مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره سوم، شماره یازدهم، تابستان ۱۳۹۲

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

مقایسه سطح سرمی ماتریکس گاما کربوکسی گلوتامات پروتئین (MGP) با استئوپروتگرین (OPG) ارتباط آن ها با شدت بیماری در بیماران زن مبتلا به آرتریت روماتوئید

مریم السادات شهیدی[۱]، نادره رشتچی زاده[۲]، امیرقربانی حق جو[۲]، عادل رضائی مقدم[۳]، مهدیه تقی زاده[۴]، حوامرزبان[۵]

[۱]کارشناس ارشد، گروه بیوشمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۲] دانشیار، گروه بیوشمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۳]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران
[۴] دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
[۵] دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: آترواسکلروزیس و بیماری های ناشی از کلسیفیکاسیون عروقی یکی از علل عمده مرگ و میر در بیماران با آرتریت روماتوئید (RA) می باشد. هر چند مطالعات متعددی دراین خصوص صورت گرفته اما نتایج زیادی در مورد اثرات این فاکتورها بروی بیومارکرهای استخوان و ارتباط آن ها با کلسیفیکاسیون عروقی در دسترس نیست. هدف از این مطالعه مقایسه سطوح سرمی ماتریکس Gla پروتئین (MGP) و استئوپروتگرین (OPG) و ارتباط آن ها با شدت فعالیت بیماری (DAS28) در زنان مبتلا به آرتریت روماتوئید می باشد.

روش و مواد: ۴۵ بیمار زن، مبتلا به آرتریت روماتوئید و نیز ۴۵ زن سالم که از نظر سن و جنس با بیماران همسان بودند بعنوان گروه کنترل انتخاب شدند. مقادیر سرمی ماتریکس Gla پروتئین (MGP) واستئوپروتگرین (OPG) به روش الایزا و مقادیر سرمی پروتئین فاز حاد با حساسیت بالا (hs-CRP) نیز به روش توربیدومتری اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج حاکی از افزایش معنی داری در سطح سرمی OPG و hs-CRP در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل می باشد. تفاوت معنی داری در مقدار سطح سرمی MGP بیماران نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. هم بستگی مثبت معنی داری بین hs-CRP و مقادیر سرعت رسوب گلبول های قرمز (ESR) و نیز هم بستگی مثبت معنی داری بین hs-CRP و مقادیر درجه فعالیت بیماری (DAS28) و همچنین هم بستگی مثبت معنی داری بین ESR و مقادیر (DAS28) درگروه بیماران مشاهده گردید.

نتیجه گیری: چنین استنتاج می شود که احتمالا افزایش OPG می تواند پاسخ های التهابی به واسطه کاهش مقادیر سیتوکاین ها در زنان مبتلا به آرتریت روماتوئید را کاهش داده و از تخریب استخوان محافظت کند و همچنین کاهش MGP نیز می تواند منجر به کلسیفیکاسیون عروقی در این بیماران شده و در نتیجه به دیواره عروق آسیب برساند.

کلمات کلیدی: آرتریت روماتوئید (RA)، استئوپروتگرین (OPG) ، ماتریکس Gla پروتئین (MGP)، پروتئین فاز حاد با حساسیت بالا (hs-CRP).

مقدمه

آرتریت روماتوئید (RA)، بیماری سیستمیک مزمن التهابی است که عمدتا مفاصل را درگیر کرده و منجر به تخریب غضروف و ایجاد ضایعات استخوانی میشود (۱۴). این بیماران نسبت به افراد هم سن خود بیشتر در معرض بیماریهای مزمن مانندپوکی استخوان و بیماری های قلبی- عروقی هستند. ضایعات استخوانی

آدرس نویسنده مسئول : گروه بیوشمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
Email :maryamshahidi94@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله:۱۳۹۱/۰۲/۱۱
تاریخ پذیرش:۱۳۹۱/۱۰/۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

باعث بدفرمی های مفصلی دردناک، عدم توان عملکردی، افزایش شکستگی استخوان و افزایش مرگ و میر می گردد. شیوع آرتریت روماتوئید در حدود ۱ % افراد جمعیت دنیا می باشد. زنان سه برابر بیشتر از مردان به این بیماری مبتلا می شوند. سن شروع آن معمولا بین دهه چهارم و پنجم زندگی است (۷,۴۲,۴۳). به علاوه مسیر RANKL/OPG/RANK نقش ثابت و حیاتی درطیف وسیعی از بیماری های استخوانی، که با افزایش جذب استخوان، مزدوج شدن نامتعادل جذب وتشکیل و تخریب استخوان همراه هستند وجود دارد (۱۵). درشرایط طبیعی فرآیندهای جذب و تشکیل استخوان با هم جفت شده و بنابراین تغییری در توده استخوان ایجاد نمی شود، ولی بعضی فاکتورها ازجمله لیگاند استئوپروتگرین (OPGL) واستئوپروتگرین (OPG) درتنظیم این فرآیندها نقش کلیدی را ایفا می کنند (۵۱). RANKL یا لیگاند مربوط به رسپتور فعال کننده فاکتور هسته ای کاپا B یا لیگاند استئوپروتگرین (OPGL) عضوخانواده فاکتور نکروزدهنده تومور است و به دو فرم متصل به غشا و محلول (RANKLs) وجوددارد، که با اتصال به رسپتورشRANK بر روی سطح استئوکلاست ها و پیش سازهای آن ها تمایز استئوکلاست و فعالیت استئوکلاست را تحریک می کند و همچنین بقای استئوکلاست را نیز افزایش می دهد، درنتیجه منجر به جذب استخوان می شود. درمقابل استئوپروتگرین(OPG) جزء ابرخانواده رسپتور فاکتور نکروزدهنده تومور بوده و به عنوان یک رسپتور محل با اتصال به OPGL و مهار آن باعث مهار جذب استخوان می شود (۴,۱۳,۲۲,۲۳). سلول های T موجود در مایع مفصلی هر دو فرم OPGL را بیان می کند و هردو فرم باعث افزایش فعالیت استئوکلاست وتخریب استخوان در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌شود (۲۳ ,۴). مطالعات اخیر نشان داده است که درمیان پروتئین های درگیر در متابولبسم کلسیم عروقی ماتریکس Gla پروتئین نقش اساسی دارد بطوریکه نتایج مطالعات سال های اخیر استفاده از سنجش MGP را به عنوان مارکری برای تشخیص کلسیفیکاسیون قلبی- عروقی مورد تاکید قرار داده است (25,46). این پروتئین باوزن ملکولی ۱۴ کیلودالتون با ۸۴ریشه اسیدآمینه و PHI = ۹/ ۷ می باشد. این پروتئین برای نخستین بار از ماتریکس استخوان گاو استخراج گردید اما بعدا سنتز آن توسط کلیه ها، ریه، قلب، غضروف، پلاک های کلسفیه آترواسکروتیک و سلول های ماهیچه ای صاف عروق (VSMC) مورد تایید قرارگرفت. ژن MGP برروی کروموزوم۱۲ قراردارد و حاوی ۴ اگزون و۳ انترون با طول برابر۳,۹ kb می باشد. نتایج آزمایشات تجربی جدید حاکی از آن است که مهار ژن MGP درموش های آزمایشگاهی منجر به رسوب کلسیم در شریان ها و پارگی شریان ها همراه می باشد که درنهایت بعد از حداکثر ۶ الی ۸ هفته بعد از تولد با مرگ موش ها همراه است. به عبارت دیگر یکی از نقش های مهم MGP مهار کلسیفیکاسیون عروقی می باشد که این عمل را بطور عمده با اتصال به کریستال های کلسیفیه مرکزی و ممانعت از رشد آن ها موجب میگردد (۳۳,۳۹,۴۷) .نتایج مطالعات انجام شده در این زمینه در نهایت بیانگر این حقیقت است که تحلیل استخوان و رسوب کلسیم دردیواره عروق و افزایش مسیرهای مختلف کلسیفیکاسیون عروقی یکی از علل عمده بروز آترواسکلروز در اختلالاتی نظیر بیماری های کلیه التهابات و بخصوص بیماری آرتریت روماتوئید می باشد. هر چند که در سال های اخیر به نقش این فاکتورها در بیماری هایی نظیر کلیه (همودیالیز و پیوند) پرداخته شده است اما به نقش این فاکتورها در بیماری آرتریت روماتوئید کمتر پرداخته شده است. هدف از این مطالعه بررسی و مطالعه این فاکتور ها در بیماران آرتریت روماتوئید و ارتباط آن ها با شدت بیماری در زنان می باشد.

مواد و روش ها

نوع مطالعه و جامعه آماری

مطالعه مورد- شاهد حاضر به روش توصیفی بروی زنان مبتلا به آرتریت روماتوئید مراجعه کننده به کلینیک شیخ الرئیس و بیمارستان سینا مربوط به دانشگاه علوم پزشکی تبریز از مرداد تا دی ماه سال ۱۳۸۹ انجام شد.

حجم نمونه و معیارهای ورود به مطالعه و خروج

با توجه به شیوع بالای زنان در مطالعه نسبت به مردان گروه هدف مورد مطالعه جمعیت زنان به تعداد ۹۰ عدد انتخاب شدند. نمونه مورد مطالعه شامل زنان مبتلا به آرتریت روماتوئید بر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

اساس معیارهای ACR تشخیص گذاشته شد. میزان فعالیت بیماری براساس معیارهای DAS سنجیده شد. جهت جلوگیری از تاثیر مداخلات داروئی در مطالعه حاضرسعی شد تمامی بیماران مورد مطالعه در فاز اول بیماری بودند وارد مطالعه شدند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: افراد با BMI بیشتر از۳۰، سابقه شیدن سیگار، فشارخون کنترل نشده (فشارخون سیستولی ≤۱۴۰ میلی متر جیوه وفشارخون یاستولی ≤ ۹۰ میلی متر جیوه) داشتن سابقه بیماری های سیستمیک- ارثی، کلیوی، قلبی- عروقی مانند دیابت، هیپوتیروئیدی، کوشینگ، سندروم نفروتیک، همچنین بیمارانی که داروهای ضدحاملگی، مصرف غذاهای نا متعارف، بتا بلاکرها و دخانیات مصرف می کردند از مطالعه حذف شدند. همچنین افراد از مصرف دارو و ویتامین و ترکیبات آنتی اکسیدانت در حین ممانعت شدند و آن هایی که حداقل ۲ ماه قبل از مطالعه این موارد را داشتند از مطالعه حذف شدند.

ابزارها و روش های جمع آوری اطلاعات

از تمامی افراد مورد مطالعه علاوه بر ثبت مشخصات فردی، علائم و اطلاعات بالینی بیماران در فرم های مخصوص، میزان فعالیت بیماری (DAS28)، توسط متخصصین مربوطه ثبت شدند.

فرمول محاسبه DAS 28 (72)

$$DAS\ 28 - 4(crp) = 0.56 * \sqrt{(TJC)} + 0.28 * \sqrt{(SJC)} + 0.36 * \ln(CRP + 1) + 0.014 * (VAS) + GH + 0.96$$

نمونه گیری

برای انجام آزمایشات مربوطه از همه افراد شرکت کننده پس از ۱۲ ساعت ناشتائی هنگام صبح حدود ۵ میلی لیتر نمونه خون وریدی گرفته شد. سرم های مربوطه بعد از سانتریفیوژ در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگه داری شدند.

روش انجام آزمایش

اندازه گیری OPG به روش الایزا

برای اندازه گیری سطح سرمی OPG از کیت Boster Immunoleader، Wuhan ، china، Lot.No.:199656 و روش الایزای ساندویچی و دو آنتی بادی اولیه و ثانویه پلی کلونال ضد OPG انسانی استفاده شد. بدین نحو که آنتی بادی پلی کلونال ضد OPG در ته چاهک ها پوشانده شده است. OPG انسانی موجود درنمونه یا استاندارد به آنتی بادی های اولیه کت شده داخل چاهک ها متصل می شود. آنتی بادی های پلی کلونال ضد OPG انسانی کونژوگه با بیوتین به OPG تسخیر شده با آنتی بادی اولیه اتصال می یابد. سپس اویدین- بیوتین- پراکسیداز به بیوتین کونژوگه شده به آنتی بادی ثانویه متصل می شود. بعداز انکوباسیون و شستشوآنتی بادی های ثانویه و آویدین- بیوتین- پراکسیدازهایی که متصل نشده اند خارج می شوند سپس محلول سوبسترای TMB(-tetramethyl benzidine) که با HRP واکنش می دهد اضافه می شوند. محصول رنگی به نسبت مقدار OPG موجود در نمونه یا استاندارد ایجاد می شود. واکنش با اضافه کردن اسید متوقف گردید. جذب محلول درطول موج ۴۵۰ nm قرائت شد، سپس غلظت OPG نمونه ها با استفاده ازمنحنی کالیبراسیون محاسبه گردید.

اندازه گیری MGP به روش الایزا

برای اندازه گیری سطح سرمی MGP از کیتUscn Life Science Inc، Wuhan، China، Lot.No.:10101814 و روش الایزای ساندویچی و دوآنتی بادی اولیه و ثانویه پلی کلونال ضد MGP انسانی استفاده شد. آنتی بادی پلی کلونال ضد MGP در ته چاهک ها پوشانده شده است. MGP انسانی موجود درنمونه یا استاندارد به آنتی بادی های اولیه کت شده داخل چاهک ها متصل می شود. آنتی بادی های پلی کلونال ضد MGP انسانی کونژوگه با بیوتین، به MGP تسخیر شده با آنتی بادی اولیه اتصال می یابد. سپس اویدین- بیوتین- پراکسیداز به بیوتین کونژوگه شده به آنتی بادی ثانویه متصل می شود. بعد از انکوباسیون و شستشو آنتی بادی های ثانویه و آویدین- بیوتین- پراکسیدازهایی که متصل نشده اند خارج می شوند

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

سپس محلول سوبسترای TMB(tetramethyl-benzidine) که با HRP واکنش می دهد اضافه می شود. محصول رنگی به نسبت مقدارMGP موجود در نمونه یا استاندارد ایجاد گردید. واکنش با اضافه کردن اسید متوقف شد. جذب محلول درطول موج nm ۴۵۰ قرائت شده وسپس غلظت MGP نمونه ها با استفاده از منحنی کالیبراسیون محاسبه شدند.

اندازه گیری hs-CRP به روش ایمنوتوربیدومتری

سنجش hs-CRP به روش ایمنوتوربیدومتری تقویت شده برای اندازه گیری دو نقطه ای بافتومتر با استفاده ازکیت پارس آزمون و اتوانالیزور Alcyon 300 Abbot صورت گرفت. غلظت نمونه ها بر پایه ی تشکیل کمپلکس داده و ایجاد کدورت می باشد که با کشیدن منحنی استاندارد غلظت نمونه ها را محاسبه می شود. مقدارکدورت ایجاد شده با مقدار CRP موجود در نمونه بیمار رابطه مستقیم دارد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

برای آنالیز داده ها از نرم افزار آماری SPSS (Statistical Package for Social Sciences) با ویرایش ۱۱ تحت برنامه windows استفاده گردید. جهت بررسی تحلیلی داده ها، تشخیص نوع آنالیز آماری و توزیع داده ها از نظر نرمال بودن ازتست Kolmogorov- smirnov استفاده شد. برای مقایسه تفاوت میانگین ها ازآزمون های Independent Sample t-test (برای متغیرهای دارای توزیع نرمال) و Mann-Whitney U-test (برای متغیرهای فاقد توزیع نرمال) استفاده شد. جهت بررسی تغیرات متغیرها آزمون Wilcoxon استفاده شد. به منظور بررسی وجود هم بستگی میان داده های پیوسته از آزمون های هم بستگی Pearson و در موارد غیر پارامتریک از تست Spearman استفاده گردید. تمام P-Value ها درحالت کمتر از ۰۵,۰ از نظر آماری معنی دار تلقی گردیده و فواصل اطمینان درسطح ۹۵ درصد مورد محاسبه قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار SPSS باویرایش ۱۶ بهره گرفته شد.

یافته ها

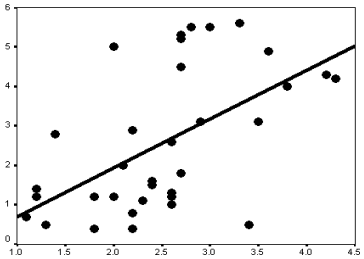
نتایج بدست آمده به صورت جدول و نمودار نشان داده شده است.

متغیر	میانگین±انحراف معیار (مورد) (n=45)	میانگین±انحراف معیار (کنترل) (n=45)	نتیجه آزمون
Age (year)	٤٦/٨±١٤/٥	٤٣/٢±٩/٢	p= ٠/٢١٣
BMI(kg/ m^2)	٢٩/٧±٣/٢	٢٢/٠±٢/٧	p= ٠/٠٠١
Systolic	١٤/٦±٣/٣	١١/٢±٠/٩	p= ٠/٠٣٧
Diastolic	٨/٦±٠/٩	٧/٤±١/٠	p= ٠/٠١٦
BMI=Body Mass Index.			

جدول۱- پارامترهای دموگرافیک درگروه بیماران زن مبتلا به آرتریت روماتوئید وکنترل مشاهده می شود که تفاوت میانگین سن از نظر آماری دو گروه با هم معنی دار نیستند و از این نظر دو گروه با هم همسان نیستند. اما تفاوت میانگین BMI، diastolic pressure، systolic pressure بین دو گروه از نظرآماری معنی دار هستند.

متغیر	میانگین±انحراف معیار (مورد) (n=45)	میانگین±انحراف معیار (کنترل) (n=45)	نتیجه آزمون
OPG(pg/ ml)	٤٠٨/٣±٥٢٠/١	٩٢/٦±٨٦/٣	٠/٠٠١ p=
MGP(pg/l)	١٠١/٧±٢٧/٧	١٠٧/٠±٥٤/٤	٠/٣٠٢ p=
hs-CRP(mg/l)	٢/٩±١/١	٠/٩±١/٤	٠/٠٠١ p=
MGP= Matrix Gla Protein، OPG= Osteoprotegerin ، hs –CRP= High Sensivity-C Reaction Protin.			

جدول۲- مقایسه پارامترهای بیو شیمیایی درگروه بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و کنترل نشان دهنده تفاوت معنی دار میانگین OPG، hs-CRP بین دو گروه می باشد. اما تفاوت معنی دار در سطح MGP بین دو گروه معنی دار نبود و از این نظر دو گروه با یکدیگر همسان هستند.

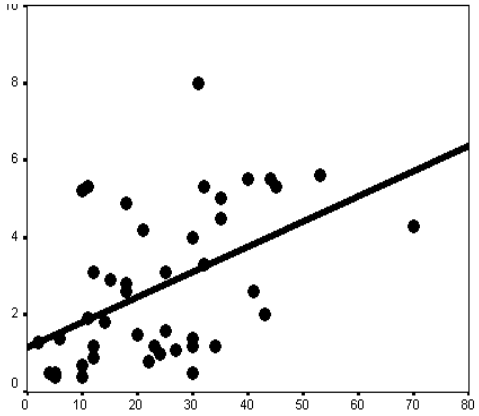


نمودار۱- هم بستگی بین تغییرات نسبت سرمی HS-CRP و تغییرات

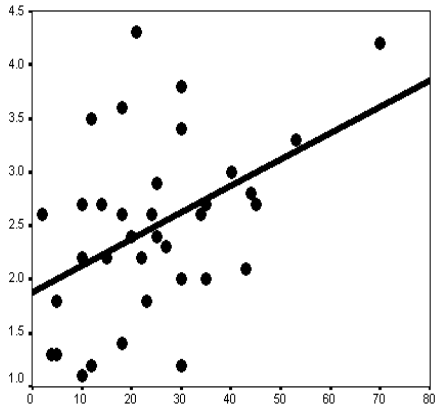
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

سرمی DAS28 (r ۰=/۵۷۰ ، p ۰=/ ۰۰۱). بررسی هم بستگی بین فاکتورهای مورد مطالعه در گروه آرتریت روماتوئید نشان می دهد که هم بستگی مثبت معنی داری (r ۰=/۵۷۰ ، p ۰=/ ۰۰۱) بین درجه افزایش HS-CRP و درجه افزایش DAS28 وجود دارد (نمودار۱).



نمودار۲- هم بستگی بین تغییرات نسبت سرمی HS-CRP و تغییرات سرمی ESR (r ۰=/۴۸۷ ، p ۰=/۰۰۱). ملاحظه می شودکه هم بستگی مثبت معنی داری (r ۰=/۴۸۷،p ۰=/۰۰۱) نیز بین درجه افزایش HS-CRP و درجه افزایش ESR وجود دارد. (نمودار۲).



نمودار۳- هم بستگی تغییرات سرمی DAS28 و تغییرات سرمی ESR (r = ۰/۴۴۸ ، p = ۰/۰۰۷). هم چنین بررسی آماری نشان می دهد که هم بستگی مثبت معنی داری نیز (r ۰ =/۴۴۸،p ۰=/۰۰۷) بین درجه افزایش ESR و درجه افزایش DAS28 وجود دارد. (نمودار۳-٤) بین سایر پارامترها هم بستگی مشاهده نمی شود (جدول٤-٤).

متغیرها		OPG	MGP	AGE	BMI
OPG	R	۱	-۰/۲۳	-۰/۱۳۰	۰/۸۳٦
	P	-	۰/۸۸	۰/٤٦٥	۰/۳۷۰
MGP	R	-۰/۰۲۳	۱	۰/۰۸۰	۰/۸۲۱
	P	۰/۸۸۱	-	۰/٦٥٤	۰/۳۸۷
HSCRP	R	-۰/۰۳٥	۰/۱۷۱	۰/۲۲۸	۰/۹٤۹
	P	۰/۸۱۸	۰/۲٦۱	۰/۱۹٦	۰/۲۰٥
AGE	R	-۰/۱۳۰	۰/۰۸۰	۱	۰/۸٤۹
	p	۰/٤٦٥	۰/٦٥٤	-	۰/۳٥٥
DAS28	R	۰/۱۳٤	-۰/۰۰۳	-۰/۰٦۰	۱/۰۰۰
	P	۰/٤٤٤	۰/۹۸۸	۰/۷٦۱	-
BMI	R	۰/۸۳٦	۰/۸۲۱	۰/۸٤۹	۱
	P	۰/۳۷۰	۰/۳۸۷	۰/۳٥٥	-
ESR	R	-۰/۰۹۱	۰/۰٥۹	۰/۲۷٦	۰/۹٥٤
	P	۰/٥٦۳	۰/۷۰۹	۰/۱۱٤	۰/۱۹٥

جدول۳- بررسی هم بستگی متغیرهای کمی در۴۵ بیمار زن مبتلا به آرتریت روماتوئید را نشان می دهد.

بحث

همان طور که در قسمت بررسی متون گفته شد آرتریت روماتوئید یک بیماری سیستمیک مزمن التهابی با علل ناشناخته است که تخریب استخوان یکی از عوارض غیرقابل حل در بیماران مبتلا به RA می باشد (۴,۳۲,۳۶). اطلاعات موجود نشان دهنده نقش فیزیولوژیکی مسیر OPG/RANK/RANKL در تنظیم تغییرات استخوانی (۵) و باز جذب استخوان در بیماران مبتلا به RA می باشد (۵۱). OPG به عنوان یک تنظیم کننده جذب استخوان شناخته شده است که به وسیله استئوبلاست سلول های آندوتلیال در سلول های ماهیچه ای صاف، عروق و سلول های استرومایی مغز استخوان بیان می شود. سپس به RANKL (روی سلول های دندریتیک، سلول های استئوکلاست) متصل می‌شود و از واکنش RANKL با RANK جلوگیری می کند و باعث مهار تمایز، فعال سازی و بقای استئوکلاست ها می شود و در نهایت از جذب استخوان جلوگیری می نماید

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

(۶, ۴۴). نتایج تحقیقات مختلف نشان می دهد که OPG و RANKL نقش های کلیدی در آسیب استخوانی و غضروفی بیماران مبتلا به RA دارند (۱,۱۷,۲۳,۵۰). همچنین گزارش شده است که OPG تولید سیتوکاین ها (IL11-IL6) توسط RANKL را کاهش داده و تولید سیتوکاین ها (IL12-IL15) توسط لنفوسیت های T راکاهش می دهد که در نهایت با مهار RANKL ازتخریب استخوان جلوگیری می کند (24).MGP کلسیفیکاسیون را تحریک می‌کند درحالی که اخیرا گزارش شده است که غلظت های MGP بالاتر از ۱۰ میکرومول به طور کامل کلسیفیکاسیون را مهار می کند (۳۴,۳۷,۱۸). مطالعات انجام شده نشان می دهد که مهار کربوکسیلاسیون گاما گلوتامیل توسط وارفارین کاهش جذب ویتامین K و اختلال در سیستم گاما- کربکسیلاسیون MGP و در نهایت منجر به کلسیفیکاسیون عروق می شود (۴۰,۱۶). تحقیقات اخیر گزارش می دهد که درمان با وارفارین باعث افزایش کلسیفیکاسیون دریچه آئورت می شود و همچنین وارفارین کلسیفیکاسیون در بیماران با نارسایی کلیه را شدیدتر می کند (۱۲,۴۱). درنتیجه هر عاملی که بتواند مقدار OPG و MGP را افزایش دهد ممکن بتواند به ترتیب به کاهش مشکلات استخوانی و کاهش کلسیفیکاسیون عروقی بیماران مبتلا به RA کمک کند. نتایج مطالعه حاضر که برای نخستین بار انجام میگیرد حکایت ازکاهش MGP و افزایش OPG و عدم هم بستگی این دو فاکتور با میزان فعالیت بیماری (DAS) در زنان مبتلا به آرتریت روماتوئید دارد. Simonet و همکاران نشان دادهاند که سیتوکاین های التهابی مانند TNF-aوInterlukin-1 باعث تولید و ترشح OPG در بیماران آرتریت روماتوئید (RA) نسبت به گروه کنترل شده و میزان آن را افزایش می دهند در نتیجه OPG نیز با متصل شدن به RANKL و مهار کردن RANK از جذب استخوان جلوگیری می کند و همچنین مانع ازتمایز، فعالیت و بقای استئوکلاست ها شده درنتیجه باعث بهبود بیماری می شود (۳,۲۰,۴۷,۵۱) که این یافته ها کاملا با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. Skoumal و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند سلول های التهابی (سیتوکاین های التهابی) فعال در محل التهاب منجر به تولید OPG شده و مقدار آن ها نسبت به کنترل افزایش می دهند حتی OPG نیز یک اثرفیدبکی مثبت بروی این سلول های التهابی دارد. به نظر می رسد که OPG نقش محافظتی موثر در برابر پیشرفت ضایعات استخوانی و پوکی استخوان در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید دارد (۳۸,۴۸) که این یافته ها نیز با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. نتایج تحقیقاتSkoumal و همکاران درسال ۲۰۰۸ نشان داد که سینوویوم حاوی سلول های التهابی مانند ماکروفاژها سلول های دندرتیک، لنفوسیت های T و فیبروبلاست ها می باشد.OPG نیز توسط سلول های دندریتیک و لنفوسیت های B ترشح شده و این منجر به افزایش شدید OPG نسبت به گروه کنترل می گردد. افزایش OPG عملکرد RANKL را مهار کرده و به نظر می رسد که نقش محافظتی در برابر پیشرفت ضایعات استخوانی دارد و همچنین باعث بهبودی غضروف و استخوان می گردد. همچنین تحقیقات نشان داده اند که در صورتی OPG در حد زیادی افزایش یابد در آن صورت نقش محافظتی موثری در بیماران RA دیگر وجود نخواهد داشت (۸,۴۵,۴۹). مطالعات انجام گرفته بیانگر اینست که سیتوکاین های التهابی مانند IL-1،TNF-a نقش اساسی در متابولیسم استخوان و تخریب مفاصل در بیماری RA دارند (۵۳,۵۴). نتایج تحقیقات گسترده نشان می دهد که در بیماران دیالیزی بدلیل کمبود ویتامین K ، MGP کاهش می یابد و این رسوب کلسیم در دیواره عروق منجر به ملتهب شدن دیواره شده و به دنبال آن افزایش کلسیفیکاسیون عروقی و خطر بیماری های قلبی- عروقی در این بیماران مشاهده می‌شود (۹,۳۵). این نتایج با نتایج مطالعه حاضر که حاکی از افزایش OPG دربیماران آتریت روماتوئید و کاهش ماتریکس Gla پروتئین است می تواند دلیلی برافزایش OPG ناشی از افزایش سیتوکین های التهابی مانند TNF-a و IL-1 باشد. Dealba Gedvzzi و همکارانش بیان کردند که فیبرهای الاستیکی نرمال بدلیل عوامل مختلفی از قبیل اختلال در سیستم گاما- کربوکسیلاسیون MGP، کاهش ویتامین K و یا کاهش بیان MGP در مقایسه با کنترل منجر به کاهش MGP دراین فیبرها شده و رسوب کلسیم را به همراه خواهد داشت و با حضور کلسیفیکاسیون در این فیبرها باعث بیماری سودواگزما می‌گردد (۱۶).Ellen و همکارانش در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که به علت کاهش بیان MGP منجر به کاهش تولید MGP در بیماران قلبی-عروقی ناشی از بیماری تنگی آئورت، همودیالیزی و آنژیوپلاستی نسبت به

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

افراد نرمال می شود و با رسوب کلسیم در عروق همراه است و کلسیفیکاسیون شدیدی را به دنبال خواهد داشت (10). یک تحقیق دیگر توسط COWELL و همکاران نشان داد که در بیماران دارای بیماری مزمن کلیه به دلیل کاهش ویتامین K کاهش در مقدار MGP را به دنبال خواهد داشت، این کاهش در ۳۰٪ افراد استعداد بیشتری به کلسیفیکاسیون عروقی نسبت به افراد نرمال نشان داده است (9) این بیانگر اهمیت ویتامین K در بررسی تغییرات MGP می باشد. Kolarz و همکاران بیان کردند که در بیماران مبتلا به RA بدلیل حضور سیتوکاین های التهابی در محل التهاب مارکرهای التهابی مانند ESR و hs-CRP افزایش پیدا کرده است (۲۷) این یافته با بررسی های مطالعه حاضر مطابقت دارد. نتایج تحقیقات نشان می دهد در بیماران استئوآرتریت: استروژن ها، سیتوکاین های بیش التهابی مانند IL-1 و TNF-aو فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-B) تولید و ترشح OPG را توسط سلول های استئوبلاستی استرومایی افزایش می دهند. همچنین غلظت مارکرهای التهابی مانند ESR، hs-CRP و DAS28 در بیماران مبتلا به RA افزایش می یابد (3,21,28). نتایج این مطالعات به جز فعالیت بیماری (DAS28) با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد که می تواند به علت طولانی بودن مدت بیماری و زیاد بودن سن باشد. Skoumal و همکاران نیز گزارش کردند در بیماران مبتلا به RA ثانویه با حضورIL-1 و فاکتور تحریک کننده کولونی ماکروفاژ (M-CSF) مقادیر OPG و ESR افزایش پیدا کرده است ولی میزان فعالیت بیماری کاهش پیدا کرده است (۴۸). این نتایج درارتباط با فعالیت بیماری (DAS28) با نتایج بررسی شده در این مطالعه مطابقت دارد.Nicolaos و همکاران دراین مطالعه بیان کردند که پلاک های آترواسکلروتیک موجود در عروق منجر به ایجاد التهاب در این محل ها شده است و در نتیجه مارکرهای التهابی مانند OPG و hs-CRP و ESR و فیبرینوژن در بیماران با تنگی آئورت نسبت به کنترل افزایش می یابد. بنابراین OPG با مهار RANKL و کاهش TNF منجر به بهبودی عروق می شود (۲۶). مطالعات متعدد دیگری گزارش کردند که اسید های چرب امگا-۳، با کاهش سیتوکاین ها جذب استخوان مانند TNF-a و IL-6 جذب استخوان را از تخریب محافظت می کنند (11,29). KuboTa و همکارانش گزارش کردند که افزایش OPGبوسیله anti-TNF-a (infliximab،adalimuab) نرمالیزه می شود (۳۰). همچنین Zhao و همکاران گزارش کردند که infliximab تخریب استخوان را از طریق تجدید مقادیر OPG در کلون های سلولی سینوویال جدا شده در بیماران مبتلا به RA مهار می کند (۵۵). بنابراین بلاکرهای TNF (adalimuab یا infliximab) ممکن توانایی کاهش در سطح مارکرهای جذب استخوان و افزایش مارکرهای تشکیل استخوان در بیماران مبتلا به RA داشته باشند. درمطالعه حاضر تغییر معنی داری بین OPG و سن بیماران مبتلا به RA نسبت به کنترل مشاهده نشد. Yan-Yingو همکاران گزارش کردند که سطوح سرمی OPG وابسته به سن در RA اولیه نسبت به کنترل افزایش یافته است (۵۲). درصورتی که Skoumal و همکارانش نشان دادند که سطوح OPG سرم در RA ثانویه کاهش می یابد. آن ها بیان کردند که به دلیل عدم حضور سیتوکاین های التهابی فعال تولید OPG در سرم بیماران مبتلا به RA کاهش مییابد (45) و همچنین Kong و همکارانش گزارش کردند که در بیماران مبتلا به استئوآرتریت به دلیل کهولت سن سطوح OPG سرم به دلیل کاهش سیتوکاین های التهابی فعال کاهش چشم گیری را باعث می شود (۳۱). آن ها پیشنهاد کردند که افزایش سن تنها پارامتری است که همراه با آنRA اولیه افزایش می یابد زیرا که مکانیسم های ترمیمی در برابر ضایعه استخوانی درRA اولیه هنوز وجود دارند (۵) این نتایج تاحدی با نتایج مطالعه حاضر که بین سن و OPG می باشد هم بستگی معنی داری مشاهده نشده و در تناقض می باشد.

تشکر و قدردانی

این طرح پژوهشی با اعتبارات مالی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به انجام رسیده است که بدین وسیله از این مرکز قدردانی میگردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

منابع

(1) Alkady EAM, Rashad S.M, Khedr TM, Mosad E, Abdel-Wahab N. Early predictors of increased bone resorption in juvenile idiopathic arthritis: OPG/RANKLratio, as a key regulator ofbone metabolism. The Egyptian Rheumatologist, 2011;33: 217-223.
(2) Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L . homologue of the TNFreceptor and its ligand enhance T-cell growth anddendritic-cell function. Nature, 1997;390: 175-179.
(3) Asanuma Y, Chung CP, Oster A, Solus JF, Avalos I, Gebretsadik T, Shintani A, Raggi P, Sokka T, Pincus T, Stein M. Serum osteoprotegerin is increased and independently associated with coronary- artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. Atherosclerosis, 2007;195:e135-e141.
(4) Bolon B, Shalhoub V, Kostenuik PJ, Campagnuolo G,Morony S, Boyle WJ, at al. Osteoprotegerin, an endogenous antiosteoclast factor for protecting bone in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum, 2002;46: 3121-35.
(5) Burgess T, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. J Cell Biol, 1999;45:527–53.
(6) Bord S, Frith E, Ireland DC, Scott MA, Craig JIO, Compston JE. Synthesis of osteoprotegerin and RANKL by megakaryocytes is modulated by oestrogen. Br J Haematol, 2004;126: 244–51.
(7) Cerhan J R, Saag K G, Merlino L A, Mikuls TR, Criswell L A. Antioxidant micronutrients and risk of Rrheumatoid Arthritis in a cohort of older women. Am J Epidemiol, 2003;157:345-54.
(8) Collin-Osdoby P, Rothe L, Anderson F, Nelson M, Maloney W, Osdoby P. Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by nXammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis. J Biol Chem, 2001;276:20659–672.
(9) Cowell SJ, et al. A randomized trial of intensive Lipid-lowering therapy in calcific stenosis. N Engl J Med. 2003;352:2389-97.
(10) Cranenburg ECM, Vermeer C, Koos R, Boumans ML, Hackeng TM, Bouwman FG, Kwaijtaal M, Brandenburg VM, Ketteler M, Schurgers LJ. The Circulating Inactive Form of Matrix Gla Protein (ucMGP) as a Biomarker for Cardiovascular Calcification. J Vasc Res. 2008;45:427-36.
(11) Das UN. Essential fatty acids and osteoporosis. Nutrition. 2002;16:386-90.
(12) Disthabanchong S. Vascular calcification in chronic kidney disease: Pathogenesis and clinical implication World J Nephrol, 2012;1:43-53.
(13) Fata JE, Kong YY, Li J, Sasaki T, Irie-Sasaki J, Moorehead RA, Elliott R, Scully S, Voura EB, Lacey DL, Boyle WJ, Khokha R, Penninger JM. The osteoclast sifferentiation factor osteoprotegerin- ligand is essential for mammary gland development. Cell, 2002;103:41–50.
(14) Feldmann M, Brennan F M, Maini RN. Rheumatoid arthritis. Cell, 1996;85:307–10.
(15) Geusens P. Emerging treatments for postmenopausal osteoporosis- focus on denosumab. Clin Interv Aging, 2009;4:241-50.
(16) Gheduzzi D, Federica B, Annovi G, Devincenzi PC, Schurgers L, Vermeer C, Quaglino D, Ronchetti IP. Laboratory Investigation, 2007;87:998- 1008.
(17) Gravallese EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a score of osteoclast differentiation factor. Arthritis Rheum, 2000;43:250-8.
(18) Hackeng TM, Rosing J, Spronk HM, Vermeer C. Total chemical synthesis of human matrix Gla protein. Protein Sci, 2001;10:864–70.
(19) Hermans MMH, Vermeer C, Kooman JP, Brandenburg V, Ketteler M, Gladziwa U, Rensma PL, Leunissen KML, Schurgers LJ. Undercarboxylated Matrix GLA Protein Levels are Decreased in Dialysis Patients and Related to Parameters of Calcium-Phosphate Metabolism and Aortic Augmentation Index. Blood Purif, 2007;25:395-401.
(20) Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum, 2001;44:253-9.
(21) Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. JAMA, 2004;292:490–5.
(22) Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L , Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclas differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. P Natl Acad Sci USA, 1999;96:3540–45.
(23) Itonaga I, Fujikawa Y, Sabokbar A, Murray DW, Athanasou NA. Rheumatoid arthritis synovial macrophage-osteoclast differentiation is osteoprotegerin ligand-dependent. J Pathol, 2000;192:97-104.
(24) Josien R, Wong BR, Li HL, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a TNF family member, is differentially expressed on T cell subsets and induces cytokine production in dendritic cells. Journal of Immunology, 1999;162:2562-68.
(25) Julien M, Khoshniat S, Lacreusette A, Gatius M, Bozec A, Wagner EF,Wittrant Y, Masson M, Weiss P, Beck L, Magne D, Guicheux J.J Bone Miner Res. Phosphate-dependent regulation of MGP in osteoblast: role of ERK1/2and Fra -1. Journal of Bone and Mineral Research, 2009;24:1856- 68.
(26) Kadoglou NPE , Gerasimidis T, Golemati S, Kapelouzou A, Karayannacos PE, Liapis CD. The relationship between serum levels of vascular calcification inhibitors and carotid plaque vulnerability. J Vasc Surg, 2008;47:55-62.
(27) Kolarz G, Scho dl CH, Skoumal M, Woloszczuk W, Wottawa A. Osteoprotegerin serum levels in rheumatoid arthritis. J Mineralstoffwechsel. 2003;3:10-12.
(28) Kondo T, Kitazawa R, Maeda S, Kitazawa S. 1 Alpha, 25 Dihydroxyvitamin D3 rapidly regulates the mouse osteoprotegerin gene through dual pathways. J Bone Miner Res. 2004;19:1411-9.
(29) Kettler DB. Can manipulation of the ratios of essential fatty acids slow the rapid rate of postmenopausal bone loss? Altern Med Rev. 2000;6:61-77.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]

(30) Kubota A, Hasegawa K, Suguro T, Koshihara Y. Tumor necrosis factor- alpha promotes the expression of osteoprotegerin in rheumatoid synovial fibroblasts. J Rheumatol, 2004;31:426-35.
(31) Kong YY , Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. P Natl Acad Sci USA, 1999;96:3540-45.
(32) Lesuis N, Befrits R, Nyberg F, Vollenhoven RF. Gender and the treatment of immune mediatedchronic inflammatory diseases: rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease and psoriasis: an observational study. BMC Medicine, 2012;10:1-9.
(33) Lomashvili KA, Wang X, Wallin R, O'Neill WC. Matrix Gla Protein Metabolism in Vascular Smooth Muscle and Role in Uremic Vascular Calcification. J Biol Chem. 2011;286:28715–28722.
(34) Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR,Karsenty G. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. Nature, 1997;385:78-81.
(35) Marieke J H. Summeren V, Hameleers JM, Schurgers LJ, Hoeks APG, Uiterwaal CSPM, Krüger T, Vermeer C, Kuis W, Lilien MR. Circulating calcification inhibitors and vascular properties in children after renal transplantation. Pediatr Nephrol, 2008;23:985-93
(36) McInnes, IB, Leung BP, Liew FY.Cell-cell interactions in synovitis.Interactions between T lymphocytes and synovial cells.Arthritis Res, 2000;2:374-78.
(37) Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. J Cell Biol, 2004;165:625-30.
(38) Paola Narducci, Renato Bareggi, Vanessa Nicolin. Receptor Activator for Nuclear Factor kappa B Ligand (RANKL) as an osteoimmune key regulator in bone physiology and pathology. Acta Histochemica, 2011;113:73-81.
(39) Parker BD, Ix JH, Cranenburg EC, Vermeer C, Whooley MA, Schurgers LJ. Association of kidney function and uncarboxylated matrix Gla protein: data from the Heart and Soul Study. Nephrol Dial Transplant, 2009;1:2095-101.
(40) Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. Arterioscler Thromb Vsc Biol, 1998;18:1400-7.
(41) Proudfoot D, Shanahan C. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: Role of matrix Gla protein. Nephrology, 2006;11:455-61.
(42) Rennie KL, Hughes J, Lang R, Jebb SA. Nutritional management of rheumatoid arthritis: a review of the evidence. Journal of Human Nutrition and Dietetics, 2003;16:97-109.
(43) Romas E, Gillespie MT, Martin TJ. Involvement of receptor Activator of NFkB Ligand and tumor necrosis factor – a in bone destruction in rheumatoid arthritis. Bone, 2002;30:340-6.
(44) Rodan GA. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption: a hypothesis. Calcif Tissue Int, 1981;33:349-51.
(45) Schett G, Redlich K, Smolen JS. The role of osteoprotegerin in arthritis. Arthritis Res Ther, 2003;5:239-45.
(46) Sinha S, Eddington H, Kalra PA. Vascular calcification: lessons from scientific models. J Ren Care, 2009;35:51-56.
(47) Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell, 1997;89:309-19.
(48) Skoumal M, Kolarz G, Haberhauer G, Woloszczuk W, Hawa G, Klingler A. Osteoprotegerin and the receptor activator of NF- Kappa B ligand in the serum and synovial fluid. A comparison of patients with longstanding rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Rheumatol Int, 2005;26:63-69.
(49) Skoumal M, Haberhauer G, Kolarz G, Hawa G, Woloszczuk W, Klinger A, Varga F, Klaushofer K. The imbalance between osteoprotegerin and cathepsin K in the serum of patients with longstanding rheumatoid arthritis. Rheumatol Int. 2008;28:637-41.
(50) Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa N, Yamamoto A, Miyazaki T, et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor Kappa B ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum, 2000;43:259-69.
(51) Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. The role of receptor activator of nuclear factor-kappa B (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. J Clin Endocrinol Metab, 2007;92:4514-21.
(52) Yan-ying LIU, Llon L, Shi-yao W, jian-ping GUO, Hua YE, Liu-fu CUI Guo-hua YUAN, Zhan- guo LI. Circulating Dikkopf-1 and osteoprotegerin in patients with early and longstanding rheumatoid arthritis. Chinese Medical Journal, 2010;123:1407-12.
(53) Yasunori K, Masaaki T, Tetsuyuki N, Hayato K, Akira N. Reduction of urinary levels of pyridinoline and deoxy pyridinoline and serum levels of soluble receptor activator of NF-Kappa B ligand by etanercept in patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol, 2008;27:1093-101.
(54) Yun HJ, Lee EG, Chae HJ , Yoo WH. Adrenomedullin inhibits MAPK pathway- dependent rheumatoid synovial Wbroblast- mediated.osteoclastogenesis by IL-1 and TNF a. Rheumatol Int, 2009;29:1161-8.
(55) Zhao B, Takami M, Miyamoto Y, et al. Characterization of synovial cell clones isolated from rheumatoid arthritis patients : possible involvement of TNF- alpha in reduction of osteoprotegerin in synovium. Cytokin, 2008;41:61-70.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-03-03]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.5.7]