

## SAĞLIKLI TÜRK POPULASYONUNDA VİTAMİN D RESEPTÖR (VDR) GEN POLİMORFİZM ANALİZİ

Didem DAYANGAÇ<sup>1</sup>, Eda ÖZAYDIN<sup>2</sup> Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER<sup>1</sup>, Turgay COŞKUN<sup>2</sup>  
Hayat ERDEM YURTER<sup>1</sup>

### THE VITAMIN D RECEPTOR (VDR) GENE POLYMORPHISM ANALYSIS OF HEALTHY TURKISH POPULATION

**Özet:** Kemik yoğunluğunun yapım ve yıkım döngüsü genetik kontrol altında olup, bazı genlerdeki polimorfizmler bireysel kemik yoğunluğunu belirlemektedir. Bu polimorfik genlerden ilk tanımlanan VDR (vitamin D reseptör) genidir. 75 kb uzunluğunda 11 ekzon içeren VDR geni 12q12-14'de haritalanmıştır. VDR proteini transkripsiyon düzenleyici faktörler grubuna giren ve 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>'ün biyolojik etkilerini kontrol eden bir reseptördür. VDR geni içinde üç önemli polimorfik bölge bulunmaktadır. Bunlardan ilki ekzon 2'de bulunan FokI polimorfizmi olup protein sentezinin başlangıç kodonu polimorfizmidir. İkinci (intron 8) ve üçüncü (ekzon 9) polimorfik bölgede ise sırasıyla Apal ve TaqI polimorfizmleri bulunur. Yaşları 8 ile 48 arasında değişen 52'si erkek, 48'i kadın toplam 100 sağlıklı bireyden oluşan çalışma grubumuzda VDR geni FokI, Apal ve TaqI polimorfizmleri PCR/RFLP yöntemiyle analiz edildi. VDR allel (F: 0.73, f: 0.27, A: 0.57, a: 0.43, T: 0.59, t: 0.41) ile genotip frekansları (FF: %55, Ff: %36, ff: %9, AA: %30, Aa: %55, aa: %15, TT: %35, Tt: %49, tt: %16) saptandı ve haplotipler oluşturuldu. İkili haplotipler arasında AaTt genotipinin %36 sıklıkta, en sık görülen genotip olduğu saptandı. Üçlü haplotipler arasında ise en sık (%16) görülen haplotip AaTtFf olarak bulundu. Çalışmamızda populasyona göre farklılık gösteren ve birçok hastalıklara yatkınlığı bulunan VDR genotiplerinin sağlıklı Türk populasyonundaki dağılımını göstermek amaçlanmıştır. Bundan sonra VDR gen ile birlikteliği saptanan hasta bireyler incelenerek sağlıklı/hasta genotip farklılıklarının karşılaştırılması mümkün olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Vitamin D hormonu, VDR geni, Polimorfizm,

**Summary:** Bone density and bone turnover are under genetic control and bone density is determined by several gene polymorphisms. The VDR (vitamin D receptor) is the first gene that was described. It is localized to 12q12-14, composed of 11 exons and spans 75 kb. VDR protein is a receptor that belongs to the group of transcriptional regulatory factors and regulates the biologic effects of 1,25-dihydroxy vitamin D<sub>3</sub>. There are three polymorphic sites in the VDR gene. The first is the FokI polymorphism which is a protein synthesis start codon polymorphism. At the second (intron 8) and third (exon 9) polymorphic site, Apal and TaqI polymorphisms are described, respectively. Our study group is consisted of 100 (52 male and 48 female) healthy individuals aged between 8 and 48, VDR gene FokI, Apal and TaqI polymorphisms were analyzed with PCR/RFLP. VDR allele (F: 0.73, f: 0.27, A: 0.57, a: 0.43, T: 0.59, t: 0.41) and genotype frequencies (FF: %55, Ff: %36, ff: %9, AA: %30, Aa: %55, aa: %15, TT: %35, Tt: %49, tt: %16) were identified and haplotypes were determined. The combined haplotypes AATt (36%) and AaTtFf (16%) were found as the most frequent genotype. The aim of our study is to determine the distribution of VDR gene polymorphisms which are population specific and are associated with diseases. According to this, the comparison of VDR genotypes in healthy individuals/patients will be feasible.

**Key Words:** Vitamin D hormone, VDR gene, Polymorphism

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Metabolizma ve Beslenme Ünitesi



## GİRİŞ

Sağlıklı bireylerde kemik kitlesi farklılıklarını vücut ağırlığı, beslenme, egzersiz, hormonal ve genetik faktörler belirlemektedir. Kemik kitlesini belirleyen nütrisyonel faktörlerin başında yeterli miktarda protein, vitamin D, C, K, kalsiyum, magnezyum, çinko, bakır ve fosfor alımı gelmektedir (1). Bireysel farklılıklardan %75 oranında genetik faktörler sorumludur. Kemik yoğunluğu, büyüklüğü, yapım ve yıkım döngüsü genetik kontrol altında olup, bazı genlerdeki polimorfizmler bireysel kemik yoğunluğunu belirlemektedir (2). Bu polimorfik genlerden ilk tanımlanan VDR (vitamin D reseptör) genidir. VDR geni 12q12-14'de haritalanmıştır ve 75 kb uzunluğundadır. 11 ekzondan oluşan genin 1A, 1B, 1C ekzonları 5'UTR bölgesini kodlar ve VDR transkriptlerinde polimorfik olarak bulunur. Diğer 8 ekzon (2-9) yapısal gen ürünü olan proteini kodlamaktadır (3).

VDR proteini nükleer hormon reseptör ailesinin üyesidir. Kalsiyum ve kemik metabolizmasını kontrol eden vitamin D hormonu'nun (1,25-dihidroksivitamin D3) etkisini düzenlemektedir. Bu düzenlemeyi farklı genlerin transkripsiyonunu kontrol ederek yapar. VDR proteini ligand bağlayıcı ve DNA bağlayıcı bölgeler içerir. Ligand bağlayıcı bölgesi ile vitamin D'ye bağlanırken DNA bağlayıcı bölgesi ile hedef gende bulunan vitamin D cevap elemanına (vitamin D response element) bağlanır. Bu bağlanmanın gerçekleşebilmesi için VDR proteininin öncelikle transkripsiyon başlangıç faktörlerinin biraraya toplanmasını sağlayan retinoik asit X reseptörü ile kompleks oluşturması gereklidir. VDR proteininin paratiroid hücrelerde, pankreas adacık hücrelerinde, hematopoietik hücrelerde, keratinositlerde, üreme organları ve immun sistem üzerinde etkileri olduğu gösterilmiştir (4).

VDR geni içinde üç önemli polimorfik bölge bulunmaktadır. Bunlardan birincisi 2.ekzonda bu-

lunan FokI (başlangıç kodon) polimorfizmidir. Başlangıç kodonu olan ATG'de bulunan T@C değişimi sonucunda ATG, ACG'ye dönüşür ve translasyon ikinci ATG'den başlar. Bunun sonucunda 424 aminoasit uzunluğunda VDR proteini sentezlenir. T→C değişimi olmadığı durumda ise translasyon ilk ATG'den başlar ve 3 aminoasit daha uzun olan (427 aminoasit) VDR proteini sentezlenir. Bu polimorfizmi belirlemek için FokI restriksiyon enzimi kullanılmaktadır. İkinci polimorfizm, 8. intro-nun 5'ucundan 1280 baz çifti ilerde olan ApaI polimorfizmidir. Bu polimorfizmi belirlemek için ApaI restriksiyon enzimi kullanılmaktadır. Üçüncü polimorfizm ise 9. ekzonda bulunan TaqI polimorfizmidir ve T→C değişimi sonucunda ATT kodonu ATC'ye dönüşür. Hem ATT, hem de değişim sonucunda oluşan ATC kodonu izolösini kodlamaktadır. Bu polimorfizmi belirlemek için TaqI restriksiyon enzimi kullanılır (3).

VDR gen polimorfizmi analizleri, VDR genotiplerinin kemik metabolizması regülasyonunda ve büyüme üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (5). VDR genotiplerinin populasyon spesifitesi göstermesi nedeniyle Türk populasyonundaki genotipik yapının açıklanması gerekmektedir. Çalışmamızda 100 sağlıklı birey FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri açısından incelenerek VDR allel ve genotip frekansları saptanmış ve haplotipler oluşturulmuştur.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda yaşları 8 ile 48 arasında değişen 52'si erkek, 48'i kadın toplam 100 birey incelenmiştir. Çalışılan bireylerde kemik parametrelerini etkileyecek metabolik hastalık, doğuştan iskelet anomalisi ve kalsiyum metabolizmasını etkileyen ilaç alımı öyküsü bulunmamaktadır.

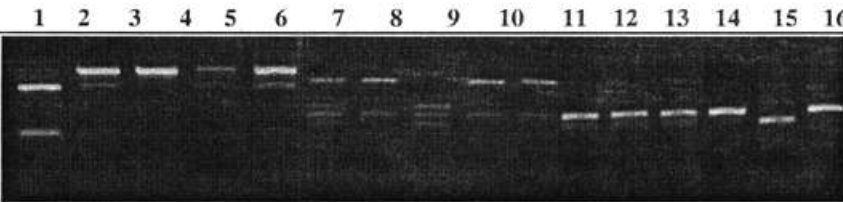
DNA'lar EDTA'lı tüplere alınan 10 ml periferik kandan "tuzla çöktürme" yöntemi ile izole edildi (6). VDR geninde bulunan FokI polimorfizm a-

nalizi için 2. ekzon, ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin analizi için ise 8. intron/9. ekzon bölgesi PCR yöntemi ile amplifiye edildi (7,8). Amplifikasyon ürünleri %2 agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi.

2. ekzon bölgesinin amplifikasyon ürünleri FokI restriksiyon enzimi ile 37°C'de, 1 saat (7), 8. intron /9. ekzon bölgesinin amplifikasyon ürünleri ise ApaI restriksiyon enzimi ile 37°C'de, 2 saat ve TaqI restriksiyon enzimi ile 65°C'de, 1 saat kesilerek %3 agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi (8)

### İSTATİSTİKSEL ANALİZ

100 sağlıklı bireyin FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri açısından "Hardy Weinberg" dengesinde olup olmadığı c2 testi kullanılarak tesbit edildi. Ayrıca polimorfizmlerin birbirleriyle ilişkileri (3x3) c2 testi ile incelendi (STATS istatistik programı, 1.1 versiyonu, 1998, Decision Analyst, Inc.).



Şekil 1: FokI, ApaI ve TaqI Polimorfizm Analizi

1, 2, 3 Ff; 4, 6 FF; 5 ff; 7 aa; 8, 10, 11 Aa; 9 AA; 12 Tt; 13, 15, 16 TT; 14 tt genotiplerini göstermektedir

### BULGULAR

VDR geni FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri aşağıdaki bilgilerden yararlanılarak analiz edilmiştir.

F", FokI kesim bölgesinin olmadığını (265 bç), "f" ise kesim bölgesinin var olduğunu (196 bç ve 69 bç), "A" ApaI kesim bölgesinin olmadığını (700 bç), "a" ise kesim bölgesinin var olduğunu (490 bç ve 210 bç) gösterir. Aynı şekilde "T", ilgilenilen bölgede TaqI kesiminin olmadığını (490 bç ve 245 bç), "t" ise kesimin var olduğunu (290 bç, 245 bç ve 205 bç) göstermektedir (7, 8).

Bu üç polimorfizmin örnek fotoğrafları Şekil I'de verilmiştir.

Çalışmaya alınan 52'si erkek, 48'i kadın toplam 100 sağlıklı bireyin VDR allel frekansları Tablo I'de, VDR genotip frekansları ise Tablo II'de gösterilmiştir

### TARTIŞMA

Populasyona göre farklılık gösteren ve birçok hastalıkla ilişkili olduğu bilinen VDR gen polimorfizmlerinin büyümenin düzenlenmesini ve kemik kitlesini etkilediği bilinmektedir. Çalışmamız VDR geni FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin Türk populasyonundaki dağılımını göstermek üzere planlanmıştır.

Toplam 100 sağlıklı bireyde FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmlerin allel ve genotip frekansları hesaplanmış ve her üç polimorfizm açısından sağlıklı bireylerin "Hardy Weinberg" dengesinde olup olmadığını anlamak için beklenen ve gözlenen genotip frekansları c2 testi ile karşılaştırılmıştır. Bunun sonucunda üç polimorfizm de dengede bulunmuştur. FokI polimorfizmi diğerlerinden farklı olarak heterozigot frekansının azlığı ile dikkat çekmiştir.

Kanarya adasında yaşayan İspanyollarda, Amerikalılarda ve Hint kökenli Asyalılarda da FokI polimorfizmi incelenmiş ve sonuçlarımıza benzer olarak heterozigot frekansının azaldığı, FF genotipinin baskın olduğu görülmüştür (7,9,10). Avrupalı beyaz ırkta ise heterozigot frekansı azalması görülmemiştir (5,11-14). Çalışmamızda saptanan ApaI ve TaqI polimorfizm frekansları Avrupalı beyaz ırka ve Minesotalı Amerikalılara benzer dağılım göstermektedir (8,11,12). Bunun tersine Kore'de Park (15), Japonya'da Habuchi ve arkadaşlarının sonuçları (16), bizim sonuçlarımız ile karşılaştırıldığında belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Uzak Doğu'da AA frekansı çok düşük (%3-9) bulunurken, aa genotipinin baskın (%44-69) olduğu ve TT frekansının arttığı görülmüştür. Irk farklılığı ve coğrafik yerleşimleri nedeniyle



polimorfizm frekanslarımızın farklı olması beklediğimiz bir sonuçtur.

Tablo I: VDR Allel Frekansları

	Kadınlar n:96	Erkekler n:104	Toplam n:200
FokI			
F	0.81	0.65	0.73
f	0.19	0.35	0.27
ApaI			
A	0.57	0.58	0.57
a	0.43	0.42	0.43
TaqI			
T	0.57	0.61	0.59
t	0.43	0.39	0.41

Tablo II: VDR Genotip Frekansları

	Kadınlar n:48 %		Erkekler n:52 %		Toplam n:100
FokI					
FF	32	67	23	44	55
Ff	14	29	22	42	36
ff	2	4	7	14	9
ApaI					
AA	15	31	15	29	30
Aa	25	52	30	57	55
aa	8	17	7	14	15
TaqI					
TT	17	35	18	35	35
Tt	21	44	28	54	49
tt	10	21	6	11	16

(n: birey sayısı)

Tablo III: FokI, ApaI ve TaqI Polimorfizmlerinin Birbirleriyle İlişkileri

	TaqI				TaqI				ApaI		
	TT	Tt	tt		TT	Tt	tt		AA	Aa	aa
FokI				ApaI				FokI			
FF	20	24	11	AA	1	13	16	FF	20	25	10
Ff	11	20	5	Aa	19	36	0	Ff	10	24	2
ff	4	5	0	aa	15	0	0	ff	0	6	3

( $\chi^2=3.27$ ,  $df=4$ ,  $p=0.56$ )

( $\chi^2=74.6$ ,  $df=4$ ,  $p=0$ )

( $\chi^2=10.05$ ,  $df=4$ ,  $p=0.041$ )

Avrupa'da yaşayan değişik populasyonlarda ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin ikili haplotipleri oluşturularak incelenmiş ve AaTt genotipinin %32-39 sıklıkta, en sık görülen genotip olduğu saptanmıştır (12,17). Aynı haplotip Uzakdoğu'da ise %4 sıklıkta

görülmüştür (18). 100 kişi ile yaptığımız çalışmada ise Türk populasyonunda AaTt genotipinin %36 sıklıkta görüldüğü saptanmıştır. Bu oran Avrupa populasyonu ile uyum göstermektedir. İkili haplotiplere ek olarak üçlü haplotipler de oluşturulmaktadır. Populasyonumuzda en sık (%16) görülen haplotip AaTtFf olarak bulunmuştur. Oluşturulan ikili ve üçlü haplotipler heterozigot bireylerin yüksek oranda bulunduğunu göstermektedir.

VDR geninin 5' ucundan 3' ucuna doğru polimorfizmlerin yerleşimleri incelendiğinde sırasıyla FokI (ekzon 2), ApaI (intron 8) ve TaqI (ekzon 9) polimorfizminin geldiği bilinmektedir. VDR geni 5' ucunda bulunan FokI polimorfizminin 3' ucundaki TaqI polimorfizmi ile bağlantı göstermediği yayınlanmıştır (13). Bizim sonuçlarımıza göre de FokI ve TaqI polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ( $c2=3.27$ ,  $df=4$ ,  $p=0.56$ ) bulunamazken, ApaI /TaqI ( $c2=74.6$ ,  $df=4$ ,  $p=0$ ) ve FokI /ApaI ( $c2=10.05$ ,  $df=4$ ,  $p=0.041$ ) arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (Tablo III).

Literatürde çeşitli gruplar VDR gen polimorfizminin osteoporoz, vitamin D rezistan rikets, osteoartrit, hiperparatiroidizm, psoriasis, prostat ve meme kanseri, insülin bağımlı diyabet, enflamatuvar barsak hastalıkları, primer biliyer siroz, tüberküloz gibi çeşitli hastalıklara yatkınlığı üzerine birçok çalışma yapmış ve kendi populasyonları için genetik yatkınlıkları araştırmışlardır (3,8-13,15,16,19-22). Biz de cinsiyetle ilişkisi olan hastalıklar için cinsiyet farkının önemli olması nedeniyle, sonuçlarımızı kadın ve erkek olarak iki grupta değerlendirerek polimorfizm frekanslarının cinsiyete bağlı olarak değişmediğini saptadık. Ancak, Japonya'da aa frekansının çok yüksek oranlarda olduğu ve kadınlarda tt genotipinin bulunmadığı yayınlanmıştır (16). Polimorfizm analizlerine ilişkin çok farklı sonuçların görülmesi, her populasyonun kendi VDR genotip frekanslarını hesaplaması zorunluluğunu getirmiştir.

Osteoporoz için aday gen olan östrojen reseptör geni ile osteogenez imperfekta, osteopeni ve osteoporoz neden olduğu gösterilen kollajen geni polimorfizmlerinin de kemik metabolizmasını etkilediği saptanmıştır (3,23,24). VDR gen polimorfizmlerinin östrojen reseptör ve kollajen gen polimorfizmleri ile bağlantısına ilişkin çalışmalar yapılmaktadır ve bu üç gendeki polimorfizmlerin birbirleriyle etkileşimlerinin popülasyonlar arası frekans farklılığına neden olabileceği düşünülmektedir (25,26).

Kemik metabolizmasını etkileyen VDR genotiplerinin sağlıklı bireylerde gösterilmesinden sonra aynı gen ile birlikteliği saptanan hastalığı olan bireyler incelenerek sağlıklı/hasta genotip farklılıklarının karşılaştırılması mümkün olacaktır. Bu hastalıkları geliştirme riski yüksek olan çocuklar erken yaşta tanımlanabilecektir. Kemik mineral yoğunluğunu yükseltmek amacıyla prepubertal dönemde egzersiz ve kalsiyum desteği imkanı doğacaktır. Çeşitli hastalıklara yatkın kişilerin çocukluk çağında teşhis edilmesi ve gerekli önlemlerin alınmasıyla bu hastalıklar bir sorun olmaktan çıkabilecektir.

#### KAYNAKLAR

1. Heaney RP. (1993) Nutritional factors in osteoporosis. *Annu Rev Nutr.* 13, 287-316.
2. Morrison NA, Qi JC, Tokita A. (1994) Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367, 284-287.
3. Audi L, Ramirez MG, Carrascosa A. (1999) Genetic determinants of bone mass. *Horm Res.* 51, 105-123.
4. De Luca HE, Zierold C. (1998) Mechanism and function of vitamin D. *Nutr Rev.* 56, 4-10.
5. Tao C, Yu T, Garnett S, et al. (1998) Vitamin D receptor alleles predict growth and bone density in girls. *Arch Dis Child.* 79, 488-494.
6. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res.* 16, 1215.
7. Harris SS, Eccleshall TR, Gross C, et al. (1997) The vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and bone mineral density in premenopausal American black and white women. *J Bone Min Res.* 12 (7), 1043-1048.
8. Riggs BL, Nguyen TV, Melton J, et al. (1995) The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Min Res.* 10 (6), 991-996.
9. Sosa M, Torres A, Martin N, et al. (2000) The distribution of two different vitamin D receptor polymorphism (BsmI and start codon) in primary hyperparathyroidism. *J Int Med.* 247: 124-130.
10. Wilkinson RJ, Llewelyn M, Toossi Z, et al. (2000) Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphism on tuberculosis among Gujarati Asians in West London: a case-control study. *Lancet.* 355: 618-621.
11. Simmons JD, Mullinghan C, Welsh KI, Jewell DP. (2000) Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. *Gut.* 47: 211-214.
12. Langdahl BL, Gravholt CH, Brixen K, et al. (2000) Polymorphism in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. *Eur J Clin Invest.* 30: 608-617.
13. Cerro LC, Berthon P, Hausler J, et al. (1999) Vitamin D receptor polymorphisms as markers in the prostate cancer. *Hum Genet.* 105: 281-287.
14. Kanan RM, Varanasi S, Francist RM, et al. (2000) Vitamin D receptor gene start codon polymorphism (FokI) and bone mineral density in healthy male subjects. *Clin Endocrin.* 53: 93-98.
15. Park B, Park J, Lee D, et al. (1999) Vitamin D receptor polymorphism is associated with psoriasis. *J Invest Dermatol.* 112: 113-116.
16. Habuchi T, Suzuki T, Sasaki R, et al. (2000) Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in Japanese population. *Cancer Res.* 60: 305-308.
17. Gennari L, Becherini L, Masi L, et al. (1998) Vitamin D and estrogen receptor allelic variants in Italian postmenopausal women: evidence of multiple gene contribution to bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 83 (3): 939-944.
18. Lau E, Young RP, Ho S, et al. (1999) Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in elderly Chinese men and women in Hong Kong. *Osteoporosis Int.* 10: 226-230.
19. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, et al. (1997) Vitamin D receptor genotype is associated with radiographic osteoarthritis at the knee. *J Invest Dermatol.* 100: 259-263.
20. Pani MA, Knapp M, Donner H, et al. (2000) Vitamin D receptor allele combinations influence



- genetic susceptibility to type 1 diabetes in Germans. *Diabetes*. 49: 504-507.
21. Halmos B, Szalay F, Cserniczky T, et al. (2000) Association of primary biliary cirrhosis with vitamin D receptor Bsm1 genotype polymorphism in Hungarian population. *Dig Dis Sci*. 45 (6): 1092-1095.
  22. Malloy PJ, Hochberg Z, Tiosano D, et al. (1990) The molecular basis of hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D3 resistant rickets in seven related families. *J Clin Invest*. 86: 2071-2079.
  23. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, et al. (1998) Relation of alleles of the collagen type1 $\alpha$ 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 338: 1016-1021.
  24. Hampson G, Evans C, Pettitt RJ, et al. (1998) Bone mineral density, collagen type1 $\alpha$ 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus. *Diabetologia*. 41: 1314- 1320.
  25. Loughlin J, Sinsheimer JS, Mustafa Z, et al. (2000) Association analysis of the vitamin D receptor gene the type I collagen gene COL1A1, and the estrogen receptor gene in idiopathic osteoarthritis. *J Rheumatol*. 27: 779-784.
  26. Uitterlinden AG, Burger H, Duijn C, et al. (2000) Adjacent genes, for COL2A1 and the vitamin D receptor are associated with separate features of radiographic osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*. 43: 1456-1464.