glycogen synthase kinase 3*), Ck1 (ang. *Casein kinase 1*), β-kateninę (ang. *β-catenin*) [13]. Za pośrednictwem sygnalizacji Wnt białko LRP-5 bierze udział w proliferacji i różnicowaniu osteoblastów [13, 30].

Metabolizm kości zależy od hormonów płciowych: androgenów i estrogenów [30, 39]. Zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn estrogeny pełnią zasadniczą rolę podczas zamykania



RYCINA 1. Niektóre geny i produkty ich ekspresji biorące udział w metabolizmie układu kostnego: *APC* – gen dla białka APC, *BMP-2* – gen dla białka morfogenezy układu kostnego, *COL1A1* – gen dla kolagenu typu I, *Ckl* – gen dla kinazy kazeinowej, *Dvl* – gen dla białka Dvl, *ESR* – gen dla receptora hormonów estrogenowych, *Fzd* – gen dla białka *Frizzled*, *GSK-β* – gen dla kinazy syntazy glikogenowej, *IGF-1* – gen dla insulinopodobnego czynnika wzrostu, *IL-1* – gen dla interleukiny-1, *LRP-5* – gen dla białka związanego z receptorem lipoproteiny o niskiej gęstości, *RANK* – gen dla receptora aktywującego czynnik NFκB, *RANKL* – gen dla liganda receptora aktywującego czynnik NFκB, *RXR*s – gen dla receptora siatkówkowego X, *TGF-β* – gen dla transformującego czynnika wzrostu β, *TNF-α* – gen dla czynnika martwicy nowotworu α, *VDR* – gen dla receptora witaminy D, VDRE – sekwencja regulatorowa DNA rozpoznawana przez receptory witaminy D aktywowane wiązaniem się liganda, Wnt – białko *wingless type* (opracowanie własne, wg [8, 13, 31])

nasady kości i regulacji metabolizmu kości [30]. Chociaż wiele badań wskazuje na funkcję androgenów w procesie różnicowania osteoblastów, ostatnie doniesienia wskazują, że androgeny mają swój udział tylko w zmniejszaniu liczby osteoblastów i częstości apoptozy osteocytów [39]. Wśród trzech najczęściej wymienianych czynników, których ekspresja regulowana jest stężeniem androgenów, są TGF- $\beta$  (ang. *Transforming Growth Factor- $\beta$* ), IGFs (ang. *Insulin-like Growth Factors*) i IL-6 (ang. *InterLeukin-6*) [39]. Czynniki TGF- $\beta$  i IGFs biorą udział w tworzeniu kości, podczas gdy interleukina-6 odpowiada za osteoklastogenezę. Zatem, androgeny zaznaczają swój udział w metabolizmie układu kostnego poprzez indukcję ekspresji czynników TGF- $\beta$  i IGFs lub hamowanie ekspresji IL-6. Androgeny hamują także ekspresję białek gp80 i gp130, stanowiących podjednostki receptora interleukiny-6. Estrogen natomiast bierze udział w przyspieszaniu apoptozy osteoklastów, czemu towarzyszy wzrost ekspresji TGF- $\beta$  [39].

### 3. GENY A ZMIANY W STRUKTURZE KOŚCI

Kostnienie i utrzymywanie prawidłowej struktury tkanki kostnej składają się na złożony, wieloetapowy proces, kontrolowany przez wiele genów. Szczególne znaczenie ma równowaga pomiędzy resorpcją i odtwarzaniem tkanki kostnej. Jej zaburzenie prowadzi do ciągłych zmian stanu fizykochemicznego kości i w rezultacie rozluźnienia i osłabienia jej struktury [30]. Już od ponad dwóch, trzech dziesięcioleci [46] podejmowane są próby zidentyfikowania wyznaczników molekularnych, genów/alleli [4], pośrednio lub bezpośrednio wpływających na homeostazę kości. Pośród genów-kandydatów wymieniane najczęściej [46] to: geny kodujące receptor witaminy D – *VDR* (ang. *Vitamin D Receptor*) [10, 43, 45], kolagen typ I – *COL1A1* [12, 20, 32] i receptor estrogenowy – *ER1* (ang. *Estrogen Receptor 1*) [11, 44], a także inne, np. *TGF $\beta$ -1* (ang. *Transforming Growth Factor  $\beta$ -1*), *IL-6* [22, 25], *CYP-19* (ang. *aromatase gene*) [42], *TNF2* (ang. *Tumor Necrosis Factor 2*), *IGF-1* (ang. *Insulin-like Growth Factor-1*), *CT* (ang. *CalciTonin*), *CTR* (ang. *CalciTonin Receptor*), *IL-ra* (ang. *InterLeukin-1 receptor antagonist*), *OPG*. Geny te przyporządkowywane są zazwyczaj do czterech grup czynników biologicznych: cytokin (*IL-6*, *IL-1*), czynników wzrostowych (*TGF $\beta$ -1*, *IGF-1*, *TNF*), białkowych składników macierzy kości (*COL1A1* oraz *COL1A2*, *BGP*, *AHSG*) oraz hormonów kalcytropowych i ich receptorów (*VDR*, *ER- $\alpha$* , *ER- $\beta$* , *CYP19*, *AR*) [21]. Analizowane są coraz to nowe geny, np. *ApoE* (ang. *Apolipoprotein E*), *MTHFR* (ang. *MethyleneTetraHydroFolate Reductase*), *RUNX2* [28, 41].

### 4. FUNKCJA BIOLOGICZNA BIAŁKOWYCH PRODUKTÓW EKSPRESJI GENÓW – KANDYDATÓW ZWIĄZANYCH Z OSTEOPOROZĄ

#### Kolagen

Funkcja strukturalna produktu białkowego genu *COL1A1* (*locus* 17q21.3-q22 i 7q21.3-q22) kodującego główny składnik (90%) macierzy organicznej tkanki kostnej tłumaczy często podejmowaną, szczegółową analizę molekularną jego alleli i poszukiwanie związku pomiędzy strukturą genu a podatnością na złamanie kości [9, 13].

Pojęciem *kolagen* opisywana jest grupa podobnych strukturalnie i funkcjonalnie cząsteczek fibrylarnych stanowiących w organizmach ssaków ok. 25% wszystkich białek. Spośród kolagenów typu I, II, III, V i IX, których łańcuchy budują cząsteczki o charakterze fibrylarnym, podstawową formę budulcową tkanki kostnej stanowi kolagen typu I [13]. Cząsteczka typu I jest prawoskrętnym heliksem zbudowanym z 3 lewoskrętnych łańcuchów białkowych: 2 heliks alfa<sub>1</sub>(I) i 1 heliksu alfa<sub>2</sub>(II), o długości 300 Å i średnicy 15 Å. Poszczególne łańcuchy prokolagenowe kodowane są przez oddzielne geny. Heliks pro-alfa<sub>1</sub>(I) kodowany jest przez gen zlokalizowany w *locus* 17q21.3-q22, o długości 18 kpz, w skład którego wchodzi 51 egzonów. Heliks pro-alfa<sub>2</sub>(II) kodowany jest przez gen o długości 38 kpz zlokalizowany w *locus* 7q21.3-q22 i zbudowany z 52 eksonów [18]. Kolagen typu I tworzy fibryle, z których formowane są następnie większe włókna. Fibryle zlokalizowane są w macierzy pozakomórkowej i stanowią podstawowy element budulcowy ścięgien, więzadeł, skóry i kości [18].

### VDR

Jedną ze struktur o podstawowym znaczeniu dla metabolizmu kości jest receptor witaminy D, kodowany przez gen *VDR* (*locus* 12q13.11). Gen o długości 63493 pz zbudowany jest z 11 egzonów i koduje białko złożone z 473 aminokwasów. VDR należy do rodziny cytoplazmatycznych receptorów hormonów sterydowych. Receptor witaminy D, który odgrywa główną rolę w metabolizmie witaminy D, po przyłączeniu w cytoplazmie czynnej formy witaminy D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) uruchamia kaskadę reakcji. Heterodimeryzacja VDR z RXRs (ang. *Retinoid X Receptors*) oraz specyficzne wiązanie z sekwencją VDRE (ang. *Vitamin D Response Elements*) odpowiada za regulację ekspresji docelowych genów. VDR, biorąc udział w różnicowaniu osteoblastów, gospodarce wapniowej i fosforanowej kości, jelit i przytarczyc, ma tym samym wpływ na mineralizację kości i ich przebudowę (ang. *bone remodeling*) [13].

### Receptor estrogenowy

Receptor estrogenowy to jeszcze jeden, oprócz receptora witaminy D, istotny element układu odpowiedzialnego za utrzymanie homeostazy kości [11]. Spośród dwóch izoform receptora estrogenowego, tj. ER $\alpha$  i ER $\beta$ , pierwsza odgrywa znaczącą rolę w metabolizmie kości. Kodujący ją gen zlokalizowany jest w *locus* 6q25.1, składa się z 8 eksonów i ma długość ok. 140 kpz [11].

### LRP-5 i BMP2

W literaturze ostatnich lat [14, 30, 46] pojawiają się doniesienia na temat dwóch innych białek, którym przypisywany jest udział w procesie kostnienia i utrzymywania struktury tkanki kostnej: LRP-5 i BMP2. Wpływ polimorficznych alleli, kodujących odpowiednie cząsteczki białkowe na strukturę kości, manifestuje się zmianami osteoporotycznymi u osób z określonymi wariantami genu. Funkcją białek BMP, należących do rodziny czynników TGF $\beta$ , jest udział w regulacji różnicowania osteoblastów i formowaniu kości [31, 46]. Ostatnie badania wskazują, że polimorficzne warianty białek BMP mogą kandydować do miana czynników predysponujących do fenotypu osteoporozy [31]. Gen *LRP-5*, zlokalizowany u człowieka w *locus* 11q12-13,

koduje wysokocząsteczkowe, transmembranowe białko LRP-5, należące do rodziny LDLR (ang. *LDL Receptor-related family*), zbudowane z 1615 aminokwasów [13]. Rodzina LDLR obejmuje receptory powierzchniowe pełniące funkcję w różnych biologicznych przemianach, m.in. metabolizmie lipidów. Wyniki ostatnich badań sugerują znaczenie mutacji genu *LRP-5* dla wielu chorób układu kostnego, np. OPPG (*OsteoPorosis-PseudoGlioma*) [1], zwiększenia masy kości, a także osteoporozy [7, 17]. Mimo że nieznane są szczegóły mechanizmu warunkującego patologiczny fenotyp, to jednak podejmowane są próby analizy związku pomiędzy poszczególnymi miejscami polimorficznymi w genie *LRP-5* a wartością parametru BMD [13].

### TGF $\beta$ -1

*TGF $\beta$ -1* jest zbudowany z 7 egzonów i zlokalizowany w *locus* 19q13. Kodowane białko – transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ 1 – reguluje m.in. proliferację i różnicowanie komórek, a także indukuje proces transformacji i prawdopodobnie bierze udział w utrzymywaniu homeostazy układu kostnego.

### IL-1, IL-6

Oprócz wymienionych wyżej, tylko niektórych czynników zaangażowanych w procesie kostnienia, nie sposób nie wspomnieć o cytokinach prozapalnych IL-1 i IL-6, których synteza wzrasta u kobiet po menopauzie jako efekt obniżenia poziomu estrogenów [34]. Wśród cytokin na szczególną uwagę zasługuje interleukina-6 [22, 25]. Sugeruje się, że obecność w genomie jednej z odmian polimorficznych kodującego ją genu (substytucja G-174-C) może mieć związek ze zmianami osteoporotycznymi. Gen *IL-6* zlokalizowany w *locus* 7p21 koduje białko zbudowane z 212 aminokwasów. IL-6, wpływając na metabolizm kostny, kojarzona jest z wieloma schorzeniami, np. osteoporozą, chorobą Pageta, reumatoidalnym zapaleniem stawów oraz nadczynnością przytarczyc [22].

## 5. POLIMORFIZM GENÓW WYZNACZNIKIEM MOLEKULARNYM RYZYKA ZŁAMAŃ KOŚCI

Prowadzone od ponad 20 lat badania molekularne mają na celu określenie czynników genetycznych, które warunkują lub predysponują do osteoporotycznych zmian identyfikowanych zmianą wartości wskaźnika BMD [33, 46].

Jednym z pierwszych, analizowanych pod tym względem genów był *VDR* [21]. Związek miejsc restrykcyjnych *BsmI*, *ApaI* i *EcoRV* tego genu ze zmianami w metabolizmie układu kostnego opisali po raz pierwszy Morrison i wsp. w 1992 roku [27]. Później, wielokrotnie opisywano inne zmiany struktury pierwszorzędowej genu *VDR*, w tym np. miejsca restrykcyjne *TaqI*, *FokI* i polimorfizm miejsca wiązania czynnika transkrypcyjnego *Cdx2*, próbując przyporządkować je zróżnicowanemu fenotypowi, np. zmienionej wartości wskaźnika BMD w obrębie kręgow łędźwiowych (LS-BMD, ang. *Lumbar-Spine Bone Mineral Density*), szyjki kości udowej (FN-BMD, ang. *Femoral-Neck BMD*), trójkąta Warda, kośćca całego szkieletu, kości biodrowej (TH-BMD, ang. *Total-Hip BMD*), a także tempem utraty masy kostnej, absorpcją wapnia, wydzielaniem wapnia z moczem, maksymalnym poziomem masy kostnej (ang. *peak bone mass*) oraz występującym w



surowicy krwi poziomem niektórych wskaźników biochemicznych (alkalicznej fosfatazy, osteokalcyny, 1,25-dihydroksywitaminy D) [21].

W szeregu dotychczasowych opracowań podejmowano problem uwarunkowania genetycznego osteoporozy, często prezentując sprzeczne wyniki na temat związku poszczególnych alleli genu *VDR* z fenotypem osteoporozy [42]. Przypuszczalnie efekt taki może wynikać m.in. z ograniczonego udziału receptora VDR w metabolizmie kostnym. Sugeruje się, że analizowana korelacja pomiędzy genotypem VDR a wartością wskaźnika BMD jest modyfikowana ilością przyjmowanego wapnia i witaminy [42].

W 2005 roku Xu i wsp. [43] badali wpływ polimorficznego miejsca *ApaI* w genie *VDR* na wartość BMD kości biodrowej. Identyfikując je w grupie 260 zdrowych chińskich kobiet w wieku pomenopauzalnym stwierdzili, że jest ono w sposób statystycznie istotny związane z wartością współczynnika BMD i odpowiada za 3,32% zmian jego wartości. Jednak, po uwzględnieniu wieku osób badanych i charakterystycznej wartości BMI, nie potwierdzono statystycznie znamiennej zależności pomiędzy obecnością polimorfizmu *ApaI* i wartością BMD. Wyniki tych badań potwierdziły jednocześnie, że 26,35% obserwowanych zmian BMD ma związek z wartością współczynnika BMI, co może wyjaśniać wiele rozbieżnych danych otrzymywanych podczas wcześniej przeprowadzanych badań [21, 42]. Także Morita i wsp. [26] wykazali brak jednoznacznego związku pomiędzy występowaniem miejsc polimorficznych *ApaI*, *TaqI* i *FokI* genu *VDR* a wartością BMD kręgów lędźwiowych, kości biodrowej i dystalnej części przedramienia u japońskich kobiet.

Istotne znaczenie dla podejmowanych wciąż prób ustalania molekularnego podłoża osteoporozy mają dwa ostatnio opublikowane raporty badań o charakterze masowym. Uitterlinden i wsp. [38] oraz Ralston i wsp. [32] publikują dane obejmujące ponad 20 tys. osób przebadanych przez 9 europejskich zespołów badawczych. Analizowano związek występowania alleli genów *VDR* i *COL1A1* z wartością BMD oraz częstością złamań. Uitterlinden i wsp. [38] dowiedli, że analizowane u 26242 osób miejsca restrykcyjne *FokI*, *BsmI*, *ApaI* i *TaqI* genu *VDR* nie stanowią wskaźników zmian wartości BMD oraz częstości złamań. Wykazano jednocześnie tylko niewielki związek polimorficznego miejsca *Cdx2* z ryzykiem złamania kręgów. W drugiej zaś pracy [32] podano wyniki analizy związku polimorficznego miejsca G/T, zlokalizowanego w genie *COL1A1*, a dokładnie w miejscu wiązania czynnika transkrypcyjnego Sp1, z fenotypem osteoporotycznym. Przyczynkiem do podjęcia przez Ralstona i wsp. takich badań stały się zapewne rozbieżne wyniki wcześniejszych analiz transwersji G/T i prób identyfikacji jej jako wyznacznika molekularnego zmian osteoporotycznych u jej nosicieli. Wykazano związek polimorfizmu tego czynnika z obniżeniem wartości BMD, jak również uznano, że mutacja ta może predysponować do złamań kręgów u kobiet, niezależnie od zmian wartości wskaźnika BMD. Mezquita-Raya i wsp. [23] w 2002 roku opisali polimorfizm *Sp1* genu *COL1A1* jako dogodny wskaźnik predyspozycji do złamań kręgów, niezależny od masy kostnej. Badając próbę 43 kobiet w wieku pomenopauzalnym ze stwierdzonym złamaniem kości oraz grupę odniesienia 101 kobiet-rówieśniczek bez złamań, stwierdzono, że częstość allelu T, a w konsekwencji genotypów GT i TT, była większa w grupie chorych. Stewart i wsp. [35], Pluijm i wsp. [29], Gerdhem i wsp. [12], Álvarez-Hermendez i wsp. [3] także wykazali związek polimorfizmu *Sp1* w genie *COL1A1* ze

zmianami gęstości mineralnej kości i częstością obserwowanych złamań lub zwiększonym ryzykiem ich wystąpienia.

Albagha i wsp. badali związek pomiędzy polimorficznymi wariantami genu *ERα* i utratą masy kostnej w grupie 3054 szkockich kobiet w wieku pomenopauzalnym [2]. Stwierdzili, że haplotyp *px* (oznaczający występowanie miejsc restrykcyjnych *PvuII* i *XbaI* w intronie 1 genu *ESR1*) koreluje z obniżoną wartością BMD kości biodrowej, a także zwiększonym tempem utraty masy kostnej szyjki kości udowej. Podobną zależność badał Gennari i wsp. [11], nie wykazując jednak istotnego statystycznie związku miejsc restrykcyjnych *PvuII* i *XbaI* z wartością BMD kręgów lędźwiowych i kości udowej. Obserwowano jedynie tendencję do wzrostu gęstości mineralnej kości u kobiet z genotypem *ERPP*. Także inni, w tym Langdahl i wsp. [19] stwierdzili brak różnic w częstości występowania polimorficznych miejsc *BstUI*, *PvuII* i *XbaI* pomiędzy osobami, u których dochodziło do złamania kręgów, a osobami zdrowymi. Zauważono także nieznaczny wpływ liczby powtórzeń TA w regionie promotorowym genu *ERα* na zmniejszenie wartości BMD kręgów lędźwiowych i kości biodrowej [19]. W innej pracy Yim i wsp. [44], badając 284 koreańskie kobiety w wieku pomenopauzalnym, wykazali brak związku pomiędzy liczbą powtórzeń TA (najczęściej (TA)<sub>14</sub>) w promotorze genu *ERα* a zmianami gęstości mineralnej kręgów lędźwiowych szyjki kości udowej i markerów kostnych. Stwierdzili jednak, że badany polimorfizm wpływa w sposób istotny na zmiany gęstości mineralnej kręgów lędźwiowych u kobiet, które od roku przyjmowały hormonalną terapię zastępczą – HRT (ang. *Hormonal Replacement Therapy*) [44].

Wśród szeregu badanych ostatnio alleli w aspekcie związku z osteoporozą ważne miejsce zajmują allele genu *LRP-5* [14, 17]. Koller i wsp. [17] analizowali 12 jednonukleotydowych miejsc polimorficznych (SNPs) w genie *LRP-5* i znaleźli istotną statystycznie zależność ze zmianami wartości BMD kości biodrowej i kręgów. Zmienione allele odpowiadały za 0,8% różnic w gęstości mineralnej szyjki kości udowej oraz 1,1% różnic w wartości BMD kręgów. Ferrari i wsp. [7], badając próbę 889 zdrowych osób, wykazali związek mutacji typu zmiany sensu (substytucja 2047 G→A) w egzonie 9 genu *LRP-5* z wartością LS-BMC (ang. *Lumbar-Spine Bone Mineral Content*), powierzchnią kości i wzrostem badanych, co odpowiadało za 15% zmian wskazanych parametrów. Van Meurs i wsp. [40], badając próbę mężczyzn w starszym wieku, przedstawili istotny wpływ polimorficznych genów *LRP-5* i *LRP-6* na fenotyp osteoporozy, wyrażający się 60% wzrostem ryzyka złamań u nosicieli pierwszego bądź drugiego wariantu allelicznego oraz 140% wzrostem ryzyka u nosicieli obu polimorfizmów. Wskazane osteoporotyczne zmiany korelowały z substytucją C165215T w egzonie 18 genu *LRP-5*, powodującą zamianę alaniny w walinę, jak również substytucją Ile1062Val w genie *LRP-6*. W badaniach tych van Meurs i wsp. [40] wykazali również, że obserwowane ryzyko złamań u mężczyzn było niezależne od wieku, wzrostu, masy ciała, a także wartości wskaźnika BMD. Mizuguchi i wsp. [24] analizowali związek 5 jednonukleotydowych miejsc polimorficznych (SNPs) genu *LRP-5* w próbie 481 japońskich kobiet, spośród których 3 substytucje, tj. 2220 C→T w egzonie 10, 17→30 G → A w intronie 17 i 3989 C →T w egzonie 18 były skorelowane ze zmianami wartości BMD. Na związek zmian struktury pierwszorzędowej genu *LRP-5* ze zmianami wartości BMD wskazują także wyniki Koay i wsp. [16]. Przebadano grupę 152 osób

ze zmianami osteoporotycznymi oraz ich rodziny (597 osób). Analizowano 10 SNPs, z których 8 odznaczało się częstością alleli > 5%. Stwierdzono, że występowanie haplotypów, złożonych z dwóch do trzech polimorfizmów spośród wskazanych: G121513A, C135242T, G138351A, C141759T, było związane z wartościami wskaźnika BMD, a polimorfizmowi SNP C165215T towarzyszyły zmiany wartości gęstości mineralnej kości biodrowej i szyjki kości udowej. Korelacja ta, podobnie jak w badaniach van Meurs i wsp. [40] była bardziej zaznaczona w grupie mężczyzn niż kobiet.

Ostatnio obiektem zainteresowania stał się gen *CD38* zlokalizowany w *locus* 4p15 i ulegający ekspresji w wielu rodzajach komórek w tym osteoblastach i osteoklastach [6]. Białko CD38 jest zaangażowane w apoptozie, bierze udział w sygnalizacji komórkowej limfocytów T, uwalnianiu insuliny z komórek  $\beta$  trzustki i migracji neutrofilii. Aktywacja CD38 w osteoklastach powoduje uwalnianie  $Ca^{2+}$  w drodze aktywacji RyR2, czemu towarzyszy zwiększone uwalnianie IL-6 i zahamowanie resorpcji kości [6].

Drummond i wsp. [6], badając 457 kaukaskich kobiet w wieku pomenopauzalnym i 173 w wieku premenopauzalnym, wykazali istotny związek allelu *CD38 PvuII* z wartościami współczynnika LS-BMD w obu grupach kobiet. Częstość allelu G w badanej populacji wynosiła 21,1%, zaś allelu C – 78,9%. U kobiet z genotypem GG zanotowano ~14% niższą wartość LS-BMD niż u kobiet z genotypem GC/CC. Wpływ liczby alleli na fenotyp stwierdzono dla wartości LS-BMD w obu grupach kobiet. Otrzymane przez badaczy wyniki sugerują związek polimorfizmu *CD38 PvuII* z osiągnięciem i utrzymaniem wartości szczytowej wskaźnika BMD, a także ze spadkiem masy kostnej u kobiet w wieku pomenopauzalnym.

Dostępna literatura oferuje także dane dotyczące związku polimorficznego genu *OSCAR* z wartością BMD. Za pomocą sekwencjonowania, Kim i wsp. [15] zidentyfikowali u 24 Kórek 10 polimorficznych miejsc tego genu, wśród których do dalszych analiz wybrano 5. Badając grupę 560 kobiet w wieku pomenopauzalnym wykazali istotny związek 2322 A>G ze zmniejszoną wartością BMD u tych kobiet.

Analizę uwarunkowania genetycznego zmian wartości BMD przeprowadzili także Vaughan i wsp. [41], którzy po raz pierwszy badali wpływ polimorfizmu genu *RUNX2*. Gen, który znajduje się w *locus* 6p21, zbudowany jest z ponad 250 kpz, koduje różne izoformy białka RUNX2, które mogą pełnić odmienne funkcje. Vaughan i wsp. analizowali związek mutacji tego genu z fenotypem osteoporotycznym, ponieważ koduje on czynnik transkrypcyjny swoisty dla osteoblastów, odpowiedzialny za proces różnicowania osteoblastów oraz dojrzewania chondrocytów. Znany jest także jako: Osf-2 (ang. *Osteoblast-specific factor 2*), PEBP2 $\alpha$ A (ang. *Polyomavirus Enhancer Binding Protein 2 $\alpha$ A*) i Cbfa1 (ang. *Core binding factor  $\alpha$* ) [41].

W strukturze białka RUNX2 występuje ciąg powtórzeń polyQ/polyA, kodujący 1 z 3 domen transaktywacyjnych białka. W obrębie sekwencji kodującej tę domenę wyróżnia się 2 warianty: jeden – obejmujący delecję 18 pz, i drugi – stanowiący synonimiczne allele GCA i GCG, zwane odpowiednio allelami A i G [41].

Na podstawie wyników uzyskanych w ramach GOS (ang. *Geelong Osteoporosis Study*) z przebadania 495 losowo wybranych kobiet stwierdzono, że występowanie allelu A związane jest ze wzrostem wartości BMD, a w szczególności ultradystalnego fragmentu kości promieniowej [41].

Z kolei Doecke i wsp. [5] zidentyfikowali 16 allelicznych wariantów genu *RUNX2* i jego 2 promotorów P1 i P2 w populacji 264 badanych. W obrębie promotora P2 zidentyfikowano 3 polimorficzne miejsca charakterystyczne dla pacjentów, u których wartość współczynnika BMD była podwyższona.

W innych badaniach zaś Napierala i wsp. [28] zidentyfikowali u 38 pacjentów chorych na CCD (ang. *CleidoCranial Dysplasia*) 8 nowych mutacji w obrębie genu *RUNX2*, z których 5 zlokalizowano w regionie promotorowym genu. Dwie wskazane mutacje były swoiste dla osób z CCD.

## 7. WNIOSKI

Od czasów ukazania się w 1992 roku pierwszej publikacji, w której Morrison i wsp. [27] wykazali związek pomiędzy polimorfizmami genu *VDR* a wartością gęstości mineralnej kości u 91 osób pochodzenia brytyjsko-australijskiego, podejmowano liczne badania mające na celu określenie genetycznego podłoża osteoporozy. Dzisiaj znane są polimorficzne warianty wielu genów-kandydatów dla fenotypu patologicznego. Badany jest ich związek z wartością BMD, stanowiącą obecnie najdogodniejszy wskaźnik ryzyka złamań kości osób badanych. Mimo licznych analiz różnych genów-kandydatów wyniki otrzymywane przez naukowców przy korzystaniu z różnych populacji są rozbieżne. Prawdopodobnych przyczyn uzyskiwania niejednoznacznych wyników należy upatrywać w małej liczebności prób badanych bądź w wielogenowym podłożu osteoporozy. Niska liczebność badanych populacji obniża istotność statystyczną uzyskanych wyników. Wielogenowość natomiast sprawia, że poszczególne geny i kodowane przez nie czynniki białkowe mają zaledwie nieznaczny udział w fenotypie osteoporozy, co utrudnia jednoznaczne wskazanie takiego wariantu allelicznego genu, który mógłby stanowić dogodny znacznik molekularny dla celów diagnostycznych i terapeutycznych osteoporozy.

## 8. LITERATURA

- [1] AI M, HEEGER S, BARTELS CF, SCHELLING DK, AND THE OSTEOPOROSIS-PSEUDOGLIOMA COLLABORATIVE GROUP. Clinical and molecular findings in osteoporosis-pseudoglioma syndrome. *Am J Hum Genet* 2005; **77**: 741–753.
- [2] ALBAGHA OM, PETTERSSON U, STEWART A, Mc GUIGAN FE, Mac DONALD HM, REID DM, RALSTON SH. Association of oestrogen receptor  $\alpha$  gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone. *J Med Genet* 2005; **42**: 240–246.
- [3] ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ D, NAVES M, DÍAZ-LÓPEZ JB, GÓMEZ C, SANTAMARÍA Í, CANNATA-ANDÍA JB. Influence of polymorphisms in *VDR* and *COL1A1* genes on the risk of osteoporotic fractures in aged men. *Kidney Int* 2003; **63**(S85): S14–S18.
- [4] DENG H-W, RECKER RR. Gene mapping and identification for osteoporosis. *J Musculoskel Neuron Interact* 2004; **4**(1): 91–100.
- [5] DOECKE JD, DAY CJ, STEPHENS AS, CARTER SL, VAN DAAL A, KOTOWICZ MA, NICHOLSON GC, MORRISON NA. Association of functionally different *RUNX2* P2 promoter alleles with BMD. *J Bone Miner Res* 2006; **21**(2): 265–273.

- [6] DRUMMOND FJ, MACKRILL JJ, O'SULLIVAN KATHLEEN, DALAY M, SHANAHAN F, MOLLOY MG. CD38 is associated with premenopausal and postmenopausal bone mineral density and postmenopausal bone loss. *J Bone Miner Metab* 2006; **24**: 28–35.
- [7] FERRARI SL, DEUTSCH S, CHOUDHURY U, CHEVALLEY T, BONJOUR J-P, DERMITZAKIS ET, RIZZOLI R, ANTONARAKIS SE. Polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with variation in vertebral bone mass, vertebral bone size, and stature in whites. *Am J Hum Genet* 2004; **74**: 866–875.
- [8] FRATTINI A, VEZZONI P, VILLA A. The genetics of dominant osteopetrosis. *Drug Discov Today* 2005; **2**(4): 503–509.
- [9] GARCIA-GIRALT N, NOGUÉS X, ENJUANES A, PUIG J, MELLIBOVSKY L, BAY-JENSEN A, CARRERAS R, BALCELLS S, DÍEZ-PÉREZ, GRINBERG D. Two new single-nucleotide polymorphisms in the COL1A1 upstream regulatory region and their relationship to bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2002; **17**(3): 384–393.
- [10] GARNERO P, MUNOZ F, BOREL O, SORNAY-RENDU E, DELMAS PD. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**(8): 4829–4835.
- [11] GENNARI L, MERLOTTI D, PAOLA V DE, CALABRO A, BECHERINI L, MARTINI G, NUTI R. Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: A HuGE Review. *Am J Epidemiol* 2005; **161**: 307–320.
- [12] GERDHEM P, BRANDSTROM H, STIGER F, OBRANT K, MELHUS H, LJUNGGREN O, KINDMARK A, AKESSON K. Association of the collagen type 1 (COL1A1) Sp1 binding site polymorphism to femoral neck bone mineral density and wrist fracture in 1044 elderly Swedish women. *Calcif Tissue Int* 2004; **74**: 264–269.
- [13] HARTIKKA H. Genetic factors in bone disorders: Osteogenesis imperfecta, juvenile osteoporosis and stress fractures. *Oulu University Press Oulu* 2005: 15–40.
- [14] HARTIKKA H, MÄKITIE O, MÄNNIKÖ M, DORIA AS, DANEMAN A, COLE WG, ALA-KOKKO L, SOCHETT EB. Heterozygous mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with primary osteoporosis in children. *J Bone Miner Res* 2005; **20**(5): 783–789.
- [15] KIM GS, KOH J-M, CHANG JS, PARK BL, KIM LH, PARK EK, KIM S-Y, SHIN HD. Association of the OSCAR promoter polymorphism with BMD in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2005; **20**(8): 1342–1348.
- [16] KOAY MA, WOON PY, ZHANG Y, MILES LJ, DUNCAN EL, RALSTON SH, COMSTON JE, COOPER C, KEEN R, LANGDAHL BL, MacLELLAND A, O'RIORDAN J, POLS HA, REID DM, UITTERLINDEN AG, WASS JA, BROWN MA. Influence of LRP5 polymorphism on normal variation in BMD. *J Bone Miner Res* 2004; **19**(10): 1619–1627.
- [17] KOLLER DL, ICHIKAWA S, JOHNSON ML, LAI D, XUEI X, EDENBERG HJ, CONNEALLY PM, HUI SL, JOHNSTON CC, PEACOCK M, FOROUD T, ECONS MJ. Contribution of the LRP5 gene to normal variation in peak BMD in women. *J Bone Miner Res* 2005; **20**(1): 75–80.
- [18] KORF BR. Genetyka człowieka: Rozwiązywanie problemów medycznych. Wydaw. Nauk. PWN, Warszawa 2003: 47–61.
- [19] LANGDAHL BL, LOKKE E, CARSTENS M, STENKJAER LL, ERIKSEN EF. A TA repeat polymorphism in the estrogen receptor gene is associated with osteoporotic fractures but polymorphisms in the first exon and intron are not. *J Bone Miner Res* 2000; **15**(11): 2222–2230.
- [20] LIU P-Y, LU Y, LONG J-R, XU F-H, SHEN H, RECKER RR, DENG H-W. Common variants at the PCOL2 and Sp1 binding sites of the COL1A1 gene and their interactive effect influence bone mineral density in Caucasians. *J Med Genet* 2004; **41**: 752–757.
- [21] LIU Y-Z, LIU Y-J, RECKER RR, DENG H-W. Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. *J Endocrinol* 2003; **177**: 147–196.
- [22] LORENTZON M, LORENTZON R, NORDSTRÖM P. Interleukin-6 gene polymorphism is related to bone mineral density during and after puberty in healthy white males: A cross-sectional and longitudinal study. *J Bone Miner Res* 2000; **15**(10): 1944–1949.
- [23] MEZQUITA-RAYA P, MUNOZ-TORRES M, DE DIOS LUNA J, LOPEZ-RODRIGUEZ F, QUESADA JM, LUQUE-RECIO F, ESCOBAR-JIMENEZ F. Performance of COL1A1 polymorphism and bone turnover markers to identify postmenopausal women with prevalent vertebral fractures. *Osteoporos Int* 2002; **13**(6): 506–512.

- [24] MIZUGUCHI T, FURUTA I, WATANABE Y, TSUKAMOTO K, TOMITA H, TSUJIHATA M, OHTA T, KISHINO T, MATSUMOTO N, MINAKAMI H, NIIKAWA N, YOSHIURA K. LRP5, low-density-lipoprotein-receptor-related protein 5, is a determinant for bone mineral density. *J Hum Genet* 2004; **49**(2): 80–86.
- [25] MOFFETT SP, ŽMUDA JM, CAULEY JA, STONE KL, NEVITT MC, ENSRUD KE, HILLIER TA, HOCHBERG MC, JOSLYN G, MORIN P, CUMMINGS SR. Association of the G-174C variant in the interleukin-6 promoter region with bone loss and fracture risk in older women. *J Bone Miner Res* 2004; **19**(10): 1612–1618.
- [26] MORITA A, IKI M, DOHI Y, IKEDA Y, KAGAMIMORI S, KAGAWA Y, MATSUZAKI T, YONESHIMA H, MARUMO F. Prediction of bone mineral density from vitamin D receptor polymorphisms is uncertain in representative samples of Japanese women. The Japanese population-based osteoporosis (JPOS) study. *Int J Epidemiol* 2004; **33**(5): 979–988.
- [27] MORRISON NA, YEOMAN R, KELLY PJ, EISMAN JA. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; **89**: 6665–6669.
- [28] NAPIERALA D, GARCIA-ROJAS X, SAM K, WAKUIK, CHEN C, MENDOZA-LONDONO R, ZHOU G, ZHENG Q, LEE B. Mutations and promoter SNPs in RUNX2, a transcriptional regulator of bone formation. *Mol Genet Metab* 2005; **86**(1–2): 257–268.
- [29] PLUIJM SM, van ESSEN HW, BRAVENBOER N, UITTERLINDEN AG, SMIT JH, POLS HA, LIPS P. Collagen type I  $\alpha 1$  Sp1 polymorphism, osteoporosis, and intervertebral disc degeneration in older men and women. *Ann Rheum Dis* 2004; **63**: 71–77.
- [30] RAISZ LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 2005; **115**: 3318–3325.
- [31] RALSTON SH, de CROMBRUGGHE B. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. *Genes & Development* 2006; **20**: 2492–2506.
- [32] RALSTON SH i wsp. Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: The GENOMOS study. *PLoS Med* 2006; **3**(4): 515–523.
- [33] RECKER RR. Genetic research in osteoporosis: Where are we? Where should we go next? *J Musculoskel Neuron Interact* 2004; **4**(1): 86–90.
- [34] RIGGS BL. The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. *J Clin Invest* 2000; **106**(10): 1203–1204.
- [35] STEWART TL, ROSCHGER P, MISOF BM, MANN V, FRATZL P, KLAUSHOFER K, ASPDEN R, RALSTON SH. Association of COL1A1 Sp1 alleles with defective bone nodule formation *in vitro* and abnormal bone mineralization *in vivo*. *Calcif Tissue Int* 2005; **77**: 113–118.
- [36] TEITELBAUM SL, ROSS FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 2003; **4**: 638–649.
- [37] THIJSEN JH. Gene polymorphisms involved in the regulation of bone quality. *Gynecol Endocrinol* 2006; **22**(3): 131–139.
- [38] UITTERLINDEN AG i wsp. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: A participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; **145**: 255–264.
- [39] VANDERSCHUEREN D, VANDENPUT L, BOONEN S, LINDBERG MK, BOUILLON R, OHLSSON C. Androgens and bone. *Endocr Rev* 2004; **25**(3): 389–425.
- [40] van MEURS JB, RIVADENEIRA F, JHAMAI M, HUGENS W, HOFMAN A, VAN LEEUWEN JP, POLS HA, UITTERLINDEN AG. Common genetic variation of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 and 6 genes determines fracture risk in elderly white men. *J Bone Miner Res* 2006; **21**(1): 141–150 Abstract.
- [41] VAUGHAN T, PASCO JA, KOTOWICZ MA, NICHOLSON GC, MORRISON NA. Alleles of RUNX2/CBFA1 gene are associated with differences in bone mineral density and risk of fracture. *J Bone Miner Res* 2002; **17**(8): 1527–1534.
- [42] WILLIAMS FM, SPECTOR TD. Recent advances in the genetics of osteoporosis. *J Musculoskel Neuron Interact* 2006; **6**(1): 27–35.
- [43] XU H, XIONG DH, XU FH, ZHANG YY, LEI SF, DENG HW. Association between VDR ApaI polymorphism and hip bone mineral density can be modified by body mass index: a study on postmenopausal Chinese women. *Acta Biochim Biophys Sin* 2005; **37**(1): 61–67.

- [44] YIM CH, CHOI JT, CHOI HA, KANG YS, MOON IG, YOON HK, HAN IK, KANG DH, HAN KO. Association of oestrogen receptor  $\alpha$  gene microsatellite polymorphism with annual changes in bone mineral density in Korean women with hormone replacement therapy. *J Bone Miner Metab* 2005; **23**(5): 395–400.
- [45] ZAJÍČKOVÁ K, ŽOFKOVÁ I, BAHBOUH R, KŘEPELOVÁ A. Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and bone turnover: FokI genotype is related to postmenopausal bone mass. *Physiol Res* 2002; **51**: 501–509.
- [46] ŽMUDA JM, SHEU YT, MOFFETT SP. The search for human osteoporosis genes. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; **6**(1): 3–15.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 28.05. 2007 r.*

*Przyjęto: 20.06. 2007 r.*

*90-049 Łódź, ul. Kilińskiego 125 m.18*

*wujcickaw@wp.pl*