

Original Article

Study of FokI and ApaI Polymorphisms of Vitamin D Receptor Gene in Iranian Postmenopausal Women with Osteoporosis

Sharareh Salehi¹, Heidar Sharafi², Seyed Mojtaba Hakim³, Gholam Hosein Ranjbar Omrani⁴,
Fatemeh Ebrahimi¹, Ali Pouryasın^{5*}

¹Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran

²Molecular Diagnosis Department, Armin Pathobiology Laboratory, Tehran, Iran

³Labafi-Nejad Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Endocrinology and Metabolism Research Center, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

^{5*}Department of Genetics, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran

Received: 17 Nov, 2014 Accepted: 20 Jan, 2015

Abstract

Background & Objectives: Osteoporosis along with decreased bone density can lead to bone structure loss which increases the risk of fractures. Recent identification of genetic factors impels researchers to assess association of genetic variations with osteoporosis. The aim of this study was to evaluate the relationship between FokI and ApaI polymorphisms of vitamin D receptor (VDR) gene and serum calcium level, serum 25-OH vitamin D level and osteoporosis in Iranian postmenopausal women.

Materials and Methods: In this study, we included 194 over 50 years old postmenopausal women with osteoporosis and osteopenia and 50 over 50 years old healthy postmenopausal women as the control group. To study the polymorphisms, genomic DNA was extracted from blood samples containing EDTA anticoagulant. Genotyping of FokI and ApaI polymorphisms of VDR gene was performed using PCR-RFLP method.

Results: Weight, height, age, serum 25-OH vitamin D, and calcium level were compared in three groups of control, osteopenia, and osteoporosis. The mean of serum calcium level was not significantly different but the means of age, weight, height, and serum 25-OH vitamin D level were significantly different between the patients and control group. Also, the differences in the distribution of FokI and ApaI genotypes were not statistically significant among the patients with osteopenia, osteoporosis and the control group.

Conclusion: It seems that there is no association between FokI and ApaI polymorphisms of VDR gene and osteoporosis.

Keywords: Calcium, Genetic polymorphism, Osteoporosis, Vitamin D receptor

*Corresponding author:

E-mail: a.pouryasın @ gmail.com

مقاله پژوهشی

پلی مورفیسم‌های FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D در زنان ایرانی یائسه مبتلا به پوکی استخوان

شراره صالحی^۱، حیدر شرفی^۲، سید مجتبی حکیم^۳، غلام حسین رنجبر عمرانی^۴، فاطمه ابراهیمی^۱، علی پوریاسین^{۵*}

^۱دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران
^۲بخش تشخیص مولکولی، آزمایشگاه پاتوبیولوژی آرمین، تهران، ایران
^۳بیمارستان لبافی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۴مرکز تحقیقات و اندوکرینولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
^{۵*}گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

دریافت: ۹۳/۸/۲۶ پذیرش: ۹۳/۱۰/۳۰

چکیده

زمینه و اهداف: پوکی استخوان بیماری است با کاهش تراکم استخوان که باعث از بین رفتن ساختار بافت استخوان می‌شود و در نتیجه خطر شکستگی را افزایش می‌دهد. اخیراً یکی از فاکتورهای مطرح شده در این مورد، ژنتیک فرد می‌باشد که نیاز به بررسی در جمعیت‌های مختلف را به وجود آورده است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم‌های FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D با سطح سرمی کلسیم، سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D و پوکی استخوان در زنان ایرانی یائسه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۱۹۴ زن یائسه بالای ۵۰ سال مبتلا به استئوپنی و پوکی استخوان و ۵۰ زن یائسه سالم بالای ۵۰ سال به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی پلی مورفیسم‌ها، DNA بیماران از نمونه خون حاوی EDTA استخراج گردید و DNA های استخراج شده توسط روش PCR-RFLP از نظر دو پلی مورفیسم FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: متغیرهای وزن، قد، سن، سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D و سطح سرمی کلسیم در سه گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان بررسی گردیدند و مشخص شد که سطح سرمی کلسیم در این سه گروه اختلاف معناداری ندارد اما قد، وزن، سن و سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D در این سه گروه اختلاف معنادار نشان داد. همچنین توزیع ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D در سه گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان اختلاف معناداری نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که بین پلی مورفیسم‌های FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D و بیماری پوکی استخوان ارتباطی وجود ندارد.

کلید واژه‌ها: کلسیم، پلی مورفیسم ژنتیکی، پوکی استخوان، گیرنده ویتامین D

* ایمیل نویسنده رابط: a.pouryasini@gmail.com

مقدمه

بگیرد، شکستگی ستون فقرات یکی دیگر از عوارض پوکی استخوان است که در نتیجه چگونگی زندگی بیماران و فعالیت روزانه آنها ایجاد می‌شود و ممکن است باعث مرگ شود (۲). براساس گزارش بنیاد ملی پوکی استخوان، این بیماری نتیجه ترکیب عوامل مختلفی چون فاکتورهای ژنتیکی، کاهش جذب

پوکی استخوان بیماری خاموشی است که میلیون‌ها نفر در سراسر جهان از آن رنج می‌برند (۱). این اختلال متابولسمی در زنان ۴۰٪ تا ۵۰٪ و در مردان ۱۳٪ الی ۳۰٪ گروه سنی ۵۰ سال را درگیر می‌کند. شکستگی‌ها بیشتر در قسمت لگن و مچ دست اتفاق می‌افتد ولی ممکن است در قسمت‌های دیگر نیز صورت

تمامی افراد مورد مطالعه در این پژوهش زنان بالای ۵۰ سال ساکن شیراز و تهران بودند. معیار انتخاب این افراد مقدار تراکم استخوان آنها بود، بطوریکه اگر تراکم استخوان زیر سطح طبیعی برسد (بر اساس انحراف معیار WHO) و در واقع میزان T-score آنها بین -۱ تا $-2/5$ SD باشد استئوپنی یا کاهش شدید استخوان ایجاد می‌گردد و اگر مقدار تراکم استخوان کمتر از $-2/5$ SD باشد، استئوپروز یا پوکی استخوان بروز می‌کند. همچنین افرادی که میزان تراکم استخوان آنها بالاتر از -1 SD باشد، سالم هستند و مبتلا به پوکی استخوان نمی‌باشند. تمامی افراد بیمار و سالم جهت انجام نمونه‌گیری به بخش تراکم سنجی استخوان بیمارستان نمازی شیراز و بیمارستان لبافی‌نژاد تهران مراجعه کرده بودند. در این مطالعه بررسی بر روی خون بیماران با کسب رضایت از خود اشخاص صورت گرفت. افرادی که دارای پوکی استخوان نوع دوم بودند و یا در زمان نمونه‌گیری ناشتای ۸ ساعته نبودند از مطالعه حذف شدند. از افراد مورد پژوهش به طور متوسط ۵ میلی‌لیتر خون جمع‌آوری گردید و بعد از سانتریفیوژ کردن در 3000 rpm به مدت ۱۰ دقیقه و جدا نمودن سلول‌های هسته دار (بافی کوت)، ۲۰۰ میکرولیتر از سلول‌های هسته‌دار هر بیمار به میکروتیوب‌های ۱٫۵ میلی‌لیتری استریل منتقل گردید و در -20 درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگه‌داری شد و همچنین از نمونه سرم بیماران برای اندازه‌گیری سطح سرمی کلسیم و 25 -هیدروکسی ویتامین D استفاده شد. اندازه‌گیری سطح سرمی کلسیم به صورت بیوشیمیایی توسط دستگاه اتوماتیک آنالیزر ۹۱۲ (Hitachi) و اندازه‌گیری سطح سرمی 25 -هیدروکسی ویتامین D به روش کمی لومینسانس و توسط دستگاه ایمنوآسی لیاسون (Diasorin) انجام شد. برای بررسی پلی مورفیسیم‌های FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D از نمونه خون محیطی حاوی EDTA استفاده شد.

استخراج DNA با استفاده از کیت QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) انجام شد. بعد از استخراج به منظور اندازه‌گیری غلظت DNA با استفاده از دستگاه فتومتر، OD نمونه‌های DNA در 260 و 280 نانومتر اندازه‌گیری شد. PCR برای پلی مورفیسیم‌های FokI و ApaI با استفاده از تیوب PCR لیوفلیزه PCR[®] AccuPower (Bioneer, Korea) با حجم واکنش ۲۰ میکرولیتری انجام شد، به این صورت که به ازاء هر واکنش برای پلی مورفیسیم FokI، ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای FokI-F با توالی GGTGGGTGGCACCAAGGATGC و پرایمر FokI-R با توالی TGCTCCTGTGGCTGTGAGCG و همچنین به ازاء هر واکنش برای پلی مورفیسیم ApaI، ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای ApaI-F با توالی GGTGCGCCCATGGAAGGACC و ApaI-R با توالی GGCTGCGCAGGTCGGCTAG و به میزان ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک بیمار در نظر گرفته شد. سپس تمامی تیوب‌ها به منظور انجام واکنش به دستگاه ترمال سایکلر ۲۷۲۰ (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) منتقل شدند. زمان و درجه حرارت مراحل PCR به شرح ذیل می‌باشد،

کلسیم، کمبود ویتامین D در بدن، دریافت میزان بالای فسفات پروتئین، میزان زیاد کافئین، عدم فعالیت بدنی و افت استروژن و پروژسترون بعد از یائسگی است (۳). کمبود استروژن در ایجاد پوکی استخوان نقش اساسی دارد و به همین دلیل توجه به پوکی استخوان در زنان بعد از یائسگی مسئله مهمی است که باید مورد توجه قرار گیرد (۴). ویتامین D هورمونی است که در پوست از دئیدروکلسترول تحت تاثیر پرتو فرابنفش خورشید ساخته می‌شود و طی دو مرحله دئیدروکسیلاسیون در کبد به شکل فعال خود یعنی $1,25-(OH)_2D$ تبدیل می‌گردد. در مواردی که مواجهه مستقیم با آفتاب به اندازه کافی انجام نپذیرد دریافت این ماده از طریق رژیم غذایی ضرورت می‌یابد. ویتامین D یکی از موارد بسیار اساسی در تشکیل، نوسازی و استحکام استخوان‌ها است که نقش اساسی آن از سالها پیش مشخص شده است، از بهترین وظایف شناخته شده ویتامین D می‌توان به هموستاز کلسیم و سفر اشاره کرد (۵). از دست رفتن استخوان یا پوکی استخوان علت یک سوم از شکستگی‌های استخوان در زنان بالای ۶۵ سال می‌باشد. ژن گیرنده ویتامین D اولین ژن کاندید در رابطه با پوکی استخوان است که مورد مطالعه قرار گرفت (۴). تغییرات ظریف قوی در بیان ژن گیرنده ویتامین D می‌تواند تفاوت‌های عمده در بیان سایر ژن‌های هدف ایجاد کند. ژن گیرنده ویتامین D از طریق ژن‌های هدف تفاوت‌های عمده در عملکرد اندام‌ها، استخوان، متابولیسم کلسیم و سوخت و ساز بدن ایجاد می‌کند و در نتیجه سیستم اسکلتی بدن را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۴۶). ژن گیرنده ویتامین D بر روی کروموزوم ۱۲q۱۳ قرار دارد و دارای یک ناحیه پروموتور گسترده، ۱۱ اگزون و ۶۳۴۹۳ نوکلئوتید می‌باشد (۷-۸). برخی از پلی مورفیسیم‌های ژن گیرنده ویتامین D می‌توانند عملکرد پروتئین گیرنده ویتامین D و به تبع آن تغییر در وضعیت بافت استخوان و هموستاز کلسیم را فراهم سازند (۹-۱۱). در میان پلی مورفیسیم‌های ژن گیرنده ویتامین D، پلی مورفیسیم FokI در انتهای ۵' از اگزون ۲ قرار دارد و به صورت تغییر T به C در کدون آغازگر (ATG) می‌باشد. همچنین پلی مورفیسیم ApaI در اینترون ۸ قرار دارد و به صورت تبدیل C به A می‌باشد (۱۲). این پلی مورفیسیم‌ها می‌توانند مکانیسم‌های مختلف را برای عملکرد VDR و به تبع آن برای استخوان و هموستاز کلسیم فراهم سازند (۱۱-۹). هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D در زنان یائسه ایرانی مبتلا به پوکی استخوان و همچنین تعیین سطح سرمی کلسیم و سطح سرمی 25 -هیدروکسی ویتامین D و در نهایت تعیین ارتباط پلی مورفیسیم FokI و ApaI ژن گیرنده ویتامین D با سطح سرمی کلسیم، سطح سرمی 25 -هیدروکسی ویتامین D و پوکی استخوان در هر سه گروه کنترل، استئوپنی و پوکی استخوان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به صورت مورد-شاهد می‌باشد و شامل ۲۴۵ نفر از زنان یائسه بالای ۵۰ سال است که ۱۹۵ نفر از آنها زنان مبتلا به پوکی استخوان نوع اول یا استئوپنی و ۵۰ نفر زنان سالم بودند.

Apal ژن گیرنده ویتامین D و همچنین ارتباط آنها با استئوپنی و پوکی استخوان در جدول ۲ آورده شده است. در این مطالعه به بررسی سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D در ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم FokI و Apal ژن گیرنده ویتامین D پرداخته شد اما هیچ‌گونه ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسم‌ها با سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D مشاهده نشد. همچنین سطح سرمی کلسیم در ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم FokI و Apal ژن گیرنده ویتامین D مورد بررسی قرار گرفت و هیچ‌گونه ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسم‌ها با سطح سرمی کلسیم مشاهده نشد.

جدول ۱: متغیرهای دموگرافیک و آزمایشگاهی بررسی شده در گروه های شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان

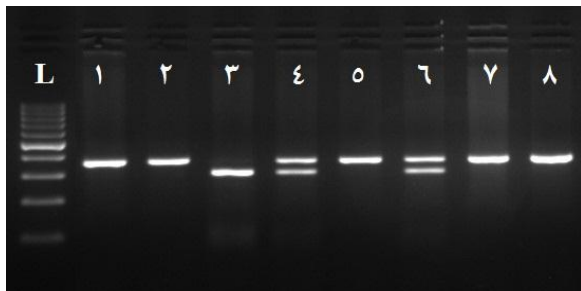
شاگرد	استئوپنی	پوکی استخوان	P value
سن (سال)	۵۵.۷ ± ۴.۶	۵۹.۱ ± ۴.۵	<۰.۰۰۱
قد (سانتی متر)	۱۵۹.۲ ± ۵.۳	۱۵۵.۲ ± ۶.۱	<۰.۰۰۱
وزن (کیلوگرم)	۷۳.۳ ± ۱.۰	۶۵.۸ ± ۷.۳	<۰.۰۰۱
کلسیم سرم (mg/dL)	۹.۲ ± ۱.۳	۹.۴ ± ۰.۳	۰.۱۰۴
ویتامین D سرم (ng/mL)	۱۸.۷ ± ۱۵.۱	۲۶.۷ ± ۲۰.۴	۰.۰۳۴

داده ها به صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده است و آزمون آماری استفاده شده، One-way ANOVA می باشد.

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم‌های FokI و Apal ژن گیرنده ویتامین D در گروه‌های شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان

ژنوتیپ	شاهد	استئوپنی	پوکی استخوان	P value
FokI				
CC	۳۲ (۶۴٪)	۲۷ (۶۵٪)	۹۶ (۶۲٪)	۰/۶۵
CT	۱۵ (۳۰٪)	۱۴ (۳۴٪)	۵۰ (۳۲٪)	
TT	۳ (۶٪)	۰ (۰٪)	۸ (۵٪)	
Apal				
C	۷۹ (۷۹٪)	۶۸ (۸۲٪)	۲۴۲ (۷۸٪)	۰/۶۸
T	۲۱ (۲۱٪)	۱۴ (۱۷٪)	۶۶ (۲۱٪)	
CC	۱۲ (۲۴٪)	۹ (۲۲٪)	۲۷ (۱۷٪)	۰/۴۷
AC	۲۸ (۵۶٪)	۱۸ (۴۳٪)	۸۶ (۵۵٪)	
AA	۱۰ (۲۰٪)	۱۴ (۳۴٪)	۴۱ (۲۶٪)	
C	۵۲ (۵۲٪)	۳۶ (۴۳٪)	۱۴۰ (۴۵٪)	۰/۴۵
A	۴۸ (۴۸٪)	۴۶ (۵۶٪)	۱۶۸ (۵۴٪)	

آزمون آماری استفاده شده Chi-square می باشد.



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR هضم شده پلی مورفیسم FokI بر روی ژل آگارز ۲.۵ درصد. نمونه‌ها با شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ واجد ژنوتیپ CC پلی مورفیسم FokI نمونه‌ها با شماره ۴ و ۶ واجد ژنوتیپ CT پلی مورفیسم FokI و نمونه با شماره ۳ واجد ژنوتیپ TT پلی مورفیسم FokI می باشد. L: لدر ۱۰۰ جفت بازی.

واسرشته سازی اولیه با حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، واسرشته سازی با حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، اتصال با حرارت ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، گسترش با حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه (مراحل واسرشته سازی تا گسترش به صورت یک چرخه، ۳۵ بار تکرار شد) و در آخر گسترش نهایی با حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. در نهایت محصول PCR پلی مورفیسم FokI با آنزیم محدود الاثر BseGI (Fermentas, Vilnius, Lithuania) و محصول PCR پلی مورفیسم Apal با آنزیم محدود الاثر Apal (Fermentas, Vilnius, Lithuania) مورد هضم آنزیمی به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفتند. پس از الکتروفورز محصول PCR-RFLP بر روی ژل آگارز ۲.۵ درصد، ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم FokI و Apal ژن گیرنده ویتامین D بیماران از روی الگوی الکتروفورزی باندها مورد ارزیابی قرار گرفت. در مورد پلی مورفیسم FokI، الگوی باندهای ژنوتیپ (FF) CC به صورت یک باند ۳۴۶ جفت بازی، ژنوتیپ (Ff) CT به صورت ۳ باند ۲۸۳، ۳۴۶ و ۶۳ (معمولا بر روی ژل مشاهده نمی‌شود) جفت بازی و ژنوتیپ (ff) TT به صورت دو باند ۲۸۳ و ۶۳ (معمولا بر روی ژل مشاهده نمی‌شود) جفت بازی می‌باشد (شکل ۱). در مورد پلی مورفیسم Apal، الگوی باندهای ژنوتیپ (AA) AA به صورت یک باند ۳۷۳ جفت بازی، ژنوتیپ (Aa) AC به صورت ۳ باند ۳۷۳، ۲۰۰ و ۱۷۳ جفت بازی و ژنوتیپ (aa) CC به صورت دو باند ۲۰۰ و ۱۷۳ جفت بازی می‌باشد (شکل ۲). در این مطالعه جهت بررسی آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. تست‌های آماری استفاده شده عبارتند از: Chi-square و One-way ANOVA. در بررسی‌ها P value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری ارزشمند در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

متغیرهای دموگرافیک و آزمایشگاهی ۳ گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان در جدول ۱ مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفته اند. بر اساس نتایج جدول ۱ می‌توان تفاوت معناداری را در سن، قد، وزن و سطح ۲۵-هیدروکسی ویتامین D سرم بین گروه‌های شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان مشاهده کرد. هیچ تفاوت معناداری بین سطح کلسیم سرم در گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان وجود نداشت. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که افراد گروه شاهد وزن بیشتر و قد بلندتری نسبت به افراد گروه استئوپنی و پوکی استخوان داشتند، همچنین سن و سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D نیز در افراد مبتلا به پوکی استخوان به ترتیب بیشتر از افراد استئوپنی و شاهد بود. در این مطالعه توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم FokI و Apal ژن گیرنده ویتامین D و همچنین ارتباط آنها با استئوپنی و پوکی استخوان مورد بررسی قرار گرفت، اما هیچ‌گونه ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسم‌ها با پوکی استخوان مشاهده نشد. توزیع ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم FokI و Apal ژن گیرنده ویتامین D در جدول ۲ قابل مشاهده است. همچنین فراوانی آلل‌های پلی مورفیسم FokI و

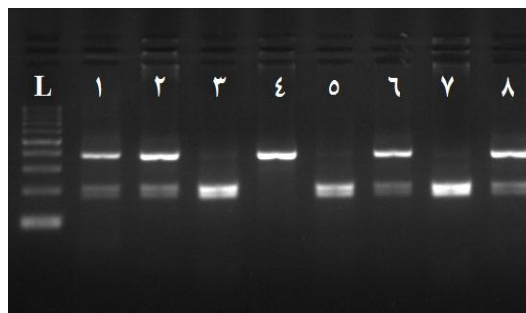
هیدروکسی ویتامین D با پلی مورفیسیم *FokI* مشاهده نکردند (۱۵). در مطالعه‌ای از هند فراوانی ژنوتیپ TT و همچنین آلل T پلی مورفیسیم *FokI* ژن گیرنده ویتامین D در زنان یائسه دارای پوکی استخوان در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنادار بیشتر بود ولی هیچ‌گونه رابطه معناداری بین این پلی مورفیسیم با سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D وجود نداشت (۱۶). Dundar و همکاران از ترکیه ارتباط معناداری بین سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D با پلی مورفیسیم *ApaI* مشاهده نکردند اما سطح سرمی کلسیم دارای ارتباط معناداری با پلی مورفیسیم *ApaI* بود و در افراد دارای ژنوتیپ CC بیشتر از افراد دارای ژنوتیپ AC و AA بود (۱۲). در سال ۲۰۰۸ Perez و همکاران از آرژانتین نیز هیچ‌گونه رابطه معناداری بین سطح سرمی کلسیم و ۲۵-هیدروکسی ویتامین D با پلی مورفیسیم *FokI* ژن گیرنده ویتامین D مشاهده نکردند (۱۷). در مطالعه حاضر هم هیچ‌گونه رابطه معناداری بین بیماری پوکی استخوان با پلی مورفیسیم‌های *FokI* و *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D دیده نشد. در مطالعه‌ای دیگر از بلاروس توزیع ژنوتیپ‌های پلی-مورفیسیم *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D مورد بررسی قرار گرفت و بین این پلی مورفیسیم با بیماری پوکی استخوان ارتباط معناداری مشاهده شد (۱۸). در مطالعه دیگری از چین در سال ۲۰۱۳ توزیع ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم *FokI* ژن گیرنده ویتامین D و همچنین ارتباط آن با پوکی استخوان مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسیم با پوکی استخوان مشاهده شد اما هیچ‌گونه ارتباط معناداری بین پلی مورفیسیم *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D با پوکی استخوان مشاهده نشد (۱۹). در سال ۲۰۰۶ Mitra از هند نیز هیچ تفاوت معناداری در توزیع ژنوتیپ‌های *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D در سه گروه استئوپنی، پوکی استخوان و کنترل مشاهده نکرد اما پلی مورفیسیم *FokI* دارای رابطه معنادار با سه گروه استئوپنی، پوکی استخوان و کنترل بود و ژنوتیپ CC در گروه شاهد به ترتیب بیشتر از استئوپنی و پوکی استخوان بود. همچنین ژنوتیپ CT در گروه پوکی استخوان به ترتیب بیشتر از شاهد و استئوپنی و ژنوتیپ TT در گروه پوکی استخوان به ترتیب بیشتر از استئوپنی و شاهد بود (۲۰).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر که بر روی دو گروه شاهد و بیمار انجام شد نتیجه این‌گونه به دست آمد که سطح سرمی کلسیم و ۲۵-هیدروکسی ویتامین با ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم‌های *FokI* و *ApaI* در دو گروه شاهد و بیمار ارتباط معناداری ندارند و همچنین هیچ‌گونه رابطه معناداری بین پلی مورفیسیم‌های *FokI* و *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D با پوکی استخوان مشاهده نشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از ریاست آزمایشگاه پاتوبیولوژی آرمن تهران برای تامین هزینه‌های طرح تقدیر و تشکر می‌نمایند. در ضمن این مقاله استخراج شده از پایان نامه می‌باشد.



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR هضم شده پلی مورفیسیم *ApaI* بر روی ژل آگارز ۲٪. نمونه با شماره ۴ واجد ژنوتیپ AA پلی مورفیسیم *ApaI*، نمونه‌ها با شماره ۱، ۲، ۳، ۵ و ۸ واجد ژنوتیپ AC پلی مورفیسیم *ApaI* و نمونه‌ها با شماره ۳، ۵ و ۷ واجد ژنوتیپ CC پلی مورفیسیم *ApaI* می‌باشد. L: لدر ۱۰۰ جفت بازی.

بحث

پوکی استخوان یک بیماری چند عاملی است که عوامل دخیل در آن شامل سن، جنس، نژاد، بیماری‌های همراه و فاکتورهای ژنتیکی می‌باشد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که تراکم معدنی استخوان تحت تاثیر فاکتورهای قوی ژنتیکی است (۳). در مطالعه حاضر، فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم *FokI* و *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D مورد بررسی قرار گرفتند. فراوانی ژنوتیپ CC پلی مورفیسیم *FokI* در هر سه گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان به ترتیب دارای بیشترین مقدار نسبت به ژنوتیپ‌های CT و TT بود. همچنین در این مطالعه، فراوانی ژنوتیپ AC پلی مورفیسیم *ApaI* در گروه شاهد به ترتیب بیشتر از ژنوتیپ CC و AA بود و همچنین فراوانی ژنوتیپ AC در دو گروه استئوپنی و پوکی استخوان به ترتیب بیشتر از AA و CC بود. در این مطالعه، تمامی متغیرهای قد، وزن، سن، سطح سرمی کلسیم و سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D در سه گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان مورد بررسی قرار گرفتند و نتیجه این‌گونه حاصل شد که سطح سرمی کلسیم هیچ‌گونه اختلاف معناداری در سه گروه شاهد، استئوپنی و پوکی استخوان نداشت اما سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D و سن در افراد مبتلا به پوکی استخوان به ترتیب بیشتر از افراد استئوپنی و شاهد بود. در این مطالعه، افزایش سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D در گروه‌های استئوپنی و پوکی استخوان نسبت به گروه شاهد می‌تواند به علت مصرف داروی ویتامین D توسط تمام بیماران باشد و ما هیچ مداخله‌ای در تجویز دارو بیماران نداشتیم در نتیجه با وجود ناشتا بودن بیماران، زمان لازم برای به پایان رسیدن نیمه عمر دارو وجود نداشته و در نتیجه میزان سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D در گروه‌های استئوپنی و پوکی استخوان بیشتر نشان داده شد (۱۳). در سال ۲۰۱۰، Durusu Tanriover و همکاران اختلاف معناداری در سطح سرمی کلسیم و ۲۵-هیدروکسی ویتامین D بین دو گروه شاهد و بیمار مشاهده نکردند اما وزن در افراد شاهد طبیعی بیشتر از افراد مبتلا به پوکی استخوان بود (۱۴). در مطالعه حاضر هیچ ارتباط معناداری بین سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D و سطح سرمی کلسیم با پلی مورفیسیم‌های *FokI* و *ApaI* ژن گیرنده ویتامین D وجود نداشت. در سال ۲۰۱۱ نیز Stathopoulou و همکاران از یونان هیچ ارتباط معناداری بین سطح سرمی ۲۵-

References

- Jalili Z, Nakhaee N, Askari R, Sharifi V. Knowledge, Attitude and Preventive Practice of Women Concerning Osteoporosis. *Iranian Journal of Public Health* 2007; **36**(2): 19-24.
- Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, Tosteson A. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. *J Bone Miner Res* 2007; **22**(3): 465-475.
- Foundation NO. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. 2010.
- Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, et.al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 1998; **13**(3): 325-349.
- Basit S. Vitamin D in health and disease: a literature review. *British journal of biomedical science* 2013; **70**(4): 161-172.
- Heaney RP. Skeletal development and maintenance: the role of calcium and vitamin D. *Adv Endocrinol Metab* 1995; **6**: 17-38.
- Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Osteoporosis in elderly men and women: effects of dietary calcium, physical activity, and body mass index. *J Bone Miner Res* 2000; **15**(2): 322-331.
- Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, et.al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol* 1997; **11**(8): 1165-1179.
- Crofts LA, Hancock MS, Morrison NA, Eisman JA. Multiple promoters direct the tissue-specific expression of novel N-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; **95**(18): 10529-10534.
- Ye WZ, Reis AF, Velho G. Identification of a novel Tru9 I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *J Hum Genet* 2000; **45**(1): 56-57.
- Arai H, Miyamoto K, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, et.al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997; **12**(6): 915-921.
- Dundar U, Solak M, Kavuncu V, Ozdemir M, Cakir T, Yildiz H, et.al. Evidence of association of vitamin D receptor Apa I gene polymorphism with bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *Clin Rheumatol* 2009; **28**(10): 1187-1191.
- Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci* 2004; **29**(12): 664-673.
- Durusu Tanriover M, Bora Tatar G, Uluturk TD, Dayangac Erden D, Tanriover A, Kilicarslan A, et.al. Evaluation of the effects of vitamin D receptor and estrogen receptor 1 gene polymorphisms on bone mineral density in postmenopausal women. *Clin Rheumatol* 2010; **29**(11): 1285-1293.
- Stathopoulou MG, Dedoussis GV, Trovas G, Theodoraki EV, Katsalira A, Dontas IA, et.al. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in the bone mineral density of Greek postmenopausal women with low calcium intake. *J Nutr Biochem* 2011; **22**(8): 752-757.
- Yasovanthi J, Venkata Karunakar K, Sri Manjari K, Pulla Reddy B, Ajeya Kumar P, Sesha Charyulu M, et.al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with BMD and their effect on 1, 25-dihydroxy vitamin D3 levels in pre- and postmenopausal South Indian women from Andhra Pradesh. *Clin Chim Acta*. 2011; **412**(7-8): 541-544.
- Perez A, Ulla M, Garcia B, Lavezzo M, Elias E, Binci M, et.al. Genotypes and clinical aspects associated with bone mineral density in Argentine postmenopausal women. *J Bone Miner Metab* 2008; **26**(4): 358-365.
- Marozik P, Mosse I, Alekna V, Rudenko E, Tamulaitiene M, Ramanau H, et al. Association Between Polymorphisms of VDR, COL1A1, and LCT Genes and Bone Mineral Density in Belarusian Women With Severe Postmenopausal Osteoporosis. *Medicina (Kaunas)* 2013; **49**(4): 177-184.
- Wang D, Liu R, Zhu H, Zhou D, Mei Q, Xu G. Vitamin D receptor Fok I polymorphism is associated with low bone mineral density in postmenopausal women: a meta-analysis focused on populations in Asian countries. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; **169**(2): 380-386.
- Mitra S, Desai M, Ikram Khatkhatay M. Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas* 2006; **55**(1): 27-35.