

## Association of GADD45A Gene Polymorphism with Systemic Lupus Erythematosus Disease among Patients in South of Iran

Shekoofeh Rahimi<sup>1</sup>, Mahboobeh Nasiri<sup>2\*</sup>, Saeideh Arian Nia<sup>3</sup>, Reza Farrokh Seresht<sup>4</sup>

1.MSc in Genetics, Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

2.Assistant Professor, Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

3.MD in Rheumatology, Department of Rheumatology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4.MD in Rheumatology, Department of Rheumatology, Hormozgan University of Medical Sciences, Hormozgan, Iran

Received: 12 Jul 2016, Accepted: 21 Aug 2016

### Abstract

**Background:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease with broad clinical manifestations, but unclear etiology. Extensive tissue damage occurs due to the production of auto-antibody against nuclear and cytoplasmic antigens. Regarding the involvement of GADD45A gene in cell cycle control, T-cell proliferation suppression, and genome epigenetic regulation, this case-control study was done for the first time to evaluate the association of rs581000 polymorphism in 5' near gene with the risk of SLE among patients in south of Iran.

**Materials and Methods:** This study was performed on 102 patients with SLE in comparison with 118 healthy controls. Genotyping of the GADD45A rs581000 polymorphism was performed using T-ARMS PCR.

**Results:** The T allele was significantly more frequent in the controls (0.13) than in the patients (0.01) with SLE ( $p<0.001$ ). The frequency of genotypes carrying at least one C allele (CC+CG) was higher in control group (14.4%) compared to patient group (1%), and this allele showed protective effect against the risk of SLE ( $p<0.001$ , CI: 0.009-0.5, OR=0.06)

**Conclusion:** It seems that GADD45A rs581000 polymorphism involved in the SLE pathogenesis.

**Keywords:** GADD45A, Iran, Polymorphism, Systemic lupus erythematosus

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

Email: nasiri@iaua.ac.ir

## ارتباط پلی مورفیسم ژن GADD45A با بیماری لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس در بیماران جنوب ایران

شکوفه رحیمی<sup>۱</sup>، محبوبه نصیری<sup>۲\*</sup>، سعیده آریان‌نیا<sup>۳</sup>، رضا فرخ سرشت<sup>۴</sup>

۱. کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۳. فوق تخصص روماتولوژی، گروه روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴. فوق تخصص روماتولوژی، گروه روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، هرمزگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۳۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس (SLE) یک بیماری خود ایمن با تظاهرات بالینی وسیع و اتیولوژی نامشخص است. تخریب بافتی در بیماران ناشی از تولید اتوانتی‌بادی برعلیه آنتی ژن‌های هسته و سیتوپلاسم، در سطح وسیع رخ می‌دهد. با توجه به نقش ژن GADD45A در کنترل چرخه سلولی، سرکوب تکثیر سلول‌های T و تنظیم اپی‌ژنتیکی ژنوم، این مطالعه مورد-شاهدی برای اولین بار به بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs581000 در منطقه کد نزدیک ژن و ریسک بروز SLE در بیماران جنوب ایران پرداخته است.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه حاضر بر روی ۱۰۲ فرد مبتلا به SLE در مقایسه با ۱۱۸ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد. ژنوتیپ‌های ژن GADD45A در موقعیت پلی مورفیسم rs581000 با روش T-ARMS PCR تعیین گردید.

**یافته‌ها:** آلل C در گروه کنترل (۰/۱۳) نسبت به گروه بیمار (۰/۰۱) به طور معنی‌داری شایع‌تر بود ( $p < 0/001$ ). فراوانی ژنوتیپ‌های حامل حداقل یک آلل C (CC+CG) در گروه کنترل (۱۴/۴ درصد) در مقایسه با گروه بیمار (۱ درصد) بسیار بالاتر بود و این آلل یک اثر حفاظتی را در برابر ریسک بروز SLE ( $p < 0/001$ )، فاصله اطمینان = ۰/۵ - ۰/۰۹، نسبت شانس = ۰/۰۶ نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد پلی مورفیسم rs581000 ژن GADD45A در پاتوژنز بیماری SLE نقش دارد.

**واژگان کلیدی:** ایران، پلی مورفیسم، لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس، GADD45A

\*نویسنده مسئول: ایران، ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، گروه زیست‌شناسی

Email: nasiri@iaua.ac.ir

## مقدمه

بیماری لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس یک اختلال خود ایمنی چند سیستمی با طیف وسیعی از تظاهرات بالینی می باشد که تقریباً تمام بافت ها و اندام های بدن از جمله مفاصل، پوست و غشای موکوزی، سلول های خونی، مغز و کلیه ها را درگیر می نماید (۱، ۲). بیشترین شیوع بیماری در سنین ۴۰-۲۰ سالگی است و نسبت ابتلای زنان به مردان ۹ به ۱ می باشد (۳). تجمع خانوادگی و ضریب انطباق بالاتر در دو قلوهای تک تخمکی در مقایسه با دو قلوهای دو تخمکی، ماهیت چند عاملی بیماری لوپوس را منعکس می کنند (۴، ۵). نقش نور خورشید و جنس مؤنث به عنوان دو عامل غیر ژنتیکی در بروز بیماری در مطالعات زیادی مورد توجه قرار گرفته است، اما ژنتیک بیماری هنوز ناشناخته می باشد (۶، ۷). مشکل عمده در بیماری لوپوس تولید مقادیر بسیار زیاد اتوآنتی بادی بر علیه آنتی ژن های خودی در هسته و سیتوپلاسم است (۸). بر اساس مطالعات آنالیز پیوستگی کل ژنوم (GWAS)، تغییرات اپی ژنتیک ژنوم، به علاوه مجموعه ای از سلول ها و مولکول ها که در آپوپتوز، پاسخ های ایمنی ذاتی و اکتسابی نقش دارند، محتمل ترین علل پاتولوژیک برای SLE می باشند (۹، ۱۰).

ژن Growth arrest and GADD45A (DNA damage- inducible gene GADD45 (DNA DDIT1 alpha; NC\_000001.11) که با نام damage- inducible transcript) نیز مشخص می شود، دارای بیان بالا در قلب، ماهیچه اسکلتی و کلیه ها می باشد و عضوی از خانواده ژن GADD45 است که در موقعیت سیتوژنتیکی 1p31.1 قرار گرفته است (۱۱). این ژن در تمام گونه ها به شدت محافظت شده است و تولید یک محصول پروتئینی با ۱۶۵ اسید آمینه می کند (۱۲). پروتئین های این خانواده ژنی عمدتاً در هسته سلول قرار دارند و در تحریک مسیر ترمیم DNA، مهار ورود سلول ها به فاز S در نهایت آپوپتوز نقش دارند (۱۳). به طور اختصاصی، GADD45A در پایداری ژنومی، ترمیم DNA، مهار رشد سلول و دمتیلاسیون DNA فعالیت دارد (۱۴). از آنجایی که تغییر

الگوی بیان این ژن در بیماران مبتلا به SLE در مطالعات GWAS تأیید شده است (۱۵)، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs581000 (c.-907 G>G) ژن GADD45A در موقعیت ۵ نزدیک ژن در بیماران SLE در جنوب ایران پرداخته شد.

## مواد و روش ها

## جمعیت مورد مطالعه

در مطالعه مورد- شاهدی گذشته نگر (retrospective case-control) حاضر، ۲۲۰ نمونه شامل؛ ۱۰۲ فرد مبتلا به لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس (SLE) با دامنه سنی ۵۰-۱۳ سال و میانگین سنی  $8/56 \pm$  (۳۲/۳۶ و ۱۱۸ فرد سالم با میانگین سنی  $9/46 \pm$  که از نظر سن، جنس و قومیت همسان سازی شده بودند، شرکت داده شدند. تشخیص بیماری بر اساس معیارهای کالج روماتولوژی آمریکا (ACR) و توسط متخصصین روماتولوژی در بیمارستان خاتم الانبیاء بندرعباس انجام گرفت. پس از تکمیل فرم رضایت نامه شرکت آگاهانه در تحقیق زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی ارسنجان، ۵ سی سی نمونه خون محیطی از کلیه افراد گرفته شد و نمونه های ریخته شده در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA تا شروع مراحل کار آزمایشگاهی در فریزر ۲۰- درجه نگهداری شدند. به منظور تکمیل پرسش نامه حضوری تمام افراد به طور حضوری مصاحبه شدند و اطلاعاتی مانند سن، جنس، قومیت، سابقه خانوادگی برای لوپوس و سایر بیماری های خود ایمن، نوع شغل ثبت گردید. جهت بررسی تأثیر نور خورشید بر روی ریسک بروز بیماری، افراد بر اساس نوع شغل به دو گروه تقسیم شدند؛ افراد دارای مشاغل در معرض نور خورشید (کشاورزان، مأموران پلیس، رانندگان، ...) و افراد دارای مشاغل با برخورد کم (معلمین، زنان خانه دار و ...).

## بررسی ژنوتیپ

در این مطالعه DNA ژنومی با روش استاندارد نمک اشباع استخراج گردید (۱۶). تعیین ژنوتیپ نمونه ها برای جایگاه مارکر پلی مورفیسم rs581000 ژن GADD45A

داخلی (IF, IR) و ۶/۲۵ میکرولیتر Master mix (شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران) انجام شد. شرایط دمایی دستگاه ترموسایکلر شامل واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل (واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۶۳ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه) بود که با یک سیکل تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه تکمیل گردید. خوانش ژنوتیپ‌ها بر اساس طول باندهای تکثیر شده روی ژل آگارز ۲ درصد و با استفاده از رنگ‌آمیزی با رنگ ایمن DNA safe stain انجام گرفت. به منظور تأیید نتایج تعیین ژنوتیپ با روش T-ARMS PCR از هر ژنوتیپ دو نمونه تعیین توالی گردید.

Tetra-primer amplification refractory mutation system (T-ARMS PCR) انجام شد. در این روش در هر واکنش PCR به طور هم زمان از چهار پرایمر استفاده می‌شود که شامل دو پرایمر خارجی غیر اختصاصی آلل هستند و تولید محصول PCR کنترل داخلی می‌کنند و یک جفت پرایمر اختصاصی آلل که هر کدام توانایی تکثیر محصول در حضور تنها یک نوع آلل را در جایگاه پلی مورفیسم دارند. توالی پرایمرهای طراحی شده برای تکثیر آلل‌های این جایگاه در جدول ۱ آورده شده است. واکنش نهایی T-ARMS PCR در حجم نهایی ۱۳ میکرولیتر، شامل ۱ میکرولیتر DNA ژنومی، ۲/۷۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۰/۵ میکرولیتر از جفت پرایمرهای خارجی (OF, OR)، ۱ میکرولیتر از جفت پرایمرهای

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکنیک T-ARMS PCR

محصولات (جفت باز)	توالی ۵' به ۳'	پرایمرها
OF-OR: 583bp	AGGCTCTCTGTGGAAGGTAACG	پرایمرهای خارجی Outer forward (OF)
OF-IR: 360bp	TCATGTCTTTTGTTTAAGGGGTGG	Outer reverse (OR)
IF-OR; 265bp	AACGGGTTGGTTTTTCTTTTATC	پرایمرهای اختصاصی Inner forward (IF; C allele)
	GCTGCAAGGGTTGGAAGGTC	Inner reverse (IR; G allele)

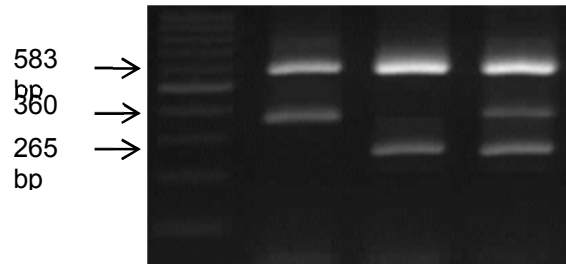
ارزیابی قرار گرفت. مقادیر p کم‌تر از ۰/۰۵ به لحاظ آماری معنی‌دار فرض شده است.

#### یافته‌ها

تصویر ژل الکتروفورز آگارز تعدادی از نمونه‌های بررسی شده در شکل ۱ نشان داده شده است. محصول PCR به طول ۵۸۳ جفت باز مربوط به پرایمرهای خارجی می‌باشد و محصولات ۲۶۵ و ۳۶۰ جفت بازی به ترتیب مربوط به آلل C و G می‌باشند (شکل ۱).

#### آنالیز آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 انجام گرفت. متغیرهای پیوسته به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار و متغیرهای طبقه‌بندی شده به صورت فراوانی (درصد) بیان شدند. برای مقایسه مقادیر ژنوتیپی مشاهده شده با مقادیر مورد انتظار به منظور بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه از آزمون مربع کای استفاده شد. فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی در هر دو گروه سالم و بیمار محاسبه شدند و سپس تأثیر هر یک از ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها روی ریسک بروز SLE با آزمون مربع کای و رگرسیون لجستیک با نسبت شانسن (OR) و فاصله اطمینال ۹۵ درصد (CI) مورد



شکل ۱. محصول حاصل از تکثیر ژنوم افراد با ژنوتیپ های مختلف با روش T-ARMS PCR. از سمت راست به ترتیب ژنوتیپ هتروزایگوت CG شامل سه محصول ۲۶۵، ۳۶۰ و ۵۸۳ جفت باز، ژنوتیپ هموزایگوت CC (۲۶۵ و ۵۸۳) و ژنوتیپ هموزایگوت GG (۳۶۰ و ۵۸۳) مشاهده می شود. چاهک اول از سمت چپ مربوط به سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی می باشد.

شد (جدول ۳). سابقه خانوادگی بیماری لوپوس به طور قابل توجهی در افراد گروه بیمار بیش تر از افراد گروه کنترل بود، به طوری که نشان داده شد وجود حداقل یک عضو مبتلا در خانواده خطر بروز لوپوس را حدود ۲/۳ برابر افزایش می دهد. تماس با نور خورشید ریسک بروز بیماری را تا حدود ۴/۸ برابر افزایش داد.

مشخصات عمومی جمعیت مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود، نسبت جنسی زن: مرد، افزایش قابل توجهی را در فراوانی بروز بیماری به سمت جنس مؤنث نشان می دهد. تأثیر فاکتورهای خطر هم چون سابقه خانوادگی مثبت برای لوپوس در خویشاوندان درجه اول و تماس با نور خورشید در ریسک بروز بیماری SLE بررسی

جدول ۲. خصوصیات عمومی جمعیت مورد مطالعه

بیمار	کنترل	خصوصیات
۱۰۲	۱۱۸	تعداد کل
۳۲/۳۶ ± ۸/۵۶	۳۲/۵۵ ± ۹/۴۶	میانگین سن ± انحراف معیار (سال)
۱۳-۵۹	۱۳-۵۹	دامنه سنی
۹۸:۴	۱۱۳:۵	نسبت جنسی زن:مرد

جدول ۳. نقش فاکتورهای سابقه خانوادگی و نور خورشید در ریسک ابتلا به SLE

بیمار (۱۰۲)		P*	کنترل (۱۱۸)		ریسک فاکتور
فاصله اطمینان	نسبت شانس		n (%)	n (%)	
سابقه خانوادگی					
۱/۲۸-۴/۴۱	۲/۳۸	۰/۰۰۶*	۳۶ (۳۵/۳)	۲۱ (۱۸/۶)	بلی
رفرنس	۱	-	۶۶ (۶۴/۷)	۹۶ (۸۱/۴)	خیر
تماس با نور خورشید					
۲/۴-۹/۵	۴/۸	<۰/۰۰۱*	۴۰ (۳۹/۲)	۱۴ (۱۱/۹)	بلی
رفرنس	۱	-	۶۲ (۶۰/۸)	۱۰۴ (۸۸/۱)	خیر

مقدار p کم تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار است.

آماري معنی دار بود و اثر محافظتی روی میزان بروز بیماری نشان داد. تحت مدل ژنتیک غالب برای آلل C نیز مشخص شد ژنوتیپ‌های حامل حداقل یک آلل C ریسک بروز بیماری را کاهش می‌دهند ( $p < 0.001$ ،  $0.5 - 0.009 =$  فاصله اطمینان،  $0.06 =$  نسبت شانس). نتیجه تعیین توالی نمونه‌ها، نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ با روش T-ARMS PCR را تأیید نمود.

### پلی مورفیسم rs581000 ژن GADD45A و SLE

فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده شده برای جایگاه پلی مورفیسم rs581000 نسبت به مقادیر مورد انتظار تعادل هاردی-واینبرگ اختلاف معنی داری نشان داد ( $p < 0.05$ ،  $1 =$  درجه آزادی). توزیع ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم rs581000 ژن GADD45A در جدول ۴ نشان داده شده است. فراوانی آلل پلی مورف C در افراد مبتلا به لوپوس  $0.13$  و در افراد گروه کنترل  $0.1$  بود که این اختلاف از نظر

جدول ۴. توزیع ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم rs581000 ژن GADD45A در دو گروه بیمار و کنترل

بیمار (۱۰۲)		کنترل (۱۱۸)		P	نسبت شانس <sup>b</sup>	فاصله اطمینان
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)			
ژنوتیپ						
GG	۱۰۱ (۹۹/۰)	۱۰۱ (۸۵/۶)				
CG	۰ (۰/۰)	۴ (۳/۴)	$0.001^a$			
CC	۱ (۱/۰)	۱۳ (۱۱/۰)				
CC+CG	۱ (۱/۰)	۱۷ (۱۴/۴)	$< 0.001$	$0.06$	$(0.009 - 0.5)$	
آلل						
G	۲۰۲ (۰/۹۹)	۲۰۶ (۰/۸۷)	-		۱	رفرنس
C	۲ (۰/۰۱)	۳۰ (۰/۱۳)	$< 0.001$	$0.07$	$0.02 - 0.32$	

<sup>a</sup>آزمون مربع کای پیرسون؛

<sup>b</sup> رگرسیون لجستیک؛

مقدار p کم تر از  $0.05$  از نظر آماری معنی دار است.

### بحث

اتوانتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های خودی با واسطه نقص در هر دو رده سلولی B و T بروز می‌کند (۹). در این بیماران به دنبال کاهش فعالیت سلول‌های T سیتوتوکسیک، خطر عفونت افزایش می‌یابد و هم‌چنین کاهش وقوع آپوپتوز در سلول‌های T خود واکنشی منجر به افزایش طول عمر این سلول‌ها و در نتیجه افزایش تولید اتوانتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های هسته و

در مطالعه حاضر ارتباط پلی مورفیسم rs581000 در ناحیه ۵ نزدیک ژن GADD45A با بیماری لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس در گروهی از بیماران جنوب کشور مورد بررسی قرار گرفته است. بیماری لوپوس SLE یک بیماری خود ایمن است که در نتیجه افزایش تولید

واریانت آلی ژن لازم است تا نقش این پلی مورفیسم روی سطح بیان ژن و در نتیجه پاتوژنز بیماری بهتر مشخص گردد. در نتیجه یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که پلی مورفیسم rs581000 ژن GADD45A با ریسک ابتلا به بیماری SLE در ارتباط است و اثر محافظتی روی ریسک بروز SLE دارد. بنابر این، می‌تواند به عنوان یک بیومارکر در تشخیص افراد مستعد SLE استفاده شود.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل نتایج بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد با عنوان "بررسی ارتباط مستقل پلی مورفیسم‌های rs581000 در ژن GADD45A و rs1151607146 در ژن TOPBP1 و خطر بروز سیستمیک لوپوس اریتماتوزیس" دانشگاه آزاد اسلامی ارسنجان می‌باشد. نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را نسبت به خانم‌ها جعفری و نوروزی در سمت کارشناس آزمایشگاه ژنتیک مولکولی ابراز می‌دارند.

### منابع

1. Mohan C, Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nature Rev Nephrol* 2015; 11: 329-341.
2. Stockl A. Complex syndromes, ambivalent diagnosis, and existential uncertainty: The case of systemic lupus erythematosus (SLE). *Soc Sci Med* 2007; 65: 1549-59.
3. Cooper G, Parks C, Treadwell E, St Clair E, Gilkeson G, Cohen PL, et al. Differences by race, sex and age in the clinical and immunologic features of recently diagnosed systemic lupus erythematosus patients in the southeastern United States. *Lupus* 2002; 11: 161-7.
4. Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, See LC, Luo SF, Yu KH, et al. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus and Coaggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families. *JAMA Intern Med* 2015; 175: 1518-26.

سیتوپلاسم می‌شود (۱۷). ژن GADD45A به عنوان عضوی از خانواده ژنی GADD45 که نقش مهمی در ترمیم DNA و تنظیم چرخه سلولی دارد (۱۸)، یک تنظیم کننده رشد سلول‌های T نیز می‌باشد و فقدان آن منجر به ایجاد سندرم شبه لوپوس می‌شود (۱۹). مطالعات محدودی در زمینه تغییر الگوی بیان ژن GADD45A در بیماران مبتلا به SLE وجود دارد، از جمله مندل و همکاران در سال ۲۰۰۴ پروفایل بیان ژن سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس و لوپوس SLE را با روش‌های میکروآرای، الیزا و PCR کمی مقایسه کردند، در این مطالعه کاهش بیان ژن GADD45A تنها در بیماران مبتلا به SLE با هر سه روش نشان داده شد (۱۵). با توجه به این که دمتیلاسیون برخی مناطق ژنومی در افزایش خود واکنشی و تولید اتوآنتی‌بادی نقش دارد، لی و همکاران (۲۰۱۰)، و چنو و همکاران (۲۰۱۵) با در نظر گرفتن نقش GADD45A در دمتیلاسیون ژنوم سطح بیان mRNA این ژن را در سلول‌های PBMCs و سلول‌های CD4+4T پس از پرتودهی با اشعه UVB اندازه‌گیری کردند. در هر دو مطالعه افزایش بیان ژن GADD45A و کاهش الگوی متیلاسیون مشاهده شد (۲۰، ۲۱). لی و همکاران با ترانسفکت کردن سلول با RNA غیرکد کننده کوچک تداخلی توانستند ژن GADD45A را مهار و واکنش‌های علیه خود را در بیماران کاهش دهند (۲۰).

پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی متعددی در ژن کد کننده GADD45A شناسایی شده‌اند که بر اساس مرور پژوهش‌های پیشین به نظر می‌رسد تاکنون مطالعه‌ای در زمینه ارتباط آن‌ها با ریسک بروز بیماری‌های خود ایمن انجام نشده است. در مطالعه حاضر بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs581000 در بیماران SLE نشان داد که حضور آلل C ریسک بروز بیماری را کاهش می‌دهد. مکانیسم دقیق تأثیر این پلی مورفیسم در اتیولوژی SLE نامشخص می‌باشد، اما یکی از مکانیسم‌های ممکن می‌تواند مبتنی بر این فرض باشد که در حضور آلل C، بیان ژن GADD45A کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش حذف گروه‌های متیل و در نتیجه کاهش واکنش‌های علیه خود در سلول می‌باشد (۲۲). مطالعات بیش تر با اندازه نمونه بزرگ‌تر همراه با بررسی الگوی بیان دو

5. Wanstrat A, Wakeland E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. *Nature Immunol* 2001; 2: 802-9.
6. Cooper GS, Wither J, Bernatsky S, Claudio JO, Clarke A, Rioux JD, et al. Occupational and environmental exposures and risk of systemic lupus erythematosus: silica, sunlight, solvents. *Rheumatology (Oxford, England)* 2010; 49(11): 2172–2180.
7. Ding Y, He J, Guo JP, Dai YJ, Li C, Feng M, et al. Gender differences are associated with the clinical features of systemic lupus erythematosus. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125(14): 2477-81.
8. Manson JJ, and Rahman A. Systemic lupus erythematosus. *Orphanet J Rare Dis* 2006; 1: 6.
9. Scofield RH, Oates JC. The place of William Osler in the description of systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2009; 338: 409.
10. Mi X, Zeng F. Hypomethylation of interleukin-4 and-6 promoters in T cells from systemic lupus erythematosus patients. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 105-12.
11. Papathanasiou MA, Kerr N, Robbins J, McBride O, Alamo I, Barrett SF, et al. Induction by ionizing radiation of the gadd45 gene in cultured human cells: lack of mediation by protein kinase C. *Mol cell biol* 1991; 11(2): 1009-16.
12. Sifakas RA, Richardson DR. Growth arrest and DNA damage 45 alpha (GADD45A). *Int Biochem Cell Biol* 2009; 41(5): 986-989.
13. Smith ML, Chen IT, Zhan Q, Bae I, Chen CY, Gilmer TM, et al. Interaction of the p53-regulated protein Gadd45 with proliferating cell nuclear antigen. *Science* 1994; 266: 1376-80.
14. Kearsy JM, Coates PJ, Prescott AR, Warbrick E, Hall PA. Gadd45 is a nuclear cell cycle regulated protein which interacts with p21Cip1. *Oncogene* 1995; 11: 1675-83.
15. Mandel M, Gurevich M, Pauzner R, Kaminski N, Achiron A. Autoimmunity gene expression portrait: specific signature that intersects or differentiates between multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Clin Experiment Immunol* 2004; 138: 164-70.
16. Longmire JL, Albright KL, Lewis AK, Meincke LJ, Hildebrand CE. A rapid and simple method for the isolation of high molecular weight cellular and chromosome-specific DNA in solution without the use of organic solvents. *Nucleic Acids Res* 1987; 15(2): 859–859.
17. Crispín JC, Liossis S-NC, Kis-Toth K, Lieberman LA, Kyttaris VC, Juang YT, et al. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends Mol Med* 2010; 16: 47-57.
18. Tran H, Brunet A, Grenier JM, Datta SR, Fornace AJ, DiStefano PS, et al. DNA repair pathway stimulated by the forkhead transcription factor FOXO3a through the Gadd45 protein. *Science* 2002; 296: 530-4.
19. Salvador JM, Hollander MC, Nguyen AT, Kopp JB, Barisoni L, Moore JK, et al. Mice lacking the p53-effector gene Gadd45a develop a lupus-like syndrome. *Immunity* 2002; 16: 499-508.
20. Li Y, Zhao M, Yin H, Gao F, Wu X, Luo Y, et al. Overexpression of the Growth Arrest and DNA Damage-Induced 45α Gene Contributes to Autoimmunity by Promoting DNA Demethylation in Lupus T Cells. *Arthritis Rheum* 2010; 62(5): 1438-1447.
21. Chen H, Fan J, Shou Q, Zhang L, Ma H, Fan Y. Hypermethylation of glucocorticoid receptor gene promoter results in glucocorticoid receptor gene low expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2015; 35(8): 1335-42.
22. Barreto G, Schäfer A, Marhold J, Stach D, Swaminathan SK, Handa V, et al. Gadd45a promotes epigenetic gene activation by repair-mediated DNA demethylation. *Nature* 2007; 445: 671-5.