مجـلـه‌ی علـمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکـی زنجـان
دوره‌ی ۱۶، شماره‌ی ۶۳، تابستان ۱۳۸۷، صفحات ۷۵ تا ۸۳

ارتباط پلی‌مرفیسم‌های اینترلوکین ۴ (C-۵۸۹ T) و اینترفرون گاما (A+۸۷۴ T) با بیماری آسم

سعید دانشمندی[۱]، دکتر علی‌اکبر پورفتح‌اله[۲]، دکتر زهرا پورپاک[۳]، دکتر حسن حیدرنژاد[۴]

نویسنده‌ی مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده‌ی پزشکی، گروه ایمونولوژی pourfa@modares.ac.ir

دریافت: ۸۷/۲/۳ پذیرش: ۸۷/۷/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: *آسم بیماری التهابی مجاری تنفسی است که عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی در آن نقش دارند. از جمله عوامل مؤثر در آسم، سیتوکین‌های TH_2 و در نتیجه تعادل نسبت TH_1/TH_2 است. واریانت‌های ژنتیکی سیتوکین‌های اینترلوکین ۴ (C- ۵۸۹T) اینترفرون گاما و (A+ ۸۷۴T) با میزان تولید آن‌ها در ارتباط می‌باشند. در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم‌های مذکور با میزان استعداد ابتلا به آسم و شدت آن بررسی شد.*

روش بررسی: *۸۱ بیمار غیرخویشاوند غیرسیگاری مبتلا به آسم که دارای علایم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی آسم بودند، مطابق با معیارهای جامعه‌ی توراسیک آمریکا به عنوان گروه بیمار در دو گروه با آسم کنترل‌شده و آسم کنترل‌نشده قرار گرفتند. ۸۰ فرد سالم که از نظر سن، جنس و قومیت با گروه بیمار تطابق داده شدند، به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. پس از خونگیری از افراد بیمار و کنترل، استخراج DNA انجام شد. به منظور تعیین پلی‌مرفیسم در موقعیت ۵۸۹- اینترلوکین -۴ روش PCR-RFLP و برای اینترفرون گاما در موقعیت ۸۷۴+ روش ARMS-PCR استفاده شد.*

یافته‌ها: *شیوع توزیع پلی‌مرفیسم‌های اینترلوکین ۴ (C- ۵۸۹T) و اینترفرون گاما (A+ ۸۷۴T) بین دو گروه آسمی و گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار نبود. در بین سایر متغیرها در گروه کنترل و افراد آسمی نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *با وجود شواهد گوناگون از ارتباط عوامل ژنتیکی با بیماری آسم، مطالعات مختلف یافته‌های متناقضی را نشان می‌دهند. نتایج این مطالعه از عدم ارتباط پلی‌مرفیسم‌های ژنتیکی یاد شده با بیماری آسم حکایت دارد و به نظر می‌رسد که عواملی غیر از پلی‌مرفیسم‌های اینترلوکین ۴ و اینترفرون گاما در بیماری‌زایی و شدت بیماری آسم دخیلند که اثر این واریانت‌های ژنتیکی را پوشش می‌دهند.*

واژگان کلیدی: ***آسم، اینترفرون گاما، اینترلوکین ۴، پلی‌مرفیسم***

۱- دانشجوی دکترای ایمنی‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- دکترای تخصصی ایمونوهماتولوژی بالینی، استاد دانشگاه تربیت مدرس
۳- دکترای تخصصی ایمنی‌شناسی، دانشیار دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات آسم، ایمونولوژی و آلرژی دانشگاه تهران
۴- متخصص ریه، دانشیار دانشگاه شهید بهشتی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

آسم یکی از بیماری‌های شایع است که به خاطر التهاب حاد و مزمن برونش ایجاد می‌شود که نتیجه آن انسداد راه‌های هوایی است. مشخصه‌های بالینی آسم افزایش حساسیت برونشی (BHI) و افزایش سطح IgE است (۱)، که هر دو این عوامل را با ژنتیک فرد مرتبط دانسته‌اند (۲). سیتوکین‌ها گلیکوپروتئین‌های کوچکی هستند که از سلول‌های مختلف و در پاسخ به محرک‌های مختلف تولید شده و پاسخ سلول‌های ایمنی را واسطه‌گری و تنظیم می‌کنند. این ملکول‌ها با اتصال به گیرنده‌های اختصاصی خود بر سطح سلول‌ها عملکرد خود را انجام می‌دهند. پلی‌مرفیسم‌های ژنتیکی می‌توانند در قسمت پروموتر و یا ناحیه‌ی رمزکننده‌ی ژن سیتوکین‌ها وجود داشته باشند و در نتیجه باعث تغییر در بیان ژن و یا تغییر در عملکرد سیتوکین به واسطه‌ی تغییر ساختار شوند. نقش‌های گوناگون سیتوکین‌ها و انواع پلی‌مرفیسم‌های مربوطه در ناهنجاری‌های مختلف نشان داده شده است (۳).

به طور کلی زمانی‌که یک سلول (+CD۴) T یا (T-Helper) با یک ذره‌ی آنتی‌ژنیک برخورد می‌کند، می‌تواند به دو زیرگروه متفاوت از لحاظ عملکردی TH_1 و TH_2 تمایز یابد، که سیتوکین‌های خاص خود را تولید می‌کنند. این دو زیرگروه T کمکی می‌توانند بر یکدیگر اثر تنظیمی داشته باشند (۴). با مطالعات مختلفی که بر روی سلول‌های (+CD۴) TH_1 و (+CD۴) TH_2 در موش (۵) و در انسان (۶) انجام گرفته است، به طور مشخص نشان داده شده است که فعال شدن لنفوسیت‌های TH_2 و تولید سیتوکین‌هایی از جمله اینترلوکین ۱۳ (IL- ۱۳)، اینترلوکین۴ (IL- ۴) و اینترلوکین۵ (IL- ۵) مسئول آبشار فعال‌سازی ائوزینوفیل‌ها و تولید IgE بوده و برای التهاب آلرژیک ضروری‌اند (۷)، بنابراین تغییر نسبت TH_1 / TH_2 به سمت TH_2 در بیماری‌زایی آسم دخیل است (۸). از طرف دیگر مطالعات نشان داده‌اند که پلی‌مرفیسم ژن سیتوکین‌ها در تنظیم نسبت TH_1 / TH_2 تعیین‌کننده است (۹). بنابراین احتمال این مسأله وجود دارد که پلی‌مرفیسم ژن سیتوکین‌های درگیر در نسبت TH_1 / TH_2 که قادر به تأثیر بر میزان بیان ژن و تولید پروتئین باشند، می‌توانند در بیماری‌زایی آسم دخالت داشته باشند. مطالعات نشان داده‌اند که در IL-۴ که سیتوکین مشخصه‌ی TH_2 است، پلی‌مرفیسم در ناحیه‌ی پروموتر ژن به صورت C-۵۸۹T با میزان تولید IL-۴ در ارتباط بوده و بر میزان سطح سرمی IgE و BHI مؤثر است (۱۰). سیتوکین‌های TH_1، (IFN-γ) اینترفرون گاما باعث مهار ساخت IL-۴ و IgE و هم‌چنین مهار BHI در افراد آسمی می‌شود (۱۱). پلی‌مرفیسم A+ ۸۷۴T در ناحیه‌ی اینترون- ۱ ژن IFN-γ با میزان ساخت و ترشح IFN-γ در ارتباط است (۱۲). در این مطالعه به دنبال ارتباط پلی‌مرفیسم‌های (C-۵۸۹ T) و (A+۸۷۴ T) بر میزان استعداد ابتلا به آسم و شدت آسم می‌باشیم.

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی می‌باشد که برای انجام آن ۸۱ بیمار آسمی شامل ۲۵ مرد و ۵۶ زن غیرخویشاوند مطابق با معیارهای جامعه‌ی توراسیک آمریکا (American Thoracic Society [AST]) انتخاب شدند و در سه گروه با شدت آسم ضعیف، متوسط و شدید قرارگرفتند. بیماران حداقل دو علامت بالینی از علایم آسم (سرفه، خس‌خس، تنگی‌نفس، گرفتگی قفسه‌ی سینه و بی‌خوابی شبانه) را داشته و سیگار مصرف نمی‌کردند. ۸۰ فرد نرمال با آزمون تنفسی طبیعی و فاقد هرگونه نشانه‌ی بالینی آسم نیز به عنوان گروه کنترل انتخاب شد. برای بررسی پلی‌مرفیسم سیتوکینی از خون محیطی استفاده شد. ابتدا از بیماران آسمی که نوع و مرحله‌ی آسم آن‌ها مشخص شده

Archive of SID
www.SID.ir

بود، به میزان حداقل ۲ میلی‌لیتر خون در ضدانعقاد EDTA گرفته شد، سپس مرحله‌ی تخلیص DNA (DNA extraction) با استفاده از کیت تخلیص DNA (سیناژن - ایران) و مطابق با دستورالعمل کیت انجام شد.

تعیین پلی‌مرفیسم IL-۴ در موقعیت ۵۸۹-: برای تعیین ژنوتیپ پلی‌مرفیسم IL-۴ در موقعیت ۵۸۹- روش PCR-RFLP انجام شد. ابتدا یک حجم از DNA ژنوم شامل ۱۰۰ نانوگرم از DNA با ۰/۵ میکرومول در لیتر از هر کدام از پرایمرهای مربوطه (۱۴) (جدول ۱) به همراه ۰/۲ میلی‌مول در لیتر از dNTP (بایورون - آلمان) و ۱/۲۵ واحد از DNA پلی‌مراز Taq (بایورون - آلمان) در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر با هم مخلوط شدند، سپس مراحل PCR در دستگاه ترمال‌سیکلر (تکنه، جنیوس) انجام گرفت: مرحله‌ی اولیه دناتوره شدن در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۶ سیکل تکثیر (Amplification) در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و ۴۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شده و مرحله‌ی نهایی (Extension) در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت، سپس محصول نهایی PCR برای انجام RFLP در معرض آنزیم AvaII (فرمنتاس- لیتوانی) قرار داده شد. برای این منظور ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR به مدت ۴ ساعت در درجه‌ی حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با ۱۰ واحد آنزیم هضم‌کننده (Restriction Enzyme) و بافر B مجاور گردید سپس قطعات بریده شده به وسیله‌ی الکتروفورز ژل آگاروز ۳ درصد از هم جدا شده و به کمک اتیدیوم‌بروماید رنگ‌آمیزی شد.

تعیین پلی‌مرفیسم IFN-γ در موقعیت ۸۷۴+: برای بررسی پلی‌مرفیسم IFN-γ در موقعیت ۸۷۴+ روش ARMS-PCR انجام گرفت. به این منظور ۰/۵ میکرومول در لیتر از هر سه پرایمر طراحی شده (۱۵، ۱۳) (جدول ۱) به همراه ۱۰۰ نانوگرم از DNA تخلیص شده و ۱/۵ میلی‌مول از کلریدمنیزیوم ($MgCl_2$) و ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP و ۵ واحد از آنزیم Taq در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر با هم مخلوط شدند. به منظور کنترل کردن مراحل PCR و وجود همه‌ی مواد در هر تست از دو پرایمر داخلی از ژن بتاگلوبین (جدول۲) برای هر واکنش استفاده شد. مراحل دمایی PCR به صورت زیر انجام شد: دناتوره شدن در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس مراحل تکثیر ۱۰ سیکل در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۶۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای یک دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و متعاقب آن ۲۰ سیکل در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد برای یک دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. محصولات به دست آمده از PCR در ژل آگاروز ۲ درصد به همراه اتیدیوم‌بروماید الکتروفورز شده و در زیر دستگاه با اشعه‌ی ماوراء بنفش بررسی شد.

یافته‌ها

داده‌های مربوط به مشخصات بیماران و گروه کنترل در جدول ۲ آورده شده است. نتایج حاصل از بررسی پلی‌مرفیسم‌های آلل (C-۵۸۹T) IL-۴ و (A+۸۷۴T) IFN-γ مربوط به گروه کنترل و دو گروه مبتلا به آسم در جدول ۳ آورده شده است. این نتایج به کمک نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی به کمک آزمون کای اسکوئر (χ^2 test) دو گروه آسم و کنترل در مورد پلی‌مرفیسم موجود در ناحیه‌ی ۸۷۴+ ژن IFN-γ ($P\geq ۰/۰۵$) و پلی‌مرفیسم ناحیه‌ی ۵۸۹- ژن IL-۴ ($P\geq ۰/۰۵$)

Archive of SID
www.SID.ir

از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد و این موارد در دو زیرگروه آسم کنترل‌شده و آسم کنترل‌نشده نیز فاقد تفاوت مشخص کننده بود (P≥۰/۰۵). در گروه مبتلا به آسم، پلی‌مرفیسم‌ها با سطح کنترل آسم، توزیع جنسی و سابقه‌ی آلرژی ارتباطی نداشت و آزمون آماری t-test در مورد داده‌های کمی سن و معیارهای تست تنفسی نیز هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P≥۰/۰۵).

جدول ۱: ترادف پرایمرهای مورد استفاده

ژن	پرایمر	روش	رفرانس
IL- ۴ (C-۵۸۹ T)	Forward 5’-TAAACTTGGGAGAACATGGA-3’ Reverse 5’-TGGGGAAAGATAGAGTAATA-3’	RFLP PCR	۱۴
IFN-γ (A+۸۷۴ T)	Common5’-CATCTACTGTGCCTTCCTGT-3’ T allele :5’-TTTCTTACAACACAAAATCAAATCT-3’ A allele :5’-ATTCTTACAACACAAAATCAAATCA-3’	ARMS PCR	۱۳
بتاگلوبین	Forward 5’-ACACAACTGTGTTCACTAGC-3’ Reverse 5’-CAACTTCATCCACGTTCACC-3’	-	۱۵

جدول۲: مشخصات مربوط به گروه بیمار و کنترل

مشخصه	بیماران آسمی	گروه کنترل
تعداد	۸۱	۸۰
نسبت مرد: زن	٥٦:٢٥	٥٣:٢٨
سن (سال)	٤٨±١٢	٤٦±١٤
حداقل دو علامت بالینی آسم	+	–
سابقه‌ی خانوادگی آسم	٪٤٣/٢	–
سابقه‌ی آلرژی	٪٧٠/٤	–
FEV_1 (% predicted)	٧٩/٢٦±٢١	–
FEV_1/FVC	٧٩/٩٦±١٩	–
PEF	٧۴/۶١±٢۶	–

FEV1: Forced Expiratory Volume in 1 Second **FVC:** Forced Vital Capacity **PEF:** Peak Expiratory Flow

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: نتایج مربوط به پلی‌مرفیسم اینترلوکین-۴ و اینترفرون گاما در بیماران آسمی و کنترل‌ها

مشخصه		گروه کنترل (N)%	کنترل‌نشده %(N)	کنترل‌نشده متوسط %(N)	سن	جنس (M/F)	سابقه‌ی آلرژی %(N)	FEV1	PFE	FEV%FCV
			بیماران آسمی							
IL-۴	CC	(۶۱) ٪۷۶	(۳۰) ٪۳۷	(۳۳) ٪۴۱	۴۷/۳±۱۳	(۱۹/۴۴) ۰/۴۳	(۴۶) ٪۵۷	۸۰/۹±۲۱	۷۶/۹±۲۷	۸۳±۹
	CT TT	(۱۹) ٪۲۴	(۶) ٪۷	(۱۲) ٪۱۵	۵۰/۵±۱۰	(۶/۱۲) ۰/۵	(۱۱) ٪۱۴	۷۳/۶±۲۱	۶۶/۴±۱۷	۷۹/۵±۱۱
IFN-γ	AA	(۱۸) ٪۲۳	(۸) ٪۱۰	(۱۱) ٪۱۴	۴۷/۸±۱۵	(۶/۱۳) ۰/۴۶	(۱۳) ٪۱۶	۸۳/۶±۲۴	۷۷/۱±۲۵	۸۲/۲±۸
	AT	(۳۶) ٪۴۵	(۱۷) ٪۲۱	(۱۴) ٪۱۷	۴۶/۴±۱۳	(۸/۲۳) ۰/۳۵	(۲۳) ٪۲۸	۸۲±۱۸	۷۴/۸±۲۵	۸۴/۱±۱
	TT	(۳۱) ٪۳۲	(۱۱) ٪۱۴	(۲۰) ٪۲۵	۴۹/۷±۹	(۱۱/۲۰) ۰/۵۵	(۲۱) ٪۲۵	۷۳/۲±۲۱	۷۲/۸±۲۷	۸۰/۳±۱

FEV1: Forced Expiratory Volume in 1 Second **FVC:** Forced Vital Capacity **PEF:** Peak Expiratory Flow

بحث

آسم یک بیماری التهابی مزمن راه‌های هوایی است، که فاکتورهای مختلف محیطی و ژنتیکی در استعداد، ایجاد و بیماری‌زایی آن دخیل می‌باشند. سیتوکین‌ها از واسطه‌های مهم ایمنی و پاسخ‌های التهابی در بیماری‌ها و بیماری التهابی مزمنی نظیر آسم می‌باشند. نشان داده شده است که واریانت‌های ژنتیکی ژن سیتوکین‌های IL-۴ وIFN- γ که بر میزان تولید و یا عملکرد این سیتوکین‌ها اثر می‌گذارند، می‌توانند موجب گرایش پاسخ‌های ایمنی به سمت TH_1 و یا TH_2 و بر هم زدن تعادل TH_2 / TH_1 شده و در نتیجه باعث استعداد ابتلا، افزایش یا کاهش در بروز علایم و شدت و پیش‌آگهی در بیماری آسم شوند. مطالعات مختلفی ارتباط بین ژنتیک فرد و استعداد ابتلا و یا تأثیر بر شدت بروز یافته‌های بالینی را بیان کرده‌اند (۱۶و۸،۱۰) و نشان داده شده که این بیماری در بسیاری از افراد یک خانواده به صورت استعدادی توارثی وجود دارد؛ در عین حال تعداد زیادی از مطالعات نیز عدم وجود چنین ارتباطاتی را نشان داده‌اند (۱۷،۱۸). به عنوان مثال ایلوگی و همکارانشان در بررسی پروموتر ژن‌های IFN-γ و IL-۱۲ و جهت‌گیری پاسخ، ارتباط مشخصی را در بیماران آسمی مشاهده نکردند (۱۸) و یا در دیگر مطالعات دیده شد که IFN-γ تجویزی به بیماران آسمی تغییری را در میزان FEV_1 ایجاد نکرده است (۱۹).

از مهم‌ترین پلی‌مرفیسم‌های IL-۴ پلی‌مرفیسم (C/T) ۵۸۹- در پروموتر ژن و در IFN-γ اولین اینترون در موقعیت (A/T)۸۷۴+ می‌باشند که در مطالعات مختلفی بررسی شده‌اند و با نتایج متناقضی همراه بوده‌اند. چندین مطالعه ارتباط مثبت یا منفی IL-۴ (C/T)۵۸۹- را با آسم و آتوپی (۲۰،۲۱)، آسم آتوپیک کودکان (۲۲،۲۳) و اگزمای آتوپیک (۲۴،۲۵) نشان داده‌اند. ارتباط مثبت و منفی IFN-γ (A/T)۸۷۴+ نیز در چندین وضعیت نظیر سرطان سرویکس (۲۶،۲۷)، مولتیپل‌اسکلروزیس (۲۸،۲۹) و لیشمانیوزیس (۳۰،۳۱) نشان داده شده است. در این مطالعه ما

Archive of SID
www.SID.ir

این پلی‌مرفیسم‌های مؤثر بر تولید IL-۴ و IFN-γ را در دو گروه آسمی و کنترل با هم مقایسه کردیم که عدم معنی‌دار بودن اختلاف آن‌ها از نظر آماری، حاکی از این است که این واریانت‌های ژنتیکی موجب استعداد ابتلا به آسم نبوده‌اند. عدم‌وجود اختلافی مشخص در بین افراد آسمی که انواع متفاوتی از پاسخ به درمان را نشان می‌دهند و همچنین داده‌های مربوط به تست تنفسی آن‌ها، چنین بیان می‌کند که این پلی‌مرفیسم‌ها در میزان پاسخ به درمان و روند بیماری نیز تأثیر مشخصی نداشته‌اند. یافته‌های ما با برخی مطالعات که عدم ارتباط ژنتیکی را نشان داده‌اند، همخوانی دارد (۲۲و۱۸،۲۰) و متناقض با برخی دیگر از مطالعات است (۲۱،۲۳،۲۵).

به طور کلی چنین می‌توان برداشت نمود که اگرچه پلی‌مرفیسم‌های سیتوکینی به عنوان یکی از فاکتورهای ژنتیکی در بیماری آسم می‌توانند دخیل باشند، احتمالا فاکتورهای گوناگون دیگری که خود ممکن است عاملی ژنتیکی و یا غیرژنتیکی باشند، نیز وجود دارند که بر استعداد ابتلا و یا بیماری‌زایی آسم تأثیر می‌گذارند؛ به طوری که حتی این موارد می‌توانند تأثیر برخی از واریانت‌های ژنتیکی دیگر را پوشش داده و یا بر آن‌ها غلبه کنند. از عواملی که می‌تواند توضیحی بر نتایج فوق باشد، توزیع ژنتیکی و قومیت‌های مختلف در نژاد ایرانی می‌باشد. در مجموع برای روشن شدن عامل یا عوامل اصلی تأثیرگذار و همچنین مشخص شدن روابط متقابل این فاکتورها بر یکدیگر نیاز به انجام مطالعات بیشتری احساس می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه از عدم ارتباط پلی‌مرفیسم‌های ژنتیکی یاد شده IL-۴ و IFN- γ با بیماری آسم حکایت دارد و این پلی‌مرفیسم‌ها را نمی‌توان به عنوان فاکتور خطر در بیماری آسم محسوب نمود. به نظر می‌رسد که عوامل ژنتیکی یا محیطی دیگری غیر از این پلی‌مرفیسم در بیماری‌زایی و شدت بیماری آسم مؤثرند که بر اثر این پلی‌مرفیسم‌ها غلبه می‌کنند و یا اثر این واریانت‌های ژنتیکی را پوشش می‌دهند.

منابع

1- Burrows B, Martinez FD, Halonen M, et al. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med.* 1989; 320: 271-7.

2- Xu J, Postma DS, Howard TD, et al. Major genes regulating total serum immunoglobulin E levels in families with asthma. *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 1163-73.

3- Martin Howell W, Matthew J, Rose-Zerilli, et al. Cytokine gene polymorphisms, cancer susceptibility, and Prognosis. *Nutr.* 2007; 137: 194-199

4- Sparano A, Lathers D M, Achille N, et al. Modulation of Th1 and Th2 cytokine profiles and their association with advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryng Head Neck.* 2004; 131: 573-6.

5- Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989; 7: 145-73.

6- Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol.* 1994; 12: 227-57.

7- Kay AB, Ying S, Varney V, et al. Messenger

Archive of SID
www.SID.ir

RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3), IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects. *J Exp Med*. 1991; 173: 775-8.

8- Ngoc LP, Gold R, Tzianabos AO, et al. Cytokines, allergy, and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005; 5: 161-166.

9- Imboden M, Nieters A, Bircher AJ, et al. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts. *Clin Mol Allergy*. 2006; 7: 4-9.

10- Kabesch M, Tzotcheva I, Carr D, et al. A complete screening of the IL4 gene: Novel polymorphisms and their association with asthma and IgE in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112: 893-8.

11- Li XM, Chopra RK, Chou TY, et al. Mucosal IFN-gamma gene transfer inhibits pulmonary allergic responses in mice. *J Immunol*. 1996; 157: 3216-19.

12- Zambon CF, Basso D, Navaglia F, et al. Pro- and anti-nflammatory cytokines gene polymorphisms and helicobacter pylori infection: interactions influence outcome. *Cytokine*. 2005; 29: 141-52.

13- Pravica V, Perrey C, Stevens A, et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Human Immunol*. 2000; 61: 863-66.

14- Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback JK, et al. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin Exp Allergy*. 1995; 25: 74-8.

15- Kamali-Sarvestani E, Zolghadri J, Gharesi-Fard B, et al. Cytokine gene polymorphisms and susceptibility to recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J Rep Immunol*. 2005; 65: 171-8.

16- Kamali-Sarvestani E, Ghayomi MA, Nekoee A, et al. Association of TNF- α -308 G/A and IL-4 -589 C/T gene promoter polymorphisms with asthma susceptibility in the south of Iran. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007; 17: 361-6.

17- Kedda M-A, Lose F, Duffy D, et al. The CD14 C-159T polymorphism is not associated with asthma or asthma severity in an Australian adult population. *Thorax*. 2005; 60: 211-4.

18- Birkisson IF, Halapi E, Bjornsdottir US, et al. Genetic approaches to assessing evidence for a T helper type 1 cytokine defect in adult asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 169: 1007-13.

19- Boguniewicz M, Martin RJ, Martin D, et al. The effects of nebulized recombinant interferon-gamma in asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol*. 1995; 95:133-5.

20- Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, et al. Association of asthma and the interleukin-4 promoter gene in Japanese. *Clin Exp Allergy*. 1998; 28: 449-53.

21- Walley AJ, Cookson WO. Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for

Archive of SID

www.SID.ir

associations with asthma and atopy. *J Med Genet.* 1996; 33: 689-92.

22- He J-Q, Chan-Yeung M, Becker A B, et al. Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children. *Genes Immunity.* 2003; 4, 385-9.

23- Takabayashi A, Ihara K, Sasaki Y, et al. Childhood atopic asthma: positive association with a polymorphism of IL-4 receptor alpha gene but not with that of IL-4 promoter or Fc epsilon receptor I beta gene. *Exp Clin Immunogenet.* 2000; 17: 63-70.

24- Hijazi Z, Haider MZ. Interleukin-4 gene promoter polymorphism [C590T] and asthma in Kuwaiti Arabs. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000; 122: 190-4.

25- Elliott K, Fitzpatrick E, Hill D, et al. The −590C/T and −34C/T interleukin-4 promoter polymorphisms are not associated with atopic eczema in childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 285-7.

26- Guzman VB, Yambartsev A, Goncalves P, et al. New approach reveals CD28 and IFNG gene interaction in the susceptibility to cervical cancer. *Hum Mol Gen.* 2008; 17(12): 1838-44.

27- Govan VA, Carrara HRO, Sachs J, et al. Ethnic differences in allelic distribution of IFN-g in South African women but no link with cervical cancer. *J Carcinogenesis.* 2003; 2: 3.

28- Goris A, Epplen C, Fiten P, et al. Analysis of an IFN-γ gene (IFNG) polymorphism in multiple sclerosis in Europe: effect of population structure on association with disease. *J Interferon Cytokine Res.* 1999; 1037-46.

29- Izad M, Vodjgani M, Hossein Nicknam M, et al. Interferon-Gamma gene polymorphism in iranian patients with multiple sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2004; 3(3): 115-9.

30- Matos GI, Fernandes Covas CJ, Cássia Bittar R, et al. IFNG +874T/A polymorphism is not associated with American tegumentary leishmaniasis susceptibility but can influence Leishmania induced IFN-γ production. *BMC Inf Dis.* 2007, 7: 33.

31- Salih MA, Ibrahim1 ME, Blackwell JM, et al. IFNG and IFNGR1 gene polymorphisms and susceptibility to post kala-azar dermal leishmaniasis in Sudan. *Genes Immun.* 2007; 8(1): 75-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Relation of Interleukine-4 (C-589T) and Interferon-gamma (A+874T) Allele polymorphism with Asthma

Daneshmandi S[1], Pourfathollah A A[2], Pourpak Z[3], Heidarnazhad H[4]

[1] Dept of Immunology, Tarbiat Modares University, School of Medical Sciences Tehran, Iran

[3] Asthma and Allergy Research Institute and Department of Clinical Immunology and Allergy, Children Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[4] TB and Lung disease Research Cancer, NRITLD, Masih Daneshvari Hospital, Shahid Beheshti University, Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author's Address: Dept of Immunology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

E-mail: pourfa@modares.ac.ir

Received: 22 Apr, 2008 **Accepted:** 6 Oct, 2008

Background and Objective: Asthma is a common respiratory disease caused by acute and chronic bronchial inflammation. Clinical manifestations of the disease are closely related to genetics. IL-4 is a cytokine of TH2 lymphocytes, polymorphism in prompter region, C-589T, is associated with IL-4 production, while IFN-γ, is a cytokine of TH1, and A+874T polymorphism in interon 1 of IFN-γ is associated with it's production and release. Cytokine gene polymorphisms could influence pathogenesis of asthma with TH1/THh2 ratio, being of great importance.

Materials and Methods: 81 unrelated asthmatic patients were selected according to ATS characteristics and separated into two groups of controlled and uncontrolled asthma. 80 normal subjects were chosen as control group. After collection of peripheral blood and DNA extraction, PCR-RFLP method was used for genotyping of IL-4, -589 position. For evaluation of polymorphism in +874 position of IFN-γ ARMS-PCR method was used.

Results: Distribution of frequency of IFN-γ (A+874T) and IL-4(C-589T) polymorphisms didn't show any statistically significant difference between two patient groups and healthy control group ($p \geq 0.05$). There was neither any significant difference ($p \geq 0.05$) among other parameters.

Conclusions: Studies in field of cytokine polymorphism have had variable results. So many studies have mentioned a relationship between cytokine gene polymorphism and susceptibility and/or severity of asthma and some studies have shown that there is no association between these factors we believe that there may exist factors different from IL-4 and IFN-*γ* polymorphism which coner the effects of these genetic vaciants in pathogenesis and severity of asthma.

Key words: Astham, IL-4, IFN-γ, Polymorphism

Archive of SID

www.SID.ir