View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۴/ ۲۵-۱۷

مقاله پژوهشی

ارتباط پلی مورفیسم های ApaI و TaqI ژن گیرنده ویتامین D با پوکی استخوان در زنان ۴۵ سال و بالاتر در استان چهارمحال و بختیاری

اکرم شه پری[۱]، مرتضی دهقان[۲*]، راضیه پوراحمد[۳]، مرتضی هاشم زاده[۴]، مسعود امیری[۵]، صدیقه کاظمی شیخ شبانی[۶]

[۱]دانشجو، گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۲]گروه ارتوپدی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۳]گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۴]گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۵]گروه اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۶]مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت:۹۲/۱۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۳

چکیده:

زمینه و هدف: **پوکی استخوان یک بیماری خاموش است که مسبب کاهش در استحکام و تراکم بافت استخوانی بوده و منجر به افزایش شکستگی استخوان‌ها می‌شود. اهمیت پلی‌مورفیسم‌های ApaI و TaqI ژن گیرنده ویتامین D (VDR) در متابولیسم و تراکم استخوان در نقاط دیگر جهان نشان داده شده است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین این پلی مورفیسم ها با میزان تراکم استخوان در زنان ۴۵ سال و بالاتر در استان چهارمحال و بختیاری بود.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۲۰۰ خانم ۴۵ سال و بالاتر مراجعه کننده به مراکز سنجش تراکم استخوان شهرکرد در سال های ۹۲-۱۳۹۱ شرکت کردند. تراکم استخوان گردن ران و مهره های کمر با استفاده از روش DEXA اندازه گیری و براساس درجه T-Score آن ها به دو گروه بیمار (۱۳۰) و سالم (۷۰) تقسیم شدند. ژنوتیپ های مختلف ApaI (AA/Aa/aa) و Taq1 (TT/Tt/tt) با روش PCR RFLP تعیین و فراوانی آن ها در گروه بیمار محاسبه شد.**

یافته ها: **بین پلی مورفیسم ApaI و میزان تراکم استخوان ارتباط معنی داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). پلی مورفیسم TaqI و میزان تراکم استخوان گردن ران ارتباط معنی داری داشت (P<۰/۰۵)؛ ولی با تراکم استخوان مهره های کمری ارتباط معنی داری نداشت (P>۰/۰۵). بیماران دارای ژنوتیپ هموزیگوت غالب (TT) در مقایسه با ژنوتیپ های دیگر، کمترین میزان تراکم استخوان گردن ران را داشتند و میزان تراکم استخوان مهره‌های کمر در سه ژنوتیپ TaqI یکسان بود.**

نتیجه گیری: **پلی مورفیسم TaqI ممکن است یک نشانگر خوب در تشخیص زنان مستعد پوکی استخوان در استان چهارمحال و بختیاری و حتی در ایران باشد. اگرچه باید جمعیت های دیگر و بزرگتری برای تأیید این نتایج مطالعه شوند.**

واژه های کلیدی: **پلی مورفیسم، پوکی استخوان، تراکم استخوان، ژن گیرنده ویتامین D.**

مقدمه:

پوکی استخوان یک اختلال متابولیک جدی است که با کاهش در استحکام و تراکم بافت استخوانی، منجر به افزایش شکستگی استخوان ها، کاهش مقاومت مکانیکی آن ها و افزایش آسیب پذیری آن ها نسبت به شکستگی ها می گردد. پوکی استخوان یک بیماری خاموش است که میلیون ها نفر را در سراسر جهان مبتلا نموده و از آن جا که تا زمانی که منجر به شکستگی نشود علامتی ندارد، دزد خاموش نامیده می شود (۳-۱).

تخمین زده می شود که در ایالات متحده آمریکا ۲۵۰۰۰۰ بیمار سالانه دچار شکستگی استخوان سر ران می شوند. خطری که سلامتی یک زن ۵۰ ساله دارای شکستگی استخوان سر ران ناشی از پوکی

نویسنده مسئول: شهرکرد-رحمتیه- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- گروه ارتوپدی- تلفن: ۰۳۸-۳۴۴۲۴۴۱۹، E-mail: dehghan_morteza@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

استخوان را تهدید می کند از خطر تجمعی کل سرطان های سینه، تخمدان و آندومتر بیشتر است (۴). شکستگی های ناشی از پوکی استخوان بار اقتصادی قابل توجهی را بر نظام سلامت تحمیل می کند و این بیماری در صورت عدم درمان، نتایج جدی و فرساینده ای دارد (۵). برآوردها نشان می دهد که حدود ۷۵ میلیون نفر در اروپا، ژاپن و آمریکا دچار پوکی استخوان هستند (۶). مطالعات اپیدمیولوژیک در زنان آسیایی نشان داده است که دانسیته استخوانی در آنان کمتر از زنان اروپایی و آمریکایی می باشد (۷). بیشترین شیوع پوکی استخوان در سنین بالا و به خصوص در میان زنان دیده می شود، به طوری که بررسی ها نشان داده اند که زنان ۴ برابر بیشتر از مردان به پوکی استخوان مبتلا می شوند؛ اما گاهی پوکی استخوان در دوران رشد اسکلتی و حتی در سنین نوجوانی نیز مشاهده شده است (۸).

پوکی استخوان یک بیماری چند عاملی (Multifactorial) است و با میان کنش بین ژنتیک و محیط مرتبط است.

مطالعات مختلفی گزارش کرده اند که پوکی استخوان با پلی مورفیسم های بعضی از ژن ها مرتبط است (۹،۱۰). آنالیزها نشان می دهند که بیشترین نقش در گسترش پوکی استخوان متعلق به ژن های VDR، CTR، ER، COLIAI، LCT و ... است (۱۱).

هومئوستازی معدنی و متابولیسم استخوان به طور کامل به ویتامین D وابسته است. این ویتامین نقش خود را از طریق رسپتورش ایفا می کند و ژن رسپتور ویتامین D ساختار رسپتور را تعیین می کند؛ بنابراین ژن VDR می تواند یک ژن کاندید مهم برای پوکی استخوان باشد (۱۲-۱۴).

جهش ژنی می تواند عملکرد VDR را تحت تأثیر قرار دهد و می تواند با قابلیت ابتلاء به پوکی استخوان در ارتباط باشد (۱۵). اگرچه ارتباط قوی بین ژنوتیپ VDR و تراکم استخوانی (BMD) در پوکی استخوان پیشنهاد می شود (۱۶)؛ یافته های متضادی در احتمال ارتباط بین از دست رفتن استخوان پس از یائسگی و ژنوتیپ VDR وجود دارد (۱۲،۱۷). ارتباط ژنوتیپ های VDR و تراکم استخوانی (BMD) احتمالاً در گروه های نژادی و جغرافیایی متفاوت مختلف است (۱۸،۱۹).

ژن VDR بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ (12q12-14) قرار گرفته است. ۱۰ اگزون و ۸ اینترون بر روی ساختار این ژن تعیین شده اند (۲۰). پلی مورفیسم های VDR شامل FokI، ApaI، BsmI، TaqI، Cdx2 و غیره هستند (۲۱).

پلی مورفیسم ApaI (rs7975232) در اینترون ۸ قرار گرفته است. این پلی مورفیسم باعث می شود که نوکلئوتید تیمین (T) جایگزین گوانین (G) می شود (G→T) (۲۲). پلی مورفیسم TaqI (rs731236) یک تغییر خاموش در اگزون ۹ رسپتور ویتامین D است. در پلی مورفیسم TaqI نوکلئوتید جایگاه ۳۵۲ از تیمین (T) به سیتوزین تبدیل می شود (T352C)؛ بنابراین کدون ATT که اسیدآمینه ایزولوسین (Ile) را کد می کند به کدون دیگر ایزولوسین یعنی ATC تبدیل می شود (۲۳،۲۴).

در ژن گیرنده ویتامین D (VDR) توانایی ایجاد برش توسط آنزیم ApaI و TaqI موجب پدید آوردن ژنوتیپ های زیر می شود. ژنوتیپ های ApaI: AA (عدم وجود جایگاه شناسایی آنزیم)، Aa (هتروزیگوت بودن جایگاه شناسایی آنزیم)، aa (وجود جایگاه شناسایی آنزیم) و ژنوتیپ های TaqI: TT (عدم وجود جایگاه شناسایی آنزیم)، Tt (هتروزیگوت بودن جایگاه شناسایی آنزیم)، tt (وجود جایگاه شناسایی آنزیم).

این مطالعه با هدف تعیین ارتباط بین پلی مورفیسم های ApaI (rs7975232) و TaqI (rs731236) ژن گیرنده ویتامین D با پوکی استخوان در خانم های ۴۵ سال و بالاتر در استان چهارمحال و بختیاری انجام شد.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی ۲۰۰ زنان ۴۵ سال و بالاتر (۱۳۰ بیمار و ۷۰ کنترل) که از مراجعین

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

مراکز سنجش تراکم استخوان شهرکرد بودند، با روش نمونه گیری آسان انتخاب و وارد مطالعه شدند. این افراد پس از اعلام آمادگی و تکمیل برگه رضایتنامه وارد مطالعه شدند. بیماران با سابقه مصرف داروهای کورتونی، برداشتن و نارسایی زودرس تخمدان، بیماری های تیروئید، اختلال های جذب کلسیم، بیماری های دستگاه گوارش و بیماری های کلیه از مطالعه حذف شدند.

میزان تراکم استخوانی در مهره های کمری، گردن استخوان ران این افراد با روش (Double-Energy X-ray Absorptiometry= DEXA) و با دستگاه Hologic QDR ساخت کشور آلمان تعیین و مقادیر با روش T- Score مشخص شدند. سپس به منظور بررسی ژنتیکی از آن ها ۵ سی سی خون کامل اخذ و در در لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع آوری گردید. این نمونه ها تا روز آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

با استفاده از روش فنل کلروفرم، DNA ژنومی از نمونه های خون جمع آوری شده، استخراج گردید. پلی مورفیسم های ApaI و TaqI از ژن گیرنده ویتامین D با استفاده از پرایمرهای طراحی شده توسط نرم افزار Gene Runner و روش PCR تکثیر شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی پلی مورفیسم های ApaI و TaqI از ژن گیرنده ویتامین D

نام پلی‌مورفیسم	اندازه قطعه	نوع پرایمر	توالی پرایمر (5′→3′)
ApaI	۷۳۷	F	CAGAGCATGGACAGGGAGCAA
		R	TCATGGCTGAGGTCTCAAGGG
TaqI	۷۳۷	F	CAGAGCATGGACAGGGAGCAA
		R	TCATGGCTGAGGTCTCAAGGG

مواد واکنش PCR عبارت بودند از: ۲/۵ میکرولیتر بافر X ۱۰، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ mM)، ۱ میکرولیتر dNTP Mix (۴۰ mM)، ۰/۷ میکرولیتر پرایمر فوروارد (۱۰ pmol/ml)، ۰/۷ میکرولیتر پرایمر ریورس (۱۰ pmol/ml)، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمراز (۵ U/µL)، ۲/۳ میکرولیتر DNA الگو و ddH_2O به اندازه ای که حجم واکنش به ۲۵ میکرولیتر برسد.

با استفاده از دستگاه نانو دراپ (Nano drop 2000 Thermo) غلظت DNA استخراج شده به دست آمد و سپس واکنش های PCR با شرایط حرارتی زیر برای هر دو پلی مورفیسم ApaI و TaqI انجام شد: ۵ دقیقه ۹۵ درجه سانتی گراد به عنوان مرحله واسرشت اولیه و سپس ۵۰ ثانیه ۹۵ درجه سانتی گراد، ۴۵ ثانیه ۶۸/۷ درجه سانتی گراد به عنوان مرحله اتصال، ۱ دقیقه ۷۲ درجه سانتی گراد به عنوان مرحله تکثیر به تعداد ۳۶ سیکل و در نهایت ۵ دقیقه ۷۲ درجه سانتی گراد برای تکثیر نهایی. از دستگاه ترمو سایکلر مدل (ASTEC, PC818 Japan) استفاده شد. برای اطمینان از داشتن محصول صحیح، آن ها به ژل آگاروز منتقل شدند. طول قطعه تکثیر شده bp ۷۳۷ بود. سپس قطعه ها توسط آنزیم های محدود کننده ApaI و TaqI (شرکت Fermentas) هضم شدند. آنزیم ApaI محل زیر را شناسایی نموده و هضم می‌نماید.

5’...T↓C G A...3’
3’...A G C↑T... 5’

آنزیم TaqI هم محل زیر را شناسایی نموده و هضم می‌نماید.

5’...G G G C C↓C...3’
3’...C↑C C G G G...5’

ترکیب واکنش RFLP برای هر یک از پلی مورفیسم ها (برای حجم ۳۰ میکرولیتر) عبارت بود از: ۱۷/۵ میکرولیتر آب استریل، ۲ میکرولیتر بافر آنزیم X ۱۰، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم محدودکننده ApaI و TaqI سپس واکنش های هر دو آنزیم طبق دستور ارایه شده از شرکت به مدت ۱۶

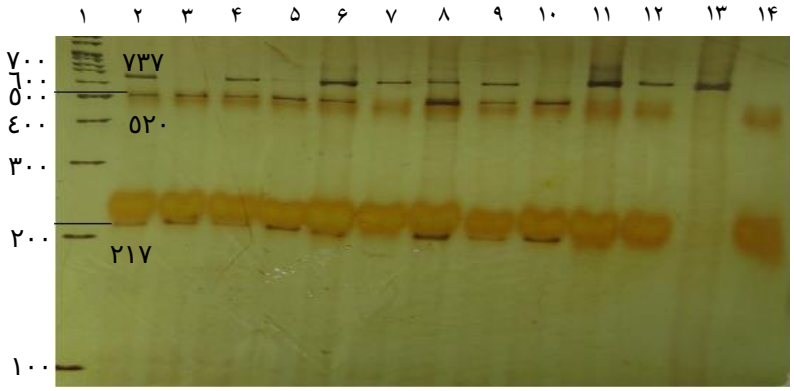
Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس محصول های بدست آمده بر روی ژل ۸ درصد پلی آکریل آمید برده شدند و با روش نیترات نقره رنگ آمیزی شدند. علت این مسئله دقت بالاتر ژل پلی آکریل آمید در شناسایی محصولات حاصل از هضم آنزیمی در مقایسه با ژل آگاروز است. بدین ترتیب ژنوتیپ های ApaI و TaqI در گروه بیمار و سالم برای تک تک افراد تعیین و فراوانی ژنوتیپ ها محاسبه شدند.

داده های بدست آمده با آزمون های آماری مجذور کای و ANOVA تحلیل شدند.

یافته ها:

طول قطعه تکثیر شده در پلی مورفیسم ApaI، ۷۳۷ bp بود که پس از هضم با آنزیم ApaI، در صورت وجود جایگاه شناسایی آنزیم قطعاتی به طول ۵۲۰ bp و ۲۱۷ bp تولید می کرد (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: ژل پلی آکریل آمید PCR-RFLP مربوط به پلی مورفیسم ApaI

چاهک ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک های ۳، ۵ و ۱۰: ژنوتیپ هموریگوت مغلوب (aa)، چاهک های ۲، ٤، ٦ و ۹: ژنوتیپ هتروریگوت (Aa)، چاهک های ۱۱، ۱۲ و ۱۳: ژنوتیپ هموزیگوت غالب (AA)، چاهک ۱٤: کنترل منفی.

توزیع فراوانی ژنوتیپی ApaI در گروه بیمار به ترتیب شیوع شامل ۷۹ نفر Aa (۶۰/۸ درصد)، ۵۰ نفر AA (۳۸/۵ درصد) و ۱ نفر aa (۰/۷ درصد) و در گروه کنترل شامل ۴۱ نفر Aa (۵۸/۶ درصد)، ۲۶ نفر AA (۳۷/۱ درصد) و ۳ نفر aa (۴/۳ درصد) بود. بین پلی مورفیسم ApaI با میزان تراکم استخوان گردن ران و مهره های کمری ارتباط معنی داری وجود نداشت (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: ارتباط پلی مورفیسم ApaI با میانگین T-Score در گروه بیمار

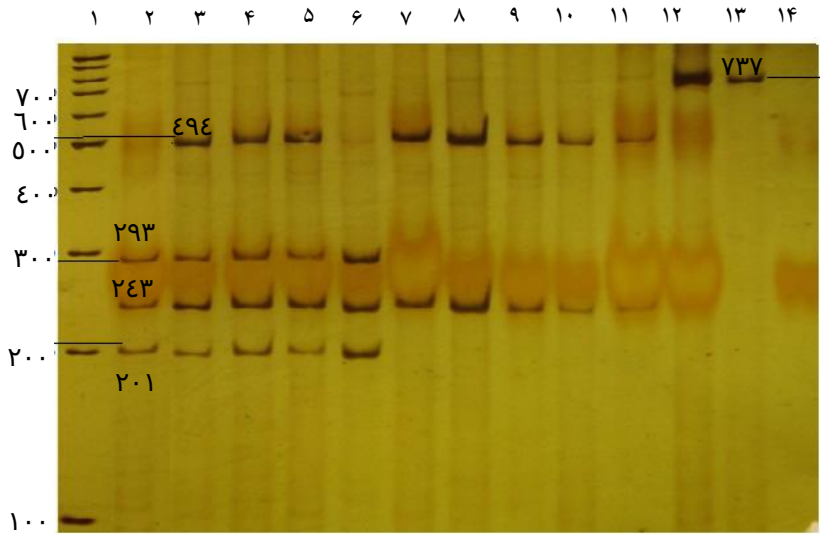
پلی مورفیسم / T-score	AA	Aa	aa	P
تعداد	۵۰	۷۹	۱	
میانگین T-score گردن ران	-۱/۲۹±۰/۳٤	-۱/۳±۰/۵۵	-۲/۱±۰	۰/۲٦۹
میانگین T-score مهره های کمر	-۲/۷۵±۰/۸۳	-۲/۸۳±۰/۵۰	-۲/۹±۰	۰/۷۹۷

داده ها به صورت میانگین ±انحراف معیار می باشد.

طول قطعه تکثیر شده در TaqI نیز ۷۳۷ bp بود، که پس از هضم با آنزیم TaqI به علت وجود یک جایگاه اجباری ثانویه شناسایی آنزیم که در حالت عادی وجود دارد؛ این آنزیم در مورد ژنوتیپ TT برش ایجاد کرده و دو محصول با طول های ۴۹۴ bp و ۲۴۳ bp ایجاد شد و در مورد ژنوتیپ هتروزیگوت (Tt) نیز چون دارای

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

جایگاه برش به صورت هتروزیگوت بودند؛ برش ایجاد شده چهار قطعه bp ۴۹۴ و bp ۲۴۳ و bp ۲۰۱ و bp ۲۹۳ ایجاد شد (در قطعه ۴۹۴ جفت بازی برش ایجاد شده و دو قطعه ۲۰۱ و ۲۹۳ جفت بازی ایجاد می شود) و ژنوتیپ tt سه قطعه bp ۲۴۳ و bp ۲۰۱ و bp ۲۹۳ را ایجاد کردند (در قطعه ۴۹۴ جفت بازی برش ایجاد شده و دو قطعه ۲۰۱ و ۲۹۳ جفت بازی ایجاد می شود) (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: ژل پلی آکریل آمید PCR-RFLP مربوط به پلی مورفیسم TaqI

چاهک ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک های ۲ و ٦: ژنوتیپ هموریگوت مغلوب (tt)، چاهک های۳، ٤ و ٥، : ژنوتیپ هتروریگوت (Tt)، چاهک های ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱: ژنوتیپ هموزیگوت غالب (TT)، چاهک های ۱۲و ۱۳: محصولات PCR بدون هضم آنزیمی، چاهک ۱٤: کنترل منفی.

توزیع فراوانی ژنوتیپی TaqI در گروه بیمار به ترتیب شیوع شامل ۶۶ نفر Tt (۵۰/۸ درصد)، ۵۷ نفر TT (۴۳/۸ درصد) و ۷ نفر tt (۵/۴ درصد) و در گروه کنترل شامل ۳۴ نفر TT (۴۸/۵ درصد)، ۳۰ نفر Tt (۴۲/۹ درصد) و ۶ نفر tt (۸/۶ درصد) بود. طبق آنالیزهای آماری بین پلی مورفیسم TaqI و میزان تراکم استخوان گردن ران ارتباط معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۲۵) و با میزان تراکم استخوان مهره های کمری ارتباط معنی داری وجود نداشت و مشاهده شد که افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت غالب (TT) کمترین میزان تراکم استخوان گردن ران را داشتند. میزان تراکم استخوان مهره های کمر در همه ژنوتیپ ها یکسان بود (جدول شماره ۳).

جدول شماره۲: ارتباط پلی مورفیسم TaqI با میانگین T-Score در گروه بیمار

گروه بیمار	TT	Tt	tt	P
تعداد	۵۷	٦٦	۷	
میانگین T-score گردن ران	-۱/٤۳±۰/٤۸	-۱/۲±۰/٤۸	-۱/۲۷±۰/۳۵	۰/۰۲۵
میانگین T-score مهره های کمر	-۲/۸۰±۰/٤۷	-۲/۸۰±۰/٦۸	-۲/۸۰±۱/۳۸	۰/۹۹۹

داده ها به صورت میانگین ±انحراف معیار می باشد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

بحث:

هدف از این تحقیق تعیین ارتباط بین پلی مورفیسم های ApaI (rs7975232) و TaqI (rs731236) ژن گیرنده ویتامین D با پوکی استخوان در خانم های ۴۵ سال و بالاتر در استان چهار محال و بختیاری بود. این مطالعه نشان داد که بین پلی مورفیسم ApaI با میزان تراکم استخوان گردن ران و مهره های کمری ارتباط معنی داری وجود ندارد و همچنین بین پلی مورفیسم TaqI و میزان ترا کم استخوان گردن ران ارتباط معنی داری وجود دارد و با تراکم استخوان مهره های کمری ارتباط معنی داری وجود نداشت.

در مطالعه Qin و همکارانش در سال ۲۰۰۴ در مورد ارتباط بین پلی مورفیسم های مختلف ژن VDR و گیرنده α استروژن با مقدار تراکم استخوان خانم های یائسه، هیچگونه ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم ApaI و تراکم استخوان مهره های کمری و استخوان ران مشاهده نشد (۲۵). Zajickova و همکارانش در سال ۲۰۰۲، ارتباط بین پلی مورفیسم های BsmI، ApaI و TaqI با تراکم استخوان را در ۱۱۴ زن یائسه اهل چک با میانگین سنی ۶۲/۵±۸/۹ بررسی کردند و بیان کردند که بین پلی مورفیسم های BsmI، ApaI و TaqI و تراکم استخوان در هیچ جایگاه اسکلتی، هیچ ارتباطی وجود ندارد و اختلاف معنی داری در توزیع ژنوتیپی بین گروه بیمار و گروه کنترل مشاهده نکردند (۲۶). Uysal و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۸، رابطه بین BsmI، ApaI وTaqI با پوکی استخوان را در ۲۴۶ زن یائسه اهل ترکیه (۱۰۰ بیمار و ۱۴۶ کنترل سالم)، را بررسی کردند که بین پلی مورفیسم های ApaI و TaqI و پوکی استخوان ارتباط معنی داری پیدا نکردند (۲۷). دکتر عباسی و همکارانش در سال ۲۰۱۲، رابطه بین پلی مورفیسم های ApaI و TaqI با پوکی استخوان را در ۱۶۰ خانم یائسه اهل قزوین (۸۰ بیمار و ۸۰ کنترل) بررسی کردند و دریافتند که ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم های ApaI و TaqI و نتایج تراکم استخوان (BMD) وجود نداشت.

همچنین دکتر عباسی و همکارانش در سال ۲۰۱۲، مشاهده کردند که بیماران دارای ژنوتیپ tt از پلی مورفیسم TaqI در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ Tt تراکم استخوان پایین تری در مهره های کمری داشتند و موارد با ژنوتیپ TT تراکم استخوان پایین تری نسبت به Tt در گردن استخوان ران داشتند. بر پایه این یافته هایشان آن ها نتیجه گیری کردند که ارتباط بین پلی مورفیسم های VDR و پوکی استخوان هنوز ناشناخته است و احتمال دارد عوامل دیگری بر روی تراکم استخوان تأثیر گذار باشند (۲۸)؛ اما Mitra و همکارانش در سال ۲۰۰۶، ۲۴۶ نفر از زنان یائسه هندی با متوسط سنی ۵۴/۲±۳/۴ را بررسی کردند و گزارش دادند که میانگین تراکم استخوانی در ستون فقرات و استخوان ران زنان دارای ژنوتیپ های هموزیگوت مغلوب aa و ژنوتیپ هموزیگوت غالب TT، ۱۰ درصد بالاتر از زنان دارای ژنوتیپ های AA و tt است (۱۸).

Gursoy و همکارانش در سال ۲۰۰۷، ارتباط بین پلی مورفیسم TaqI با پوکی استخوان را در ۱۴۱زن یائسه اهل ترکیه (۷۰ بیمار و ۷۰ کنترل سالم) بررسی کردند که فراوانی ژنوتیپ Tt در گروه بیمار بالاتر بود و اختلاف معنی داری بین توزیع ژنوتیپ های TT و tt بین گروه کنترل و بیمار وجود نداشت؛ اگرچه تراکم استخوان در افراد دارای آلل T به طور معنی داری بالاتر بود (۲۹). حال آنکه نتایج این تحقیق نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت غالب (TT) کمترین میزان تراکم استخوان گردن ران را داشتند. میزان تراکم استخوان مهره های کمر در همه ژنوتیپ ها یکسان بود که دکتر عباسی هم در مطالعه شان نتایج مشابه با این نتایج را گزارش کردند؛ اما Mitra و Gursoy نتایج متفاوتی را گزارش کردند و در مطالعه آن ها بر خلاف نتایج مطالعه حاضر و مطالعه دکتر عباسی تراکم استخوان در افراد دارای آلل T به طور معنی داری بالاتر بود. نتایج متضادی که بین مطالعات مختلف دیده می شود، ممکن است به علت اختلافات نژادی، اختلاف در فراوانی و اندازه نمونه، اختلاف در

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

توزیع پلی مورفیسم ها در بین نژادها، اختلاف در جذب کلسیم و دیگر فاکتورهای محیطی باشد.

نتیجه گیری:

پلی مورفیسم TaqI ممکن است یک نشانگر خوب در تشخیص زنان مستعد پوکی استخوان در استان چهارمحال و بختیاری و حتی در ایران باشد. اگرچه جمعیت های بزرگتر و دیگری باید برای تأیید این نتایج مطالعه شوند.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد، معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد کمال تشکر را داریم. بخش اعظم از بودجه تحقیق از طرح شماره ۱۴۳۲-۸۹-۰۱-۹۱ مورخ ۹۱/۱۱/۱۷ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین اعتبار گردید.

منابع:

1. Chan MF, Kwong WS, Zang YL, Wan PY. Evaluation of an osteoporosis prevention education programme for young adults. J Adv Nurs. 2007; 57(3): 270-85.
2. Alexandraki KI, Syriou V, Ziakas PD, Apostolopoulos NV, Alexandrakis AI, Piperi C, et al. The knowledge of osteoporosis risk factors in a Greek female population. Maturitas. 2008; 59(1): 38-45.
3. Hazavehei SM, Taghdisi MH, Saidi M. Application of the Health Belief Model for osteoporosis prevention among middle school girl students, Garmsar, Iran. Educ Health (Abingdon). 2007; 20(1): 23.
4. Werner P, Olchovsky D, Erlich-Gelaki H, Vered I. First-degree relatives of persons suffering from osteoporosis: beliefs, knowledge, and health-related behavior. Osteoporos Int. 2003; 14(4): 306-11.
5. Bonura F. Prevention, screening, and management of osteoporosis: an overview of the current strategies. Postgrad Med. 2009; 121(4): 5-17.
6. Larijani B, Soltani A, Pajouhi M, Bastanhagh M, Mirfezi SZ, Dashti R, et al. Bone mineral density variation in 20-69 yr. population of Tehran/Iran. Iran South Med J. 2002; 5(1): 41-9.
7. Chang SF. A cross-sectional survey of calcium intake in relation to knowledge of osteoporosis and beliefs in young adult women. Int J Nurs Pract. 2006; 12(1): 21-7.
8. John J. Nutrition and bone health: In: Mahan LK, Escott-Stump K. A use of food, nutrition and diet therapy. Philadelphia: WB Saunders Co; 2004.
9. Kou I, Takahashi A, Urano T, Fukui N, Ito H, Ozaki K, et al. Common variants in a novel gene, FONG on chromosome 2q33.1 confer risk of osteoporosis in Japanese. PLoS One. 2011; 6(5): e19641.
10. Mendes AI, Mascarenhas MR, Matos S, Sousa I, Ferreira J, Barbosa AP, et al. A WNK4 gene variant relates to osteoporosis and not to hypertension in the Portuguese population. Mol Genet Metab. 2011; 102(4): 465-9.
11. Marozik P, Mosse I, Ameliyanovich M, Rudenka E, Alekna V, Tamulaitienė M. Molecular and genetic mechanisms of predisposition to osteoporosis. Gerontologija. 2011; 12(4): 250-8.
12. Fang Y, Rivadeneira F, van Meurs JB, Pols HA, Ioannidis JP, Uitterlinden AG. Vitamin D receptor gene BsmI and TaqI polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. Bone. 2006; 39(4): 938-45.
13. Huang X, Cao Z, Zhang Z, Yang Y, Wang J, Fang D. No association between Vitamin D receptor gene polymorphisms and nasopharyngeal carcinoma in a Chinese Han population. Biosci Trends. 2011; 5(3): 99-103.
14. Ousley AM, Castillo HS, Duraj-Thatte A, Doyle DF, Azizi B. A human vitamin D receptor mutant activated by cholecalciferol. J Steroid Biochem Mol Biol. 2011; 125(3-5): 202-10.
15. Qin G, Dong Z, Zeng P, Liu M, Liao X. Association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with risk of osteoporosis: a meta-analysis of 41 studies. Mol Biol Rep. 2013; 40(1): 497-506.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017

16. Zintzaras E, Rodopoulou P, Koukoulis GN. BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis. Dis Markers. 2006; 22(5-6): 317-26.
17. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, Carey AH, Grinberg D, Langdahl BL, et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. Ann Intern Med. 2006; 145(4): 255-64.
18. 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.
19. McDonald CF, Zebaze RM, Seeman E. Calcitriol does not prevent bone loss in patients with asthma receiving corticosteroid therapy: a double-blind placebo-controlled trial. Osteoporos Int. 2006; 17(10): 1546-51.
20. 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): 325-49.
21. Deng H, Liu F, Pan Y, Jin X, Wang H, Cao J. BsmI, TaqI, ApaI, and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor gene and periodontitis: a meta-analysis of 15 studies including 1338 cases and 1302 controls. J Clin Periodontol. 2011; 38(3): 199-207.
22. Ban Y, Taniyama M, Ban Y. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with Grave's disease in the Japanese population. J Clin Endocrinol Metab. 2000; 85(12): 4639-43.
23. Videman T, Gibbons LE, Battie MC, Maravilla K, Vanninen E, Leppavuori J, et al. The relative roles of intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene in lumbar spine degeneration and bone density. Spine (Phila Pa 1976). 2001; 26(3): 7-12.
24. Videman T, Leppavuori J, Kaprio J, Battie MC, Gibbons LE, Peltonen L, et al. Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration. Spine (Phila Pa 1976). 1998; 23(23): 2477-85.
25. Qin YJ, Zhang ZL, Huang QR, He JM, Hu YQ, Zhao Q, et al. Association of vitamin D receptor and estrogen receptor-alpha gene polymorphism with peak bone mass and bone size in Chinese women. Acta Pharmacol Sin. 2004; 25(4): 462-8.
26. Zajickova K, Zofkova I, Bahbouh R, Krepelova A. Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and bone turnover: FokI genotype is related to postmenopausal bone mass. Physiol Res. 2002; 51(5): 501-9.
27. Uysal AR, Sahin M, Gursoy A, Gullu S. Vitamin D receptor gene polymorphism and osteoporosis in the Turkish population. Genet Test. 2008; 12(4): 591-4.
28. Abbasi M, Hasani S, Sheikholeslami H, Alizadeh SA, Rashvand Z, Yazdi Z, et al. Association between vitamin D receptor Apa1 and Taq1 genes polymorphism and osteoporosis in postmenopausal women. J Qom Univ Med Sci. 2012; 16(3): 4-10.
29. Gursoy S, Erdal E, Alasehirli B, Aydeniz A, Erdal N. TaqI Polymorphism of Vitamin-D receptor gene and quality of life in postmenopausal Turkish women. Turk J Med Sci. 2008; 38(1): 21-6.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Jun, Jul; 17(2):17-25.

Original article

Association of ApaI and Taq1 polymorphic site of vitamin D receptor gene with bone mineral density in women aged 45 years and older

Shahpari A[1], Dehghan M[2*], Pourahmad R[3], Hashemzadeh-Chaleshtori M[4], Amiri M[5], Kazemi -Sheikhshabani S[6]

[1]Student, Genetics Dept., Shahrekord University, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Orthopedics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Genetics Dept., Shahrekord University, Shahrekord, I.R. Iran; [4]Genetics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [5]Epidemiology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [6]Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, I.R. Iran.

Received: 29/Jan/2014 Accepted: 4/Sep/2014

Background and aim: Osteoporosis is a silent disease causing decrease in firmness and accumulation of bone, and leading to increase in bone fracture. The importance of ApaI and TaqI polymorphisms of vitamin D receptor gene in bone metabolism and density has been shown in other parts of world. The aim of the present research was to study the association of these polymorphisms with bone mineral density in women with 45 years old and older in Chahamahal and Bakhteiari province.

Methods: In this descriptive analytical study, 200 women participated aged 45 years old and older who referred to Bone Mineral Density Assay Centers in Shahrekord in years 2012-2013. Bone mineral density at femur neck and lumbar spine was measured by DEXA method. Based on T- score, these women divided tin two groups, 130 patient individuals and 70 healthy individuals. Then, different genotypes of Taq1 (TT/Tt/tt) and ApaI (AA/Aa/aa) were determined by PCR-RFLP method and their frequencies were calculated.

Results: Statistical analyses did not show any significant relationship between ApaI polymorphism and bone density ($P>0.05$). TaqI polymorphism and femur neck bone density showed a significant relationship ($P<0.05$), but no significant relationship was seen with lumbar spine bone density ($P>0.05$). Patients with hemozygote dominant genotype (TT) compared with other genotypes had the least femur neck bone mineral density. Lumbar spine bone mineral density in all genotypes of TaqI was identical.

Conclusion: TaqI polymorphism may be a good marker for diagnosis of osteoporosis in susceptible women in Chahamahal and Bakhteiari Province and even in Iran. However, further and larger populations should be studied to verify the results of this study.

Keywords: **Polymorphism, Osteoporosis, Bone mineral density, Vitamin D receptor gene.**

Cite this article as: Shahpari A, Dehghan M, Pourahmad R, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Amiri M, Kazemi-Sheikhshabani S. Association of ApaI and Taq1 polymorphic site of vitamin D receptor gene with bone mineral density in women aged 45 years and older. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(2): 17-25.

[*]**Corresponding author:**
Orthopedics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran, Tel: 009893834424419, E-mail: dehghan_morteza@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:50 +0430 on Saturday August 26th 2017