

Abstract

Garbuzova V. Yu. *,
Sumy State University,
2 Ryskogo-Korsakova St., Sumy,
40007, Ukraine

ANALYSIS OF THE EFFECT OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-2 (BMP-2) GENE SER37ALA POLYMORPHISM ON SOME CHARACTERISTICS OF THE ACUTE CORONARY SYNDROME

Introduction. BMP-2, like other bone morphogenetic proteins, plays an important role in the development of bone and cartilage, in osteoblast differentiation. As the calcification of the atherosclerotic plaque is an untoward prognostic factor of the acute coronary syndrome, the polymorphism of gene BMP-2 can be associated with the disease progression.

The aim is to establish the association of allelic variants of BMP-2 gene Ser37Ala polymorphism on some characteristics of the acute coronary syndrome (clinical variants, ECG manifestations, development of complications).

Material and Methods. We used venous blood of 118 patients with ACS (22 % women and 78 % men) aged 40 to 73 years (mean age 55.9 ± 0.89 years) hospitalized in the cardiology department of Sumy City Clinical Hospital № 1. The control group consisted of 234 patients. I performed definition of Ser37Ala polymorphism (rs2273073) of BMP-2 gene using PCR with the following restriction fragment length analysis of the allocation of them by electrophoresis in agarose gel. Restriction endonuclease Hpy99I was used for restriction analysis. Statistical analysis was performed by using the software package SPSS-17. Thus, the significance of differences was determined by the χ^2 -criterion. The value of $P < 0.05$ was considered as significant.

Results. There isn't significant difference in the ratio of genotypes (Ser/Ser, Ser/Ala, Ala/Ala) between patients with anginal form of acute coronary syndrome (ACS) and patients with other forms of ACS (asthmatic, abdominal, arrhythmic and painless). It accounted for 51.5; 30.1 and 18.4 % in the group with anginal form of ACS; and 40.0, 46.7 and 13.3 % – in the group with other forms of ACS. Using the χ^2 -Pearson criterion, it did not reveal association between the Ser37Ala polymorphism of BMP-2 gene and the clinical variants of ACS ($\chi^2 = 1.652$, $P = 0.438$). Analysis of the data about correlation Ser37Ala polymorphism of BMP-2 gene with different clinical variants of ACS showed no association of investigated SNP with different clinical manifestations of this disease (unstable angina, non-Q-myocardial infarction, Q-and QS-myocardial infarction). There is no veracity in the distribution of genotypes considering such risk factors as gender, BMI, hypertension, lipid composition and blood hypercoagulation, diabetes, and obesity. The difference of allelic variants frequency was statistically significant ($P = 0.033$) in groups with different clinical forms of ACS only in patients, who smoke. Smokers with Ser/Ser genotype were significantly more likely to develop anginal form of ACS. Significant

difference in the distribution of patients with unstable angina, non-Q-myocardial infarction, Q-and QS-myocardial infarction was found only in patients with obesity ($P = 0.018$). I did not find significant difference in the distribution of genotypes between patients with complications and those who have had the disease without complications. However, the association with the development of complications of ACS was for male patients, smokers, patients without DAC and without obesity.

Ambiguity and deficiency of data about relationship Ser37Ala and other polymorphisms of BMP-2 gene with the development of ACS requires further research in this area.

Conclusion: Smoking patients with Ser/Ser genotype BMP-2 gene Ser37Ala polymorphism are significantly more likely to develop anginal form of ACS.

There is significant difference in the distribution of genotypes among individuals with unstable angina, non-Q-myocardial infarction, Q-and QS-myocardial infarction in the group without obesity.

There is a link with the development of complications of ACS for male patients, smokers, patients without atherogenic dislipoproteinemia and without obesity.

Key words: allelic polymorphism, bone morphogenetic protein-2, acute coronary syndrome.

Corresponding author: * vikgarbuzova@yandex.ru

Резюме

Гарбузова В. Ю. *,
Сумський державний
університет,
вул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, 40007, Україна

АНАЛІЗ ВПЛИВУ SER37ALA ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА КІСТКОВОГО МОРФОГЕНЕТИЧНОГО ПРОТЕЇНУ-2 (BMP-2) НА ДЕЯКІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМУ

Наведено результати вивчення Ser37Ala поліморфізму гена BMP-2 у 118 хворих на гострий коронарний синдром (ГКС) і 234 здорових індивідуумів (контрольна група). Установлено, що пацієнти із Ser/Ser-генотипом, які палять, достовірно частіше хворіють ангінозною формою ГКС; серед пацієнтів без ожиріння існує достовірна різниця в розподілі генотипів серед осіб із нестабільною стенокардією, не-Q-інфарктом міокарда, Q- та QS-інфарктами міокарда; існує зв'язок вивченого поліморфізму з розвитком ускладнень ГКС у пацієнтів чоловічої статі, осіб, які палять, хворих без дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і без ожиріння.

Ключові слова: алельний поліморфізм, кістковий морфогенетичний протеїн-2, гострий коронарний синдром.

Резюме

Гарбузова В. Ю. *,
Сумський державний
університет,
вул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, 40007, Україна

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ SER37ALA ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОТЕИНА-2 (BMP-2) НА НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА

Представлены результаты изучения Ser37Ala полиморфизма гена BMP-2 у 118 пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) и 234 здоровых индивидуумов (контрольная группа). Установлено, что курящие пациенты с Ser/Ser-генотипом достоверно чаще болеют ангинозной формой ОКС; среди пациентов

без ожирения существует достоверная разница в распределении генотипов среди лиц с нестабильной стенокардией, не-Q-инфарктом миокарда, Q- и QS-инфарктами миокарда; существует связь изученного полиморфизма с развитием осложненной ОКС у пациентов мужского пола, курильщиков, больных без дислипотеинемии атерогенного характера и без ожирения.

Ключевые слова: аллельный полиморфизм, костный морфогенетический протеин-2, острый коронарный синдром.

Автор, відповідальний за листування: * vikgarbuzova@yandex.ru

Вступ

Кісткові морфогенетичні протеїни (BMP) є багатофункціональними факторами росту, що належать до β -суперсімейства факторів росту (TGF- β). Активність BMP була вперше виявлена в 1965 році Urist et al., які повідомили про наявність у демінералізованій кістковій тканині остеогенних протеїнів, що мають здатність до індукції остеогенезу при ектопічному пересадженні [1]. У подальших своїх працях вчені показали, що остеогенна активність кістки пов'язана з протеїноподібним компонентом матриксу, який був названий кістковим морфогенетичним протеїном [2].

BMP-2 експресується в клітинах опорно-рухової (остеобласти, остеокласти), серцево-судинної (типові кардіоміоцити, гладенько-м'язові клітини), нервової (астроцити), репродуктивної (клітини Лейдига), респіраторної (епітеліоцити бронхів), ендокринної (В-клітини підшлункової залози, тироцити, фетальні клітини щитоподібної залози), сечостатевої (залозистий епітелій простати), імунної систем (CD14 моноцити, NK-CD56, В-лімфобласти) та шлунково-кишкового тракту (одонтобласти, ентероцити), а також клітинами різноманітних остеотропних раків та в атеросклеротичній бляшці [3–5].

Ураховуючи вплив BMP-2 на процеси диференціювання клітин, у тому числі й ГКС судинної стінки, постає питання про його можливу роль у процесах кальцифікації. Кальцифікація атеросклеротичних бляшок і стулок аортального клапана, одним із ініціаторів якої є BMP-2, є несприятливим прогностичним фактором, що свідчить про високу ймовірність настання фатальних ускладнень.

Ефективна діяльність BMP-2 може залежати від багатьох факторів, серед яких і поліморфізм його гена. Дослідження, у яких вивчалася би роль генетичного поліморфізму кісткового морфогенетичного протеїну-2 у розвитку

серцево-судинних недуг, нечисленні і суперечливі, а для слов'янських популяцій взагалі відсутні.

Представлену роботу виконано в рамках науково-дослідної теми "Роль алельного поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб", № держреєстрації 0110 U 005038.

Мета дослідження – встановити асоціацію алельних варіантів гена BMP-2 за Ser37Ala-поліморфізмом із деякими характеристиками гострого коронарного синдрому (клінічними варіантами, ЕКГ-проявами, розвитком ускладнень).

Матеріали і методи

У роботі використано венозну кров 118 хворих із ГКС (22 % жінок і 78 % чоловіків) віком від 40 до 73 років (середній вік – $55,9 \pm 0,89$) року), госпіталізованих до кардіологічного відділення Сумської міської клінічної лікарні № 1.

Діагноз гострого інфаркту міокарда та нестабільної стенокардії встановлювали на підставі даних клінічних, електрокардіографічних та біохімічних досліджень згідно з рекомендаціями експертів ВООЗ, а також відповідно до рекомендацій європейського та американського товариств кардіологів [6–8]. Критерієм залучення до дослідження була наявність типового ангінозного больового синдрому в спокої тривалістю від 10 до 30 хв упродовж останніх 24 годин до госпіталізації із змінами ЕКГ без навантаження (депресія сегмента «ST» 1 мм та більше або інверсія зубця «T» 2 мм та більше щонайменше у двох суміжних відведеннях). Остаточний діагноз нестабільної стенокардії поставлено у 33,5 % хворих, гострого інфаркту міокарда – у 66,5 % хворих.

Контрольна група складалася із 234 пацієнтів, у яких відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання

анамнестичних даних, зняття ЕКГ і вимірювання артеріального тиску.

Визначення Ser37Ala-поліморфізму (rs2273073) 2-го екзона гена BMP-2 проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі.

ДНК із венозної крові пацієнтів виділяли використовуючи набори "Изоген" (Росія). Ділянку гена ампліфікували за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5'-CTCACGTCGGTCTGTGTC C-3' і зворотного (antisense) – 5'-CCCTGCTCCATGCCTCAC-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 250 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Taq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента складалася із 3 циклів: денатурації – 94 °С (50 с), гібридизації праймерів – 60 °С (60 с) та елонгації – 72 °С (1 хв). Пізніше 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 20 годин із 2 ОД рестриктази Hru99I у буфері NEBuffer 4 такого складу: 20 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 50 мМ ацетату калію та 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 1676-й позиції гена BMP-2 містився тимін, ампліфікат, який складався із 393 пар основ, розщеплювався рестриктазою Hru99I на два фрагменти: 253 і 140 пар основ. У разі заміни тиміну на гуанін сайт рестрикції для Hru99I втрачався і утворювався один фрагмент розміром 393 пари основ. Горизонтальний електрофорез (0,13 А; 210 V) проводили впродовж 35 хв. Статистичний аналіз здійснювали з використанням пакета програм SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Результати та їх обговорення

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за вивченим поліморфізмом гена BMP-2, а також перевірку відповідності розподілу основного і мінорного алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 1.

Перевірка розподілу генотипів за Arg325Gln-поліморфізмом на відповідність закону Харді-Вайнберга показала, що і в контрольній, і в основній групах відхилення від установленної

рівноваги не є статистично значущими. З'ясовано, що співвідношення алелів в обох групах істотно не відрізняється від очікуваних ($P > 0,05$).

За клінічними проявами у хворих виділяють ангінозний та інші варіанти гострого коронарного синдрому, до яких відносять астматичну, абдомінальну, аритмічну й безбольову форми. Розподіл різних алельних варіантів Ser37Ala-поліморфізму гена BMP-2 наведений у табл. 2.

Аналіз даних про зв'язок поліморфізму Ser37Ala гена BMP-2 з різними клінічними варіантами гострого коронарного синдрому виявив відсутність асоціації досліджуваного SNP із різними клінічними проявами хвороби. Достовірності у розподілі не встановлено і при врахуванні таких факторів ризику, як стать, ІМТ, артеріальна гіпертензія, порушення ліпідного складу і гіперкоагуляція крові, цукровий діабет та ожиріння. Лише у пацієнтів, які палять, різниця у частоті алельних варіантів генотипу в групах із різними клінічними формами ГКС була статистично значущою ($P = 0,033$) (рис. 1). Курці з Ser/Ser-генотипом достовірно частіше хворіють ангінозною формою ГКС.

ЕКГ-проявами гострого коронарного синдрому може бути нестабільна стенокардія, не-Q-інфаркт міокарда, Q- та QS-інфаркти міокарда. Відмінності у співвідношенні алельних варіантів за поліморфізмом Ser37Ala серед пацієнтів із різними формами ГКС не були статистично значущими (табл. 3).

Достовірна різниця в розподілі пацієнтів із нестабільною стенокардією, не-Q-інфарктом міокарда, Q- та QS-інфарктами міокарда була виявлена лише серед пацієнтів без ожиріння ($P = 0,018$) (рис. 2).

Нарешті, ми вивчили зв'язок між поліморфізмом 2-го екзона гена BMP-2 і розвитком ускладнень гострого коронарного синдрому. Достовірної різниці у розподілі генотипів між пацієнтами з ускладненнями і тими, хто переніс хворобу без ускладнень, виявлено не було (табл. 4).

Проте зв'язок із розвитком ускладнень ГКС виявився для пацієнтів чоловічої статі, осіб, які палять, хворих без ДАХ і без ожиріння (табл. 5).

Таблиця 1

Частота алельних варіантів і алелів за Ser37Ala-поліморфізмом гена BMP-2 у контрольній групі та у хворих із ГКС

	Контрольна група, n (%)	Хворі з ГКС, n (%)
Гомозиготи Ser/Ser	106 (45,3)	59 (50,0)
Гетерозиготи Ser/Ala	94 (40,2)	38 (32,2)
Гомозиготи Ala/Ala	34 (14,5)	21 (17,8)
Ser-алель	0,65	0,66
Ala-алель	0,35	0,34
χ^2	2,96	9,34
P	> 0,05	> 0,05

n – кількість пацієнтів; χ^2 і P відображають відхилення у кожній групі від рівноваги Харді-Вайнберга

Таблиця 2

Частота алельних варіантів гена BMP-2 за поліморфізмом Ser37Ala у пацієнтів із різними клінічними формами ГКС

Варіанти генотипів	Клінічні варіанти ГКС	
	Ангінозна форма, n (%)	Інші форми, n (%)
Ser/Ser	53 (51,5)	6 (40,0)
Ser/Ala	31 (30,1)	7 (46,7)
Ala/Ala	19 (18,4)	2 (13,3)
	$\chi^2 = 1,652$; P = 0,438	

n – кількість пацієнтів

Таблиця 3

Частота алельних варіантів гена BMP-2 за поліморфізмом Ser37Ala у пацієнтів із різними ЕКГ-проявами ГКС

Варіанти генотипів	ЕКГ-прояви ГКС		
	Нестабільна стенокардія, n (%)	Не-Q-інфаркт міокарда, n (%)	Q- та QS-інфаркти міокарда, n (%)
Ser/Ser	14 (53,8)	20 (57,1)	25 (43,9)
Ser/Ala	6 (23,1)	8 (22,9)	24 (42,1)
Ala/Ala	6 (23,1)	7 (20,0)	8 (14,0)
	$\chi^2 = 5,177$; P = 0,270		

Примітка: n – кількість пацієнтів

Таблиця 4

Частота алельних варіантів гена BMP-2 за поліморфізмом Ser37Ala у пацієнтів з ускладненнями та без ускладнень

Варіанти генотипів	Наявність ускладнень	
	Ускладнення (+), n (%)	Ускладнення (-), n (%)
Ser/Ser	11 (45,8)	48 (51,1)
Ser/Ala	11 (45,8)	27 (28,7)
Ala/Ala	2 (8,3)	19 (20,2)
	$\chi^2 = 3,359; P = 0,186$	
n – кількість пацієнтів		

Таблиця 5

Частота алельних варіантів гена BMP-2 за поліморфізмом Ser37Ala у різних групах пацієнтів

Фактор	Варіанти генотипів	Наявність ускладнень	
		Ускладнення (-), n (%)	Ускладнення (+), n (%)
Чоловіча стать	Ser/Ser	41 (55,4)	7 (38,9)
	Ser/Ala	17 (23,0)	10 (55,6)
	Ala/Ala	16 (21,6)	1 (5,6)
	$\chi^2 = 8,017; P = 0,018$		
Паління	Ser/Ser	22 (51,2)	3 (27,3)
	Ser/Ala	9 (20,9)	7 (63,6)
	Ala/Ala	12 (27,9)	1 (9,1)
	$\chi^2 = 7,760; P = 0,021$		
Відсутність ДАХ	Ser/Ser	11 (64,7)	0 (0)
	Ser/Ala	4 (23,5)	3 (100,0)
	Ala/Ala	2 (11,8)	0 (0)
	$\chi^2 = 6,555; P = 0,038$		
Нормальна вага	Ser/Ser	34 (53,1)	4 (28,6)
	Ser/Ala	16 (25,0)	9 (64,3)
	Ala/Ala	14 (21,9)	1 (7,1)
	$\chi^2 = 8,249; P = 0,016$		
n – кількість пацієнтів			

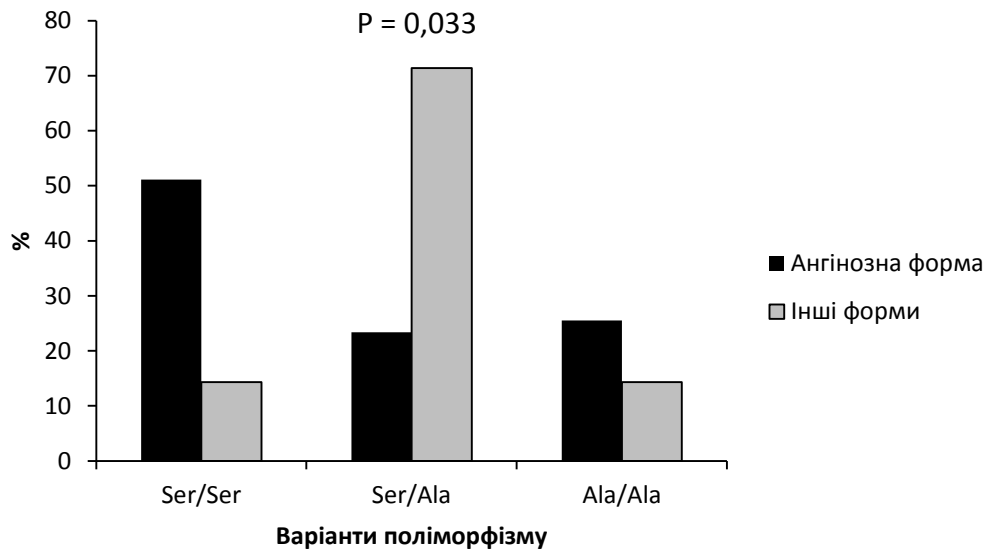


Рис. 1. Частота алейних варіантів гена BMP-2 за Ser37Ala-поліморфізмом у хворих із ГКС, які палять, з ангінозною формою (чорні стовпчики) і з іншими формами (сірі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

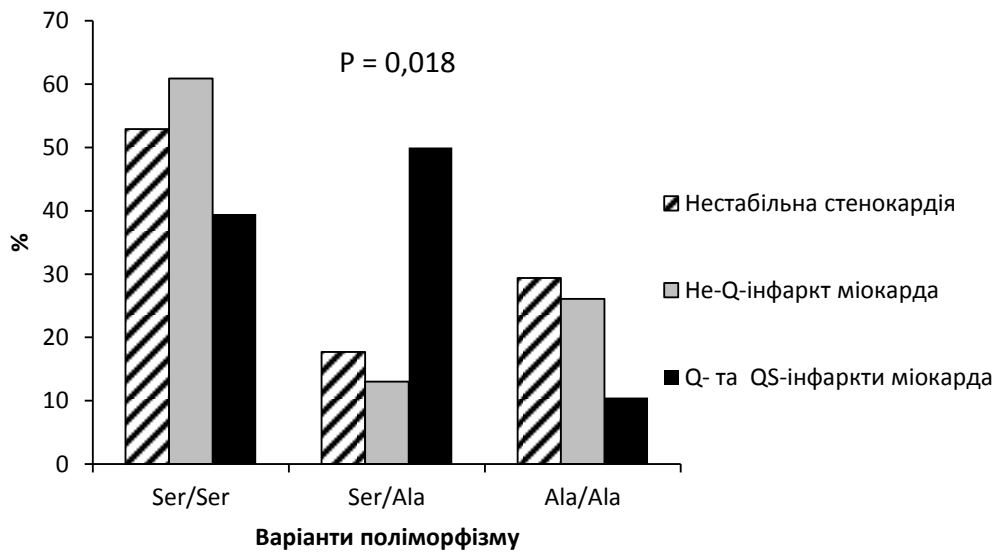


Рис. 2. Частота алейних варіантів гена BMP-2 за поліморфізмом Ser37Ala у хворих із нестабільною стенокардією (заштриховані стовпчики), не-Q-інфарктом міокарда (сірі стовпчики), Q- та QS-інфарктами міокарда (чорні стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

На сьогодні описано понад 250 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів у гені BMP-2. Основна кількість досліджень присвячена їх зв'язку з мінеральною щільністю кісткової тканини (BMD). У працях Styrkarsdottir et al. описаний вплив низки поліморфних варіантів гена BMP-2 на показники мінеральної щільності кісток і ступінь втрати кісткової маси при остеопорозі

та остеопорозних переломах. Лише для Ser37Ala-поліморфізму був доведений зв'язок із досліджуваними параметрами [9]. Ichikawa et al., вивчаючи зв'язок 7 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів гена BMP-2 (rs1980499, rs2273073, rs235764, rs15705, rs235702, rs1005464, rs235768) із показниками мінеральної щільності кісток серед населення США, виявили, що жоден із вивчених

генетичних маркерів не асоційований із BMD, і зробили висновок, що поліморфізм BMP-2 істотно не впливає на зміни мінеральної щільності кісток у популяції здорових американців [10]. Medici et al. також не виявили зв'язку поліморфізмів гена BMP-2 (Ser37Ala та Ser190Arg) з розвитком остеопорозу у датській популяції [9]. Varanasi et al. не виявили зв'язку Ser37Ala-поліморфізму гена BMP-2 зі змінами BMD та збільшенням ризику переломів [11].

Freedman et al., враховуючи відомий зв'язок між BMD та кальцифікацією судин, зробили припущення, що до генів, які опосередковують цей метаболічний шлях, можуть мати відношення гени кісткових морфогенетичних протеїнів. Із цією метою вчені дослідили зв'язок чотирьох поліморфізмів гена BMP-2 (rs1005464, rs235768, rs3178250, rs170986), двох поліморфізмів гена BMP-4 та шістнадцяти поліморфізмів гена BMP-7 із розвитком кальцифікації судин (коронарна, сонна артерії та черевна аорта) та змінами показників мінеральної щільності кісток. До дослідної групи входили 920 американців європейського походження, у яких був цукровий діабет 2-го типу. Результати дослідження не виявили зв'язку генетичного поліморфізму гена BMP-2 з розвитком кальцифікації судин. Не встановлено такого зв'язку і для гена BMP-4. Натомість 6 із 16 досліджуваних поліморфних сайтів гена BMP-7 були асоційовані із зв'язком між мінералізацією кісток та кальцифікацією сонних, коронарних артерій, черевного відділу аорти у пацієнтів із діабетом [12].

Неоднозначність і нечисленність даних щодо зв'язку Ser37Ala та інших поліморфізмів гена BMP-2 з розвитком ГКС вимагають подальших досліджень у цьому напрямі.

Висновки

1. Пацієнти із Ser/Ser-генотипом за поліморфізмом Ser37Ala гена BMP-2, які палять, достовірно частіше хворіють ангінозною формою ГКС.
2. Серед пацієнтів без ожиріння існує достовірна різниця в розподілі генотипів серед осіб із нестабільною стенокардією, не-Q-інфарктом міокарда, Q- та QS-інфарктами міокарда.
3. Існує зв'язок із розвитком ускладнень ГКС для пацієнтів чоловічої статі, осіб, які палять, хворих без дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і без ожиріння.

References (список літератури)

1. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965;150:893–899.
2. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenic protein. *J. Dental. Res.* 1971;50(6):1392–1406.
3. Gosselet FP, Magnaldo T, Culerrier RM, Sarasin A, Ehrhart JC. BMP2 and BMP6 control p57Kip2 expression and cell growth arrest/terminal differentiation in normal primary human epidermal keratinocytes. *Cell. Signal.* 2007;19:731–739.
4. Kang MH, Kim JS, Seo JE, Oh SC, Yoo YA. BMP2 accelerates the motility and invasiveness of gastric cancer cells via activation of the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K). *Exp Cell Res.* 2010;316,(1):24–37.
5. Langenfeld E, Langenfeld J. Bone morphogenetic protein-2 stimulates angiogenesis in developing tumors. *Mol Cancer Res.* 2004;2:141–149.
6. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non ST-elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American college of cardiology. *Circulation.* 2000;102(10):1193–1209.
7. Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, De Feyter PJ, et al. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2002;23(23):1809–1840.
8. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature. *Circulation.* 1979;59:607–609.
9. Styrkarsdottir U, Cazier J-B, Kong A, Rolfsson O, Larsen H, Bjarnadottir E, Johannsdottir V, et al. Linkage of osteoporosis to chromosome 20p12 and association to BMP2. *PLoS Biol.* 2003;11(3):351–360.
10. Ichikawa S, Johnson ML, Koller DL, Lai D, Xuei X, Edenberg HJ, Hui SL, 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(4):587–592.
11. Varanasi SS, Tuck SP, Mastana SS, Dennison

- E, Cooper C, Vila J, Francis RM, Datta HK. Lack of association of bone morphogenetic protein 2 gene haplotypes with bone mineral density, bone loss or risk of fractures in men. *J Osteoporos.* 2011;2011:243465.
12. Freedman BI, Bowden DW, Ziegler JT, Langefeld CD, Lehtinen AB, Rudock ME, Lenchik L, et al. Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) gene polymorphisms are associated

with inverse relationships between vascular calcification and BMD: The Diabetes Heart Study. *J Bone Miner Res.* 2009;24(10):1719–1727.

(received 20.07.2014, published online 16.10.2014)

(отримано 20.07.2014, опубліковано 16.10.2014)

