

Polimorfizm białka morfogenetycznego kości (BMP2) a etiologia osteoporozy

Polymorphism of bone morphogenetic protein (BMP2) and osteoporosis etiology

Hubert Wolski^{1,2}, Anna Bogacz^{3,4}, Joanna Bartkowiak-Wieczorek^{3,4},
Agnieszka Greber³, Wojciech Pieńkowski¹, Krzysztof Drews^{1,5},
Andrzej Klejewski^{6,7}, Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz^{1,4,5}

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

² Oddział Ginekologiczno-Położniczy, Podhalański Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Nowy Targ, Polska

³ Pracownia Farmakogenetyki Doświadczalnej, Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

⁴ Zakład Farmakologii i Fitochemii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, Polska

⁵ Pracownia Biologii Molekularnej w Klinice Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

⁶ Katedra Pielęgniarstwa Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

⁷ Klinika położnictwa i Chorób Kobiety Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

Streszczenie

Wstęp: Osteoporoza jest przewlekłą, uogólnioną chorobą kości uwarunkowaną przez wiele czynników, wśród których istotną rolę odgrywa podłoże genetyczne. Białko morfogenetyczne kości (BMP2 – bone morphogenetic protein), będące czynnikiem wzrostu należącym do nadrodziny białek TNF- β , jest czynnie włączone w metabolizm tkanki kostnej. Białko BMP2 wykazuje potencjał osteoindukcyjny oraz reguluje wzrost płytki chrzęstnej, a tym samym bezpośrednio wpływa na proces osteogenezy.

Cel pracy: Celem pracy była analiza częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 w populacji kobiet polskich po menopauzie, jak również określenie związku między badanymi wariantami polimorficznymi a parametrami obrotu kostnego.

Materiał i metody: Badaniem objęto 117 niespokrewnionych kobiet rasy kaukaskiej po menopauzie (średni wiek 55,1 lat), zamieszkujących region Wielkopolski. Analizę polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 przeprowadzono z wykorzystaniem metody reakcji łańcuchowej polimerazy/polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP – polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism), natomiast pomiar gęstości mineralnej kości (BMD – bone mineral density) wykonano z zastosowaniem metody DEXA. W badaniu analizowano również wybrane parametry kliniczne oraz parametry obrotu kostnego.

Wyniki: Dla obydwu polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 odnotowano porównywalną częstość występowania genotypów i alleli w badanych grupach kobiet po menopauzie z osteopenią, osteoporozą oraz prawidłową wartością T-score. Analiza nie pokazała również związku parametrów klinicznych oraz obrotu kostnego z poszczególnymi genotypami polimorfizmów BMP2 u kobiet z osteoporozą, osteopenią oraz w grupie z prawidłową wartością T-score.

Adres do korespondencji:

Hubert Wolski

Oddział Ginekologiczno-Położniczy, Podhalański Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Polska, 34-400 Nowy Targ, ul. Szpitalna 14

tel. 18/263-33-00

e-mail: sekretariat@pszs.eu

Otrzymano: 10.01.2014

Zaakceptowano do druku: 27.06.2014

Wnioski: W pracy nie potwierdzono bezpośredniego związku polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 z rozwojem osteoporozy w populacji kobiet polskich po menopauzie. Badania wskazały również na brak korelacji polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 z analizowanymi parametrami klinicznymi oraz parametrami obrotu kostnego.

Słowa kluczowe: **osteoporoza / białko morfogenetyczne kości / metabolizm kostny /**

Abstract

Objectives: Osteoporosis is a chronic, generalized bone disease conditioned by many factors among which the genetic background plays the significant role. Bone morphogenetic protein (BMP2), a growth factor belong to superfamily of TNF- proteins, is actively involved in bone tissue metabolism. BMP2 protein shows the osteoinduction potential and regulates growth of cartilage plate, and the same directly influences the process of osteogenesis.

The aim: The aim of study was to examine the frequency of genotypes and alleles of 570A>T and 5375G>A of BMP2 gene polymorphisms in population of Polish postmenopausal women, as well as to analyze the relationship between investigated polymorphic variants and bone turnover parameters.

Material and methods: Into the study 117 postmenopausal women, Caucasian race (average age 55,1 years) living in Wielkopolska region were classified. The analysis of 570A>T and 5375G>A BMP2 polymorphisms was performed by polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism (PCR/RFLP) while bone mineral density (BMD) was measured by DEXA method. In the research the chosen clinical and bone turnover parameters were analysed.

Results: In both 570A>T and 5375G>A BMP2 polymorphisms the similar frequency of genotypes and alleles in investigated groups of postmenopausal women with osteoporosis, osteopenia and in the group with correct T-score were noted. The analysis do not show the relationship of clinical and bone turnover parameters with particular genotypes of BMP2 polymorphisms in women with osteoporosis, osteopenia and in the group with correct T-score.

Conclusions: The research did not confirm directly relationship of 570A>T and 5375G>A BMP2 polymorphisms with osteoporosis development in population of Polish postmenopausal women. The investigation also shows lack of correlation of 570A>T and 5375G>A BMP2 polymorphisms polymorphisms with analysed clinical and bone turnover parameters.

Key words: **osteoporosis / bone morphogenetic protein / bone metabolism /**

Wstęp

Osteoporoza jest chorobą cywilizacyjną charakteryzującą się ubytkiem masy kostnej i zaburzeniem struktury kości. Mechanizmy, które regulują wzrost i rozwój kości oraz biorą udział w etiologii osteoporozy nie są do końca poznane. Choroba ma wieloczynnikowy charakter, a jej patomechanizm uwarunkowany jest zaburzeniami gospodarki hormonalnej, aktywności cytokin oraz czynników wzrostu. W świetle aktualnie prowadzonych badań podłoża molekularnego osteoporozy warianty polimorficzne genów kandydujących do jej rozwoju uważane są za jeden z istotnych czynników regulacji metabolizmu kościotworzenia [1].

Rodzina białek morfogenetycznych kości (BMPs – *bone morphogenetic proteins*) odgrywa zróżnicowaną rolę w licznych procesach fizjologicznych organizmu. Dobrze poznanym i opisanym jest białko morfogenetyczne kości BMP2, zidentyfikowane w 1965 roku jako regulator budowy chrząstki i kości. Białko BMP2 jest czynnikiem wzrostu należącym do nadrodziny białek TNF-β, zbudowanym z 396 aminokwasów, z których 19 stanowi sekwencję sygnałową [2, 3]. BMP2 stymuluje wzrost płytki chrzęstnej oraz uczestniczy w gojeniu kości, odgrywając kluczową rolę w regulacji osteogenezy [4, 5].

Udowodniony został również wpływ białka BMP2 na ekspresję genów białek macierzy szklanej [6]. Wykazano, że receptory dla BMP2 znajdują się nie tylko na powierzchni komórek osteoblastów, ale również na blaszkach tętnic i komórkach mięśni gładkich, wskazując na udział w powstawaniu miażdżycy. BMP2 działa także regulacyjnie na komórki mezenchymalne, nabłonkowe, krwiotwórcze i nerwowe [7].

Gen BMP2, znajdujący się na chromosomie 20p12, uznawany jest za gen kandydujący do rozwoju osteoporozy [8]. Niektóre z wariantów polimorficznych genu BMP2 prawdopodobnie wpływają na stężenie białka morfogenetycznego kości i warunkują prawidłowy proces osteogenezy [9, 10]. W eksonie 2 opisano funkcjonalny polimorfizm 570A>T (rs235768, Arg190Ser) powodujący zamianę aminokwasu argininy na serynę w łańcuchu białkowym, natomiast w intronie 2 genu BMP2 polimorfizm 5375G>A (rs1005464) [11].

Cel pracy

Celem pracy była analiza częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 w populacji kobiet polskich po menopauzie, jak również określenie związku między badanymi wariantami polimorficznymi a parametrami obrotu kostnego.

Materiał i metody

Analizie poddano grupę niespokrewnionych kobiet po menopauzie ($n=117$, średni wiek 55,1 lat), rasy kaukaskiej, zamieszkujących region Wielkopolski, które zgłosiły się do Pracowni Densytometrii Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w latach 2004-2007. Na przeprowadzenie badań uzyskano świadomą pisemną zgodę pacjentek oraz zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu nr 1426/04.

Gęstość mineralną kości (BMD – *bone mineral density*) oznaczono w odcinku lędźwiowym kręgosłupa od kręgu L1 do L4 stosując metodę podwójnej absorpcjometrii rentgenowskiej (DEXA – *dual energy X-ray absorptiometry*). Badania densytometryczne przeprowadzono za pomocą aparatu LUNAR DPX 100 (Lunar Copr., Madison, USA). Wyniki pomiarów BMD wyrażono w jednostce g/cm^2 i przedstawiono za pomocą wskaźników T -score i Z -score. Za prawidłową wartość pomiaru BMD przyjęto wynik mieszczący się między 1 odchyleniem standardowym od średniej wiekowej w odniesieniu do szczytowej masy kostnej (T -score od +1 do -1). W badaniu oznaczono także wskaźniki BMD badanych kobiet w porównaniu do średniej dla młodych dorosłych (YA – *young adults*) i BMD w porównaniu do średniej dla danego wieku (AM – *age matched*). Wykonano także pomiar masy ciała i wzrostu, w celu obliczenia wskaźnika masy ciała (BMI – *body mass index*) wyrażonego przyjętym wzorem ($\text{masa ciała/wzrost}^2$). Dodatkowo przeprowadzono szczegółowy wywiad z każdą pacjentką odnośnie stosowania leków, występowania chorób, wieku wystąpienia pierwszej i ostatniej miesiączki, jak również liczby przebytych ciąż, masy urodzeniowej i palenia tytoniu.

Kryteria włączenia obejmowały wystąpienie menopauzy co najmniej przed rokiem, wykluczenie stosowania terapii hormonalnej oraz leków mających wpływ na masę kostną. Z badań wykluczono pacjentki po zabiegu obustronnego usunięcia jajników, a także kobiety z zaburzeniami endokrynologicznymi, metabolicznymi, autoimmunologicznymi oraz z chorobami nowotworowymi.

Analizę polimorfizmów genu BMP2 metodą reakcji łańcuchowej polimerazy oraz polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP – *polymerase chain reaction/restriction fragment lenght polymorphism*) przeprowadzono w Pracowni Farmakogenetyki Doświadczalnej przy Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Sekwencje starterów zastosowanych do reakcji PCR oraz długość otrzymanych produktów zostały przedstawione w tabeli I.

Do analizy polimorfizmów 5375G>A oraz 570A>T genu BMP2 użyto enzymów restrykcyjnych *HphI* i *BseNI* (*BsrI*) (Tabela II).

Analiza produktów hydrolizy została dokonana poprzez wizualizację w świetle UV, z wykorzystaniem systemu dokumentacji i komputerowej analizy obrazu UVI-KS4000/Image PC (Syngen Biotech Molecular Biology Instruments, USA). W pracy zbadano również związek polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 z wartościami wskaźników BMI, T -score, Z -score, L2-L4AM, L2-L4YA, L2-L4BMD.

W celu dokonania analizy statystycznej uzyskanych wyników wykorzystano program SPSS 17.0 PL. Przeprowadzono ją z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA.

Za wartość statystycznie istotną uznano $p<0,05$.

Wyniki

W przypadku polimorfizmu 570A>T BMP2 odnotowano porównywalną częstość występowania zmutowanego genotypu TT w grupie kobiet z prawidłową wartością T -score (29,2%) w porównaniu do grupy z osteopenią (28,1%) oraz z osteoporozą (25,0%, ns). Podobne obserwacje odnosiły się do częstości zmutowanego allele T w grupie kobiet z prawidłową wartością T -score (50%) w porównaniu do grupy kobiet z osteopenią (47,4%) oraz osteoporozą (45,8%, ns). Analiza polimorfizmu 5375G>A BMP2 wykazała tylko nieznacznie większą częstość występowania zmutowanego genotypu AA w grupie kobiet z prawidłowym T -score (8,3%) w porównaniu do grupy z osteopenią (3,5%) oraz osteoporozą (2,8%). Różnice te nie były statystycznie istotne. Częstość występowania genotypu heterozygotycznego AT tego polimorfizmu była porównywalna we wszystkich badanych podgrupach (31,6% u kobiet z osteopenią vs. 33,3% u kobiet z osteoporozą vs. 29,2% w grupie z prawidłowym T -score, ns). Wskazano również na podobną częstość zmutowanego allele A w grupie kobiet z prawidłowym T -score (22,9%) w porównaniu do grupy z osteopenią (19,3%) oraz osteoporozą (19,4%, ns). W przypadku obydwu analizowanych polimorfizmów częstość występowania genotypów badanych polimorfizmów była zgodna z prawem Hardy-Weinberga. (Tabela III).

W pracy przeprowadzono również analizę związku parametrów klinicznych i obrotu kostnego z badanymi polimorfizmami genu BMP2. Analiza ta nie pokazała korelacji badanych parametrów z poszczególnymi genotypami u kobiet z osteoporozą, osteopenią oraz w grupie z prawidłową wartością T -score. Odnotowano natomiast mniejszą masę ciała pacjentek oraz wartość współczynnika BMI w grupie kobiet z osteoporozą w porównaniu do grupy kobiet z osteopenią oraz prawidłową wartością T -score. Obserwacje te potwierdziły się również w sposób statystycznie istotny podczas analizy grupy kobiet z osteoporozą nosicielek poszczególnych wariantów polimorficznych 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2. W zakresie polimorfizmu 5375G>A BMP2 pokazano różnicę statystycznie istotną dla BMD w stosunku do średniej młodych kobiet (YA) i średniej dla danego wieku (AM) pomiędzy całą grupą z osteoporozą a grupą z osteopenią i prawidłowym T -score. (Tabela IV oraz V).

Dyskusja

Białka należące do rodziny BMP odgrywają istotną rolę w procesach naprawczych tkanki kostnej, co potwierdzają obserwacje wzrostu ich stężenia u pacjentów po złamaniach kostnych [12]. W badaniach na szczurach i owcach wykazano korzystny wpływ podawania pojedynczych dawek białek BMPs w procesie gojenia kości, odbudowy kolagenu i karboksymetylocelulozy, szczególnie u zwierząt z wcześniejszym niedoborem estrogenów i współistniejącą osteoporozą [13, 14]. Dodatkowo zwrócono uwagę na możliwy związek polimorfizmów genów BMPs z aktywnością białek oraz wpływem na procesy kościotworzenia, co zainicjowało szereg badań nad udziałem wariantów genetycznych w etiologii osteoporozy.

W przedstawianej pracy nie wykazano istotnych różnic w częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 pomiędzy grupami kobiet po menopauzie z osteoporozą, osteopenią oraz prawidłowymi

Tabela I. Sekwencje starterów oraz długości produktów PCR.

Amplifikowany gen	Sekwencje użytych starterów [5'→3']	Długość produktu PCR [pz]
BMP2 5375G>A	F: CTG TGA ACG TCT AAC TTA CCT R: CAT GTG GTT CAA GGT CTC AG	244
BMP2 570A>T	F: CGA GAA CAG ATG CAA GAT GC R: ACT TCC ACC ACG AAT CCA TG	230

Tabela II. Charakterystyka enzymów restrykcyjnych zastosowanych w analizie polimorfizmu 5375G>A oraz 570A>T genu BMP2.

Polimorfizm	Enzym restrykcyjny	Rozpoznawane sekwencje	Długość otrzymanych fragmentów
5375G>A	<i>HphI</i>	5' ... GGTGA(N ₈)↓... 3' 3'... CCACT(N ₇)↑... 5'	GG (244pz) GA (244pz, 132pz, 112pz) AA (132pz, 112pz)
570A>T	<i>BseNI</i>	5' ...ACTGGN↓... 3' 3'...TGAC↑CN... 5'	AA (230pz) AT (230pz, 123pz, 107pz) TT (123pz, 107pz)

Tabela III. Rozkład częstości poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu BMP2 570A>T oraz 5375G>A w grupie kobiet po menopauzie z osteopenią, z osteoporozą, o prawidłowych wartościach T-score.

	Grupa z osteopenią		Grupa z osteoporozą		Grupa o prawidłowych wartościach T-score		Ogółem	
	Wartość obserwowana n (%)	Wartość oczekiwana %	Wartość obserwowana n (%)	Wartość oczekiwana %	Wartość obserwowana n (%)	Wartość oczekiwana %	Wartość obserwowana n (%)	Wartość oczekiwana %
BMP2 570A>T								
Genotypy								
AA	19 (33,3)	27,7	12 (33,3)	29,3	7 (29,2)	25,0	38 (29,9)	27,4
AT	22 (38,6)	49,9	15 (41,7)	49,7	10 (41,7)	50,0	57 (44,9)	49,9
TT	16 (28,1)	22,4	9 (25,0)	21,0	7 (29,1)	25,0	32 (25,2)	22,7
Allele								
A	60 (52,6)	-	39 (54,2)	-	24 (50,0)		133 (52,4)	
T	54 (47,4)	-	33 (45,8)	-	24 (50,0)		121 (47,6)	
BMP2 5375G>A								
Genotypy								
GG	37 (64,9)	65,1	23 (63,9)	64,9	15 (62,5)	59,4	75 (64,1)	63,9
GA	18 (31,6)	31,2	12 (33,3)	31,3	7 (29,2)	35,3	37 (31,6)	32,1
AA	2 (3,5)	3,7	1 (2,8)	3,8	2 (8,3)	5,3	5 (4,3)	4,0
Allele								
G	92 (80,7)	-	58 (80,6)	-	37 (77,1)		187 (79,9)	
A	22 (19,3)	-	14 (19,4)	-	11 (22,9)		47 (20,1)	

wartościami *T-score*. Nie odnotowano również żadnego związku badanych wariantów polimorficznych z parametrami klinicznymi i parametrami obrotu kostnego. Obserwowane różnice niektórych parametrów pomiędzy całymi grupami wskazują natomiast na prawidłowy dobór odpowiednio scharakteryzowanych fenotypowo pacjentek.

Podobnie do naszych rezultatów przedstawiają się wyniki badań otrzymanych przez innych autorów. W analizie Ozkan i wsp. w populacji tureckich kobiet po menopauzie nie wykazano

statystycznie istotnych różnic w częstości występowania badanych genotypów polimorfizmu 570A>T BMP2 w grupie z osteoporozą oraz u osób zdrowych [15]. Varanasi i wsp. analizowali polimorfizm 570A>T BMP2 w grupie mężczyzn rasy kaukaskiej zamieszkujących Wielką Brytanię (118 osób z osteoporozą oraz 224 zdrowych osób). Badania te również nie wykazały statystycznie istotnej różnicy w występowaniu poszczególnych wariantów pomiędzy grupą kontrolną a grupą badaną. Genotyp TT był częściej obecny w grupie badanej (38,1%) niż w grupie

Tabela IV. Porównanie średnich wartości analizowanych parametrów klinicznych z genotypami polimorfizmu BMP2 570A>T w poszczególnych grupach badanych kobiet.

Polimorfizm 570A>T BMP2									
	Grupa z osteopenią			Grupa z osteoporozą			Grupa z prawidłowym T-score		
Genotyp	AA	AT	TT	AA	AT	TT	AA	AT	TT
T-score									
Średnia ±SD	-0,62 ±0,52	-0,84 ±1,03	-0,86 ±0,72	-1,95 ±0,70	-1,46 ±1,13	-1,25 ±0,63	0,67 ±0,69	0,26 ±1,12	1,37 ±0,86
Z-score									
Średnia ±SD	-1,75 ±0,39	-1,79 ±0,43	-1,94 ±0,39	-3,10 ±0,50	-3,18 ±0,59	-2,94 ±0,35	-0,50 ±0,44	0,23 ±1,16	0,33 ±0,65
Wiek									
Średnia ±SD	56,61* ±7,12	49,09* ±9,43	56,13* ±10,83	52,75 ±6,70	56,07 ±12,06	57,66 ±5,04	54,29 ±10,16	54,70 ±12,72	58,00 ±7,89
Masa urodzeniowa badanych kobiet [g]									
Średnia ±SD	3152,00 ±228,29	3357,50 ±854,73	- [^] -	2710,00 ±339,41	2997,50 ±295,56	2670,00 [^] -	3750,00 [^] -	3260,00 ±60,21	4066,66 ±907,38
Wiek wystąpienia pierwszej miesiączki									
Średnia ±SD	13,36 ±2,58	12,75 ±2,87	12,82 ±2,09	12,57 ±1,72	11,89 ±2,52	14,17 ±1,47	14,33 ±2,08	13,33 ±1,51	13,40 ±2,19
Wiek wystąpienia ostatniej miesiączki									
Średnia ±SD	49,30 ±5,37	49,89 ±1,83	49,62 ±4,22	47,10 ±4,63	46,36 ±5,06	49,89 ±4,43	48,83 ±4,26	52,00 ±3,85	51,20 ±4,32
Lata reprodukcje									
Średnia ±SD	36,09 ±5,74	37,13 ±2,64	36,00 ±6,28	36,00 ±3,46	34,11 ±3,69	35,33 ±5,31	31,00 ±5,29	38,00 ±4,00	37,80 ±3,56
Liczba ciąż									
Średni ±SD	2,16 ±1,50	1,91 ±1,15	1,88 ±0,95	1,25 ±0,97	1,40 ±0,98	2,11 ±1,36	2,86 ±1,86	2,50 ±1,43	1,71 ±0,95
Masa ciała (kg)									
Średnia ±SD	67,42* ±9,24	61,91* ±9,63	70,75* ±9,79	64,58 ±10,50	57,87 ±7,76	59,44 ±9,53	68,57 ±13,62	70,90 ±16,85	72,57 ±14,40
Wzrost (cm)									
Średnia ±SD	162,74 ±5,54	163,63 ±5,43	163,56 ±3,08	161,58 ±5,99	160,80 ±5,97	158,22 ±4,02	164,42 ±6,45	164,80 ±7,17	163,57 ±5,06
BMI (kg/m2)									
Średnia ±SD	25,45* ±3,22	23,10* ±3,24	26,45* ±3,36	24,63 ±2,97	22,77 ±3,02	22,78 ±2,69	25,58 ±6,06	26,04 ±5,79	27,44 ±6,10
BMD L2-L4 (g/cm³)									
Średnia ±SD	0,97 ±0,05	0,96 ±0,07	0,95 ±0,05	0,87 ±0,07	0,85 ±0,06	0,83 ±0,05	1,21 ±0,11	1,26 ±0,09	1,31 ±0,14
BMD L2-L4 YA (%)									
Średnia ±SD	83,60 ±4,25	82,84 ±4,06	79,43 ±4,09	69,28 ±6,12	67,87 ±5,27	66,90 ±4,36	99,56 ±6,23	100,06 ±5,15	104,50 ±8,19
BMD L2-L4 AM (%)									
Średnia ±SD	92,10 ±7,23	91,95 ±6,25	88,71 ±5,14	78,56 ±7,34	79,96 ±6,33	75,90 ±2,99	105,11 ±5,45	106,53 ±6,54	111,50 ±6,43

[^]w przypadku n<2, *p<0,05

kontrolnej (31,7%), różnica nie była jednak statystycznie istotna. Badania te wykazały również brak powiązania pomiędzy polimorfizmem 570A>T BMP2 a wzrostem, masą ciała badanych pacjentów, BMD w odcinku lędźwiowym L2-L4 kręgosłupa oraz w szyjce kości udowej, jak również zwiększonym ryzykiem złamań kości [16]. W pracy Medici i wsp. wpływ polimorfizmu

570A>T BMP2 na występowanie osteoporozy został przeanalizowany w populacji 6353 populacji mężczyzn i kobiet. Nie obserwowano istotnego związku pomiędzy rozkładem genotypów polimorfizmu 570A>T BMP2 a średnią wartością BMD również po uwzględnieniu wieku i płci oraz związku ze złamaniami osteoporotycznymi [10]. W badaniu przeprowadzonym w populacji

Tabela V. Zestawienie średnich wartości analizowanych parametrów klinicznych z poszczególnymi genotypami polimorfizmu 5375G>A BMP2 w badanych grupach kobiet.

Polimorfizm BMP2 5375G>A									
	Grupa z osteopenią			Grupa z osteoporozą			Kobiety z prawidłowym T-score		
Genotyp	GG	GA	AA	GG	GA	AA	GG	GA	AA
T-score									
Średnia ±SD	-0,89 ±0,71	-0,52 ±0,78	-0,85 ±0,83	-1,54 ±1,01	-1,62 ±0,55	- ^Λ -	0,65 ±1,21	0,93 ±0,87	0,55 ^Λ -
Z-score									
Średnia ±SD	-1,83 ±0,39	-1,78 ±0,44	-2,05 ±0,58	-3,16* ±0,49	-2,85* ±0,29	-4,49 ^{Λ*} -	-0,11 ±0,71	0,33 ±1,34	0,23 ±0,06
Wiek									
Średnia ±SD	51,33 ±8,14	57,61 ±9,99	56,00 ±5,66	57,48 ±7,16	51,67 ±11,52	51,00 ^Λ -	54,27 ±9,97	59,00 ±12,85	55,54 ±10,45
Masa urodzeniowa badanych kobiet [g]									
Średnia ±SD	3298,75 ±569,82	3578,00 ±368,94	3266,67 ±208,16	2723,33 ±265,77	2977,50 ±306,31	- ^Λ -	3240,00 ±449,22	4116,66 ±860,71	3700,00 ^Λ -
Wiek wystąpienia pierwszej miesiączki									
Średnia ±SD	12,61 ±2,09	13,80 ±2,62	12,50 ±4,95	12,93 ±2,17	12,17 ±2,23	- ^Λ -	13,88 ±1,25	13,60 ±2,41	11,00 ^Λ -
Wiek wystąpienia ostatniej miesiączki									
Średnia ±SD	49,04 ±4,52	50,21 ±5,12	50,50 ±0,71	47,68 ±4,67	47,50 ±4,22	45,00 ^Λ -	50,92 ±4,38	51,50 ±3,39	45,00 ^Λ -
Lata reprodukcyjne									
Średnia ±SD	36,83 ±4,29	35,10 ±6,74	38,00 ±5,66	34,88 ±4,11	35,50 ±4,04	- ^Λ -	35,88 ±4,64	27,80 ±5,72	34,00 ^Λ -
Liczba ciąż									
Średnia ±SD	2,03 ±1,32	1,78 ±0,94	3,00 ±1,41	1,48 ±1,16	1,50 ±1,00	3 ^Λ -	2,73 ±1,67	1,86 ±0,89	1,50 ±0,71
Masa ciała (kg)									
Średnia ±SD	65,51 ±9,70	68,28 ±11,19	61,00 ±4,24	60,78 ±9,18	60,42 ±10,49	55 ^Λ -	69,87 ±14,75	74,71 ±16,74	63,00 ^Λ -
Wzrost (cm)									
Średnia ±SD	163,89 ±4,98	162,94 ±4,28	158,43 ±4,64	159,52 ±5,35	162,33 ±5,92	158,00 ^Λ -	164,47 ±6,64	165,00 ±6,16	161,00 ±1,41
BMI (kg/m²)									
Średnia ±SD	24,56 ±3,65	25,87 ±3,87	24,95 ±1,85	23,44 ±2,53	23,11 ±3,75	22,03 ^Λ -	25,33 ±5,26	26,96 ±4,65	24,88 ±2,01
BMD L2-L4 (g/cm³)									
Średnia ±SD	0,96 ±0,05	0,99 ±0,05	0,97 ±0,04	0,83 ±0,06	0,81 ±0,07	0,66 ^Λ -	1,21 ±0,03	1,20 ±0,10	1,19 ±0,04
BMD L2-L4 YA (%)									
Średnia ±SD	78,82 ±4,12	81,41 ±4,42	81,85 ±3,76	69,46* ±5,44	67,21* ±5,56	66,00 ^{Λ*} -	101,67 ±1,15	100,53 ±7,48	99,67 ±4,51
BMD L2-L4 AM (%)									
Średnia ±SD	83,21 ±3,04	82,69 ±3,34	80,50 ±5,36	70,69* ±5,55	71,26* ±3,26	55,00 ^{Λ*} -	98,92 ±4,67	99,45 ±5,44	101,52 ±2,33

^Λw przypadku n<2, *p<0,05

białych Amerykanów zamieszkujących Stany Zjednoczone (411 mężczyzn oraz 1291 kobiet w okresie przed menopauzą) również nie odnotowano wpływu polimorfizmów białka BMP2 na wartość BMD [8].

W przeciwieństwie pozostają wyniki badania populacji duńskich i islandzkich kobiet po menopauzie, gdzie wykazano

pozytywną korelację pomiędzy genem kodującym białko BMP2 a rozwojem osteoporozy oraz występowaniem złamań osteoporozytycznych. W badaniu tym jednak nie analizowano pojedynczych polimorfizmów, a podkreślono możliwe znaczenie w etiologii osteoporozy całego regionu na krótkim ramieniu chromosomu 20, w którym zlokalizowany jest gen BMP2 [17].

Z uwagi na wieloczynnikową etiologię osteoporozy znacznie polimorfizmów genu BMP2 w rozwoju choroby jest obecnie trudne do oszacowania. Wyniki badań polimorfizmu 570A>T genu BMP2 nie potwierdzają wpływu badanych wariantów genetycznych na ryzyko rozwoju osteoporozy, zarówno w naszej pracy, jak i w doniesieniach innych autorów. Z uwagi na fakt, że analizowany przez nasz zespół badawczy polimorfizm 5375G>A genu BMP2 został po raz pierwszy poddany analizie w populacji kobiet po menopauzie, trudno wyciągnąć jednoznaczne wnioski dotyczące jego roli w etiologii osteopenii i osteoporozy [18, 19]. Poza tym konkluzje uzyskane w większości badań odnoszą się do stosunkowo małych liczebnie grup pacjentów. Rozkład wariantów polimorficznych należy również analizować w oparciu o przynależność rasową i pochodzenie etniczne badanych grup. Zaobserwowano różnice w częstości występowania alleli i genotypów polimorfizmu 570A>T genu BMP2 w zależności od rasy oraz badanej populacji. W populacjach europejskich częstość występowania zmutowanych wariantów polimorfizmu 570A>T BMP2 jest wysoka i wynosi 58-73% dla allela T oraz 31-40,0% dla genotypu TT [16]. Zdecydowanie mniejszą częstość występowania zmutowanych wariantów obserwuje się w populacjach tureckich [15], koreańskich i afrykańskich [20]. Obserwacji takich natomiast nie przeprowadzono w stosunku do polimorfizmu 5375G>A genu BMP2. W związku z powyższym dotychczasowe rezultaty powinny podlegać dalszej wnikliwej obserwacji i analizie w większych i etnicznie zróżnicowanych grupach badawczych kobiet po menopauzie z osteoporozą. Badania te mogłyby dostarczyć istotnych informacji na temat etiopatogenezy choroby, jak również wskazałyby na właściwy związek polimorfizmów genetycznych BMP2 z aktywnością BMP2, co ze względu na właściwości osteoindukcyjne białka w przyszłości mogłoby zostać wykorzystane w terapii osteoporozy [21, 22].

Wnioski

W pracy nie potwierdzono bezpośredniego związku polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 z rozwojem osteoporozy w populacji kobiet polskich po menopauzie.

Badania wskazały również na brak korelacji polimorfizmów 570A>T oraz 5375G>A genu BMP2 z analizowanymi parametrami klinicznymi oraz parametrami obrotu kostnego.

Oświadczenie autorów:

1. Hubert Wolski – autor koncepcji i założeń pracy, analiza statystyczna wyników przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Anna Bogacz – wykonanie badań laboratoryjnych, opracowanie wyników badań, przechowywanie dokumentacji, przygotowanie manuskryptu.
3. Joanna Bartkowiak-Wieczorek – zebranie materiału, analiza statystyczna wyników, współautor protokołu, korekta i aktualizacja literatury.
4. Agnieszka Greber – zebranie materiału, opracowanie wyników badań, autor założeń pracy.
5. Wojciech Pieńkowski – analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta manuskryptu
6. Krzysztof Drews – opracowanie koncepcji i założeń badań.
7. Andrzej Klejowski – analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta manuskryptu
8. Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz – autor założeń pracy, ostateczna weryfikacja i akceptacja manuskryptu.

Źródło finansowania:

Badania statutowe Kliniki Perinatologii i Chorób Kobiety UM w Poznaniu – nr 502-01-02218344-0003344.

Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

Piśmiennictwo

1. Uitterlinden AG, van Meurs JBJ, Rivadeneira F, Pols HA. Identifying genetic risk factors for osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006, 6, 16-26.
2. Thompson DB, Ossowski V, Janssen RC, [et al.]. Linkage between stature and a region on chromosome 20 and analysis of a candidate gene, bone morphogenetic protein 2. *Am J Med Genet.* 1995, 59, 495-500.
3. Biver E, Hardouin P, Caverzasio J. The "bone morphogenetic proteins" pathways in bone and joint diseases: translational perspectives from physiopathology to therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013, 24, 69-81. doi:10.1016/j.cytogfr.2012.06.003.
4. Faensen B, Wildemann B, Hain C, [et al.]. Local application of BMP-2 specific plasmids in fibrin glue does not promote implant fixation. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011, 12, 1-9.
5. Qing W, Guang-Xing C, Lin G, Liu Y. The osteogenic study of tissue engineering bone with BMP2 and BMP7 gene-modified rat adipose-derived stem cell. *J Biomed Biotech.* 2012, 2012, 410879. doi: 10.1155/2012/410879. Epub 2012 Jun 21.
6. Xu L, Takahashi R, Harada H, Taniguchi A. Effect of BMP-2 on gene expression of enamel matrix proteins at the dental epithelial cell line. *Open Biotech J.* 2007, 1, 18-20.
7. Willette RN, Gu JL, Lysko PL, [et al.]. BMP-2 gene expression and effects on human vascular smooth muscle cells. *J Vasc Res.* 1999, 36, 120-125.
8. Ichikawa S, Johnson ML, Koller DL, [et al.]. Polymorphisms in the bone morphogenetic protein 2 (BMP2) gene do not affect bone mineral density in white men or women. *Osteoporos Int.* 2006, 17, 587-592.
9. Fritz DT, Jiang S, Xu J, Rogers MB. Polymorphism in a conserved posttranscriptional regulatory motif alters bone morphogenetic protein 2 (BMP2) RNA: protein interactions. *Mol Endocrinol.* 2006, 20, 1574-1586.
10. Medici M, van Meurs J, Rivadeneira F, [et al.]. BMP-2 gene polymorphisms and osteoporosis: The Rotterdam Study. *J Bone Mineral Res.* 2006, 21, 845-854.
11. Zmuda JM, Sheu YT, Moffett SP. The search for human osteoporosis genes. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006, 6, 3-15.
12. Dincel VE, Sepici-Dincel A. The importance and the differences of bone morphogenetic proteins for osteoporotic hip fractures. *Acta Orthop Belg.* 2014, 80 216-221.
13. Diwan AD, Leong A, Appleyard R, [et al.]. Bone morphogenetic protein-7 accelerates fracture healing in osteoporotic rats. *Indian J Orthop.* 2013, 47, 540-546. doi: 10.4103/0019-5413.121569.
14. Zarrinkalam MR, Schultz CG, Ardern DW, [et al.]. Recombinant human bone morphogenetic protein-type 2 (rhBMP-2) enhances local bone formation in the lumbar spine of osteoporotic sheep. *J Orthop Res.* 2013, 31, 1390-1397. doi: 10.1002/jor.22387.
15. Ozkan ZS, Deveci D, Onalan Etem E, Kuce H. Lack of effect of bone morphogenetic protein 2 and 4 gene polymorphisms on bone density in postmenopausal Turkish women. *Genetics Mol Res.* 2010, 9, 2311-2316.
16. Varanasi SS, Tuck SP, Mastana SS, [et al.]. Lack of Association of Bone Morphogenetic Protein 2 Gene Haplotypes with BoneMineral Density, Bone Loss, or Risk of Fractures in Men. *J Osteoporos.* 2011, 2011, 243465. doi: 10.4061/2011/243465.
17. Styrkarsdottir U, Cazier JB, Kong A [et al.]. Linkage of osteoporosis to chromosome 20p12 and association to BMP2. *PLoS Biol.* 2003, 1 (3), E69.
18. Uzar I, Mrozikiewicz PM, Bogacz A, [et al.]. The importance of 8993C>T (Thr399Ile) TLR4 polymorphism in etiology of osteoporosis in postmenopausal women. *Ginekol Pol.* 2014, 85, 180-184.
19. Ichikawa 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, 5921-5927.
20. Choi JY, Shin CS, Hong YC, Kang D. Single-nucleotide polymorphisms and haplotypes of bone morphogenetic protein genes and peripheral bone mineral density in young Korean men and women. *Calcif Tissue Int.* 2006, 78, 203-211.
21. Zhang W, Tsurushima H, Oyane A, [et al.]. BMP-2 gene-fibronectin-apatite composite layer enhances bone formation. *J Biomed Sci.* 2011, 18:62. doi: 10.1186/1423-0127-18-62.
22. Southwood LL, Frisbiel DD, Kawcak CE, [et al.]. Evaluation of Ad-BMP-2 for enhancing fracture healing in an infected defect fracture rabbit model. *J Orthop Res.* 2005, 22, 66-72.