

Genetika a farmakogenetika osteoporózy

Ivana Žofková¹, Radoslav Omelka²

¹ Endokrinologický ústav Praha, ředitelka doc. RNDr. Běla Bendlová, CSc.

² Katedra botaniky a genetiky Fakulty přírodních věd Univerzity Konštantína Filozofa Nitra, Slovenská republika, vedúci katedry doc. RNDr. Roman Kuna, PhD.

Souhrn

Osteoporóza je závažné onemocnění charakterizované vysokou morbiditou a mortalitou v důsledku atraumatických fraktur. Kromě vlivu vnějšího prostředí se v patogenезe osteoporózy uplatňují faktory vnitřní (hormonální nerovnováha a genetické pozadí). Článek podává přehled kandidátních genů pro osteoporózu, které klasifikuje podle metabolických okruhů regulujících minerální denzitu nebo kvalitu kosti (okruh estrogenní, RANKL/RANK/OPG, mevalonátový, okruh Wnt, geny pro kolagen a vitamin D). Zabývá se také perspektivou praktického využití farmakogenetiky (identifikace jednotlivých kandidátních genů pomocí PCR) nebo farmakogenomiky (plošné měření škály genů pomocí GWAS) při výběru optimální léčby osteoporózy. Potencionálními prediktory odpovědi na antiresorpční léčbu jsou geny pro ER, FDPS, Cyp19A1, VDR, Col 1A1 a gen pro signalizaci Wnt. Polymorfizmy genů CYP2C, ale také FDPS mohou naopak identifikovat nemocné s vysokým rizikem nežádoucí odpovědi na bisfosfonáty (osteonekróza čelisti). Limitujícím faktorem výzkumu genetiky osteoporózy je nedostatečný konsenzus výsledků asocičních studií. Vysvětlení kontroverzních výsledků lze hledat v rozdílných metodických přístupech (rozsah a homogenita souboru, etnické rozdíly nebo vazebná nerovnováha mezi geny). Klíčovým úskalím asocičních studií je nízká variabilita (7-10 %) kostních fenotypů, které souvisí se zkoumaným genem. Nicméně identifikace nových genů a ověřování jejich asociace s kostními parametry oběma metodami zůstává velkou výzvou s cílem optimalizace prevence a léčby osteoporózy.

Klíčová slova: farmakogenetika osteoporózy – kalcitonin – kandidátní geny pro osteoporózu – osteoporóza – vitamin D

Genetics and pharmacogenetics of osteoporosis

Summary

Osteoporosis is a serious disease characterized by high morbidity and mortality due to atraumatic fractures. In pathogenesis of osteoporosis, except environment, internal factors, such as hormonal dysbalance and genetic background, are also in play. In this review, candidate genes for osteoporosis are classified according to metabolic or hormonal pathways, which regulate bone mineral density/and or quality (estrogen, RANKL/RANK/OPG, mevalonate, Wnt circuit, genes for collagen and vitamin D). Authors discuss the perspectives of practical utilization of pharmacogenetics (identification of single candidate genes using PCR) or pharmacogenomics (using genome wide association studies) in choice of optimal treatment of osteoporosis. Potential predictors of effectivity of antiresorption therapy are genes ER, FDPS, Cyp19A1, VDR, Col1A1 and gene of Wnt pathway. Moreover, polymorphisms of CYP2C gene, but also FDPS may identify patients with high risk of undesirable effects of bisphosphonates (osteonecrosis of jaw). Unfortunately, results of the most association studies has not been confirmed by other investigators. The controversial results could be explained by different methodic approaches in individual studies (different sample size, homogeneity of investigated groups, ethnic differences or linkage disequilibrium between genes). Key cliff of association studies is low variability (7-10 %) of bone phenotypes associated with investigated genes. Nevertheless, identification of new genes and verification their association with bone density and/or quality using both PCR and genome wide association studies remain to be a great challenge targeting optimal prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: calcitonin – candidate genes for osteoporosis – osteoporosis – pharmacogenetics of osteoporosis – vitamin D

Úvod

Osteoporóza je závažné onemocnění s vysokou incidencí. Včasná identifikace rizikových jedinců v premorbidním stadiu je prvořadým předpokladem účinné prevence osteoporózy. Známými příčinami nízké kostní denzity jsou hypoestrinismus, výživová nedostatečnost (deficit kalcia, vitaminů D a K), omezení pohybové aktivity, „frailty“ syndrom, nikotinismus nebo nadměrná konzumace alkoholu. Se stoupajícím výskytem autoimunitních, revmatických a dalších chorob přibývá nemocných s osteoporózou indukovanou glukokortikoidy a imunosupresivy, antiepileptiky, antikoagulačními látkami nebo i samotným onemocněním.

Výsledky studií u postižených rodin potvrzují, že osteoporóza je onemocněním dědičným. Je známo, že dcery (vnučky) žen s nízkou hodnotou kostní denzity onemocní osteoporózou častěji než dcery (vnučky) žen s normální kostní denzitou [1].

Míra heritability kostních fenotypů (ztráta kostní denzity, biochemické ukazatele remodelace, struktura a rozměry kosti nebo počet fraktur) byla měřena u dvojčat 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 [2]. Udává se, že heritabilita kostní denzity je 60–80 %, neboli 60–80 % variace kostního minerálu lze vysvětlit genetickým pozadím. Heritabilita kostní denzity se může v různých lokalizacích skeletu lišit. Bylo zjištěno, že zatímco H^2 v lumbální páteři je 0,89, v krčku femoru, kde se více uplatňuje vliv mechanické zátěže, je H^2 0,77 [3].

Původně byly identifikovány chromozomové lokusy predikující 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), později pak alelické varianty jednonukleotidových polymorfizmů (SNP) kontrolujících kostní fenotypy (polymorfizmy v genech pro ER α , VDR, CTR, růstové faktory TGF β 1, BMP-4, IGF-1, CYP17 nebo LRP5). Na základě výsledků asocičních studií lze kandidátní geny pro osteoporózu diferencovat podle okruhů regulujících kostní metabolismus, a to klasicky pomocí PCR (farmakogenetika) nebo plošnou analýzou široké škály genů pomocí GWAS (genom wide association studies) prováděnou v jediném měření (farmakogenomika) [4]. Obě zmíněné metody se vzájemně doplňují.

Přehled kandidátních genů pro osteoporózu podle okruhů modulujících kostní metabolismus

Okruh estrogenní

Ovariální estrogény prostřednictvím receptorů ER1 (ER α) a ER2 (ER β) v kosti tlumí resorpci kosti přímo nebo inhibicí produkce osteoresorpčních cytokinů (interleukin 1, TNF α). Proto byly analyzovány vztahy mezi polymorfizmy PvuII nebo XbaI v genu pro ER a kostním fenotypem. Metaanalýza 22 studií u 5 000 žen například zjistila, že XX genotyp polymorfismu XbaI byl asociován

s vyšší hodnotou kostní denzity v páteři i krčku femoru. Další metaanalýza 19 000 probandů z evropských center našla asociaci mezi ER α a rizikem fraktur, která však ne vždy korelovala se vztahem ke kostní denzitě [5,6]. U kavkazoidní populace byla u žen zjištěna asociace jednoho SNP v genu pro ER β s kostní denzitou, zatímco u mužů se ke kostní denzitě vázaly 3 SNP ve stejném genu [7]. Tato studie ukazuje na určitou sexuální diferenciaci ve vazbě genu ke kostnímu fenotypu.

Regulační efekt estrogenu na skelet má pravděpodobně širší sféru působení. Geny pro ER modulují kostní denzitu nejen přímo, ale také prostřednictvím prekurzorů sexuálních steroidů nebo vazebných bílkovin pro sexuální steroidy (SHBG). Sami jsme v pilotní studii ukázali, že polymorfismus XbaI v ER α je u postmenopauzálních žen asociován s hladinou androstendionu [8]. Vztah ke kostní denzitě byl pozorován také u polymorfismu v genu pro SHBG [9]. Kostní denzitu pravděpodobně moduluje také CYP19A1 (lokalizovaný na 15. chromozomu), který primárně reguluje aromatizaci androgenů na estrogen [10].

RANK- RANKL-OPG (základní okruh regulující remodelaci kosti)

RANKL je bílkovina z rodiny tumor necrosis factor (TNF), produkovaná osteoblasty a kódovaná genem TNFRSF11 (TNFRSF11A). RANKL je cílovou molekulou osteoresorpčních cytokinů, proto nepřekvapuje, že mezi kostními parametry a geny kódujícími produkci cytokinů je vzájemný vztah. Czerny et al [11] u souboru 226 osteoporotických a 224 zdravých postmenopauzálních žen našel asociaci mezi polymorfismem 174/C v genu pro IL1 α a kostní denzitou, ale pouze u skupiny osteoporotických žen. Regulační vliv genu pro IL1 α na kostní denzitu tedy zřejmě závisí na remodelační aktivitě kosti.

Kandidátním genem pro OPG (solubilní falešný receptor pro RANKL), který blokuje vazbu RANKL na RANK, je TNFRSF11B. U postmenopauzálních žen čínské populace byl nalezen vztah alely G v genu pro OPG (polymorfizmy A163G a T245G) k riziku osteoporózy [12]. Podobně Mencej-Bedrač et al [13] u souboru 478 postmenopauzálních žen našli vztah polymorfizmů 1181G $\geq$ C a 245T $\geq$ G v genu TNFRSF11B ke kostní denzitě. Tato asociace však nebyla potvrzena studií na velkém souboru australských žen, v níž byly analyzovány polymorfizmy G1181C a T950C a A163G [14]. Neuspokojivý konsenzus těchto studií pravděpodobně souvisí s rozdílnou frekvencí alelických kombinací u jednotlivých populací.

Wnt okruh

Wnt signalizace obecně moduluje diferenciaci buněk jednak nekanonickou cestou (prostřednictvím signálu kalciového nebo cAMP) a jednak cestou kanonickou, v níž ústřední roli hraje β katenin. Diferenciace osteoblastů je převážně pod kontrolou kanonické signalizační dráhy. Beta-kenin po vazbě na receptorové proteiny LRP (low density lipoprotein receptor-related

protein) a FZD (frizzled receptors) je přenesen do buněčného jádra, v němž po vazbě na transkripční faktor TCFs evokuje proliferaci a diferenciaci pre-osteoblastů [15,16]. Wnt okruh má tedy osteoanabolický efekt. Inhibitory Wnt jsou SFRP3 (kódovaný genem FRZB), DKK1–4 a sklerostin (kódovaný genem SOST). Bylo zjištěno, že protilátky proti některému z těchto inhibitorů (např. antisclerostinové protilátky) mohou zvýšit hodnotu kostní denzity u hypoestrinních potkanů [17]. Wnt okruh je kontrolován genem LRP5. Inaktivační mutace v LRP5 se u člověka manifestuje jako juvenilní osteoporóza, aktivační mutace naopak jako osteopetróza. Multicentrická studie u 37 534 účastníků z Evropy a severní Ameriky ukázala, že polymorfizmy V667M (v exonu 9) a A1330V (v exonu 18) tohoto genu byly asociovány s nízkou hodnotou kostní denzity a vyšším výskytem fraktur [18].

Kolagen typu I

Kolagen I, jehož a řetězec je kódován genem COL1A1, je klíčovým ukazatelem kvality kosti. Prediktivní význam genu COL1A1 byl potvrzen studií Uitterlindena [19]. Autoři zjistili, že kombinace alel S a s v polymorfismu Sp1 COL1A1 u bílé populace je asociována s rizikem fraktur. Nositelé kombinace ss měli toto riziko 2,7krát vyšší než nositelé alely S. Vztah mezi COL1A1 a rizikem fraktur byl později potvrzen dalšími autory [20,21].

Vitamin D a kalcitonin

Aktivní metabolit vitamínu D [$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] je klíčovým regulátorem kostního metabolismu. Aktivuje specifický receptor (VDR) prostřednictvím responzibilních elementů (VDRE) a moduluje funkci receptoru pro kyselinu retinovou (RXRV), s níž tvoří heterodimerní komplex. Po vazbě na osteoblastický VDR, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aktivuje syntézu alkalické fosfatázy a osteokalcinu v kosti, ale současně, v závislosti na koncentraci v mediu a době inkubace, aktivuje tvorbu osteoklastů [22]. Ve vysokých koncentracích tedy $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zvýší kostní resorpci. Homeostázu kalcia in vivo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reguluje i na mimokostních úrovních. Snižuje ztráty kalcia a fosforu ledvinami a stimuluje jejich absorpci ve střevě, čímž zajišťuje adekvátní mineralizaci kostní matrix [5].

Gen pro VDR byl prvním kandidátním genem, u něhož byla Morrisonem zjištěna asociace s kostní denzitou. Efekt genotypu VDR (polymorfizmy TaqI, BsmI a ApaI) byl nejsilnější u premenopauzálních žen a s věkem se snižoval [23]. Asociace VDR s kostní denzitou však byla potvrzena jen v ojedinělých studiích [24]. Vztah VDR ke kostní denzitě nebyl potvrzen ani metodou geonome wide association study (GWAS). Byla však nalezena asociace mezi polymorfizmy kódujícími protein vázající vitamin D (VDBP) a hladinu cirkulujícího $25(\text{OH})\text{D}$. Gen pro VDBP je tedy, podobně jako CYP2R1, dalším nepřímým prediktorem rizika osteoporózy [5].

Kost je základní cílovou tkání kalcitoninu. Asociace mezi receptorem pro kalcitonin (CTR) a kostní hmotou

byla nalezena v několika studiích. U zhruba 700 perimenopauzálních a postmenopauzálních žen byl demonstrován vztah mezi genotypem CTR (kombinace alel CC) a kostní hmotou. Vazba však byla silnější u mladších žen souboru [26]. V pilotních studiích byl u postmenopauzálních žen zaznamenán vztah CTR (polymorfismus C1377T) ke kostní denzitě [26,27]. Avšak další studie konsenzus nepřinesly. U mladých mužů řecké národnosti nebyla nalezena asociace CTR s kostní denzitou předloktí [28]. Efekt genu tedy zřejmě závisí nejen na věku, ale i pohlaví a etniku. Konečnou odpověď by měly přinést analýzy u větších homogenních souborů a také metoda GWAS.

Mevalonátový okruh

Jde o cílový okruh pro aminobisfosfonáty (alendronát, ibandronát, rizedronát, zoledronát), které blokují syntézu cholesterolu na úrovni enzymu farnesyldifosfát-syntázy (FDPS). Důsledkem této blokády je akumulace neprenylovaných proteinů, které tlumí funkci osteoklastů a urychlují jejich zánik. Protektivní vliv bisfosfonátů na skelet mimoto spočívá ve zpomalení apoptózy osteoblastů a osteocytů [5].

Další geny s potenciálním efektem na kostní metabolismus

Insuficience enzymu laktázy štěpící laktózu ve střevě vede ke gastrointestinální intoleranci mléčných produktů a sekundárně k deficitu kalcia a k osteopenii (osteoporóze). Gen kódující syntézu laktázy může mít tedy prediktivní význam pro kvalitu kostní hmoty [1]. Relevantní studie prokazující vztah tohoto genu ke kostním parametrům zatím chybí. K riziku fraktur má vztah také vysoká hladina homocysteinu kontrolovaná genem pro tetrahydrofolátreduktázu. U seniorské populace dvojčat byla pozorována asociace mezi polymorfismem C677T v tomto genu a rizikem fraktur, jenž bylo 1,5krát vyšší u nositelů genotypu CT než CC a 1,5krát vyšší u genotypu CT než TT. Prediktivní význam pro vznik osteoporózy má tedy alela T tohoto polymorfismu [2].

Dalším genem asociovaným s rizikem osteoporotických fraktur je ALDH7A1, zodpovědný za detoxikaci pro skelet toxického acetaldehydu. U asijské populace byla metodou GWAS zjištěna asociace mezi SNP rs 13182402 v tomto genu a osteoporotickými frakturami [4]. Vztah zatím nebyl popsán u bílé populace.

Riziko fraktur je dáno nejen hodnotou kostní hmoty nebo její mikrostrukturou, ale i geometrickými parametry skeletu. Protein fosfolipase c-like 1 (PLCL1) reguluje odpověď kosti na mechanickou nálož, především v kyčli. U populace žen byl metodou GWAS nalezen vztah genu PLCL1 k rozměrům kyčle [29]. Lze však očekávat etnické rozdíly ve vztahu mezi geometrickými parametry skeletu a genem pro PLCL1.

Upravené přehledy kandidátních genů pro kostní denzitu identifikovaných metodou PCR [6] uvádí **tab. 1**, metodou GWAS [5] **tab. 2** a výběr genů vztahujících se k riziku fraktur [30] **tab. 3**.

Tab. 1. Polymorfismy základních kandidátních genů asociované s kostní densitou.
Vztah ERβ k BMD nalezen nebyl. Upraveno podle [6].

geny, u nichž vztah k BMD byl nalezen, ale řadou dalších autorů nebyl potvrzen			
kandidátní gen	lokus	SNP polymorfismus	
VDR	<i>FokI</i>	rs2228570	exon 2
VDR	<i>BsmI</i>	rs1544410	intron 8
VDR	<i>TaqI</i>	rs731236	exon 9
ERα	<i>PvuII</i>	rs2344693	intron 1
ERα	<i>XbaI</i>	rs9340799	intron 1
ERα		rs3798575	intron 6
ColIA1	<i>SpI</i>	rs1800012	intron 1
TNFRSF	OPG(A163G)	rs102735	promotorová oblast 5'UTR
TNFRSF	OPG (T245G)	rs134069	promotorová oblast 5'UTR
NFRSF	OPG (T950C)	rs2073617	promotorová oblast 5'UTR
FDPS		rs11264359	5'UTR
GGPS1		rs3840452	promotorová oblast 5'UTR
LRP5	C3893T		exon 18

Tab. 2. Výběr genů asociovaných s kostní densitou krčku femoru nebo páteře identifikované metodou GWAS.
Upraveno podle [5].

kandidátní gen	lokus	SNP polymorfismus
geny okruhu Wnt		
LRP5	11q13.2	rs3736228
SOST	17q21.31	rs4792909
WNT16/FAM3C	7q31.31	rs3801387
WNT4	1p36.12	rs7521902
AXIN1	16p13.3	rs9921222
geny pro RANK-RANKL-OPG		
OPG (TNFRSF11B)	8q24.12	rs206237
RANK (TNFRSF11A)	18q21.33	rs884205
RANKL (TNFRSF11)	13q14	rs9533090
gen kódující hladinu sklerostinu v krvi (zjištěno u černé populace Karibiku, v bílé populaci vazba nebyla studována; Kuipers et al 2013)		
SOST	17q11.2	rs851056, rs41455049, rs9909172
geny pro enchondrální osifikaci		
CDKA1/SOX4	6p22.3	rs9466056
SOX6	11p15.2	rs7108738
SP7	12q13.13	rs2016266
SUPT3/RUNX2	6p21.1	rs11755164

Kandidátní geny pro densitu a kvalitu kosti pravděpodobně moduluji také syntézu některých osteotropních hormonů

Asociační studie u souboru 112 postmenopauzálních žen našly vztah sérových hladin androstendionu, prekursoru sexuálních steroidů, a geny pro CTR [31] nebo ER [8]. U téhož souboru žen byly také zjištěny asociace

mezi hladinou parathormonu a genem pro VDR [32] nebo mezi hladinou FSH a LRP5 [33]. Vztah mezi VDR a parathormonem později potvrdili Laaksonen et al [34].

Kostní densita může mít vztah ke genu, který byl primárně identifikován jako gen regulující některý mimokostní systém. Sami jsme u souboru postmenopauzálních

Tab. 3. Výběr kandidátních genů asociovaných s kostní densitou a s osteoporotickými frakturami.
Upraveno podle [30].

kandidátní gen	lokus	SNP polymorfismus	
geny okruhu Wnt			
CTNNB1	3p22.1	rs430727	kóduje β katenin
LRP5	11q13.2	rs3736228	lipoprotein receptor related peptide 5
MBL2/DKK1	10q21.1	rs1373004	
SOST	17q21.31	rs4792909	sklerostin
WNT16/FAM3C	7q3131	rs3801367	
WNT4	1p36.12	rs7521902	Wingless proteiny typ MMTV 4
RANK-RANKL-OPG			
TNFRSF11	13q14	rs9333090	receptor TNF, 11 (RANKL)
TNFRSF11A	18q21.33	rs884205	receptor TNF 11a (RANKL)
TNFRSF11B	8q2412	rs2062377	receptor TNF 11b (OPG)
gen pro enchondrální osifikaci			
MEPE/SPP1/IBSP	4q21.1	rs6532023	

ních žen zjistili, že nositelky rizikové alely E4 v genu pro apolipoprotein (determinující metabolismus lipidů) mají nižší hodnotu kostní hustoty v páteři než nositelky alel E1, E2 a E3 [35]. Tato vesměs náhodná pozorování ukazují na integraci kalcium-fosfátového metabolismu do regulace celého organismu, jež se vyvinula v průběhu evoluce. Potvrzení těchto vztahů však přinesou další studie na velkých souborech s využitím GWAS.

Farmakogenetika osteoporózy

Cílem farmakogenetiky je individuální výběr optimálního farmaka, u něhož lze předpokládat nejvyšší efektivitu léčby při nejnižším riziku vedlejších účinků. Studována byla farmakogenetika antiresorpčních látek (estrogenů, SERM a bisfosfonátů).

Polymorfizmy determinující odpověď kosti na estrogen

Byly nalezeny asociace mezi odpovědí kosti na estrogen nebo SERM a polymorfizmy Pvull v ERα a A266G v genu pro *LRP5* [5,36,37]. Tyto asociace bude třeba potvrdit dalšími studiemi.

Geny modulující odpověď kosti na bisfosfonáty

Gen mevalonátového okruhu FDPS má pravděpodobně význam pro predikci odpovědi skeletu na bisfosfonáty. Polymorfizmy rs2297480 a rs1126435v genu pro FDPS byly u postmenopauzálních žen bílé populace asociovány s odpovědí kosti na dlouhodobou léčbu bisfosfonáty. Nositelky alely A měly lepší odpověď kostní hustoty i biochemických ukazatelů na alendronát a ibandronát [38]. Podobně u španělských žen byla nalezena asociace mezi polymorfizmy rs2297480 a rs1164359 v genu pro FDPS a odpovědí kosti na léčbu

alendronátem nebo risedronátem. Vzestup kostní hustoty o 1 % byl zaznamenán u žen genotypu AA polymorfismu rs2297480, naopak u nositelek genotypu CC hodnota kostní hustoty klesla o 1,6 %. Lepší odpověď skeletu na bisfosfonáty byla také pozorována u nositelky alely G v polymorfismu rs1126435 [39]. Naopak rizikovou alelou, která může predikovat nežádoucí účinek bisfosfonátů na skelet, je alela G (polymorfismus rs17024608) v genu RBMS3. Vztah odpovědi kosti na alendronát ke genu pro OPG byl zatím nalezen pouze u čínských postmenopauzálních žen [5]. Studie analyzující asociaci genu mevalonátového okruhu s odpovědí na parathormon nebo denosumab nebo s rizikem vedlejších účinků zatím nebyly publikovány.

S odpovědí kostní hmoty na dlouhodobou léčbu bisfosfonátem byl asociován gen *Sp1 COL1A1*. Postmenopauzální ženy s genotypem SS dosáhly vyššího vzestupu hodnoty kostní hmoty v krčku femoru a v páteři při léčbě etidronátem než ženy s genotypem Ss nebo ss Alelou determinující odpověď kosti na bisfosfonát je tedy genotyp SS [40].

Pozitivní vztahy byly zaznamenány u mužů mezi odpovědí kostní hustoty na risedronát a polymorfizmy V6677M (rs4988321) a V1330V (rs3736228) v genu pro *LRP5* [41]. *LRP5* má mimoto vztah k intestinální produkci serotoninu, který kostní metabolismus ovlivňuje negativně. Gen je tedy potencionálním prediktorem rizika osteoporózy u nemocných léčených inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) [42].

Geny determinující odpověď kosti na podávání vitamínu D

V placebem kontrolované studii u dívek dlouhodobě suplementovaných vitamínem D byla zjištěna asociace mezi polymorfizmy BsmI a TaqI a procentuálním

vzestupem kostní denzity v několika oblastech skeletu [5,43]. Výsledky bude třeba ověřit dalšími studii na velkých souborech a také u dospělých žen a u mužů.

Farmakogenetika osteonekrózy komplikující léčbu bisfosfonáty

Probíhají analýzy polymorfismů v genech VEGF a PPAR γ , které regulují transformaci prekurzorové pluripotentní buňky směrem k adipocytům nebo osteoblastům a genů pro osu RANK/RANKL/OPG ve vztahu k nežádoucím účinkům bisfosfonátů na skelet. Relevantní výsledky zatím nebyly publikovány [41].

Komentář a výhledy do budoucnosti

Osteoporóza je polygenní onemocnění, kde každý z kostních fenotypů (denzita, kvalita, metabolický obrát) je výsledkem interakce mezi mnoha slabými geny. „Major gene“, který by zodpovídal za manifestaci osteoporózy, se dosud identifikovat nepodařilo, a to ani s využitím nejmodernějších metod. Některá náhodná pozorování ukazují na širší vliv kandidátních genů pro osteoporózu na skelet. Zmínili jsme vztahy mezi geny ER nebo CTR a hladinami prekurzorů sexuálních steroidů a asociaci mezi LRP5 a cirkulujícím FSH, hormonem, který prostřednictvím interleukinu 1 β aktivuje resorpci kosti a ve vysokých koncentracích zrychluje ztrátu kostní hmoty [44]. Regulační vliv těchto genů na hormonální ukazatele bude třeba dále ověřovat.

Genetika osteoporózy má řadu úskalí, která zatím nedovolují aplikovat získané informace do praktické osteologie. Především nebylo dosaženo jednotného konsenzu ve vztazích mezi některými kandidátními geny a kostními fenotypy. Může to být důsledek nejednotných metodických přístupů (výběr probandů, rozsah a homogenita souborů) nebo odlišné alelické frekvence u porovnávaných populací. U malých souborů lze mimoto zaznamenat falešně pozitivní výsledky způsobené vazebnou nerovnováhou v kandidátním genu, který se nachází v těsném sousedství jiného genu. Významným rušivým jevem je vliv vzájemných interakcí mezi geny (interakce mezi ER a VDR) nebo mezi genem a vnějším prostředím (životní styl, výživa, fyzická aktivita). Zvažují se i vlivy epigenetických faktorů, které prostřednictvím metylace cytozinu v DNK, modifikace histonu a malých molekul RNK (miRNK) modulují vztahy mezi sledovaným genem a fenotypem. Klíčovým problémem asociačních studií je poměrně nízká variabilita kostních fenotypů související s kandidátním genem (pohybuje se mezi 7 a 10 %) [5,6].

Těmto úskalím částečně čelí metoda GWAS, která v jednom měření umožňuje identifikovat celou škálu kandidátních genů a vyhodnotit tak vliv jejich vzájemných interakcí na příslušný fenotyp (farmakogenomika). Zatím zhruba 20 studií GWAS zaznamenalo asociaci genů s kostní denzitou, frakturami nebo geometrií skeletu [5]. Analýza provedená na 47 000 probandů našla 82 lokusů vztahujících se ke kostní denzitě a 6 lokusů pro fraktury [45]. Lze předpokládat, že

GWAS v budoucnu umožní identifikovat geny (v DNK i miRNK) kódující vazbu farmaka na cílové receptory, jeho transportní mechanismy, farmakokinetiku a farmakodynamiku [46].

Slabé efekty běžných variací kandidátních genů byly zaznamenány v mnohých GWAS analýzách, avšak žádný gen nepřispívá podstatnou měrou k variabilitě kostních fenotypů. Je proto možné, že kromě slabého vlivu velkého počtu běžně se vyskytujících alel k fenotypu přispívají i vzácné varianty s nízkou frekvencí alel. Odhalení vzácných variant může být problematické i v rámci GWAS. Velkou perspektivu v tomto směru představuje technologie sekvenování nové generace (NGS), která ve spojení s bioinformatickými metodami umožňuje analyzovat sekvenci celého genomu s vysokým potenciálem identifikace i vzácných variant. Tato technologie bude v genetice (genomice) osteoporózy nabývat stále většího významu, zvláště v souvislosti s postupným snižováním nákladů na sekvenování a vývojem nových analytických nástrojů [47].

Přes veškerá úskalí a řadu dosud nezodpovězených otázek zůstává genetika (genomika) osteoporózy velkou výzvou pro další výzkum v oblasti patogeneze, diagnostiky a personalizované léčby osteoporózy.

Práce byla podpořena projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00023761 (Endokrinologický ústav Praha).

Literatura

1. Obermayer-Pietsch B. Genetics of osteoporosis. *Wien Med Wochenschr* 2006; 156(5–6): 162–167.
2. 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. *Osteoporos Int* 2004; 15(8): 659–664.
3. Ongphiphadhanakul B. Osteoporosis: the role of genetics and the environment. *Forum Nutr* 2007; 60: 158–167.
4. Guo Y, Tan LJ, Lei SF et al. Genome-wide association study identifies ALDH7A1 as a novel susceptibility gene for osteoporosis. *PLoS Genet* 2010; 6(1): e1000806. Dostupné z DOI: <http://doi: 10.1371/journal.pgen.1000806>.
5. Riancho JA, Hernández JL. Pharmacogenomics of osteoporosis: a pathway approach. *Pharmacogenomics* 2012; 13(7): 815–829.
6. Marini F, Brandi ML. The future of pharmacogenetics for osteoporosis. *Pharmacogenomics* 2013; 14(6): 641–653.
7. Ischikawa S, Koller DL, Peacock M et al. Polymorphisms in the estrogen receptor beta (ESR2) gene are associated with bone mineral density in Caucasian men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(11): 5921–5927.
8. Žofková I, Zajicková K, Hill M. The estrogen receptor alpha gene determines serum androstenedione levels in postmenopausal women. *Steroids* 2002; 67(10): 815–819.
9. Riancho JA, Valero C, Zarrabeitia MT et al. Genetic polymorphisms are associated with serum levels of sex hormone binding globulin in postmenopausal women. *BMC Med Genet* 2008; 9: 112.
10. Simpson ER. Role of aromatase in sex steroid action. *J Mol Endocrinol* 2000; 25(2): 149–156.
11. Czerny B, Kaminski A, Kurzawski M et al. The association of IL-1beta, and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and

- osteoporosis in postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 149(1): 82–85.
12. 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(42): 2958–2962.
13. Mencil-Bedrač S, Přezelí J, Marc J. TNFRSF11B gene polymorphisms 1181>C and 245T>G as well as hypotype CT influence bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas* 2011; 69(3): 263–267.
14. 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(1): 175–181.
15. Whyte MP, Reinus WH, Mumm S. High-bone-mass disease and LRP5. *N Engl J Med* 2004; 350(20): 2096–2099.
16. Glass DA 2nd, Bialek P, Ahn JD et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts control osteoclast differentiation. *Dev Cell* 2005; 8(5): 751–764.
17. Li X, Ominsky MS, Warmington KS et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2009; 24(4): 578–588.
18. Van Meurs JB, Trikalinos TA, Ralston SH et al. GENOMOS study. Large scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis. *JAMA* 2008; 299(11): 1277–1290.
19. Uitterlinden AG, Burger H, Huang O et al. Relation of alleles of collagen type I alpha gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1998; 338(15): 1016–1021.
20. 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 Med* 2006; 3(4): e90.
21. Jin H, van't Hof RJ, Albagha OM et al. Promoter and intron 1 polymorphisms of COL1A1 interact to regulate transcription and susceptibility to osteoporosis. *Hum Mol Genet* 2009; 18(15): 2729–2738.
22. Ge DX, Li L, Wu J et al. 1,25(OH)₂ dihydroxyvitamin D₃ induces the formation of osteoclasts from mononuclear cells of rat marrow. *Sichuan D Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2007; 38(2): 213–216.
23. Riggs BL, Nguyen TV, Melton LJ 3rd et al. The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 1995; 10(6): 991–996.
24. 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(10): 2225–2231.
25. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet* 2010; 19(13): 2739–2745.
26. Braga V, Mottes M, Mirandola S et al. Association of CTR and COL1A1 alleles with BMD values in peri- and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2000; 67(5): 361–366.
27. Žofková 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(7): 447–479.
28. Charopoulos 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 Neuronal Interact* 2008; 8(2): 196–203.
29. Liu YZ, Wilson SG, Wang L et al. Identification of PLCL1 gene for hip bone size variation in females in a genome-wide association study. *PLoS One* 2008; 3(9): e3160. Dostupné z DOI: <<http://doi: 10.1371/journal.pone.0003160>>.
30. Mitchell BD, Streeten EA. Clinical impact of recent genetic discoveries in osteoporosis. *Appl Clin Genet* 2013; 6: 75–85.
31. Žofková I, Zajickova K, Hill M. Postmenopausal serum androstenedione levels are associated with the calcitonin receptor gene polymorphism T1377C. A pilot study. *Endocrinol Invest* 2004; 27(5): 442–444.
32. Žofková 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 Intern Med* 2003; 14(4): 232–236.
33. Žofková 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(6): 735–739.
34. 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(2): 55–63.
35. Zajickova K, Žofková I, Hill M et al. Apolipoprotein E 4 allele is associated with low bone density in postmenopausal women. *J Endocrinol Invest* 2003; 26(4): 312–315.
36. Kobayashi N, Fujino T, Shirogane T et al. Estrogen receptor alpha polymorphism as a genetic marker for bone loss, vertebral fractures and susceptibility to estrogen. *Maturitas* 2002; 41(3): 193–201.
37. Heilberg IP, Hernandez E, Alfonso E et al. Estrogen receptor (ER) gene polymorphism may predict the bone mineral density response to raloxifene in postmenopausal women on chronic hemodialysis. *Ren Fail* 2005; 27(2): 155–161.
38. Marini F, Falchetti A, Silvestri S et al. Modulatory effect of farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS) rs2297480 polymorphism on the response to long-term amino-bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Curr Med Res Opin* 2008; 24(9): 2609–2615.
39. Olmos JM, Zarrabeitia MT, Hernández JL et al. Common allelic variants of the farnesyl diphosphate synthase gene influence the response of osteoporotic women to bisphosphonates. *Pharmacogenomics J* 2012; 12(3): 227–232.
40. Queshi AM, Herd RJ, Blake GM et al. COL1A1 Sp1 polymorphism predicts response of femoral neck bone density to cyclical etidronate therapy. *Calcif Tissue Int* 2002; 70(3): 158–163.
41. Kruk M, Ralston SH, Albagha OM. LRP5 Polymorphisms and response to risendronate treatment in osteoporotic men. *Calcif Tissue Int* 2009; 84(3): 171–179.
42. Wu Q, Bencaz AF, Crowell MD. Selective serotonin reuptake inhibitor treatment and risk of fractures: a meta-analysis of cohort and case-control studies. *Osteoporos Int* 2012; 23(1): 365–375.
43. Arabi A, Zahed L, Mahfoud Z et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms modulate the skeletal response to vitamin D supplementation in healthy girls. *Bone* 2009; 45(6): 1091–1097.
44. Cannon JG, Cortez-Cooper M, Meaders E et al. Follicle-stimulating hormone, interleukin-1, and bone density in adult women. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298(3): R790–R798.
45. Estrada K, Evangelou E, Hsu YH et al. Association analyses of 47,500 individuals identifies six fracture loci and 82 BMD loci clustering in biological pathways that regulate osteoblast and osteoclast activity. *Bone* 2011; 48 (Suppl 2): S69.
46. Rukov JL, Shomron N. MicroRNA pharmacogenomics: post-transcriptional regulation of drug response. *Trends Mol Med* 2011; 17(8): 412–422.
47. Zheng HF. An example design of large-scale next-generation sequencing study for bone mineral density. *IBMS BoneKey* 2013; 10: Article number 398. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1038/bonekey.2013.132>>.

prof. MUDr. Ivana Žofková, DrSc.

✉ izofkova@upcmil.cz

Endokrinologický ústav, Praha
www.endo.cz

*Doručeno do redakce 13. 2. 2014
Přijato po recenzi 27. 3. 2014*