Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2016; 19(113): 79-87

Association of Polymorphism of LRP4 Gene (rs 4752947) among Post Menopause Women with Osteoporosis in North of Iran

Saeid Kavoosian[1], Alimohammad Asgharian[2*], Ramin Ataei [3]

1-MSc in Cell and Molecular Biology, College of Basic Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
2-Assistant Professor, PhD of Cell and Molecular Biology, Department Cell and Molecular Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
3-Assistant Professor, PhD of Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Received: 30 Apr 2016, Accepted: 10 Aug 2016

Abstract

Background: Osteoporosis is describesd as a disorder and skeletal disease that decrease bone strength and increases the risk of a bone fractures. Genetic factors have effect role in the progression of the osteoporosis. The aim of this study was to investigate the association between LRP4 gene polymorphism with osteoporosis in a population of postmenopausal women from north of Iran.

Materials and Methods: In this case-control study, 80 female patients with osteoporosis and 80 healthy females without osteoporosis with average age of 45-60 has been investigated. After DNA extraction from genome samples, polymorphism of LRP4 (rs4752947) gene have been investigated by PCR-RFLP method. Data were analyzed by SPSS software.

Results: Our results showed no significant relationship between polymorphism of LRP4(rs4752947) gene and the risk of osteoporosis disease in two patients and control groups. Also, AT genotype and TT genotype compared with AA genotype increased the chance of disease by 1379 and 3.5, respectively. In addition, TT alleles compared with AA alleles, increased the chance of osteoporosis up to 1.605 times.

Conclusion: Of course, more complementary studies considering other LRP4 gene subtypes with more individuals for better findings are needed.

Keywords: LRP4, Osteoporosis, Polymorphism

*Corresponding Author:
Address: Department of Cell and Molecular Biology, College of Basic Science, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
Email: mehranasgharian@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۹، شماره۸ (شماره پیاپی ۱۱۳)، آبان ۱۳۹۵، ۸۷-۷۹

همراهی پلی‌مورفیسم ژن LRP4 (rs4752947) در زنان یائسه دچار پوکی استخوان شمال کشور

سعید کاووسیان[۱]، علی محمد اصغریان[۲*]، رامین عطایی[۳]

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۲- استادیار،دکتری تخصصی زیست شناسی سلولی و مولکولی،گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۳- استادیار، دکتری تخصصی داروسازی ، مرکزتحقیقات علوم دارویی، ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: استئوپورر یا پوکی استخوان، یک اختلال و بیماری اسکلتی با مشخصه بارز کاهش استحکام و تراکم بافت استخوانی است منجر به افزایش شکستگی استخوان‌ها می‌شود. عوامل ژنتیکی فرد جزء عوامل موثر در پیشرفت این بیماری می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفسیم ژن LRP4 با پوکی استخوان در خانم‌های یائسه در شمال کشور بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۸۰ بیمار استئوپروتیک و ۸۰ نفرخانم سالم (گروه شاهد) در دامنه سنی ۴۵ تا ۶۰ سال بررسی شدند. پس از استخراج DNA ژنومی، پلی‌مورفیسم ژن LRP4 (rs4752947) با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز به روش هضم آنزیمی(PCR-RFLP) بررسی شد و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج تحقیق هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم rs 4752947 ژن LRP4 و شانس ابتلا به بیماری استئوپورز بین دو گروه بیمار و کنترل را نشان نداد. هم‌چنین ژنوتایپ AT و ژنوتایپ TT نسبت به ژنوتایپ AA به ترتیب شانس ابتلا به بیماری را به میزان ۱/۳۷۹ و ۳/۵ برابر افزایش داد. علاوه بر این، آلل T در مقایسه با آلل A شانس ابتلا به پوکی استخوان را ۱/۶۰۵ بار افزایش داد.

نتیجه‌گیری: ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژنوتیپ‌های دیگر ژن LRP4 و پوکی استخوان مستلزم بررسی بیشتر در جمعیت‌های دیگر و بزرگ تر است.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم، پوکی استخوان، ژن LRP4

* **نویسنده مسئول:** ایران، تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی.

Email: mehranasgharian@yahoo.com

مقدمه

استئوپورز یا پوکی استخوان به عنوان یک اختلال و بیماری اسکلتی، با مشخصه بارز کاهش قدرت استخوان می‌باشد که فرد بیمار را مستعد شکستگی استخوان می‌کند(۱). یکی از عوامل مهم ایجاد پوکی استخوان، عدم ساخته شدن استخوان به میزان کافی در دوران کودکی و نوجوانی است. این مسئله باعث می‌شود که حداکثر مقدار توده استخوانی به کمتر از مقدار مورد نیاز آن فرد برسد(۲). این کمبود(حداکثرتوده استخوان)، مهم‌ترین عامل برای افزایش خطر ابتلا به پوکی استخوان در سنین بالاتر می‌باشد. در سنین پس از یائسگی، با کم شدن تولید هورمون استروژن میزان تحلیل در توده استخوان در زنان به شدت افزایش می‌یابد(۳). تحقیقات منتشر شده در نشریه سازمان بهداشت جهانی نشان می‌دهد حدود ۴۰ درصد زنان و ۱۰ درصد مردان در طول زندگی خود با خطر ابتلا به پوکی استخوان مواجهند و در سرتاسر دنیا از هر ۳ زن، یک نفر و از هر ۵ مرد یک مرد بالای ۵۰ سال دچار پوکی استخوان هستند(۴). گزارش‌های وزارت بهداشت حاکی از آن است که در ایران حدود ۴/۵ درصد مردان و ۸ درصد زنان به بیماری پوکی استخوان مبتلا هستند. هم‌چنین تقریباً از هر ۴ زن ایرانی بالای ۵۰ سال، یک نفر به پوکی استخوان مبتلاست. علاوه بر این در همین گروه سنی ۳۵ درصد مردان و ۴۰ درصد زنان ضعف استخوانی(استئوپنی) دارند. فاکتورهای محیطی و ژنتیکی بر ایجاد تثبیت توده استخوانی موثر می‌باشد که سهم فاکتورهای ژنتیکی ۹۰-۶۰ درصد در تغییرات توده استخوانی افراد دخیلند(۵).

مطالعات گسترده ژنومی برای شناسایی لوکوس دخیل در استئوپروز از سال ۲۰۰۷ آغاز شده و تاکنون مطالعات وسیع و زیادی در این مورد صورت گرفته است(۶، ۷). در مطالعات گذشته نشان داده شد که حداقل ۳۰ ژن در شیوع این بیماری نقش دارند(۸). محققان در بزرگترین مطالعه ژنتیکی از پوکی استخوان تا به امروز در بیش از پنجاه گروه تحقیقاتی در سراسر اروپا، امریکای شمالی، شرق آسیا و استرالیا بیشتر از هشتاد هزار نفر از افراد را مورد مطالعه قرار داده‌اند و دریافتند که متغیرها در ۵۶ منطقه از ژنوم تحت تاثیر تراکم مواد معدنی استخوان هستند، در حالی‌که چهارده مورد از این وارینت‌ها خطر شکستگی را افزایش می‌دهند. آزمایشات ایمنوهیستوشیمی بیان کننده این می‌باشد که ژن LRP4 (پروتئین وابسته به لیپوپروتئین با دانسیته پائین) در مسیر سیگنالینگ Wnt پروتئین اسکلروستین سلول‌های هدف استئوبلاست و استئوسیت را تنظیم می‌کند. پروتئین اسکلروستین تولید استخوان‌های جدید را کند کرده یا متوقف می‌سازد. مطالعات نشان داده است که ارتباط بین اسکلروستین و LRP4 برای عملکرد مهاری اسکلروستین در شکل‌گیری استخوان مورد نیاز است و به نقش جدیدی برای LRP4 در استخوان اشاره دارد. وجود LRP4 باعث مهار اسکلروستین می‌گردد و مهار اسکلروستین که به LRP5/ 6 باند شده است باعث مهارسیگنال WNT می‌گردد که این خود تشکیل استخوان را از بین می‌برد. و هم‌چنین LRP4 به عنوان یک تنظیم کننده تراکم توده استخوانی ظهور می‌کند(۹). با بررسی پلی‌مورفیسم‌های مربوط به ژن LRP4 در پایگاه داده‌ها (NCBI) از بین پلی‌مورفیسم‌های موجود با توجه به معیارهایی هم‌چون اعتبار سنجی، میزان درصد فراوانی الل جهش یافته در جمعیت و جایگاه آن در ژن به بررسی rs4752947 در بیماران مبتلا به استئوپورز در شمال کشور پرداختیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت موردی –شاهدی صورت گرفته است. جامعه آماری شامل ۱۶۰ نفر در محدوده سنی ۶۰-۴۵ سال از میان زنان یائسه مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر قائمشهر از سال ۱۳۹۲-۱۳۹۴ بودند. ۸۰ زن مبتلا به پوکی استخوان که با انجام تست رادیوگرافی پوکی استخوان در این افراد تشخیص داده شد و هم‌چنین ۸۰ نفر کنترل (بدون پوکی استخوان) به کمک سوابق پزشکی، انجام مصاحبه وطبق اصول اخلاقی با اخذرضایت نامه کتبی توسط پرسش‌نامه بررسی شدند. معیارهای ورود شامل سن، جنس، فاکتورهای کلینیک و پاتولوژیک مانند شاخص توده بدنی Body BMD(Mass Density) می‌باشد و معیارهای خروجی مصرف الکل و دخانیات و بیماری‌های زمینه‌ای مانند روماتیسم مفصلی و کانسر استخوان می‌باشد. مطالعه با اخذ مجوز شماره ۹۴/۴۱/۳ مورخ ۹۴/۵/۱۴ شورای پژوهش دانشگاه آزاد

اسلامی واحد تنکابن و رضایت‌نامه از افراد شرکت کننده انجام گردید.

استخراج DNA

پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون کامل، از نمونه‌های مورد مطالعه DNA ژنومیک از لکوسیت‌های خون محیطی با روش استاندارد رسوب دهی نمک استخراج گردید. پس از استخراج DNA از نمونه‌های مورد تحقیق به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از غلظت و میزان خالص بودن آن جذب نمونه نوری DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Nanodrop) در طول موج‌های ۲۶۰ nm و۲۸۰ nm همراه بررسی در ژل آگاروز یک درصد بررسی شد.

هضم آنزیمی

پلی‌مورفیسم ژن LRP4 (rs4752947) به وسیله روش مبتنی بر تکثیر و ایجاد ناحیه محدود کننده مورد بررسی قرار گرفت. برای تکثیر ناحیه مورد نظر از ۱ میکرولیتر DNA ژنومی، ۲ میلی‌مول MgCL2 ، ۱/۵ میکرومول dNTPs، ۱ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای اختصاصی (طراحی توسط نرم افزار Allel ID 6) (جدول ۱)، ۲ واحد آنزیم تگ DNA پلیمراز (Taq DNA Polymerase Fermentase) در حجم نهایی ۲۵ میکرو لیتر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل اپندورف ساخت آلمان انجام شد. برنامه کلی PCR شامل واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، واسرشته سازی چرخه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در ۱ دقیقه در ۳۵ سیکل و سرانجام در نهایت طویل شدن نهایی ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای بررسی صحت قطعه به دست آمده محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد و در کنار نشان‌گر با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورزانجام شد. جهت هضم آنزیمی ۷ میکرولیتر از محصول PCR با ۱ میکرولیتر از آنزیم ApoI(Thermo Scientific) و ۲ میکرولیتر بافر مورد نیاز آنزیم در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر براساس دستورالعمل آنزیم مخلوط شده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای بررسی ژنوتیپی، محصول به دست آمده روی ژل آگارز ۲ درصد قرار گرفت و در کنار نشان‌گر و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورزانجام شد. علاوه براین برای تایید یافته‌های حاصل از هضم آنزیمی به روش PCR-RFLP، بر روی ده درصد از نمونه‌ها تعین توالی انجام شد.

جدول ۱. مشخصات آنزیم و پرایمرهای مورد استفاده

پرایمر	شماره rs
Forward: CCTTGCTCTATCAATCTGTGACT Reverse: TGAAGTCATGTCCTTTGAGTTCTC	4752947

هضم آنزیمی

جهت هضم آنزیمی ۷ میکرولیتر از محصول PCR با ۱میکرولیتر از آنزیم محدود کننده ApoI (Thermo Scientific) و ۲ میکرولیتر بافر مورد نیاز آنزیم در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر براساس دستورالعمل آنزیم مخلوط شده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. این آنزیم در مورد ژنوتیپ جهش یافته (TT) برش ایجاد کرده و دو محصول با طول‌های ۱۳۶ bp و ۱۳۱ bp می‌دهد و برای بررسی ژنوتیپی، محصول به دست آمده روی ژل آگارز ۲درصد قرار گرفت و در کنار نشان‌گر و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورزانجام شد. علاوه براین برای تایید یافته‌های حاصل از هضم آنزیمی به روش PCR-RFLP، بر روی ده درصد از نمونه‌ها تعین توالی انجام شد.

تحلیل آماری

آنالیزهای آماری با SPSS(نسخه ۲۲) و نرم افزار MedCalc انجام گرفت. از تحلیل واریانس دو طرفه، جهت بررسی اثر پلی مورفیسم بر BMD(Bone marrow density) استفاده شد. متغیرهای قابل اندازه‌گیری بین بیماران

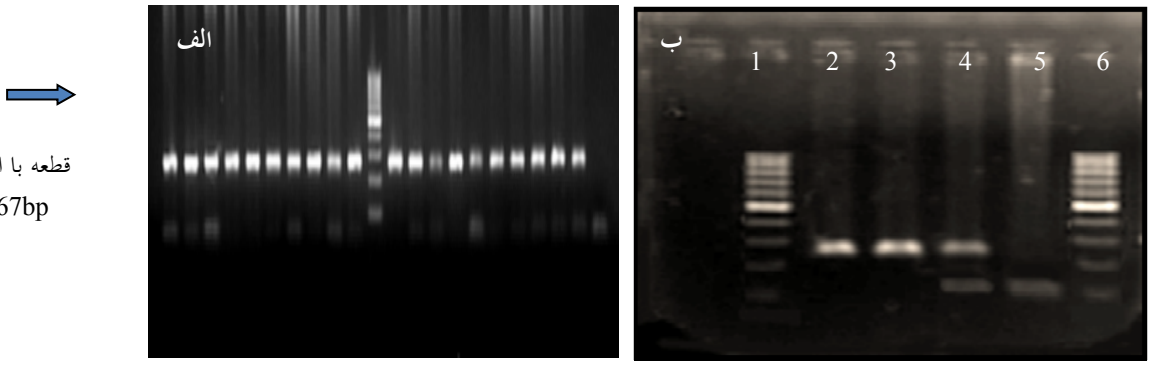
و کنترل‌ها با استفاده از independent student t-test مقایسه شده است و داده‌ها به صورت mean±SD ارائه شد. تفاوت‌های بین متغیرهای طبقه‌بندی شده، توزیع ژنوتایپ و معادله هاردی واینبرگ با آنالیز χ^2 یا Fisher exact test آزمایش شدند. ارتباط بین ریسک ژنوتایپ‌ها و بیماری استئوپورز با odds ratio (OR)و فاصله اطمینان ۹۵ درصد (CI) ارزیابی شد.

یافته‌ها

در این مطالعه به طور کلی ۱۶۰ نفر زن یائسه در محدوده سنی ۶۰-۴۵ سال شرکت داشته‌اند. در این مطالعه ۸۰ نفر بیمار مبتلا به استئوپورز(با میانگین سنی۰/۵±۵۸/۴ و ۸۰ فرد شاهد و سالم با میانگین سنی ۰/۵۶±۵۵/۱۴ وارد مطالعه شده‌اند. طبق آزمون آماری کای دو نشان داده شده در جدول ۲ اختلاف میانگین سنی در دو گروه بیمار و کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود($p<۰/۰۰۱$). هم‌چنین نشان داده شد که توزیع سن بین دو گروه شاهد و بیمار دارای توزیع نرمال بود($p<۰/۰۰۱$). با توجه به تست رادیوگرافی جهت تشخیص پوکی استخوان، میزان تراکم استخوانی در ناحیه مهره کمری و استخوان هیپ با دو معیار T.score و Z.score تعیین گردید. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان می‌دهد که میزان تراکم استخوانی در دو ناحیه مهره کمری و استخوان‌های هیپ در افراد بیمار تفاوت معنی‌داری با افراد گروه سالم (شاهد) داشت ($p<۰/۰۰۱$)(جدول ۲).

کلیه DNA های استخراج شده از کیفیت مطلوبی برخوردار بوده و میزان جذب نوری در ۲۸۰/۲۶۰ بیش‌تر از ۱,۸ بود.

شکل ۱ به ترتیب نتیجه الکتروفورز محصولات PCR قبل و بعد از برش آنزیمی را نشان می‌دهد. به طوری که شکل الف راندمان عملکرد واکنش زنجیره‌ای را در نمونه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. در شکل ب محصول تکثیر مورد هضم آنزیمی قرار گرفت تا الگوی باندی زیر حاصل شود.



شکل۱. الکتروفورز محصول PCR قبل (الف) و بعد از هضم آنزیمی (ب) روی ژل ۲ درصد. به ترتیب از چپ به راست: ۱- Ladder bp ۵۰۰، ۲- محصول برش نداده -۳ ژنوتیپ هموزیگوت وحشی A/A(-/-)، ٤- ژنوتیپ هتروزیگوتA/T (-/+) ٥- هموزیگوت جهش یافته T/T(+/+) ٦- Ladder bp ۵۰۰

جدول ۲. آنالیز آماری نتایج سن و BMDدر دوگروه بیمار و سالم

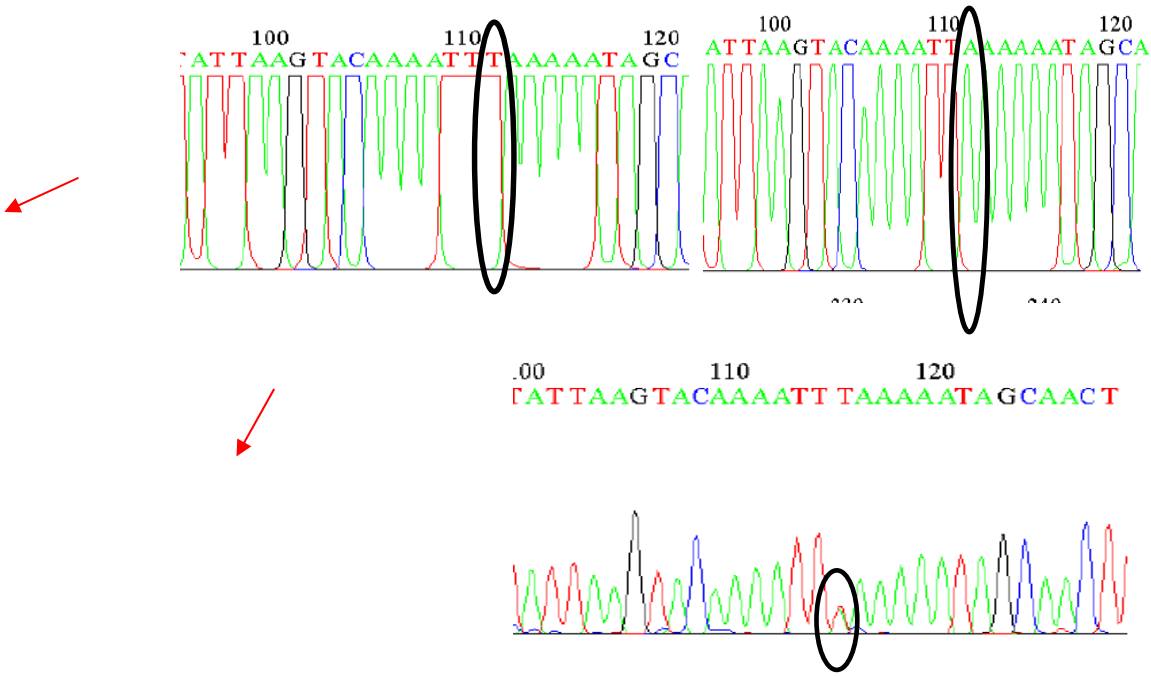
	گروه بیمار(n=۸۰)	گروه کنترل(n=۸۰)	سطح معنی داری
سن	۵۸/۴±۰/۵	۵۵/۱۴±۰/۵۶	۰<۰/۰۰۱
تراکم استخوانی (BMD) مهره کمری (g/cm2)	۰/۸±۰/۰۱	۱/۲۴±۰/۰۱	۰<۰/۰۰۱
T-score مهره کمری	-۳/۰۵±۰/۰۷	۰/۴۳±۰/۱	۰<۰/۰۰۱
Z-score مهره کمری	-۲±۰/۰۸	۰/۵۱±۰/۱	۰<۰/۰۰۱
T-score استخوان گردن راست هیپ	-۱/۶۱±۰/۱۲	۰/۷±۰/۰۷	۰<۰/۰۰۱
T-score استخوان گردن جپ هیپ	-۱/۴۸±۰/۰۹	۰/۸±۰/۰۹	۰<۰/۰۰۱
Z-score استخوان گردن راست هیپ	-۰/۶۷±۰/۰۹	۱/۲۸±۰/۰۸	۰<۰/۰۰۱
Z-score استخوان گردن جپ هیپ	-۰/۶۷±۰/۰۹	۱/۲۵±۰/۰۸	۰<۰/۰۰۱

توزیع فراوانی ژنوتیپی و اللی در دو گروه زنان دارای پوکی استخوان و گروه سالم در جدول ۳ خلاصه شده است. آنالیز آماری نشان می‌دهد که درصد فروانی ژنوتیپ‌ها در بیماران AA(۶۰) و AT (۳۲/۵) و TT (۷/۵) می‌باشد و درصد فروانی ژنوتیپ‌ها در گروه شاهد AA (۷۰) و AT (۲۷/۵) و TT (۲/۵) بوده است. هم‌چنین نشان داده شد که ژنوتایپ AT نسبت به ژنوتایپ AA شانس ابتلا به بیماری را به میزان ۱/۳۷۹ برابر و ژنوتایپ TT نسبت به AA شانس ابتلا به بیماری را به میزان ۳/۵ برابر افزایش می‌دهد. الل T نسبت به الل A به میزان ۱/۶۰۵ برابر، شانس بیماری را افزایش می‌دهد.

جدول ۳. توریع فراوانی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در دو گروه بیمار و شاهد

پلی مورفیسم	ژنوتیپ	تعداد بیماران (درصد)	تعداد شاهد (درصد)	chi square	P value	OR	(CI ۹۵ درصد)
Rs4752947	AA	(۶۰٪)۴۸	(۷۰٪)۵۶	۰/۱۹		۱	
	AT	(۳۲/۵)۲۶	(۲۷/۵)۲۲	۰/۴۹	۰/۳۶	۱/۳۷۹	(۰/۶۹۴ – ۲/۷۳۹)
	TT	(۷/۵)۶	(۲/۵)۲	۰/۲۸	۰/۱۴	۳/۵	(۰/۶۷۵ – ۱۸/۱۵۴)
آلل	A	(۷۶/۲۵)۱۲۲	(۸۳/۷۵)۱۳۴				
	T	(۲۳/۷۵)۳۸	(۱۶/۲۵)۲۶	۰/۰۹	۰/۱	۱/۶۰۵	(۰/۹۲۱ – ۲/۷۹۹)

شکل ۲ تعیین توالی نتایج به دست آمده از روش هضم آنزیمی را نشان می‌دهد. لازم به توضیح است که در این مطالعه ۱۰ درصد نمونه‌ها جهت تعیین توالی ارسال شدند که به ذکر یک نمونه از آن اشاره شده است.



شکل۲. تعیین توالی برای rs:4752947 . نواحی بیضی شکل مشکی فلش‌ها نشان دهنده جایگاه پلی‌مورفیسم می‌باشد. الف) ژنوتایپ هموزیگوت موتانت، ب) ژنوتایپ هموزیگوت وحشی، ج) ژنوتایپ هتروزیگوت

بحث

هدف از این مطالعه بررسی همراهی بین پلی مورفیسم (rs4752947) و ژن LRP4 با پوکی استخوان در زنان یائسه منطقه شمال کشور بود. نتایج نشان داده است که میزان تراکم استخوانی در دو ناحیه مهره کمری و استخوان‌های هیپ در افراد بیمار تفاوت معنی‌داری با افراد گروه سالم (شاهد) دارد($p<۰/۰۰۱$). اما با بررسی ارتباط بین پلی مورفیسمrs4752947 با میزان تراکم مهره کمری و استخوان‌های هیپ در دو گروه بیمار و کنترل ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($p>۰/۰۵$) علی رغم عدم ارتباط معنی‌دار دراین پلی‌مورفیسم اما مطالعه ما نشان داد که ژنوتایپ AT نسبت به ژنوتایپ AA شانس ابتلا به بیماری را به میزان ۱/۳۷۹ برابر افزایش می‌دهد و ژنوتایپTT نسبت به AA شانس ابتلا به بیماری را به میزان ۳/۵ برابر افزایش می‌دهد و هم‌چنین الل Tنسبت به الل A به میزان ۱/۶۰۵برابر، شانس بیماری را افزایش می‌دهد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ توسط سیمونا و همکاران بر روی جمعیت مردان سالمند انجام شد ارتباط بین پلی‌مورفیسم FokI با تراکم استخوان گردن ران و مهره کمری در دوران پیری مشاهده شد(۱۰). در سال ۲۰۱۰ کیون تکسو و همکاران نشان داند که ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ BsmI با BMD مهره کمری وجود دارد ولی ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ BsmI با BMD گردن استخوان ران وجود ندارد(۱۱). در سال ۲۰۰۹ ریوادرینا و همکاران با بررسی متا آنالیزی که بر روی مطالعات ژنومی انجام شده بر روی ۱۹۱۹۵ نفر از افراد شمال اروپا صورت پذیرفت، ارتباط LRP4 با تنوع BMD ستون فقرات کمری واستخوان ران نشان داند(۱۲). چانگ و همکاران در مطالعه‌ایی که در سال ۲۰۱۴ انجام دادند نشان داده‌اند که با

تخریب عملکرد ژن LRP4 سبب افزایش پروتئین لسکلروستین شده و بنابراین باعث افزایش حجم توده استخوان می‌گردد. آنها در این تحقیق نشان داده‌اند که ژن LRP4 نقش کلیدی در هموستاز استخوان دارد(۱۳). هم‌چنین کومار و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم‌های rs3816614 و rs6485702 در ژن LRP4 با مقدار BMD پس از کنترل عوامل مخدوش کننده و مسیر سیگنالینگ Wnt وجود دارد(۱۴). وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی ۱۱۳ پلی مورفیسم در ۱۶ ژن مرتبط با استئوپروزیس نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌های rs898604 and rs17790156 در ژن LRP4 با شکستگی‌های استخوانی در افراد استئوپروز در ارتباط می‌باشد(۱۵). در سال ۲۰۱۳ بوین و همکاران با بررسی ژن LRP4 نشان داده‌اند که ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های rs6485702 and rs2306029 در ژن LRP4 با BMD همه استخوان‌ها به جزء استخوان سر ران وجود دارد(۱). براساس مطالعه حاضر و با توجه به مطالعات گذشته نقش ژن LRP4 را در بیماری استئوپورز را نمی‌توان نادیده گرفت و اگرچه در مطالعات ما این ارتباطات پررنگ نبود اما ارتباطات ژنوتایپینگ این احتمال را به وجود می‌آورد که با افزایش تعداد و محدوده جغرافیایی مطالعه و بررسی پلی‌مورفیسم‌های دیگر این ژن و با بررسی پلی‌مورفیسم‌های بیشتر این ارتباط بیشتر مشاهده شود.

نتیجه‌گیری

طبق این مطالعه با بررسی توزیع ژنوتیپی و آللی در بین افراد بیمار و سالم اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و سالم در دانسیته استخوان و میزان بروز استئوپورز مشاهده نشد. اما در این مطالعه مشخص شد که جهش در الل T شانس ابتلا به بیماری را بالا می‌برد و فنوتیپ TT مستعد ایجاد بیماری استئوپورز می‌باشد. پیشنهاد می‌شود این مطالعه با تعداد بیشتری نمونه و ساب تایپ‌های بیشتر ژن LRP4 در نقاط مختلف کشور و دیگر نژادها انجام گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد می‌باشد که در انستیتو پاستور آمل انجام شده است. از همکاران مرکز مذکور جهت همکاری در این پروژه نهایت تشکر را داریم هم‌چنین از همکاری آقای صادق فتاحی در طراحی پرایمرها و آنزیم محدود کننده سپاس‌گزاری می‌گردد.

منابع

1. Boudin E, Steenackers E, de Freitas F, Nielsen TL, Andersen M, Brixen K, et al. A common LRP4 haplotype is associated with bone mineral density and hip geometry in men—Data from the Odense Androgen Study (OAS). Bone. 2013;53(2):414-20.
2. Gupta R, Al-saeed O, Azizieh F, Albusairi A, Gupta P, Mohammed A. Evaluation of bone mineral density in postmenopausal women in Kuwait. Journal of Clinical Densitometry. 2012;15(2):211-6.
3. Ghasemi S, Sadeghi H. Effect of different exercises on the bone mineral density, pain and quality of life in people with osteoporosis. 2015.
4. Kanis J, Johnell O, Oden A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Dawson A, et al. Long-term risk of osteoporotic fracture in Malmö. Osteoporosis international. 2000;11(8):669-74.
5. Deng H, Livshits G, Yakovenko K, Xu F, Conway T, Davies K, et al. Evidence for a major gene for bone mineral density/content in human pedigrees identified via probands with extreme bone mineral density. Annals of human genetics. 2002;66(01):61-74.
6. Golchin MM, Heidari L, Ghaderian SMH, Akhavan-Niaki H. Osteoporosis: A Silent Disease with Complex Genetic Contribution. Journal of Genetics and Genomics. 2016;43(2):49-61.

Osteoporosis in Postmenauposal Women. International Biological and Biomedical Journal. 2015;1(2):72-80.
8. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. The Journal of clinical investigation. 2005;115(12):3318-25.
9. Leupin O, Piters E, Halleux C, Hu S, Kramer I, Morvan F, et al. Bone overgrowth-associated mutations in the LRP4 gene impair sclerostin facilitator function. Journal of Biological Chemistry. 2011;286(22):19489-500.
10. Mencej-Bedrač S, Preželj J, Kocjan T, Teskač K, Ostanek B, Šmelcer M, et al. The combinations of polymorphisms in vitamin D receptor, osteoprotegerin and tumour necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. Journal of molecular endocrinology. 2009;42(3):239-47.
11. Suh KT, Eun I-S, Lee JS. Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. European Spine Journal. 2010;19(9):1545-50.
12. Rivadeneira F, Styrkársdottir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu Y-H, Richards JB, et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by
7. Fattahi S, Yousefi GA, Amirbozorgi G, Lotfi M, Naeiji A, Asouri M, et al. Lack of Association of CYP2E1 and CYP1A1 Polymorphisms With large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. Nature genetics. 2009;41(11):1199-206.
13. Chang MK, Kramer I, Huber T, Kinzel B, Guth-Gundel S, Leupin O, et al. Disruption of Lrp4 function by genetic deletion or pharmacological blockade increases bone mass and serum sclerostin levels. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2014:(48)111;E5187-95.
14. Kumar J, Swanberg M, McGuigan F, Callreus M, Gerdhem P, Akesson K. LRP4 association to bone properties and fracture and interaction with genes in the Wnt- and BMP signaling pathways. Bone. 2011;49(3):343-8.
15. Wang C, Zhang Z, Zhang H, He JW, Gu JM, Hu WW, et al. Susceptibility genes for osteoporotic fracture in postmenopausal Chinese women. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 2012;27(12):2582-91.