

## بررسی پلی مورفیسیم‌های گیرنده ویتامین D، (BsmI, TaqI) و همراهی آن‌ها با سطح سرمی پروتئین کلوتو در بیماران مبتلا به اسکرودرمی

روان احمدی<sup>۱</sup>، امیر قربانی حق‌جو<sup>۲\*</sup>، مهرزاد حاجعلیلو<sup>۳</sup>، علی مطاع<sup>۴</sup>، سینا رئیسی<sup>۵</sup>، نسرين بارگاهی<sup>۶</sup>، فرحناز عسکریان<sup>۷</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۳/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۵/۳۱

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** اسکرودرمی یکی از بیماری‌های مزمن بافت همبند است. ویتامین D که یک هورمون ضروری برای حفظ هموستاز کلسیم و فسفات در بدن می‌باشد، می‌تواند به‌عنوان یک عامل تأثیرگذار در این بیماری تلقی شود. کلوتو که نقش کمک‌گیرنده (co-receptor) برای فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ (FGF-23) را دارد نیز می‌تواند در متابولیسم کلسیم و فسفات نقش داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسیم‌های گیرنده ویتامین D، (BsmI, TaqI) و همراهی آن‌ها با سطح سرمی پروتئین کلوتو در بیماران اسکرودرمی بود.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه مورد-شاهدی در مجموع ۹۰ مورد (۶۰ بیمار مبتلا به اسکرودرمی و ۳۰ نمونه کنترل) مطالعه شدند. پلی مورفیسیم‌های گیرنده ویتامین D با روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم‌های محدود الاثر مربوطه بررسی شدند. سطح سرمی کلوتو، FGF-23 و ویتامین D با استفاده از روش الیزا تعیین شد.

**یافته‌ها:** اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم TaqI بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد ( $p=0.904$ ) ولی فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم BsmI بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p=0.037$ ). سطح سرمی کلوتو و ویتامین D در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل پایین‌تر بود ( $p=0.001$ ). علاوه بر این سطح سرمی FGF-23 بین دو گروه مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $p=0.202$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که ممکن است از بین دو پلی مورفیسیم گیرنده ویتامین D، پلی مورفیسیم BsmI و همچنین کاهش سطوح سرمی کلوتو و ویتامین D در پاتوژنز و سبب‌شناسی بیماری اسکرودرمی نقش داشته باشند.

**کلیدواژه‌ها:** اسکرودرمی، پلی مورفیسیم ژنی، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳، کلوتو، گیرنده ویتامین D

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره هفتم، ص ۵۵۲-۵۴۱، مهر ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالین، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، تلفن: ۰۹۱۴۳۱۴۷۲۳۸

Email: ghorbaniamir@hotmail.com

### مقدمه

غیرالتهابی و (ج) عملکرد غیرطبیعی فیبروبلاست‌ها که منجر به افزایش رسوب ماتریکس خارج سلولی و تجمع آن در پوست و اندام‌های داخلی می‌شود، می‌باشد. سفت‌وسخت شدن پوست یکی از تظاهراتی است که به‌وفور در این بیماری یافت می‌شود (۲، ۳). این بیماری دارای دو زیرگروه است: الف) اسکرودرمی محدود، چون

اسکرودرمی یا سیستمیک اسکروزیس یک بیماری مزمن بافت پیوندی است. این اختلال یکی از بیماری‌های روماتیسمی خود ایمن با دوره تظاهرات بالینی متفاوت می‌باشد (۱). سه مشخصه اصلی اسکرودرمی شامل الف) تولید اتوآنتی‌بادی (ب) آسیب عروقی

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup> استاد بیوشیمی - مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> روماتولوژیست، مرکز تحقیقات بافت همبند دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۴</sup> استادیار، گروه بیوشیمی بالینی علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۵</sup> دانشجوی دکتری بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۶</sup> کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۷</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

این پپتید در محور استخوانی-کلیوی در ارتباط با حفظ هموستاز کلسیم و فسفات بدن نقش مهمی دارد. کلو تو به‌عنوان یک کمک گیرنده برای این پپتید لازم می‌باشد (۱۱، ۱۲).

کلسیفیه شدن پوست، عروق و اندام‌های داخلی یافته مهمی در افراد مبتلا به بیماری اسکرودرمی است. بر اساس نقش کلیدی ویتامین D، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ و همچنین کلو تو در متابولیسم کلسیم، هدف از مطالعه حاضر بررسی پلی مورفیسم‌های ویتامین D و همراهی آن‌ها با سطح سرمی کلو تو در بیماران مبتلا به اسکرودرمی بود.

### مواد و روش کار

این مطالعه مورد-شاهدی در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد. کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مطالعه حاضر را تأیید کرد. جمع‌آوری نمونه‌ها از بیماران اسکرودرمی و کنترل از کلینیک‌های شیخ‌الرئیس، آتیه و بیمارستان امام رضا وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تبریز که مراجعه‌کنندگان استان آذربایجان شرقی و شهرستان‌های هم‌جوار را در بر می‌گیرد به انجام رسید. فرایند نمونه‌گیری بیش از یک سال به طول انجامید. ۶۰ بیمار مبتلا به اسکرودرمی (۳۰ مورد دارای فرم محدود، ۳۰ مورد دارای فرم منتشر) که بر اساس معیار کلسیفیه شدن اسکرودرمی سال ۲۰۱۳ شناسایی شدند (۱۳) و همچنین ۳۰ نمونه کنترل که از نظر سن و جنس با گروه بیماران در تطابق بودند مورد بررسی قرار گرفتند. رضایت‌نامه آگاهانه از همه افراد شرکت‌کننده در این مطالعه گرفته شد.

پایش بیماران جهت ثبت علائم بالینی و مشخصات دموگرافی توسط روماتولوژیست همکاری کننده در این مطالعه انجام شد. جهت ارزیابی شدت درگیری پوست و اندام‌های بیماران مبتلا به اسکرودرمی از مقیاس Medsger severity scale استفاده گردید (۱۴). بیماران با عملکرد ناقص کلیوی، بیماران کبدی، بیماران مصرف‌کننده ویتامین D (تمامی بیماران می‌بایست حداقل دو ماه قبل ورود به مطالعه مصرف ویتامین D را قطع کرده باشند)، بدخیمی‌های مختلف، اختلالات متابولیک و بیماران با عملکرد غیرطبیعی تیروئید از ورود به مطالعه منع شدند. در تمام موارد نمونه‌های خونی بعد یک شب ناشتا ماندن صبح جمع‌آوری و تا زمان آنالیزهای موردنظر در دمای ۷۰- نگهداری شدند.

سرم‌های جمع‌آوری شده جهت سنجش کراتینین، اوره، کلسیم، فسفر، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) با روش رنگ سنجی با استفاده از کیت‌های مخصوص تجاری در دسترس توسط دستگاه اتوآنالیزر (Roche Cobas Mira) آنالیز شدند. هورمون پاراتیروئید سالم

درگیری پوست محدود به دست‌ها و صورت می‌باشد بدین اسم نام‌گذاری شده است. این فرم از بیماری با کلسیفیه شدن، پدیده ریناود، کم‌حرکی مری، سخت شدن نوک انگشتان و متسع شدن عروق زیرپوستی (telangiectasia) که در اختصار به مجموعه موارد مذکور سندرم کرس (CREST syndrome) گفته می‌شود همراه است. فرم دیگر اسکرودرمی: (ب) اسکرودرمی منتشر است که درگیری پوستی و اندام‌های داخلی بدن مانند ریه‌ها، مجرای معدی- روده ای، قلب و کلیه‌ها با شدت بیشتری نسبت به فرم قبلی نمایان می‌شود (۴).

اسکرودرمی دارای سبب‌شناسی پیچیده‌ای می‌باشد. به نظر می‌رسد که فاکتورهای نظیر زمینه ژنتیکی، فاکتورهای محیطی و تأثیرات هورمونی در مبتلا شدن به اسکرودرمی دخیل باشند (۳، ۵). اخیراً نقش ویتامین D به‌عنوان یک فاکتور محیطی در تعدیل کردن بیماری‌های خود ایمن تأیید شده است (۶). این ویتامین که یک هورمون استروئیدی با گیرنده داخل سلولی است دارای نقش‌های متعدد تنظیمی و عملکردی در سراسر بدن می‌باشد. یکی از این نقش‌های مهم ویتامین D حفظ هموستاز کلسیم در بدن است (۷). کمبود ویتامین D در درصد بالایی از بیماران مبتلا به اسکرودرمی گزارش شده است که این کمبود با شدت بیماری مرتبط است (۷، ۸). ویتامین D (کلسیتریول) فعالیت‌های زیستی خود را از طریق اتصال به گیرنده داخل سلولی ویتامین D (VDR) اعمال می‌کند. بیش از ۴۷۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ویتامین D (SNPs) شناسایی شده‌اند، اما ارتباط تعداد محدودی از این پلی مورفیسم‌ها با بیماری‌های خود ایمن مورد بررسی قرار گرفته است (۹). به نظر می‌رسد که از پلی مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D، پلی مورفیسم BsmI (rs1544410) و TaqI (rs731236) پاسخ سلول‌های هدف به ویتامین D را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در استعداد مبتلا شدن به اسکرودرمی نقش دارند.

کلو تو یک پروتئین غشایی با دومن خارج غشایی بلند و دومن داخل سلولی کوتاه می‌باشد که این پروتئین یک‌بار عرض غشا را طی کرده است. کلو تو عمدتاً در توپول‌های کلیه، غده پاراتیروئید و شبکه کروئیدی مغز بیان می‌شود. دو فرم از این پروتئین وجود دارد: الف) کلو تو متصل شده به غشا که به‌عنوان کمک گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ (FGF-23) عمل می‌کند. ب) کلو تو محلول در مایعات بدن که از شکافته شدن دومن خارج سلولی فرم غشایی کلو تو مشتق می‌شود. تمام عملکردهای کلو تو تاکنون مشخص نشده است (۱۰)، با این‌وجود روشن شده است که در حفظ هموستاز کلسیم و فسفات بدن ایفای نقش می‌کند (۱۱، ۱۲).

فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ (FGF-23) پپتیدی است که از بافت استخوانی، سلول‌های استئوبلاست و استئوسیت آزاد می‌شود.

Whitney U test و ANOVA استفاده شد. در این مطالعه P-values کمتر از ۰,۰۵ از نظر آماری معنی دار تلقی شد. داده‌های کمی به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار و میانه (بیشینه-کمینه) نشان داده شدند.

### یافته‌ها

درصد درگیری ارگان‌ها و اطلاعات پایه بیماران مبتلا به اسکلرودرمی و گروه کنترل در جدول ۱ خلاصه شده است. ارگان‌هایی که بیشترین درصد درگیری را نشان دادند شامل: عروق محیطی (درصد ۱۰۰) و پوست (درصد ۹۸,۴۰) بود. کم‌ترین درصد درگیری ارگان مربوط به قلب با درصد ۱,۷۰ و کلیه‌ها با درصد ۳,۳۳ بود. غلظت فسفر و آلکان فسفاتاز در گروه بیماران اسکلرودرمی به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است به ترتیب ( $p=0.020$ );  $3.61 \pm 0.13$  mg/dl در مقابل  $3.72 \pm 0.30$  (و  $p < 0.001$ )،  $154.10 \pm 22.70$  در مقابل  $218.88 \pm 67.20$ . همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی کلتو، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳، ویتامین D و هورمون پاراتیروئیدی سالم در بین دو فرم منشر و محدود بیماری اسکلرودرمی مشاهده نشد.

مقایسه فاکتورهای اصلی موردبررسی در این مطالعه بین بیماران مبتلا به اسکلرودرمی و گروه کنترل در جدول ۳ نشان داده شده است. سطح سرمی کلتو و ویتامین D در گروه بیماران اسکلرودرمی کمتر از گروه کنترل بود، به ترتیب  $\{3.47 (2.30-11.07)$  در مقابل  $4.28 (2.99-7.88)$ ,  $p=0.001$  و  $\{27.23 \pm 8.66$  ng/ml;  $p=0.001$  در مقابل  $4.71 \pm 15.01$ . میانگین سطح سرمی iPTH در گروه بیماران اسکلرودرمی بیشتر از گروه کنترل بود:  $\{12.06 \pm 2.44$  pg/ml;  $p < 0.001$  در مقابل  $8.52 \pm 17.83$ . اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ در بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد  $\{68.07 (20.00-51.69)$  pg/ml;  $p=0.202$  در مقابل  $31.85 (20.00-32.44)$ .

فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم TaqI در بین دو گروه کنترل و بیمار معنی‌دار نبود ( $p=0.904$ ) درحالی‌که فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم BsmI بین دو گروه مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری را نشان داد ( $p=0.037$ ) (جدول ۴). همان‌طور که در جدول‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است فاکتورهای اصلی موردبررسی کلتو، ویتامین D، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ و iPTH بر اساس ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم‌های BsmI و TaqI با هم مقایسه شده‌اند که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه کنترل و بیماران اسکلرودرمی مشاهده نشد. در مقایسه فاکتورهای اصلی بین دو گروه کنترل و بیمار بر اساس

(iPTH) با روش الیزا با استفاده از کیت (Immunodiagnostic Systems, Boldon, UK)، ویتامین D (D-(OH)-۲۵) با استفاده از کیت (Immunodiagnostic Systems, Boldon, UK)، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ با استفاده از کیت (Eastbiofarm, China) و کلتو با استفاده از کیت (Eastbiofarm, China)، همگی بر اساس دستورالعمل کیت مورد استفاده آنالیز شدند.

جهت مطالعه پلی‌مورفیسم‌های موردنظر، DNA از لوکوسیت‌های خون محیطی با استفاده از کیت (Ron's Blood Mini Kit, Germany) استخراج گردید. ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم‌های TaqI و BsmI با استفاده از روش (PCR-RFLP) موردبررسی قرار گرفتند. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای زیر انجام شد: BsmI، رفت: 5'-GGGAGACGTAGCAAAAGG-3' و برگشت: 5'-AGAGGTCAAGGGTCACTG-3'، TaqI، رفت: 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3' و برگشت: 5'-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3' PCR. حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر که شامل ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱۲,۵ میکرولیتر master mix، ۲,۵ میکرولیتر DNA ژنومی و ۸ میکرولیتر آب دیونیزه بود طبق دستورالعمل زیر انجام شد: دناتوره شدن اولیه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه، با  $35^{\circ}\text{C}$  چرخه در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۵ ثانیه ادامه یافت، هیبرید شدن پرایمر به الگو (annealing) در دمای  $62^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه و گسترش (extension) نهایی در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه. محصولات PCR با استفاده از آنزیم‌های محدودالانتر BsmI (Mva1269I, ER0961, Lot: 00237745) که توالی  $3' \dots \downarrow \text{GAATGCN} \dots$  را برش می‌دهد و TaqI (ER: 0671, Lot: 00221708) که توالی  $3' \dots \downarrow \text{CGA} \dots$  را برش می‌دهد که هر دو آنزیم از شرکت Thermo scientific تهیه شده بودند، طبق دستورالعمل زیر هضم شدند: ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر ویژه هر آنزیم، ۲ میکرولیتر آنزیم محدودالانتر و ۱۸ میکرولیتر آب مقطر که حجم نهایی به ۳۲ میکرولیتر رسید. محتویات به مدت ۱۶ ساعت در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند تا هضم قطعات کامل صورت گیرد و سپس نمونه‌ها در دمای  $65^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت توقف فعالیت آنزیمی انکوبه شدند. در نهایت قطعات DNA حاصل شده از هضم آنزیمی با استفاده از الکتروفورز حاوی آگارز ژل درصد ۲ آنالیز و سپس با رنگ اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و با استفاده از اشعه فرابنفش (UV) موردبررسی قرار گرفتند. اطلاعات به دست آمده با به‌کارگیری نرم‌افزار آماری SPSS 18 (SPSS, Chicago, IL) آنالیز شدند. در جای مناسب از آزمون‌های independent samples t test، Chi-square test، Mann-

ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم BsmI و TaqI ویتامین D به‌طور قابل توجهی در سه ژنوتیپ مربوط به هر دو پلی مورفیسیم BsmI و TaqI در گروه بیماران مبتلا به اسکلودرمی پایین‌تر از گروه کنترل می‌باشد (جدول ۵، ۶). در شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب ژل آگارز مربوط به پلی مورفیسیم‌های BsmI و TaqI نشان داده شده است.

**جدول (۱): مشخصات عمومی و پارامترهای بیوشیمیایی بیماران اسکلودرمی و کنترل**

p value	کنترل (n=30)	بیماران اسکلودرمی (n=60)	گروه فاکتورهای متغیر
0.137**	۴۳.۱۳±۷.۵۲	۴۶.۱۵±۹.۶۳	سن، سال (میانگین±انحراف معیار)
0.525*	5 (16.70)/ 25 (83.30)	7 (11.70)/ 53 (88.30)	جنسیت، n% (مرد/زن)
0.020*	3.61±0.13	3.72±0.30	فسفر، mg/dl (میانگین±انحراف معیار)
0.082*	9.21±0.19	9.12±0.24	کلسیم، mg/dl (میانگین±انحراف معیار)
<0.001*	154.10±22.70	218.88±67.20	ALP، IU/l (میانگین±انحراف معیار)
0.164*	17.40±4.83	18.80±3.42	AST، IU/l (میانگین±انحراف معیار)
0.28*	18.06±4.93	20.08±3.52	ALT، IU/l (میانگین±انحراف معیار)
0.563*	28.23±2.32	28.50±1.90	اوره، mg/dl (میانگین±انحراف معیار)
0.730***	0.90(0.6-1.30)	0.90(0.70-1.40)	کراتینین، mg/dl (کمینه-بیشینه)
-	-	6.63±2.73	مدت بیماری، سال (میانگین±انحراف معیار)
-	-	34(56.70)	Anti-slc70، مثبت (n)
-	-	2 (3.30)	Anti-centromere، مثبت (n)
-	-	14 (23.3)	کلسیفیه شدن، مثبت (n)
-	-	1(1.70)	درگیری قلب، (n)
-	-	23(38.40)	درگیری مفاصل (n)
-	-	2(3.33)	درگیری کلیه (n)
-	-	34(56.70)	درگیری ریه‌ها (n)
-	-	59(98.40)	درگیری پوست (n)
-	-	6(10)	درگیری عضلات (n)
-	-	55(91.70)	درگیری دستگاه معدی- رودهای (n)
-	-	60(100.00)	درگیری عروق محیطی (n)

Mann-Whitney U test، بر اساس p value \*\*\*؛ chi square test، بر اساس p value \*\*\*؛ Independent sample t test، بر اساس p value \*.

ALP: آلکالن فسفاتاز؛ AST: آسپاراتات ترانس آمیناز؛ ALT: آلانین ترانس آمیناز

**جدول (۲): مقایسه فاکتورهای اصلی در این مطالعه بین دو فرم منتشر و محدود بیماری اسکلودرمی**

P value	محدود n=30	منتشر n=30	فرم بیماری فاکتورهای متغیر
0.352*	3.58(2.50-8.73)	3.43(2.30-11.07)	کلوتو (ng/ml)، {میانگین-بیشینه}
0.451*	32.33(28.09-57.04)	32.49(27.19-68.07)	FGF-23، pg/ml، {میانگین-بیشینه}
0.398**	14.50±4.73	15.54±4.71	ویتامین D، ng/ml (میانگین±انحراف معیار)
0.823**	18.08±8.45	17.58±8.72	iPTH، pg/ml (میانگین±انحراف معیار)

\* P value، بر اساس Mann-Whitney U test؛ \*\* p value، بر اساس Independent sample t test

FGF-23: فاکتور رشد فیبروبلاستی؛ iPTH: هورمون پاراتیروئیدی سالم

**جدول (۳): مقایسه فاکتورهای اصلی بین دو گروه بیماران اسکرودرمی و کنترل**

p value	بیماران اسکرودرمی (n=60)	کنترل (n=30)	گروه فاکتورهای اصلی
0.001*	3.47(2.30-11.07)	4.28(2.99-7.88)	کلوتو (ng/ml)، {میانگین-بیشینه}
0.202*	32.44(27.19-68.07)	31.85(20.00-51.69)	FGF-23، pg/ml، {میانگین-بیشینه}
0.001**	15.01±4.71	27.23±8.66	ویتامین D، ng/ml، {میانگین±انحراف معیار}
0.001**	17.83±8.52	12.06±2.44	iPTH، pg/ml، {میانگین±انحراف معیار}

\* p value بر اساس Independent sample t test؛ \*\* p value بر اساس Mann-Whitney U test؛ \*\*\* p value بر اساس

sample t test؛ FGF-23: فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳؛ iPTH: هورمون پاراتیروئیدی سالم

**جدول (۴): مقایسه فراوانی پلی مورفیسیم‌های BsmI و TaqI بین دو گروه کنترل و بیماران اسکرودرمی**

p value*	بیماران اسکرودرمی (n=60)	کنترل (n=30)	گروه پلی مورفیسیم
۰،۰۳۷	19(31.7)	15(50.0)	BB
	31(51.7)	7(23.3)	Bb
	10(16.7)	8(26.7)	Bb
۰،۹۰۴	28(46.7)	13(12.0)	TT
	24(40.0)	12(40.0)	Tt
	8(13.3)	5(16.7)	Tt

\* P value بر اساس chi-square test

**جدول (۵): همراهی پلی مورفیسیم ژن BsmI با فاکتورهای بیوشیمیایی اصلی در این مطالعه**

p value*	Bb	Bb	BB	ژنوتیپ فاکتور
۰،۹۲۶	۳۴،۵۹±۸،۸۹	۳۵،۰۸±۸،۱۳	۳۴،۱۴±۸،۲۳	Case=60
۰،۳۱۴	۲۸،۴۱±۴،۳۹	۲۳،۰۲±۱،۷۳	۳۲،۵۹±۸،۷۷	Control=30
	۰،۰۷۶	۰،۹۲۵	۰،۹۵۹	P value**
۰،۶۵۶	3.21±0.46	3.89±1.65	3.86±1.38	Case=60
۰،۴۷۵	4.53±2.63	4.47±0.68	5.28±1.81	Control=30
	۰،۰۲۱	۰،۱۸۱	۰،۰۰۹	P value**
۰،۶۴۹	13.90±4.35	15.50±4.75	14.79±4.94	Case=60
۰،۱۳۷	24.98±5.21	24.82±2.74	29.55±11.28	Control=30
	۰،۰۰۶	<0.001	<0.001	P value***
۰،۹۴۳	19.77±9.26	16.91±7.80	18.32±9.47	Case=60
۰،۵۲۶	10.97±1.94	12.85±2.67	12.28±2.53	Control=30
	۰،۰۶۵	۰،۱۳۰	۰،۰۲۳	P value***

\* P value بر اساس ANOVA test؛ \*\* p value بر اساس Mann-Whitney U test؛ \*\*\* p value بر اساس Independent

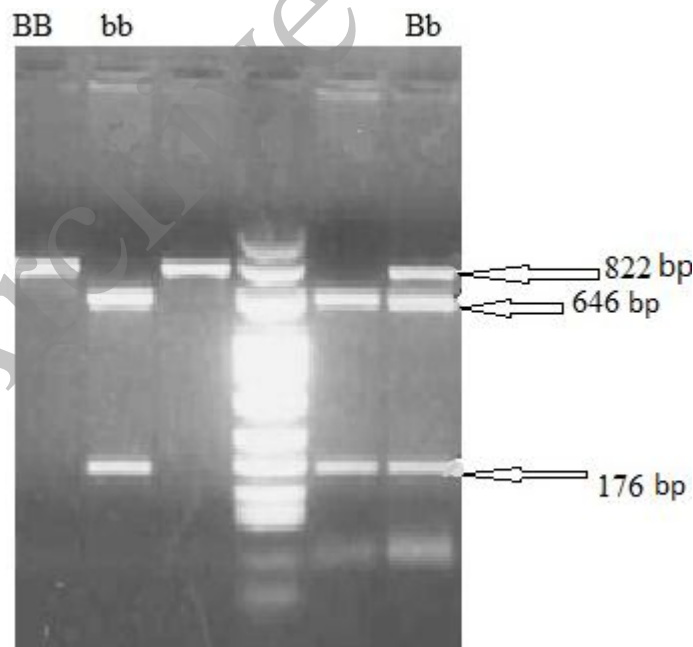
sample t test؛ FGF-23: فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳؛ iPTH: هورمون پاراتیروئیدی سالم

**جدول (۶): همراهی پلی مورفیسم ژن TaqI با فاکتورهای بیوشیمیایی اصلی در این مطالعه**

p value*	Tt	Tt	TT	ژنوتیپ	فاکتور
0.222	43.10	40.08	33.80	Case=60	(pg/ml) FGF-23
0.797	32.15	30.52	32.33	Control=30	
	۰.۶۶۱	۰.۰۹۳	۰.۵۹۵	P value**	
0.421	3.74±1.11	4.06±1.73	3.53±1.22	Case=60	(ng/ml) کلوتو
0.688	4.64±1.92	4.97±2.33	4.92±1.50	Control=30	
	۰.۳۰۶	۰.۰۶۵	<0.001	P value**	
0.868	15.81±4.88	15.00±4.43	14.79±5.03	Case=60	ویتامین D (ng/ml)
0.275	30.30±8.27	24.14±4.10	28.91±11.25	Control=30	
	۰.۰۰۲	<0.001	<0.001	P value***	
0.441	19.79±9.23	18.92±8.98	16.34±7.95	Case=60	(pg/dl) iPTH
0.499	11.20±1.92	12.66±3.02	11.84±2.03	Control=30	
	۰.۰۶۸	۰.۰۲۶	۰.۰۵۳	P value***	

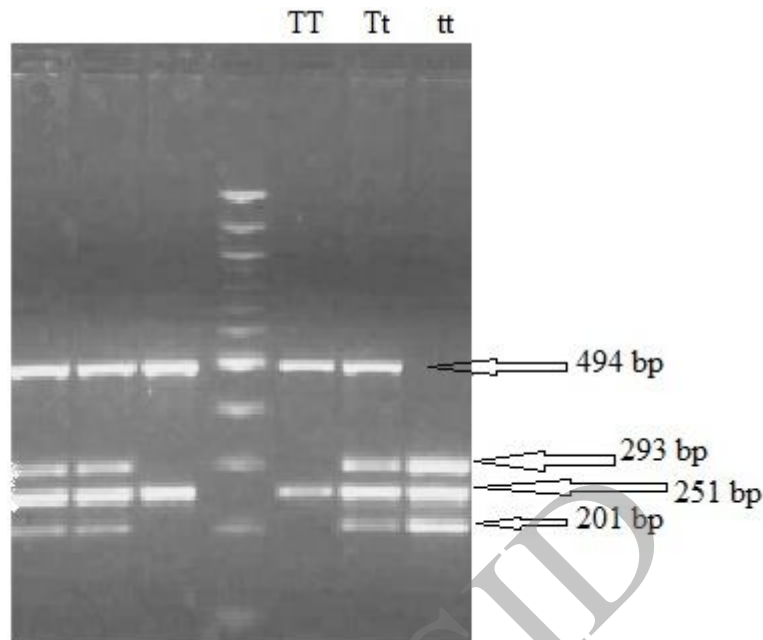
Independent sample t test بر اساس ANOVA test؛ P value\*\*؛ بر اساس Mann-Whitney U test؛ P value\*\*\*؛ بر اساس

هورمون پاراتیروئیدی سالم FGF-23: فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳؛ iPTH: هورمون پاراتیروئیدی سالم



**شکل (۱): الکتروفورز پلی مورفیسم BsmI بر روی ژل**

اگارز ۲٪، با سایز مارکر ۱۰۰ bp



شکل (۲): الکتروفورز پلی مورفیسم TaqI بر روی ژل  
اگارز ۲٪، با سایز مارکر 100 bp

از جمله: اینترفرون نوع-۱ (IRF)، بتا فیبرینوژن، فاکتور رشد بافتی بتا ( $TGF-\beta$ )، فیبریلین، پروتئازها و تیروزین کینازهای داخل سیتوپلاسمی که در القای فیبروزه شدن در بیماری اسکلرودرمی نقش دارند پرداخته‌اند (۲۰). در حالی که تا آنجایی که ما توانستیم بررسی کنیم مطالعه ایی که پلی مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D در بیماری اسکلرودرمی را مطالعه کند یافت نشد. نتایج ما نشان داد که توزیع پلی مورفیسم TaqI بین دو گروه کنترل و بیماران اسکلرودرمی مشابه است، اما در توزیع پلی مورفیسم BsmI بین دو گروه مورد مطالعه اختلاف معنی داری وجود دارد. مطالعات متعددی در خصوص ارتباط پلی مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D با بیماری خود ایمن لوپوس سیستمیک که یک بیماری روماتولوژیکی مشابه اسکلرودرمی می‌باشد صورت گرفته است. چندین مطالعه در جمعیت آسیایی همراهی مثبتی بین پلی مورفیسم BsmI و مستعد بودن به بیماری لوپوس سیستمیک گزارش داده‌اند (۲۱-۲۳). علاوه بر این در مطالعاتی که در ژاپن و تایوان انجام شده نشان داده شده است که ژنوتیپ BB پلی مورفیسم BsmI می‌تواند به عنوان یک ریسک فاکتور در مبتلا شدن به لوپوس تلقی شود (۲۱، ۲۳). این مطالعات با نتایج به دست آمده ما هم خوانی داشتند. در مقابل مطالعاتی دیگر ارتباط معنی داری را بین پلی مورفیسم‌های TaqI و BsmI با لوپوس سیستمیک نشان نداده‌اند (۲۴-۲۶). اختلاف بین نتایج ما و مطالعات قبلی مذکور می‌تواند نتیجه اختلاف مناطق جغرافیایی و تفاوت‌های نژادی باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که در مقایسه فاکتورهای

## بحث و نتیجه‌گیری

اسکلرودرمی بیماری است که چندین ارگان بدن را درگیر می‌کند. این بیماری دارای پیش‌آگهی ضعیف بسته به میزان آسیب عروقی، درگیری پوست و ارگان‌های داخلی می‌باشد. آسیب عروقی در اسکلرودرمی سبب تحریک سلول‌های ایمنی جهت تولید اتو آنتی‌بادی، سایتوکاین و کموکاین‌های پیش التهابی و دخیل در فیبروزه شدن در بیماری اسکلرودرمی می‌شود (۱۵). چندین مطالعه اپیدمیولوژیکی نشان داده‌اند که کمبود ویتامین D می‌تواند در روند و پاتوژنز بیماری‌های خود ایمن نظیر اسکلرودرمی سهیم باشد (۶، ۱۶). گیرنده ویتامین D در سلول‌های ایمنی مختلفی مانند سلول‌های مونوسیتی، سلول‌های دندریتیکی و سلول‌های T فعال شده بیان می‌شود. بیان گیرنده ویتامین D در سلول‌های گوناگون بدن مهر تأییدی بر گستردگی عملکرد این ویتامین می‌باشد (۱۷، ۱۸). پلی مورفیسم‌های TaqI و BsmI به صورت مستقیم ساختار پروتئین گیرنده ویتامین D را تحت تأثیر قرار نمی‌دهند، بلکه این دو پلی مورفیسم می‌توانند در پایداری و کارایی ترجمه ژن پروتئین گیرنده ویتامین D نقش داشته باشند. بنابراین پلی مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D می‌توانند سبب تغییر در فعالیت تعدیل کردن سیستم ایمنی توسط ویتامین D شوند. همچنین ممکن است این پلی مورفیسم‌ها تظاهرات بالینی بیماری اسکلرودرمی بخصوص تولید اتوآنتی‌بادی را تحت تأثیر قرار دهند (۱۸، ۱۹). چندین مطالعه به بررسی پلی مورفیسم فاکتورهای سایتوکاینی و میانجی‌گری کننده

ارتباط با حفظ هموستاز کلسیم و فسفات چه در حالت بیماری و چه در حالت سلامتی به تصویر می‌کشند (۳۵). اتصال فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ به گیرنده خودش در سلول‌های هدف بدون همکاری کمک گیرنده این فاکتور، پروتئین کلوتو کارایی ندارد (۳۶). فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ سبب کاهش بازجذب فسفات در لوله‌های پروگزیمال کلیه و همچنین سبب کاهش سنتز فرم فعال ویتامین D،  $1,25-(OH)_2 D_3$  از طریق سرکوب فعالیت یک آلفا-هیدروکسیلازی کلیه می‌شود (۳۸). بنابراین مسیر سیگنالی فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ / کلوتو سبب کاهش بازجذب فسفات و کاهش سنتز فرم فعال ویتامین D در کلیه می‌شود. این مسیر سیگنالی همچنین می‌تواند باعث کاهش ترشح هورمون پاراتیروئیدی نیز بشود (۳۹). در مطالعه ما اگرچه در مقایسه سطح سرمی فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳ بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که این یافته با مطالعه شنونده و همکاران هم‌خوانی دارد (۴۰). ولی سطح بالای هورمون پاراتیروئیدی سالم و فسفات در گروه بیماران اسکرودرمی ممکن است نتیجه سطح پایین کلوتو در بیماران اسکرودرمی در مقایسه با گروه کنترل باشد.

در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در سطح کلسیمی سرم بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد. این ممکن است نتیجه افزایش هورمون پاراتیروئیدی سالم و کاهش ویتامین D در بیماران اسکرودرمی در مقایسه با گروه کنترل باشد. این مکانیسم که مانع کاهش سطح سرمی کلسیم در این بیماران می‌شود ممکن است در درازمدت سبب کاهش چگالی استخوانی در بیماران اسکرودرمی شود.

یافته‌های مطالعه ما همچنین نشان داد که در مقایسه سطح سرمی فاکتورهای اصلی دخیل در حفظ هموستاز کلسیم و فسفات بدن که شامل: کلوتو، ویتامین D، فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳ و هورمون پاراتیروئیدی سالم بودند، بین دو فرم بیماری اسکرودرمی، فرم منتشر و فرم محدود اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. بنابراین می‌توان احتمال داد که این فاکتورهای مذکور جهت پیش‌آگهی و شناسایی فرم منتشر و محدود بیماری اسکرودرمی به تنهایی کافی نیستند.

در پایان بر اساس یافته‌های به‌دست آمده در این مطالعه می‌توان به این نتیجه رسید که سطح سرمی کلوتو و ویتامین D در بیماران اسکرودرمی کاهش ولی سطح سرمی هورمون پاراتیروئیدی سالم افزایش می‌یابد. این فاکتورها ممکن است نقش مهمی در پاتوژنز و همچنین تشخیص بیماری اسکرودرمی بدون تمییز فرم منتشر و محدود این بیماری داشته باشند. شاید تجویز مکمل ویتامین D جهت جبران کمبود این ویتامین در بیماران مبتلا به اسکرودرمی

اصلی بین دو گروه کنترل و بیمار بر اساس ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم BsmI و TaqI، ویتامین D به‌طور قابل‌توجهی در سه ژنوتیپ مربوط به هر دو پلی مورفیسم BsmI و TaqI در گروه بیماران مبتلا به اسکرودرمی پایین‌تر از گروه کنترل است. این می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که ویتامین D بدون وابستگی به ژنوتیپ‌های دو پلی مورفیسم BsmI و TaqI در بیماران مبتلا به اسکرودرمی کاهش می‌یابد.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در مقایسه فاکتورهای اصلی شامل: ویتامین D، کلوتو، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ و هورمون پاراتیروئیدی سالم که در حفظ هموستاز کلسیم و فسفات بدن دخیل هستند بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. نشان داده شده است که کمبود ویتامین D می‌تواند نقش مهمی در کاهش چگالی مواد معدنی استخوان و میزان کلی مواد معدنی در بدن داشته باشد. نتایج بررسی ما نشان داد که سطح سرمی ویتامین D در بیماران اسکرودرمی به‌طور چشمگیری از گروه کنترل پایین‌تر است. پایین بودن سطح سرمی ویتامین D در بیماران مبتلا به اسکرودرمی در این مطالعه با مطالعات قبلی که کاهش این ویتامین را در درصد بالایی از بیماران اسکرودرمی گزارش داده‌اند هم‌خوانی دارد (۸، ۲۷، ۲۸). ضخیم شدن پوست در اثر فیبروز شدن در این بیماری (۲۹) می‌تواند سبب کاهش تولید ویتامین D در اثر تابش اشعه فرابنفش بعد قرار گرفتن در معرض آفتاب شود. علاوه بر این درگیری دستگاه معده- روده ایی نیز می‌تواند سبب کاهش جذب ویتامین D خوراکی شود. دو دلیل مذکور می‌تواند توجیه‌کننده کمبود ویتامین D در بیماران مبتلا به اسکرودرمی باشند (۸، ۲۷، ۲۸).

کلوتو پروتئین ضد پیری یک‌بار غشاگذری است که بیشتر در کلیه بیان می‌شود. کلوتو انتهای آمینی خارج سلولی خور را به گردش سیستمیک آزاد می‌کند که به‌عنوان کلوتو محلول (s-Klotho) از آن یاد می‌شود (۳۰). گردش کلوتو محلول با افزایش سن کاهش می‌یابد و نقص در ژن پروتئین کلوتو می‌تواند مرتبط با بیماری‌های وابسته به سن باشد (۳۱). بر اساس یافته‌های ما غلظت سرمی کلوتو در بیماران اسکرودرمی در مقایسه با گروه کنترل پایین‌تر بود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که التهاب سیستمیک و افزایش مارکرهای التهابی مرتبط با اسکرودرمی است (۳۲، ۳۳)، بنابراین بالا بودن مارکرهای التهابی می‌تواند سبب کاهش بیان کلوتو در کلیه بشود (۳۴). پایین بودن میزان کلوتو در بیماران اسکرودرمی در این مطالعه می‌تواند نتیجه التهاب سیستمیک و افزایش مارکرهای التهابی در این بیماری باشد.

هورمون مشتق شونده از استخوان، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ و کمک گیرنده آن کلوتو یک محور اندوکرینی تازه ایی را در



### تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که در انجام این کار تحقیقاتی ما را یاری رساندند و همچنین تمامی کارمندان مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و بیماران شرکت کننده در این مطالعه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

اثرات سودمندی داشته باشد. از طرف دیگر احتمال دارد پلی‌مورفیسم گیرنده ویتامین D، BsmI در مبتلا شدن به بیماری اسکلوئیدومی و همچنین شدت این بیماری نقش داشته باشد. جهت تأیید این نتایج، مطالعاتی باهدف بررسی اثر تجویز ویتامین D بر روند بیماری اسکلوئیدومی در آینده لازم می‌باشد.

### References:

- Dempsey ZS, Rowell S, McRobert R. The role of regional and neuroaxial anesthesia in patients with systemic sclerosis. *Local Reg Anesth* 2011;4:47-56.
- Mayes MD, Bossini-Castillo L, Gorlova O, Martin JE, Zhou X, Chen WV, et al. Immunochip analysis identifies multiple susceptibility loci for systemic sclerosis. *Am J Hum Gene* 2014;94(1): 47-61.
- Arnson Y, Amital H, Agmon-Levin N, Alon D, Sánchez-Castañón M, López-Hoyos M, et al. Serum 25-OH vitamin D concentrations are linked with various clinical aspects in patients with systemic sclerosis: a retrospective cohort study and review of the literature. *Autoimmun Rev* 2011;10(8): 490-4.
- Fleming JN, Nash RA, Mahoney Jr WM, Schwartz SM. Is scleroderma a vasculopathy? *Curr Rheumatol Rep* 2009;11(2): 103-10.
- Marie I, Gehanno J-F, Bubenheim M, Duval-Modeste A-B, Joly P, Dominique S, et al. Prospective study to evaluate the association between systemic sclerosis and occupational exposure and review of the literature. *Autoimmun Rev* 2014;13(2): 151-6.
- Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007;66(9): 1137-42.
- Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2010;9(6): 599-612.
- Caramaschi P, Dalla Gassa A, Ruzzenente O, Volpe A, Ravagnani V, Tinazzi I, et al. Very low levels of vitamin D in systemic sclerosis patients. *Clin Rheumatol* 2010;29(12): 1419-25.
- Mosaad YM HE, Fawzy Z, Aal IAA, Youssef HM, ElSaid TO, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism as possible risk factor in rheumatoid arthritis and rheumatoid related osteoporosis. *Hum Immunol* 2014;75(5): 452-61.
- Torres P-U, Prie D, Molina-Bletry V, Beck L, Silve C, Friedlander G. Klotho: an antiaging protein involved in mineral and vitamin D metabolism. *Kidney Int* 2007;71(8): 730-7.
- Uzum AK, Salman S, Telci A, Boztepe H, Tanakol R, Alagol F, et al. Effects of vitamin D replacement therapy on serum FGF23 concentrations in vitamin D-deficient women in short term. *Eur J Endocrinol* 2010;163(5): 825-31.
- Fructuoso AIS, Maestro ML, Pérez-Flores I, Valero R, Rafael S, Veganzones S, et al. Serum level of fibroblast growth factor 23 in maintenance renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27(11): 4227-35.
- Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2013;65(11): 2737-47.
- Medsger Jr T, Silman A, Steen V, Black C, Akesson A, Bacon P, et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J Rheumatol* 1999;26(10): 2159-67.

15. Wu M, Assassi S. The role of type 1 interferon in systemic sclerosis. *Type I Interferon in Human Autoimmunity*; 2015.P. 44.
16. Shoenfeld N, Amital H, Shoenfeld Y. The effect of melanism and vitamin D synthesis on the incidence of autoimmune disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2009;5(2): 99-105.
17. Tizaoui K, Kaabachi W, Hamzaoui A, Hamzaoui K. Association between vitamin D receptor polymorphisms and multiple sclerosis: systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Cell Mol Immunol* 2015;12(2): 243-52.
18. Carvalho C. Association between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Portuguese patients. *lupus* 2015: 1-8.
19. Ritterhouse LL CS, Niewold TB, Kamen DL, Macwana SR, Roberts VC. Vitamin D deficiency is associated with an increased autoimmune response in healthy individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2011;70(9): 1569-74.
20. Sticherling M. Systemic sclerosis-dermatological aspects. Part 1: Pathogenesis, epidemiology, clinical findings. *J Dtsch Dermatol Ges* 2012;10(10):705-18; quiz 716.
21. Huang C WM, Wu J, Tsai F. Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2002;11(1): 31-4.
22. Luo X, Wu L, Chen L, Yang M, Liao T, Liu N, et al. The association of vitamin D receptor gene ApaI and BsmI polymorphism with systemic lupus erythematosus. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2012;51(2):131-5.
23. Ozaki Y NS, Nagahama M, Yoshimura C, Kagawa H, Fukuhara S.. Vitamin-D receptor genotype and renal disorder in Japanese patients with systemic lupus erythematosus.. *Nephron* 2000; 85(1): 86-91.
24. Sakulpipatsin W, Veraseritniyom O, Nantiruj K, Totemchokchyakarn K, Lertsrisatit P, Janwityanujit S. Vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2006;8(2):R48.
25. Abbasi M RZ, Afshari JT, Hatf M, Sahebari M, Saadati N. Lack of association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2010;30(11): 1537-9.
26. Mostowska A LM, Wudarski M, Olesińska M, Jagodziński PP. Vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus.. *Molecular Biol Reports* 2013;40(2): 803-10.
27. Calzolari G, Data V, Carignola R, Angeli A. Hypovitaminosis D in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2009;36(12): 2844.
28. Fernández RR, Roldán CF, Rubio JLC, Centeno NO. Vitamin D deficiency in a cohort of patients with systemic scleroderma from the south of Spain. *J Rheumatol* 2010;37(6): 1355.
29. Horger M, Fierlbeck G, Kuemmerle-Deschner J, Tzaribachev N, Wehrmann M, Claussen CD, et al. MRI findings in deep and generalized morphea (localized scleroderma). *Am J Rheumatol* 2008;190(1): 32-9.
30. Kuro-o M. Klotho in health and disease. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2012;21(4): 362-8.
31. Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P, et al. Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science* 2005;309(5742): 1829-33.

32. Hasegawa M, Fujimoto M, Kikuchi K, Takehara K. Elevated serum levels of interleukin 4 (IL-4), IL-10, and IL-13 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1997;24(2): 328-32.
33. Avouac J, Walker U, Tyndall A, Kahan A, Matucci-Cerinic M, Allanore Y, et al. Characteristics of joint involvement and relationships with systemic inflammation in systemic sclerosis: results from the EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR) database. *J Rheumatol* 2010;37(7):1488-501.
34. Moreno JA, Izquierdo MC, Sanchez-Niño MD, Suárez-Alvarez B, Lopez-Larrea C, Jakubowski A, et al. The inflammatory cytokines TWEAK and TNF $\alpha$  reduce renal klotho expression through NF $\kappa$ B. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(7): 1315-25.
35. Olauson H, Lindberg K, Amin R, Jia T, Wernerson A, Andersson G, et al. Targeted deletion of Klotho in kidney distal tubule disrupts mineral metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2012;23(10): 1641-51.
36. Wu X, Ge H, Gupte J, Weiszmann J, Shimamoto G, Stevens J, et al. Co-receptor requirements for fibroblast growth factor-19 signaling. *J Biol Chem* 2007;282(40): 29069-72.
37. Wu X, Lemon B, Li X, Gupte J, Weiszmann J, Stevens J, et al. C-terminal tail of FGF19 determines its specificity toward Klotho co-receptors. *J Biol Chem* 2008;283(48): 33304-9.
38. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev* 2012;92(1): 131-55.
39. de Borst MH, Vervloet MG, ter Wee PM, Navis G. Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF-23-klotho in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(9): 1603-9.
40. Shenavandeh S, Radmanesh S, Sarvestani EK, Nazarinia MA, Omrani GR. Fibroblast growth factor-23 in patients with systemic sclerosis: A case-control study. *Egyptian Rheumatologist* 2016;38(2):105-9.

Archive of SID

## VITAMIN D RECEPTOR POLYMORPHISMS (BSMI, TAQI) AND ITS ASSOCIATION WITH SERUM KLOTHO LEVELS IN PATIENTS WITH SCLERODERMA

Ravan Ahmadi<sup>1</sup>, Amir Ghorbani Haghjo<sup>2\*</sup>, Mehrzad Hajjalilo<sup>3</sup>, Ali Mota<sup>4</sup>, Sina Raeisi<sup>5</sup>, Nasrin Bargahi<sup>6</sup>, Farahnaz Askarian<sup>7</sup>

Received: 22 May, 2016; Accepted: 22 Aug, 2016

### Abstract

**Background & Aims:** Scleroderma is a chronic connective tissue disease with unknown etiology. Vitamin D, a necessary hormone that plays a particular function in the calcium and phosphate homeostasis, is involved in etiology of this disorder. Klotho, co-receptor of fibroblast growth factor 23 (FGF-23), can interfere in calcium and phosphate metabolism. The purpose of this study was to determine the relationship of VDR gene polymorphisms (BsmI, TaqI) and serum Klotho levels with scleroderma susceptibility.

**Materials & Methods:** 90 subjects (60 scleroderma patients and 30 controls) were studied. The BsmI and TaqI polymorphisms of VDR were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method using restriction enzymes BsmI and TaqI. Serum Klotho and vitamin D levels were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results:** No significant difference was seen in the genotype frequencies of TaqI polymorphism between the groups ( $p=0.904$ ), but a significant difference was found between the Scleroderma patients and control groups in BsmI polymorphism frequencies ( $P = 0.037$ ). Serum levels of Klotho and 25(OH) D in scleroderma patients were lower than those in healthy controls ( $p<0.001$ ). There was no significant difference in serum FGF-23 levels between patients and controls ( $p=0.202$ ).

**Conclusion:** The results indicate that the BsmI polymorphism in the VDR gene as well as Klotho and vitamin D levels may be associated with the etiology of scleroderma. Further studies are required to apply these associations.

**Keywords:** BsmI, FGF-23, Klotho, scleroderma, TaqI, VDR

**Address:** Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

**Tel:** +98-41-34426078

**Email:** m.hajjaliloo@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2016; 27(7): 552 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> MSc Student in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>2</sup> Professor in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (Corresponding Author)

<sup>3</sup> Rheumatologist, Connective Tissue Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>4</sup> Assistant Professor in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>5</sup> Resident in Clinical Biochemistry, Division of Clinical Laboratory, Children's Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>6</sup> Msc in Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>7</sup> MSc Student in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran