مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۴/ ۱۲۰-۱۱۲

مقاله پژوهشی

ارتباط جایگاه برش Taq1 ژن کلسیتونین و پلی مورفیسم Alu1 (rs1801197) ژن کلسیتونین رسپتور با میزان تراکم استخوان در زنان بالای ۴۵ سال در شهرستان شهرکرد

فرزانه ضرغام پور[۱]، راضیه پوراحمد[۲*]، مرتضی دهقان[۳]، مرتضی هاشم زاده چالشتری[۴]

[۱]دانشجو، گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۲] گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۳] گروه ارتوپدی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۴]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، شایع ترین اختلال در متابولیسم مواد معدنی استخوان است. جایگاه برشی Taq1 در ژن کلسیتونین و پلی مورفیسم AluI در ژن گیرنده‌ی کلسیتونین به عنوان عوامل ژنتیکی می توانند در ارتباط با میزان تراکم استخوان باشند. هدف از این مطالعه تعیین ارتباط بین جایگاه برش Taq1 و پلی مورفیسم AluI با میزان تراکم استخوان بود.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۲۰۰ خانم بالای ٤٥ سال مراجعه کننده به مراکز سنجش تراکم استخوان شهرکرد در سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ وارد شدند. تراکم استخوان گردن ران و مهره های کمر با استفاده از روش جذب سنجی اشعه X با انرژی دوگانه (DEXA) اندازه گیری و براساس ضریب تی (T- Score) به دو گروه بیمار یا دارای پوکی استخوان (۱۳۰) و سالم یا شاهد (۷۰ نفر) تقسیم شدند. ژنوتیپ های مختلف Taq1 (TT/Tt/tt) و AluI (TT/TC/CC) با استفاده از روش PCR RFLP تعیین شدند.**

یافته ها: **توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم AluI برای ژنوتیپ های TT، TC و CC در گروه شاهد به ترتیب ۳۱/٤٪، ۳۵/۷٪ و ۳۲/۹٪ و در گروه بیمار به ترتیب ۳۱/۵٤٪، ٦۳/۰۸٪ و ۵/۳۸٪ بود (p>۰/۰۵). در گروه شاهد و بیمار برای جایگاه برش Taq1 فقط ژنوتیپ tt مشاهده شد.**

نتیجه گیری: **ارتباط معنی داری بین جایگاه برش Taq1 و پلی مورفیسم AluI با میزان تراکم استخوان وجود نداشت و احتمال دارد عوامل ژنتیکی دیگری بر روی تراکم استخوان تأثیرگذار باشند.**

واژه های کلیدی: **پلی مورفیسم، پوکی استخوان، تراکم استخوان، کلسیتونین، PCR-RFLP.**

مقدمه:

پوکی استخوان (osteoporosis) یک نوع اختلال در استخوان است که به صورت کاهش توده (تراکم) استخوانی و افزایش خطرشکنندگی آن تعریف می شود (۱، ۲).

توده ی استخوانی در اوایل بزرگسالی به بالاترین میزان خود می رسد بعد از آن، مقدار توده ی استخوانی هم در مردان و هم در زنان کم کم تحلیل می رود؛ اما در زنان، بعد از یائسگی، چون میزان هورمون زنانه یا استروژن کاهش می یابد، توده ی استخوانی نسبت به مردان به سرعت کم می شود، به طوری که در ۵ تا ۱۰ سال بعد از یائسگی یک سوم تراکم استخوانی آن ها از دست می رود. در سنین بعد از ۶۵ سالگی مقدار از دست رفتن استخوان در زنان و مردان یکسان می شود و کاهش توده ی استخوان تا آخر عمر ادامه می یابد (۳، ۴).

مطالعه های قبلی بر روی دوقلوها و خانواده های آن‌ها نشان داده است که وراثت در تشکیل توده استخوانی نقش مهمی دارد. در این مطالعه‌ها، توارث پذیری توده‌ی استخوانی بین ۵۰ تا ۸۵ درصد با بیشترین تأثیر بر روی استخوان‌های محوری تخمین زده شد (۷-۵).

***نویسنده مسئول:** شهرکرد- دانشگاه شهرکرد-گروه ژنتیک- تلفن: ۰۹۱۲۷۷۹٦۷٦۳، E-mail: razieh_jaktaji@yahoo.com*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

مطالعات مختلفی در مورد ارتباط پلی مورفیسم های ژن های متعدد با پوکی استخوان انجام شده است که از آن جمله می توان به ژن گیرنده ویتامین دی، کلاژن نوع ۱، کلسیتونین رسپتور، عامل رشد شبه انسولین و اینترلوکین ۶ اشاره کرد (۲، ۹-۸).

کلسیتونین (Calcitonin=CT) هورمونی پلی پپتیدی متشکل از۳۲ آمینواسید می باشد که اولین بار توسط Coop و همکارانش در سال ۱۹۶۲ در طی تحقیقات خود بر هورمون های تنظیم کننده‌ی میزان کلسیم سرم خون معرفی شد. ژن کلسیتونین بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ قرار دارد (۱۰، ۱۱).

کلسیتونین از طریق فیدبک منفی باعث کاهش کلسیم خون شده و بدین وسیله نقش عمده ای در تنظیم غلظت کلسیم ایفا می کند. این هورمون نفوذپذیری سلول ها را نسبت به کلسیم کاهش داده فعالیت استئوکلاست ها را متوقف کرده از طریق وقفه در برداشت کلسیم از استخوان‌ها و تشدید فعالیت استئوبلاست‌ها عمل استخوان سازی را تسهیل و تشدید می‌کند (۱۱، ۱۲).

Hoppner و همکاران در سال ۱۹۸۴ در طی مطالعات خود بیان داشت که ژن کلسیتونین دارای یک جایگاه برش برای آنزیم محدود کننده ی Taq1 می باشد، این جایگاه برش روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ (11p14) قرار دارد (۱۳).

کلسیتونین رسپتور (Calcitonin receptor =CTR)، پروتئینی متعلق به خانواده ی G-protein ها می‌باشد و دارای ۷ دامین تراغشایی است. ژن CTR بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ (7q21) قرار دارد. این رسپتور در استئوکلاست ها و اپی تلیوم مجاری کلیوی، بیضه، مغز و تخمدان وجود دارد. فعالیت کلسیتونین از طریق رسپتور آن (CTR) ، تنظیم می‌شود (۱۶-۱۴).

Taboulet و همکاران در طی مطالعات خود در سال ۱۹۹۶، یک پلی مورفیسم T/C را در ناحیه `۳ ژن رسپتور کلسیتونین گزارش کرد، که موجب جایگزینی یک آمینواسید لوسین (CTG) در موقعیت ۴۴۷ به جای پرولین (CCG) در سومین دامین داخل سلولی این رسپتور می‌شد (۱۷). این پلی مورفیسم مشابه پلی مورفیسمی بود که بعدها توسط Nakamura و همکاران در سال ۱۹۹۷ و Masi و همکاران در سال ۱۹۹۸ به صورت Pro463Lue بیان شد تفاوت در شماره آمینواسید بستگی به این دارد که ایزوفرم ۱ یا ایزوفرم ۲ ژن CTR، با یا بدون ۱۶ آمینواسید الحاقی، باشد (۱۸، ۱۹). Nakamura و همکاران در سال ۱۹۹۷، در طی مطالعه ی خود در یک جمعیت ژاپنی، متوجه یک پلی مورفیسم در نوکلئوتید ۱۳۷۷ ژن کلسیتونین رسپتور شدند که موجب جایگزینی یک اسیدآمینه لوسین (CTG) در موقعیت ۴۶۳ به جای پرولین (CCG) می شود. ژنوتیپ افراد هتروزیگوت به صورت (TC) و افراد هموزیگوت لوسین به صورت (TT) و هموزیگوت پرولین به صورت (CC) نشان داده می‌شوند (۱۹).

پلی مورفیسم یا چند شکلی، تغییر نوکلئوتید در توالی ژن ها است که به بیماری خاصی منجر نمی‌شود و فراوانی بیش تر از یک درصد در جوامع دارد. در واقع این پلی مورفیسم ها می‌توانند جایگاه شناسایی یک آنزیم را ایجاد کنند یا از بین ببرند و ژنوتیپ‌های متفاوتی را ایجاد کنند. در ژن کلسیتونین و گیرنده ی کلسیتونین توانایی ایجاد برش توسط آنزیم‌های به ترتیب Taq1 و AluI موجب به وجود آوردن ژنوتیپ های زیر می‌گردد. ژنوتیپ‌های AluI: CC (عدم وجود جایگاه شناسایی آنزیم)، TC (هتروزیگوت بودن جایگاه شناسایی آنزیم) و TT (هموزیگوت بودن جایگاه شناسایی آنزیم) و ژنوتیپ های Taq1: TT (هموزیگوت بودن جایگاه شناسایی آنزیم)، Tt (هتروزیگوت بودن جایگاه شناسایی آنزیم) و tt (وجود جایگاه شناسایی آنزیم).

مطالعه حاضر به منظور بررسی ارتباط جایگاه برش Taq1 ژن کلسیتونین و پلی‌مورفیسم AluI(rs1801197) ژن گیرنده‌ی کلسیتونین با میزان تراکم استخوان انجام شد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی در سال های ۹۲-۱۳۹۱ تعداد ۲۰۰ خانم بالای ۴۵ سال انتخاب شدند، حجم نمونه ای که برای این مطالعه در نظر گرفته شده بود با استفاده از فرمول کوکران (n=z2pqN/d2(N-1)+z2pq)، ۲۰۰ مورد برآورد شد. میزان تراکم استخوان در مهره‌های کمری، گردن استخوان ران این افراد با روش جذب سنجی اشعه X با انرژی دوگانه (Dual-energy X-ray absorptiometry=DEXA)، تعیین و مقادیر T-Score مشخص شدند. بر اساس ضریب تی (T-Score) به دو گروه بیمار یا دارای پوکی استخوان (۱۳۰) و سالم یا شاهد (۷۰ نفر) تقسیم شدند. با توجه به عدد T-Score، تراکم استخوان هر شخصی در یکی از ۲ گروه شامل: تراکم طبیعی: T-Score بالاتر از ۱؛ کاهش تراکم استخوان یا استئوپنی:T-Score بین ۱ تا ۲/۵ قرار می گیرد (۲،۱).

افراد پس از اعلام آمادگی و تکمیل برگه رضایتنامه وارد مطالعه گردیدند. بیماران با سابق مصرف کورتون، برداشتن و نارسایی زودرس تخمدان، بیماری های تیروئید، اختلالهای جذب کلسیم، بیماری های دستگاه گوارش و بیماری های کلیه از مطالعه حذف شدند. سپس به منظور بررسی ژنتیکی از آن ها ۵CC خون کامل اخذ و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (۰/۵ مولار) جمع آوری گردید. این نمونه ها تا روز آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

DNA ژنومی با استفاده از روش فنل- کلروفرم از نمونه های خون جمع آوری شده، استخراج گردید (۲۰). پلی مورفیسم AluI ژن گیرنده ی کلسیتونین و Taq1 ژن کلسیتونین با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (ساخت شرکت ژن فناوران) توسط نرم افزار Primer 3 (جدول شماره ۱) و روش PCR تکثیر شدند.

جدول شماره۱: توالی پرایمر های مورد استفاده جهت بررسی پلی مورفیسم AluI ژن گیرنده کلسیتونین و Taq1 ژن کلسیتونین

نام ژن	نام پرایمر	توالی پرایمر ('۵→'۳)	طول قطعه
گیرنده کلسیتونین	AluI- F	ATTCAGTGGAACCAGCGTTGG	۲۲۸
	AluI- R	CTCAGTGATCACGATGCTGTG	
کلسیتونین	Taq1-F	CAGACTGTGCATGCTACA	۲۸۰
	Taq1-R	CCTGCCTGCAACAGGAC	

مواد واکنش PCR عبارت بودند از: ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۱ میکرولیتر MgCl2 (۵۰mM)، ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط dNTP (۱۰mM)، ۰/۴ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها (۱۰pmol)، ۸۰ نانوگرم بر میکرولیتر از DNA ژنومیک و نهایتاً ۰/۱ میکرولیتر از آنزیم Taq پلیمراز (۵U/µL) و ddH2O به اندازه ای که حجم واکنش به ۲۵µL برسد.

واکنش PCR با شرایط حرارتی زیر برای هر کدام از پلی مورفیسم ها انجام شد.

برنامه دمایی برای پلی مورفیسم Taq1 ژن کلسیتونین: ۳ دقیقه دناتوره کردن ابتدایی در دمای ۹۵°C و در ادامه ۳۵ چرخه شامل دناتوره شدن در دمای ۹۵°C به مدت ۵۰ ثانیه ، اتصال در دمای ۵۰°C به مدت ۴۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۵۰ ثانیه و در نهایت گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه.

برنامه دمایی برای پلی مورفیسم AluI ژن کلسیتونین رسپتور: ۳ دقیقه دناتوره کردن ابتدایی در دمای ۹۵°C و در ادامه ۳۵ چرخه شامل دناتوره شدن در دمای ۹۵°C به مدت ۴۰ ثانیه ، اتصال در دمای ۵۹°C به مدت ۴۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۵۰ ثانیه و در نهایت گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه.

بعد از تکثیر و مشاهده محصول روی ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد، قطعات توسط آنزیم‌های محدود کننده ی AluI و Taq1 (فرمنتاز) هضم شدند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

ترکیب واکنش عبارت بود از: ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR به همراه ۱ میکرولیتر از هرکدام از آنزیم‌ها، ۲ میکرولیتر بافر مربوط به هر کدام از آنزیم‌ها و ddH2O به اندازه‌ای که حجم نهایی به ۳۰ میکرولیتر برسد. سپس واکنش‌های هر دو آنزیم طبق دستور ارائه شده شرکت مذکوردر ۳۷درجه سانتیگراد و به مدت ۱۶ ساعت گرمخانه گذاری گردیدند. محصول های به دست آمده بر روی ژل پلی آکریل آمید بررسی و ژنوتیپ‌های AluI و Taq1 تعیین شدند. داده‌ها با آزمون‌های آماری کای دو و آنوا تحلیل شدند.

یافته ها:

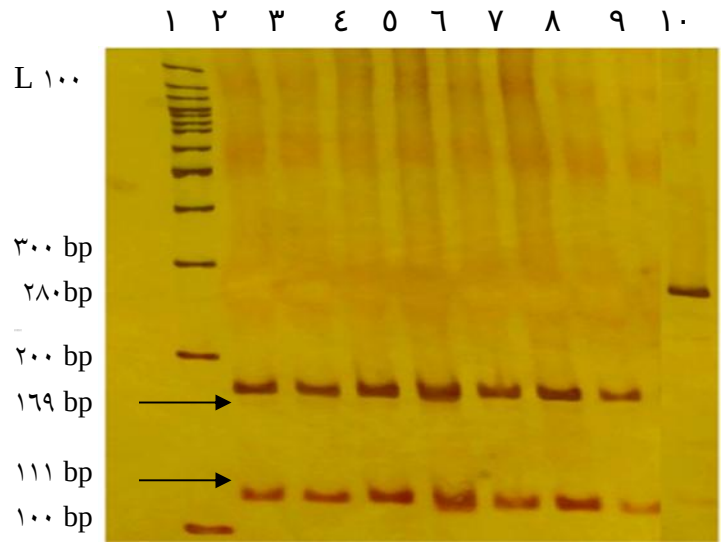
براساس نتایج به دست آمده از عکس ها و میزان T-Score و تراکم استخوان (Bone mineral density= BMD)، افراد به دو گروه شاهد با ۷۰ نفر و گروه بیمار با ۱۳۰ نفر تقسیم شدند (جدول شماره۲).

طول قطعه تکثیر شده در پلی مورفیسم Taq1 حدود ۲۸۰ جفت باز بود که پس از هضم با آنزیم Taq1 در صورت وجود جایگاه شناسایی آنزیم دو قطعه ی ۱۱۱ و ۱۶۹ جفت بازی تولید می کرد (تصویر شماره ۱).

جدول شماره ۲: مقایسه متغیر های مورد بررسی در گروه بیمار یا دارای پوکی استخوان و سالم

گروه ها / متغیرها	بیمار (n=۱۳۰)	شاهد (n=۷۰)
میانگین T-Score در مهره های کمری	-۲/۸±۰/۶۷	-۰/۹±۰/۸
میانگین T-Score در گردن ران	-۱/۳±۰/۷۸	-۰/۳٤±۰/۵۵
میانگین BMD در مهره های کمری (g/cm^2)	۰/۷۳±۰/۱	۰/۹۲±۰/۱۵
میانگین BMD در گردن ران (g/cm^2)	۰/۷٦±۰/۱	۰/۸۸±۰/۱۱
سن (سال)	۵۹/۹±۸/٤	۵۱/۳±۵/۷

داده ها به صورت میانگین ±انحراف معیار می باشد.

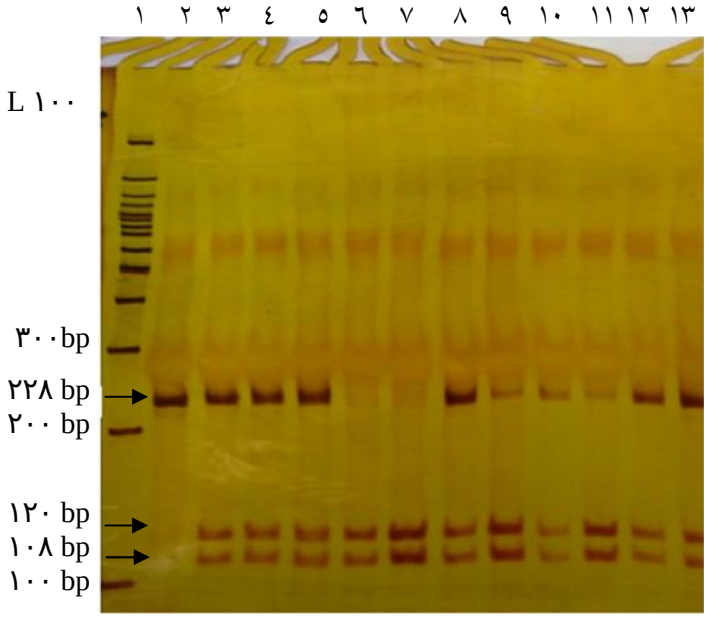


تصویر شماره ۱: نتایج مربوط به هضم آنزیمی جایگاه Taq1 ژن کلسیتونین

۱: مارکر ۱۰۰ شرکت فرمنتاز، ۲-۸: تمامی افراد مورد مطالعه چه در گروه بیمار و چه در گروه شاهد دارای ژنوتیپ tt بودند، ۹: کنترل منفی، ۱۰: کنترل مثبت.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

طول قطعه تکثیر شده در پلی مورفیسم AluI حدود ۲۲۸ جفت باز بود که پس از هضم با آنزیم AluI در صورت وجود جایگاه شناسایی آنزیم دو قطعه ی ۱۰۸ و ۱۲۰ جفت بازی تولید می کرد (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره۲: نتایج مربوط به هضم آنزیمی پلی مورفیسم AluI ژن کلسیتونین رسپتور

۱: مارکر ۱۰۰ شرکت فرمنتاز، ۲: افراد با ژنوتیپ CC دارای یک باند (۲۲۸ جفت بازی)، ۳، ٤، ٥ و ۸-۱۳: افراد با ژنوتیپ TC دارای سه باند (۲۲۸ ، ۱۰۸ و ۱۲۰ جفت بازی)، ٦ و ۷: افراد با ژنوتیپ TT دارای دو باند (۱۲۰ و ۱۰۸ جفت بازی) بودند.

فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم AluI و جایگاه برش Taq1 در هر دو گروه بیمار و شاهد محاسبه گردید. توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم AluI برای ژنوتیپ های TT، TC و CC در گروه شاهد به ترتیب ۳۱/۴٪، ۳۵/۷٪ و ۳۲/۹٪ و در گروه بیمار به ترتیب ۳۱/۵۴٪، ۶۳/۰۸٪ و ۵/۳۸٪ بود (P>۰/۰۵). در گروه شاهد و بیمار برای جایگاه برش Taq1 فقط ژنوتیپ tt مشاهده شد (جدول شماره۳).

جدول شماره ۳: فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم AluI و جایگاه برش Taq1 در گروه شاهد و بیمار.

گروه ها / ژنوتیپ ها	شاهد		بیمار	
	تعداد	درصد فراوانی	تعداد	درصد فراوانی
(Alu 1) TT	۳۳	۲۵/٤	۲۲	۳۱/٤
TC (Alu 1)	۷۲	۵۵/٤	۲۷	۳۸/٦
CC (Alu 1)	۲۵	۱۹/۲	۲۱	۳۰
tt (Taq1)	۱۳۰	۱۰۰	۷۰	۱۰۰

بر اساس آزمون کای دو برای پلی‌مورفیسم AluI تعادل هاردی واینبرگ برقرار بود و در گروه بیمار (P=۰/۴۴۳) و شاهد (P=۰/۱۶) انحراف معنی داری وجود نداشت، بین گروه بیمار و شاهد نیز در فراوانی پلی مرفیسم ها اختلاف معنی داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

میانگین T-Score مهره‌های کمری و گردن ران در ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم AluI و

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

جایگاه برش Taq1 نیز بررسی گردید، بر این اساس ارتباط معنی داری بین میانگین T-Score در مهره های کمر و گردن با ژنوتیپ پلی مورفیسم AluI وجود نداشت (P>۰/۰۵، جدول شماره ۴). برای پلی مورفیسم Taq1 ژن کلسیتونین از آنجایی که تمام افراد مشاهده شده چه در گروه بیمار و چه در گروه شاهد ژنوتیپ tt را نشان دادند پس چنین آنالیزهای آماری انجام نشد.

جدول شماره ۴: میانگین و انحراف معیار T-Score مهره‌های کمری و گردن ران در ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم AluI

محل بررسی	ژنوتیپ‌های AluI	تعداد	میانگین T-Score	سطح معنی داری
مهره های کمری	TT	۳۳	−۲/۹۳۳±۰/٤۷	۰/٤٦٦
	TC	۷۲	−۲/۷۱۲±۰/۸	
	CC	۲۵	−۲/۸۱۹±۰/٤۵	
گردن ران	TT	۳۳	۰/۷۵±−۱/۳۸۸	۰/۹۵۹
	TC	۷۲	۰/۸٤±−۱/۳۳۵	
	CC	۲۵	−۱/۳۵۲±۰/٦۷	

بحث:

در این تحقیق ارتباط پلی مورفیسم AluI ژن کلسیتونین رسپتور با میزان تراکم استخوان در زنان بالای ۴۵ سال بررسی شد. در این مطالعه همچنین حضور ۲ شکل آللی، ژن گیرنده کلسیتونین، به علت جایگاه پلی مورفیسمی AluI تأیید شد. با توجه به مقدار P-Value محاسبه شده، از لحاظ آماری برای پلی مورفیسم AluI در گروه کنترل و شاهد انحراف معنی داری وجود نداشت و تعادل هاردی واینبرگ برقرار بود. از طرفی بین گروه بیمار و شاهد نیز اختلاف معنی داری وجود نداشت. با توجه به مقادیر مورد انتظار و طبق نتایج به دست آمده، دریافتیم که فراوانی ژنوتیپی افراد هتروزیگوت TC در گروه بیمار نسبت به سایر ژنوتیپ ها بالاتر است و این افراد میزان تراکم استخوان بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها به خود اختصاص دادند؛ بنابراین ژنوتیپ هتروزیگوت ژن گیرنده کلسیتونین یک برتری قابل توجهی نسبت به ژنوتیپ‌های هموزیگوت دارد. افراد هموزیگوت TT نسبت به هموزیگوت CC دارای میزان تراکم استخوان کمتری بودند، ولی با این وجود طبق آنالیزهای آماری بین میزان تراکم استخوان و پلی مورفیسم AluI ژن کلسیتونین رسپتور ارتباط معنی داری وجود نداشت. Masi و همکاران در سال ۱۹۹۸، طی مطالعات خود در زنان ایتالیایی مشاهده کرد که فراوانی ژنوتیپ های TC هتروزیگوت و TT هموزیگوت بالا است و بعلاوه ژنوتیپ TT هموزیگوت نسبت به ژنوتیپ CC به طور قابل توجهی سبب کاهش مقدار BMD کمری می شود (۱۸).

Braga و همکاران در سال ۲۰۰۰ ارتباط بین پلی مورفیسم های AluI (rs1801197) لوکوس کلسیتونین رسپتور (CTR) و مقدار BMD در مهره های کمری (Lumbar spine) و نزدیک مفصل ران (Hip) را مورد ارزیابی قرار دادند، آن ها متوجه شد که پلی مورفیسم AluI ژن CTR در سن پایین تر، با مقدار BMD ستون فقرات (مهره‌ها) در ارتباط است، به عبارتی این پلی مورفیسم ارتباط بیشتری با توده ی استخوانی، نسبت به از دست دادن استخوان بعلت پیری دارد (۲۱).

در این تحقیق ارتباط جایگاه برش Taq1 ژن کلسیتونین با میزان تراکم استخوان در زنان بالای ۴۵ سال نیز بررسی شد، طبق مطالعاتی که توسط سایر محققین انجام شده این جایگاه برش پلی مورفیک بوده و با بیماری های مختلفی در ارتباط می باشد (۱۱)، اما تاکنون ارتباط این

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

جایگاه برش با پوکی استخوان بررسی نشده است. در طی این تحقیق مشخص شد که این جایگاه برش در افراد بررسی شده پلی مورفیک نیست.

نتیجه‌گیری:

ارتباط معنی داری بین جایگاه برش Taq1 و پلی مورفیسم AluI با میزان تراکم استخوان در شهرستان شهرکرد وجود نداشت و احتمال دارد عوامل ژنتیکی دیگری بر روی تراکم استخوان تاثیر گذار باشند، پیشنهاد می‌گردد که سایر پلی مورفیسم‌های ژن گیرنده ی کلسیتونین نیز مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان به هاپلوتایپ کامل این ژن دست یافت، همچنین پیشنهاد می‌شود ارتباط سایر پلی‌مورفیسم‌های سایر ژن‌های درگیر در استخوان سازی و میزان تراکم استخوان نیز مورد بررسی قرار بگیرد.

تشکر و قدر دانی:

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 بودجه تحقیق از طرح شماره ۱۴۱۰-۸۹-۰۱-۹۱ مورخ ۹۱/۱۱/۳ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین اعتبار شد.

منابع:

1. 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.
2. Ozbas H, Tutgun Onrat S, Ozdamar K. Genetic and environmental factors in human osteoporosis. Mol Biol Rep. 2012; 39(12): 11289-96.
3. Richards JB, Zheng HF, Spector TD. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges. Nat Rev Genet. 2012; 13(8): 576-88.
4. Cheung CL, Xiao SM, Kung AW. Genetic epidemiology of age-related osteoporosis and its clinical applications. Nat Rev Rheumatol. 2010; 6(9): 507-17.
5. Wu S, Liu Y, Zhang L, Han Y, Lin Y, Deng HW. Genome-wide approaches for identifying genetic risk factors for osteoporosis. Genome Med. 2013; 5(5): 44.
6. Zheng HF, Spector TD, Richards JB. Insights into the genetics of osteoporosis from recent genome-wide association studies. Expert Rev Mol Med. 2011; 13: 28.
7. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. Endocr Rev. 2010; 31(5): 629-62.
8. Marini F, Brandi ML. Genetic determinants of osteoporosis: common bases to cardiovascular diseases? Int J Hypertens. 2010; 2010.
9. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. J Clin Invest. 1987; 80(3): 706-10.
10. Ralston SH, de Crombrugghe B. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. Genes Dev. 2006; 20(18): 2492-506.
11. Copp DH, Cameron EC, Cheney BA, Davidson AG, Henze KG. Evidence for calcitonin--a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. Endocrinology. 1962; 70: 638-49.
12. Becker KL, Nylen ES, Cohen R, Snider RH. Calcitonin: structure, molecular biology, and actions.Bilezikian J, Raisz LG, Rodan GA (editors). Principles of Bone Biology. San Diego, California: Academic Press, 1996.
13. Hoppener JW, Steenbergh PH, Zandberg J, Bakker E, Pearson PL, Geurts van Kessel AH, et al. Localization of the polymorphic human calcitonin gene on chromosome 11. Hum Genet. 1984; 66(4): 309-12.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

14. Lkhagvasuren U, Jav S, Batjargal O, Batsukh M. Association between osteoporosis and polymorphisms of the bone estrogen receptor 1, calcitonin receptor genes in Mongolian postmenopausal women. Peer J Pre Prints. 2014; 2167-9843.
15. Drews K, Seremak-Mrozikiewicz A, Bartkowiak-Wieczorek J, Pienkowski W, Dubiel M, Mrozikiewicz PM. Genetic polymorphism of the calcitonin receptor gene and bone mineral density in Polish population of postmenopausal women. Ginekol Pol. 2005; 76(8): 612-8.
16. Xu J, Gao Y, Yin J, Zhao X, Wang H, Yuan H, et al. Calcitonin receptor gene polymorphism in chinese xinjiang han and uygur women with primary osteoporosis. J Nutr Health Aging. 2014; 18(2): 204-8.
17. Taboulet J, Frenkian M, Frendo JL, Feingold N, Jullienne A, de Vernejoul MC. Calcitonin receptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in post-menopausal women. Hum Mol Genet. 1998; 7(13): 2129-33.
18. Masi L, Becherini L, Colli E, Gennari L, Mansani R, Falchetti A, et al. Polymorphisms of the calcitonin receptor gene are associated with bone mineral density in postmenopausal Italian women. Biochem Biophys Res Commun. 1998; 248(1): 190-5.
19. Masi L, Brandi ML. Calcitonin and calcitonin receptors. Clin Cases Miner Bone Metab. 2007; 4(2): 117-22.
20. Nakamura M, Zhang ZQ, Shan L, Hisa T, Sasaki M, Tsukino R, et al. Allelic variants of human calcitonin receptor in the Japanese population. Hum Genet. 1997; 99(1): 38-41.
21. Dale JW, van Schantz M. Purification and Separation of Nucleic Acids. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology. 2002.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Aug, Sep; 17(3): 112-120.

Original article

Association of Taq1 restriction site of Calcitonine gene and Alu1 (rs1801197) polymorphism of Calcitonin receptor gene with bone mineral density in 200 women over 45 years in Shahrekord city

Zarghampour F[1], Pourahmad R[2*], Dehghan M[3], Hashemzadeh-Chaleshtori M[4]
[1]Student, Genetics Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Genetics Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Orthopedics Dept., Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, I.R. Iran; [4]Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.
Received: 8/Feb/2014 Accepted: 4/Sep/2014

Background and aims: Osteoporosis is the most common disorder in metabolism of bone minerals. Restriction site Taq1 in Calcitonine gene and AluI polymorphism in Calcitonin receptor gene as genetic factors can be associated with bone mineral density. The aim of this study was to determine the association of restriction site Taq1 and AluI polymorphism with bone mineral density.
Methods: In this descriptive analytical study, 200 women over 45 years who referred to Bone Mineral Density Assay Centers in Shahrekord in years 1391-92 were included. Bone mineral density at femur neck and lumbar spine was measured by DEXA method. Based on T score, an indicator of bone mineral density these women divided to patient or osteoporotic group (130 persons) and healthy or control group (70 persons). Then different genotypes of Taq1 (TT/Tt/tt) and AluI (TT/TC/CC) were determined by PCR-RFLP method and data was analyzed by statistical tests, including Chi square and ANOVA. P values less than 0.05 was considered statistically significant.
Results: In control group the percent of genotype distribution for TT, TC and CC genotypes was 31.4%, 35.7% and 22.9%, respectively. In patient group the genotype distribution percentage for above genotypes was 31.54%, 63.08% and 5.38%, respectively. The P value of this polymorphism with bone mineral density was more than 0.05. Both in control and patient groups for Taq1 restriction site the tt genotype was seen.
Conclusion: There was no association between each of AluI polymorphism and Taq1 restriction site and bone mineral density and it is possible that other genetic factors would be effective.

***Keywords*:** Polymorphism, Osteoporosis, Bone mineral density, Calcitonin, PCR-RFLP**.**

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:07 +0430 on Saturday August 26th 2017

Cite this article as: Zarghampour F, Pourahmad R, Dehghan M, Hashemzadeh-Chaleshtori M. Association of Taq1 restriction site of Calcitonine gene and Alu1 (rs1801197) polymorphism of Calcitonin receptor gene with bone mineral density in 200 women over 45 years in Shahrekord city. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(3): 112-120.

[*]**Corresponding author:**
Genetics Dept., University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00989127796763, E-mail: razieh_jaktaji@yahoo.com