

## بررسی ارتباط واریانت ژن $TGF-\beta 1$ (rs:۱۸۰۰۴۷۰) با نتایج تن‌سنجی و تراکم استخوان در زنان یائسه تهرانی مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی تهران

سجاد مرادی: گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. s.moradi@razi.ac.ir  
 لیلا خرمی نژاد: گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. khorami.leila@yahoo.com  
 ژیلا مقبولی: مرکز تحقیقات پوکی استخوان، پژوهشکده غدد و متابولیسم، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. omrc@ums.ac.ir  
 \*خدیجه میرزایی: گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم‌شناسی، پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (\*نویسنده مسئول). mirzaei\_kh@tums.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه از از ژنتیک به عنوان عامل مهم و بسیار تاثیرگذار در ابتلا به پوکی استخوان و چاقی یاد می‌شود. به همین منظور این مطالعه با هدف بررسی ارتباط واریانت ژن  $TGF-\beta 1$  با نتایج تن‌سنجی و تراکم استخوان در زنان یائسه تهرانی مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی تهران طراحی و اجرا گردید.

**روش کار:** به منظور انجام این پژوهش مقطعی، ۲۵۴ خانم یائسه در سنین ۴۶ تا ۷۸ سال مورد بررسی قرار گرفتند. ترکیب بدنی توسط دستگاه سنجش توده بدنی اندازه‌گیری گردید. ارزیابی فعالیت بدنی با استفاده از فرم کوتاه شده پرسش‌نامه فعالیت بدنی انجام شد. اندازه‌گیری تراکم معدنی استخوان نیز به روش DEXA انجام گرفت. همچنین شناسایی پلی‌مورفیسم فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (rs:۱۸۰۰۴۷۰) به روش PCR-RFLP انجام گرفت. یافته‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و با روش ANOVA مورد آنالیز قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه شیوع پوکی استخوان زنان تهرانی را در ناحیه ستون مهره‌ها و لگن به ترتیب ۱۷/۷ و ۲/۴ درصد نشان داد. بررسی توزیع فراوانی ژنوتایپ‌های ژن  $TGF-\beta 1$  (rs:۱۸۰۰۴۷۰) برای اولین بار در ایران نشان داد که فراوانی ژنوتایپ‌های این واریانت به ترتیب عبارتند از (TT) ۲۸/۳ درصد، (TC) ۴۸ درصد و (CC) ۲۳/۶ درصد. نتایج نشان داده‌اند این واریانت از  $TGF-\beta 1$  (rs:۱۸۰۰۴۷۰) بعد از تنظیم برای وزن، سن، سن یائسگی، فعالیت بدنی و کالری دریافتی فاقد ارتباط مستقیم با ویژگی‌های تن‌سنجی و تراکم استخوان است ( $p > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که واریانت  $TGF-\beta 1$  (rs:۱۸۰۰۴۷۰) در خانم‌های یائسه نقش مستقیمی بر تراکم معدنی استخوان و ترکیب بدن نداشته باشد.

**کلیدواژه‌ها:** پوکی استخوان،  $TGF\beta 1$ ، یائسگی، ترکیب بدن، تراکم استخوان

### مقدمه

بافت مطلوب استخوانی ایفا می‌کند، می‌تواند فرد را بیش از قبل در برابر ابتلا به پوکی استخوان آسیب‌پذیر کند. علاوه بر یائسگی، پوکی استخوان دارای عوامل زمینه‌ساز دیگری است که می‌توان به‌عنوان مثال به افزایش سن (۴)، مصرف کلسیم (۵)، شرایط ویتامین D (۶)، چاقی (۷)، بیماری انسداد ریوی مزمن (۸)، استرس (۹)، عمل بای پس معده (۱۰)، مصرف دخانیات (۱۱) و تفاوت‌های ژنتیکی (۱۲) اشاره کرد.

اگرچه تاکنون عوامل زمینه‌ساز فراوانی برای پوکی استخوان معرفی شده است، اما اخیراً تفاوت‌های ژنتیکی افراد به اصلاح پلی‌مورفیسم یا

از دست دادن تراکم استخوان پس از یائسگی مهم‌ترین علت افزایش نرخ پوکی و شکستگی استخوان در زنان یائسه نسبت به مردان است (۱). یائسگی در زنان یک واقعیت بیولوژیکی جهانی است، که با بروز نشانه‌های مرتبط با پایان قاعدگی همراه می‌شود (۲). یائسگی طبیعی زمانی به رسمیت شناخته می‌شود که فرد ۱۲ ماه متوالی بدون دلایل پاتولوژیک و فیزیولوژیکی آشکار، پس از آخرین قاعدگی در حالت آمنوره باشد (۳). در این دوره به دلیل ترشح نشدن هورمون‌های جنسی زنانه به‌ویژه استروژن که نقش مهمی در حفظ

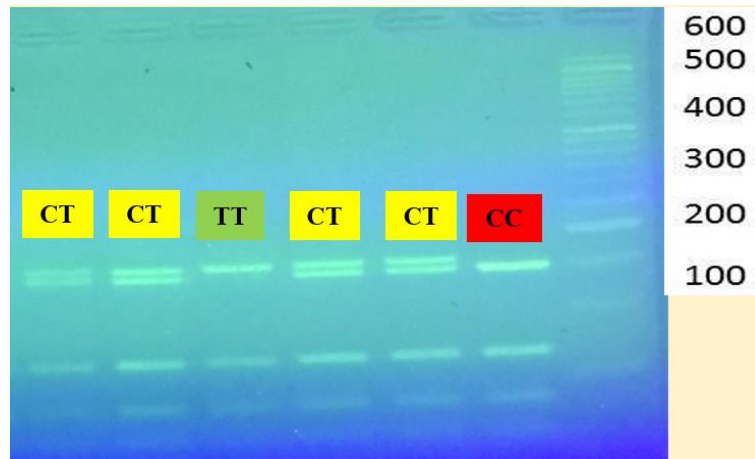
پرسشنامه فعالیت بدنی (IPAQ) انجام شد (۱۵). برای سنجش ترکیب بدن از تمامی افراد شرکت کننده در مطالعه در حالت ناشتا از دستگاه Body Composition Analyzer BC-418MA - Tanita (United Kingdom) کلینیک غدد بیمارستان شریعتی موجود بود، استفاده گردید. در استفاده از این دستگاه نحوه اتصال الکترودها به بدن، نحوه ایستادن و به طور کلی پروتکل اجرایی بر اساس دستورات شرکت سازنده دستگاه انجام گرفت (۱۶). وزن نیز با حداقل پوشش و بدون کفش و با استفاده از ترازوی دیجیتال Seca ساخت کشور آلمان (Seca803) با دقت ۱۰۰ گرم و قد با استفاده از قد سنج Seca (۲۰۶) در حالت ایستاده کنار دیوار و بدون کفش درحالی که کتفها در حالت عادی قرار داشته باشند با دقت ۰/۵ سانتیمتری اندازه گیری شد.

۶ سی سی نمونه خون وریدی از تمامی شرکت کنندگان در پژوهش که به مدت ۱۲ تا ۱۰ ساعت ناشتا بودند، گرفته شد. این مقدار خون به لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) منتقل شد. به منظور ارزیابی های آزمایشگاهی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. در این پژوهش به منظور استخراج DNA از خون کامل از کیت استخراج DNA با نام تجاری Mini Columns, Type G, Exgene شرکت GeneALL استفاده نمودیم. سپس مولکول DNA استخراج شده به عنوان الگو جهت تکثیر توالی کد کننده پلی مرفیسم تک نوکلئوتیدی rs:۱۸۰۰۴۷۰ واقع در ژن کد کننده TGFβ1 به کار گرفته شد. بعد از استخراج با استفاده از دستگاه نانو درآپ غلظت و کیفیت DNA جدا شده و اندازه گیری شد و پس از آن تمامی نمونه ها برای مراحل بعدی در فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. شناسایی پلی مرفیسم فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGFβ1) (rs:۱۸۰۰۴۷۰) به روش PCR-RFLP انجام گرفت (۱۷). مولکول DNA استخراج شده به عنوان الگو جهت تکثیر توالی کد کننده

چندشکلی ژن های مؤثر در پوکی مورد توجه قرار گرفته اند. تعادل بین تشکیل و تحلیل استخوان می تواند توسط عوامل مختلف رشد و سایتوکاین ها از جمله فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGF-β1)، اینترلوکین ۶ و فاکتور رشد شبه انسولین تنظیم شود. در مطالعات سلولی ملکولی و انسانی، بافت زمینه ای استخوان دارای بیشترین غلظت فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ نسبت به بافت های دیگر به عنوان یک عامل تنظیم کننده جذب و بازسازی استخوان است. ژن TGF-β1 شامل هفت اگزون است که در نهایت در سلول های مختلف به ویژه سلول های استخوانی یک پلی پپتید حاوی ۳۹۰ اسید آمینه تولید می کند. همچنین TGF-β1 دارای چندین پلی مرفیسم است که می توانند بر تراکم استخوان تأثیر بگذارند (۱۳). این پلی مرفیسم ها می توانند اثر خود را از طریق تغییر در غلظت، انتقال و بهره وری از سایتوکاین TGF-β1 اعمال کنند (۱۴). بنابراین تغییر در آلل های TGF-β1 می تواند فرد یائسه را در برابر پوکی استخوان آسیب پذیر کند. هدف از انجام این پژوهش بررسی ارتباط واریانت ژن (rs:۱۸۰۰۴۷۰) TGF-β1 با نتایج تن سنجی و تراکم استخوان در زنان یائسه تهرانی مراجعه کننده به بیمارستان شریعتی بود.

## روش کار

به منظور انجام مراحل اجرایی این پژوهش ابتدا هماهنگی های لازم با مرکز تحقیقات استئوپوروز پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفت. سپس با توجه به معیارهای ورودی مطالعه مبنی بر مؤنث، یائسه بودن و عدم ابتلا به بیماری های مزمن در بازه زمانی ۱ شهریور ماه تا ۱۵ دی ماه سال ۹۴، ۲۶۵ نفر به مطالعه وارد شدند. پروتکل مطالعه توسط کمیته اخلاق مرکز تحقیقات متابولیسم و غدد دانشگاه علوم پزشکی تهران تأیید شد (کد اخلاق: ۸۰۳-۳۰-۰۶-۹۴). در ابتدا پس از توضیح و معرفی کامل پژوهش، رضایت نامه آگاهانه کتبی و سپس یک پرسشنامه عمومی از همه شرکت کنندگان در مطالعه تهیه گردید. ارزیابی فعالیت بدنی نیز با استفاده از فرم کوتاه شده



شکل ۱- قطعات تولید شده از طریق روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم MspAII از ژن TGF $\beta$ 1 در ژل آگارز

۴ ستون مهره‌های کم‌ری و از استخوان ران (گردن، تروکانتر و کل استخوان ران) تعیین گردیده و این تراکم استخوان بر اساس  $g/cm^2$  محاسبه شد. در ادامه افراد بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) مورد تقسیم بندی قرار گرفتند. بنابر معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) میزان ابتلا به پوکی استخوان افراد به سه دسته (سالم، استئوپنی، استئوپوروز) تقسیم می‌شوند (۱۸).

پس از جمع‌آوری اطلاعات، یافته‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS و پیرایش ۲۰ مورد آنالیز قرار گرفت. به منظور ارزیابی متغیرهای مورد بررسی در میان ژنوتایپ‌ها از ANOVA استفاده شد. در فاز دوم برای مقایسه متغیرهای کمی بین افراد مبتلا به پوکی استخوان و افراد سالم از آزمون t-Student و مقایسه مقادیر متغیرهای کیفی در بین گروه‌ها از آزمون مربع کای سنجیده شد. برای تمام تست‌ها مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

افراد وارد شده به مطالعه بر اساس جدول ۱ از سن ۴۶ تا ۷۸ سال، با میانگین  $57/8 \pm 6/14$  و سن یائسگی با میانگین  $48/75 \pm 4/28$  سال را در بر می‌گیرند. این افراد از لحاظ قدی دارای میانگین  $154/82 \pm 11/58$  و میانگین وزنی برابر با  $70/63 \pm 13/87$  بودند. افراد مورد مطالعه از لحاظ

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی با پرایمرهای Forward و Reverse انجام گرفت. توالی پرایمر طراحی شده برای تکثیر توالی کد کننده T869>C واقع در ژن کد کننده فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGF $\beta$ 1) در کروموزوم شماره نوزده (۱۶:۴۱۳۵۳۰۱۹) به قرار زیر می‌باشد:

Forward: 5'-TTCCCTCGAGGCCCTC  
CTA-3', Reverse: 5'-GCCGCAGCTTG  
GACAGGATC-3'

آنزیم MspAII در صورت هموزیگوت بودن و عدم موتاسیون در جایگاه پلی مورفیسم نوکلئوتیدی تک واحدی C>869T واقع در ژن TGF $\beta$ 1 چهار باند (باندهای ۲۶ و ۱۶۱،۶۷،۴۰) و در صورت هموزیگوت بودن و صورت گرفتن موتاسیون در این جایگاه پنج باند (باندهای ۱۲ و ۲۶ و ۱۴۹،۶۷،۴۰) ایجاد می‌کند. این در حالی است در صورت هتروزیگوت بودن در جایگاه پلی مورفیسم نوکلئوتیدی تک C>869T واقع در ژن TGF $\beta$ 1 شش باند (باندهای ۱۲ و ۲۶ و ۱۴۹،۶۷،۴۰ و ۱۶۱،۴۹،۶۷،۴۰) ایجاد می‌کند (شکل ۱).

در این مطالعه تراکم معدنی استخوان از روش سنجش با دستگاه DEXA می‌باشد که روش استاندارد طلایی محسوب می‌شود. در این جهت از دستگاه (Lunar Corporation, Madison, WI, USA) Lunar DPX-MD (Wisconsin, 53713, USA) مرکز تراکم استخوان بیمارستان شریعتی استفاده گردید. در این مرکز تراکم استخوان در ناحیه ۲ تا

جدول ۱- ویژگی های کلی جمعیت مورد مطالعه

متغیر	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار
سن (سال)	۴۶	۷۸	۵۷/۸۰	۶/۱۴
سن یائسگی (سال)	۳۵	۵۹	۴۸/۷۵	۴/۲۸
قد (سانتی متر)	۱۴۳/۴۰	۱۷۳	۱۵۴/۸۲	۱۱/۵۸
وزن (کیلوگرم)	۴۲/۳۰	۱۵۸	۷۰/۶۳	۱۳/۸۷
شاخص توده بدنی (قد <sup>۲</sup> /کیلوگرم)	۱۷/۵۰	۴۱	۲۸/۶۱	۴/۴۳
درصد چربی بدن (%)	۱۰/۸۰	۵۸/۳۰	۲۷/۱۰	۷/۷۹
درصد توده بدون چربی (%)	۱۰/۱۰	۷۰/۱۰	۴۲/۰۹	۶/۹۲
دورباسن (سانتی متر)	۷۲	۱۵۰	۱۰۵/۵۱	۹/۴۱
دور کمر (سانتی متر)	۶۱	۱۵۱	۸۹/۷۹	۱۲/۲۶
متابولیسم پایه (کیلوکالری)	۱۰۱۹	۱۷۴۴	۱۳۱۷	۱۳۰/۰۵

جدول ۲- توزیع و فراوانی مطلق و نسبی پوکی استخوان در ناحیه ستون مهره ها و ناحیه لگن بر اساس Tscore

سالم	استئوپنی	پوکی استخوان	ستون مهره ها
۹۵ (%۳۷) <sup>۱</sup>	۱۱۴ (%۴۴/۸)	۴۵ (%۱۷/۷)	ناحیه لگن
۱۵۳ (%۶۰/۲)	۹۵ (%۳۷/۴)	۶ (%۲/۴)	

تعداد نفر (درصد از کل)<sup>۱</sup>

جدول ۳- توزیع و فراوانی مطلق و نسبی زنونتایپ های TGFβ1

ژنونتایپ	TT	TC	CC
شرکت کننده گان	۷۲ (%۲۸/۳) <sup>۱</sup>	۱۲۲ (%۴۸/۰۳)	۶۰ (%۲۳/۶)

تعداد (درصد)<sup>۱</sup>

توزیع فراوانی مطلق و نسبی پوکی استخوان در ناحیه لگن خانم‌های یائسه از نظر سلامت استخوان به ترتیب بیشترین نفرات عبارتند از افراد سالم (۶۰/۲) (%۱۵۳)، افراد مبتلا به استئوپنی (۳۷/۴) (%۹۵) نفر و افراد مبتلا به پوکی استخوان (۲/۴) (%۶) نفر می‌باشد (جدول ۲).

پس از انجام کلیه مراحل تشخیص ژنونتایپ های ژن TGFβ1- rs:1800470 نتایج بدست آمده به شرح زیر بود (جدول ۳). نتایج نشان می‌دهد که افراد دارای ژنونتایپ هتروزیگوت با فراوانی (۴۸/۰۳) (%۱۲۲) نفر دارای بیشترین تعداد شرکت کنندگان بودند. علاوه بر این افراد با ژنونتایپ TT فراوانی (۲۸/۳) (%۷۲) نفر از افراد شرکت کنندگان را تشکیل می‌دادند. افراد با ژنونتایپ هموزیگوت CC دارای کمترین فراوانی با (۲۳/۶) (%۶۰) نفر بودند. افراد شرکت کننده در این مطالعه از لحاظ توزیع فراوانی ژنونتایپ‌های این اسنپ از قانون هاردی واینبرگ پیروی می‌کردند (p=۰/۷۳۵).

مقایسه نتایج تن‌سنجی و تراکم معدنی استخوان

شاخص توده بدنی دارای حداقل ۱۷/۵۰ و حداکثر ۴۱ و با میانگین ۲۸/۶۱±۴/۴۳ بودند. علاوه بر این افراد شرکت کننده از لحاظ درصد چربی بدن، درصد توده بدون چربی، دورباسن، دور کمر، دارای میانگین ۲۷/۱۰±۷/۷۹، ۲۷/۱۰±۶/۹۲، ۴۲/۰۹±۶/۹۲، ۲۷/۱۰±۷/۷۹ بودند. از لحاظ متابولیسم پایه نیز این افراد دارای حداقل ۱۰۱۹، حداکثر ۱۷۴۴ و میانگین ۱۳۱۷±۱۳۰/۰۵ بودند.

تراکم معدنی استخوان افراد شرکت کننده در ناحیه ستون مهره‌ها به صورت متوسط  $gr/cm^2$  ۱/۰۳، در حالیکه میانگین Tscore و Zscore این زنان به ترتیب ۱/۳۱- و ۰/۴۳- بود. بیشترین میزان مشارکت در مطالعه از لحاظ سلامت استخوان در ناحیه ستون مهره‌ها به ترتیب به افراد مبتلا به استئوپنی با (۴۴/۸) (%۱۱۴) نفر، افراد سالم با (۳۷) (%۹۵) نفر و افراد مبتلا به پوکی استخوان با (۱۷/۷) (%۴۵) نفر اختصاص پیدا می‌کند. تراکم معدنی استخوان بانوان شرکت کننده در مطالعه این بار در محل لگن میانگین ۱/۰۶ و میانگین Tscore و Zscore این زنان به ترتیب ۰/۶۵- و ۰/۰۵- بود.

جدول ۴- مقایسه نتایج تن سنجی و تراکم معدنی استخوان در میان ژنوتایپ‌های ژن فاکتور رشد تغییر دهنده بتا ۱ در خانم‌های یائسه

متغیرهای تن سنجی	ژنوتایپ TT	ژنوتایپ TC	ژنوتایپ CC	p*	p**			
سن (سال)	(تعداد=۷۲ نفر)	(تعداد=۱۲۲ نفر)	(تعداد=۶۰ نفر)	۵/۹۰±۵۸/۴۵	۵/۹۴±۵۷/۳۸	۵/۹۴±۵۷/۳۸	۰/۹۳	۰/۱۰۴
وزن (کیلوگرم)	۱۱/۲۸±۷۰/۲۰	۱۴/۸۴±۷۰/۶۴	۱۵/۰۸±۷۱/۱۷	۵/۸۷±۱۵۵/۶۶	۱۲/۳۶±۱۵۴/۶۸	۱۴/۹۲±۱۵۴/۲۵	۰/۲۵۹	۰/۹۲۱
قد (سانتی متر)	۴/۲۹±۲۸/۹۹	۴/۶۰±۲۸/۴۰	۴/۲۸±۲۸/۳۸	۱۴/۱۱±۹۲/۲۸	۱۱/۵۱±۸۹/۱۰	۸۸/۰۵±۱۱/۴۷	۰/۵۶۷	۰/۷۶۵
شاخص توده بدنی (قد <sup>۲</sup> /کیلوگرم)	۹/۲۱±۱۰۶/۹۰	۹/۹۱±۱۰۵/۰۱	۸/۳۵±۱۰۴/۷۷	۶/۰۸±۳۷/۵۹	۶/۶۳±۳۶/۷۵	۵/۵۵±۳۶/۶۵	۰/۰۷۴	۰/۶۳۳
دور کمر (سانتی متر)	۶/۱۸±۴۲/۱۶	۶/۵۵±۴۲/۰۵	۸/۰۱±۴۲/۰۳	۷/۸۵±۲۸/۰۸	۷/۹۰±۲۶/۵۰	۷/۴۵±۲۶/۳۶	۰/۱۰۱	۰/۱۰۶
دور باسن (سانتی متر)	۲/۵۴±۹/۴۴	۲/۴۶±۸/۸۶	۲/۲۸±۸/۸۱	توده بدون چربی (%)	۶/۸۶±۴۲/۱۶	۸/۰۱±۴۲/۰۳	۰/۹۳۳	۰/۹۹۲
درصد چربی (%)	متابولیسم پایه (کیلوکالری)	۱۲۳/۷۵±۱۳۰۹/۰۱	۱۳۷/۵۲±۱۳۲۱/۳۱	۱۳۳/۰۶±۱۳۲۰/۴۸	۳/۸۸±۳۱/۵۳	۳/۳۹±۳۱/۷۵	۰/۱۳۶	۰/۲۱۰
توده چربی (%)	آب کل بدن (%)	۳/۵۷±۳۱/۳۶	۳/۸۸±۳۱/۵۳	۳/۳۹±۳۱/۷۵	متغیرهای تراکم معدنی استخوان		۰/۲۷۹	۰/۸۳۸
چربی احشایی (%)	تراکم معدنی استخوان لگن	۰/۱۱±۰/۹۲	۰/۱۲±۰/۹۰	۰/۱۹±۰/۹۶			۰/۴۱۵	۰/۰۵۴
متابولیسم پایه (کیلوکالری)	T-score لگن	-۰/۹۵±۰/۶۴	۱/۰۵±۰/۷۴	-۰/۹۸±۰/۵۲			۰/۲۱۶	۰/۳۹۷
آب کل بدن (%)	Z-score لگن	۰/۷۷±۰/۰۰۱	۰/۹۲±۰/۱۹	۰/۹۰±۰/۰۸			۰/۱۴۴	۰/۰۹۱
	تراکم معدنی استخوان مهره ها	۰/۱۷±۱/۰۴	۰/۱۶±۱/۰۰	۰/۱۶±۱/۰۸			۰/۱۲۹	۰/۰۲۸
	T-score ستون مهره ها	۱/۳۱±۱/۳۹	۱/۳۷±۱/۴۷	۱/۲۵±۱/۰۳			۰/۲۹۷	۰/۱۱۳
	Z-score ستون مهره ها	۱/۲۶±۰/۳۶	۱/۲۷±۰/۶۴	۱/۲۹±۰/۱۷			۰/۲۰۱	۰/۰۵۳

\* میزان معنی داری ۰/۰۵ درصد حاصل از آزمون ANOVA

\*\* سطح معنی داری ۰/۰۵ درصد پس از تطابق با سن، سن یائسگی، وزن، فعالیت بدنی و کالری دریافتی حاصل از آزمون ANCOVA

### بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه برای اولین بار به بررسی نقش واریانت ژن  $TGF-\beta 1$  (rs: 1800470) با نتایج تن سنجی و تراکم استخوان در زنان یائسه تهرانی مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی پرداخته است. نتایج این مطالعه شیوع ۱۷/۷ درصدی پوکی استخوان در ناحیه ستون مهره‌ها و شیوع ۲/۴ درصدی پوکی استخوان را در ناحیه لگن زنان تهرانی نشان داد. بررسی توزیع فراوانی ژنوتایپ‌های ژن  $TGF-\beta 1$  (rs: 1800470) برای اولین بار در ایران نشان داد که فراوانی ژنوتایپ‌های این واریانت به ترتیب عبارتند از TT ۲۸/۳ درصد، TC ۴۸ درصد و CC ۲۳/۶ درصد می‌باشد. افراد شرکت‌کننده در این مطالعه از لحاظ توزیع فراوانی ژنوتایپ‌های این اسنپ از قانون هاردی واینبرگ پیروی می‌کردند ( $P=0/73$ ). بررسی ارتباط ژنوتایپ‌های ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ با نتایج تن سنجی و تراکم معدنی استخوان پس از تطابق با سن، سن یائسگی، وزن، فعالیت بدنی و

در میان ژنوتایپ‌های ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ در خانم‌های یائسه به صورت خام و قبل از تطابق مورد بررسی قرار گرفت. در حالت خام ژنوتایپ‌های این ژن بر تراکم معدنی استخوان لگن ( $p=0/054$ )، تراکم معدنی استخوان مهره‌ها ( $p=0/053$ )، Z-score ستون مهره‌ها ( $p=0/028$ ) دارای تأثیر معنی‌دار بودند. نتایج نشان داد که افراد دارای ژنوتایپ CC دارای بیشترین تراکم در ناحیه لگن و ستون مهره‌ها بودند. این در حالیست که افراد با ژنوتایپ TC دارای کمترین تراکم در نواحی مذکور بود. (جدول ۴). در مرحله بعدی تأثیر ژنوتایپ‌های ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ بر متغیرهای کمی از طریق روش ANCOVA مورد تطابق با عوامل مخدوشگر قرار گرفت. نتایج در این مرحله نشان داد ژنوتایپ‌های ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ ( $rs: 1800470$ ) بعد از تطابق با عوامل مذکور فاقد تأثیر معنی‌دار بر متغیرهای کمی از جمله نتایج تن سنجی و تراکم معدنی استخوان می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

به آلل C به صورت نزدیک به معنی دار موجب کاهش شاخص توده بدنی می‌شد. در اکثریت مطالعاتی که تا به امروز صورت گرفته است ژنوتایپ های  $T > C$  869 TGF- $\beta$ 1 را به صورتی گزارش کردند که دارای تأثیر بر چاقی و شاخص توده بدنی هستند؛ اما در مطالعه حاضر که بر اساس دانش ما اولین مطالعه در نوع خود است که به بررسی تأثیر ژنوتایپ های  $T > C$  869 TGF- $\beta$ 1 بر تن سنجی و عوامل بیوشیمیایی خانم های یائسه ایرانی پرداخته است، این ارتباط مشاهده نشد. این دست آورد می‌تواند دلایلی از جمله تفاوت های نژادی و شرایط زندگی بین جوامع مورد مقایسه باشد. به عنوان مثال Long و همکاران در مطالعه خود تأثیر این ژن را در چاقی نشان داده‌اند. آنان گزارش کردند که در اسنیپ T29-C، آلل C برای کسانی که آن را حمل می‌کنند، ممکن است فاکتور خطر ابتلا به چاقی و BMI بالا باشد (۲۱).

بررسی ارتباط ژنوتایپ های ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ ژنوتایپ های  $T > C$  869 TGF- $\beta$ 1 با نتایج تراکم معدنی استخوان هیچ گونه اثر معنی داری را نشان نداد. مطالعات بسیاری اسنیپ های  $T > C$  869 TGF- $\beta$ 1 به منظور مشخص کردن سطح تأثیر گذاری ژنوتایپ های این سایتوکاین صورت گرفته است که نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند. در ادامه به بررسی و مقایسه آنها می‌پردازیم. البته لازم به ذکر است که بر اساس آخرین جستجوهای صورت گرفته این مطالعه یکی از اولین مطالعه بررسی فراوانی این ژنوتایپ در ایران بوده و مطالعه ای داخلی و مشابه جهت مقایسه یافت نشد.

Yamada و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۰۱ مطالعه ای با عنوان اثر مستقیم و تجمعی واریانت های  $T \rightarrow C$  509 و  $C \rightarrow T$  869 ژن TGF $\beta$ 1 در استعداد ابتلا به پوکی استخوان زنان ژاپنی انجام دادند. در این مطالعه ۷۲۰ خانم یائسه شرکت کردند. نتایج بدست آمده حاکی از این است که در واریانت  $T \rightarrow C$  509 افراد دارای ژنوتایپ TT تراکم استخوان کمتر در نواحی لگن و ستون مهرهها نسبت به افراد دارای ژنوتایپ TC و CC بودند. در واریانت  $T \rightarrow C$  869 نیز آلل T به عنوان عامل خطر و آسیب پذیری زنان یائسه در برابر

کالری دریافتی نشان داد که این واریانت (rs: ۱۸۰۰۴۷۰) از  $TGF-\beta 1$  فاقد ارتباط مستقیم با ویژگی های تن سنجی و تراکم استخوان است.

در این مطالعه درصد شیوع پوکی استخوان در ناحیه ستون مهرهها و لگن در زنان یائسه تهرانی به ترتیب ۱۷٪ و ۲۲٪ و درصد افراد مبتلا به استئوپنی در ناحیه لگن و ستون مهرهها به ترتیب ۳۵/۷٪ و ۴۳/۱٪ بود. این در حالی است که درصد افراد سالم از لحاظ ابتلا به پوکی استخوان و استئوپنی در ناحیه لگن و ستون مهرهها به ترتیب ۳۶٪ و ۵۸/۷٪ گزارش شد. بر اساس مطالعات پیشین از جمله مطالعه فراتحلیل در سال ۲۰۱۳ توسط دوستی و همکاران (۱۹) به منظور بررسی شیوع پوکی استخوان در ایران صورت گرفت. در این مطالعه ۳۴۸۱۴ نفر از ۳۱ مطالعه وارد شدند. نتایج نشان داده‌اند که میزان شیوع کلی پوکی استخوان در ناحیه ستون مهرهها ۱۷ درصد و شیوع استئوپنی در این ناحیه را ۳۵ درصد است. در زیرگروه خانم های یائسه میزان شیوع پوکی استخوان و استئوپنی افزایش پیدا کرد به طوری که به ترتیب ۱۹ درصد و ۴۰ درصد گزارش شد. روند مطالعات نشان می‌دهد با افزایش سن و جابجایی جغرافیایی به شمال ایران میزان شیوع بیشتر می‌شود. مطالعه دیگری نیز که به صورت با عنوان فراتحلیل شیوع پوکی استخوان در زنان ایرانی، توسط باقری (۲۰) و همکاران انجام شد نشان داد که شیوع استئوپروز در ناحیه فمور، در زنان ایرانی ۱۹٪ و شیوع استئوپروز در ناحیه ستون مهرهها در زنان ایرانی ۱۸٪/۹ می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعات پیشین شیوع مناسب و منطقی را در ناحیه ستون مهرهها در این مطالعه تأیید می‌کند. اما افراد شرکت کننده در ناحیه لگن نسبت به مطالعات پیشین ابتلای کمتری به پوکی استخوان داشتند. این یافته می‌تواند به دلیل شیوع پوکی استخوان در ناحیه لگن در سنین بالاتر از سن افراد شرکت کننده باشد.

یافته‌هایی که به بررسی ارتباط ژنوتایپ های ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ با نتایج تن سنجی و تراکم استخوان هیچ گونه اثر معنی داری را نشان نداده‌اند. البته لازم به ذکر است که تبدیل آلل T

این مطالعه به روشنی نشان می‌دهد که بهتر است در مطالعات مشابه به بررسی هم زمان واریانت‌های ژن TGF-β1 و واریانت‌های سایتوکاین‌های دیگر به صورت همزمان پرداخت تا اثر متقابل آن نیز مشاهده گردد. با توجه به عدم تأثیر واریانت TGF-β1 869 C>T در واریانت‌های دیگر مورد بررسی قرار گیرد.

**نقاط قوت:** از نقاط قوت این مطالعه می‌توان به بررسی فراوانی و ارتباط واریانت ژن TGF-β1 با تراکم معدنی استخوان و ترکیب بدن در زنان یائسه برای اولین بار در ایران اشاره نمود.

**محدودیت‌ها:** محدودیت اصلی این پژوهش عدم بررسی همزمان چند واریانت از این ژن و اثر متقابل آنها بود که به دلیل محدودیت مالی انجام نگرفت. علاوه بر این مطالعه حاضر به صورت مقطعی انجام گرفته است. پیشنهاد می‌شود که در آینده برای تکرار چنین مطالعاتی از بررسی‌های همگروهی با مدت زمان پیگیری مناسب استفاده گردد.

### تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل حمایت مالی از این طرح با کد طرح ۲۹۵۴۷-۱۶۱-۰۲-۹۴ اعلام می‌دارند. این مقاله بخشی از طرح پایان نامه با عنوان "بررسی بر همکنش الگوهای دریافت غذایی غالب، فعالیت بدنی و واریانت ژن هورمون فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGF-β1) در خطر ابتلا به پوکی استخوان در زنان یائسه مراجعه‌کننده به واحد تراکم استخوان بیمارستان شریعتی" مصوب سال ۱۳۹۴ در دانشگاه علوم پزشکی تهران می‌باشد که با حمایت مرکز پوکی استخوان پژوهشکده غدد و متابولیسم این دانشگاه به صورت مشترک اجرا شده است.

### منابع

1. <http://www.iofbonehealth.org/epidemiology>.
2. Lock M. Menopause in cultural context. *Experimental Gerontology*; 1994.29(3):307-17.
3. Utian WH. The International Menopause menopause-related terminology definitions.

پوکی استخوان معرفی می‌شود. Tural و همکاران (۲۳) در سال ۲۰۱۲ در پژوهشی به بررسی ارتباط واریانت‌های ژن IL-10 and TGF-beta با احتمال ابتلا به پوکی استخوان در زنان یائسه ترکیه ای پرداختند. در این پژوهش در جهت دستاورد این مطالعه نشان دادند که واریانت C→T869 ژن TGF-beta دارای تأثیر معنا داری بر تراکم و سلامت استخوان در ناحیه ستون مهره‌ها و لگن نبود. این در حالیست که، همراه شدن ژنوتایپ CC در ژن IL-10 با ژنوتایپ CC در ژن TGF-beta در یک فرد به عنوان عامل خطر در برابر ابتلا به پوکی استخوان معرفی شده است. Sun و همکاران (۲۴) در سال ۲۰۱۵ در یک مطالعه فراسنجش به بررسی ارتباط احتمال ابتلا به پوکی استخوان در زنان یائسه با واریانت‌های T869C و T29C ژن TGF-beta پرداختند. دست آورد کلی نشان داد واریانت‌های T869C و T29C ژن TGF-beta با احتمال ابتلا بانوان یائسه به پوکی استخوان در رابطه هستند. این نتایج بیانگر این امر بودند که این دو واریانت از ژن TGF-β1 در نژاد قفقازی فاقد تأثیر معنی داری بوده است. اما این واریانت‌ها در نژاد آسیایی دارای اثر معنا داری بر سلامت استخوان بودند. افرادی که در هر یک از این واریانت‌ها دارای ژنوتایپ TT بودند نسبت به افراد واجد ژنوتایپ CC و TC دارای آسیب پذیری بیشتری به پوکی استخوان بودند.

با توجه به نتایج متناقضی که در زمینه تأثیر واریانت‌های ژن TGF-β1 بر ابتلا به پوکی استخوان که تاکنون منتشر شده است نمی‌توان نتیجه گیری محکمی در این زمینه ارائه داد. واریانت‌های ژن TGF-β1 دارای تأثیرات بسیار متفاوتی در نژادهای مختلف هستند. گزارشاتی که از مطالعات فراتحلیل (۲۵، ۲۶) انتشار پیدا می‌کند، بیانگر تأثیر گذاری بیشتر این ژنوتایپ‌ها در جوامع با الگوی ژنتیکی آسیایی است. اما در کشورهای همسایه که غرابت ژنتیکی بیشتری با کشورمان دارند همچون کشور ترکیه و کشورهایی که جمعیتی با نژاد قفقازی دارند، واریانت‌های ژن TGF-β1 به تهنایی بر ابتلا به پوکی استخوان نقش مهمی ایفا نمی‌کنند. نتایج بدست آمده از

increased risk for Hashimoto's thyroiditis. *Int Immunopharmacol*; 2015.28(1):521-4.

18. Organization WH. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: report of a WHO study group [meeting held in Rome from 22 to 25 June 1992]. 1994.

19. Irani AD, Poorolajal J, Khalilian A, Esmailnasab N, Cheraghi Z. Prevalence of osteoporosis in Iran: A meta-analysis. *J Res Med Sci*; 2013.18(9):759-66.

20. Bagheri P, Haghdoost A, DORTAJ RE, Halimi L, Vafaei Z, Farhangnia M, et al. Ultra analysis of prevalence of osteoporosis in Iranian women. 2011.

21. Long J, Liu P, Liu Y, Lu Y, Xiong D, Elze L, et al. APOE and TGF- $\beta$ 1 genes are associated with obesity phenotypes. *J Med Genet*; 2003.40(12):918-24.

22. Yamada Y, Miyauchi A, Takagi Y, Tanaka M, Mizuno M, Harada A. Association of the C-509→T polymorphism, alone or in combination with the T869→C polymorphism, of the transforming growth factor- $\beta$ 1 gene with bone mineral density and genetic susceptibility to osteoporosis in Japanese women. *J Mol Med*; 2001.79(2-3):149-56.

23. Tural S, Alayli G, Kara N, Tander B, Bilgici A, Kuru O. Association between osteoporosis and polymorphisms of the IL-10 and TGF-beta genes in Turkish postmenopausal women. *Hum Immunol*; 2013.74(9):1179-83.

24. Sun J, Zhang C, Xu L, Yang M, Yang H. The transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) gene polymorphisms (TGF- $\beta$ 1 T869C and TGF- $\beta$ 1 T29C) and susceptibility to postmenopausal osteoporosis: a meta-analysis. *Medicine*; 2015.94(4):e461-e.

25. Sun J, Zhang C, Xu L, Yang M, Yang H. The transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) gene polymorphisms (TGF-beta1 T869C and TGF-beta1 T29C) and susceptibility to postmenopausal osteoporosis: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*; 2015.94(4):e461.

26. Cong Y, Ru JY, Bao NR, Guo T, Zhao JN. A single nucleotide polymorphism in the TGF-beta1 gene (rs1982073 C>T) may contribute to increased risks of bone fracture, osteoporosis, and osteoarthritis: a meta-analysis. *Clin Rheumatol*; 2016.35(4):973-85.

*Climacteric*; 1999.2(4):284-6.

4. Giusti A, Bianchi G. Treatment of primary osteoporosis in men. *Clin Interv Aging*; 2015.10:105.

5. Chan GM. Dietary calcium and bone mineral status of children and adolescents. *Am J Dis Child*; 1991.145(6):631-4.

6. Pasco JA, Henry MJ, Nicholson GC, Sanders KM, Kotowicz MA. Vitamin D status of women in the Geelong Osteoporosis Study: association with diet and casual exposure to sunlight. *Med J Aust*; 2001.175(8):401-5.

7. Greco EA, Donini LM, Lenzi A, Migliaccio S. Obesity and Osteoporosis. *Multidisciplinary Approach to Obesity*: Springer; 2015. p. 83-8.

8. Chen SJ, Liao WC, Huang KH, Lin CL, Tsai WC, Kung PT, et al. Chronic obstructive pulmonary disease is a strong independent risk factor for osteoporosis and pathologic fractures: a population-based cohort study. *QJM*; 2015:hcv012.

9. Nepal NKS. Biological Interaction of Stress and Osteoporosis. *Inter J Pharm& Bio Arch*; 2015.5(5).

10. Lim JS, Kim SB, Bang HY, Cheon GJ, Lee JI. High prevalence of osteoporosis in patients with gastric adenocarcinoma following gastrectomy. *World J Gastroenterol*; 2007.13(48):6492.

11. Christos KF, Maria PE, Ioanna PV, Polina P, Ioannis K, Sofia D, et al. Smoking is associated with osteoporosis development in Primary care population. *Am J Nurs*; 2015.4(2-1):96-101.

12. Kelly PJ, Eisman JA. Osteoporosis: Genetic effects on bone turnover and bone density. *Ann Med*; 1993.25(2):99-101.

13. Bertoldo F, D'Agruma L, Furlan F, Colapietro F, Lorenzi MT, Maiorano N, et al. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphism, bone turnover, and bone mass in Italian postmenopausal women. *J Bone Miner Res: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*; 2000.15(4):634-9.

14. Yamada Y. Association of a Leu 10→Pro polymorphism of the transforming growth factor- $\beta$ 1 with genetic susceptibility to osteoporosis and spinal osteoarthritis. *Mech Ageing Dev*; 2000.116(2):113-23.

15. Committee IR. Guidelines for data processing and analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)-short and long forms. Retrieved September; 2005.17:2008.

16. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *Jama*; 2000.283(15):2008-12.

17. Vural P, Degirmencioglu S, Dogru-Abbasoglu S, Baki M, Ozderya A, Karadag B, et al. Arg25Pro (c.915G>C) polymorphism of transforming growth factor beta1 gene suggests an association with



## The relationship between gene variants TGF- $\beta$ 1 (rs: 1800470) with anthropometric and bone mineral density characteristics in postmenopausal women referred to Shariati Hospital in Tehran

**Sajjad Moradi**, MSc, Department of Community Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. s.moradi@razi.ac.ir

**Leila Khorrami**, MSc, Department of Community Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. khorami.leila@yahoo.com

**Zhila Maghbooli**, PhD, Endocrine Diseases and Metabolism Research Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. omrc@ums.ac.ir

\***Khadijeh Mirzaei**, PhD, Department of Community Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (\*Corresponding author). mirzaei\_kh@tums.ac.ir

### Abstract

**Background:** Currently, genetics is considered to be a major factor in the risk of osteoporosis and obesity. Therefore, we investigated possible association between TGF $\beta$ 1 polymorphisms (rs: 1800470) with anthropometric and bone mineral density characteristics in postmenopausal women referred to Shariati Hospital in Tehran.

**Methods:** In this study, 254 postmenopausal women aged 46 to 78 years were examined. Body composition measured by Body Composition Analyzer. Physical activity using the short form of physical activity questionnaire (IPAQ) was performed. Bone mineral density was measured by DEXA method. DNA samples from participants were genotyped using RFLP-PCR method. The results were analyzed by SPSS software version 20 and ANOVA method.

**Results:** Our results showed that prevalence of osteoporosis in lumbar and hip Tehranian women were 17.7% and 2.4% respectively. For first time in Iran, we found that genotype frequencies for TGF $\beta$ 1 polymorphism (rs1800470) were: TT: 28.3%, TC: 48%, CC: 23.6% respectively. TGF $\beta$ 1 polymorphism (rs1800470) in Iranian postmenopausal women after adjustment for age, age of menopause weight, physical activity, calorie intake were not associated with demography, body composition and bone characteristics ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that TGF- $\beta$ 1 variants (rs: 1800470) in postmenopausal Iranian women did not have direct association with bone mineral density and body composition.

**Keywords** TGF $\beta$ 1, Osteoporosis, Body composition, Postmenopausal women