مقاله پژوهشی

بررسی پلی‌مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D، (TaqI ،BsmI) و همراهی آن‌ها با سطح سرمی پروتئین کلوتو در بیماران مبتلا به اسکلرودرمی

روان احمدی[۱]، امیر قربانی حق‌جو*[۲]، مهرزاد حاجعلیلو[۳]، علی مطاع[۴]، سینا رئیسی[۵]، نسرین بارگاهی[۶]، فرحناز عسکریان[۷]

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

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: اسکلرودرمی 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 کمک گیرنده (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 پلی‌مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D، (TaqI ،BsmI) و همراهی آن‌ها با سطح سرمی پروتئین کلوتو در بیماران اسکلرودرمی بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه مورد- شاهدی درمجموع ۹۰ مورد (۶۰ بیمار مبتلا به اسکلرودرمی و ۳۰ نمونه کنترل) مطالعه شدند. پلی‌مورفیسم‌های 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 الایزا تعیین شد.

یافته‌ها: اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم TaqI بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد (p=0.904) ولی فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم 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 موردمطالعه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (p=0.202).

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

کلیدواژه‌ها: اسکلرودرمی، پلی‌مورفیسم 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

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

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۲] استاد بیوشیمی – مرکز تحقیقات بیوتکنولوزی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] روماتولوژیست، مرکز تحقیقات بافت همبند دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۴] استادیار، گروه بیوشیمی بالینی علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۵] دانشجوی دکترای بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۶] کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۷] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

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

اسکلرودرمی دارای سبب‌شناسی پیچیده‌ای می‌باشد. به نظر می‌رسد که فاکتورهایی نظیر زمینه ژنتیکی، فاکتورهای محیطی و تأثیرات هورمونی در مبتلا شدن به اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی 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 پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی ویتامین D (SNPs) شناسایی شده‌اند، اما ارتباط تعداد محدودی از این پلی‌مورفیسم‌ها با بیماری‌های خود ایمن موردبررسی قرار گرفته است(۹). به نظر می‌رسد که از پلی‌مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D، پلی‌مورفیسم BsmI (rs1544410) و TaqI (rs731236) پاسخ سلول‌های هدف به ویتامین D را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در استعداد مبتلا شدن به اسکلرودرمی نقش دارند.

کلوتو یک پروتئین غشایی با دومن خارج غشایی بلند و دومن داخل سلولی کوتاه می‌باشد که این پروتئین یک‌بار عرض غشا را طی کرده است. کلوتو عمدتاً در توبول‌های کلیه، غده پاراتیروئید و شبکه کروئیدی مغز بیان می‌شود. دو فرم از این پروتئین وجود دارد: الف) کلوتو متصل شده به غشا که به‌عنوان کمک گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ (FGF-23) عمل می‌کند. ب) کلوتو محلول در مایعات بدن که از شکافته شدن دومن خارج سلولی فرم غشایی کلوتو مشتق می‌شود. تمام عملکردهای کلوتو تاکنون مشخص نشده است(۱۰)، بااین‌وجود 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. این پپتید در محور استخوانی-کلیوی در ارتباط با حفظ هموستاز کلسیم و فسفات بدن نقش مهمی دارد. کلوتو 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 اسکلرودرمی است. بر اساس نقش کلیدی ویتامین D، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ و همچنین کلوتو در متابولیسم کلسیم، هدف از مطالعه حاضر بررسی پلی‌مورفیسم‌های ویتامین D و همراهی آن‌ها با سطح سرمی کلوتو در بیماران مبتلا به اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی (۳۰ مورد دارای فرم محدود، ۳۰ مورد دارای فرم منتشر) که بر اساس معیار کلسیفیه شدن اسکلرودرمی سال ۲۰۱۳ شناسایی شدند(۱۳) و همچنین ۳۰ نمونه کنترل که ازنظر سن و جنس با گروه بیماران در تطابق بودند موردبررسی 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 اسکلرودرمی از مقیاس Medsger severity scale استفاده گردید(۱۴). بیماران با عملکرد ناقص کلیوی، بیماران کبدی، بیماران مصرف‌کننده ویتامینD (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 جمع‌آوری‌شده جهت سنجش کراتینین، اوره، کلسیم، فسفر، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، الانین 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

(iPTH) با روش الایزا با استفاده از کیت (Immunodiagnostic Systems, Boldon, UK)، ویتامین D (25-(OH)-D) با استفاده از کیت (Immunodiagnostic Systems, Boldon, UK)، فاکتور رشد فیبروبلاستی- ۲۳ با استفاده از کیت (Eastbiofarm, China) و کلوتو با استفاده از کیت (Eastbiofarm, China)، همگی بر اساس دستورالعمل کیت مورداستفاده آنالیز شدند.

جهت مطالعه پلی‌مورفیسم‌های موردنظر، DNA از لوکوسیت‌های خون محیطی با استفاده از کیت (Ron's Blood and Cell DNA Mini Kit, Germany) استخراج گردید. ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم‌های BsmI وTaqI 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 ۵ و TaqI، رفت: 5-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3 و برگشت: 5-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3. PCR در 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 C° ۹۵ به مدت ۵ دقیقه، با ۳۵ چرخه در دمای 94°C به مدت ۴۵ ثانیه ادامه یافت، هیبرید شدن پرایمر به الگو (annealing) در دمای ۶۲ °C به مدت یک دقیقه و گسترش (extension) نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه. محصولات PCR با استفاده از آنزیم‌های محدودالاثر BsmI (Mva1269I, ER0961, Lot: 00237745) ÷که توالی 3′…GAATGCN↓... ۵′ را برش می‌دهد و TaqI (ER: 0671, Lot: 00221708) که توالی 3′…T↓CGA... ۵′ 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 محدودالاثر و ۱۸ میکرولیتر آب مقطر که حجم نهایی به ۳۲ میکرولیتر رسید. محتویات به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند تا هضم قطعات کامل صورت گیرد و سپس نمونه‌ها در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت توقف فعالیت آنزیمی انکوبه شدند. درنهایت قطعات DNA حاصل‌شده از هضم آنزیمی با استفاده از الکتروفورز حاوی آگارز ژل درصد۲ آنالیز و سپس با رنگ اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و با استفاده از اشعه فرابنفش (UV) موردبررسی قرار گرفتند.

اطلاعات به‌دست‌آمده با به‌کارگیری نرم‌افزار آماری SPSS 18 (SPSS, Chicago, IL) آنالیز شدند. در جای مناسب از آزمون‌های independent samples t test، Chi-square test، Mann-Whitney U test وANOVA استفاده شد. در این مطالعه P-values کم‌تر از ۰,۰۵ ازنظر آماری معنی‌دار تلقی شد. داده‌های کمی به‌صورت میانگین ± 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 (درصد۱۰۰) و پوست (درصد۹۸,۴۰) بود. کم‌ترین درصد درگیری ارگان مربوط به قلب با درصد۱,۷۰ و کلیه‌ها با درصد۳,۳۳ بود. غلظت فسفر و آلکالن فسفاتاز در گروه بیماران اسکلرودرمی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است به‌ترتیب (p=0.020; ۰,۱۳ ±۳,۶۱ mg/dl در مقابل 0.30 ±۳,۷۲) و (p<0.001; IU/L، ۲۲,۷۰ ± ۱۵۴,۱۰ در مقابل ۶۷,۲۰ ± ۲۱۸,۸۸). همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی کلوتو، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳، ویتامین D و هورمون پاراتیروئیدی سالم در بین دو فرم منشر و محدود بیماری اسکلرودمی 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 کلوتو و ویتامین D در گروه بیماران اسکلرودرمی کم‌تر از گروه کنترل بود، به‌ترتیب { ng/ml; p=0.001، (۷,۸۸-۲,۹۹) ۴,۲۸ در مقابل (۱۱,۰۷-۲,۳۰) ۳,۴۷ } و (ng/ml; p=0.001، ۸,۶۶ ±۲۷,۲۳ در مقابل ۴,۷۱ ± ۱۵,۰۱). میانگین سطح سرمی iPTH در گروه بیماران اسکلرودرمی بیشتر از گروه کنترل بود: (pg/ml; p<0.001، ۲,۴۴ ±۱۲,۰۶ در مقابل ۸,۵۲ ± ۱۷,۸۳). اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ در بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد {pg/ml; p=0.202، (۵۱,۶۹ - ۲۰,۰۰)۳۱,۸۵ در مقابل (۶۸,۰۷ -۲۷,۱۹) ۳۲,۴۴}.

فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم TaqI در بین دو گروه کنترل و بیمار معنی‌دار نبود (p=۰,۹۰۴) درحالی‌که فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم BsmI بین دو گروه موردمطالعه ارتباط معنی‌داری را نشان داد (p=۰,۰۳۷)(جدول ۴). همان‌طور که در جدول‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است فاکتورهای اصلی موردبررسی کلوتو، ویتامین D، فاکتور رشد فیبروبلاست- 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم BsmI و TaqI ویتامین D به‌طور قابل‌توجهی در سه ژنوتیپ مربوط به هر دو پلی‌مورفیسم BsmI و TaqI در گروه بیماران مبتلا به اسکلرودرمی پایین‌تر از گروه کنترل می‌باشد (جدول ۵، ۶). در شکل‌های ۱ و ۲ به‌ترتیب ژل آگارز مربوط به پلی‌مورفیسم‌های BsmI و TaqI نشان داده شده است.

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

گروه فاکتورهای متغیر	بیماران اسکلرودرمی (n=60)	کنترل (n=30)	p value
سن، سال (میانگین± انحراف معیار)	46.15±9.63	۴۳.13±7.52	0.137**
جنسیت، n% (مرد/زن)	7 (11.70)/ 53 (88.30)	5 (16.70)/ 25 (83.30)	0.525*
فسفر، mg/dl (میانگین± انحراف معیار)	3.72±0.30	3.61±0.13	0.020*
کلسیم، mg/dl (میانگین± انحراف معیار)	9.12±0.24	9.21±0.19	0.082*
ALP، IU/l (میانگین± انحراف معیار)	218.88±67.20	154.10±22.70	<0.001*
AST، IU/l(میانگین± انحراف معیار)	18.80±3.42	17.40±4.83	0.164*
ALT، IU/l(میانگین± انحراف معیار)	20.08±3.52	18.06±4.93	0.28*
اوره، mg/dl (میانگین± انحراف معیار)	28.50±1.90	28.23±2.32	0.563*
کراتینین، mg/dl(کمینه-بیشینه)	0.90(0.70-1.40)	0.90(0.6-1.30)	0.730***
مدت بیماری، سال (میانگین± انحراف معیار)	6.63±2.73	_	_
Anti-slc70، مثبت ٪(n)	34(56.70)	_	_
centromere -Anti، مثبت ٪(n)	2 (3.30)	_	_
کلسیفیه شدن، مثبت ٪(n)	14 (23.3)	_	_
درگیری قلب، ٪(n)	1(1.70)	_	_
درگیری مفاصل ٪(n)	23(38.40)		
درگیری کلیه ٪(n)	2(3.33)	_	_
درگیری ریه‌ها ٪(n)	34(56.70)	_	_
درگیری پوست ٪(n)	59(98.40)	_	_
درگیری عضلات ٪(n)	6(10)	_	_
درگیری دستگاه معدی- روده‌ای ٪(n)	55(91.70)	_	_
درگیری عروق محیطی ٪(n)	60(100.00)	_	_

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

ALP: آلکالن فسفاتاز؛ AST: آسپارتات ترانس آمیناز؛ALT: الانین ترانس آمیناز

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

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

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

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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

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

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

* p value، بر اساس Mann-Whitney U test؛ ** p value، بر اساسIndependent sample t test

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

جدول (۴): مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم‌های BsmI و TaqI بین دو گروه کنترل و بیماران اسکلرودرمی

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

* P value، بر اساس chi-square test

جدول (۵): همراهی پلی‌مورفیسم ژن BsmI با فاکتورهای بیوشیمیایی اصلی در این مطالعه

فاکتور ژنوتیپ	BB	Bb	Bb	p value*
(pg/ml) FGF-23 Case=60	۳۴,۱۴±۸,۲۳	۳۵,۰۸±۸,۱۳	۳۴,۵۹±۸,۸۹	۰,۹۲۶
Control=30	۳۲,۵۹±۸,۷۷	۳۳,۰2±۱,۷۳	۲۸.41±۴,۳۹	۰,۳۱۴
P value**	۰,۹۵۹	۰,۹۲۵	۰,۰۷۶	
(ng/ml) کلوتو Case=60	3.86±1.38	3.89±1.65	3.21±0.46	۰,۶۵۶
Control=30	5.28±1.81	4.47±0.68	4.53±2.63	۰,۴۷۵
P value**	۰,۰۰۹	۰,۱۸۱	۰,۰۲۱	
(ng/ml) ویتامین D Case=60	14.79±4.94	15.50±4.75	13.90±4.35	۰,۶۴۹
Control=30	29.55±11.28	24.82±2.74	24.98±5.21	۰,۱۳۷
P value***	<0.001	<0.001	۰,۰۰۶	
(pg/dl) iPTH Case=60	18.32±9.47	16.91±7.80	19.77±9.26	۰,۹۴۳
Control=30	12.28±2.53	12.85±2.67	10.97±1.94	۰,۵۲۶
P value***	۰,۰۲۳	۰,۱۳۰	۰,۰۶۵	

*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

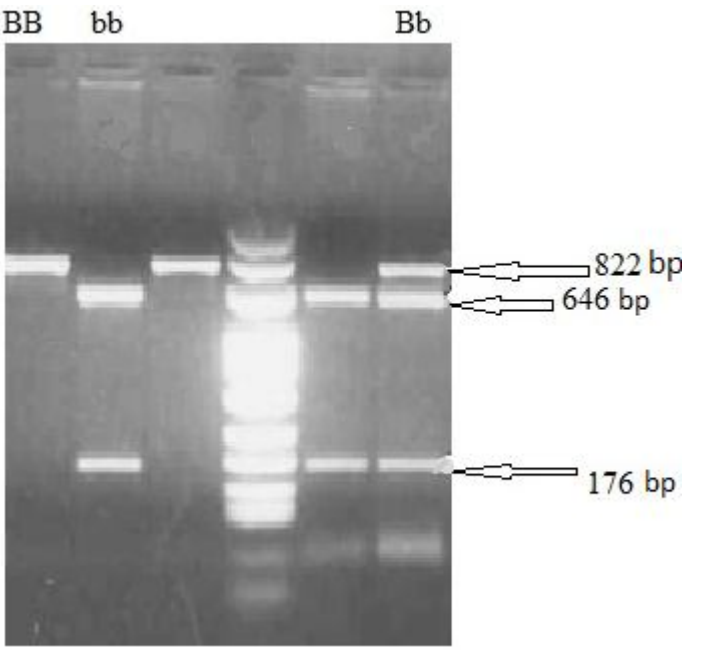
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

جدول (۶): همراهی پلی‌مورفیسم ژن TaqI با فاکتورهای بیوشیمیایی اصلی در این مطالعه

فاکتور	ژنوتیپ	TT	Tt	Tt	p value*
	Case=60	33.80	40.08	43.10	0.222
(pg/ml) FGF-23	Control=30	32.33	30.52	32.15	0.797
	P value**	۰،۵۹۵	۰،۰۹۳	۰،۶۶۱	
	Case=60	3.53±1.22	4.06±1.73	3.74±1.11	0.421
کلوتو (ng/ml)	Control=30	4.92±1.50	4.97±2.33	4.64±1.92	0.688
	P value**	<0.001	۰،۰۶۵	۰،۳۰۶	
	Case=60	14.79±5.03	15.00±4.43	15.81±4.88	0.868
ویتامین D (ng/ml)	Control=30	28.91±11.25	24.14±4.10	30.30±8.27	0.275
	P value***	<0.001	<0.001	۰،۰۰۲	
	Case=60	16.34±7.95	18.92±8.98	19.79±9.23	0.441
(pg/dl) iPTH	Control=30	11.84±2.03	12.66±3.02	11.20±1.92	0.499
	P value***	۰،۰۵۳	۰،۰۲۶	۰،۰۶۸	

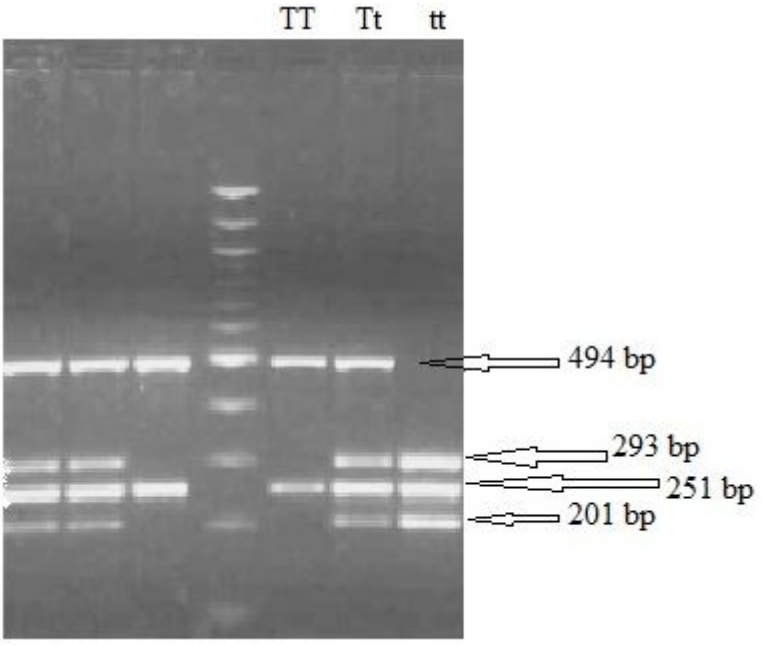
*p value، بر اساس ANOVA test ؛ **p value، بر اساس Mann-Whitney U test؛ ***p value، بر اساس Independent sample t test

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



شکل (۱): الکتروفورز پلی‌مورفیسم BsmI بر روی ژل
اگارز ۲٪، با سایز مارکر ۱۰۰ bp

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]



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

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 اپیدومیولوژیکی 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 دندرتیکی و سلول‌های T فعال‌شده بیان می‌شود. بیان گیرنده ویتامین D در سلول‌های گوناگون بدن مهر تأییدی بر گستردگی عملکرد این ویتامین می‌باشد (۱۷, ۱۸). پلی‌مورفیسم‌های BsmI و TaqI به‌صورت مستقیم ساختار پروتئین گیرنده ویتامین D را تحت تأثیر قرار نمی‌دهند، بلکه این دو پلی‌مورفیسم می‌توانند در پایداری و کارایی ترجمه ژن پروتئین گیرنده ویتامین D نقش داشته باشند. بنابراین پلی‌مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D می‌توانند سبب تغییر در فعالیت تعدیل کردن سیستم ایمنی توسط ویتامین D شوند. همچنین ممکن است این پلی‌مورفیسم‌ها تظاهرات بالینی بیماری اسکلرودرمی بخصوص تولید اتوآنتی‌بادی را تحت تأثیر قرار دهند(۱۸, ۱۹). چندین مطالعه به بررسی پلی‌مورفیسم فاکتورهای سایتوکاینی و میانجی‌گری کننده ازجمله: اینترفرون نوع-۱ (IRF)، بتا فیبرینوژن، فاکتور رشد بافتی بتا (TGF-β)، فیبریلین، پروتئازها و تیروزین کینازهای داخل سیتوپلاسمی که در القای فیبروزه شدن در بیماری اسکلرودرمی نقش دارند پرداخته‌اند(۲۰). درحالی‌که تا آنجایی که ما توانستیم بررسی کنیم مطالعه ایی که پلی‌مورفیسم‌های گیرنده ویتامین D در بیماری اسکلرودرمی را مطالعه کند یافت نشد. نتایج ما نشان داد که توزیع پلی‌مورفیسم TaqI بین دو گروه کنترل و بیماران اسکلرودرمی مشابه است، اما در توزیع پلی‌مورفیسم BsmI بین دو گروه موردمطالعه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. مطالعات متعددی در خصوص ارتباط پلی‌مورفیسم‌های 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 پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم BsmI می‌تواند به‌عنوان یک ریسک فاکتور در مبتلا شدن به لوپوس تلقی شود(۲۱, ۲۳). این مطالعات با نتایج به‌دست آمده ما هم‌خوانی داشتند. در مقابل مطالعاتی دیگر ارتباط معنی‌داری را بین پلی‌مورفیسم‌های BsmI و TaqI 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

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

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در مقایسه فاکتورهای اصلی شامل: ویتامینD ، 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 اسکلرودرمی به‌طور چشمگیری از گروه کنترل پایین‌تر است. پایین بودن سطح سرمی ویتامینD در بیماران مبتلا به اسکلرودرمی در این مطالعه با مطالعات قبلی که کاهش این ویتامین را در درصد بالایی از بیماران اسکلرودرمی گزارش داده‌اند هم‌خوانی دارد(۸, ۲۷, ۲۸). ضخیم شدن پوست در اثر فیبروزه 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 معدی- روده ایی نیز می‌تواند سبب کاهش جذب ویتامین D خوراکی شود. دو دلیل مذکور می‌توانند توجیه‌کننده کمبود ویتامین D در بیماران مبتلا به اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی در مقایسه با گروه کنترل پایین‌تر بود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که التهاب سیستمیک و افزایش مارکرهای التهابی مرتبط با اسکلرودرمی است(۳۲, ۳۳)، بنابراین بالا بودن مارکرهای التهابی می‌تواند سبب کاهش بیان کلوتو در کلیه بشود(۳۴). پایین بودن میزان کلوتو در بیماران اسکلرودرمی 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 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, ۳۷). فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲۳ سبب کاهش بازجذب فسفات در لوله‌های پروگزیمال کلیه و همچنین سبب کاهش سنتز فرم فعال ویتامین D، 1,25-$(OH)_2$ D3 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 اسکلرودرمی ممکن است نتیجه سطح پایین کلوتو در بیماران اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی 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 فیبروبلستی ۲۳ و هورمون پاراتیرئیدی سالم بودند، بین دو فرم بیماری اسکلرودرمی، 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 اسکلرودرمی 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 اسکلرودرمی کاهش ولی سطح سرمی هورمون پاراتیروئیدی سالم افزایش می‌یابد. این فاکتورها ممکن است نقش مهمی در پاتوژنز و همچنین تشخیص بیماری اسکلرودرمی بدون تمییز فرم منتشر و محدود این بیماری داشته باشند. شاید تجویز مکمل ویتامین D جهت جبران کمبود این ویتامین در بیماران مبتلا به اسکلرودرمی

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

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

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 شرکت‌کننده در این مطالعه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References:

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Fleming JN, Nash RA, Mahoney Jr WM, Schwartz SM. Is scleroderma a vasculopathy? Curr Rheumatol Rep 2009;11(2): 103-10.
5. 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.
6. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. Ann Rheum Dis 2007;66(9): 1137-42.
7. Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. Lancet Neurol 2010;9(6): 599-612.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

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, Verasertniyom 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, Hatef 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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

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 TNFα reduce renal klotho expression through NFκB. 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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

Original Article

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

Ravan Ahmadi[1], Amir Ghorbani Haghjo[2], Mehrzad Hajialilo[3], Ali Mota[4], Sina Raeisi[5], Nasrin Bargahi[6], Farahnaz Askarian[7]*

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.hajialiloo@gmail.com

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

[1] *MSc Student in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[2] *Professor in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Rheumatologist, Connective Tissue Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[4] *Assistant Professor in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[5] *Resident in Clinical Biochemistry, Division of Clinical Laboratory, Children's Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[6] *Msc in Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[7] *MSc Student in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]