مجله دیابت و لیپید ایران. بهار ۱۳۸۸؛ دوره ۸(شماره ۳) ۲۶۸-۲۵۹

ارتباط میزان بیان ژن‌های استئوپروتگرین و رنکل با شکل گیری عروق کولترال

آرش حسین نژاد[۱]، حوریه ثقفی[۱]، خدیجه میرزایی[۱]، حدیث بهزادی[۱] ، محمود شیرزاد[۲] ،باقر لاریجانی*[۱]

چکیده

مقدمه: مونوسیت های موجود در گردش خون محیطی، نقش مهمی در ایجاد عروق کولترال دارند و ژن‌های استئوپروتگرین و رنکل نیز در رگزایی موثر هستند. بنابراین این مطالعه به منظور ارزیابی بیان ژن های استئوپروتگرین و رنکل در مونوسیت‌های خون افراد مبتلا به درگیری عروق کرونری در مراحل مختلف تکامل عروق کولترال طراحی شده است.

روش‌ها: مطالعه حاضر بر روی ۶۰ فرد مبتلا به درگیری عروق کرونری انجام شد. شدت ابتلا به بیماری بر اساس تعداد عروق درگیر تعیین گردید. سیستم امتیازبندی TIMI برای تعیین میزان تشکیل عروق کولترال به کار گرفته شد. از مونوسیت های گردش خون محیطی برای استخراج RNA و سنتز cDNA استفاده گردید. برای ارزیابی بیان ژن های استئوپروتگرین و رنکل روش Real-time PCR به کار گرفته شد. همچنین بیان ژن β -اکتین به عنوان کنترل داخلی اندازه گیری شد.

یافته ها: بیان ژن استئوپروتگرین در افراد مبتلا به درگیری عروق کرونری با درجه خفیف تا شدید که عروق کولترال گسترده تر داشتند، به طور معناداری بالاتر بود(۱۹/۳۱±۶/۴۱ در مقابل ۰/۰۴±۰/۳۰، P=۰/۰۴). اما این اختلاف در مورد بیان رنکل در میان بیمارانی که میزان تکامل عروق کولترال شان متفاوت بود، معنادار نبود. در میان بیمارانی که عروق کولترال گسترده تر داشتند نسبت RANKL / OPG به طور معناداری پایین تر بود(۱۹/۳۲±۷/۴۰ در مقابل ۱۵۱/۱۳ ±۱۰۹/۶۶، P =۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد کننده نقش تحریکی استئوپروتگرین در تکامل عروق کرونری است. هرچند در این پدیده بیان رنکل می تواند اثر استئوپروتگرین در رشد عروق کولترال را تحت تاثیر قرار دهد.

واژگان کلیدی : استئوپروتگرین، رنکل، بیان ژن، عروق کولترال، بیماری عروق کرونری

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- دپارتمان جراحی قلب ، مرکز قلب تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* ***نشانی***: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، تلفن: ۳۸-۸۸۲۲۰۰۳۷، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

تاریخ دریافت:۸۸/۱/۲۷ تاریخ درخواست اصلاح: ۸۷/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۲

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

مقدمه

بیماری عروق کرونری، شایعترین علت بیماری و مرگ و میر در جهان است. تکامل عروق کولترال به صورت یک مسیر میانبر طبیعی در گردش خون، نقش مهمی در پیشگیری از آسیب های حاصل از ایسکمی ایفا می کند. شواهد حاصل از مطالعات بالینی در بیماران عروق کرونری که تعداد عروق درگیرشان یکسان است، تفاوت هایی را در میزان تکامل عروق کولترال نشان می دهند [۱] و دامنه این تفاوت ها از تشکیل کامل عروق کولترال تا فقدان کامل این عروق متغیر است. به نظر می رسد تفاوت در تکامل عروق کولترال به عوامل متعددی بستگی دارد.

یافته های حاصل از تحقیقات نشان می دهند که تشکیل عروق کولترال از طریق فرایند تغییر و تکامل پیش آرتریول های کوچک به عروق بزرگ است که آرتریوژنزنامیده می شود[۲]. سوالی که اغلب مورد بحث است نقش آنژیوژنزدر تشکیل عروق کولترال است[۳]. با این حال شواهد موجود حاکی از آن است که آرتریوژنز نقش اصلی را در تکامل عروق کولترال ایفا می کند[۴]. در کنار سازوکارهای مختلفی که در آنژیوژنز و آرتریوژنز نقش دارند، برخی عوامل مشترک در هر دو نوع رگ سازی وجود دارد که فاکتورهای رشد و سلول های التهابی از آن جمله می باشند [۵]. استئوپروتگرین[1] (OPG) و لیگاند آن به نام فعالگر گیرنده لیگاند κB فاکتور نوکلئار[2](RANKL)، از عوامل بالقوه تنظیمی جدیدی هستند که در عملکرد اندوتلیال نقش دارند. استئوپروتگرین گلیکوپروتئین محلول از خانواده گیرنده TNF دارد که فاقد دومین داخل غشایی است [۶]. رنکل از طریق جایگاه فعال خود در دومین c– ترمینال خارج سلولی به استئوپروتگرین و رنکل (که یک گیرنده میان غشایی نوعII از خانواده TNF-α است) متصل می شود[۷]. در ابتدا نقش مهم دو پروتئین مذکور در تنظیم متابولیسم استخوان شناخته شد[۸]. اتصال رنکل به RANK باعث تمایز سریع پیش ساز استئوکلاست به سلول استئوکلاست بالغ می شود. استئوپروتگرین باعث مهار رنکل و در نتیجه مهار تمایز، عملکرد و بقای استئوکلاست می شود[۹].

بیان استئوپروتگرین و رنکل در بسیاری بافت ها [۷] دلالت بر وجود نقش های دیگر آنها علاوه بر واگردش استخوان است. یافته‌های مطالعه Malyankar و همکارانش [۱۰] نشان داد که استئوپروتگرین با کاهش آپوپتوز[3] از طریق مهار NF-κB و کاهش فاکتوهای رشد، باعث حفاظت از سلول های اندوتلیال می شود. شواهد حاصل از گزارش آنها نشان داد که تجویز زیر جلدی استئوپروتگرین از طریق هیدروژل حاوی هپارین می تواند باعث افزایش تشکیل عروق جدید شود و پیشنهاد کرد این عملکرد می تواند نقش بالقوه استئوپروتگرین در سلول های اندوتلیال باشد. نتایج تحقیقات Cross و همکارانش [۱۱] نشان داد استئوپروتگرین رشد سلول‌های اندوتلیال و تشکیل ساختارهای رشته ای مانند را در سوبسترای ماتریژل تحریک می کند.

نتایج بررسی های In vitro توسط Scatena و Giachelli،استئوپروتگرین را به عنوان مولکول آنژیوژنیک و محافظ سلول های اندوتلیال در برابر آپوپتوز پیشنهاد نمود[۱۲]. نتایج تحقیقی که اخیراً توسط McGonigle و همکارانش [۱۳] بر مدل موشی آئورت به صورت Ex vivo انجام شد، نشان داد که استئوپروتگرین نقش محرک در آنژیوژنز را دارد در حالی که رنکل به عنوان مهارکننده عمل می کند. آنها نشان دادند که فعالیت آنژیوژنیک استئوپروتگرین عمدتاً ناشی از توانایی آن در تکثیر سلول های آندوتلیال است و از طریق افزایش بقای آنها که سازوکار آن توسط Pritzker آن گزارش شده بود، نمی باشد. Pritzker گزارش کرده بود که افزایش بقای اندوتلیال ناشی از توانایی استئوپروتگرین در مهار آپوپتوز سلول به واسطه مهار TRAIL است[۱۴].

اگرچه مطالعات بسیاری به بررسی نقش استئوپروتگرین در آنژیوژنز پرداخته اند، اما مطالعه ای در مورد نقش آن در آرتریوژنز یافت نشد. هدف از این مطالعه بررسی اهمیت نقش احتمالی استئوپروتگرین و رنکل در آرتریوژنز است که با رشد عروق کولترال مرتبط می‌باشد. با توجه به نقش

1 -Osteoprotegerin
2- Receptor activator of nuclear factor κB ligand
3 -Apoptosis

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

مهم مونوسیت ها در تشکیل عروق کولترال، بیان ژن های استئوپروتگرین و رنکل در مونوسیت های در حال گردش خون در بیماران عروق کرونری با وضعیت های متفاوت تکامل شبکه عروق کولترال کرونری ارزیابی گردید.

روش‌ها

جمعیت مورد بررسی

طی یک مطالعه Case series ,۶۰ بیمار عروق کرونری از میان بیمارانی که از بهمن سال ۱۳۸۶تا خرداد سال ۱۳۸۷ برای درمان سندرم کرونری حاد به بخش مراقبت های کرونری بیمارستان های زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه نموده بودند، شرکت داده شدند. آنژیوگرافی کرونری توسط متخصص قلب انجام گردید. تنگی لومینال بیش از ۵۰٪ حداقل در یک شریان معیار ابتلا به بیماری شریان کرونری درنظر گرفته شد. سیستم امتیازبندی TIMI به صورت زیر برای تعیین میزان گسترش عروق کولترال به کار گرفته شد [۱۵]: ۰-عدم وجود مجاری عروق کولترال قابل رویت، ۱-رگ های منشعب دارای عروق کولترال بدون اینکه رنگ به بخش اپی کاردیال رگ مربوطه برسد، ۲-تشکیل ناکامل عروق کولترال در بخش اپیکاردیال عروق ، ۳-تشکیل کامل عروق کولترال در اپیکاردیال. بالاترین امتیاز به عنوان درجه گسترش عروق کرونری بیماران در نظر گرفته شد. بیماران با درجه ۱-۰ به عنوان گروه بیماران با عروق کولترال محدود و بیماران با درجه ۳-۲ به عنوان گروه بیماران با عروق کولترال گسترده در نظر گرفته شدند.

رضایت نامه کتبی آگاهانه از افراد شرکت کننده در مطالعه گرفته شد. پروتکل مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران تصویب گردید.

ارزیابی های جسمی تمام بیماران توسط یک تکنیسین انجام گردید. وزن بدن با استفاده از ترازوی متعادل و در حالی که بیماران بدون کفش بوده و لباس کم بر تن داشتند، گرفته شد. قد نیز با استفاده از قدسنج ارزیابی شد. نمایه توده بدن از طریق تقسیم مقدار وزن بر مربع قد محاسبه گردیده، به صورت kg/m^2 ثبت گردید.

نمونه گیری خون

پس از ۱۲ ساعت ناشتایی ۱۰ میلی لیتر خون وریدی بیماران گرفته شد و پس از تفکیک آن به ترتیب در لوله‌های شستشو داده شده با اسید و هپارینه برای ارزیابی‌های بیوشیمیایی و جداسازی سلول های مونونوکلئار خون محیطی[1] (PBMC) مورد استفاده قرار گرفت.

آزمایش‌های بیوشیمیایی

۶ میلی لیتر از نمونه خون بیماران سانتریفیوژ شده و برای اندازه گیری مقادیر قند خون ناشتا(FBS)، کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)، تری گلیسرید(TG) و لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) ، روش آنزیماتیک به کار گرفته شد. از کیت تجاری (Parsazmoon Co, Iran, kit) و دستگاه اتوآنالایزر Roche/Hitachi 902 برای ارزیابی ها استفاده شد.

جداسازی سلول های مونوسیت بیماران

PBMC با استفاده از روش استاندارد سانتریفیوژ گرادیانی دانسیته ای فایکول و ®Lymphoprep انجام گردید. سپس مونوسیت ها از لنفوسیت ها تفکیک شدند که در مطالعه پیشین مراحل آن توضیح داده شده است[۱۶].

جداسازی و خالص سازی RNA

RNA کل مستقیماً با استفاده از ترکیب ®TRIzol از مونوسیت ها جدا گردید (Invitrogen). به طور خلاصه ، ۱ میلی لیتر از ماده TRIzol افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید و پس از افزودن کلروفرم(µl ۲۰۰)، لوله ها ورتکس شده و با سرعت g ۱۳۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. RNA با حجم مساوی از ایزوپروپانول رسوب داده شد و در نهایت با اتانول ۷۵٪ شستشو داده شد. به منظور حذف باقیمانده DNA ، RNA استخراج شده تحت واکنش با RNase-free(Fermentase) DNase I, قرار داده شد.

1-Peripheral Blood Mononuclear cells

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

درجه خلوص RNA استخراج شده با استفاده از سنجش جذب در ۲۶۰ nm و ۲۶۰/۲۸۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV تعیین گردید. برای ارزیابی یکپارچگی(Integrity) آن نیز از الکتروفرز ژل آگارز (۱٪) وquantitative real-time رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید استفاده شد

Quantitative PCR

بیان ژن های استئوپروتگرین، رنکل و b –اکتین با استفاده از روش quantitative real-time با رونویسی معکوس RT-PCR ارزیابی شد. در این روش کل RNA با استفاده از کیت سنتزcDNA رشته ای پیشرو به صورت معکوس (Fermentase) رونویسی شد. بیان mRNA ژن های مورد بررسی توسط SYBR Green real-time PCR با استفاده از مستر میکس Maxima SYBR Green qPCR و Light Cycler (Roche Applied Science)ارزیابی شد. توالی پرایمرهای به کار رفته در جدول ۱ نشان داده شده است.

.

هر یک از نمونه ها به طور جداگانه و حداقل ۲ بار برای هریک از ژن ها ارزیابی شد. بیان ژن ساختمانی b–اکتین به عنوان کنترل داخلی استاندارد اندازه گیری شد. نسبت غلظت های استئوپروتگرین و رنکل به غلظت b–اکتین به عنوان میزان بیان آن ژن ها در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

تمام اطلاعات با استفاده از نسخه ۱۵ نرم افزار SPSS آنالیز گردید. مقایسه اختلاف بین میانگین متغیرها با استفاده ازآزمون های student T-test و آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد. برای مقایسه مقادیر کیفی متغیرها از آزمون Chi-square استفاده شد. برای تعیین ارتباط بین امتیاز TIMI و شدت بیماری شریان کرونری و بیان استئوپروتگرین رگرسیون لجستیک به کار گرفته شد. در تمام آزمون ها سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱- زوج پرایمرهای مورد استفاده در روش Quantitative Real-Time PCR[۱۷]

ژن های مورد بررسی	Reverse Primer	Forward Primer
استئوپروتگرین	AGCTGCTGAAGCTGTGGAA	TGTTCGAGTGGCCGAGAT
رنکل	CATTGATGGTGAGGTGTGCAA	TGGAAGGCTCATGGTTGGAT
b–اکتین	GGACCTGACGGACTACCTCA	TCTTTGATGTCACGCACGATTT

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۶۰ بیمار شریان کرونری با میانگین سنی ۹ ±۵۸ سال انجام شد.۸۳/۳٪ افراد مورد بررسی مرد بودند. شدت بیماری شریان کرونری بر اساس تعداد عروق درگیر تعیین شد. به ترتیب ۲۱/۷٪ ،۱۸/۳٪ و ۶۰٪ بیماران یک، دو و سه رگ درگیر داشتند. مشخصات دموگرافیک و یافته های آزمایشگاهی افراد مورد بررسی بر اساس شدت بیماری در جدول ۲ نشان داده شده است.

شیوع میزان شکل گیری عروق کولترال با امتیاز ۰ ، ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۵/۲، ۱۲/۱ ،۵۸/۶ و ۲۴/۱ ٪ بود. در جدول ۳ ویژگی‌های دموگرافیک و آزمایشگاهی بیماران با درجات مختلف TIMI نشان داده شده است. نسبت بیان ژن RANKL/OPG اختلاف معناداری در میان گروه‌ها داشت. شواهد حاصل از مطالعه در ارزیابی درجات ۰ و ۱ به عنوان گروه عروق کولترال محدود و ۲- ۳ به عنوان گروه با عروق کولترال گسترده نشان داد که در گروه عروق کولترال پیشرفته، بیان استئوپروتگرین به طور معناداری بالاتر بود(۱۸/۳۰±۵/۷۰ در مقابل ۰/۰۲۵±۰/۰۱۳، P=۰/۰۴).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

جدول ۲- ویژگی های دموگرافیک و آزمایشگاهی افراد شرکت کننده در مطالعه با شدت های متفاوت بیماری شریان کرونری بر اساس تعداد عروق درگیر

متغیرها	تعداد عروق درگیر		
	یک رگ درگیر	دو رگ درگیر	سه رگ درگیر
سن(سال)†	۵۹±۱۱	۵۶±۱۰	۵۹±۸
BMI(kg/m2) †	۲۵/۸±۳/۳	۲۷/۶±۴/۷	۲۷/۲±۳/۷
FBS(mg/dl) *	۱۰۳±۱۴	۱۰۹±۳۲	۱۳۷±۵۶
TC(mg/dl)†	۱۷۱±۳۲	۱۶۸±۳۰	۱۷۳±۳۹
LDL (mg/dl)†	۹۵±۲۴	۹۳±۲۱	۹۵±۲۸
HDL (mg/dl)†	۴۵±۹	۴۶±۱۲	۴۲±۸
TG (mg/dl)†	۱۳۷±۵۹	۱۲۶±۴۴	۱۵۴±۶۲
کسر تخلیه (٪)†	۵۰/۴۱±۷/۸۲	۴۸/۱۸±۹/۲۹	۴۵/۷۸±۸/۵٤
بیان استئوپروتگرین (نسبت) †	۰/۰۳±۰/۱۲	۱۱/۷۶±۳۲/۰۶	۴/۰۹±۱۲/۳۰
بیان رنکل(نسبت) †	۰/۰۰۶±۰/۰۲	۱/۱۶±۱/۶۷	۱/۷۸±۵/۱۶
RANKL/OPG(نسبت) †	۰/۳۷±۰/۳۲	۱۲/۹۴±۲۹/۳۸	۱۵/۶۶±۵۲

مقادیر ± نشانگر میانگین ± انحراف معیار است.

† مقادیر P معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵).

* مقادیر P معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵)

تعداد شرکت کنندگان: ۶۰ بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونری

نوع مطالعه: Case-Series

جدول۳ - ویژگی های دموگرافیک و آزمایشگاهی افراد شرکت کننده در مطالعه با درجات متفاوت TIMI

	پیشرفت عروق کولترال			
	امتیاز TIMI =۰*	امتیاز TIMI =۱	امتیاز TIMI =۲	امتیاز TIMI =۳
سن(سال)	۶۱±۱۷	۵۳±۵	۵۹±۹	۵۹±۹
BMI(kg/m2)	۲۷/۱±۵/۷	۲۴/۸±۲/۳	۲۸/۴±۳/۸	۲۵±۲/۸
FBS(mg/dl)	۱۰۹±۲۰	۱۰۸±۳۰	۱۲۹±۴۸	۱۳۲±۶۳
TC(mg/dl)	۱۶۶±۴۷	۱۸۰±۲۴	۱۷۰±۳۸	۱۷۳±۳۴
LDL (mg/dl)	۹۱±۳۱	۹۹±۱۷	۹۴±۲۹	۹۶±۲۳
HDL (mg/dl)	۴۳±۸	۴۷±۷	۴۲±۸	۴۵±۱۲
TG (mg/dl)	۱۴۷±۷۷	۱۴۰±۴۳	۱۴۱±۵۵	۱۴۸±۵۲
کسر تخلیه (٪)	۵۳/۳۳±۵/۷۷	۴۸/۵۰±۹/۵۶	۴۶/۷۶±۸/۶۹	۴۶/۵۳±۸/۷۵
بیان استئوپروتگرین (نسبت)	۰/۰۲±۰/۰۴	۰/۰۱±۰/۰۰۹	۲/۴۸±۹/۲۲	۱۲/۸۳±۲۹/۲۹
بیان رنکل (نسبت)	۰/۰۰۳±۰/۰۰۴	۱/۱±۲/۶۱	۰/۶۹±۱/۷۹	۳/۳۱±۷/۶۸
RANKL/OPG(نسبت)	۰/۷۷±۰/۵۰	۶۶±۱۲۲/۴	۸/۱۳±۲۲	۳/۷۱±۶/۶۹

مقادیر ± نشانگر میانگین ± انحراف معیار است.

در هیچ یک از موارد مقادیر P معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵).

نوع مطالعه:Case-Series

* سیستم امتیاز بندی برای تعیین میزان گسترش عروق کولترال(توضیح در متن)

تعداد شرکت کنندگان: ۶۰ بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونری

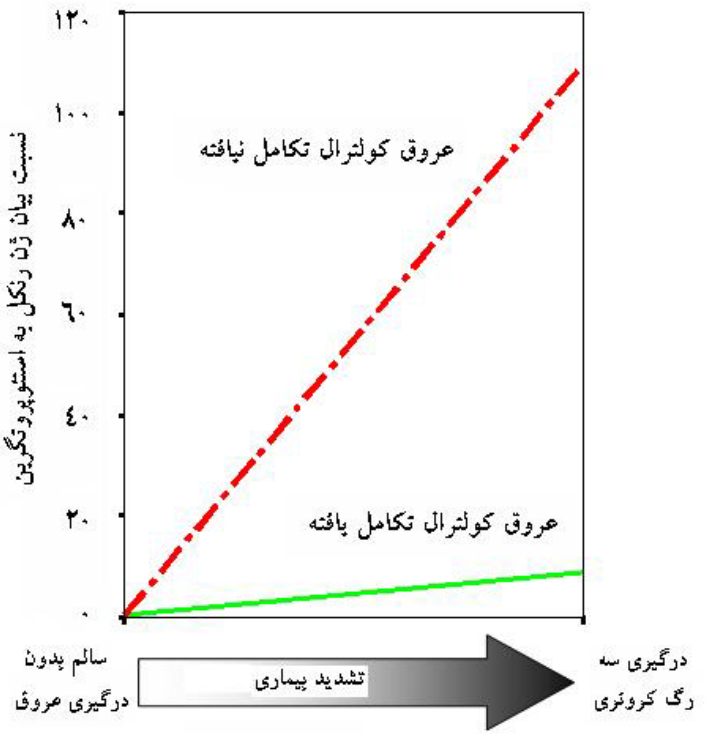
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

بیان رنکل در میان دو گروه اختلاف معناداری نداشت. مقایسه بیان استئوپروتگرین در میان افراد با بیماری خفیف(یک رگ درگیر) و متوسط تا شدید(دو و سه رگ درگیر) اختلاف معناداری نشان داد(۰/۱۲±۰/۰۳ در مقابل ۱۸/۴۹±۵/۸، P=۰/۰۴). اگرچه اختلاف معناداری در بیان رنکل در میان این گروه‌ها یافت نشد.

به ترتیب ۵۰٪ و ۹۱/۳٪ افراد با عروق کولترال پیشرفته در گروه‌های با بیماری شریان کرونری خفیف و متوسط تا شدید قرار داشتند(Odds ratio=۱۰/۵ و۹۵٪ CI: ۲/۲۸ – ۴۸/۳۵؛ P=۰/۰۰۳).

با در نظر گرفتن شدت بیماری شریان کرونری و بیان استئوپروتگرین به عنوان متغیر وابسته در ارزیابی رگرسیون لجستیک، شدت بیماری با عروق کولترال پیشرفته تر ارتباط داشت (P=۰/۰۰۶) و ارتباطی بین استئوپروتگرین با پیشرفت عروق کولترال یافت نشد. ارزیابی تفاوت بیان استئوپروتگرین در میان افراد با بیماری شریان کرونری متوسط تا شدید نشان داد که بیان آن در افرادی که عروق کولترال گسترده داشتند به طور معناداری بالاتر بود (۱۹/۳۱±۶/۴۱ در مقابل ۰/۰۴±۰/۰۳، p=۰/۰۴) اما اختلاف معناداری در بیان رنکل میان گروه‌های با عروق کولترال محدود و پیشرفته یافت نشد.

نسبت RANKL / OPG در بین بیماران با عروق کولترال پیشرفته به طور معناداری پایین تر بود (۱۹/۳۲±۷/۴۰ در مقابل ۱۵۱/۱۳±۱۰۹/۶۶، P=۰/۰۰۱)(شکل ۱).



شکل ۱-ارتباط نسبت بیان ژن RANKL/OPG با شدت ابتلا به بیماری شریان کرونری در مراحل مختلف تکامل عروق کولترال

همانطور که در شکل نمایان است، با تشدید بیماری نسبت بیان ژن RANKL/OPG افزایش می یابد اما این تغییر در بیماران با عروق کولترال گسترده، کمتر است

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

بحث

سلول های مونوسیت گردش خون، نقش مهمی در سازوکار تشکیل عروق کولترال ایفا می‌کنند. بیان ن ها در مونوسیت‌های گردش خون را در بیماران شریان کرونری با سطوح مختلف تکامل عروق کولترال نشان دادند. یافته‌های حاصل از مطالعه آنها نشان داد که میزان بیان فاکتورهای رونویسی با میزان گستردگی عروق کولترال ارتباط دارد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن استئوپروتگرین در مونوسیت های خون بیماران با عروق کولترال گسترده بالاتر است.

آرتریوژنز، سازوکار مهم مطرح در تشکیل عروق کولترال است و عواملی مانند فاکتورهای رشد در آنژیوژنز دخالت دارند[۲۱]. نتایج تحقیقات پیشین نقش استئوپروتگرین را به عنوان مولکول آنژیوژنیک که باعث تحریک تشکیل عروق جدید در In vivo و In vitro می شود، گزارش نموده اند[۱۰،۱۲].

با این حال در مطالعات پیشین گزارشی در مورد نقش استئوپروتگرین در آرتریوژنز یافت نشد.

نتایج یافته های بررسی McGonigle و همکارانش [۱۳] رنکل لیگاند استئوپروتگرین را به عنوان عامل مهار کننده آنژیوژنز پیشنهاد نمود. با این وجود نتایج مطالعه حاضر اختلاف معناداری در بیان رنکل در مونوسیت های گردش خون بیماران با عروق کولترال محدود و گسترده نشان نداد که با یافته های Pritzker [۱۴] همخوانی داشت. گزارش آنها حاکی از نقش استئوپروتگرین در بقای اندوتلیال از طریق مهار واسطه های TRAIL و نه از طریق مهار مرگ سلولی برنامه ریزی شده توسط رنکل بود.

در مطالعه حاضر، عوامل مختلف مرتبط با تشکیل عروق کولترال ارزیابی شدند. هیپرکلسترولمی علاوه بر تحریک آترواسکلروز، بر تشکیل عروق کولترال نیز اثر منفی می‌گذارد[۲۲].

نتایج حاصل از بررسی‌های Czepluch و همکارانش [۲۳] نشان داد که هیپرکلسترولمی به شدت باعث اختلال در کموتاکسی مونوسیت‌ها در زمان تحریک با فاکتور رشد VEGF-A و کموکین MCP-1 شده و عملکرد مونوسیت‌ها را در افراد مبتلابه بیماری عروق کرونری مختل می‌کند.

عوامل دیگری که در تشکیل عروق کولترال نقش دارند، هیپرگلیسمی و اختلالات ناشی از بیماری دیابت است. نتایج بررسی Van Golde و همکارانش [۲۴] تاثیر منفی هیپرگلیسمی مزمن را در مراحل مختلف آرتریوژنز نشان داد که باعث اختلال در رشد عروق کولترال و مهار فرایند کموتاکسی مونوسیت ها می شوند.

یافته های بررسی Weihrauch و همکارانش [۲۵] نشان داد که هیپرگلیسمی مزمن با تولید آنژیوستاتین ها باعث کاهش گسترش عروق کولترال و اختلال در تولید مایعات بینابینی سلول های میوکاردیال می شوند. مطالعه حاضر اختلاف معناداری در سطوح FBS و پروفایل چربی در میان بیماران با سطوح متفاوت عروق کولترال نشان نداد.

شواهد حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که بیان استئوپروتگرین، به طور معناداری در مونوسیت های خون بیماران عروق کرونری با درجه متوسط تا شدید بالاتر است.

نتایج بررسی های پیشین توسط Rhee وهمکارانش [۲۶] ارتباط غلظت سرمی استئوپروتگرین را با شدت عروق درگیر کرونری نشان داد.

همچنین نتایج تحقیق Schoppet [۲۷] ارتباط سطح سرمی آن را با شدت بیماری عروق کرونری نشان داد.

نتایج مطالعه حاضر نیز با یافته های پیشین همخوانی دارد، همچنین اولین مطالعه ای است که بیان بالاتر استئوپروتگرین را در سلول های مونونوکلئار افراد با بیماری عروق کرونری شدیدتر نشان داد.

بررسی های بیشتر در این زمینه نشان داد که استئوپروتگرین به تنهایی باعث تحریک تشکیل عروق کولترال در بیماران عروق کرونری نمی شود. اگر چه شواهد نشان می دهند که در افراد مبتلا به بیماری عروق کرونری متوسط تا شدید، تشکیل عروق کولترال، با بیان بالاتر استئوپروتگرین ارتباط دارد. بر اساس این یافته ها به نظر می رسد استئوپروتگرین با میزان تشکیل عروق کولترال در افراد با شدت برابر بیماری ارتباط دارد.

یافته های ضد و نقیضی در مورد تاثیر استئوپروتگرین در سیستم قلبی-عروقی وجود دارد. اگرچه اغلب مطالعات حیوانی نقش محافظتی استئوپروتگرین را در عروق

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

پیشنهاد نموده اند[۲۸]، اما نتایج این بررسی ها در بیان ارتباط مثبت سطح سرمی استئوپروتگرین با شاخص های بالینی بیماری قلبی-عروقی در افراد بیمار ضد و نقیض هستند[۲۹]. اینکه آیا استئوپروتگرین تنها یک شاخص آسیب عروقی است و یک سازوکار محافظتی در برابر فرایند پاتولوژیک آترواسکلروز است و یا فعالانه در پیشرفت بیماری نقش دارد مشخص نیست و به نظر می‌رسد بررسی های بیشتری در این زمینه ضروری است[۳۰].

این مطالعه پیشنهاد می کند که این نتایج ضد ونقیض ممکن است به علت تغییرات حاصل از رنکل باشد که تاثیرات استئوپروتگرین را تحت تاثیر قرار می دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که با تشدید بیماری عروق کرونری، میزان بیان استئوپروتگرین و رنکل روند افزایشی دارد ، اما بیان رنکل بیش از استئوپروتگرین است به طوری که نسبت بیان ژن رنکل / استئوپروتگرین با تشدید بیماری کم می شود.

برعکس افراد با عروق کولترال گسترده با وضعیت یکسان بیماری، افزایشی در سطح رنکل نشان نمی دهند. همچنین نسبت بیان ژن رنکل / استئوپروتگرین به طور معناداری در این بیماران پایین تر است. نتایج مطالعات پیشین نشان داده بود که عملکرد آنژیوژنیک سیستم استئوپروتگرین عمدتاً ناشی از توانایی آن در القای تکثیر سلول‌های آندوتلیال از طریق مهار رنکل است. در این راستا، مطالعه حاضر رنکل را به عنوان مشخص کننده نقش استئوپروتگرین در محافظت یا پیشبرد بیماری پیشنهاد می کند.

شواهد حاصل از بررسی Schaper و Scholz [۴] بیانگر وجود ویژگی های مشترک فراوانی در بین دو پدیده آرتریوژنز و آترواسکلروز است. همچنین نتایج آنها نشان داد که اغلب عوامل رشد آنژیوژنز، پروترومبوتیک و پروآتروژنیک هستند. در ارزیابی یافته های حاصل از این مطالعه نیز چنین به نظر می رسد که استئوپروتگرین چنین نقش دوگانه ای را در ابتلا به بیماری شریان کرونری ایفا می کند و در حالی که با افزایش شدت بیماری شریان کرونری، سطح آن افزایش می یابد، در عین حال می تواند آغازگر آرتریوژنز باشد. یافته های حاصل از این مطالعه پیشنهاد می کند که ممکن است تغییرات بیان رنکل، تنظیم کننده تاثیر استئوپروتگرین بر آرتریوژنز باشد. بنابراین در ارائه شیوه های درمانی القاگر تکامل عروق کولترال، عدم تعادل در سیستم رنکل / استئوپروتگرین را نیز باید درنظر داشت.

سپاسگزاری

این مطالعه تحت حمایت مالی مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از پرسنل محترم آزمایشگاه هورمون مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران اعلام می‌نماید.

ماخذ

1- Tayebjee MH, Lip GY, MacFadyen RJ. Collateralization and the response to obstruction of epicardial coronary arteries. *QJM* 2004; 97:259-272.
2- Baroldi G, Mantero O, Scomazzoni G. The collaterals of the coronary arteries in normal and pathologic hearts. *Circ Res* 1956; 4:223-229.
3- Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000;6:389–395.
4- Schaper W, Scholz D. Factors regulating arteriogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1143-1151.
5- Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res* 2004;94: 678– 685.
6- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89:309–319.
7- Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs BL. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000;15:2–12.
8- Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234:137–142.
9- Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93:165–176.
10- Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM. Osteoprotegerin is an avb3-induced, NF-kB-dependent survival factor for endothelial cells. *J Biol Chem* 2000;275:20959–20962 .
11- Cross SS, Yang Z, Brown NJ, et al. Osteoprotegerin (OPG)-a potential new role in the regulation of endothelial cell phenotype and tumour angiogenesis? *Int J Cancer* 2006;118:1901-1908.
12- Scatena M, Giachelli C. The alpha(v)beta3 integrin, NFkappaB, osteoprotegerin endothelial cell survival pathway. Potential role in angiogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 2002; 12:83–88.
13- McGonigle JS, Giachelli CM, Scatena M. Osteoprotegerin and RANKL differentially regulate angiogenesis and endothelial cell function. *Angiogenesis* 2009;12:35-46.
14- Pritzker LB, Scatena M, Giachelli CM. The role of osteoprotegerin and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human microvascular endothelial cell survival. *Mol Biol Cell* 2004;15:2834-2841.
15- Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol* 1985; 5:587–592.
16- Helgason CD, Miller CL. *Basic Cell Culture Protocols*. 3rd ed. Totowa, N.J.: Humana Press, 2005:105-116.
17- Palmqvist P, Lundberg P, Persson E, et al. Inhibition of hormone and cytokine-stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin-4 and interleukin-13 is associated with increased osteoprotegerin and decreased RANKL and RANK in a STAT6-dependent pathway. *J Biol Chem* 2006;281:2414-2419.
18- Arras M, Ito WD, Scholz D, Winkler B, Schaper J, Schaper W. Monocyte activation in angiogenesis and collateral growth in the rabbit hindlimb. *J Clin Invest* 1998;101:40 –50.
19- Heil M, Ziegelhoeffer T, Pipp F, et al. Blood monocyte concentration is critical for enhancement of collateral artery growth. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H2411–H2419.
20- Chittenden TW, Sherman JA, Xiong F, Hall AE, Lanahan AA, Taylor JM, et al. Transcriptional profiling in coronary artery disease: indications for novel markers of coronary collateralization. *Circulation* 2006; 114: 1811-1820.
21- Phelps EA, Garcia AJ. Update on therapeutic vascularization strategies. *Regen Med* 2009; 4: 65-80.
22- van Weel V, de Vries M, Voshol PJ, et al. Hypercholesterolemia reduces collateral artery growth more dominantly than hyperglycemia or insulin resistance in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1383–1390.
23- Czepluch FS, Bergler A, Waltenberger J. Hypercholesterolaemia impairs monocyte function in CAD patients. *J Intern Med* 2007; 261: 201-204.
24- Van Golde JM, Ruiter MS, Schaper NC, et al. Impaired collateral recruitment and outward remodeling in experimental diabetes. *Diabetes* 2008; 57: 2818-2823.
25- Weihrauch D, Lohr NL, Mraovic B, et al. Chronic hyperglycemia attenuates coronary collateral development and impairs proliferative properties of myocardial interstitial fluid by production of angiostatin. *Circulation* 2004; 109: 2343-2348.
26- Rhee EJ, Lee WY, Kim SY, et al. Relationship of serum osteoprotegerin levels with coronary artery disease severity, left ventricular hypertrophy and C-reactive protein. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108: 237-243.
27- Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, Herzum M, Maisch B, Hofbauer LC. Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1024-1028.
28- Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE-/-mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2117–2124.
29- Kiechl S, Werner P, Knoflach M, Furtner M, Willeit J, Schett G. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2006; 4: 801–811.
30- Van Campenhout A, Golledge J. Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis. Atherosclerosis 2008 [Epub ahead of print] doi:10.1016/j.
31- Coats AJ. Ethical authorship and publishing. *Int J Cardiol* 2009; 131: 149-50.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]