مجلهی علمی، پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
دورهی ۱۷، شمارهی ٦٧، تابستان ۱۳۸۸، صفحات ٤٥ تا ٥٤

بررسی ارتباط پلیمرفیسمهای ژن TNF-α و بیماری سل ریوی

صابر انوشه[۱]، دکتر پریسا فرنیا[۲]، محمد کارگر[۳]، مهدی کاظم پور[٤]، شیما سیف[٥]، دکتر جمیله نوروزی[٦]، دکتر محمدرضا مسجدی[۷]، دکتر علی اکبر ولایتی[۸]

نویسندهی مسئول: تهران، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکدهی سل و بیماریهای ریوی saberanoosheh@gmail.com

دریافت: ۸۷/۹/۱۳ پذیرش: ۸۸/۴/۷

چکیده

زمینه و هدف: *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس عامل ایجاد کنندهی بیماری سل، سالیانه موجب مرگ و میر بیش از سه میلیون نفر در جهان میگردد. در حدود یک سوم جمعیت جهان با این باکتری آلوده هستند که ۵ تا ۱۰ درصد از این افراد به سل فعال مبتلا میباشند. حساسیت به این بیماری در میان افراد مختلف متفاوت بوده، این تفاوتها میتواند ناشی از فاکتورهای میزبانی و بهویژه حساسیت ژنتیکی افراد مختلف به این بیماری باشد. TNF-α در فرآیند دفاع میزبانی در برابر عفونتهای مایکوباکتریال دارای نقشی محوری بوده، پلیمرفیسمهای ژنتیکی TNF-α میتوانند بر کارایی و قابلیت پاسخهای ایمنی در برابر عفونت تاثیرگذار باشند. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی موتاسیونهای ژن TNF-α و ارتباط آن با بیماری سل ریوی بود.*

روشبررسی: *٦۰ بیمار مبتلا به سل ریوی و ٦۰ فرد سالم به عنوان کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند و ژنوتیپ نواحی ۲۳۸-، ۲٤٤-، ۳۰۸-، ۸۵۷- و ۸٦۳- با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مشخص گردید. نتایج بدست آمده توسط آزمون فیشر و کای زوج آنالیز گردید و از نظر انطباق با تست هاردی – وینبرگ مورد بررسی قرار گرفت.*

یافتهها: *نتایج بدست آمده ارتباط معنیداری را در دو ناحیه ۳۰۸- و ۸۵۷- بین دو گروه بیمار و کنترل نشان داد (P<۰/۰۵).*

نتیجهگیری: *وجود موتاسیون در دو ناحیه ۳۰۸- و ۸۵۷- احتمالا میتواند حساسیت افراد را در برابر عفونت مایکوباکتریوم افزایش دهد و تعیین ژنوتیپ این نواحی میتواند در شناسایی افراد با ریسک بالای ابتلا مورد استفاده قرار گیرد.*

واژگان کلیدی: سلریوی، پلیمرفیسم، فاکتور نکروز دهندهی توموری

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی
۲- دکترای تخصصی میکروبشناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی
۳- دکترای تخصصی میکروبشناسی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی جهرم
٤- کارشناس ارشد آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی
٥- کارشناس میکروبیولوژی، آزمایشگاه رفرانس سل کشوری، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی
٦- دکترای تخصصی میکروبشناسی، استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران
۷- فوق تخصص ریه، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکدهی سل و بیماریهای ریوی
۸- فوق تخصص عفونی اطفال، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکدهی سل و بیماریهای ریوی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سل ریوی یکی از بیماری‌های شایع عفونی بوده و سالیانه عامل مرگ و میر بیش از سه میلیون نفر در جهان می‌باشد. عامل ایجاد کننده‌ی این بیماری، باسیلی اسید فست به نام مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌باشد (۲و۱). در حدود یک سوم جمعیت جهان با این باکتری آلوده هستند ولی فقط ۵ تا ۱۰درصد از این افراد به سل فعال مبتلا می‌شوند (۱). این بیماری علی‌رغم اجرای برنامه‌های کنترلی گسترده در دو دهه‌ی گذشته، همچنان یکی از بیماری‌های عفونی پرخطر محسوب می‌شود به ویژه اینکه با ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم به دارو، نگرانی‌های جدیدی را در سطح جهانی ایجاد کرده است (۱). بررسی‌ها نشان می‌دهد که حساسیت به این بیماری در میان افراد مختلف متفاوت بوده، هر فردی که در معرض این باکتری قرارگیرد، لزوماً به سل مبتلا نمی‌شود و حتی دوره و سیر بیماری نیز در میان افراد مختلف متفاوت می‌باشد. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از فاکتورهای میزبان و خصوصا حساسیت ژنتیکی افراد مختلف به این بیماری باشد (۴و۳). ایمنی سلولی [Cell Mediated Immunity (CMI)] یک مکانیسم دفاعی علیه میکروب‌هایی است که درون بیگانه‌خوارها و یا دیگر سلول‌ها بقاء یافته‌اند و مکانیسم اصلی دفاعی بدن در مقابله با بیماری سل می‌باشد (۵). سلول‌های T به عنوان اجزاء اصلی ایمنی سلولی هستند که قسمتی از نقش خود را با ترشح سایتوکاین‌ها اعمال می‌کنند (۶). سایتوکاین‌ها در فرآیند دفاع میزبانی در برابر عفونت‌های مایکوباکتریال دارای نقشی محوری هستند (۷و۳). در میان این سایتوکاین‌ها، فاکتور نکروز دهنده‌ی تومور [Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-α)] دارای نقشی برجسته و چندگانه در فرآیندهای دفاعی و واکنش‌های آسیب شناختی در برابر سل [Tuberculosis (TB)] می‌باشد (۸و۳). TNF-α از یک طرف دارای یک نقش تنظیم‌کنندگی بوده، در همکاری نزدیک با IFN-γ موجب فعال شدن ماکروفاژها شده (۹و۳)، به عنوان آغازگر و پیش برنده‌ی واکنش‌های پیش التهابی (Pro-Inflammatory Response)، در تحت فشار قراردادن بیماری و مقاومت در برابر مایکوباکتریوم ایفای نقش می‌نماید (۱۰). از طرفی دیگر افزایش بیش از حد TNF-α موجب یک‌سری اتفاقات ناخواسته مانند تب و ضعف مفرط و نیز آسیب‌های بافتی می‌شود که برای محدود سازی این اثرات آسیب‌رسان، تنظیم بیان ژن TNF-α به صورت خود تنظیمی منفی (Down-Regulated) صورت می‌پذیرد، همچنین سایتوکاین‌های ضدالتهابی (Anti-Inflammatory) در کاهش این اثرات زیان‌بار موثرند (۱۰). حال با توجه اینکه سایتوکاین‌ها در فرآیند مقابله با TB نقشی محوری بازی می‌کنند، تغییرات ژنتیکی در نواحی کدکننده‌ی سایتوکاین‌ها می‌تواند بر کارایی و قابلیت پاسخ‌های ایمنی در برابر عفونت تاثیرگذار باشد (۱۱و ۳). موتاسیون‌های تک نوکلئوتیدی [Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)] از شناخته شده‌ترین تغییرات ژنتیکی می‌باشند و با فراوانی یک مورد در هر ۱۰۰۰bp در طول ژنوم رخ می‌دهند (۱۲). ژن TNF-α در بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ بین لوکوس ژنی MHC کلاس I و III قرار دارد که به طور کلی یک منطقه‌ی پلی‌مرفیک می‌باشد (۱۳و ۶)، این موتاسیون‌ها ممکن است بر روی قدرت فعالیت ناحیه‌ی پروموتر تاثیرگذار باشند و یا سبب تغییر شکل فضایی DNA و mRNA شوند (۱۴). هدف از این مطالعه بررسی فراوانی آلل‌های مختلف ژن TNF-α در پنج ناحیه‌ی ۲۳۸-، ۲٤٤-، ۳۰۸-، ۸۵۷- و ۸٦۳- در بین جمعیت ایرانی و ارتباط آن با بیماری سل ریوی بوده است.

روش بررسی

این مطالعه به صورت موردی – شاهدی (case-control study) در طی یک‌سال از شهریور سال ۱۳۸٦ تا شهریور سال ۱۳۸۷در مرکز تحقیقات

Archive of SID
www.SID.ir

مایکوباکتریولوژی انجام گرفت. ۶۰ بیمار که با تشخیص قطعی سل ریوی، (با اسمیر و کشت مثبت) در بخش‌های سل بیمارستان مسیح دانشوری بستری شده بودند، پس از اخذ رضایت نامه‌ی کتبی مورد مطالعه قرار گرفتند. به عنوان گروه شاهد نیز ۶۰ نفر از کارکنان و دانشجویان مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی و آزمایشگاه رفرانس سل کشوری انتخاب شدند که فاقد هرگونه سابقه‌ی ابتلا به بیماری سل، عفونت HIV، بیماری‌های اتوایمن و بدخیمی‌ها بودند که پس از معاینه‌ی پزشک و اخذ رضایت نامه وارد مطالعه شدند. DNA ژنومی از لنفوسیت‌های خون محیطی به روش فنل - کلروفرم - ایزوآمیل الکل استخراج گردید (۱۵)، ژنوتیپ هر یک از پلی‌مرفیسم‌های موجود در منطقه‌ی پروموتر ژن TNF-α به صورت مرحله به مرحله مورد بررسی قرار گرفت. بررسی پلی‌مرفیسم ناحیه ۳۰۸- ابتدا با استفاده از جفت پرایمر 5′-AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT-3′، 5′-TCC TCC CTG CTC CGA TTC CG-3′ PCR انجام گردید و قطعه‌ی تکثیر یافته، تحت اثر آنزیم Nco I قرارگرفت. همچنین برای بررسی پلی‌مرفیسم در نواحی ۲۳۸- و ۲۴۴- با استفاده از جفت پرایمر 5'-CCT CAA GGA CTC AGC TTT CTG -3'، 5'-ACA CTC CCC ATC CTC CCA GATC-3' ناحیه‌ی مورد نظر تکثیر داده شد. قطعه‌ی بدست آمده تحت اثر آنزیم‌های برش دهنده قرار گرفت که برای ناحیه‌ی ۲۳۸- از آنزیم Bgl II و برای ناحیه ۲۴۴- از آنزیم Bsaj I استفاده گردید. در ادامه، پلی‌مرفیسم نواحی ۸۵۷- و ۸۶۳- مورد بررسی قرار گرفتند که به ترتیب با استفاده از جفت پرایمرهای 5'-GGC TCT GAG GAA TGG GTT AC-3'، 5'-CCT CTA CAT GGC CCT GTC TAC-3' و 5'-GGC TCT GAG GAA TGG GTT AC-3'، 5'-CTA CAT GGC CCT GTC TTC GTT ACG-3'، PCR انجام گرفت تحت اثر آنزیم Tai I قرار داده شد. برنامه‌های PCR که با استفاده از دستگاه Corbett ساخت کشور استرالیا جهت تکثیر قطعات فوق استفاده گردید، به شرح مندرج در جدول شماره ۱ می‌باشد.

*جدول ۱: برنامه‌های **PCR** که برای تکثیر هر ناحیه استفاده شده است.*

TNF -863		TNF -857		TNF -308		TNF -238/-244	
۹۴ درجه ۴ دقیقه	۱ دور	۹۵ درجه ۴ دقیقه	۱ دور	۹۴ درجه ۴ دقیقه	۱ دور	۹۴ درجه ۳ دقیقه	۱ دور
۹۴ درجه ۴۵ ثانیه	۳۰ دور	۹۵ درجه ۴۰ ثانیه	۳۰ دور	۹۴ درجه ۱ دقیقه	۳۰ دور	۹۴ درجه ۴۰ ثانیه	۳۵ دور
۵۸ درجه ۴۵ ثانیه		۵۶/۵درجه ۴۰ثانیه		۵۶ درجه ۱ دقیقه		۵۳ درجه ۴۰ ثانیه	
۷۲ درجه ۱ دقیقه		۷۲ درجه ۵۵ ثانیه		۷۲ درجه ۱ دقیقه		۷۲ درجه ۵۵ ثاتیه	
۷۲درجه ۶ دقیقه	۱ دور	۷۲درجه ۶ دقیقه	۱ دور	۷۲درجه ۱۰ دقیقه	۱ دور	۷۲درجه ۶ دقیقه	۱ دور

برای بررسی اثر آنزیم و مشاهده الگوی برش، نمونه‌های هضم شده بر روی الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) برده شدند و به روش نیترات نقره رنگ آمیزی گردیدند. بر اساس تعداد و طول قطعات بدست آمده تفسیر شده، ژنوتیپ هر ناحیه مشخص گردید (جدول شماره ۲).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: نحوه‌ی تفسیر نتایج ژنوتیپینگ هر ناحیه به روش PCR-RFLP

موقعیت	موتاسیون	اندازه محصول PCR	آنزیم محدود کننده	الگوی هضم	
-۲۳۸	G→A	۲۳۹ bp	Bgl II	A (۲۱۶،۲۳ bp)	G (۲۳۹ bp)
-۲۴۴	G→A	۲۳۹ bp	Bsaj I	A (۲۳۹)	G (۱۶۹،۷۸ bp)
-۳۰۸	G→A	۱۰۷ bp	Nco I	A (۱۰۷ bp)	G (۸۷،۲۰ bp)
-۸۵۷	C→T	۱۲۷ bp	Tai I	T (۱۲۷ bp)	C (۱۰۹،۱۸ bp)
-۸۶۳	C→A	۱۲۶ bp	Tai I	A (۱۰۵،۲۱ bp)	C (۱۲۶ bp)

جدول ۳: توزیع فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف بین دو گروه بیمار و کنترل

پلی مرفیسم	آلل	مورد		شاهد		ژنوتیپ	مورد		شاهد		P-value
		درصد	N	درصد	N		درصد	۵۶	درصد	N	
TNF-238	G	۹۶/۷	۱۱۶	۹۷/۵	۱۱۷	GG	۹۳/۳	۴	۹۵	۵۷	
	A	۳/۳	۴	۲/۵	۳	GA	۶/۷		۵	۳	۰/۲۸۴
						AA	۰	۱۰۰	۰	۰	
TNF-244	G	۱۰۰	۱۲۰	۱۰۰	۱۲۰	GG	۱۰۰	۰	۱۰۰	۶۰	
	A	۰	-	۰	-	GA	۰	۰	۰	۰	-
						AA	۰	۴۵	۰	۰	
TNF-308	G	۸۷/۵	۱۰۵	۹۵/۸	۱۱۵	GG	۷۵	۱۵	۹۱/۶	۵۵	
	A	۱۲/۵	۱۵	۴/۲	۵	GA	۲۵	۰	۸/۴	۵	۰/۰۲۳
						AA	۰	۳۵	۰	۰	
TNF-857	C	۷۵/۷	۹۱	۹۶/۷	۱۱۶	CC	۵۸/۳	۲۱	۷۵	۴۵	
	T	۲۴/۳	۲۹	۳/۳	۴	CT	۳۵	۴	۱۵	۱۵	۰/۰۰۰
						TT	۶/۷	۴۵	۰	۰	
TNF-863	C	۸۶/۶	۱۰۴	۸۴/۲	۱۰۱	CC	۷۵	۱۴	۶۸/۳	۴۱	
	A	۱۳/۴	۱۶	۱۵/۸	۱۹	CA	۲۴/۴	۱	۳۱/۷	۱۹	۰/۶۶۱
						AA	۰/۶	AA	۰	۰	

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون‌های chi-square و فیشر انجام پذیرفت. آزمون‌ها در سطح ۵ درصد و پایین‌تر از آن معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر ۶۰ بیمار مبتلا به سل ریوی و ۶۰ فرد سالم به عنوان کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سنی در بیماران ۵۰/۰۴ سال و در گروه کنترل ۳۸/۷۵ سال بود و دو گروه از لحاظ جنسیتی یکسان شده بودند. مقایسه‌ی توزیع فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف بین دو گروه بیمار و کنترل به طور خلاصه در جدول شماره ۳ قابل مشاهده است. فراوانی آلل‌های TNF_{-238A}، TNF_{-308A}، TNF -857T و TNF_{-863A} در گروه کنترل به ترتیب ۲/۵ درصد، ۴/۲ درصد، ۳/۳ درصد و ۱۵/۸ درصد و در گروه بیمار به ترتیب

Archive of SID
www.SID.ir

۳/۳، ۱۲/۵، ۲٤/۳ و۱۳/٤ درصد بود، در ناحیه‌ی TNF_{-244} هیچ تغییری مشاهده نشد. مقایسه‌ی ژنوتیپ گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری را در دو ناحیه TNF_{-308} و TNF_{-857} نشان داد و در نواحی TNF_{-238}، TNF_{-244} و TNF_{-863} هیچ ارتباط معنی‌داری بدست نیامد. فراوانی ژنوتیپ G/G در ناحیه ۳۰۸- در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۹۱/۶ درصد و ۷۵ درصد بدست آمد و فراوانی ژنوتیپ T/C در ناحیه‌ی ۸۵۷- در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۱۵ درصد و ۳۵ درصد بود و ژنوتیپ T/T فراوانی ۶/۷ درصد را در گروه بیماران از خود نشان داد در حالی که در گروه کنترل، موردی مشاهده نگردید. همچنین توزیع آلل‌های نواحی ۲۳۸-، ۳۰۸-، ۸۵۷- و ۸٦۳- در جمعیت سالم به خوبی با تست هاردی – وینبرگ منطبق بودند.

بحث

تعداد زیادی پلی‌مرفیسم تک نوکلئوتیدی در درون و اطراف ژن TNF-α شناسایی شده است ولی عمده پلی‌مرفیسم‌های تاثیرگذار بر بیان ژن TNF-α آنهایی هستند که در ناحیه پروموتر ژن قرار دارند (۱۶، ۱۳). در سال‌های اخیر ارتباط بین این نواحی و بسیاری از بیماری‌ها از جمله طیف وسیعی از بیماری‌های عفونی، بیماری‌های اتوایمن و برخی سرطان‌های شایع مورد بررسی قرار گرفته و در مواردی ارتباطاتی در زمینه‌ی شدت بیماری، و حساسیت یا مقاومت در برابر بیماری به اثبات رسیده است و افق‌های جدیدی را در زمینه‌ی شناسایی افراد پر خطر جامعه و استراتژی‌های جدید درمانی، روشن ساخته است (۱۹– ۱۷). پژوهش‌های قبلی انجام گرفته در زمینه‌ی ارتباط پلی‌مرفیسم TNF-α و TB محدود بوده، همچنین اکثر مطالعات انجام شده بر روی دو ناحیه‌ی ۳۰۸- و ۲۳۸- متمرکز بودند، نتایج بدست آمده نیز تا حدودی متفاوت بوده‌اند. طی مطالعه‌ای که در سیسیل انجام شد، اسکولا و همکارانش به این نتیجه رسیدند که آلل $TNF_{-308G/G}$ دارای نقش محافظتی در برابر TB است (۲۰). در مطالعه‌ی دیگری که در آرژانتین انجام شد فراوانی آلل $TNF_{-308A/A}$ در بیماران مبتلا به سل گزارش گردید (۲۱). همچنین در برخی از مطالعات نیز حضور آلل TNF_{-238A} به عنوان مارکری برای حساسیت به TB مطرح شد (۲۱،۲۲). در چندین پژوهش نیز ارتباطی بین پلی مرفیسم‌های ژن TNF-α و بیماری سل مشاهده نگردید (۲۸–۲۳). در این مطالعه تفاوت معنی‌داری در نواحی ۳۰۸- و ۸۵۷- بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده شد و آلل‌های TNF_{-308A} و TNF_{-857T} فراوانی بیشتری را در بین مبتلایان به سل دارا بودند که می‌تواند به عنوان عامل مستعدکننده فرد میزبان در ابتلای به بیماری سل مطرح شوند، همچنین ارتباط معنی‌داری در نواحی TNF_{-238}، TNF_{-244} و TNF_{-863} بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده نشد، که این یافته ها با برخی مطالعات هم‌خوانی دارد (۲۰،۲۱) و با برخی دیگر متناقض است (۶،۲۲). این تفاوت‌ها در نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف ممکن است با تفاوت‌های نژادی جمعیت‌های مختلف نیز مرتبط باشد به طوری که نتایج بررسی‌ها نشان داده است که پراکندگی این آلل ها در بین افراد سالم در جمعیت های مختلف نژادی، تا حدودی متفاوت می‌باشد (۳۳–۲۹). در این بررسی نواحی ۸۵۷- و ۸۶۳- تنوع آللی بالایی را در سطح جمعیتی نشان دادند که تاکنون مورد توجه نبوده‌اند.

در مجموع انجام مطالعاتی از این دست با تعداد نمونه‌های بیشتر می‌تواند به یک نتیجه‌گیری قاطع و قابل اتکایی در زمینه‌ی ارتباط پلی‌مرفیسم‌های TNF-α و بیماری سل ریوی منجر گردد و در کنار فاکتورهای گوناگون دیگری مانند VDR (Vitamin D Receptor)، NRAMP1 (Natural Resistance-Associated Macrophage Protein-1) به معرفی یک مارکر ژنتیکی برای شناسایی افراد با ریسک بالای ابتلا (high Risk) کمک کند.

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه‌گیری

وجود آلل‌های TNF-308A و TNF -857T احتمالا می‌تواند حساسیت افراد را در برابر عفونت مایکوباکتریوم افزایش دهد. با توجه به تنوع آللی نواحی ۸۵۷- و ۸۶۳- در سطح جمعیتی، ضرورت بررسی گسترده‌تر این مناطق احساس می‌شود.

منابع

1- WHO: World Health Organization Tuberculosis Fact Sheet. 2007. Available from: URL: http:// www.who. int.

2- Bhatt K, Salgame P. Host innate immune response to Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Immunol*. 2007; 27: 347-62.

3- Oh JH, Yang CS, Noh YK, et al. Polymorphisms of interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha genes are associated with newly diagnosed and recurrent pulmonary tuberculosis. *Respirology*. 2007; 12: 594-8.

4- Stead WW. Pathogenesis of a first episode of chronic pulmonary tuberculosis in man: recrudescence of residuals of the primary infection or exogenous reinfection? *Am Rev Respir Dis*. 1967; 95: 729-45.

5- Abul KA, Andrew H. Cellular and Molecular Immunology: Elsevier; 2007.

6- Bikmaeva AR, Sibiriak SV, Valiakhmetova DKH, Khusnutdinova EK. Polymorphism of the tumor necrosis factor alpha gene in patients with infiltrative tuberculosis and from the Bashkorstan populations. *Mol Biol*. 2002; 36: 784-7.

7- Jung SB, Yang CS, Lee JS, et al. The mycobacterial 38-kilodalton glycolipoprotein antigen activates the mitogen-activated protein kinase pathway and release of proinflammatory cytokines through Toll-like receptors 2 and 4 in human monocytes. *Infect Immun*. 2006; 74: 2686-96.

8- Giacomini E, Iona E, Ferroni L, et al. Infection of human macrophages and dendritic cells with Mycobacterium tuberculosis induces a differential cytokine gene expression that modulates T cell response. *J Immunol*. 2001; 166: 7033-41.

9- Berner MD, Sura ME, Alves BN, Hunter KW, Jr. IFN-gamma primes macrophages for enhanced TNF-alpha expression in response to stimulatory and non-stimulatory amounts of microparticulate beta-glucan. *Immunol Lett*. 2005; 98: 115-22.

10- Van Crevel R, Ottenhoff TH, van der Meer JW. Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15: 294-309.

11- Jepson A, Fowler A, Banya W, et al. Genetic regulation of acquired immune responses to antigens of Mycobacterium tuberculosis: a study of twins in West Africa. *Infect Immun* 2001; 69: 3989-94.

12- Aguillón JC, Cruzat A, Aravena O, Salazar L, Llanos C, Cuchacovich M. Could single-nucleotide polymorphisms (SNPs) affecting the tumour necrosis factor promoter be considered as

www.SID.ir

part of rheumatoid arthritis evolution? *Immunobiology*. 2006; 211: 75-84.

13- Bayley JP, Ottenhoff TH, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun.* 2004; 5: 315-329.

14- LeVan TD, Bloom JW, Bailey TJ, et al. A common single nucleotide polymorphism in the CD14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *J Immunol.* 2001; 167: 5838-44.

15- Sambrook J, Russell DW, Molecular Cloning: A Laboratory Manual; CSHL Press, 2001.

16- Abraham LJ, Kroeger KM. Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease. *J Leukoc Biol.* 1999; 66: 562-6.

17- Hollegaard MV, Bidwell JL. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3. *Genes Immun.* 2006; 7: 269-76.

18- Haukim N, Bidwell JL, Smith AJ, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 2. *Genes Immun* 2002; 3: 313-30.

19- Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 1. *Genes Immun.* 2001; 2: 61-70.

20- Scola L, Crivello A, Marino V, et al. IL-10 and TNF-alpha polymorphisms in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis: implication for ageing and life span expectancy. *Mech Ageing Dev.* 2003; 124: 569-72.

21- Newport MJ, Nejentsev S. Genetics of susceptibility to tuberculosis in humans. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2004; 61: 102-11.

22- Correa PA, Gomez LM, Anaya JM. Polymorphism of TNF-alpha in autoimmunity and tuberculosis. *Biomedica.* 2004; 24: 43-51.

23- Selvaraj P, Sriram U, Mathan Kurian S, Reetha AM, Narayanan PR. Tumour necrosis factor alpha (-238 and -308) and beta gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis: haplotype analysis with HLA-A, B and DR genes. *Tuberculosis.* 2001; 81: 335-41.

24- Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis.* 2002; 186: 1463-8.

25- Amirzargar AA, Rezaei N, Jabbari H, Danesh AA, Khosravi F, Hajabdolbaghi M, et al. Cytokine single nucleotide polymorphisms in Iranian patients with pulmonary tuberculosis. *Eur Cytokine Netw.* 2006; 17: 84-9.

26- Goldfeld AE. Genetic susceptibility to pulmonary tuberculosis in Cambodia. *Tuberculosis.* 2004: 84: 76-81.

27- Oral HB, Budak F, Uzaslan EK, et al. Interleukin-10 (IL-10) gene polymorphism as a potential host susceptibility factor in tuberculosis. *Cytokine* 2006; 35: 143-7.

28- Vejbaesya S, Chierakul N, Luangtrakool P, Sermduangprateep C. NRAMP1 and TNF-alpha

www.SID.ir

polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in Thais. *Respirology*. 2007; 12: 202-6.

29- Javor J, Bucova M, Ferencik S, Grosse-wilde H, BUC M. Single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in the healthy Slovak population. *Int J Immunogenet*. 2007; 34: 273-80.

30- Uboldidecapei M, Dametto E, Fasano ME, Rendine S. Genotyping of cytokine polymorphisms: allele frequencies in the Italian population. *Eur J Immunogenet*. 2003; 30: 5-10.

31- Bagheri M, Abdi-Rad I, Omrani D, Khalkhali HR. Heterogeneity of cytokine single-nucleotide polymorphisms among the Iranian and in the other East-South Asian population. *Transfusion Med.* 2006; 16: 192-9.

32- ParkK S, Kim MY, Mok JW. NcoI restriction fragment length polymorphism at -308 of the tumor necrosis factor alpha (TNFA) promoter region in Korean. *JPN J Hum Genet*. 1997; 42: 241-7.

33- Trejaut JA, Tasi ZU, Lee HL, Chen ZX, Lin M. cytokine gene polymorphisms in Taiwan. *Tissue Antigenes*. 2004; 64: 492-9.

Archive of SID

www.SID.ir

Relationship between TNF-α Gene Polymorphisms and Susceptibility to Pulmonary Tuberculosis

Anoosheh S[1], Farnia P[1], Kargar M[2], Kazem poor M[1], Seif S[1], Noroozi J[3], Masjedi M[4], Velayati A[4]

[1]Mycobacteriology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[2]Dept. of Microbiology, Azad University of Jahrom, Jahrom, Iran

[3]Dept. of Microbiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[4]National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Corresponding Author: Anoosheh S, Mycobacteriology Research Center, Tehran, Iran.

E-mail: saberanoosheh@gmail.com

Received: 3 Dec 2008 **Accepted:** 28 Jun 2009

***Background and Objective*:** Tuberculosis (TB) caused by Mycobacterium tuberculosis, is an infectious disease in human which kills nearly three millions of people annually. Approximately, one - third of the world populations are infected with this bacteria and 5 - 10 % of them develop the active form of the disease. Individuals are different in susceptibility to TB infection. These differences might be due to the host characteristics especially genetic factors. TNF-α as a pro-inflammatory cytokine, play a key role in host defense against tuberculosis. Presence of mutation in this gene can influence the effectiveness, performance and capability of immune responses against TB infection. The Aim of this study was to investigate the frequency of TNF-α gene polymorphisms and its relation with susceptibility to the pulmonary TB.

***Materials and Methods*:** Sixty healthy controls and 60 TB patients were enrolled. Genotype of TNF_{-238}, TNF_{-244}, TNF_{-308}, TNF_{-857} and TNF_{-863} were determined using PCR-RFLP method. The results were analyzed by Fisher Exact and χ^2 tests using SPSS v.14 and evaluated with Hardy–Weinberg equilibrium.

***Results*:** The results of this study showed a significant difference in TNF_{-308} and TNF_{-857} regions between the control and study groups ($P < 0.05$).

***Conclusion*:** Presence of mutation in TNF_{-308} and TNF_{-857} regions may increase the host susceptibility to mycobacterium tuberculosis and genotyping of these regions can be used for screening of the high risk individuals.

Key words: Pulmonary Tuberculosis, Polymorphism, TNF- α

Archive of SID

www.SID.ir