

Význam genetiky v predikci rizika osteoporózy

I. Žofková

Endokrinnologický ústav Praha, ředitel doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc.

Souhrn: Osteoporóza je z 60–80 % onemocněním dědičným s charakteristickou multifaktoriální patogenezi, v níž dochází k interakci vlivu mnoha „slabých“ genů a vnějších faktorů. Zatím nejvíce informací o vztahu genů k variabilitě kostních parametrů (densitě, kvalitě a metabolismu) přinesly asociační studie kandidátních genů pro osteoporózu. Z neznámějších genů vztahujících se ke kostní densitě byly identifikovány geny pro receptor vitamínu D, estrogen a kalcitonin, LRP5 a LRP6. Za parametry kostní remodelace jsou odpovědné geny pro IL-1 α a osteoprotegerin. Z nedávno objevených genů vztahujících se ke kostnímu fenotypu byly identifikovány geny pro hypolaktázi, tetrafolát reduktázu a ALDH7A1. Rozměry kosti pravděpodobně částečně kontroluje gen PLCL1. Kandidátní geny pro osteoporózu pravděpodobně determinují i produkci kalcotropních hormonů (PTH, sexuální steroidy), a dokonce i některé mimokostní fenotypy (zánět, imunita, sklon k malignitám). Naopak geny determinující mimokostní parametry (např. hladiny lipoproteinů) jsou asociovány s fenotypem kostním (gen pro ApoE se vztahuje ke kostní densitě). Asociační studie však mají závažná omezení, mj. také vlivem vazebné nerovnováhy související s těsnou blízkostí identifikovaných genů v DNK, jež může být jednou z příčin falešně pozitivních výsledků. U dětí, kde budování skeletu ovlivňují především faktory vnější (nutrice, pohybová aktivita), je vztah kandidátních genů ke kostní hmotě méně těsný než u dospělých. Přehledná práce se zabývá fyziologií a sexuální diferenciací pubertální kosti. Diskutován je význam identifikace kandidátních genů pro prevenci a cílenou léčbu osteoporózy (farmakogenetika) a využití programu FRAX (WHO) pro desetiletou predikci fraktur osteopenických pacientů.

Klíčová slova: osteoporóza – genetika – kandidátní geny pro osteoporózu – pubertální kost – prevence osteoporózy – farmakogenetika

Role of genetics in prediction of osteoporosis risk

Summary: Osteoporosis is in 60–80% a hereditary disease with a characteristic multifactorial pathogenesis during which the effects of many “weak” genes interact with external factors. To date, most information relating to the correlations between genes and bone parameter variability (density, quality and metabolism) has been provided by association studies of candidate genes for osteoporosis. The best known genes related to bone density have been identified as the genes for the vitamin D, estrogen and calcitonin receptor, LRP5 and LRP6. The genes for IL-1 α and osteoprotegerin are responsible for the parameters of bone remodeling. Recently discovered genes related to bone phenotype include identified genes for hypolactasia, tetrafolate reductase and ALDH7A1. Bone size and dimensions are probably partially controlled by the PLCL1 gene. Candidate genes for osteoporosis probably also determine the production of calcitropic hormones (PTH, sex steroids) and even some extra-osseous phenotypes (inflammation, immunity, susceptibility to malignancies). On the contrary, genes that determine extra-osseous parameters (e. g. lipoprotein levels) are associated with the bone phenotype (the gene for ApoE is related to bone density). Association studies, though, have serious limitations. Among others, these include the influence of linkage disequilibrium associated with the close proximity of the identified genes within DNA, which may be one of the causes of false positive results. In children, where building of the skeleton is influenced predominantly by external factors (nutrition, physical activity), the relationship between candidate genes and bone mass is less close than in adults. This overview deals with the physiology and sexual differentiation of pubertal bone. It discusses the importance of identifying candidate genes in the prevention and targeted treatment of osteoporosis (pharmacogenetics) as well as the application of the FRAX (WHO) program in the ten-year prediction of fractures in osteopenic patients.

Key words: osteoporosis – genetics – candidate genes for osteoporosis – pubertal bone – prevention of osteoporosis – pharmacogenetics

Úvod

Osteoporóza je vysoce frekventní onemocnění s vysokou morbiditou a mortalitou v důsledku fraktur. Nejčastějšími příčinami osteoporózy jsou hypoestrinismus a nevhodný životní styl (nízký příjem kalcia, vitamínů D a K, nedostatečná pohybová aktivita, kouření a alkoholismus). S narůstající incidencí autoimunitních a dalších chorob přibývá nemocných s osteoporózou indukovanou glukokortikoidy a imunosupresivy, antiepileptiky nebo

antikoagulačními látkami. Bohužel k „preventivním“ opatřením, které spočívají v úpravě životního stylu a substituci estrogenů, kalcia, vitamínů D a K, je často přístupováno až v době manifestního onemocnění, kdy je již indikována ekonomicky nákladná léčba. Cílem účinné prevence osteoporotických (netraumatických) fraktur je včasná identifikace rizikových jedinců v premorbidním stadiu nemoci.

Osteoporóza je do značné míry onemocněním dědičným, což dokládají vý-

sledky studií postižených rodin. Ukázalo se, že ženy, jejichž matky měly nízkou hodnotu kostní denzity, jsou osteoporózou ohroženy více než dcery matek s normální kostní densitou. V korelační studii u mexické populace byl dokonce nalezen vztah mezi kostní densitou lumbální páteře babiček a jejich vnuček [1].

Heritabilita kostních fenotypů byla stanovena studiemi dvojčecích párů pomocí formule $H^2 = 2 \times (rMz - rDz)$, kde rMz a rDz jsou korelace zjištěné

u monozygotních a dizygotních dvojčat. H^2 vyjadřuje míru geneticky determinované variace kostního fenotypu (ztráty kostní denzity, biochemických parametrů remodelace, struktury a rozměrů kosti nebo počtu fraktur) [2]. Heritabilita hodnot kostní denzity se pohybuje v rozmezí 60–80 %, což znamená, že 60–80 % variace kostního minerálu lze vysvětlit genetickým pozadím. Zbývajících 20–40 % variability je pak důsledkem působení dalších vnitřních faktorů (hormony) a životního stylu (výživa, fyzická zátěž). O něco vyšší heritabilita kostní hmoty byla zjištěna v lumbální páteři ($H^2 = 0,89$) než v krčku femoru ($H^2 = 0,77$), kde se více uplatňuje vliv mechanické zátěže [2].

Metody studia genetiky osteoporózy

Osteoporóza je onemocnění jednoznačně polygenní. Každý z kostních fenotypů (denzita, kvalita, metabolický obrat) je důsledkem interakce mezi mnoha slabými geny, jejichž efekt je modulován vlivy vnějšími. Jedince disponované k osteoporóze lze identifikovat několika způsoby. Jedním z nich je analýza chromozomových lokusů, predikujících hodnotu kostní hmoty a její fragilitu (lokusy 1p36, 2p21, 5q33-35, 6p11-12 a 11q12-13), kostní geometrii (4p, 4q, 5q, 17 q a 19p) a remodelaci kosti (16q a 20q) [3]. V rizikových rodinách lze odpovědné geny identifikovat metodou QTL (quantitative trait loci – oblasti chromozomů s lokusy pro kvantitativní znaky) nebo pomocí vazebných analýz, které předpokládají existenci referenčních rodin. Vazebná analýza, sledující segregaci určitého fenotypu s jednotlivými markery (LOD skóre) je založena na identifikaci mikrosatelitů (opakujících se sekvencí 2–6 nukleotidů roztroušených po genomu). Její nevýhodou je nižší citlivost, a tedy vyšší frekvence falešně negativních výsledků. Metoda se osvědčila spíše při identifikaci monogenních onemocnění [4].

Určitý pokrok zaznamenaly asociační studie sledující vztah tzv. kandidátních genů pro osteoporózu k variabilitě vy-

braného fenotypu, přičemž prediktivní význam má především variabilita v exonech, které determinují sekvenci aminokyselin v příslušné bílkovině. Byly identifikovány alelické varianty jednonukleotidových polymorfizmů (SNP) genů, které kódují mineralizaci a kvalitu kosti (riziko fraktur), procesy novotvorby a odbourávání kostní hmoty i expresi humorálních faktorů regulujících kostní remodelaci nebo jejich receptorů (polymorfizmy v genech pro ESR1 α , VDR, CTR, růstové faktory TGF β 1, BMP-4, IGF-1 nebo CYP17).

Většina dosud získaných poznatků byla získána studiemi populačními, které v daném vzorku porovnávají frekvence alel a jejich vztah k určitému fenotypu u skupiny osteoporotické a kontrolní nebo u dvou různých populací. I metodicky poměrně srovnatelné studie však mnohdy přinášejí informace protichůdné. Kontroverzní výsledky asociačních studií mohou být částečně vysvětlitelné chybou související s těsnou blízkostí jiného genu. Tato vazebná nerovnováha v kandidátním genu bývá pak příčinou falešně pozitivního výsledku.

Kostní parametry mohou být kódovány také mutací v jednom jediném genu. Příkladem je aktivační mutace v genu pro LRP5 (determinuje signalizaci Wnt), která je asociována s vysokou hodnotou kostní denzity, zatímco inaktivační mutace v genu predikuje nízkou kostní denzitu (osteoporosis pseudoglioma syndrom). Mutace v doméně kolagenu typu I se manifestuje již v dětském věku jako osteogenesis imperfecta [5].

Vybrané kandidátní geny pro osteoporózu

Geny pro receptory osteotropních hormonů

První Morrissonovy zprávy o vztahu kostní denzity ke kandidátním genům pro osteoporózu se týkaly genu pro receptor vitamínu D (VDR). Přestože později někteří autoři tyto vztahy nepotvrdili, metaanalýza studií z let 1994–2001 ukázala významnou asociaci alely B v polymorfizmu BsmI

s kostní denzitou v páteři; jedinci s BB genotypem měli nižší hodnotu kostní denzity než nositelé alely b [6]. Cooper et al [7] (také v metaanalytické studii) upozornili na etnické rozdíly v asociaci polymorfizmu BsmI ke kostní denzitě. Studie u normálních nesubstituovaných postmenopauzálních žen středoevropské populace potvrdila vztah kostní denzity v kyčli k polymorfizmu FokI v genu pro VDR, ale asociaci s dalšími polymorfizmy v exonech tohoto genu (BsmI, ApaI a TaqI) se prokázat nepodařilo [8]. Kontroverzní výsledky mohou být částečně vysvětlitelné vazebnou nerovnováhou, ale především vlivem interakcí genu pro VDR s jinými geny, např. pro ESR. Významně nízké hodnoty kostní denzity byly naměřeny u pre- a peri-menopauzálních nositelek kombinace genotypu BB (ve VDR) a (–/–) PvuII (v ESR), přestože vztahy kostní denzity k jednotlivým těmito genům prokazatelné nebyly [9].

Z dalších polymorfizmů pro receptory osteotropních hormonů byl ve vztahu ke kostní hmotě studován polymorfismus AluI v genu pro receptor kalcitoninu (CTR). Masi et al [10] u adolescentních dívek s juvenilní artritidou zjistili, že nositelky genotypu TT měly nižší hodnotu kostní denzity v lumbální páteři než nositelky genotypu CC. Podobně studie u 729 postmenopauzálních žen asijského etnika prokázala vyšší hodnoty kostní denzity v krčku femuru i páteře u žen s kombinací alel CC a CT než TT [11]. Vztah genu pro receptor kalcitoninu (polymorfismus C1377T) ke kostní denzitě krčku femuru (nikoli však páteře) byl nalezen i u menšího souboru normálních postmenopauzálních žen bílé rasy [12]. Naopak vztah tohoto genu k denzitě předloktí u mladých mužů řecké národnosti se potvrdit nepodařilo [13]. Zdá se tedy, že kontroverzní výsledky relativně srovnatelných studií částečně souvisí s rozdílnými etnickými a sexuálními charakteristikami souborů a zřejmě také s měřenou lokalitou skeletu.

Jak již bylo zmíněno, denzita a kvalita kosti jsou kódovány geny pro estro-

genní receptory ESR α a ESR β , přičemž gen pro ESR α má spíše vztah k frakturám, tedy ke kvalitě kosti, než k její denzitě. Identifikace tohoto genu by teoreticky mohla mít význam při výběru pacientek odpovídajících na léčbu estrogeny nebo SERM [14].

Intenzivně studovaným genem z hlediska rizika osteoporózy je gen pro kolagen typu 1 (polymorfismus *COL1A1 Sp1*), který pravděpodobně determinuje kostní denzitu i kvalitu. Velká multicentrická studie GENOMOS provedená u téměř 21 000 Evropanů prokázala nezávislý prediktivní význam tohoto polymorfismu (kombinace alel G a T) pro kostní denzitu krčku femuru i páteře a k výskytu vertebrálních fraktur [15]. K zajímavým výsledkům dospěli MacDonald et al [16], kteří také našli vztah kostní denzity v páteři a krčku femuru k polymorfismu *Sp1* v genu pro *COL1A1*, ale pouze u nesubstituovaných postmenopauzálních žen. Znamená to tedy, že tato asociace je modulována stavem estrogení aktivity. Kvalitu kosti pravděpodobně determinuje i gen pro receptor leptinu (polymorfismus *Gln223Arg*), který byl asociován s kostní denzitou a rizikem vertebrálních fraktur u kohorty evropských postmenopauzálních žen [17].

Geny LRP5 a LRP6 kódující signalizaci Wingless proteinů (Wnt)

Wnt jsou proteiny vážící se na receptory Frizzled a LRP (low density lipoprotein receptor-related protein). Přenos signálu z těchto receptorů na povrchu osteoblastů aktivuje dráhu Wnt β -catenin. Tato dráha může být blokována molekulami sklerostinu a dickkopf-related proteinem 1 (kódovaný genem *DKK-1*), jejichž vyřazením (např. specifickou protilátkou) lze docílit aktivace novotvorby kosti [18].

Platnost výsledků in vitro studií dokládají i klinické analýzy. Velká švédská studie u mužů ukázala vztah mezi variabilitou kostní denzity a polymorfismem *Val667Met* v genu pro *LRP5* [19]. Populační studie u starších mužů sledovala vztah *LRP5* a *LRP6* k den-

zitě a kvalitě kosti. Nositelé varianty *1330Val* v *LRP5* měli nízkou kostní denzitu v páteři i krčku femuru a 60% riziko netraumatických zlomenin, podobně jako nositelé alely *1062Val* v *LRP6*. Muži s kombinací obou těchto polymorfismů měli pak riziko zlomenin 140%, a to nezávisle na věku, hmotnosti, výšce nebo kostní denzitě. U žen naopak byla asociace obou polymorfismů ke zlomeninám výrazně slabší [20]. Tyto údaje ukazují na sexuální dimorfismus závislosti kostního fenotypu na *LRP5* a *LRP6*.

Geny kódující remodelaci kosti

Zánětlivé interleukiny (IL) prostřednictvím RANK (jaderný aktivátor NF- κ B) a jeho ligandu RANKL (cytokin, který je produkován osteoblasty a T-lymfocyty) aktivují osteoklasty, a zrychlují tak kostní resorpci. Řada autorů sledovala asociaci mezi geny pro interleukiny a kostními parametry. Recentní studie u souborů 226 osteoporotických a 224 neosteoporotických postmenopauzálních žen našla významný vztah polymorfismu *174 G/C* v genu pro *IL-1 α* ke kostní denzitě, ale pouze u souboru žen s osteoporózou. Významnou asociaci genotypů *IL-1 β* a *IL-2* ke kostní denzitě se u těchto žen prokázat nepodařilo [21].

Ukazatelem kostní novotvorby je osteoprotegerin (OPG), solubilní falešný receptor pro RANKL, produkováný osteoblasty. Brání vazbě RANKL na RANK, a tím tlumí proces osteoklastogeneze. Poměr OPG/RANKL je měřítkem kostní remodelace. U postmenopauzálních žen čínské populace byl zjištěn vztah alely G v genu pro *OPG* (polymorfismy *A163G* a *T245G*) k riziku osteoporózy, ale i k míře odpovědi kosti na alendronát [22]. Studie u zhruba 1 100 australských žen vztah *OPG* (varianty *G1181C*, *T950C* a *A163G*) ke kostní hmotě, k počtu fraktur nebo k biochemickým ukazatelům neprokázala [23]. Naopak Takács et al [24] ve studii středoevropských postmenopauzálních žen prokazují asociaci haplotypů *OPG* a *RANKL* s kostní den-

zitou, což demonstruje interakci obou genů v regulaci kostní remodelace. Příčinu kontroverzních výsledků lze spatřovat v rozdílných metodických přístupech (kombinace vlivu dvou nebo i více genů) a ve vlivech etnických.

Metabolismus kosti je pravděpodobně také determinován genem pro receptor leptinu, jehož polymorfismus *Gln223Arg* byl u starších mužů asociován s parametry kostní remodelace [25].

Další potenciální modulatory kostních fenotypů

Nedostatečnost laktázy štěpící laktózu ve střevě vede v důsledku nesnášenlivosti mléčných výrobků ve stravě k deficitu kalcia a k osteopenii. Lze proto předpokládat, že gen kódující syntézu laktázy má prediktivní význam pro kvalitu kostní hmoty. Poměrně těsná asociace byla nalezena mezi tímto genem a hodnotou kostní hmoty a rizikem vertebrálních fraktur [14].

Existence vztahu hladin homocysteinu v séru k riziku fraktur inspirovala dánské autory k analýze asociace genu pro tetrahydrofolát reduktázu ke kostním parametřům. Jejich studie seniorské populace dvojčat našla asociaci polymorfismu *C677T* k riziku fraktur, které bylo 1,5krát vyšší u varianty CT než CC a 1,5krát vyšší u varianty TT než CT [26]. Prediktivní význam pro riziko fraktur má tedy alela T. K podobným výsledkům později dospěl také Ongphiphadhanakul [27].

K osteoporóze má pravděpodobně vztah také gen *ALDH7A1*, odpovědný za detoxikaci acetaldehydu, který tlumí novotvorbu kosti. Gen byl identifikován ve studii GWAS (genome-wide association study) u souboru 700 seniorů asijského původu. SNP *rs13182402* v tomto genu byl silně asociován s osteoporotickými frakturami [28]. Není známo, že by podobná studie byla realizována u bílé populace.

Riziko fraktur je dáno nejen hodnotami kostní denzity a mikrostruktury, ale i rozměry a geometrickými parametry skeletu. Protein PLCL1 (fosfo-

lipase c-like 1), který tlumí kalciový signál aktivovaný inositol 1,4,5-trifosfátem pravděpodobně reguluje odpověď senzitivních kostních buněk (především v kyčli) na mechanickou nálož. U skupiny mužů a žen bílé rasy byl nalezen vztah rozměrů kyčle ke genu pro *PLCL1* [29]. Prediktivní význam těchto genů pro kostní parametry bude třeba ověřit na větších souborech a u různých etnik.

Kandidátní geny pro osteoporózu determinují nejen kostní denzitu a kvalitu

Některé kandidátní geny pro osteoporózu pravděpodobně kódují produkci kalciotropních hormonů. Na souboru 112 normálních nesubstituovaných postmenopauzálních žen byly zaznamenány těsné vztahy C/T polymorfismu v genu pro *LRP5* k hladinám FSH [30] a 25OH vitamínu D [31] a polymorfismu *T1377C* v genu pro *CTR* k hladinám sexuálních steroidů [32]. Zjištěny byly i asociace genu pro *ESR* s hladinami prekursoru sexuálních steroidů androstendionu [33] a polymorfismu *FokI* v genu pro *VDR* s hladinami PTH [34]. Studie Laaksona et al [35] mimoto ukázala, že sérové hladiny PTH jsou determinovány interakcí mezi polymorfismy *FokI* v genu pro *VDR* a *BstBI* v genu pro *PTH*. Všechna tato převážně náhodná pozorování lze interpretovat jako projev evoluce kalcium-fosfátového systému. Poznatky však bude třeba ověřit na větších souborech a s přihlédnutím k vlivu dalších kandidátních genů.

Geny pro osteoporózu mohou mít vztah i k dalším mimokostním systémům. Jak ukázala studie GENOMOS, gen pro *VDR* má silný vztah k zánětu a imunitě. Otázka využití osteotropních genů v predikci některých mimokostních chorob (karcinom prsu, tlustého střeva nebo lymfom) je zatím jen teoretická.

S kostní denzitou mohou být naopak asociovány některé geny, které primárně kontrolují systémy mimo kalcium-fosfátový metabolismus. Bylo

např. zjištěno, že postmenopauzální nositelky alely *E4* v genu pro *apolipoprotein E* vykazují v průměru nižší hodnoty kostní denzity v bederní páteři než ženy s alelami *E1–E3* [36]. Všechna tato pozorování ukazují na integraci kalcium-fosfátového systému do fyziologických regulací celého organismu během evoluce.

Význam genetiky pro vývoj kostí u dětí a adolescentů

Kostní denzita se postupně zvyšuje od útlého dětství, výrazně rychleji pak v prepubertálním a pubertálním věku a v adolescenci. Z hlediska prevence osteoporózy má klíčový význam dosažení vrcholu kostní hmoty (mezi 16. a 26. rokem věku), přičemž zvýšení hodnoty vrcholu kostní denzity o 10% znamená snížení rizika fraktur později v postmenopauze zhruba o 50%.

Vztah kandidátních genů pro osteoporózu ke skeletu byl studován převážně u dospělých osob. Ukázalo se však, že variabilita vrcholu kostní hmoty adolescentů, kterou lze vysvětlit těmito geny, činí jen několik málo procent, přestože heritabilita kostní, svalové i tukové hmoty u pubertálních dívek je relativně vysoká (69, 50 a 75%). Vysvětlení slabšího vztahu kandidátních genů k vývoji vrcholu kostní hmoty lze spatřovat v silné interakci s dalšími geny a s dynamickými hormonálními změnami v pubertě. Nezanedbatelný význam má i vysoká citlivost dětské kosti na vlivy vnější [37]. Hormonální monitoring a úprava životního stylu (výživa a přiměřená fyzická aktivita) v době vývoje kosti mají proto prvořadý význam pro dosažení náležité hodnoty vrcholu kostní hmoty a prevenci osteoporotických fraktur v dospělosti.

Hormonální mechanismy aktivující pubertální vývoj kostní hmoty

Endokrinními systémy odpovědnými za pubertální vývoj kosti jsou především sexuální hormony. Růst kosti do délky a následné uzavření růstových štěrbin je pod kontrolou estrogenu, a to

u obou pohlaví. S nástupem puberty je mimoto také aktivována osa somatotropin-IGF-1. IGF-1 působí přímo na úrovni skeletu, kde je (zvláště po stimulaci mechanickou náloží) syntetizován a kde aktivuje osteoblastickou novotvorbu kosti. Ve vzájemné součinnosti se sexuálními steroidy zrychluje růst kosti do délky i do šířky a posiluje budování její kortikální i trabekulární struktury. Bezprostředním projevem aktivované novotvorby je vzestup hladin osteokalcinu a kostního izoenzymu alkalické fosfatázy. Systémový IGF-1 naopak reprezentuje frakci syntetizovanou především v játrech pod kontrolou somatotropinu a estrogenu a pod stimulačním vlivem potravních bílkovin. Systémový IGF-1 působí na kalciový metabolismus nejen na úrovni kosti, ale i mimo ni. Po vazbě na specifické receptory v ledvinách kanálci aktivuje produkci 1,25(OH)₂ vitamínu D a reabsorpci fosfátu. Ve střevě stimuluje absorpci kalcia a fosfátu. Oba tyto mechanismy tak zrychlují mineralizaci kostní matrix [37].

Sexuální diferenciaci ve vývoji pubertální kosti

U chlapců puberta nastupuje později než u dívek, ale akcelerace růstu kosti trvá 4 roky, zatímco u dívek pouze 3 roky. U dívek převažuje endostální nárůst kosti nad periostálním, který je naopak výrazněji zrychlen u chlapců. Důsledkem zesílení kortexu jsou větší rozměry mužského skeletu, který je tak proti mechanickému poškození odolnější než skelet ženský. Naopak dominující nárůst endostální kosti u dívek je účelným zařízením zajišťujícím dostatečné rezervy minerálu pro reprodukci. Základním předpokladem správného vývoje vrcholu kostní hmoty u dívek je včasný nástup puberty.

Vliv nutriční a fyzické zátěže na vyvíjející se skelet

Vývoj kosti i měkkých tkání (sval a tuk) do značné míry závisí na vnějších vlivech, které jsou snadno přístupné kontrole [37,38]. Klíčový význam pro skelet

má nutriční obsah kalcia a vitamínu D, jejichž potřeba závisí na věku a pohlaví dítěte. U dětí obou pohlaví do 10 let věku se doporučovaný příjem kalcia podle různých guidelines pohybuje mezi 500 a 1 200 mg denně, u adolescentních dívek pak zhruba okolo 1 300 mg denně. Minimální doporučená dávka cholekalciferolu je 400 j. denně. Pro příznivý vývoj pubertální kosti má význam také optimální příjem magnézia (300 mg denně), dostatek makronutrientů (zvláště bílkovin mléčného původu) a přiměřená fyzická aktivita dítěte.

Pozitivní vliv fyzické zátěže na skelet je vysvětlován aktivací specifických mechanoreceptorů na osteocytech, odkud je signál přenášen sítí kanálků k mezenchymálním buňkám, jež jsou pak transformovány na preosteoblasty a osteoblasty. Míra odpovědi kosti na fyzickou zátěž je částečně determinována genem pro *LRP5* a modulována estrogenem. V souvislosti s fyzickou zátěží se diskutuje také o vlivu genu *SOST*, který kontroluje aktivitu sklerostinu. Tato molekula novotvorbu nezátěžených kostí tlumí, ale po zátěži její produkce fyziologicky klesá [39]. Fyzická zátěž mimoto stimuluje syntézu anabolicky působících molekul v kosti (IGF-1 a kyslíčnicku dusnatého), aktivuje iontové kanály buněčné membrány a pozitivně moduluje kostní geometrii [37].

Jak již bylo naznačeno, na mechanickou nálož citlivěji než dospělý skelet odpovídá skelet prepubertální [37]. Pravidelný sportovní trénink (gymnastika) u dětí zrychluje vývoj kostní hmoty především v nosných kostech (kyčel) a má pozitivní vliv i na kvalitu kosti později v dospělém a seniorském věku. Bylo zjištěno, že incidence fraktur u 60letých bývalých atletů je významně nižší v porovnání se stejně starými nesportovci [40].

Význam fyzické zátěže pro vývoj dětského skeletu je vysvětlován mechanostatickou teorií založenou na funkci svalově-kostní jednotky. Podle této teorie je základním předpokladem

zdárného vývoje pubertální kosti její adaptace na svalovou sílu. Tato adaptace je modulována estrogenem i androgeny. Není zatím jasné, proč odpověď skeletu na fyzickou zátěž po pubertě slábne. Nicméně pomocí magnetické rezonance bylo zjištěno, že vývoj svalu a kosti u mladých dospělých sportovců (tenisté) může probíhat i vzájemně nezávisle [41]. Význam svalu (objemu a síly) pro integritu skeletu v různých věkových obdobích bude třeba dále ověřovat.

Závěrečné poznámky

Osteoporóza je závažným onemocněním, které postihuje miliony lidí všech kontinentů. Proto je kladen důraz na aktivní vyhledávání osob zatížených rizikem vzniku osteoporózy a na její prevenci. Více než 10 let intenzivního hledání „major“ genu pro osteoporózu ukázalo, že takový gen neexistuje, ale že kostní hmota a její kvalita jsou determinovány vzájemnou interakcí mezi mnoha „slabými“ geny a vnějšími vlivy. Nejvyužívanější metodou je identifikace variabilit v DNK ve vztahu k určitému kostnímu fenotypu (asociační studie). Analýzy vztahu jednotlivých kandidátních genů ke kostním parametrům však mají řadu úskalí. Základní podmínkou kvalitní asociační studie je dostatečně velký populační vzorek a jeho přesná charakteristika podle věku, pohlaví, stavu menopauzy, body mass indexu, zdravotního stavu probandů a vlivu prostředí (nutrice a fyzická aktivita v období puberty). Asociační studie jsou mimoto limitovány i tím, že většinou analyzují vztahy určitého fenotypu k náhodně vybranému polymorfismu zkoumaného genu. Příkladem jsou výsledky multicentrické studie Uitterlinden et al [42], kteří nenalezli vztahy kostních fenotypů k nejstudovanějším polymorfismům *FokI*, *BsmI*, *Apal* a *TaqI* ve *VDR*, ale náhodně zaznamenali vztah výskytu vertebrálních fraktur k dosud neidentifikovanému polymorfismu *Cdx2* v témže genu.

Cestou, která do určité míry zvyšuje výpovědní hodnotu asociačních studií,

je metaanalýza. Ta však většinou nebere v úvahu rozdílné experimentální podmínky analyzovaných studií ani studie s negativními výsledky. Příslibem do blízké budoucnosti je mapování kandidátních genů pomocí GWAS (genome-wide association studies) a sekvenční technologie umožňující polygenní analýzy [43].

Klíčové postavení v prevenci osteoporózy má pediatriká osteologie, jejímž cílem je selekce dětí se zvýšeným rizikem nedostatečného vývoje kostní hmoty a úprava jejich životního stylu. Jak bylo zmíněno, nutriční opatření, podobně jako fyzická aktivita mají pro vývoj skeletu největší význam, jsou-li zahájena ještě před nástupem puberty. Je však třeba poznamenat, že za určitých okolností může nepřiměřeně vysoká fyzická zátěž vyvíjející se skelet i poškodit, např. při opožděném nástupu puberty, výživové nedostatečnosti nebo u některých závažných interních onemocnění. Vhodnou dávku fyzické zátěže u dětí je tedy třeba individualizovat. Ukazuje se, že pro normální vývoj dětského skeletu postačí i mírnější, rekreační zátěž.

Moderním přístupem v léčbě osteoporózy je farmakogenetika. Genotypizace umožní nejen identifikovat jedince disponované k osteoporotickým frakturám, ale i predikovat odpověď kosti na antiosteoporotickou léčbu i riziko jejích vedlejších účinků. Preventivní význam estrogenní substituce u postmenopauzálních žen je ověřen dlouhodobými studiemi. Ukazuje se však, že pacientky na estrogen odpovídají lépe, či hůře v závislosti na genotypu (polymorfizmy v genech pro *ESR*, *VDR* nebo *OPG*). Podobně u dívek je míra odpovědi vyvíjejícího se skeletu na suplementaci vitamínem D determinována polymorfismem *FokI* v genu pro *VDR*. Výběr antiosteoporotické léčby na základě identifikace genů odpovědných za její efektivitu tedy umožní výběr vhodného farmaka již v samém začátku léčby, což by mělo mít i význam ekonomický.

Variabilita v polymorfismech pro receptory steroidů má prediktivní význam

pro pozitivní nebo negativní odpověď na estrogen, vitamin D nebo glukokortikoidy [44]. Polymorfizmy v genu pro *ESRα* (varianty *Pvull* a *Xbal*) a v genu pro *VDR* (*Apal*, *Bsml*, *TaqI* a *FokI*) predikují nejen kvalitu, geometrii a metabolický obrat kosti, ale i její odpověď na estrogen, selektivní modulátor estrogenních receptorů nebo vitamin D [45]. Efektivita substituce estrogeny analyzovaná po 10 letech léčby byla asociována s polymorfizmem *Ile568Asn* v genu *P2X7* [46]. Účinnost antiosteoporotické léčby byla také determinována variacemi v genu *COL1A1*. Přítomnost alely G v genu pro *OPG* predikovala nejen riziko osteoporózy, ale i odpověď kosti na alendronát. Na základě genotypu lze předvídat riziko komplikací léčby, např. vznik osteonekrózy čelisti při podávání bisfosfonátů [47]. Genotypizace tedy může pomoci při výběru vhodného farmaka s předpokládanou maximální pozitivní odpovědí a minimálními nežádoucími účinky. Reálný význam má v prevenci netraumatických fraktur u vybraných mladších osob s vysokým rodinným výskytem nízké kostní denzity. Dosud však nebyla zařazena do obecných guidelines diagnostiky a léčby osteoporózy a její klinické využití je zatím předmětem výzkumu.

Moderním preventivním přístupem zvažujícím vliv genetiky i zevního prostředí je stanovení dlouhodobého rizika zlomenin pomocí algoritmu FRAX (WHO), který stanoví pravděpodobnost fraktury u jedince s nízkou kostní denzitou v období následujících 10 let, přičemž jsou zvažovány výskyt fraktur v osobní a rodinné anamnéze, věk, pohlaví, body mass index, etnická charakteristika, kouření, alkoholismus, event. sekundární osteoporóza a léčba glukokortikoidy. FRAX je aplikovatelný u postmenopauzálních žen a mužů ve věku 40–90 let. Podle guidelines některých zahraničních autorů by léčbu měli podstoupit pacienti s 10letým FRAX skóre nad 3 % (pro kyčel) a nad 20 % (pro ostatní lokalizace skeletu) [48]. Doporučení platná v ČR zatím nebyla stanovena.

Poděkování

Práce byla podpořena grantem NR/9831-4 MZ ČR.

Seznam zkratek

QTL – quantitative trait loci – oblasti chromozomů s lokusy pro kvantitativní znaky
ESR1α – estrogenní receptor 1α
VDR – receptor pro vitamin D
CTR – receptor pro kalcitonin)
 růstové faktory *TGFβ1* – transforming growth factor β1
BMP-4 – kostní morfogenetický faktor-4
IGF-1 – inzulinu podobný růstový faktor-1
COL1A1 Sp1 – polymorfismus genu pro kolagen typu 1
LRP – low density lipoprotein receptor-related protein
DKK-1 – Dickkopf-related protein 1
RANK – jaderný aktivátor NR-κB
RANKL – ligand pro *RANK*
SERM – modulátor receptoru pro estrogen
ALDH7A1 – gen na chromozomu 31 pro detoxikaci aldehydu, který inhibuje proliferaci osteoblastů a tlumí novotvorbu kosti
GWAS – genome-wide association study
P2X7 – purigen receptor
Alul – polymorfismus v genu pro kalcitoninový receptor; produkt PCR je štěpen *Alul* restrikázou
FokI – polymorfismus v exonu genu pro *VDR*
Bsml, *Apal*, *TaqI* – intragenní polymorfizmy v genu pro *VDR*
COL1A1 Sp1 – alely homozygotů *SS* a *ss* nebo heterozygotů *Ss* v genu pro kolagen typu 1
FRAX – Fracture Risk Assessment Tool

Literatura

1. Lazcano-Ponce E, Tamaro J, Diaz T et al. Correlation trends for bone mineral density in Mexican women: evidence of familiar predisposition. *Salud Publica Mex* 2009; 51 (Suppl 1): 93–99.
2. Peacock M, Turner CH, Econs MJ et al. Genetics of osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2002; 23: 303–326.
3. Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2460–2466.
4. Omelka R, Martiniaková, Žofková I. Genetický výskum osteoporózy: možnosti a experimentálne východiská. *Osteologický bulletin* 2007; 12: 11–17.
5. Rauch F, Lalic L, Roughley P et al. Genotype-phenotype correlations in nonlethal osteogenesis imperfecta cause by mutations in the helical domain of collagen type I. *Eur J Hum Genet* 2010; Jan 20 (Epub ahead of print).
6. Thakkinian A, D'Este C, Eisman J et al. Meta-analysis of molecular association

studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 419–428.

7. Cooper GS, Umbach DM. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1841–1849.

8. Zajickova K, Zofkova I, Bahbouh R et al. 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.

9. Willing M, Sowers M, Aron D et al. Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 695–705.

10. Masi L, Cimaz R, Simonini G et al. Association of low bone mass with vitamin d receptor gene and calcitonin receptor gene polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29: 2225–2231.

11. Lee HJ, Kim SY, Kim GS et al. Fracture, bone mineral density, and the effects of calcitonin receptor gene in postmenopausal Koreans. *Osteoporosis Int* 2009; Nov 28 (Epub ahead of print).

12. Zofkova I, Zajickova K, Hill M et al. Does polymorphism C1377T of the calcitonin receptor gene determine bone mineral density in postmenopausal women? *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2003; 111: 447–449.

13. Charapoulos I, Trovas G, Stathopoulou M et al. Lack of association between vitamin D and calcitonin receptor gene polymorphisms and forearm bone values of young Greek males. *J Musculoskelet Neuronat Interact* 2008; 8: 196–203.

14. Obermayer-Pietsch B. Genetics of osteoporosis. *Sien Med Wochenschr* 2006; 156: 162–163.

15. Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML et al. Large-scale evidence for the effect of *COL1A1 Sp1* polymorphism on osteoporosis outcomes: The GENOMOS study. *PLoS Medicine* 2006; 3: 0515–0522.

16. MacDonald HM, McGuigan FA, New SA et al. *COL1A1 Sp1* polymorphism predicts perimenopausal and early postmenopausal spinal bone loss. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1634–1641.

17. Fairbrother UL, Tankó LB, Halley AJ et al. Leptin receptor genotype at *Gln223Arg* is associated with body composition, BMD, and vertebral fracture in postmenopausal Danish women. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 544–550.

18. Glass DA2nd, Fialek P, Ahn JD et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts control osteoclast differentiation. *Developmental cell* 2005; 8: 751–764.

19. Grundberg E, Lau EM, Lorentzon M et al. Large-scale association study between two coding LRP5 gene polymorphisms and bone phenotypes and fractures in men. *Osteoporosis Int* 2008; 19: 829–837.
20. van Meurs JB, Rivadeneira F, Jhamai M et al. 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: 141–150.
21. Czerny B, Kaminski A, Kurawski M et al. The association of IL-1 β , and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis in postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; Jan 6 (Epub ahead of print).
22. Wang C, He JW, Qin YJ et al. Osteoprotegerin gene polymorphism and therapeutic response to alendronate in postmenopausal women with osteoporosis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009; 89: 2958–2962.
23. Ueland T, Bollerslev J, Wilson SG et al. No associations between OPG gene polymorphisms or serum levels and measures of osteoporosis in elderly Australian women. *Bone* 2007; 40: 175–181.
24. Takács I, Lazáry A, Kósa JP et al. Allelic variations of RANKL/OPG signaling system are related to bone mineral density and in vivo gene expression. *Eur J Endocrinol* 2010; 162: 423–431.
25. Richter L, Chevalley T, Manen D et al. Bone mass in prepubertal boys is associated with a Gln223Arg amino acid substitution in the leptin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 4380–4386.
26. Bathum L, von Bornemann Hjelmberg J, Christiansen L et al. Evidence for an association of methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism C677T and an increased risk of fractures: results from a population-based Danish twin study. *Osteoporosis Int* 2004; 15: 659–664.
27. Ongphiphadhanakul B. Osteoporosis: the role of genetics and the environment. *Forum Nutr* 2007; 60: 158–167.
28. Guo Y, Tan LJ, Lei SF et al. Geonome-wide association study identifies ALDH7A1 as a novel susceptibility gene for osteoporosis. *PLoS Genet* 2010; 6: 1000806.
29. Liu YZ, Wilson SG, Wang L et al. Identification of PLCL1 gene for hip bone size variation in females in a geonome-wide association study. *PLoS One* 2008; 3: 3160.
30. Zofkova I, Hill M, Zajickova K. Association of C/T polymorphism in the LRP5 gene with circulating follicle stimulating hormone in Caucasian postmenopausal women. *Physiol Res* 2007; 56: 735–739.
31. Zajickova K, Hill M, Vankova M et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 and vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to vitamin D levels in menopause. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1066–1069.
32. Zofkova I, Zajickova K, Hill M. Postmenopausal serum androstenedione levels are associated with the calcitonin receptor gene polymorphism T1377C. A pilot study. *J Endocrinol Invest* 2004; 27: 442–444.
33. Zofkova I, Zajickova K, Hill M. The estrogen receptor alpha gene determines serum androstenedione levels in postmenopausal women. *Steroids* 2002; 67: 815–819.
34. Zofkova I, Zajickova K, Hill M. Serum parathyroid hormone levels are associated with FokI polymorphism of the vitamin D receptor gene in untreated postmenopausal women. *Eur J Internal Med* 2003; 14: 232–236.
35. Laaksonen MM, Outila TA, Karkkainen MU et al. Association of vitamin D receptor, calcium-sensing receptor and parathyroid hormone gene polymorphisms with calcium homeostasis and peripheral bone density in adult Finns. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2009; 2: 55–56.
36. Zajickova K, Zofkova I, Hill M et al. Apolipoprotein E 4 allele is associated with low bone density in postmenopausal women. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 312–315.
37. Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S et al. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex* 2009; 51 (Suppl I): S5–S17.
38. Cheng S, Völgyi E, Tylovsky FA et al. Trait-specific tracking and determinants of body composition: a 7 year follow-up study of pubertal growth in girls. *BMC Med* 2009; 7: 5.
39. Robling AG, Bellido TM, Turner CH. Mechanical loading reduced osteocyte expression of sclerostin protein. *J Bone Miner Res* 2006; 21 (Suppl I): S72.
40. Nordstrom A, Karlsson C, Nyquist F et al. Bone loss and fracture risk after reduced physical activity. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 202–207.
41. Ducher G, Courteix D, Meme S et al. Bone geometry in response to long-term tennis playing and its relationship with muscle volume: a quantitative magnetic resonance imaging in tennis players. *Bone* 2005; 37: 457–466.
42. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 255–264.
43. Duncan EL, Brown MA. Mapping genes for osteoporosis-old dogs and new tricks. *Bone* 2010; Jan 11 (Epub ahead of print).
44. Gennari L, De Paola V, Merlotti D et al. Steroid hormone receptor gene polymorphisms and osteoporosis: a pharmacogenomic review. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 537–553.
45. Massart F, Marcucci G, Brandi ML. Pharmacogenetics of bone treatments: the VDR and ER α gene story. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 733–746.
46. Ohlendorff SD, Tofteng CL, Jensen JE et al. Single nucleotide polymorphisms in the P2X7 gene are associated to fracture risk and the effect of estrogen treatment. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17: 555–567.
47. Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Pharmacogenetics of osteoporosis and the prospect of individualized prognosis and individualized therapy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15: 481–488.
48. Siris ES, Baim S, Nattiv A. Primary care use of FRAX: absolute fracture risk assessment in postmenopausal women and older men. *Postgrad Med* 2010; 122: 82–90. www.shef.ac.uk/FRAX.

prof. MUDr. Ivana Žofková, DrSc.
www.endo.cz
e-mail: izofkova@endo.cz

Doručeno do redakce: 12. 8. 2010
Přijato po recenzi: 21. 10. 2010