



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.

برای مشاهده این مقاله به صورت  
آنلاین اسکن کنید

## بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌های مختلف ژن گیرنده ویتامین D با بیماری‌های 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 مورفیسم‌های مختلف ژن کدکننده گیرنده ویتامین D (Fok1، Apa1، Bsm1، Taq1) با بیماری‌های کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه شاهدهی-موردی خون‌گیری از ۵۰ فرد سالم و ۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ به‌عنوان گروه‌های شاهد و ۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ دارای عارضه نفروپاتی انجام شد. در ادامه برای تعیین ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D از تکنیک (SSP-PCR) استفاده شد و نتایج حاصل توسط آزمون‌های آماری (کای دو و V کرامر) به‌وسیله نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** در بیماران دیابتی نوع ۲ با بیماری‌های کلیوی ژنوتیپ‌های 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. به‌علاوه 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 (P-Value=0.003, OR= 5.41) برای پلی مورفیسم Taq1 افزایش می‌یابد.

**نتیجه‌گیری:** فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم‌های Fok1، Apa1، Bsm1 و Taq1 با بروز بیماری‌های کلیوی (نفروپاتی) در بیماران دیابتی نوع ۲ ارتباط دارد. در این میان بررسی میزان همبستگی پلی مورفیسم‌های مختلف با بروز بیماری‌های کلیوی نشان می‌دهد که پلی مورفیسم Apa1 دارای بیش‌ترین اثر در بروز عوارض کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ است. به‌علاوه پلی مورفیسم Bsm1 دارای بیش‌ترین اثر بر بروز بیماری دیابت نوع ۲ است.

**واژه‌های کلیدی:** پلی مورفیسم، ژن گیرنده ویتامین D، نفروپاتی، دیابت نوع ۲

### مقدمه

دیابت قندی یک بیماری مزمن است و زمانی بروز می‌کند که توانایی لوزالمعده در ترشح انسولین کم شده و یا از بین رفته باشد و یا این که بدن نتواند به‌طور 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 می‌شود که اگر هیپرگلیسمی به خوبی کنترل نشود، ممکن است موجب بروز عوارض جدی و جبران‌ناپذیری گردد. مهم‌ترین عوارض این بیماری شامل نفروپاتی (مشکلات کلیه)، رتینوپاتی (مشکلات چشمی)، نوروپاتی (مشکلات رشته‌های 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: ۱۰/۱۳۹۷/۱۰

www.SID.ir

ناحیه غیرکدینگ است (۱۵). این ژن متعلق به ابر خانواده گیرنده هورمون‌های نوکلئاز است که در پاسخ به فرم فعال ویتامین D رونویسی از ژن‌های هدف، را تنظیم می‌نماید (۹). بررسی نقش فیزیولوژیک اتصال فرم فعال ویتامین D به گیرنده‌اش در بدن نشان می‌دهد که این برهم‌کنش می‌تواند 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 گیرنده‌اش که منجر به عدم برهم‌کنش صحیح آن‌ها گردد، می‌تواند در بروز شرایط پاتولوژیک چون بروز و پیشرفت انواع سرطان نقش داشته باشد (۱۳).

مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی می‌توانند با تغییر در عملکرد و ماهیت برهم‌کنش مولکول‌های زیستی در بروز و پیشرفت بیماری‌های مختلف مؤثر باشند. پلی‌مورفیسم یا چندشکلی، تغییر نوکلئوتید در توالی ژن‌هاست که فراوانی بیش‌تر از یک درصد در جوامع را دارد. در واقع پلی‌مورفیسم‌ها می‌توانند جایگاه شناسایی یک آنزیم را تغییر داده یا از بین ببرند و ژنوتیپ‌های متفاوتی به وجود آورند (۲۰). از سوی دیگر بررسی‌ها نشان می‌دهد که ترادف نوکلئوتیدی مربوط به ژن کدکننده گیرنده ویتامین D در افراد مختلف یکسان نبوده و پلی‌مورفیسم‌های متعددی در این ژن مشاهده می‌گردد (۱۰). به‌علاوه مشخص شده است که تعدادی از پلی‌مورفیسم‌های این ژن خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد (۷). همچنین این پلی‌مورفیسم‌ها با استعداد ابتلا به چاقی در افراد دیابتی نوع ۲ در ارتباط هستند (۵). چهار پلی‌مورفیسم برای ژن گیرنده ویتامین D (VDR)<sup>۱</sup> شناخته شده که عبارتند از: (A/G) Bsm1، (T/C) Taq1 و (A/C) Apa1 در ناحیه ۳ و پلی‌مورفیسم (C/T) Fok1 در اگزون ۲ (۱۷).

در میان پلی‌مورفیسم‌های مذکور Fok1 از اهمیت خاصی برخوردار است. بروز جهش در این پلی‌مورفیسم موجب افزایش اندازه پروتئین حاصل به اندازه سه واحد اسید آمینه‌ای شده و فعالیت مؤثر این پروتئین را به یک هفتم فعالیت آن کاهش می‌دهد (۱۸، ۶).

از سوی دیگر در ژن گیرنده ویتامین D توانایی برش توسط آنزیم‌های Taq1 و Apa1 موجب بروز ساختارهای ژنوتیپی مختلف می‌گردد به طوری که ژنوتایپ AA برای پلی‌مورفیسم

دیابت به دلیل رشد جمعیت، افزایش سالمندی، شهرنشینی، شیوع چاقی و عدم تحرک، به سرعت در حال گسترش است و انتظار می‌رود 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 می‌شود 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 به‌طور معمول به کمک رژیم غذایی مناسب، فعالیت بدنی کافی و داروهای خوراکی کاهنده قند خون درمان می‌شود. 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 می‌دهد (۵)، با افزایش مرگ و میر، کاهش کیفیت زندگی و عوارض میکرو و ماکرواسکولار هم‌چون کوری، بیماری‌های کلیوی و قلبی و نوروپاتی همراه است (۴).

بیماری‌های کلیوی ناشی از دیابت (نفروپاتی دیابتی) پدیده‌ای مزمن و پیشرفته است که در نزدیک به ۱/۳ از بیماران دیابتی ایجاد می‌شود. ویژگی‌های نفروپاتی دیابتی عبارتند از افزایش دفع پروتئین و آلبومین از ادرار، فشار خون بالا و کاهش فعالیت کلیه‌ها. این پدیده طی سال‌های متمادی پیشرفت می‌کند. بیماران مبتلا به نفروپاتی در معرض افزایش خطر برخی دیگر از عوارض دیابت نظیر بیماری‌های 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 می‌گردد. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که نزدیک به ۲۵ درصد از بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ دچار نارسایی کلیه می‌شوند، اما در ۵ تا ۱۰ درصد سفیدپوستان مبتلا به دیابت نوع ۲ نارسایی کلیه ایجاد می‌شود، در حالی که در جمعیت‌های غیر سفیدپوست میزان شیوع نارسایی کلیوی دیابت بیش‌تر 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 می‌کند و فعالیت آن به اتصال به گیرنده درون سلولی اختصاصی ویتامین D وابسته است. توالی نوکلئوتیدی آن در ژنوم انسان به‌عنوان یک ناحیه ژنی بسیار پلی‌مورف شناخته می‌شود (۳). ژن گیرنده ویتامین D انسانی، بر روی کروموزوم ۱۲ قرار گرفته است که دارای ۸ ناحیه کدینگ و ۳

<sup>1</sup> Vitamin D Receptor

## Archive of SID

در ادامه نمونه‌ها پس از تکمیل مورد آزمایش قرار گرفته و بر روی داده‌های 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، به‌عنوان گروه‌های شاهد و تعداد ۵۰ نمونه خون از بیماران دیابتی که دارای علائم نفروپاتی بودند با کسب رضایت شفاهی افراد جمع‌آوری گردید.

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

پس از نمونه‌گیری 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.

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

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

## روش کار

## جمع‌آوری نمونه، استخراج DNA و طراحی پرایمرها

مطالعه مورد-شاهدی در بازه زمانی اردیبهشت ۱۳۹۵ تا مهرماه ۱۳۹۵ در استان خوزستان انجام گرفت. مراحل مطالعه شامل گردآوری اطلاعات کتابخانه‌ای، تهیه طرح کلی تحقیق، ایجاد پرسشنامه‌های مرتبط، تهیه لوازم و تجهیزات مربوط به آزمایشات و اقدام به جمع‌آوری نمونه‌های لازم بود.

جدول ۱- پرایمرهای طراحی شده برای PCR

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

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

نام مرحله	دما (C°)				مدت زمان	تعداد سیکل
	TaqI	ApaI	BsmI	FokI		
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 دقیقه‌ای	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 نروپاتی به عنوان گروه مورد تقسیم شدند.

### یافته‌ها

در این مطالعه پلی مورفیسم‌های TaqI، BsmI، FokI و ApaI که به ترتیب در اگزون ۲، اینترون ۸، اینترون ۸ و اگزون ۹ قرار دارند، مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا حضور قطعات حاوی پلی مورفیسم‌های مدنظر مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۱). نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم BsmI 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 می‌دهند. این در حالی است که در افراد دیابتی نوع ۲ با عوارض نروپاتی ۱۴ درصد از افراد دارای ژنوتیپ غالب BB، ۶۴ درصد دارای ژنوتیپ Bb و ۲۲ درصد دارای ژنوتیپ bb هستند.

### تکنیک<sup>۱</sup> SSP-PCR

در این تکنیک در هر لوله سه جفت پرایمر وجود دارد، یکی پرایمر اختصاصی برای SSP-PCR هر یک از ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم‌های 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 می‌شود. همچنین محدودیت نوع نمونه را نیز ندارد و روی سرم، پلاسما و غیره قابل انجام است. در این مطالعه واکنش PCR برای تمامی پلی مورفیسم‌ها 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 مورفیسم‌های مختلف فرآیند تکثیر با پرایمرهای اختصاصی برای واریانت های مختلف یک پلی مورفیسم صورت می‌پذیرد و نتایج بر روی ژل آگارز الکتروفورز می‌گردد. 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 مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D افراد مشخص گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی ارتباط بین وجود پلی مورفیسم‌های TaqI، BsmI، FokI در گیرنده ویتامین D و دو بیماری نروپاتی و دیابت نوع ۲ از آزمون‌های تحلیلی آماری (کای دو

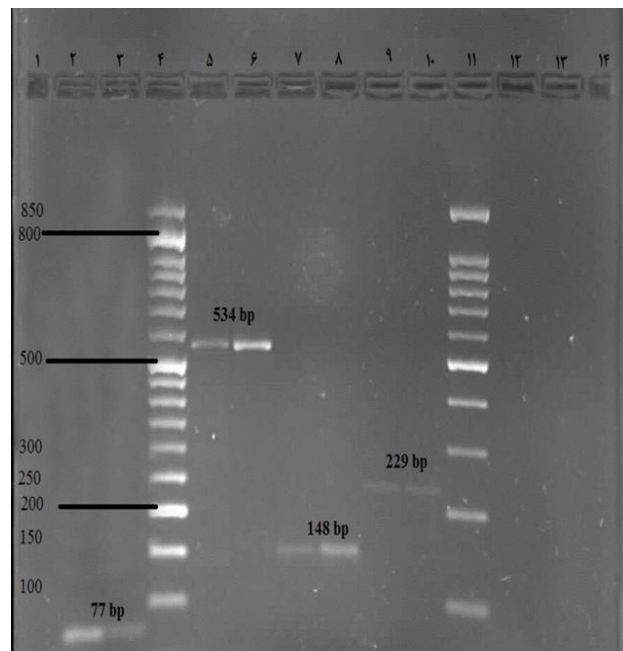
<sup>1</sup> Sequence-specific primed PCR

## Archive of SID

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-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 (Cramer's V=0.353, PValue=0.002).

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. هم چنین 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-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= infinity و P-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 (Cramer's V=0.204, PValue=0.041). 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-Value=0.841 , OR=1.08).



شکل ۱- تصویر مربوط به الکتروفورز برای تأیید صحت حضور قطعات حاوی پلی مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D، باند bp534 مربوط به Bsm1، bp229 مربوط به Fok1، bp148 مربوط به Taq1 و bp77 مربوط به Fok1 است.

هم چنین 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-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-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 (Cramer's V=0.393, PValue=0.007). هم چنین مقایسه گروه سالم و دیابتی برای پلی مورفیسم Bsm1 نشان داد که در بیماران دیابتی درصد

نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم Taq1 موجود در ژن گیرنده ویتامین D نشان داد که در این گروه ۵۸ درصد افراد داری 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-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-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, PValue=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-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-Value=0.019).

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

نتایج بررسی ژنوتیپ افراد سالم برای پلی مورفیسم Apa1 موجود در ژن گیرنده ویتامین D نشان داد که در این گروه، ۵۰ درصد افراد داری 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-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-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, PValue<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=infinity و P-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 , PValue=0.009).

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

نام ژن	کنترل N=50 (درصد)	دیابتی N=50 (درصد)	نفروپاتی N=50 (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(۳۰)	۷(۱۴)	p=۰/۰۰۲	p=۰/۱۸	p=۰/۰۵۳	۶/۷۱(۱/۸۰-۲۴/۹۹)	۲/۵۵(۰/۶۲-۱۰/۴۹)	۰/۱۹(۰/۱۴-۱/۰۴)
	Bb	۴۶(۹۲)	۳۳(۶۶)	۳۲(۶۴)	p=۰/۰۰۲	p<۰/۰۰۱	p=۰/۸۳	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(۲۲)	p=۰/۵۶	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(۴۴)	۲۳(۴۶)	۲۷(۵۴)	p=۰/۸۴	p=۰/۳۲	p=۰/۴۲	۱/۰۸(۰/۴۹-۲/۳۸)	۱/۴۹(۰/۶۸-۳/۲۹)	۱/۳۸(۰/۶۳-۳/۰۳)
	Ff	۲۸(۵۶)	۲۷(۵۴)	۱۹(۳۸)	p=۰/۸۴	p=۰/۰۷۲	p=۰/۱۱	۰/۹۲(۰/۴۲-۲/۰۳)	۰/۴۸(۰/۲۲-۱/۰۷)	۰/۵۲(۰/۲۴-۱/۱۶)
	ff	۰(۰.۰)	۰(۰.۰)	۴(۰.۸)	p=۱	p=۰/۰۱	p=۰/۰۱	-	-	-
Apa1	AA	۲۵(۵۰)	۱۷(۳۴)	۳(۰.۶)	p=۰/۱	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(۵۰)	۲۵(۵۰)	۴۲(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(۰.۰)	۸(۱۶)	۵(۱۰)	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۵	p=۰/۳۷	-	-	۰/۵۸(۰/۱۸-۱/۹۲)
Taq1	TT	۲۹(۵۸)	۱۵(۳۰)	۱۸(۳۶)	p=۰/۰۰۵	p=۰/۰۳	p=۰/۵۲	۰/۳۱(۰/۱۴-۰/۷۱)	۰/۴۱(۰/۱۸-۰/۹۱)	۱/۳۱(۰/۵۷-۳/۰۳)
	Tt	۱۷(۳۴)	۲۸(۵۶)	۱۶(۳۲)	p=۰/۰۰۳	p=۰/۸۳	p=۰/۰۲	۲/۴۷(۱/۱-۵/۵۵)	۰/۹۱(۰/۴-۲/۱)	۰/۳۷(۰/۱۶-۰/۸۴)
	tt	۴(۰.۸)	۷(۱۴)	۱۶(۳۲)	p=۰/۳۴	p=۰/۰۰۳	p=۰/۰۳	۱/۸۷(۰/۵۱-۶/۸۵)	۵/۴۱(۱/۶۶-۱۷/۶۵)	۲/۸۹(۱/۰۷-۷/۸۲)

Taq1 و Apa1, Fok1 می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای تشخیص و بررسی احتمال بروز بیماری دیابت مورد استفاده قرار گیرند به طوری که فراوانی ژنوتیپی این واریانت‌ها در بیماران دیابتی نسبت به افراد سالم به صورت معناداری افزایش می‌یابد. در یک مثال بارز مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنوتیپ bb برای پلی‌مورفیسم 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 بیماری‌های کلیوی دارند و افراد هتروزیگوت مقاومت بیشتری برای ابتلا به دیابت نوع ۲ دارند. پس می‌توان گفت که تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌های مختلف Bsm1 ژن گیرنده ویتامین D و ابتلا به بیماری‌های کلیوی وجود دارد. در راستای نتایج حاضر، Sakulpipatsin و همکاران ارتباط واریانت مختلف پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم به صورت معناداری در بیماران مبتلا به درگیری کلیوی افزایش می‌یابد. نتایج به دست آمده از تحقیقات این محققان در توافق با نتایج ا نشان می‌دهد که افزایش فراوانی ژنوتیپ bb می‌تواند به‌عنوان مارکری برای شناسایی احتمال ابتلا به بیماری‌های کلیوی مورد استفاده قرار گیرد (۱۴). به‌علاوه Ozaki و همکاران در سال ۲۰۰۰ به بررسی ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم Bsm1 در ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا

## بحث

دیابت شایع‌ترین 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 می‌رود تعداد کل افراد مبتلا در سراسر جهان از ۱۷۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۰ به ۳۶۶ میلیون نفر تا سال ۲۰۳۰ افزایش یابد. پیش‌بینی می‌شود 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 می‌دهد (۲)، با افزایش مرگ و میر، کاهش کیفیت زندگی و عوارض میکرو و ماکرواسکولار همچون کوری، بیماری‌های کلیوی و قلبی و نروپاتی همراه است (۴). با توجه به اهمیت اپیدمیولوژیک بیماری و با در نظر گرفتن هزینه‌های بالای اقتصادی و مشکلات فراوان بیماران این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های مختلف ژن گیرنده ویتامین D با بیماری‌های 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 به‌عنوان گروه شاهد و ۵۰ بیمار دیابتی دارای علائم نفروپاتی به‌عنوان گروه مورد صورت گرفت نشان داد که فراوانی ژنوتیپی واریانت‌های bb, ff, Aa و tt به ترتیب برای پلی‌مورفیسم‌های Bsm1, Apa1 و Taq1 در بیماران دارای علائم نفروپاتی به صورت معناداری افزایش یافته است. به‌علاوه فراوانی ژنوتیپی برای واریانت‌های BB, aa و Tt در پلی‌مورفیسم‌های Bsm1،



یافت نشد ولی Abdeltif و همکارانش با مطالعه روی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، نشان دادند پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم با بروز عوارض نفروپاتی در دیابتی‌های نوع ۲ مشاهده گردید. در نهایت بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی مورفیسم‌های مورد مطالعه نشان داد که تنها پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم‌های 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 پلی مورفیسم‌های تأثیرگذار در بروز بیماری کلیوی (نفروپاتی)، پلی مورفیسم Apa1 دارای بیشترین اثر در بروز عوارض کلیوی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ است. به علاوه بررسی میزان همبستگی پلی مورفیسم‌های مختلف با بیماری دیابت نشان داد که پلی مورفیسم 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.

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 پلی مورفیسم Bsm1 ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا به درگیری کلیوی استان خراسان رضوی پرداختند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم Fok1 با بروز نفروپاتی در بیماران دیابتی نوع ۲، مطالعه‌ای یافت نشد ولی در خصوص ارتباط بین پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم و ابتلا به بیماری‌های کلیوی در بیماران دیابتی مشاهده نگردید (۱). در خصوص ارتباط بین پلی مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D و استعداد ابتلا به دیابت نوع ۲ در بیماران مراکشی که به این نتیجه ختم شد پلی مورفیسم‌های 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 پلی مورفیسم و ارتباط آن با عوارض نفروپاتی در دیابتی‌های نوع ۲ به دست آمد. به طوری که 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 پلی-مورفیسم Apa1 و بروز بیماری‌های کلیوی در بیماران دیابتی وجود دارد.

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

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, Totemchokchayakarn 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.

