

Polimorfizmi receptora vitamina D u reumatoidnim bolestima

Alen Vrtarić, mag. med.
biochem.

Klinički zavod za kemiju,
KBC Sestre milosrdnice

Reumatoidne bolesti

- Zahvaćaju zglobove, kosti, ligamente i mišiće
- Simptomi: bolovi u zglobovima, gubitak pokretljivosti zglobova, upala
- Postoji preko 100 različitih reumatoidnih bolesti
- Većina je autoimunog podrijetla
- Učestalije su kod žena
- U terapiji se primjenjuju nesteroidni protuupalni analgetici, kortikosteroidi, lijekovi koji modificiraju reumatski odgovor i biološka terapija

Reumatoidne bolesti

Spondiloartropatije
(ankilozantni
spondilitis,
psorijatični artritis,
reaktivni artritis, ...)

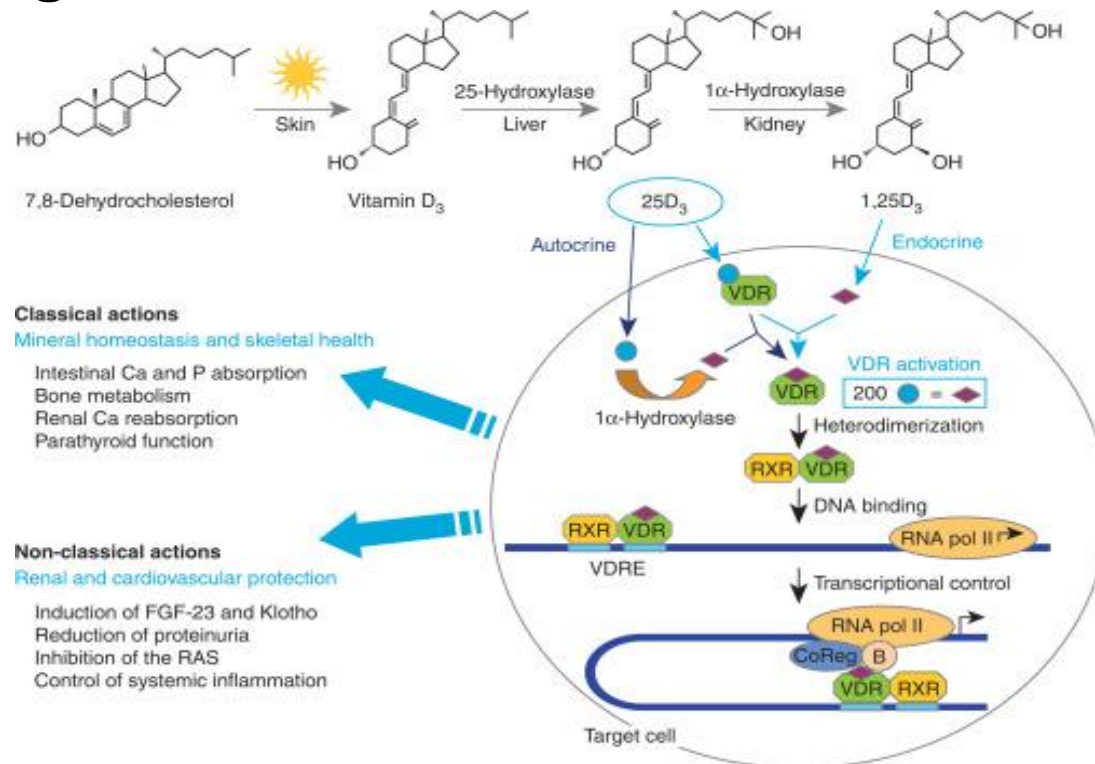
- Križobolja upalnog tipa
- Odsutnost reumatoidnog faktora

Reumatoidni artritis

- Upala sinovijalnog tkiva u zglobovima
- Prisutnost reumatoidnog faktora

VDR – receptor za vitamin D

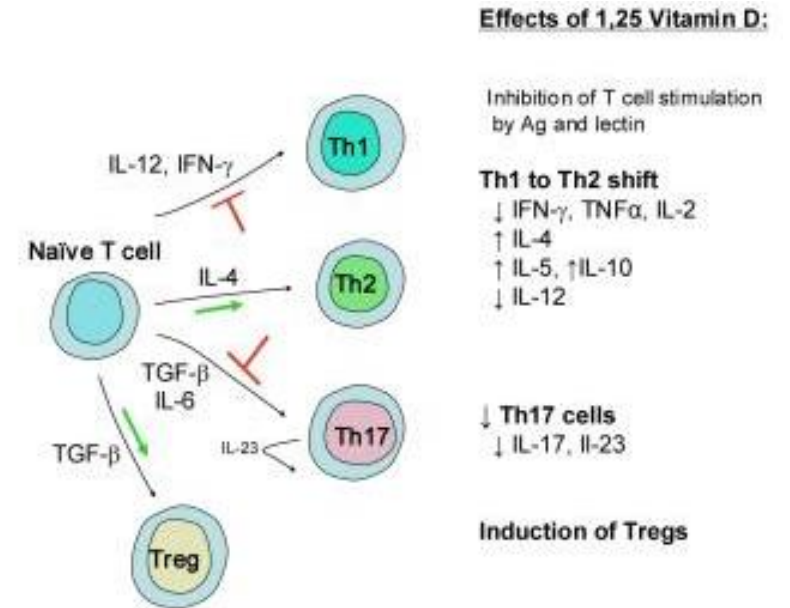
- Gen za receptor je smješten na kromosomu 12
- Dimerizacijom s receptorom retinoične kiseline dolazi do aktivacije gena ovisnih o vitaminu D
- Utječe na ekspresiju gena ovisnih o vitaminu D



Rouphael C, Kamal A, Sanaka MR, Thota PN. Vitamin D in esophageal cancer: Is there a role for chemoprevention? World J Gastrointest Oncol. 2018; 10: 23–30.

Utjecaj na imunološki sustav

- VDR nalazimo u stanicama imunološkog odgovora (B i T limfociti, makrofagi)
- Vitamin D inhibira sazrijevanje B limfocita i stvaranje imunoglobulinskih protutijela
- Održava optimalnu količinu pomoćnih T limfocita (Th1, Th2) i time ublažava autoimuni odgovor posredovan T limfocitima
- Time se smanjuje stvaranje upalnih citokina (IL-17, IL-21) s pojačanim stvaranjem protuupalnih citokina
- Učinak na monocyte je inhibicija upalnih citokina (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 i $\text{TNF}\alpha$)



Aranow C. Vitamin D and the Immune System. J Investig Med. 2011;59:881-886.

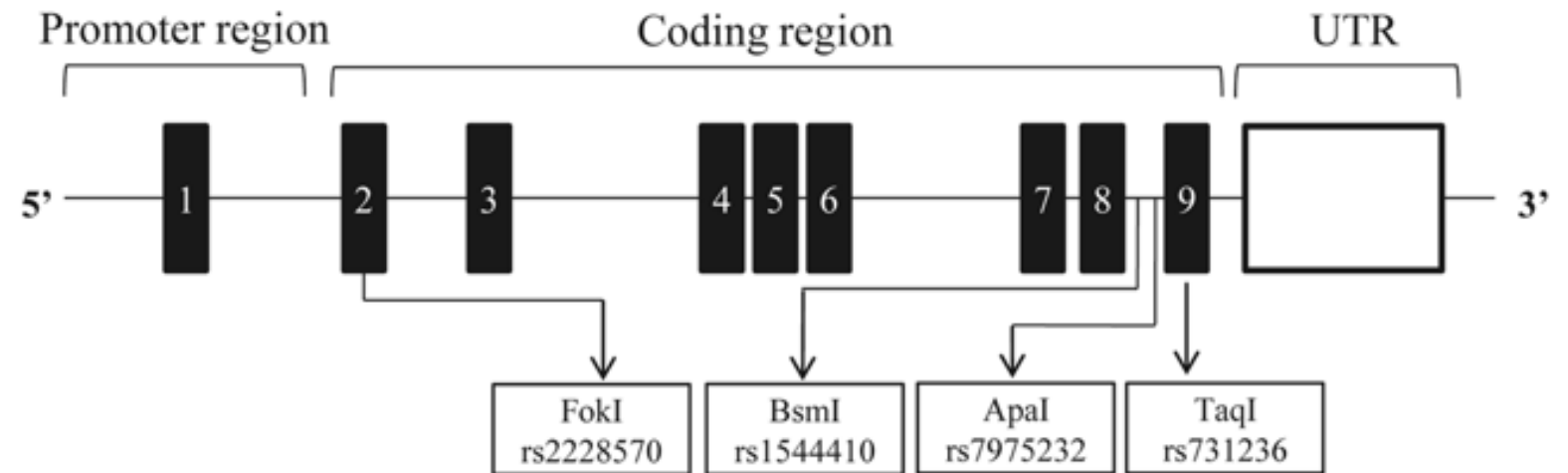
Utjecaj na imunološki sustav

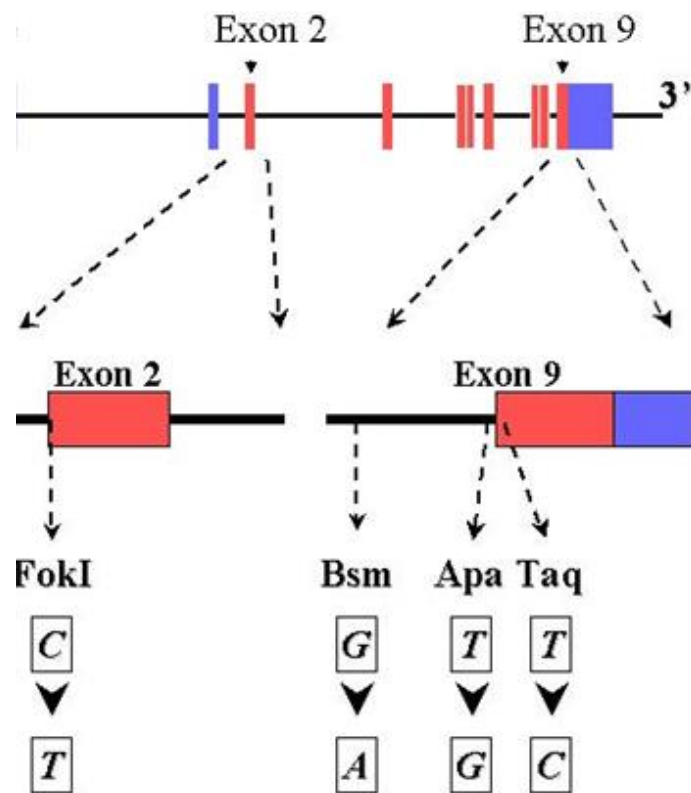
Prisutnost polimorfizma može oslabiti aktivnost VDR-a što rezultira gubitkom funkcije receptora i ometanjem dimerizacije

Ovaj oslabljeni proces može dovesti do poremećaja ravnoteže Th1/ Th2, što rezultira prelaskom na Th1 stanični odgovor i proupalnim izlučivanjem citokina

VDR polimorfizmi

- Poznata su više od 63 polimorfizma
- Onemogućavaju pravilno vezanje vitamina D s receptorom
- 4 su najviše istraživana: rs10735810, rs1544410, rs7975232 i rs731236





VDR polimorfizmi

- Promjene su moguće u nekodirajućem dijelu koje utječu na gensku ekspresiju
- Promjene u 5'-promotorskom području utječu na ekspresiju mRNA
- 3' neprevedeno područje (UTR) može imati utjecaj na mRNA stabilnost i strukturu proteina

Metode dokazivanja polimorfizama

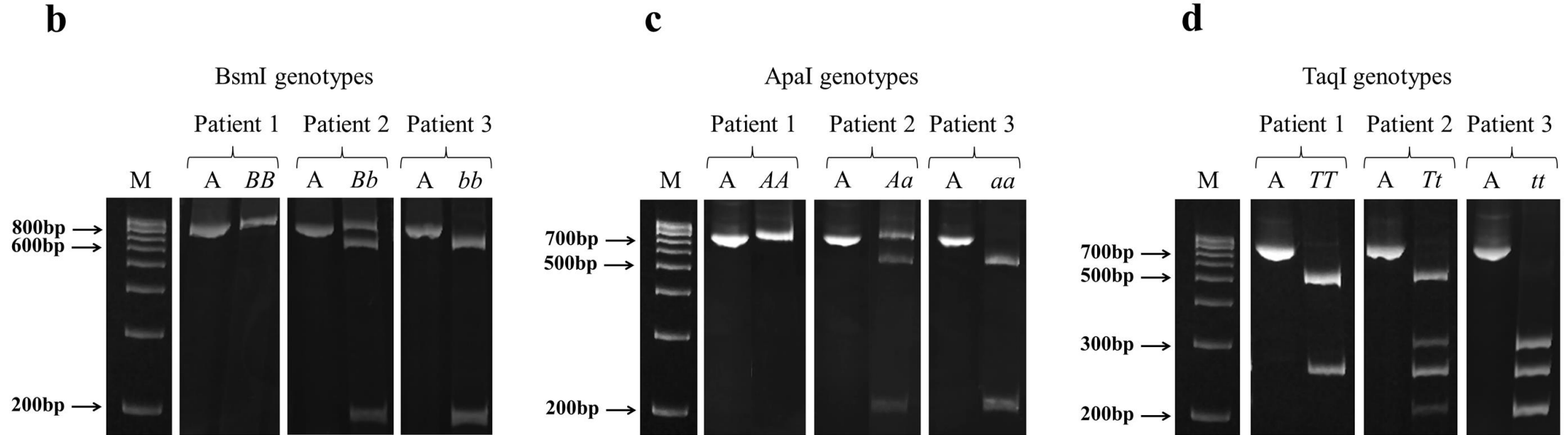
RFLP - polimorfizam duljine
restrikcijskih fragmenata

Sekvenciranje

Lančana reakcija polimeraze
(PCR) u stvarnom vremenu

RFLP – polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata

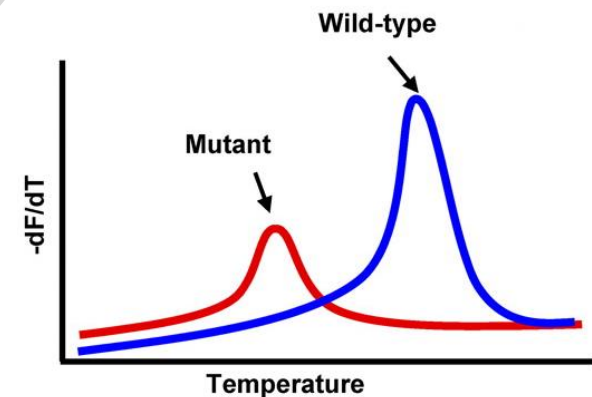
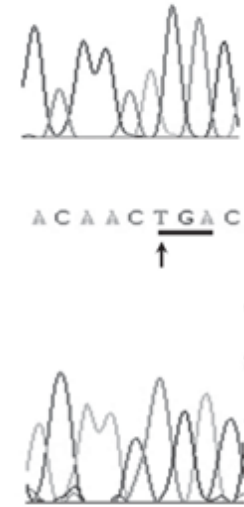
Razgradnja molekule DNA pomoću restrikcijskih endonukleaza, elektroforetsko razdvajanje fragmenata



Colombini A, Brayda-Bruno M, Lombardi G, et al. BsmI, Apal and TaqI Polymorphisms in the Vitamin D Receptor Gene (VDR) and Association with Lumbar Spine Pathologies: An Italian Case-Control Study. *PLoS One*. 2016;11:e0155004.

Sekvenciranje i PCR u stvarnom vremenu

- Sekvenciranje molekule DNA je metoda kojom je moguće odrediti slijed nukleotida. Postoji nekoliko izvedbi metode, od enzimske dideoksi, kemijske do novih tehnologija, tzv. sekvenciranja sljedeće generacije - NGS (engl. Next Generation Sequencing)
- PCR u stvarnom vremenu koristi fluorescentno obilježene probe poznatog slijeda nukleotida koje mogu biti hidrolizirajuće ili hibridizirajuće
- Uključivanjem internog standarda poznate koncentracije moguće je odrediti količinu nastalog PCR produkta



Povezanost polimorfizama s reumatoidnim bolestima

Studija Wanga i suradnika pokazuje da je veći rizik za razvoj artritisa ako je prisutan polimorfizam rs731236, rs1544410 i rs2228570

Podjela prema grupama je pokazala da je učestalost polimorfizma rs1544410 veća kod Afrikanaca, rs2228570 kod Azijata i Europljana

Druga (Tizaoui i suradnici) je studija pokazala da je polimorfizam rs2228570 učestaliji kod Europljana

Treća (Lee i suradnici) nije utvrdila povezanost rs1544410 i rs731236 polimorfizama s artritisom kod Europljana i Azijata

Zaključci studija i oprečni rezultati

Različiti rezultati su posljedica brojnih okolišnih i populacijskih utjecaja koji stupaju u interakciju s polimorfizmima (etnička pripadnost, spol, dob, pušenje, prehrana, zagađenje zraka, unos vitamina D, izloženost suncu, geografske varijacije, epigenetika ...)

Mala veličina uzorka, niska statistička snaga te metoda genotipizacije također može utjecati na rezultat