



Scan online to view this article

Evaluation of the relationship between different polymorphisms of vitamin D receptor gene and renal diseases in patients with type 2 diabetes in Khuzestan province

Ezatollah Jahanpour, Hosein Sazgar*, Abbas Doosti.

Department of Biology, Science Faculty, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Abstract

Aim and Background: The purpose of this study was to investigate the association between different polymorphisms of the vitamin D receptor coding gene (Taq1, Bsm1, Apa1, Fok1) with renal disease in patients with type 2 diabetes.

Material and methods: In this case-control study, blood samples were taken from 50 healthy controls and 50 type 2 diabetic patients as control and 50 type 2 diabetic patients with nephropathy. Then, SSP-PCR technique was used to determine the different genotypes of vitamin D receptor polymorphisms and the results were analyzed by SPSS 22 software.

Results: In type 2 diabetic patients with Bb (64%) genotypes were the most frequent genotypes for Bsm1 polymorphism, FF (54%) for Fok1, Aa (84%) for Apa1 and TT (36%) for Taq1. In addition, the probability of Nephropathy with bb genotype (P-Value = 0.007, OR = 6.7730) for Bsm1 polymorphism, ff genotype (OR = infinity and P-Value = 0.01) for Fok1 polymorphism, Aa genotype (OR) = 5.25 and P-Value <0.001) for Apa1 polymorphism and tt genotype (OR = 5.41, P-Value = 0.003) for Taq1 polymorphism increased.

Conclusion: Genotypic frequency of Bsm1, Apa1, Fok1 and Taq1 polymorphisms is related to the incidence of renal disease (Nephropathy) in type 2 diabetic patients. However, the correlation between different polymorphisms and the incidence of kidney disease shows that Apa1 polymorphism has the greatest effect on renal complications in patients with type 2 diabetes. In addition, Bsm1 polymorphism has the highest effect on the incidence of type 2 diabetes.

Keywords: Polymorphism, the vitamin D receptor, nephropathy, type 2 diabetes.

Corresponding author:

Department of Biology, Science Faculty, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Email: hoseinsazgar@yahoo.com



برای مشاهده این مقاله به صورت
آنلاین اسکن کنید

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های مختلف ژن گیرنده ویتامین D با بیماری های کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در استان خوزستان

عزت الله جهان پور، حسین سازگار*، عباس دوستی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: هدف از این انجام مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم های مختلف ژن کدکننده گیرنده ویتامین D (Fok1، Apa1، Bsm1، Taq1) با بیماری های کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

مواد و روش ها: در این مطالعه شاهدی-موردی خون گیری از ۵۰ فرد سالم و ۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ به عنوان گروه های شاهد و ۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ دارای عارضه نفروپاتی انجام شد. در ادامه برای تعیین ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D از تکنیک (SSP-PCR) استفاده شد و نتایج حاصل توسط آزمون های آماری (کای دو و V کرامر) به وسیله نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: در بیماران دیابتی نوع ۲ با بیماری های کلیوی ژنوتیپ های Bb (۶۴ درصد) برای پلی مورفیسم Bsm1، FF (۵۴ درصد) برای Fok1، Aa (۸۴ درصد) برای Apa1 و TT (۳۶ درصد) برای Taq1 دارای بیشترین فراوانی ژنوتیپی هستند. به علاوه احتمال بروز بیماری نفروپاتی با وجود ژنوتیپ bb (P-Value= 0.007, OR=6.7730) برای پلی مورفیسم Bsm1، وجود ژنوتیپ ff (OR= infinity و P-Value=0.01) برای پلی مورفیسم Fok1، وجود ژنوتیپ Aa (OR=5.25 و P-Value<0.001) برای پلی مورفیسم Apa1 و وجود ژنوتیپ tt (OR= 5.41, P-Value=0.003) برای پلی مورفیسم Taq1 افزایش می یابد.

نتیجه گیری: فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم های Fok1، Apa1، Bsm1 و Taq1 با بروز بیماری های کلیوی (نفروپاتی) در بیماران دیابتی نوع ۲ ارتباط دارد. در این میان بررسی میزان همبستگی پلی مورفیسم های مختلف با بروز بیماری های کلیوی نشان می دهد که پلی مورفیسم Apa1 دارای بیشترین اثر در بروز عوارض کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ است. به علاوه پلی مورفیسم Bsm1 دارای بیشترین اثر بر بروز بیماری دیابت نوع ۲ است.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم، ژن گیرنده ویتامین D، نفروپاتی، دیابت نوع ۲

مقدمه

دیابت قندی یک بیماری مزمن است و زمانی بروز می کند که توانایی لوزالمعده در ترشح انسولین کم شده و یا از بین رفته باشد و یا این که بدن نتواند به طور مؤثر از انسولین ترشح شده

توسط لوزالمعده استفاده کند. اختلال یا عدم ترشح انسولین توسط لوزالمعده یا عدم فعالیت مناسب انسولین و یا هر دو عامل، باعث افزایش قند خون (هیپرگلیسمی) و دیگر اختلال-های متابولیکی می شود که اگر هیپرگلیسمی به خوبی کنترل نشود، ممکن است موجب بروز عوارض جدی و جبران ناپذیری گردد. مهم ترین عوارض این بیماری شامل نفروپاتی (مشکلات کلیه)، رتینوپاتی (مشکلات چشمی)، نوروپاتی (مشکلات رشته های عصبی) و بیماری قلبی عروقی (مشکلات مربوط به دستگاه گردش خون) است (۲).

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی،
شهرکرد، ایران

پست الکترونیکی: hoseinsazgar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰

دیابت به دلیل رشد جمعیت، افزایش سالمندی، شهرنشینی، شیوع چاقی و عدم تحرک، به سرعت در حال گسترش است و انتظار می رود تعداد کل افراد مبتلا در سراسر جهان از ۱۷۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۰ به ۳۶۶ میلیون نفر تا سال ۲۰۳۰ افزایش یابد. پیش بینی می شود ۷۷/۶ این افراد مربوط به کشورهای در حال توسعه باشد (۱۹).

در دیابت نوع ۲ اختلال هم در ترشح انسولین و هم در فعالیت انسولین وجود دارد و به طور معمول به کمک رژیم غذایی مناسب، فعالیت بدنی کافی و داروهای خوراکی کاهنده قند خون درمان می شود. در برخی موارد نیز برای دستیابی به کنترل گلیسمیک مطلوب، نیاز به انسولین درمانی است (۲). دیابت نوع ۲ که حدود ۹۵-۹۰ درصد موارد ابتلا به دیابت را تشکیل می دهد (۵)، با افزایش مرگ و میر، کاهش کیفیت زندگی و عوارض میکرو و ماکرواسکولار هم چون کوری، بیماری های کلیوی و قلبی و نوروپاتی همراه است (۴).

بیماری های کلیوی ناشی از دیابت (نفروپاتی دیابتی) پدیده ای مزمن و پیشرفته است که در نزدیک به ۱/۳ از بیماران دیابتی ایجاد می شود. ویژگی های نفروپاتی دیابتی عبارتند از افزایش دفع پروتئین و آلبومین از ادرار، فشار خون بالا و کاهش فعالیت کلیه ها. این پدیده طی سال های متمادی پیشرفت می کند. بیماران مبتلا به نفروپاتی در معرض افزایش خطر برخی دیگر از عوارض دیابت نظیر بیماری های قلبی عروقی، مشکلات چشمی دیابت (رتینوپاتی) و مشکلات عصبی دیابت (نوروپاتی) هستند. پیشروی تا آخرین مرحله بیماری کلیه (از کار افتادن کلیه) یکی از مشکلات اساسی بیماران دیابتی است که به پیوند کلیه یا دیالیز ختم می گردد. مطالعه ها نشان می دهد که نزدیک به ۲۵ درصد از بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ دچار نارسایی کلیه می شوند، اما در ۵ تا ۱۰ درصد سفیدپوستان مبتلا به دیابت نوع ۲ نارسایی کلیه ایجاد می شود، در حالی که در جمعیت های غیر سفیدپوست میزان شیوع نارسایی کلیوی دیابت بیش تر است (۱۶).

ویتامین D در ترشح و اختلال عملکرد انسولین نقش دارد (۸) و نقش زیستی خود را از طریق شکل فعال ۱ و ۲۵ هیدروکسی ویتامین D ایفا می کند و فعالیت آن به اتصال به گیرنده درون سلولی اختصاصی ویتامین D وابسته است. توالی نوکلئوتیدی آن در ژنوم انسان به عنوان یک ناحیه ژنی بسیار پلی مورف شناخته می شود (۳). ژن گیرنده ویتامین D انسانی، بر روی کروموزوم ۱۲ قرار گرفته است که دارای ۸ ناحیه کدینگ و ۳

ناحیه غیرکدینگ است (۱۵). این ژن متعلق به ابر خانواده گیرنده هورمون های نوکلئاز است که در پاسخ به فرم فعال ویتامین D رونویسی از ژن های هدف، را تنظیم می نماید (۹). بررسی نقش فیزیولوژیک اتصال فرم فعال ویتامین D به گیرنده اش در بدن نشان می دهد که این برهم کنش می تواند در تقسیم سلولی، تمایز، آپوپتوز، متاستاز سلولی، آنژیوژنز و تنظیم متابولیسم کلسیم و فسفات نقش داشته باشد (۱۱). بنابراین هرگونه تغییر در ساختار ویتامین D و یا گیرنده اش که منجر به عدم برهم کنش صحیح آن ها گردد، می تواند در بروز شرایط پاتولوژیک چون بروز و پیشرفت انواع سرطان نقش داشته باشد (۱۳).

مطالعه های مختلف نشان می دهد که پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی می توانند با تغییر در عملکرد و ماهیت برهم کنش مولکول های زیستی در بروز و پیشرفت بیماری های مختلف مؤثر باشند. پلی مورفیسم یا چندشکلی، تغییر نوکلئوتید در توالی ژن هاست که فراوانی بیش تر از یک درصد در جوامع را دارد. در واقع پلی مورفیسم ها می توانند جایگاه شناسایی یک آنزیم را تغییر داده یا از بین ببرند و ژنوتیپ های متفاوتی به وجود آورند (۲۰). از سوی دیگر بررسی ها نشان می دهد که ترادف نوکلئوتیدی مربوط به ژن کدکننده گیرنده ویتامین D در افراد مختلف یکسان نبوده و پلی مورفیسم های متعددی در این ژن مشاهده می گردد (۱۰). به علاوه مشخص شده است که تعدادی از پلی مورفیسم های این ژن خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش می دهد (۷). همچنین این پلی مورفیسم ها با استعداد ابتلا به چاقی در افراد دیابتی نوع ۲ در ارتباط هستند (۵). چهار پلی مورفیسم برای ژن گیرنده ویتامین D (¹VDR) شناخته شده که عبارتند از: (A/G) Bsm1، (T/C) Taq1 و (A/C) Apa1 در ناحیه ۳ و پلی مورفیسم (C/T) Fok1 در اگزون ۲ (۱۷).

در میان پلی مورفیسم های مذکور Fok1 از اهمیت خاصی برخوردار است. بروز جهش در این پلی مورفیسم موجب افزایش اندازه پروتئین حاصل به اندازه سه واحد اسید آمینه ای شده و فعالیت مؤثر این پروتئین را به یک هفتم فعالیت آن کاهش می دهد (۱۸، ۶).

از سوی دیگر در ژن گیرنده ویتامین D توانایی برش توسط آنزیم های Taq1 و Apa1 موجب بروز ساختارهای ژنوتیپی مختلف می گردد به طوری که ژنوتایپ AA برای پلی مورفیسم

¹ Vitamin D Receptor

Apa1 دارای جایگاه شناسایی آنزیم و ژنوتیپ AA فاقد جایگاه شناسایی آنزیم است و یا در پلی مورفیسم Taq1 ژنوتیپ tt دارای جایگاه شناسایی آنزیم و ژنوتایپ TT فاقد این جایگاه است (۲۲).

هدف ما از این مطالعه آنالیز پلی مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D در ارتباط با دیابت نوع دو و عوارض ناشی از آن از جمله بیماری های کلیوی است و این موضوع که آیا پلی-مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D می تواند در بروز بیماری های کلیوی دیابت نوع دو در جمعیت استان خوزستان نقش داشته باشد؟ با توجه به اهمیت موضوع می توان از نتایج این مطالعه برای رسیدن به درمان مؤثرتر در بیماران مبتلا به دیابت بهره جست.

روش کار

جمع آوری نمونه، استخراج DNA و طراحی پرایمرها

مطالعه مورد- شاهدهی در بازه زمانی اردیبهشت ۱۳۹۵ تا مهرماه ۱۳۹۵ در استان خوزستان انجام گرفت. مراحل مطالعه شامل گردآوری اطلاعات کتابخانه ای، تهیه طرح کلی تحقیق، ایجاد پرسشنامه های مرتبط، تهیه لوازم و تجهیزات مربوط به آزمایشات و اقدام به جمع آوری نمونه های لازم بود.

در ادامه نمونه ها پس از تکمیل مورد آزمایش قرار گرفته و بر روی داده های حاصل تجزیه و تحلیل انجام گرفت.

در این مطالعه ۵۰ نمونه خون از افراد سالم و ۵۰ نمونه خون از افرادی که دارای دیابت نوع ۲ بدون علائم نفروپاتی بودند، به عنوان گروه های شاهد و تعداد ۵۰ نمونه خون از بیماران دیابتی که دارای علائم نفروپاتی بودند با کسب رضایت شفاهی افراد جمع آوری گردید.

افراد مورد مطالعه، بزرگسالان مراجعه کننده به بیمارستان گلستان شهر اهواز از هر دو جنس در فاصله سنی بین ۶۵-۲۵ سال بودند که بیماری دارای بیماری های کبدی، قلبی-عروقی و فشار خون بالا نبوده و سیگار و یا داروی خاصی به جز داروهای مرتبط با دیابت مصرف نمی کردند.

پس از نمونه گیری برای استخراج DNA از کیت محصول شرکت Bioneer استفاده شد.

از سوی دیگر پرایمرهای واریانت ژنتیکی مورد نظر توسط نرم-افزار Primer3 طراحی شده و سپس در سایت NCBI بر روی پرایمرهای طراحی شده بلاست انجام شد و صحت طراحی تأیید گردید. مشخصات مربوط به پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- پرایمرهای طراحی شده برای PCR

نام پلی مورفیسم	توالی پرایمر و موقعیت آن	طول باند
Fok1	F:(46559145-46559162) 5'-TGGCCGCCATTGCCTCCG-3'	77(bp)
	f:(46559145-46559162) 5'-TGGCCGCCATTGCCTCCA-3	
	C:(46559204-46559221) 5'-AGCTGGCCCTGGCACTGA-3	
Bsm1	B:(46526083-46526102) 5'-AGCCTGAGTACTGGGAATGT-3'	534(bp)
	b:(46526083-46526102) 5'-AGCCTGAGTACTGGGAATGC-3'	
	C:(46526599-46526616) 5'-GGGAGGGAGTTAGGCACC-3'	
Apa1	A:(46525104-46525123) 5'-TGGGATTGAGCAGTGAGGT-3'	229(bp)
	a:(46525104-46525123) 5'-TGGGATTGAGCAGTGAGGG-3'	
	C:(46524894-46524912) 5'-CCTCATTGAGGCTGCGCAG-3'	
Taq1	T:(46525024-46525041) 5'-CAGGACGCCGCGCTGATT-3'	148(bp)
	t:(46525024-46525041) 5'-CAGGACGCCGCGCTGATC-3	
	C:(46524894-46524912) 5'-CCTCATTGAGGCTGCGCAG-3'	

جدول ۲ - شرایط دمایی و برنامه زمانی بهینه جهت انجام آنالیز PCR

نام مرحله	دما (C°)				مدت زمان	تعداد سیکل
	Taq1	Apa1	Bsm1	Fok1		
واسرشت اولیه	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۲ دقیقه	۱ سیکل
واسرشت ثانویه	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۱۰ ثانیه	۱۰ سیکل
اتصال	۶۰	۶۳	۶۲	۶۵	۱ دقیقه ای	
طویل شدن اولیه	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۳۰ ثانیه ای	
واسرشت ثانویه	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۱۰ ثانیه ای	۲۰ سیکل
اتصال	۵۶/۵	۵۹	۵۸	۶۱	۵۰ ثانیه ای	
طویل شدن ثانویه	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۳۰ ثانیه ای	
طویل سازی نهایی	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۵ دقیقه ای	۱ سیکل

و V کرامر) به وسیله نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ استفاده شد و مقدار P-value کم تر از ۰/۰۵ به عنوان شاخص معنی داری در نظر گرفته شد. در این راستا افراد به سه گروه پنجاه نفری شامل گروه سالم و دیابتی به عنوان گروه شاهد و افراد دارای بیماری نفروپاتی به عنوان گروه مورد تقسیم شدند.

یافته ها

در این مطالعه پلی مورفیسم های Taq1، Bsm1، Fok1 و Apa1 که به ترتیب در اگزون ۲، اینترون ۸، اینترون ۸ و اگزون ۹ قرار دارند، مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا حضور قطعات حاوی پلی مورفیسم های مدنظر مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۱). نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم Bsm1 موجود در ژن گیرنده ویتامین D نشان داد که در این گروه ۶ درصد افراد دارای ژنوتیپ غالب BB هستند، ۹۲ درصد ژنوتیپ Bb و ۲ درصد ژنوتیپ bb را نشان می دهند. این درحالی است که در افراد دیابتی نوع ۲ با عوارض نفروپاتی ۱۴ درصد از افراد دارای ژنوتیپ غالب BB، ۶۴ درصد دارای ژنوتیپ Bb و ۲۲ درصد دارای ژنوتیپ bb هستند.

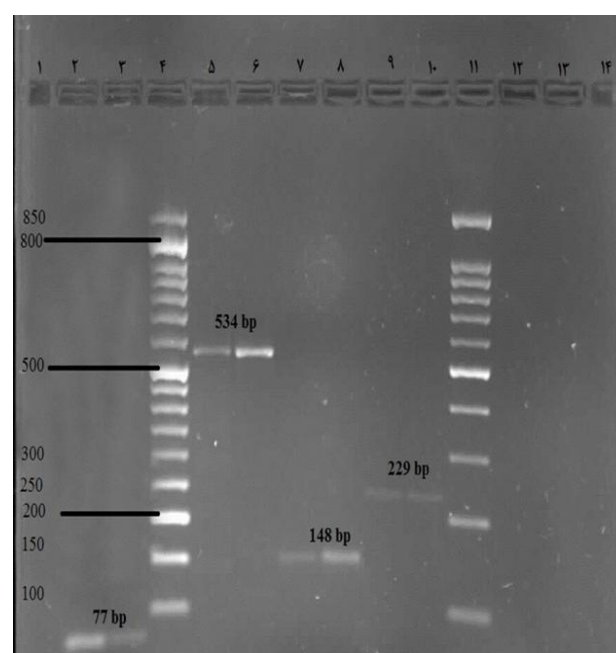
تکنیک^۱ SSP-PCR

در این تکنیک در هر لوله سه جفت پرایمر وجود دارد، یکی پرایمر اختصاصی برای SSP-PCR هر یک از ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم های گیرنده ویتامین D مورد نظر و یک جفت پرایمر برای کنترل داخلی. این تکنیک PCR بسته به روش استخراج DNA ظرف مدت سه ساعت قابل انجام است. و از طرفی نیاز به مراحل تخصصی بعد از PCR نیست و با انجام یک ژل الکتروفورز حضور یا عدم حضور باند مورد نظر تأیید می شود. همچنین محدودیت نوع نمونه را نیز ندارد و روی سرم، پلاسما و غیره قابل انجام است. در این مطالعه واکنش PCR برای تمامی پلی مورفیسم ها مطابق برنامه زمانی و دمایی موجود در جدول ۳ انجام شد و محصولات واکنش در ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. به طور کلی جهت بررسی ژنوتایپ پلی مورفیسم های مختلف فرآیند تکثیر با پرایمرهای اختصاصی برای واریانت های مختلف یک پلی مورفیسم صورت می پذیرد و نتایج بر روی ژل آگارز الکتروفورز می گردد. در صورتی که برای هر دو پرایمر آلل سالم و جهش یافته پلی-مورفیسم باند مشاهده گردد نمونه هتروزیگوت و در غیر این صورت نمونه هموزیگوت است. در این مطالعه بعد از انجام ژنوتایپینگ، فراوانی آللی و ژنوتایپی پلی مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D افراد مشخص گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی ارتباط بین وجود پلی مورفیسم های Taq1، Bsm1، Fok1 در گیرنده ویتامین D و دو بیماری نفروپاتی و دیابت نوع ۲ از آزمون های تحلیلی آماری (کای دو

¹ Sequence-specific primed PCR



شکل ۱- تصویر مربوط به الکتروفورز برای تأیید صحت حضور قطعات حاوی پلی مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D، باند 534 bp مربوط به Bsm1، 229 bp مربوط به Apa1، 148 bp مربوط به Taq1 و 77 bp مربوط به Fok1 است.

همچنین در افراد دیابتی نوع دو ۳۰ درصد از افراد دارای ژنوتیپ BB، ۶۶ درصد دارای ژنوتیپ Bb و ۴ درصد افراد دارای ژنوتیپ bb بوده اند. فراوانی ژنوتیپی برای هر سه گروه محاسبه گردید که در جدول ۳ آورده شده است. از سوی دیگر بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی مورفیسم Bsm1 در جمعیت مورد مطالعه نشان داد که با در نظر گرفتن گروه شاهد سالم به عنوان نمونه ای از جامعه خوزستان، فراوانی های ژنوتیپی این پلی مورفیسم در تعادل هاردی واینبرگ قرار ندارد ($P\text{-value} < 0.001$).

بررسی آماری ارتباط پلی مورفیسم Bsm1 و بیماری نفروپاتی نشان می دهد که درصد افراد دارای ژنوتیپ bb به صورت معناداری در بیماران دارای نفروپاتی نسبت به افراد دیابتی شاهد افزایش یافته است و بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری نفروپاتی با وجود ژنوتیپ bb برای پلی مورفیسم Bsm1 به صورت معناداری افزایش می یابد ($P\text{-Value} = 0.007$, $OR = 6.7730$). هم چنین بررسی آماری اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی نرمالی بین بروز بیماری نفروپاتی و پلی مورفیسم Bsm1 وجود دارد ($P\text{Value} = 0.007$, $Cramer's V = 0.393$). هم چنین مقایسه گروه سالم و دیابتی برای پلی مورفیسم Bsm1 نشان داد که در بیماران دیابتی درصد

افراد دارای ژنوتیپ BB به صورت معناداری نسبت به افراد سالم افزایش یافته است و بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری دیابت با وجود ژنوتیپ BB برای پلی مورفیسم Bsm1 به صورت معناداری افزایش می یابد ($P\text{-Value} = 0.002$, $OR = 6.71$). هم چنین بررسی آماری اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی کمابیش نرمالی بین بروز بیماری دیابت نوع ۲ و پلی مورفیسم Bsm1 وجود دارد ($P\text{Value} = 0.002$, $Cramer's V = 0.353$).

نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم Fok1 موجود در ژن گیرنده ویتامین D نشان داد که در این گروه ۴۴ درصد افراد دارای ژنوتیپ غالب FF هستند، ۵۶ درصد ژنوتیپ Ff را نشان می دهند. این درحالی است که در افراد دارای بیماری نفروپاتی ۵۴ درصد از افراد دارای ژنوتیپ غالب FF، ۳۸ درصد دارای ژنوتیپ Ff و ۸ درصد دارای ژنوتیپ ff هستند. همچنین در افراد دیابتی ۴۶ درصد از افراد دارای ژنوتیپ FF و ۵۴ درصد افراد دارای ژنوتیپ Ff بوده اند. فراوانی ژنوتیپی برای هر سه گروه محاسبه گردید که در جدول ۳ آورده شده است. بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی مورفیسم Fok1 در جمعیت مورد مطالعه با در نظر گرفتن گروه شاهد سالم به عنوان مرجع نشان داد که این پلی مورفیسم در تعادل هاردی واینبرگ قرار ندارد ($P\text{-value} = 0.006$).

از سوی دیگر بررسی ارتباط پلی مورفیسم Fok1 و بیماری نفروپاتی نشان می دهد که درصد افراد دارای ژنوتیپ ff به صورت معناداری در بیماران دارای نفروپاتی نسبت به بیماران دیابتی شاهد افزایش یافته است و بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری نفروپاتی با وجود ژنوتیپ ff برای پلی مورفیسم Fok1 به صورت معناداری افزایش می یابد ($OR = \text{infinity}$ و $P\text{-Value} = 0.01$). هم چنین بررسی آماری اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی ضعیفی بین بروز بیماری نفروپاتی و پلی مورفیسم Fok1 وجود دارد ($P\text{Value} = 0.041$, $Cramer's V = 0.204$). هم چنین بررسی آماری ارتباط پلی مورفیسم Fok1 و بیماری دیابت نشان می دهد که اختلاف معناداری بین ژنوتیپ افراد سالم و افراد دیابتی وجود ندارد و وجود پلی مورفیسم های Fok1 بر بروز دیابت تأثیری ندارد ($P\text{-Value} = 0.841$, $OR = 1.08$).

نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم *Apa1* موجود در ژن گیرنده ویتامین D نشان داد که در این گروه، ۵۰ درصد افراد دارای ژنوتیپ غالب *AA* هستند و ۵۰ درصد دیگر ژنوتیپ *Aa* را نشان می دهند. این درحالی است که در افراد دارای بیماری نفروپاتی ۶ درصد از افراد دارای ژنوتیپ غالب *AA*، ۸۴ درصد دارای ژنوتیپ *Aa* و ۱۰ درصد دارای ژنوتیپ *aa* هستند. هم چنین در افراد دیابتی ۳۴ درصد از افراد دارای ژنوتیپ *AA*، ۵۰ درصد دارای ژنوتیپ *Aa* و ۱۶ درصد افراد دارای ژنوتیپ *aa* بوده اند. فراوانی ژنوتیپی برای هر سه گروه محاسبه گردید که در جدول ۳ آورده شده است. در ادامه تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی مورفیسم *Apa1* در جمعیت مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که با در نظر گرفتن گروه شاهد سالم به عنوان مرجع نشان داد که این پلی مورفیسم در تعادل هاردی واینبرگ قرار ندارد ($P\text{-value}=0.02$).

بررسی آماری ارتباط پلی مورفیسم *Apa1* و بیماری نفروپاتی نشان می دهد که درصد افراد دارای ژنوتیپ *Aa* به صورت معناداری در بیماران دارای نفروپاتی نسبت به بیماران دیابتی شاهد افزایش یافته است و بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری نفروپاتی با وجود ژنوتیپ *Aa* برای پلی مورفیسم *Apa1* به صورت معناداری افزایش می یابد ($P\text{-Value}<0.001$, $OR=5.25$). هم چنین بررسی آماری اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی قوی بین بروز بیماری و وجود پلی مورفیسم *Apa1* وجود دارد ($Cramer's V=0.516$, $P\text{Value}<0.001$). هم چنین بررسی آماری ارتباط پلی مورفیسم *Apa1* و بیماری دیابت نشان می دهد که درصد افراد دارای ژنوتیپ *aa* به صورت معناداری در بیماران دارای دیابت نسبت به افراد سالم افزایش یافته است بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری دیابت با وجود ژنوتیپ *aa* برای پلی مورفیسم *Apa1* به صورت معناداری افزایش می یابد ($OR=\text{infinity}$ و $P\text{-Value}=0.001$). هم چنین بررسی آماری اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی نرمالی بین بروز بیماری دیابت و وجود پلی مورفیسم *Apa1* وجود دارد ($Cramer's V=0.309$, $P\text{Value}=0.009$).

نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم *Taq1* موجود در ژن گیرنده ویتامین D نشان داد که در این گروه ۵۸ درصد افراد دارای ژنوتیپ غالب *TT* هستند، ۳۴ درصد ژنوتیپ *Tt* و ۸ درصد ژنوتیپ *tt* را نشان می دهند. درحالی که در افراد دارای بیماری نفروپاتی ۳۶ درصد از افراد دارای ژنوتیپ غالب *TT*، ۳۲ درصد دارای ژنوتیپ *Tt* و ۳۲ درصد دارای ژنوتیپ *tt* هستند. هم چنین در افراد دیابتی ۳۰ درصد از افراد دارای ژنوتیپ *TT*، ۵۶ درصد دارای ژنوتیپ *Tt* و ۱۴ درصد افراد دارای ژنوتیپ *tt* بوده اند. فراوانی ژنوتیپی برای هر سه گروه محاسبه گردید که در جدول ۳ آورده شده است. هم چنین بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی مورفیسم *Taq1* در جمعیت مورد مطالعه نشان داد که با در نظر گرفتن گروه شاهد سالم به عنوان مرجع، این پلی مورفیسم در تعادل هاردی واینبرگ قرار دارد ($P\text{-value}=0.47$).

بررسی آماری ارتباط پلی مورفیسم *Taq1* و بیماری نفروپاتی نشان می دهد که درصد افراد دارای ژنوتیپ *tt* به صورت معناداری در بیماران دارای نفروپاتی نسبت به بیماران دیابتی شاهد افزایش یافته است و بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری نفروپاتی با وجود ژنوتیپ *tt* برای پلی مورفیسم *Taq1* به صورت معناداری افزایش می یابد. ($P\text{-Value}=0.03$, $OR=2.89$). هم چنین بررسی آماری اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی نرمالی بین بروز بیماری نفروپاتی و پلی مورفیسم *Taq1* وجود دارد ($Cramer's V=0.313$, $P\text{Value}=0.007$).

هم چنین بررسی آماری ارتباط پلی مورفیسم *Taq1* و بیماری دیابت نشان می دهد که درصد افراد دارای ژنوتیپ *Tt* به صورت معناداری در بیماران دارای دیابت افزایش یافته است و بنابراین می توان در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان کرد که احتمال بروز بیماری دیابت با وجود ژنوتیپ *Tt* برای پلی-مورفیسم *Taq1* به صورت معناداری افزایش می یابد ($OR=2.47$ و $P\text{-Value}=0.03$). هم چنین بررسی آماره اندازه اثر با استفاده از ملاک کرامر نشان می دهد که هم بستگی کمابیش نرمالی بین بروز بیماری دیابت و وجود پلی مورفیسم *Taq1* وجود دارد ($Cramer's V=0.282$, $P\text{-Value}=0.019$).

لازم به ذکر است که در جدول ۳ تمام نتایج ژن های بررسی شده به صورت خلاصه آورده شده است.

جدول ۷. نتایج آماری به دست آمده برای ژن های Bsm1, Fok1, Apa1 و Taq1

نام ژن	N=50 کنترل (درصد)	N=50 دیابتی (درصد)	N=50 نفروپاتی (درصد)	P-value			OR (95% CI)		
				دیابتی به سالم	نفروپاتی به سالم	نفروپاتی به دیابت	دیابتی به سالم	نفروپاتی به سالم	نفروپاتی به دیابت
Bsm1	BB ۳ (۰.۰۶)	۱۵ (۰.۳۰)	۷ (۰.۱۴)	p=۰/۰۰۲	p=۰/۰۱۸	p=۰/۰۵۳	۶/۷۱ (۱/۸۰-۲۴/۹۹)	۲/۵۵ (۰/۶۲-۱۰/۴۹)	۰/۱۹ (۰/۱۴-۱/۰۴)
	Bb ۴۶ (۰.۹۲)	۳۳ (۰.۶۶)	۳۲ (۰.۶۴)	p=۰/۰۰۲	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۸۳	۰/۱۰ (۰/۰۵-۰/۵۵)	۰/۱۶ (۰/۵۶-۰/۸۷)	۰/۹۲ (۰/۴۰-۲/۰۸)
	bb ۱ (۰.۰۲)	۲ (۰.۰۴)	۱۱ (۰.۲۲)	p=۰/۰۵۶	p=۰/۰۰۲	p=۰/۰۰۷	۲/۰۴ (۰/۱۸-۲۲/۲۷)	۱۳/۸ (۱/۷۱-۱۱۱/۷)	۶/۷۷ (۱/۴۲-۳۲/۳۷)
Fok1	FF ۲۲ (۰.۴۴)	۲۳ (۰.۴۶)	۲۷ (۰.۵۴)	p=۰/۰۸۴	p=۰/۰۳۲	p=۰/۰۴۲	۱/۰۸ (۰/۴۹-۲/۳۸)	۱/۴۹ (۰/۶۸-۳/۲۹)	۱/۳۸ (۰/۶۳-۳/۰۳)
	Ff ۲۸ (۰.۵۶)	۲۷ (۰.۵۴)	۱۹ (۰.۳۸)	p=۰/۰۸۴	p=۰/۰۷۲	p=۰/۰۱۱	۰/۹۲ (۰/۴۲-۲/۰۳)	۰/۴۸ (۰/۲۲-۱/۰۷)	۰/۵۲ (۰/۲۴-۱/۰۶)
	ff ۰ (۰.۰۰)	۰ (۰.۰۰)	۴ (۰.۰۸)	p=۱	p=۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۱	-	-	-
Apa1	AA ۲۵ (۰.۵۰)	۱۷ (۰.۳۴)	۳ (۰.۰۶)	p=۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	۰/۵۲ (۰/۲۳-۱/۱۵)	۰/۰۶ (۰/۰۲-۰/۲۳)	۰/۱۲ (۰/۰۳-۰/۴۶)
	Aa ۲۵ (۰.۵۰)	۲۵ (۰.۵۰)	۴۲ (۰.۸۴)	p=۱	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	۱ (۰/۴۶-۲/۱۹)	۵/۲۵ (۲/۰۶-۱۳/۴۱)	۵/۲۵ (۲/۰۶-۱۳/۴۱)
	aa ۰ (۰.۰۰)	۸ (۰.۱۶)	۵ (۰.۱۰)	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۵	p=۰/۰۳۷	-	-	۰/۵۸ (۰/۱۸-۱/۹۲)
Taq1	TT ۲۹ (۰.۵۸)	۱۵ (۰.۳۰)	۱۸ (۰.۳۶)	p=۰/۰۰۵	p=۰/۰۰۳	p=۰/۰۵۲	۰/۳۱ (۰/۱۴-۰/۷۱)	۰/۴۱ (۰/۱۸-۰/۹۱)	۱/۳۱ (۰/۵۷-۳/۰۳)
	Tt ۱۷ (۰.۳۴)	۲۸ (۰.۵۶)	۱۶ (۰.۳۲)	p=۰/۰۰۳	p=۰/۰۸۳	p=۰/۰۰۲	۲/۴۷ (۱/۱-۵/۵۵)	۰/۹۱ (۰/۴-۲/۱)	۰/۳۷ (۰/۱۶-۰/۸۴)
	tt ۴ (۰.۰۸)	۷ (۰.۱۴)	۱۶ (۰.۳۲)	p=۰/۰۳۴	p=۰/۰۰۳	p=۰/۰۰۳	۱/۸۷ (۰/۵۱-۶/۸۵)	۵/۴۱ (۱/۶۶-۱۷/۶۵)	۲/۸۹ (۱/۰۷-۷/۸۲)

Fok1, Apa1 و Taq1 می تواند به عنوان شاخصی برای تشخیص و بررسی احتمال بروز بیماری دیابت مورد استفاده قرار گیرند به طوری که فراوانی ژنوتیپی این واریانت ها در بیماران دیابتی نسبت به افراد سالم به صورت معناداری افزایش می یابد. در یک مثال بارز مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنوتیپ bb برای پلی مورفیسم Bsm1 از ۲ درصد در افراد سالم به ۴ درصد در بیماران دیابتی و در نهایت به ۲۲ درصد در افراد نفروپاتی رسیده است. همچنین فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت Bb از ۹۲ درصد در افراد سالم به ۶۶ درصد در افراد دیابتی و ۶۴ درصد در افراد نفروپاتی کاهش داشته است. بنابراین افراد هموزیگوت bb شانس بیشتری برای ابتلا به بیماری های کلیوی دارند و افراد هتروزیگوت مقاومت بیشتری برای ابتلا به دیابت نوع ۲ دارند. پس می توان گفت که تفاوت معناداری بین ژنوتیپ های مختلف Bsm1 ژن گیرنده ویتامین D و ابتلا به بیماری های کلیوی وجود دارد. در راستای نتایج حاضر، Sakulipatsin و همکاران ارتباط واریانت مختلف پلی مورفیسم Bsm1 در ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا به درگیری کلیوی را در جمعیت تایلند مورد بررسی قرار دادند و اظهار داشتند که ژنوتیپ bb در این پلی مورفیسم به صورت معناداری در بیماران مبتلا به درگیری کلیوی افزایش می یابد. نتایج به دست آمده از تحقیقات این محققان در توافق با نتایج ۱ نشان می دهد که افزایش فراوانی ژنوتیپ bb می تواند به عنوان مارکری برای شناسایی احتمال ابتلا به بیماری های کلیوی مورد استفاده قرار گیرد (۱۴). به علاوه Ozaki و همکاران در سال ۲۰۰۰ به بررسی ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم Bsm1 در ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا

بحث

دیابت شایع ترین اختلال آندوکراین در سراسر جهان است که به دلیل رشد جمعیت، افزایش سالمندی، شهرنشینی، شیوع چاقی و عدم تحرک، به سرعت در حال گسترش است.

انتظار می رود تعداد کل افراد مبتلا در سراسر جهان از ۱۷۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۰ به ۳۶۶ میلیون نفر تا سال ۲۰۳۰ افزایش یابد. پیش بینی می شود ۷۷/۶ این افراد مربوط به کشورهای در حال توسعه باشد (۱۹). دیابت نوع ۲ که حدود ۹۵-۹۰ درصد موارد مبتلا به دیابت را تشکیل می دهد (۲)، با افزایش مرگ و میر، کاهش کیفیت زندگی و عوارض میکرو و ماکرواسکولار همچون کوری، بیماری های کلیوی و قلبی و نفروپاتی همراه است (۴). با توجه به اهمیت اپیدمیولوژیک بیماری و با در نظر گرفتن هزینه های بالای اقتصادی و مشکلات فراوان بیماران این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم های مختلف ژن گیرنده ویتامین D با بیماری های کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ طراحی و اجرا شد. نتایج این مطالعه که بر روی ۵۰ فرد سالم و ۵۰ بیمار دیابتی به عنوان گروه شاهد و ۵۰ بیمار دیابتی دارای علائم نفروپاتی به عنوان گروه مورد صورت گرفت نشان داد که فراوانی ژنوتیپی واریانت های bb, ff, Aa و tt به ترتیب برای پلی مورفیسم های Bsm1, Apa1 و Taq1 در بیماران دارای علائم نفروپاتی به صورت معناداری افزایش یافته است. به علاوه فراوانی ژنوتیپی برای واریانت های BB, aa و Tt در پلی مورفیسم های Bsm1،

به درگیری کلیوی در ژاپن پرداختند. نتایج مطالعات آنها نشان که فراوانی ژنوتیپ Bb در بیماران مبتلا به درگیری کلیوی نسبت به گروه کنترل به صورت معناداری افزایش یافته است (۱۲). از سوی دیگر در مطالعه‌ای مخالف با نتایج حاضر، Abasi و همکاران در سال ۱۳۸۹ به بررسی ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم Bsm1 ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا به درگیری کلیوی استان خراسان رضوی پرداختند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد که پلی‌مورفیسم Bsm1 گیرنده ویتامین D با ابتلا به بیماری‌های کلیوی ارتباطی ندارد (۲۱). در تفسیر تفاوت‌های ژنوتیپی و آلی موجود در این مطالعه‌ها، می‌توان این تفاوت‌ها را ناشی از تفاوت‌های قومیتی و نژادی در نظر گرفت. در خصوص ارتباط پلی‌مورفیسم Fok1 با بروز نفروپاتی در بیماران دیابتی نوع ۲، مطالعه‌ای یافت نشد ولی در خصوص ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D و استعداد ابتلا به دیابت نوع ۲ در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان داد که فرکانس ژنوتیپ FF در Fok1 افزایش قابل توجهی نسبت به گروه کنترل دارد. در مطالعه حاضر نیز در بیماران دیابتی نوع ۲ بیشترین فراوانی با ۵۴ درصد از نوع ژنوتیپ Ff است، ولی تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌های مختلف این پلی‌مورفیسم و ابتلا به بیماری‌های کلیوی در بیماران دیابتی مشاهده نگردید (۱). در خصوص ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D و استعداد ابتلا به دیابت نوع ۲ در بیماران مراکشی که به این نتیجه ختم شد پلی‌مورفیسم‌های Taq1 و Apa1 این ژن تفاوت قابل ملاحظه‌ای با گروه کنترل نداشت، مطالعه دیگری یافت نشد. ولی در مطالعه حاضر نتیجه جالبی در خصوص این پلی‌مورفیسم و ارتباط آن با عوارض نفروپاتی در دیابتی‌های نوع ۲ به دست آمد. به‌طوری‌که فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت Aa با ۸۴ درصد در افراد نفروپاتی بیشترین مقدار را نسبت به دو گروه شاهد داشت. همچنین فراوانی ژنوتیپ خالص AA بیشترین فراوانی را در افراد سالم و کم‌ترین فراوانی را در افراد نفروپاتی داشت و بدین طریق تفاوت معناداری بین پلی‌مورفیسم Apa1 و بروز بیماری‌های کلیوی در بیماران دیابتی وجود دارد.

Taq1 اثری بر محصول پروتئینی حاصل ندارد، زیرا جایگاه پلی‌مورفیک Taq1 واقع در اگزون ۹ به گونه‌ای است که هر دو آلل آن همان اسید آمینه ایزولوسین را کد می‌کند و تأثیر آنها از طریق تأثیر بر پایداری mRNA است. در خصوص ارتباط این پلی‌مورفیسم و بروز عوارض نفروپاتی نیز مطالعه‌ای

یافت نشد ولی Abdeltif و همکارانش با مطالعه روی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، نشان دادند پلی‌مورفیسم Taq1 گیرنده ویتامین D تفاوت قابل ملاحظه‌ای با گروه کنترل نداشت. در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی در افراد نفروپاتی مربوط به ژنوتیپ هموزیگوت tt است و تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم با بروز عوارض نفروپاتی در دیابتی‌های نوع ۲ مشاهده گردید. در نهایت بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه نشان داد که تنها پلی‌مورفیسم Taq1 در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد و سایر پلی-مورفیسم‌های مذکور در جامعه انسانی استان خوزستان در تعادل هاردی-واینبرگ قرار ندارند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های مختلف ژن گیرنده ویتامین D (Fok1, Apa1, Bsm1, Taq1) در بیماران دیابتی نوع ۲ با بیماری‌های کلیوی پرداخته شد. در این مطالعه نتایج بررسی آزمون‌های همبستگی نشان داد در بین پلی‌مورفیسم‌های تأثیرگذار در بروز بیماری کلیوی (نفروپاتی)، پلی‌مورفیسم Apa1 دارای بیشترین اثر در بروز عوارض کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ است. به‌علاوه بررسی میزان همبستگی پلی‌مورفیسم‌های مختلف با بیماری دیابت نشان داد که پلی‌مورفیسم Bsm1 دارای بیشترین اثر بر بروز بیماری دیابت نوع ۲ است.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد است. بدین-وسیله از تمام افرادی که در این پژوهش یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

1. Abdeltif E, Charoute H, Barakat H, Rouba H. Vitamin D receptor gene polymorphisms and vitamin D status and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Moroccans patients. *International J Scientific and Research Publications*. 2014;4(8):1-8.
2. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014;37: 81-90.
3. Chatterjee M. Vitamin D and genomic stability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2001;475(1):69-87.
4. Eliades M, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*. 2009;7(2):185.
5. Kahn R. American Diabetes Association: diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetic Care*. 2003;26(1):3160-7.
6. Larcombe L, Orr PH, Lodge AM, Brown JS, Dembinski IJ, Milligan LC, et al. Functional gene polymorphisms in canadian aboriginal populations with high rates of tuberculosis. *J Infectious Diseases*. 2008;198(8):1175-9.
7. Malecki M, Frey J, Moczulski D, Klupa T, Kozek E, Sieradzki J. Vitamin D receptor gene polymorphisms and association with type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*. 2003;111 (08):505-9.
8. McCarty MF. Secondary hyperparathyroidism promotes the acute phase response—a rationale for supplemental vitamin D in prevention of vascular events in the elderly. *Medical hypotheses*. 2005;64 (5):pp. 1022-6.
9. Morrison N.A, Qi J.C, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. 1994;367(6460):284.
10. Niksresht A, Dadkhah B, Kamali Sarvestani E. The association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphism with multiple sclerosis in Iranian patients. *J Kerman University of Medical Sciences*. 2015;43(3):43-9.
11. Ordonez-Moran P, Larriba MJ, Pendas-Franco N, Aguilera O, Gonzalez-Sancho JM, Munoz A. Vitamin D and cancer: an update of in vitro and in vivo data. *Front Biosci*. 2005;10(5): 2723-49.
12. Ozaki Y, Nomura S, Nagahama M, Yoshimura C, Kagawa H, Fukuhara S. Vitamin-D receptor genotype and renal disorder in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. 2000;85(1):86-91.
13. Peterlik M, Grant WB, Cross HS. Calcium, vitamin D and cancer. *Anticancer research*. 2009;29(9):3687-98.
14. Sakulpipatsin W, Verasertniyom, Nantiruj K, Totemchokchyakarn K, Lertsrisati P, Janwityanujit S. Vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis research & therapy*. 2006;8(2):48.
15. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, van Leeuwen H, Pols HA. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to Vitamin D related disease states. *The J steroid biochemistry and molecular biology*. 2004;89(2):187-93.
16. Warram JH, Krolewski AS. Epidemiology of diabetes mellitus. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 2005;34(32):341-54.

17. Whitfield GK, Hsieh JC, Jurutka PW, Selznick SH, Haussler CA, Macdonald PN, et al. Genomic actions of 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *The J nutrition*. 1995;125(2):1690-4.
18. Wilbur AK, Kubatko LS, Hurtado AM, Hill KR, Stone AC. Vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility *M. tuberculosis* in native Paraguayans. *Tuberculosis*. 2007;87(4):329-37.
19. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*. (2004);27(5):1047-53.
20. Zhang Z, Zhao J, Meng X, Zhou X, Xing X, Xia W. 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 chuan xue za zhi= Zhonghua yixue yichuanxue zazhi= Chinese j medical genetics*. 2003;20(1):5-8.
21. Abasi M, Rezaei yazdi Z, Afshari J, Hatef M, Sahebyari M. Evaluation of genotypes of BsmI polymorphism of vitamin D receptor gene in patients with lupus erythematosus involvement. *J Isfahan Medical School*. 2010;28(119):311-16.
22. Abasi M, Hasani SH, Shekholeslami H, Alizade S, Yazdi Z, Najafipur R. *J Qazvin University of Medical Sciences*. 2012;16(3):5-10.

