

ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ I FUNCIONALS EN GENS CANDIDATS PER A L'OSTEOPOROSI

Memòria presentada per

Mariona Bustamante Pineda

Per optar al grau de

Doctora per la Universitat de Barcelona

Tesi dirigida per la Dra. Susana Balcells Comas i pel Dr. Daniel Grinberg Vaisman
al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia
de la Universitat de Barcelona

Dra. Susana Balcells Comas

Dr. Daniel Grinberg Vaisman

Mariona Bustamante Pineda

2007

INTRODUCCIÓ	1
1. EL TEIXIT OSSI	3
1.1. DEFINICIÓ I FUNCIONS DEL TEIXIT OSSI	3
1.2. TIPUS D'OSSOS	3
1.3. CONSTITUENTS DEL TEIXIT OSSI	5
1.4. EL REMODELATGE OSSI	10
2. L'OSTEOPOROSI	13
2.1. DEFINICIÓ I TIPUS D'OSTEOPOROSIS	13
2.2. EPIDEMIOLOGIA I FACTORS DE RISC	15
2.3. PREVENCIÓ I TRACTAMENT	17
3. ESTUDI GENÈTIC DE L'OSTEOPOROSI	19
3.1. ESTUDI DEL COMPONENT GENÈTIC: L'HERETABILITAT	20
3.2. ESTUDIS DE LLIGAMENT	22
3.3. ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ	24
3.4. ESTUDIS FUNCIONALS	30
4. GENS IMPLICATS EN L'OSTEOPOROSI I ESTUDIATS EN EL PRESENT TREBALL	32
4.1. GENS ANALITZATS EN ELS ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ	32
4.2. GENS ANALITZATS EN ELS ESTUDIS FUNCIONALS RELACIONATS AMB ELS SNPs DEL PROMOTOR DEL GEN COL1A1	43
OBJECTIUS	49
RESULTATS	53
1. ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ	53
1.1. ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ EN GENS CANDIDATS CLÀSSICS	55
1.1.1. La cohort BARCOS	55
■ COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women	57
1.1.2. El projecte GENOMOS	67
■ Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes	69
■ Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study	79
■ The association between common Vitamin D Receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis	89
■ Large-scale analysis of association between polymorphisms in the Transforming Growth Factor Beta 1 gene and osteoporosis: The GENOMOS Study	103
1.2. ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ EN ALTRES GENS CANDIDATS	123
1.2.1. RUNX2	123
■ Promoter 2 -1025 T/C polymorphism in the RUNX2 gene is associated with FN BMD in Spanish postmenopausal women	125
1.2.2. IL6R	133
■ Polymorphisms in the IL6R gene are associated with BMD and BMI in Spanish postmenopausal women	135

2. ESTUDIS FUNCIONALS RELACIONATS AMB ELS SNPs DEL PROMOTOR DEL GEN COL1A1	149
2.1. Efectes de la BMP2 i de la proteïna CIZ/NMP4 sobre la regulació del promotor del gen COL1A1 humana	149
■ <i>Effects of BMP2 and CIZ/NMP4 in the in vitro regulation of the human COL1A1 promoter</i>	151

DISCUSSIÓ

1. PLANTEJAMENT INICIAL: LA COHORT BARCOS	173
2. COMPARACIÓ DELS RESULTATS OBTINGUTS EN AQUEST TREBALL AMB ELS RESULTATS PUBLICATS PRÈVIAMENT	174
2.1. LES FREQUÈNCIES AL·LÈLIQUES I HAPLOTÍPIQUES DELS POLIMORFISMES ANALITZATS.....	174
2.2. VDR.....	175
2.3. ESR1.....	177
2.4. TGFB1.....	178
2.5. RUNX2.....	179
2.6. IL6R.....	181
2.7. COL1A1.....	186
2.7.1. Associació dels polimorfismes -1997 G/T, -1663 indelT i Sp1 amb la DMO i el risc de patir fractures osteoporòtiques.....	186
2.7.2. Funció dels polimorfismes -1997 G/T, -1663 indelT i Sp1.....	188
3. VALORACIÓ GENERAL DELS ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ	199
3.1. AVANTATGES DELS ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ.....	199
3.2. LIMITACIONS DELS ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ	199
3.3. NOVES PERSPECTIVES DELS ESTUDIS D'ASSOCIACIÓ.....	206

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAFIA

ANNEX

1. ARTICLES RELACIONATS AMB AQUESTA TESI	227
1.1. BÚSQUEDA DE MUTACIONS EN MEMBRES D'UNA FAMÍLIA LONGEVA DE MALLORCA.....	227
■ Bone mass of a 113 year-old man.....	229
■ Additional data.....	233

ABREVIATURES

- ALP: fosfatasa alcalina
- BARCOS: cohort de dones postmenopàusiques de l'àrea de Barcelona
- BMP: proteïna morfogènica de l'os
- BRU: unitat bàsica de remodelatge ossi (BMU)
- CFU: unitats formadores de colònies
- CIZ: proteïna amb dits de zinc que interacciona amb la proteïna Cas (NMP4)
- COL1A1: gen que codifica la cadena $\alpha 1(I)$ del col·lagen de tipus I
- CSF: factor estimulator de colònies
- Dlx5: proteïna 5 de la família *distal-less homeo box*
- DMO: densitat mineral òssia
- DS: desviació estandard
- DXA: absorciometria de doble energia
- EMSA: assaig de canvi en la mobilitat electroforètica o estudi de retardament en gel
- ER: receptor dels estrògens
- FN: coll del fèmur
- GENOMOS: *Genetics Markers for Osteoporosis*
- GM: granulòcit-macròfag
- gp130: receptor comú de la família de les citocines IL6
- HBM: alta massa òssia
- HuGENet: *Human Genome Epidemiology Network*
- IC: interval de confiança
- IL: interleucina
- IL6R: receptor de la interleucina 6
- IMC: índex de massa corporal
- IOF: *International Osteoporosis Foundation*
- L2-L4: vèrtebra lumbar 2 – vèrtebra lumbar 4
- LAP: pèptid latent associat del TGF β 1
- LD: desequilibri de lligament
- LS: columna
- MAF: freqüència de l'al·lel minoritari
- MG-63: línia cel·lular d'osteosarcoma humà
- MMP: metaloproteïnasa
- MSC: cèl·lules d'origen mesenquimàtic
- NMP4: proteïna 4 de la matriu nuclear (CIZ)
- OMS: Organització Mundial de la Salut
- OPG: osteoprotegerina
- OR: *odds ratio* (oportunitat relativa)
- P1: promotor 1
- P2: promotor 2

Abreviatures

PTH: hormona paratiroidal

QTL: *locus* d'un tret quantitatiu

RANK: membre 11A de la superfamília de receptors del TNF

RANKL: lligand del receptor RANK

rhBMP2: proteïna morfogènica de l'os tipus 2 recombinant humana

Runx2: factor de transcripció 2 relacionat amb el domini *runt* (Cbfa1)

Saos-2: línia cel·lular d'osteosarcoma humà

SERM: modulador selectiu del receptor dels estrògens

sIL6R: receptor soluble de la interleucina 6

Smad: proteïna homòlega a *Sma* de *C. elegans* i a *Mad* de *D. melanogaster*

SNP: polimorfisme de canvi puntual de nucleòtid

TDT: test de desequilibri de la transmissió

TGFβ1: factor de creixement transformant beta 1

TNFα: factor de necrosi tumoral alfa

TSH: teràpia hormonal substitutòria

VDR: receptor de la vitamina D₃

YSM: anys des de la menopausa