

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۸۳-۵۳۹۷ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم

دکتر هدایت‌اله شیرزاد^۱، رضوان مشکات^۲، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی^۳، دکتر رسول صالحی^۴، دکتر رامین قاسمی^۵، دکتر مرتضی هاشم‌زاده^۶، علی مسیبیان^۷، شهربانو پرچی برجویی^۸

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: یکی از اعضای خانواده‌ی ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی سلول T، TIM-۱، در ناحیه‌ی ۳۳-۵q۳۱ واقع شده است. ناحیه‌ای که ارتباط آن با نمو سلول‌های TH۲ (T helpers) و بیماری‌های آلرژیک اثبات شده است. پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ می‌تواند موجب تغییر طول مولکول TIM-۱ شود. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین یک پلی مورفیسم در TIM-۱، با نام (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ و آمادگی ابتلا به آسم در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم بود.

روش‌ها: روش‌های PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) و PCR (Polymerase chain reaction) به منظور بررسی حضور پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ در ۳۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۳۰۹ فرد سالم استفاده شد. اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین E تام (IgE) یا Immunoglobulin E (نمونه‌ی سرم افراد نیز به کمک روش الایزا انجام گردید).

یافته‌ها: در این جمعیت، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ Insertion/deletion در پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ و بیماری آسم و همچنین سطح IgE تام سرم مشاهده گردید ($P = ۰/۰۵۰$). همچنین آلل Deletion در بیماران به طور معنی‌داری فراوانی پایین‌تری داشت.

نتیجه‌گیری: در جمعیت مورد مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ و بیماری آسم و همچنین این پلی مورفیسم با سطح IgE تام سرمی وجود دارد.

واژگان کلیدی: TIM-۱، آسم، پلی مورفیسم

ارجاع: شیرزاد هدایت‌اله، مشکات رضوان، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، صالحی رسول، قاسمی رامین، هاشم‌زاده مرتضی، مسیبیان علی، پرچی برجویی شهربانو. بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۸۳-۵۳۹۷ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰): ??

۱- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات ایمونولوژی سلولی و مولکولی و گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، گروه ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- فوق تخصص آسم، آلرژی و ایمنی بالینی، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- استاد، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۷- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۸- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

مقدمه

آسم یک بیماری التهابی مزمن مجاری هوایی شامل ویژگی‌هایی چون علائم متغیر و عود کننده، انسداد برگشت پذیر جریان هوا و اسپاسم برونش است. این بیماری یک معضل جهانی است. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، ۳۰۰ میلیون نفر به بیماری آسم مبتلا هستند و شیوع جهانی بیماری ۱۸-۱ درصد گزارش شده است (۱-۲). میزان شیوع بیماری در سال ۲۰۰۳، در کل جمعیت ایران ۵/۵ درصد و در کودکان ۱۰ درصد بوده است؛ شیوع این بیماری در حال افزایش می‌باشد (۱). آسم یک اختلال ژنتیکی پیچیده است که نحوه‌ی وراثت آن مشخص نیست و بر اساس برخی مطالعات، ژن‌هایی چندگانه در بیماری‌زایی آن دخیل هستند (۳).

شیوع بالای آسم و ناتوانی روش‌های پزشکی در مهار کامل این بیماری، سیل گسترده‌ی مطالعات جدید را به سوی ژنتیک آسم سرازیر نموده است (۴-۵). با شناسایی ژن‌های درگیر و مرتبط با آسم، امکان شناسایی اشخاص در خطر، پیشگیری و حتی مداخلات درمانی وجود دارد (۳). تعیین ارتباط احتمالی مولکول‌های خاص با ایجاد یا پیشرفت آسم، بر پایه‌ی انواع پلی‌مورفیسم‌های DNA می‌تواند دریچه‌ای در ارتقای آزمایش‌های تشخیصی باشد؛ تا آن جا که نشانگرهای زیستی انتخابی به عنوان اثر انگشت بیماری تحت بررسی قرار گیرند (۶).

خانواده‌ی TIM در سال ۲۰۰۱ با استفاده از مدل موشی کانژن آسم، کلون و اهمیت آن شناسایی شد (۷). ژن‌های این خانواده در ناحیه‌ی کروموزومی ۵q۲۳-۳۵ واقع شده‌اند. چنان چه گفته شد، ارتباط این ناحیه با آسم به کرات پیشنهاد شده است (۸-۱۰).

از طریق مطالعات ارتباطی و کلونینگ موضعی، ارتباط چندین ژن از جمله TIM-۱، با بیماری آسم شناسایی گردیده است (۱۱). TIM-۱ بر روی لنفوسیت‌های TCD⁴⁺ تمایز یافته به سلول‌های TH₂ (T helper ۲)، بروز می‌یابد و به عنوان یک پیام کمک محرک برای فعال شدن این سلول‌ها و تولید سایتوکاین‌های مرتبط عمل می‌کند (۱۲-۱۳). این ملکول نقش مهمی در تنظیم، فعال شدن و عملکرد TH₂ دارد (۱۴).

چندین مطالعه با هدف یافتن ارتباط پلی‌مورفیسم‌های TIM-۱ و آمادگی دچار شدن به آسم صورت گرفته است که البته نتایج متناقضی پیشنهاد شده است (۸-۱۹، ۸).

از جمله، مطالعه‌ای در جمعیت آفریقایی آمریکایی نشان داد که فرم حذف هموزیگوت MTTTVP ins/del ۱۵۷ یا (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ در آگزون ۴ ژن TIM-۱ با آمادگی ابتلا به آسم در ارتباط می‌باشد (۱۸). در حالی که در یک مطالعه در جمعیت ژاپنی پیشنهاد شده است که هیچ ژنوتیپ حذف و اضافه‌ای در ژن TIM-۱ به طور ترجیحی در بیماران مبتلا به آسم وجود ندارد (۱۶). با این حال، پژوهشی در ارتباط با پلی‌مورفیسم‌های این ژن و بیماری آسم در جمعیت ایران انجام نشده است؛ از این رو در پژوهش حاضر، ارتباط پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷ در این ژن و بیماری آسم مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: این مطالعه‌ی مورد-شاهدی بر روی ۳۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۳۰۹ شاهد سالم از

۳۰ ثانیه، °C ۶۴ در ۳۰ ثانیه، °C ۷۲ در ۶۰ ثانیه و در نهایت °C ۷۲ در ۱۰ دقیقه اجرا شد. محصولات PCR به منظور تعیین ژنوتیپ بر روی ژل پلی‌اکریل آمید جداسازی و با رنگ‌آمیزی نقره قابل رؤیت گردیدند. باندها ۲۰۴ نماینده‌ی آلل ins، باندها ۲۰۱ نماینده‌ی آلل ref و باندها ۱۸۶ نشان دهنده‌ی آلل del می‌باشد. جهت صحت تعیین ژنوتیپ چند محصول PCR به صورت تصادفی گزینش و برای تعیین توالی مستقیم به شرکت ژن فن‌آوران، ایران ارسال شد. نتایج تعیین توالی با تعیین ژنوتیپ به طور کامل یکسان بود.

تعیین سطح IgE تام و شمارش ائوزینوفیل‌ها: به منظور سنجش میزان سطح IgE (Immunoglobulin E) تمام سرمی از کیت الایزا (enzyme-linked immunosorbent assay) (Euroimmun, Germany) استفاده شد. ائوزینوفیل‌های خون محیطی توسط دستگاه Cell counter sysmex xt ۱۸۰۰ شمارش و سپس به منظور تأیید صحت شمارش از روش گسترش لام خون محیطی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: ارزیابی نتایج کمی به وسیله‌ی آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) و داده‌های کیفی توسط آزمون χ^2 و آزمون Fisher's exact انجام گردید و واکاوی سطح IgE تام سرمی در ژنوتیپ‌های مختلف پس از تغییرات لگاریتمی به علت تأمین توزیع طبیعی این متغیر انجام شد. سپس از آن جا که متغیرهای سن، جنس و سیگار می‌توانند بر سطح IgE سرمی مؤثر باشند، تأثیر این متغیرها به کمک آزمون ANCOVA (Analysis of covariance) حذف شد. به منظور بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم و بیماری از

بیمارستان هاجر چهار محال و بختیاری انجام شد. افراد گروه شاهد هیچ گونه سابقه و یا علائم آسم یا آلرژی نداشتند. دو گروه از لحاظ سن و جنس همسان‌سازی شدند و همه‌ی افراد، بومی همان استان بودند. همچنین انجام این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأیید شد و از تمامی شرکت کنندگان در این مطالعه رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ گردید.

استخراج DNA: ۴ ml خون تام از افراد مورد مطالعه گرفته شد و DNA از گلبول‌های سفید خون محیطی توسط کیت جداسازی DNA (Feldan, Canada) و طبق روش پیشنهادی کارخانه‌ی سازنده استخراج گردید.

تعیین ژنوتیپ: تعیین ژنوتیپ توسط روش PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) انجام گردید. ابتدا قطعه‌ی ۲۰۱ bp در بر گیرنده‌ی پلی‌مورفیسم مورد نظر، توسط روش PCR (Polymerase chain reaction) و با استفاده از زوج پرایمرهای ۳'-TGGGAAGTCAGGGGCTGTTTCTGTCG-۵' و ۳'-GCAGACAGGCTGGTTGGTA-۵' تکثیر گردید. واکنش در حجم کلی ۲۵ μ l شامل ۲/۵ μ l از X buffer، ۱۰ μ l از ۰/۵ μ l از dNTP (Deoxyribonucleotide)، ۱ μ l از هر پرایمر (با غلظت ۱۰ pmol)، ۰/۳ μ l آنزیم TaqDNA-polymerase (سیناژن، ایران)، ۰/۷۵ μ l MgCl_۲ (۵۰ mM) به میزان ۰/۷۵ μ l و ۲ μ l از DNA ژنومی (۵۰ ng) استفاده شد.

برنامه‌ی PCR توسط دستگاه ترموسایکلر قابل برنامه‌ریزی (Eppendorf, Germany)، شامل پیش داناتوراسیون °C ۹۴ و ۳۰ چرخه با °C ۹۴ در

سرمی و تعداد سلول‌های ائوزینوفیل بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد؛ به طوری که سطح هر دو متغیر در بیماران به طور بسیار معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0/001$).

تعیین ژنوتیپ در هر دو گروه مورد مطالعه، به صورت موفقیت‌آمیزی انجام گردید (شکل ۱) و نتایج با بررسی تعیین توالی محصولات PCR تأیید شد. فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است. بر اساس این جدول، فراوانی آلل del در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P = 0/012$).

آزمون Logistic regression استفاده گردید. $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

یافته‌های آزمایشگاهی و مشخصه‌های دموگرافیک افراد مورد و شاهد و ارتباط این متغیرها با بیماری آسم در جدول ۱ آمده است. هیچ تفاوت معنی‌داری در سن ($P = 0/879$) و جنس ($P = 0/705$) بین افراد مورد و شاهد به دست نیامد و این مطلب، همسان‌سازی کافی این متغیرها در دو گروه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در مقابل سطح IgE تام

جدول ۱. مشخصات جمعیت مورد مطالعه

مقدار P	مورد (تعداد = ۳۰۰)	شاهد (تعداد = ۳۰۹)	متغیرها
۰/۱۸۹	۴۲/۹۴ ± ۱۴/۶۸	۴۲/۷۶ ± ۱۴/۶۵	سن
۰/۷۰۵	۱۲۱/۱۷۹	۱۲۰/۱۸۹	جنس (زن/مرد)
$< 0/001^*$	$0/255 \pm 0/294$	$0/085 \pm 0/446$	ائوزینوفیل ($10^3/\mu l$)
$< 0/001^*$	$1/727 \pm 0/652$	$0/773 \pm 0/390$	IgE (Immunoglobulin E) سرمی ($\log 10$)
۰/۷۸۳	۳۰/۲۷۰	۳۳/۲۷۶	وضعیت مصرف سیگار (خیر/بلی)

*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار



شکل ۱. نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ توسط روش PCR-PAGE (Polymerase chain reaction- polyacrylamide gel electrophoresis)

۱: نشانگر: باند ۲۰۰ bp را نشان می‌دهد، ۲: ژنوتیپ del/del، ۳: ژنوتیپ ins/del، ۴: ژنوتیپ ins/ins

۵: ژنوتیپ ins/del، ۶: ژنوتیپ ref/del، ۷: ژنوتیپ ref/ins

تکرار شد (جدول ۳). اما سایر اشکال ژنوتیپی این پلی‌مورفیسم، از خود هیچ اثر خطر ساز یا حفاظتی در قبال این بیماری نشان ندادند ($P > 0/050$). همچنین آزمون ANOVA و در پی آن آزمون تعقیبی Bonferroni با بررسی مقادیر \log_{10} IgE در فرم‌های مختلف ژنوتیپی پلی‌مورفیسم بیان نمود که مقادیر این متغیر در فرم ins/ins با سایر اشکال تفاوت بسیار معنی‌داری دارد ($P < 0/001$) (جدول ۴). پس از استفاده از آزمون ANCOVA و تعدیل متغیرهای جنس، سن و وضعیت سیگار، این اختلاف معنی‌دار باقی ماند ($P < 0/001$) (جدول ۵).

این نتیجه می‌تواند این آلل را به عنوان یک عامل احتمالی در حفاظت از بیماری آسم معرفی نماید. در مقابل، دو آلل ref ($P = 0/679$) و ins ($P = 0/055$) در دو گروه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نشان نداد. توزیع ژنوتیپی در دو گروه مورد و شاهد با معادله Hardy-Weinberg سازگاری داشت و فراوانی ژنوتیپ ins/ins (با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۰/۰۳۰-۱/۳۳۰، $OR = 3/652$ و $P = 0/012$) با خطر ابتلا به بیماری آسم ارتباط معنی‌داری نشان داد. این نتیجه حتی پس از تعدیل نسبت خطر (OR یا Odd ratio) با متغیرهای جنس، سن، وضعیت مصرف سیگار، تعداد ائوزینوفیل‌ها در μl 10^3 و \log_{10} IgE

جدول ۲. فراوانی آللی و ژنوتیپی در پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷

مقدار P	نسبت خطر	مورد	شاهد	فراوانی آللی
0/055	1/384 (0/993-1/929)	220 (36/7)	191 (30/9)	ins
*0/012	0/325 (0/135-0/779)	372 (62/0)	417 (67/5)	del
0/679	0/679 (0/319-2/105)	8 (1/3)	10 (1/6)	ref
				فراوانی ژنوتیپی
0/440	1/136 (0/882-1/570)	183 (61/0)	179 (57/9)	ins/del
0/088	0/746 (0/523-1/045)	92 (30/7)	115 (37/2)	del/del
0/435	0/638 (0/206-1/972)	5 (1/7)	8 (2/6)	ref/del
0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	ref/ref
0/632	1/551 (0/257-9/345)	3 (1/0)	2 (0/6)	ref/ins
*0/012	3/652 (1/330-10/030)	17 (5/7)	5 (1/6)	ins/ins

*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۳. سطح معنی‌داری تعدیل شده با متغیرهای سن، جنس، سیگار، میزان ائوزینوفیل و \log_{10} IgE

Immunoglobulin E) در پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۸۳-۵۳۹۷

مقدار P	نسبت خطر	اشکال ژنوتیپی
0/446	1/226 (0/726-2/072)	ins/del
0/947	1/054 (0/618-1/797)	del/del
0/457	0/416 (0/042-4/178)	ref/del
-	-	ref/ref
0/965	0/980 (1/026-48/390)	ref/ins
*0/019	0/146 (0/029-0/733)	ins/ins

*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۴. ارتباط بین IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در افراد مبتلا به آسم

ژنوتیپ	گروه مورد	مقدار بحرانی (F)	مقدار P
ins/del	۱/۲۵۸ ± ۰/۶۱۰		> ۰/۰۵۰
del/del	۱/۱۱۴ ± ۰/۶۷۲		> ۰/۰۵۰
ref/del	۱/۱۱۰ ± ۰/۷۳۶		> ۰/۰۵۰
ref/ins	۱/۶۷۳ ± ۱/۰۸۳		> ۰/۰۵۰
ins/ins	۲/۱۸۶ ± ۰/۵۸۱	۱۲/۶۹	< ۰/۰۰۱*

*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۵. بررسی Covariance تأثیر پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در میزان IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی در مبتلایان به آسم

ژنوتیپ	گروه مورد	مقدار بحرانی (F)	مقدار P
ins/del	۱/۲۵۸ ± ۰/۶۱۰		> ۰/۰۵۰
del/del	۱/۱۱۴ ± ۰/۶۷۲		> ۰/۰۵۰
ref/del	۱/۱۱۰ ± ۰/۷۳۶		> ۰/۰۵۰
ref/ins	۱/۶۷۳ ± ۱/۰۸۳		> ۰/۰۵۰
ins/ins	۲/۱۸۶ ± ۰/۵۸۱	۷/۷۹	< ۰/۰۰۱*

*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

درمان آسم به کار رود (۲۱).

پروتئین‌های TIM عاملی مؤثر در تعیین سرنوشت فعالیت و تمایز سلول‌های T هستند (۲۲) و نیز در تنظیم آسم و آلرژی نقشی مؤثر دارند (۷-۸). به طور خاص، TIM-۱ عامل مهمی در تنظیم، فعال شدن و عملکرد TH₂ است (۱۴). همچنین TIM-۱ به عنوان گیرنده‌ی ویروس هپاتیت A (Hepatitis A virus) یا HAV در میمون و انسان شناخته شده است (۲۳-۲۴). برخی مطالعات پیشین با نتایج متناقض، به منظور کاوش در ارتباط بین مولکول TIM-۱ و آمادگی دچار شدن به آسم صورت گرفته است (۸، ۱۵-۱۶، ۱۸-۱۹).

بحث

آسم یک اختلال ژنتیکی پیچیده و متأثر از دو عامل محیط و ژنتیک است که نحوه‌ی وراثت آن مشخص نیست و ژن‌های متعددی در ابتلا به آسم مشارکت دارند (۳). اما هنوز هیچ ژن یا پلی‌مورفیسمی به طور ویژه به عنوان مسؤول بیماری‌زایی آسم شناخته نشده است (۱۹). اهمیت مولکول TIM-۱ تا جایی است که حتی در درمان آسم مد نظر استه و احتمال می‌رود ملکول ضد TIM-۱ بتواند در درمان‌های نوین ضد آسم به کار گرفته شود (۲۰). به طور کلی، ژن‌های TIM پلی‌مورفیک (چند شکلی) هستند و واکاوی بیشتر ژنوتیپ آن‌ها می‌تواند در فرایند تشخیص و

با آتوپی در افراد HAV⁺ نیز بررسی شده است (۲۵، ۱۷، ۱۵). از طرف دیگر، بعضی مطالعات پیشین یافته‌هایی خلاف مشاهدات مطالعه‌ی حاضر پیشنهاد نموده‌اند. برای مثال Chae و همکاران گزارش کردند فراوانی ژنوتیپ‌های (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد (۱۵). یافته‌های Li و همکاران (۸) در جمعیت Chinese Han و یافته‌های Noguchi و همکاران (۱۶) در جمعیت ژاپن نیز با پژوهش حاضر همخوانی نداشتند. در مجموع، این یافته‌ها بیانگر ارتباط این پلی‌مورفیسم در بعضی جوامع و عدم ارتباط آن در دیگر جوامع، با خطر ابتلا به آسم است. این تناقض می‌تواند به دلیل تفاوت در زمینه‌ی ژنتیکی جوامع مورد مطالعه، تعداد اندک حجم نمونه در بعضی مطالعات و تأثیر عوامل محیطی باشد. با توجه به اهمیت این پلی‌مورفیسم، بررسی آن در جوامع دیگر نیز پیشنهاد می‌گردد. همچنین مطالعاتی در راستای کشف مسیر دقیق پیام‌دهی این مولکول و عوامل واسطه‌ی مجهول، با هدف چگونگی تأثیر بر بیماری‌هایی چون آسم، ضروری می‌نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و همچنین تمامی کارکنان آزمایشگاه بیمارستان هاجر شهرکرد و نیز استادان گرانقدر گروه ژنتیک و ایمنی‌شناسی علوم پزشکی اصفهان که صمیمانه در اجرای این پژوهش یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. این پژوهش حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد و هزینه‌های اجرای آن توسط دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین گردید.

در این پژوهش، ارتباط بین پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ و آسم در یک جمعیت ایرانی بررسی شد. (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ واقع در دومن شبه موسین خارج سلولی مولکول TIM-۱، می‌تواند تغییراتی در ساختار آمینو-اسیدی این مولکول (ins/del MTTTVP ۱۵۷) ایجاد کند و به این شیوه در تنظیم فعالیت مولکول دخیل باشد (۱۷).

مطالعه‌ی حاضر یک ارتباط معنی‌دار بین این پلی‌مورفیسم و بیماری آسم نشان داد؛ به طوری که ژنوتیپ ins/ins می‌تواند احتمال ایجاد بیماری آسم را افزایش دهد و پس از در نظر گرفتن اثرات مخمل متغیرهای انتخابی نیز این نتایج برقرار ماند. همچنین بررسی آلی مشخص نمود که آلل del ممکن است یک عامل حفاظتی در قبال بیماری آسم باشد. علاوه بر این، با توجه به یافته‌های مربوط به سطح IgE تام در گروه مورد، پیشنهاد می‌گردد که ژنوتیپ ins/ins می‌تواند در افزایش سطح این آنتی‌بادی در مبتلایان به آسم تأثیرگذار باشد. برخی مطالعات نیز با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشته است. برای نمونه Gao و همکاران ارتباط معنی‌داری میان فرم ins/del MTTTVP ۱۵۷ با ابتلا به آسم مشاهده کردند (۱۸).

همچنین یافته‌های Wu و همکاران در چین با نتایج این مطالعه شباهت دارد و فراوانی ژنوتیپ ins/ins در افراد مبتلا به آسم آتوپیک، به طرز معنی‌داری بالاتر گزارش شده است. میزان IgE تام سرمی نیز شبیه نتایج تحقیق حاضر، در ژنوتیپ ins/ins اختلاف معنی‌داری را نشان داده است (۱۹).

این پلی‌مورفیسم در برخی بیماری‌های دیگر از جمله وجود ارتباط با درماتیت آتوپیک و آرتريت روماتوئید در جمعیت کره و همچنین ارتباط معنی‌دار

References

- Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004; 59(5): 469-78.
- Beasley R. The global burden of asthma report. Global Initiative for Asthma (GINA). 2004 [Online]. [cited 2010 Aug]; Available from: <http://www.ginasthma.org/>
- Los H, Koppelman GH, Postma DS. The importance of genetic influences in asthma. *Eur Respir J* 1999; 14(5): 1210-27.
- Sonar SS, Hsu YM, Conrad ML, Majeau GR, Kilic A, Garber E, et al. Antagonism of TIM-1 blocks the development of disease in a humanized mouse model of allergic asthma. *J Clin Invest* 2010; 120(8): 2767-81.
- Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(3): 169-82.
- Holgate ST, Davies DE, Powell RM, Howarth PH, Haitchi HM, Holloway JW. Local genetic and environmental factors in asthma disease pathogenesis: chronicity and persistence mechanisms. *Eur Respir J* 2007; 29(4): 793-803.
- McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, Potter M, Kuchroo VK, Barsh GS, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family. *Nat Immunol* 2001; 2(12): 1109-16.
- Li JS, Liu QJ, Wang P, Li HC, Wei CH, Guo CH, et al. Absence of association between two insertion/deletion coding genetic polymorphisms of TIM-1 gene and asthma in Chinese Han population. *Int J Immunogenet* 2006; 33(6): 417-22.
- Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, et al. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994; 264(5162): 1152-6.
- Postma DS, Bleecker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuysen CI, et al. Genetic susceptibility to asthma--bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N Engl J Med* 1995; 333(14): 894-900.
- Mukherjee AB, Zhang Z. Allergic asthma: influence of genetic and environmental factors. *J Biol Chem* 2011; 286(38): 32883-9.
- Freeman GJ, Casasnovas JM, Umetsu DT, DeKruyff RH. TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2010; 235(1): 172-89.
- Umetsu SE, Lee WL, McIntire JJ, Downey L, Sanjanwala B, Akbari O, et al. TIM-1 induces T cell activation and inhibits the development of peripheral tolerance. *Nat Immunol* 2005; 6(5): 447-54.
- Lee J, Phong B, Egloff AM, Kane LP. TIM polymorphisms--genetics and function. *Genes Immun* 2011; 12(8): 595-604.
- Chae SC, Song JH, Lee YC, Kim JW, Chung HT. The association of the exon 4 variations of Tim-1 gene with allergic diseases in a Korean population. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 312(2): 346-50.
- Noguchi E, Nakayama J, Kamioka M, Ichikawa K, Shibasaki M, Arinami T. Insertion/deletion coding polymorphisms in hHAVcr-1 are not associated with atopic asthma in the Japanese population. *Genes Immun* 2003; 4(2): 170-3.
- McIntire JJ, Umetsu SE, Macaubas C, Hoyte EG, Cinnioğlu C, Cavalli-Sforza LL, et al. Immunology: hepatitis A virus link to atopic disease. *Nature* 2003; 425(6958): 576.
- Gao PS, Mathias RA, Plunkett B, Togias A, Barnes KC, Beaty TH, et al. Genetic variants of the T-cell immunoglobulin mucin 1 but not the T-cell immunoglobulin mucin 3 gene are associated with asthma in an African American population. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(5): 982-8.
- Wu Q, Hu L, Cai P, Li Y, Chen F, Kong L. Association analysis of TIM-1 -232G > A and 5383_5397 insertion/deletion polymorphisms with childhood asthma and total serum immunoglobulin E levels in middle China. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2009; 19(2): 146-53.
- Encinas JA, Janssen EM, Weiner DB, Calarota SA, Nieto D, Moll T, et al. Anti-T-cell Ig and mucin domain-containing protein 1 antibody decreases TH2 airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116(6): 1343-9.
- Meyers JH, Sabatos CA, Chakravarti S, Kuchroo VK. The TIM gene family regulates autoimmune and allergic diseases. *Trends Mol Med* 2005; 11(8): 362-9.
- Yeung MY, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11(10): 2012-9.
- Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Feinstone SM. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus.

- EMBO J 1996; 15(16): 4282-96.
24. Feigelstock D, Thompson P, Mattoo P, Zhang Y, Kaplan GG. The human homolog of HAVcr-1 codes for a hepatitis A virus cellular receptor. J Virol 1998; 72(8): 6621-8.
25. Chae SC, Song JH, Shim SC, Yoon KS, Chung HT. The exon 4 variations of Tim-1 gene are associated with rheumatoid arthritis in a Korean population. Biochem Biophys Res Commun 2004; 315(4): 971-5.

Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383_5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Control Individual Referred to Hajar Hospital of Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran

Hedayatollah Shirzad PhD¹, Rezvan Meshkat MSc², Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD³,
Rasool Salehi PhD⁴, Ramin Ghasemi MD⁵, Mortaza Hashemzadeh PhD⁶,
Ali Mosayebian MSc⁷, Shahrbanoo Parchami-Barjui MSc⁸

Original Article

Abstract

Background: A member of a T cell immunoglobulin (Ig) domain and mucin domain (TIM) gene family, TIM-1, in 5q31-33 region is shown to be correlated with development of T helper-2 (TH2) Cells and allergic diseases. Polymorphism insertion/deletion (ins/del) 5383_5397 may affect the length of TIM-1 mucin domain. The aim of this study was to investigate the association between polymorphism insertion/deletion (ins/del) 5383_5397 and susceptibility to asthma in Chaharmahal va Bakhtiari, Iran.

Methods: Polymerase chain reaction (PCR) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) were used for investigating the presence of (ins/del) 5383_5397 polymorphism in 300 asthmatic patients and healthy controls. Total IgE was measured by ELISA technique in their serum samples as well.

Findings: Significant association between insertion/insertion genotype in 5383_5397 insertion/deletion polymorphism was found with both asthma and levels of total serum IgE in this population ($P < 0.05$). Furthermore we found that the frequency of the deletion allele is significantly lower in patient with asthma.

Conclusion: Based on these findings, we identified a significant association between 5383_5397 ins/del polymorphism with asthma and with total serum IgE levels in Chaharmahal va Bakhtiari population.

Keywords: T cell Ig- and mucin-domain-containing molecule-1, Asthma, Polymorphism

Citation: Shirzad H, Meshkat R, Gangalikhani-Hakemi M, Salehi R, Ghasemi R, Hashemzadeh M, et al. **Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383_5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Control Individual Referred to Hajar Hospital of Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): ??.

1- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

2- Department of Immunology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Immunology Research Center AND Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Sub Specialist of Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran

6- Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

7- Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran

8- Cellulr and Moleculare Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD, Email: mghakemi@med.mui.ac.ir