

## *Association between Vitamin D Receptor Gene FokI Polymorphism and Bone Mineral Density in a Population of Postmenopausal Women with Osteoporosis*

Haleh Akhavan Niaki<sup>1</sup>,  
Tayebeh Shomali<sup>2</sup>,  
Mohsen Asouri<sup>3</sup>,  
Seyed Mohammad Bagher Hashemi<sup>4</sup>,  
Hamed Haghi-Aminjan<sup>5</sup>,  
Mohammad Khorshidi<sup>6</sup>,  
Ramin Ataee<sup>7</sup>,  
Ali Asghar Ahmadi<sup>3</sup>,  
Saeid Kavosian<sup>8</sup>,  
Galia Amirbozorgi<sup>8</sup>,  
Ahad Alizadeh<sup>9</sup>,  
Hashem Hashemipoor<sup>10</sup>

<sup>1</sup> Associate Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

<sup>2</sup> Student of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> North Research Center, Pasteur Institute of Iran, Amol, Iran

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Immunology, Molecular and Cell Biology Research Centre, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>5</sup> PhD Student in Toxicology, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>6</sup> General Practitioner, Social Security Organization, Sari, Iran

<sup>7</sup> Assistant Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Thalassemia Research Center and Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

<sup>8</sup> Lab Staff, North research center, Pasteur institute of Iran, Amol Iran

<sup>9</sup> PhD Student in Biostatistics, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>10</sup> MD, Social Security Organization, Ghaem Shahr, Iran

(Received May 20, 2014 ; Accepted November 6, 2014)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Osteoporosis is a multiple disease that is characterized by decrease in bone mass and bone strength. This decrease is more common in postmenopausal women due to decreased estrogen levels. Vitamin D<sub>3</sub> plays a pivotal role in skeletal metabolism by binding to nuclear steroid receptors (receptors for vitamin D (VDR)). This study aimed at investigating the relationship between Vitamin D<sub>3</sub> receptor polymorphism and estrogen levels in postmenopausal women with severe osteoporosis.

**Material and methods:** The study population were 173 women including 91 postmenopausal women with osteoporosis and 82 women without osteoporosis (control group) aged 45-60 years of old. The study was carried out during 2011-2012. After extraction of genomic DNA from peripheral blood, FokI polymorphism (rs2228570) of the Vitamin D Receptor Gene (VDR) was investigated using polymerase chain reaction with restriction enzyme digestion (PCR-RFLP) method. Also, its relationship with bone mineral density (Bone Mineral Density) BMD, T-score, and Z-score was investigated.

**Results:** According to the results, there was no association between rs2228570 and osteoporosis. We observed significant differences in bone density between the two groups (P<0.001).

**Conclusion:** According to the findings, the association between genotype polymorphisms of vitamin D<sub>3</sub> and osteoporosis is still unknown and other polymorphisms might affect bone density.

**Keywords:** Polymorphism, vitamin D<sub>3</sub> receptor, postmenopausal women, osteoporosis, BMD

## بررسی ارتباط پلی مورفیسم Fok1 گیرنده ویتامین D3 با تراکم استخوان در زنان یائسه مبتلا به استئوپروز

هاله اخوان نیاکی<sup>۱</sup>  
طیبه شمالی<sup>۲</sup>  
محسن آسوری<sup>۳</sup>  
سید محمدباقر هاشمی سوته<sup>۴</sup>  
حامد حقی<sup>۵</sup>  
محمد خورشیدی<sup>۶</sup>  
رامین عطایی<sup>۷</sup>  
علی اصغر احمدی<sup>۳</sup>  
سعید کاووسیان<sup>۸</sup>  
گالیا امیر بزرگی<sup>۸</sup>  
احد علیزاده<sup>۹</sup>  
هاشم هاشم پور<sup>۱۰</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** استئوپروز بیماری چندگانه‌ای است که مشخصه آن کاهش توده استخوانی و استحکام آن است. این کاهش در زنان یائسه به علت کاهش هورمون استروژن بارزتر است. ویتامین D3 با اتصال به رسیپور استروئیدی هسته‌ای نقش محوری در متابولیسم اسکلتال بازی می‌کند. این مطالعه با هدف تعیین ارتباط بین پلی مورفیسم (rs2228570) با FokI با پوکی استخوان در خانم‌های یائسه انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۹۱ بیمار استئوپروتیک و ۸۲ خانم سالم (گروه شاهد) از میان زنان یائسه در محدوده سنی ۴۵ تا ۶۰ سال بین سال‌های ۹۰ تا ۹۱ انتخاب شدند. پس از استخراج DNA ژنومی از خون محیطی، پلی مورفیسم (rs2228570) FokI ژن گیرنده ویتامین D با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به روش هضم آنزیمی بررسی شد و ارتباط آن با تراکم استخوانی، T-score و Z-score سنجیده شد.

**یافته‌ها:** داده‌های مطالعه حاضر ارتباطی بین پلی مورفیسم rs2228570 و استئوپروز نشان نداد. هم‌چنین نتایج این بررسی نشان داد در میزان تراکم استخوان بین دو گروه بیمار و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.001$ ).

**استنتاج:** با توجه به یافته‌ها، ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژنوتیپ‌های ویتامین D3 و استئوپروز هنوز ناشناخته است و احتمال دارد پلی مورفیسم دیگری بر روی تراکم استخوان تاثیر گذار باشد.

**واژه های کلیدی:** رسیپور ویتامین D3، زنان یائسه، استئوپروز، FokI

### مقدمه

پوکی استخوان بیماری چندگانه‌ای است که با کاهش تراکم استخوانی و اختلال در ساختار بافت یائسه به علت کاهش هورمون استروژن بارزتر است و استخوانی مشخص می‌شود. پوکی استخوان در زنان

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۲۸-۹۱ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

**مؤلف مسئول:** رامین عطایی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات علوم دارویی، انستیتو هموگلوبینوپاتی E-mail: ramina\_ataee@yahoo.com

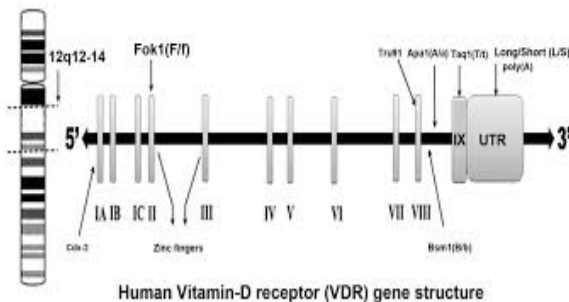
۱. دانشیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۲. دانشجوی داروسازی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، کمیته تحقیقات دانشجویی، انستیتو هموگلوبینوپاتی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. مرکز تحقیقات شمال، انستیتو پاستور ایران، آمل، ایران
۴. دانشیار، گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشجوی دکتری سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶. پزشک عمومی، تامين اجتماعي استان مازندران، ساری، ایران
۷. استادیار، گروه سم شناسی و داروشناسی، مرکز تحقیقات تالاسمی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، انستیتو هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۸. کارشناس، مرکز تحقیقات شمال، انستیتو پاستور ایران، آمل، ایران
۹. دانشجوی دکتری آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۱۰. متخصص بیهوشی، سازمان تامین اجتماعی استان مازندران، قائمشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۳/۱۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۸/۱۵

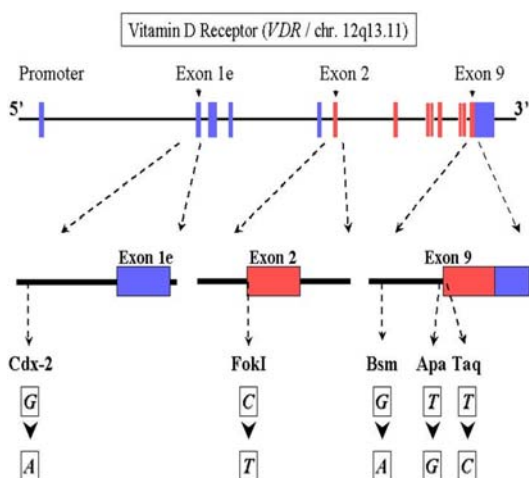
شود و فراوانی بیش تر از یک درصد در جوامع را دارد (۱۴). در سال‌های اخیر مطالعات گسترده بر مارکرهای ژنتیکی به شناسایی چند شکل مختلف از پلی مورفیسم منتهی شده است که با پوکی استخوان در ارتباط می‌باشند (۱۱-۱۴). مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط بین پلی مورفیسم (rs2228570) با پوکی استخوان در خانم‌های یائسه انجام شد (تصویر شماره ۳).

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی روی ۹۱ خانم یائسه مبتلا به پوکی استخوان که بین سال‌های ۹۰ تا ۹۱ به کلینیک‌های بیمارستانی علوم پزشکی بابل و مازندران مراجعه نمودند و ۸۲ زن سالم از نظر پوکی استخوان در



تصویر شماره ۱: ساختار ژن رسپتور ویتامین D



تصویر شماره ۲: جایگاه پلی مورفیسم های ژن رسپتور ویتامین D

موجب افزایش احتمال شکستگی استخوان می‌شود. این بیماری به عوامل محیطی (مصرف کلسیم) و فاکتورهای ژنتیکی بستگی دارد (۱). بروز یائسگی و کاهش هورمون‌های استروئیدی منجر به تغییرات مهمی در زنان سالمند می‌گردد که بروز پوکی استخوان یکی از وخیم‌ترین این تغییرات است (۲-۵). براساس گزارشات موجود شیوع پوکی استخوان بین کشورها و حتی در داخل کشورها متفاوت است (۶). تفاوت در نژاد، وضعیت تغذیه، فعالیت فیزیکی و سبک زندگی از علل این تفاوت‌ها محسوب می‌شوند (۷). پوکی استخوان یک بیماری چند ژنی است که ژن‌های متعددی در آن مؤثرند و مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: ژن استروژن، کلاژن نوع ۱، عامل رشد شبه انسولین، گیرنده ویتامین D و اینترلوکین ۶ (۸). بر اساس مطالعات صورت گرفته ژن رسپتور ویتامین D روی کروموزوم شماره ۱۲ با طول ۵/۶ kb قرار گرفته است (۸).

او ۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D<sub>3</sub> (1,25(OH)2D3) با اتصال به گیرنده استروئیدی هسته‌ای (vitamin D receptor= VDR) نقش کلیدی در متابولیسم استخوانی ایفا می‌کند. (1/25 (OH)2D3) می‌تواند با تحریک تولید و باز جذب استخوان توسط سلول‌های استئوبلاست و استئوکلاست تجدید استخوان‌ها را تنظیم کند (۹). برخی از مطالعات ارتباط بین (1/25 (OH)2D3) و دانسیته استخوانی و پوکی استخوان را نشان دادند (تصویر شماره ۱) (۱-۷). کمبود (1/25 (OH)2D3) با افزایش احتمال پوکی استخوان و شکستگی‌های ناشی از آن مرتبط است (۹). VDR اولین ژنی است که مورد مطالعه قرار گرفته و ارتباط آن با پوکی استخوان توسط محققین بررسی شد. مطالعات نشان داد که تنوع در ژن VDR می‌تواند مسؤول ۷۵ درصد تفاوت‌های ژنتیکی در توده استخوانی باشد. مطالعات زیادی روی چند پلی مورفیسم ناحیه ۳' این ژن توسط آنزیم‌های محدود کننده Bsm I، Bsm 1، Apa 1 و Taq 1 انجام شده است (تصویر شماره ۲) (۹).

پلی مورفیسم یا چند شکلی، تغییر نوکلئوتید در توالی ژن‌ها است که می‌تواند به بیماری خاصی منجر

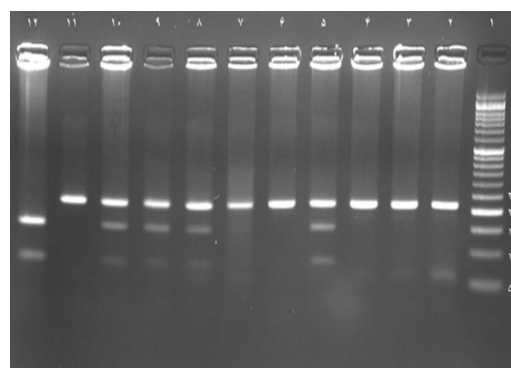
ضد انعقاد EDTA ریخته شد و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. DNA ژنومی از خون محیطی به روش salting out استخراج شد. پلی مورفیسم FokI (rs2228570) ژن گیرنده ویتامین D (VDR) با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به روش هضم آنزیمی (PCR-RFLP) بررسی شد و ارتباط آن با تراکم استخوانی (Bone Mineral Density= BMD)، T-score و Z-score سنجیده شد.

#### واکنش زنجیره‌ای پلیمرز *The polymerase chain reaction (PCR)*:

برای تکثیر ناحیه مورد نظر ۱۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۲ میلی مول MgCL2، ۱/۵ میکرومول dNTPs، ۱ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای اختصاصی مربوطه (جدول شماره ۱)، ۲ واحد آنزیم تگ DNA پلیمرز (Taq DNA Polymerase Fermentase) ترکیب شد و در نهایت با استفاده از آب مقطر استریل به حجم ۲۵ میکرو لیتر رسانده شد. سپس تکثیر با استفاده از دستگاه Bio-Rad با برنامه دمایی و اسرشته سازی اولیه در ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه، و اسرشته سازی ثانویه ۹۴°C به مدت ۳۵ ثانیه، اتصال پرایمرهای اختصاصی در دمای ۵۹°C به مدت ۴۰ ثانیه و دمای ۷۲°C جهت گسترش پرایمرها به مدت ۴۰ ثانیه به تعداد ۳۳ سیکل و دمای ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه جهت تکثیر نهایی انجام شد. برای بررسی صحت قطعه به دست آمده (۲۱۲bp) محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد قرار گرفت و در کنار نشانگر و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد.

#### مراحل هضم آنزیمی

پس از اطمینان از قطعه به دست آمده، جهت هضم آنزیمی محصول PCR، مربوط به rs2228570 در ناحیه اگزون ۲ مربوط به گیرنده ویتامین D، با ۲ واحد آنزیم



تصویر شماره ۳: چند شکلی‌های ایجاد شده rs ۲۲۲۸۵۷۰ در ناحیه گیرنده ویتامین D با استفاده از آنزیم FokI. ردیف‌های شماره (۲،۳،۴،۶،۷،۱۱)، (۵،۸،۹،۱۰) و ۱۲ به ترتیب بیانگر ژنوتیپ‌های CC، CT و TT می‌باشند. نتایج در مقابل DNA Ladder (ردیف شماره ۱) نشان داده شده‌اند.

محدوده سنی ۴۵ تا ۶۰ سال انجام شد افراد مبتلا به بیماری‌های خاص نظیر دیابت، بیماری‌های مربوط به غده تیروئید (کنونی و پیشین)، پاراتیروئید، کلیه و فوق کلیه، کبدی، بدخیمی‌ها و هیسترکتومی و نیز افراد با سابقه مصرف داروهای هورمونی، مکمل‌های کلسیمی و رژیم‌های غذایی موثر بر تراکم استخوانی از مطالعه خارج شدند. دانسیته استخوانی با روش DEXA(QDR-4500) از ناحیه کمری (L1-L4) انجام شد. اندیکاسیون انجام دانسیتومتری در بیماران بنا بر نظر پزشک جهت تشخیص استئوپورز بوده ولی در گروه شاهد از برخی افراد سالم تحت دانسیتومتری قرار گرفتند و برخی هم بنا بر نظر پزشک دانسیتومتری انجام داده بودند که براساس نتایج دانسیتومتری در گروه بیمار قرار نمی‌گرفتند. همه افراد شرکت کننده در تحقیق فرم رضایت نامه آگاهانه را تکمیل نمودند.

#### استخراج DNA

از همه افراد شرکت کننده ۵ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی گرفته شد. نمونه خون در لوله‌های حاوی ماده

جدول شماره ۱: مشخصات آنزیم و پرایمر

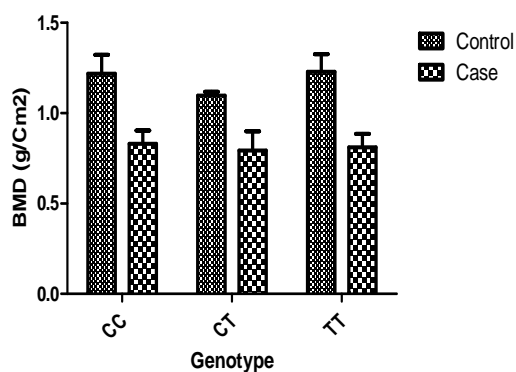
پلی مورفیسم	پرایمر	آنزیم محدودلانتر	طول قطعات ایجاد شده در اثر آنزیم محدودلانتر
rs ۲۲۲۸۵۷۰	F: AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT R: ATGGAAACACCTTGCTTCTCTCCCTC	FokI	۶۷+۱۴۵

پیش‌بینی قبلی BMD در دو گروه بیمار و کنترل معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.001$ ).

تصویر شماره ۳ چند شکلی‌های ایجاد شده rs2228570 در ناحیه گیرنده ویتامین D با استفاده از آنزیم FokI را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی متغیرهای مورد مطالعه در دو گروه مورد و شاهد

سطح معنی داری	گروه کنترل (n=۸۲)	گروه بیمار (n=۹۱)	
<0.001	۵۷/۶۱±۵/۹۱۴	۶۰/۷۸±۳/۹۷۳	سن
<0.001	۱/۲۱۹±۰/۱۰۲	۰/۸۲۱±۰/۰۷۴	تراکم استخوانی (BMD) مهره کمری (g/cm <sup>2</sup> )
<0.001	۰/۳±۰/۸۷	-۲/۹±۱/۰۴	T-score مهره کمری
<0.001	۰/۷±۰/۹۴	-۱/۳±۱/۱	Z-score مهره کمری
<0.001	۰/۳±۰/۸۶	-۲/۹±۰/۸۶	T-score استخوان هیپ
<0.001	۰/۷±۰/۹۴	-۲/۰±۰/۶۷	Z-score استخوان هیپ



نمودار شماره ۱: ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2228570 و تراکم استخوانی (BMD) مهره کمری

توزیع فراوانی ژنوتیپی و اللی در دو گروه زنان دارای پوکی استخوان و گروه سالم در جدول شماره ۳ خلاصه شده است. افرادی که دارای ژنوتیپ CT می‌باشند، ۱/۰۸۷ برابر، شانس بیشتری برای ابتلا به پوکی استخوان نسبت به افراد دارای ژنوتیپ CC دارند (۸/۵۹۸-۰/۱۳۷: ۹۵ درصد CI) و افرادی که دارای ژنوتیپ TT می‌باشند، ۱/۰۲۶ برابر، شانس بیشتری نسبت به افرادی با ژنوتیپ CC برای ابتلا به پوکی استخوان دارند (۲/۱۳۹-۰/۴۹۲: ۹۵ درصد CI).

(New England BioLabs, FokI, Beverly, MA, USA) براساس دستورالعمل آنزیم مخلوط شده به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای بررسی ژنوتیپی، محصول به دست آمده روی ژل آگارز ۲/۵ درصد در مجاورت نشانگر در بافر TBE و در دمای آزمایشگاه به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ ولت اکتروفورز شد. بعد از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید توسط دستگاه ترانس ایلومیناتور آشکارسازی باندها صورت گرفت.

### آنالیز آماری

از تحلیل واریانس دو طرفه، جهت بررسی اثر پلی مورفیسم بر BMD استفاده شد. آزمون پارامتری T test به منظور مقایسه میانگین متغیرهای کمی در دو گروه مورد استفاده قرار گرفته است. هم‌چنین رگرسیون لجستیک برای محاسبه اثر ژنوتایپ و آلل‌های مختلف در بروز بیماری با کنترل اثر متغیرهای مداخله‌گر، مورد استفاده قرار گرفته است. نرم‌افزار آماری به کار رفته SPSS ۱۸ بود.

### یافته‌ها

در مطالعه حاضر ۹۱ زن مبتلا به پوکی استخوان و ۸۲ زن سالم، مورد ارزیابی قرار گرفتند. مشخصات افراد مورد مطالعه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. BMD یکی از معیارهای مهم در تعیین میزان این بیماری می‌باشد. در این مطالعه هیچ‌گونه ارتباطی بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2228570 و BMD مهره کمری دیده نشد (نمودار شماره ۱).

برای بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs2228570 و استئوپروز و اثر متقابل آن‌ها با از روش تحلیل واریانس دوطرفه استفاده شد. بر اساس این نتایج اثر متقابل بین بیماری و SNP معنی‌دار نبود ( $p = 0.086$ ). این نتیجه به وضوح نشان می‌دهد که بر اساس داده‌های موجود هیچ گواهی مبنی بر ارتباط بین این SNP و بیماری پوکی استخوان وجود ندارد. هم‌چنین این روش نشان داد طبق

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی ژنوتیپ های مورد مطالعه در دو گروه بیماران مبتلابه استئوپوروز و شاهد

پلی مورفیسم*	ژنوتیپ	تعداد بیماران (درصد)	تعداد شاهد (درصد)	سطح معنی داری	OR	CI ۹۵ (درصد)
rs ۲۲۲۸۵۷۰ (Foki)	CC	۵۷ (۶۲/۶)	۴۸ (۵۸/۵)	۰/۹۹۵	۱	
	CT	۳ (۳/۳)	۲ (۲/۴)	۰/۹۳۷	۱/۰۸۷	(۰/۱۳۷ - ۸/۵۹۸)
	TT	۳۱ (۳۴/۱)	۳۲ (۳۹)	۰/۹۴۵	۱/۰۲۶	(۰/۴۹۲ - ۲/۱۳۹)
آلل	C	۱۱۷ (۶۴/۳)	۹۸ (۵۹/۸)			
	T	۶۵ (۳۵/۷)	۶۶ (۴۰/۲)	۰/۳۸۶	۰/۸۲۵	(۰/۵۳۴ - ۱/۲۷۵)

\* نتایج مربوط به هر سه مدل نسبت به فاکتور سن تعدیل شده است

## بحث

مطالعات گسترده‌ای در رابطه با ژن‌های مرتبط با استئوپوروز در دنیا انجام شده است ولی در جمعیت زنان استان مازندران، تاکنون مطالعه جامعی صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر پلی مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D FokI (rs2228570) و ارتباط آن با پوکی استخوان در جمعیت زنان استان مازندران مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم با پوکی استخوان مشاهده نشد.

در مطالعه‌ای که در چند استان کشور انجام شده، نشان داده شده است که ۴۷ درصد زنان و ۴۴ درصد مردان بالای ۵۰ سال دچار کمبود تراکم استخوان هستند. به طور کلی در دنیا، بعد از سن ۵۰ سالگی از هر ۳ زن یک نفر و از هر ۵ مرد یک نفر دچار پوکی استخوان هستند (۱۵). پوکی استخوان به دلایل گوناگونی به وجود می‌آید و تحت تاثیر فاکتورهای محیطی مختلف مانند عادات غذایی (کمبود کلسیم، مصرف الکل، کافئین)، شیوه زندگی (فقدان فعالیت بدنی، تابش کم نور مستقیم خورشید به پوست بدن، مصرف دخانیات) و هورمون‌ها قرار دارد. افزون بر این موارد عامل ژنتیکی نقش مهمی در بروز این اختلال ایفاء می‌کند. آزمایش‌هایی که روی دوقلوها انجام شده نشان می‌دهد که عوامل ژنتیکی مسئول ۸۰ درصد تفاوت‌های تراکم استخوانی در یک جمعیت می‌باشند (۱۶). در سال‌های اخیر مطالعات گسترده در زمینه مارکرهای ژنتیکی، به شناسایی چند شکل مختلف از پلی مورفیسم منتهی شده است که با کاهش بافت استخوانی و بالطبع

ریسک بالاتر پوکی استخوان در ارتباط می‌باشند (۱۸، ۱۷). Murison و همکاران در سال ۱۹۹۴ پلی مورفیسمی را در منطقه ۳ ژن VDR تشخیص دادند که با افزایش ریسک پوکی استخوان ارتباط داشت. ۷۵ درصد تأثیر عوامل ژنتیکی بر تفاوت تراکم استخوانی می‌تواند به این پلی مورفیسم ارتباط داده شود (۱۹).

ارتباط بین پلی مورفیسم FokI با تراکم استخوان در زنان یائسه در مطالعات متعددی در جمعیت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است؛ یافته‌ها در خصوص این پلی مورفیسم متناقض گزارش شده، برخی از مطالعات بر وجود ارتباط و برخی دیگر بر عدم وجود ارتباط دلالت دارند (۲۰-۲۲).

Zamuda و همکاران در سال ۲۰۰۰ به بررسی پلی مورفیسم FokI ژن ویتامین D پرداختند و گزارش کردند که فراوانی ژنوتیپ ff در پلی مورفیسم FOKI در زنان یائسه مبتلا به استئوپوروز به طور معنی داری بیش تر بوده (۲۳). McClung و همکاران نیز فراوانی ترکیب آللی ff در مقایسه با ترکیبات آللی دیگر را در زنان یائسه مبتلا به شکستگی استخوان مهره به مراتب بالاتر گزارش کردند (۲۴). Mitra و همکارانش نیز در مطالعه خود ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D (FokI, Apa1, Taq1 و Bsm1) را با میزان تراکم استخوان زنان یائسه مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد که در خصوص ژن FokI افراد با ژنوتیپ CC تراکم استخوان بیش تری نسبت به TT داشتند (۲۴). در حالی که Roux در سال ۲۰۰۱ در مطالعه مروری خود اعلام کرد که ارتباط مؤثری بین پلی مورفیسم ژن

گیرنده ویتامین D با FokI وجود ندارد (۲۵).

ارتباط بین پلی مورفیسم ژن BsmI رسپتور ویتامین D، با تراکم استخوان ستون فقرات و گردن استخوان ران (۲۶) و مهره کمری (۲۷) نیز گزارش شده است در تحقیقات جدیدتر در سال ۲۰۰۴، Khatkhatay و همکارانش به بررسی پلی مورفیسم BsmI، ژن رسپتور ویتامین D در جمعیت زنان هندی پرداختند و بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه اعلام داشتند که فراوانی ترکیب آللی هموزیگوت غالب BB در زنان یائسه هندی مبتلا به استئوپوروز در مقایسه با زنان سالم اختلاف معنی داری داشته و فراوانی ترکیب آللی bb در زنان سالم بیشتر از زنان مبتلا به استئوپوروز بوده است (۲۸) هم چنین در همان سال، Laaksonen و همکارانش در بررسی خود اعلام داشتند که پلی مورفیسم FokI، ژن رسپتور ویتامین D در پسران بالغ با تراکم استخوان ساعد دست و پاشنه پا در ارتباط بوده است ولی این ارتباط در دختران بالغ دیده نشد (۲۹).

مطالعاتی که در ایران انجام شده، بیانگر آن است که حداقل ۷۰ درصد از زنان بالای ۵۰ سال کاهش تراکم استخوان دارند (۳۱، ۳۰). شیوع استئوپوروز با سن مرتبط است و به صورت خطی با افزایش سن، درصد ابتلا به استئوپوروز نیز افزایش می یابد (۳۳، ۳۲). در مطالعه موردی - شاهدهی حاضر هیچ ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم ژن رسپتور ویتامین D (FokI) دیده نشد. با توجه به مطالعات وسیع انجام شده مرتبط با موضوع، در جوامع مختلف گزارشات ضد و نقیضی از ارتباط پلی مورفیسم های ژن رسپتور ویتامین D با استئوپوروز موجود است دلیل این امر را می توان در تعدد ریسک فاکتورهای موثر در بروز بیماری استئوپوروز دانست. این گزارشات حتی در جمعیت افراد مقیم یک کشور نیز

متفاوت بوده است (۲۶، ۳۷-۳۳).

به طور کلی هنوز به طور شفاف مشخص نشده است که آیا استئوپوروز با ژن رسپتور ویتامین D ارتباط دارد یا خیر؟ و اگر این ارتباط وجود دارد با کدام پلی مورفیسم این ارتباط معنی دارتر است اگرچه با توجه به برخی مطالعات که در فوق آمده، این ارتباط برای ژن BsmI به خصوص برای مهره کمری اندکی بیش تر بوده است و در مطالعه حاضر که برای اولین بار در استان مازندران به بررسی پلی مورفیسم رسپتور ویتامین D در زنان استئوپورتیک یائسه پرداخته ارتباط بین ژن FokI و تراکم استخوان را در مهره های کمری و استخوان لگنی مشاهده نشده است. پیشنهاد می شود در مطالعات آینده سایر ژن ها از جمله، Taq1، Apa1 و Bsm1 نیز مورد بررسی قرار گیرد و ارتباط آن با فاکتورهای بیوشیمیایی استئوپوروز نیز مورد بررسی قرار گیرد.

از محدودیت های مطالعه حاضر می توان به عدم تعیین سطح ویتامین D سرم اشاره کرد، پیشنهاد می شود در مطالعات آینده سطح این ویتامین بررسی و ارتباط آن با پلی مورفیسم ژن ها بررسی شود.

## سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح مشترک بین انستیتو پاستور ایران و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و بخشی از پایان نامه دکتری عمومی خانم دکتر طیبه شمالی بوده که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و انستیتو پاستور مرکز آمل انجام گرفته که از بذل توجه و همکاری این مراکز سپاسگزاری می گردد. هم چنین از بیمارستان تامین اجتماعی قائم شهر جهت همکاری در معرفی و هدایت بیماران مبتلا به استئوپوروز قدردانی می گردد.

## References

1. Uitterlinden AG, Pols HA, Burger H, Huang Q, Van Daele PL, Van Duijn CM, et al. A large-scale population-based study of the

association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density. *J Bone Miner Res* 1996; 11(9): 1241-1248.

- 
2. Wilkin TJ. Changing perceptions in osteoporosis. *BMJ* 1999; 318(7187): 862-865.
  3. Marcus R, Wong M, Heath H, Stock JL. Antiresorptive Treatment of Postmenopausal Osteoporosis: Comparison of Study Designs and Outcomes in Large Clinical Trials with Fracture as an Endpoint. *Endocr Rev* 2002; 23(1): 16-37.
  4. Han SM, Szarzanowicz TE, Ziv I. Effect of ovariectomy and calcium deficiency on the ultrasound velocity, mineral density and strength in the rat femur. *Clin Biomech* 1998; 13(7): 480-484.
  5. Silver JJ, Einhorn TA. Osteoporosis and aging: current update. *Clin Orthop Rel Res* 1995; 316: 10-20.
  6. Halioua L, Anderson JJ. Lifetime calcium intake and physical activity habits: Independent and combined effects on the radial bone of healthy premenopausal Caucasian women. *Am J Clin Nutr* 1989; 49(3): 534-541.
  7. Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. *Osteoporos Int* 1997; 7(5): 407-413.
  8. 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.
  9. Baldock PA, Thomas GP, Hodge JM, Baker SU, Dressel U, O'Loughlin PD, et al. Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast. *J Bone Miner Res* 2006; 21(10): 1618-1626.
  10. Collins D, Jasani C, Fogelman I, Swaminathan R. Vitamin D and bone mineral density. *Osteoporos Int* 1998; 8(2): 110-114.
  11. Fradinger EE, Zanchetta JR. Vitamin D and bone mineral density in ambulatory women living in Buenos Aires, Argentina. *Osteoporos Int* 2001; 12(1): 24-27.
  12. Garnero P, Munoz F, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Association of vitamin D status with bone mineral density, bone turnover, bone loss and fracture risk in healthy postmenopausal women. The OFELY study. *Bone* 2007; 40(3): 716-722.
  13. LeBoff MS, Kohlmeier L, Hurwitz S, Franklin J, Wright J, Glowacki J. Occult vitamin D deficiency in postmenopausal US women with acute hip fracture. *JAMA* 1999; 281(16): 1505-1511.
  14. Abassi M, Hassani SH, Sheikholeslami H, Alizadeh SA, Rashvand Z, Yazdi Z, najafipour R. Association between vitamin D receptor Apa1 and Taq1 genes polymorphism and osteoporosis in postmenopausal women. *J Qazvin Univ Med Sci* 2012; 16(3): 4-10 (Persian).
  15. Incidence of G6PD insufficiency in newborn neonates in Imam Khomeini Hospital. <http://bakhtegansh.sums.ac.ir/icarusplus/export/sites/bakhtegansh/maghaleh/ostokhan-va-afasel/6.pdf>. Accessed October 5, 2014.
  16. Ferrari SL, Rizzoli R. Gene variants for osteoporosis and their pleiotropic effects in aging. *Mol Aspects Med* 2005; 26(3): 145-167.
  17. Ferrari S. Human genetics of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22(5): 723-735.
  18. Murrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367(6460): 284-287.



19. Garnero P, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res* 1995; 10(9): 1283-1288.
20. Gross C, Eccleshall T, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R, Feldman D. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res* 1996; 11(12): 1850-1855.
21. Ferrari S, Rizzoli R, Manen D, Slosman D, Bonjour JP. Vitamin D receptor gene start codon polymorphisms (FokI) and bone mineral density: interaction with age, dietary calcium, and 3'-end region polymorphisms. *J Bone Miner Res* 1998; 13(6): 925-930.
22. Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000; 22(2): 203-217
23. McClung MR, Lewiecki E, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, Moffett AH, et al. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006; 354(8): 821-831.
24. Mitra S, Desai M, IkramKhatkhatay M. Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas* 2006; 55(1): 27-35.
25. Roux S. The genetics of osteoporosis. *Joint Bone Spine* 2001; 68(6): 482-486.
26. Mencej-Bedrac S, Prezelj J, Kocjan T, Teskac K, Ostanek B, Smelcer 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. *J Mol Endocrinol* 2009; 42(3): 239-247.
27. Suh KT, Eun IS, Lee JS. Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J* 2010; 19(9): 1545-1450.
28. Zhang ZL, Zhao JX, Meng XW, Zhou XY, Xing XP, Xia WB, et al. Association of polymorphisms of vitamin D receptor gene start codon and 3'-end region with bone mineral density in postmenopausal women. *Zhonghua Yi Xue Yi ChuanXueZa Zhi* 2003; 20(1): 5-8.
29. Laaksonen M, Karkkainen M, Outila T, Rita H, Lamberg-Allard CJ. Vitamin D receptor gene start codon polymorphism (FokI) is associated with forearm bone mineral density and calcaneal ultrasound in Finnish adolescent boys but not in girls. *J Bone Miner Metab* 2004; 22(5): 479-485.
30. Arabi A, Zahed L, Mahfoud Z, El-Onsi L, Nabulsi M, Maalouf J, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms modulate the skeletal response to vitamin D supplementation in healthy girls. *Bone* 2009; 45(6): 1091-1097.
31. Pouresmaeili F, Jamshidi J, Azargashb E, Samangouee S. Association between Vitamin D reseptor Gene BsmI polymorphism and bone mineral Density in A population of 146 iranian women. *Cell J* 2013; 15(1): 75-82.
32. Lisker R, Lo'pez MA, Jasqui S, Ponce De Leo' n Rosales S, Correa-Rotter R, Sanchez S, et al. Association of vitamin D receptor polymorphisms with osteoporosis in Mexican postmenopausal women. *A Hum Biol* 2003; 75(3): 399-403.
33. Khatkhatay MI. Genetic factors contributing to osteoporosis: Study of vitamin D receptor polymorphism and estrogen receptor gene in

- 
- Indian population. *Hum Mol Genet* 2004; 15: 1633-1639.
34. Quesada JM, Casado A, Diaz C, Barrios L, Cuenca-Acevedo R, Dorado G. Allele-frequency determination of BsmI and FokI polymorphisms of the VDR gene by quantitative real-time PCR (QRT-PCR) in pooled genomic DNA samples. *J steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90(1-5): 209-214.
35. Derakhshan S, Salehi R, Rshadmanesh N. Prevalence of osteoporosis, osteopenia and their related factors in post-menopausal women referring to Kurdistan densitometry center. *Scientific J Kurdistan Univ Med Sci* 2006; 11(2): 59-67 (Persian).
36. Lamiaa Mansour A, Manal Sedky SD, Mona AbdelKhader B, Randa Sabry A, Manal Kamal A, Heba El-Sawah. The role of vitamin D receptor genes (FOKI and BSML) polymorphism in osteoporosis. *Middle East Fertil Soc J* 2010; 15(2): 79-83.
37. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K. Expression of P-glycoprotein in Human Placenta: Relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 Gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297(3): 1137-1143.