

# P58 ANALIZA JAKOŚCIOWA BIAŁEK OSOCZA U DZIECI Z WIELOKROTNYMI ZŁAMANIAMI KOŚCI – BADANIA PILOTAŻOWE

III Środkowo Europejski Kongres Osteoporozy i Osteoartrozy oraz XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Osteoartrologii i Polskiej Fundacji Osteoporozy, Kraków 24-26.09.2009

## Streszczenia:

Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja 2009, vol 11 (Suppl. 2), s:175-176.

## P58

### ANALIZA JAKOŚCIOWA BIAŁEK OSOCZA U DZIECI Z WIELOKROTNYMI ZŁAMANIAMI KOŚCI – BADANIA PILOTAŻOWE

Rusińska A.<sup>1</sup>, Świątkowska M.<sup>2</sup>, Koziołkiewicz W.<sup>2</sup>, Skurzyński S.<sup>2</sup>, Golec A.<sup>1</sup>, Chlebna-Sokół D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Propedeutyki Pediatrii i Chorób Metabolicznych Kości UM w Łodzi

<sup>2</sup> Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej UM w Łodzi

**Słowa kluczowe:** złamania kości, dzieci, białka

**Celem** pracy jest próba wyjaśnienia etiopatogenezy powtarzających się złamań kości na podstawie kompleksowej analizy jakościowej profilu białkowego osocza u dzieci z wielokrotnymi złamaniami o nieznannej etiologii oraz u pacjentów z wrodzoną łamliwością kości.

**Pacjenci i metody.** Badaniami objęto łącznie 13 dzieci, w tym 4 pacjentów z wielokrotnymi niskoenergetycznymi złamaniami kości nie związanymi z obniżeniem masy kostnej (wiek 13-17 lat, liczba złamań od 4 do 7), 6 pacjentów z rozpoznaną wrodzoną łamliwością kości (wiek: 2 miesiące – 9 lat), oraz 3

zdrowych dzieci w wieku od 1 miesiąca do 11 lat, które stanowiły grupę porównawczą. Badania te były wykonywane po co najmniej 3 miesiącach od wystąpienia ostatniego złamania. W celu analizy profilu białkowego osocza badane próby rozdzielano metodą elektroforezy dwukierunkowej przy wykorzystaniu aparatu Ettan DALT II firmy Amersham Biosciences. Obrazy żeli i odpowiadające sobie spoty białkowe z prób pochodzących od pacjentów porównywano z próbami grupy kontrolnej. Identyczne warunki rozdziału elektroforetycznego reprezentatywnej grupy badanych pacjentów umożliwiły analizę profili białkowych, dzięki czemu zidentyfikowano różnice w ekspresji białek. Następnie białka, których ekspresja była zmieniona zostały poddane, po uprzednim wycięciu z żelu, analizie sekwencji aminokwasowej metodą spektrometrii mas (spektrometr mas z hybrydowym analizatorem typu kwadrupol-czas przelotu Q-Tof Premier™ API firmy Waters) w celu ich identyfikacji.

**Wyniki.** W badanej grupie pacjentów wykryto białka, których ekspresja była zmieniona w stosunku do kontroli oraz takie, które pojawiały się jedynie u osób chorych. Spośród przebadanych do tej pory spotów, najczęściej powtarzały się peptydy odpowiadające łańcuchom alfa i beta białku ludzkiej haptoglobiny u czworga dzieci z wrodzoną łamliwością kości. U jednego dziecka z wrodzoną łamliwością wykryto również peptydy odpowiadające białku ludzkiej alfa-1 kwaśnej glikoproteiny. Spotów odpowiadających wymienionym powyżej białkom, nie stwierdzono zaś u dzieci z wielokrotnymi złamaniami o nieustalonej etiologii, ani też w grupie kontrolnej. Ponadto u jednego pacjenta z wielokrotnymi złamaniami wykryto peptydy odpowiadające białku ludzkiej transtyretyny.

**Wnioski.** 1. Wyniki badań pilotażowych wskazują na zwiększoną ekspresję niektórych białek będących wskaźnikami ostrej fazy, co sugeruje udział komponenty zapalnej w przebiegu wrodzonej łamliwości kości, nie jest ona jednak obecna u dzieci z innymi złamaniami o nieznannej etiologii. 2. Konieczne są dalsze badania i obserwacja pacjenta ze zwiększoną ekspresją białka transtyretyny w celu wyjaśnienia przyczyn i ewentualnego związku z wielokrotnymi złamaniami kości.

*Praca częściowo finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi*

(Nr pracy 502-11-599)

**P58**

**THE QUALITATIVE ANALYSIS OF PLASMA PROTEINS IN CHILDREN WITH THE MULTIPLE FRACTURES – A PILOT SURVEY**

**Rusińska A., Świątkowska M., Koziołkiewicz W., Skurzyński S., Golec A., Chlebna-Sokół D.**

<sup>1</sup> Department of Paediatric Propedeutics and Bone Metabolic Diseases, Medical University of Lodz

<sup>2</sup> Department of Molecular and Medical Biophysics, Medical University of Lodz

**Key words:** *bone fractures, children, proteins*

**The aim** of the study is the explanation trial of the recurring bone fractures, on the base of complex qualitative analysis of the plasma protein profile in children with multiple bone fractures of the unknown origin and in patients with osteogenesis imperfecta.

**Patients and methods.** The study involved 13 children. Among them, in 4 patients multiple, low energy fractures not connected with bone mass reduction, were reported (age 13-17 years, fractures number 4-7), in 6 patients osteogenesis imperfecta was diagnosed (age 2 months- 9 years) and there were 3 healthy children (age 1 months-11 years) belonging to comparison group. The investigation was conducted at least 3 months after the last fracture took place. In the analysis of the proteins profile the two-dimensional protein electrophoresis (2DE) was performed using apparatus Ettan DALT II (Amersham Biosciences). The images of the protein's gels and the corresponding protein's spots that were taken from the patients were compared with the samples from the control group. The identical conditions of the electrophoresis of the representative group of examined patients enabled the proteins profile analysis, due to that, the differences in proteins expressions were identified. Next the proteins with changed expression were cut away from gel and amino acid's sequence

was analyzed with the mass spectrometry method (QUADRUPOLE TIME-OF-FLIGHT TANDEM Q-ToF Premier™ API MASS SPECTROMETER, Waters) for protein identification.

**The results.** In examined group of patients the proteins with changed expression relatively to comparison group were observed, and some proteins were revealed in children with multiple fractures only. From among spots examined so far, the most often proteins were peptides adequate to chains alpha and beta of the protein of human haptoglobin, observed in 4 children with osteogenesis imperfecta. In one child with osteogenesis imperfecta peptide adequate to proteins of human alpha-1 acid glycoprotein were discovered. These spots adequate to proteins were not found in children with multiple fractures of unknown origin and in children from comparison group either. In one patient with multiple fractures peptides corresponding with human transthyretin were found.

**Conclusions.** 1. The results of our pilot study indicate on the increased expression of some acute-phase proteins what may suggest the inflammatory component taking part in osteogenesis imperfecta course. But it is not observed in children with multiple fractures of unknown etiology. 2. To explain the causes and possible relationship with multiple fractures, the further investigations and observation of the patient with the increased expression of transthyretin protein must be performed.

*The study was partly financed by Medical University in Łódź (No 502-11-599).*