

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

CONCLUSIONS

Les conclusions extretes dels estudis d'associació en la cohort BARCOS són les següents:

- El polimorfisme -1997 G/T del gen *COL1A1* es va trobar associat a la DMO lumbar, i l'haplotip "GDs" (G-7T-T) es va trobar relacionat amb valors baixos de DMO femoral.
- L'haplotip "LPX" del gen *ESR1* es va trobar associat a la DMO femoral i l'al·lel "P" (*PvuII*) va mostrar una tendència similar però no significativa.
- Cap dels polimorfismes estudiats en els gens *VDR* i *TGFB1* es va trobar associat a la DMO, tot i que en un primer moment es va detectar una associació significativa entre el polimorfisme Leu10Pro (*TGFB1*) i la DMO lumbar.
- Es van observar dues interaccions significatives: una entre els polimorfismes -1997 G/T i -1663 indelT (o -1997 G/T i Sp1) del gen *COL1A1* en relació a la DMO lumbar; i l'altre entre els polimorfismes -1663 indelT (*COL1A1*) i *Apal* (*VDR*) (o Sp1 i *TaqI*) en relació a la DMO femoral.
- El polimorfisme -1025 T/C del promotor 2 del gen *RUNX2*, però no el polimorfisme -330 G/T del promotor 1, es va trobar associat a la DMO femoral.
- Els polimorfismes del promotor del gen *IL6R*, -1435 C/T i -208 G/A, i els seus haplotips C-A i T-G es van trobar associats a DMO femoral, mentre que el polimorfisme Asp358Ala es va trobar associat a la DMO lumbar. Finalment el polimorfisme -208 G/A i els haplotips C-G i C-A es van trobar associats a l'IMC i a l'obesitat.

Les conclusions extretes dels estudis d'associació del projecte GENOMOS són les següents:

- Els polimorfismes Sp1 (*COL1A1*), *XbaI* (*ESR1*) i *Cdx2* (*VDR*) es van trobar associats al risc de patir fractures, principalment fractures vertebrals incidents.
- El polimorfisme Sp1 (*COL1A1*) va ser l'únic polimorfisme dels estudiats que es va trobar associat a la DMO, tant lumbar com femoral.

Comparant els estudis d'associació de la cohort BARCOS i del projecte GENOMOS, podem dir que:

- Malgrat les limitacions, poca potència estadística en la cohort BARCOS i possible heterogeneïtat en el projecte GENOMOS, els resultats d'ambdós estudis han mostrat tendències similars: els gens *COL1A1* i *ESR1* semblen tenir un efecte sobre la DMO, mentre que els gens *VDR* i *TGFB1* no.

Conclusions

■ En ambdós estudis, els efectes dels polimorfismes i dels haplotips sobre la DMO i el risc de patir fractures han estat petits o nuls. En la cohort BARCOS l'efecte dels polimorfismes va significar de mitjana un canvi en la DMO de 0,04 g/cm². En el projecte GENOMOS els efectes detectats en relació a la DMO van ser d'aproximadament 0,02 g/cm².

Les conclusions extretes de l'estudi funcional de les proteïnes BMP2 i CIZ/NMP4 en la regulació del promotor del gen *COL1A1* humà són les següents:

■ El patró de transcripció de les diferents construccions del promotor del *COL1A1* en la línia cel·lular Saos-2 és similar al descrit en experiments previs realitzats en la línia d'osteosarcoma MG-63. El promotor basal (SP) duplica l'activitat transcripcional del promotor total (LP) i el fragment limitat entre -1.284 pb i -254 pb actua com a repressor (IRD). En eliminar el fragment que conté els polimorfismes -1997 G/T i -1663 indelT (IR) l'activitat es manté com la del promotor total (LP).

■ En les cèl·lules Saos-2, els nivells de transcripció de les diferents construccions del promotor del *COL1A1* humà són similars en les transfeccions transitòries i en les transfeccions estables.

■ A diferència del què succeeix en les cèl·lules MG-63, en les cèl·lules Saos-2 no s'han observat diferències entre els nivells de transcripció dels haplotips definits pels polimorfismes -1997 G/T i -1663 indelT en el context del promotor total (LP).

■ El factor de creixement BMP2 reprimeix la transcripció de la construcció que conté el promotor basal. Per contra, la BMP2 estimula entre un 20% i un 60% la transcripció de les construccions restants. Les construccions que són estimulades en major grau (aproximadament un 60%) contenen la regió compresa entre -2.178 pb i -1.634 pb. L'estimulació per part de la BMP2 sembla no estar mitjançada per les caixes d'unió dels factors de transcripció Dlx5 i Smad1 contingudes en aquesta regió.

■ S'han observat petites diferències estadísticament significatives en l'estimulació per part de BMP2 entre les construccions que contenen els diferents haplotips en el context del promotor total (LP), però el seu significat biològic és dubtós.

■ Diversos teixits humans, inclosos els osteoblasts primaris, i les línies d'osteosarcoma Saos-2 i MG-63 expressen el gen *CIZ/NMP4*. S'han detectat fins a quatre isoformes de *CIZ/NMP4*: 11H, CIZ6.1, 21H i 21H-I1. En la línia cel·lular Saos-2, les isoformes 21H i 21H-I1 semblen majoritàries.

■ La sobreexpressió de les isoformes 21H i 21H-I1 en les cèl·lules Saos-2, no inhibeix l'estimulació del promotor del *COL1A1* humà induïda per la BMP2 en les condicions de l'estudi. Per contra, en absència de tractament amb BMP2, la sobreexpressió de les dues isoformes de *CIZ/NMP4* sembla estimular lleugerament la transcripció del *COL1A1*.