

Vážená pani doktorka / vážený pán doktor,

dovoľujeme si Vám týmto oznámiť uvedenie nového vyšetrenia spoločnosti Klinická biochémia s.r.o. :

Genetické vyšetrenie kandidátnych génov osteoporózy a osteoporotických fraktúr pomocou PCR

Z epidemiologických štúdií, zo štúdií rodín a štúdií na dvojčikách vyplýva, že **genetický podiel na patogenéze osteoporózy predstavuje 50 – 80%** v závislosti na variabilite fenotypových znakov, ktoré súvisia s nízkou kostnou denzitou a zlomeninami. Kostná denzita je pod kontrolou veľkého množstva génov, ktoré si uplatňujú rôznu stupeň vplyvu. Kandidátne gény osteoporózy sú väčšinou zahrnuté v metabolizme kostných buniek (osteoblastov a osteoklastov), štruktúre a metabolickom obrate kolagénu a minerálov (vápnik a fosfor) a v regulačno-hormonálnych dráhach. **Polymorfizmy vo viacerých génoch – napr. COL1A1, VDR, ESR, LRP5, TNFRSF11B a i., boli asociované so zvýšenou incidenciou fraktúr a/alebo zníženým BMD.** Okrem kostnej denzity sú pod silným genetickým vplyvom aj distribúcia kostných minerálov a architektúra kostí. Dôležité je pamätať aj na interakcie gén-prostredie, ktoré ďalej situáciu komplikujú.

Význam genetického vyšetrenia spočíva v **sledovaní zvýšeného rizika fraktúr, rizikových genotypov pre rozvoj osteoporózy a individuálnej reakcie pacientov na liečbu.** Riziko fraktúr je dané nielen hodnotou kostnej hmoty alebo jej mikroštruktúrou, ale aj geometrickými parametrami skeletu. Väčšina žien s postmenopauzálnou osteoporózou má fraktúru ako prvú indikáciu na ochorenie. Najväznejšou komplikáciou osteoporózy je bedrová zlomenina, ktorá zvyšuje mieru morbidity a mortality.

ESR1

Jedným z najrozsiahlejšie študovaných kandidátnych génov je gén pre **estrogénový receptor 1 (ESR1)**. Estrogén a jeho receptory sú rozhodujúce pre pohlavný vývoj a reprodukčnú funkciu, ale rovnako hrajú úlohu aj v iných tkanivách, ako napr. kostiach. *ESR1* je hlavný mediátor pôsobenia estrogénu v kostiach. Estrogénové receptory sú včlenené do viacerých patologických procesov vrátane rakoviny prsníkov, endometriózy a osteoporózy.

V oblasti génu *ESR1* boli popísané **asociácie s kostnou denzitou** ako bedrových kostí tak chrbtice, čo poukazuje na možnú úlohu *ESR1* génu v patogenéze osteoporózy. Asociačnou štúdiou bola potvrdená aj väzba medzi *ESR1* génom a **osteoporotickými zlomeninami**. Malé rozdiely v kostnej denzite vedú k významným rozdielom v riziku zlomenín.

Najštudovanejším variantom v géne *ESR1* je **Pvull polymorfizmus (rs2234693)**, ktorý je spojený s **nižšou citlivosťou na estrogén, rizikom zlomenín, výskytom osteoporózy a zlomenín v rodine**. Vzťah rs2234693 *ESR1* génu a rizika zlomenín nie je kauzálny, **T/T genotyp ESR1** predstavuje samostatný rizikový faktor v balíku ďalších vplyvov na rozvoj patológie osteoporózy.

Interpretácia vyšetrenia:

Estrogénový receptor 1 (Pvull):	CC	osteo-normálny nález
Estrogénový receptor 1 (Pvull):	CT	osteo-normálny nález
Estrogénový receptor 1 (Pvull):	TT	možný rizikový genotyp pre rozvoj osteoporózy zvýšené riziko zlomenín

VDR

Ďalším kandidátnym génom osteoporózy a zároveň prvým génom spájaným s osteoporózou je receptor pre vitamín D (*VDR*). *VDR* hrá dôležitú úlohu v celkovom zdraví kostí, pretože sa zúčastňuje regulácie vápnikovej homeostázy a mineralizácie kostného matrixu.

VDR gén kóduje jadrový **hormonálny receptor pre vitamín D3** (1,25- dihydroxyvitamín D3). Ciele *VDR* sú v princípe súčasťou minerálneho metabolizmu, hoci receptor reguluje aj rôzne iné metabolické dráhy, ktoré sú napr. súčasťou imunitnej odpovede organizmu a rakoviny.

Najštudovanejším variantom v géne *VDR* je **Bsml polymorfizmus** (rs1544410), niekoľko štúdií v rôznych populáciách potvrdilo asociáciu rs1544410 s **kostnou denzitou a rizikom zlomenín**. **A/A genotyp** *VDR* predstavuje samostatný rizikový faktor v balíku ďalších vplyvov na rozvoj patológie osteoporózy.

Interpretácia vyšetrenia:

Receptor pre vitamín D3 (Bsml):	GG	osteo-normálny nález
Receptor pre vitamín D3 (Bsml):	GA	osteo-normálny nález
Receptor pre vitamín D3 (Bsml):	AA	možný rizikový genotyp pre rozvoj osteoporózy

COL1A1

Kolagén typu I je jeden z kľúčových proteínov zahrnutých v maturácii, vývine a mineralizácii kostí. Genetické polymorfizmy génu pre **$\alpha 1$ reťazec kolagénu typu I (*COL1A1*)** sú **asociované s nízkou BMD a zvýšeným rizikom fraktúr u dospelých a detí**. Väčšina štúdií *COL1A1* bola zameraná na polymorfizmus v rozpoznávacom mieste transkripčného faktora Sp1, ktorý sa podieľa na regulácii transkripcie *COL1A1* a vedie tým k redukcii kostnej hmoty zmenou normálneho pomeru 2:1 medzi kolagénovými reťazcami $\alpha 1(1)$ and $\alpha 1(2)$, čím narušuje mineralizáciu kostí a zvyšuje riziko zlomenín. Viacerými meta-analýzami bola potvrdená asociácia **polymorfizmu Sp1 s BMD a osteoporotickými fraktúrami** u postmenopauzálnych žien v kaukazskej populácii a môže mať význam pri identifikácii jedincov s **rizikom vývinu osteoporózy**.

V kaukazskej populácii sa zistilo, že prítomnosť GG genotypu Sp1 polymorfizmu zvyšuje riziko výskytu **zníženého BMD u pubertálnych detí s juvenilnou idiopatickou artritídou (JIA)**.

Interpretácia:

$\alpha 1$ reťazec kolagénu typu I (<i>COL1A1</i>):	GG (SS genotyp)	osteo-normálny nález možné riziko výskytu zníženej BMD u detí s JIA
$\alpha 1$ reťazec kolagénu typu I (<i>COL1A1</i>):	GT (Ss genotyp)	možný rizikový genotyp pre rozvoj osteoporózy asociácia so zvýšeným rizikom vertebrálnych fraktúr asociácia so zníženými hodnotami BMD v bedrovej chrbtici a krčku stehennej kosti
$\alpha 1$ reťazec kolagénu typu I (<i>COL1A1</i>):	TT (ss genotyp)	asociácia so zníženou odpoveďou na etidronát možný rizikový genotyp pre rozvoj osteoporózy asociácia so zvýšeným rizikom nevertebrálnych fraktúr (2,7-krát vyššie riziko fraktúr) asociácia so zníženými hodnotami BMD v bedrovej chrbtici a krčku stehennej kosti asociácia so zníženou odpoveďou na etidronát

TNFRSF11B (OPG)

Gén *TNFRSF11B*, ktorý kóduje **osteoprotegerín (OPG)**, je vzhľadom na svoju dôležitú úlohu v biológii kostí považovaný za významný kandidátny gén pre osteoporózu. **RANK/RANKL/OPG signálna dráha** je esenciálna pre osteoklastogézu. Spomínaná signálna dráha je inhibovaná prostredníctvom OPG - osteoprotegerín inhibuje maturáciu a aktiváciu osteoklastov tým, že sa viaže na RANKL a tak zabraňuje interakcii RANKL s jeho receptorom RANK.

Asociačnými štúdiami bola potvrdená asociácia **T245G polymorfizmu** v géne *TNFRSF11B* s osteoporotickými fraktúrami, predovšetkým s vertebrálnymi zlomeninami a môže slúžiť spolu s ďalšími genetickými markermi na identifikáciu jedincov s **vysokým rizikom osteoporotických fraktúr**.

Asociácia tohto polymorfizmu génu s predispozíciou na osteoporotické zlomeniny sa potvrdila aj u postmenopauzálnych slovenských žien.

Interpretácia:

Osteoprotegerín (<i>TNFRSF11B</i>):	TT	osteo-normálny nález
Osteoprotegerín (<i>TNFRSF11B</i>):	TG	osteo-normálny nález
Osteoprotegerín (<i>TNFRSF11B</i>):	GG	zvýšené riziko osteoporotických zlomenín, možný rizikový genotyp pre rozvoj osteoporózy

LRP5

LRP5 (proteín 5 príbuzný lipoproteínovému receptoru) je transmembránový proteín sekretovaný v rôznych tkanivách a bunkách, ako sú napr. kostné tkanivá, endotelálne bunky, kmeňové bunky a i. LRP5 má výrazný efekt na **Wnt signálnu dráhu**, ktorá je prepojená s reguláciou rastu a diferenciácie osteoblastov prostredníctvom kontroly kostnej denzity ako aj kostného metabolizmu. LRP5 môže viazať a internalizovať ligandy v procese endocytózy sprostredkovanej receptormi a hrá tiež kľúčovú úlohu v skeletálnej homeostáze.

LRP5 môže predstavovať užitočný genetický biomarker pre **predikciu osteoporózy a rizika fraktúr** v kaukazskej populácii - niekoľko polymorfizmov tohto génu bolo detekovaných v korelácii s rôznymi kostnými fenotypmi, vrátane rizika fraktúr a BMD. Multicentrické štúdie ukázali, že **polymorfizmus A1330V** tohto génu je asociovaný s **nízkou hodnotou kostnej denzity a vyšším výskytom fraktúr**.

Interpretácia:

LRP5:	CC	osteo-normálny nález
LRP5:	CT	osteo-normálny nález
LRP5:	TT	možný rizikový genotyp pre rozvoj osteoporózy zvýšené riziko osteoporotických zlomenín

Odber biologického materiálu

Na vyšetrenie sa odoberá 1-5 ml periférnej krvi do sterilnej skúmavky s K₃EDTA (ako na krvný obraz). Bezprostredne po odobratí sa obsah skúmavky šetrne premieša a do transportu sa uchováva pri teplote 2-8°C. Odber nie je nutné vykonať nalačno.

Vyšetrenie je hrazené poisťovňou VŠZP a Union.

Metóda: Real-time PCR (LightCycler 480 II)

Dostupnosť vyšetrenia: Vyšetrenie sa vykonáva v Medicínskom laboratóriu Žilina.

Výsledok vyšetrenia: do 2 týždňov

Literatúra:

- Li Tang, Guo-Lin Cheng, and Zhong-Hua Xu. (2013). Association between Estrogen Receptor α Gene (ESR1) PvuII (C/T) and XbaI (A/G) Polymorphisms and Hip Fracture Risk: Evidence from a Meta-Analysis. *PLoS ONE*. doi:10.1371/journal.pone.0082806
- Massart Francesco, Marini Francesca, Bianchi Gerolamo, Minisola Salvatore, Luisetto Giovanni et al. (2009). Age-specific effects of estrogen receptors' polymorphisms on the bone traits in healthy fertile women: the BONTURNO study. *Reproductive Biology and Endocrinology* vol. 7 (1) p. 32
- Jose M. Moran, Francisco J. Rodriguez-Velasco, Raul Roncero-Martin, Purificación Rey-Sanchez, Mariana Martinez, and Juan D. Pedrera-Zamorano, "The Relationship between Polymorphisms in the Vitamin D Receptor Gene and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women," *ISRN Genetics*, vol. 2014, Article ID 549457, 7 pages, 2014. doi:10.1155/2014/549457
- Jia F, Sun RF, Li QH, Wang DX, Zhao F, Li JM, Pu Q, Zhang ZZ, Jin Y, Liu BL, Xiong Y. Vitamin D receptor BsmI polymorphism and osteoporosis risk: a meta-analysis from 26 studies. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013 Jan;17(1):30-4. doi: 10.1089/gtmb.2012.0267. Epub 2012 Nov 7.
- Boroňová I, Bernasovská J, Mačeková S, Petrejčíková E, Tomková Z, Křoc J, Poráčová J, Blaščáková MM, Litavcová E. (2015). TNFRSF11B gene polymorphisms, bone mineral density, and fractures in Slovak postmenopausal women. *J Appl Genet* 56(1):57-63.
- Ji G-R, Yao M, Sun C-Y, Zhang L, Han Z. (2009). Association of Collagen Type I $\alpha 1$ (COL1A1) Sp1 Polymorphism with Osteoporotic Fracture in Caucasian Post-menopausal Women: a Meta-analysis. *J Int Med Res* 37: 1725-1732.
- Kostic MM, Smirnov AM, Demin GS, Mnuskina MM, Scheplyagina LA, Larionova V. (2013). 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. *The EPMA Journal*, 4:15-22.
- Xu G-Y, Qiu Y, Mao H-J. (2014). Common Polymorphism in the LRP5 Gene May Increase the Risk of Bone Fracture and Osteoporosis. *BioMed Research International* vol. 2014, Article ID 290531, 13 pages.

V prípade akýchkoľvek otázok, prosím, **kontaktujte** RNDr. Janu Čamajovú, PhD., camajova@klinickabiochemia.sk
call centrum 0800 820 010 alebo MUDr. Juraja Vavriku, vavrik@klinickabiochemia.sk.