Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Polymorphisms of T-cell immunoglobulin Domain-1 Gene and its Association with Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma

Farzad Alizadeh Mofrad[1*], Farid Dolatshahi[2], Mostafa Kolahi[3], Sabar Aghamohammadi[1]

[1]Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University of Urmia, Iran.
[2]Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University of Damghan, Iran.
[3]Department of Biology, School of Science, Islamic Azad University of Saveh, Iran.
*Corresponding author; E-mail: Khashayarsha2500@gmail.com

Received: 16 October 2016 Accepted: 27 November 2016 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):48-54

Abstract

Background: Many immunologic and inflammatory mechanisms play a role in asthma etiology. 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. So the aim of this study was to investigate the association of the genotype and allele frequencies of the TIM-1polymorphisms with asthma and the relationships among this polymorphism to IgE levels in patients with asthma.

Methods: PCR-RFLP (Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) were used for investigating the presence of TIM-1 polymorphisms in 200 asthmatic patients and 200 healthy controls. To assess the frequency of genotypes and its relationship with serum immunoglobulin E and asthma, chi-square test was used and P<0/05 was considered significant.

Results: The genotype and allele frequency of TIM-1 polymorphisms were significantly different between the patient and controls**.** Significant association was observed between this polymorphism and the risk of asthma.

Conclusion: The 5529A>G, 416G>C and 5529A>G polymorphismS of TIM1 gene may be associated the susceptibility of asthma and also with total serum IgE levels.

Keywords: Asthma, TIM-1, Polymorphism, Serum total immunoglobulin E.

How to cite this article: Alizadeh Mofrad F, Dolatshahi F, Kolahi M, Aghamohammadi S. [Polymorphisms of T-cell immunoglobulin Domain-1 Gene and its Association with Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):48-54. Persian.

© 2018 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

پلی مورفیسم های ژن موسینی نوع یک سلول T و ارتباط آنها با سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم

فرزاد عالی زاده مفرد[۱*]، فرید دولتشاهی[۲]، مصطفی کلاهی[۳]، صابر آقا محمدی[۱]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ایران
[۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ایران
[۳]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه ، ایران
[*]نویسنده مسئول؛ ایمیل Khashayarsha2500@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۷ آذر و دی؛ ۴۰(۵):۴۸-۵۴

چکیده

زمینه: بسیاری از مکانیسم های ایمونولوژیک و التهابی نقش مهمی در ابتلا به آسم دارند. یکی از اعضای خانواده ژن رمز گذار دومن ایمنوگلوبولینی و موسینی سلول TIM-۱،T در ناحیه q31-33۵ قرار دارد. ناحیه ای که ارتباط آن با سلول های TH2 (T helpers2) و بیماری آلرژیک اثبات شده است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش ارتباط پلی مورفیسم های ژن TIM-۱ با میزان آمادگی دچار شدن به آسم و سطح ایمونوگلوبین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم بود.

روش کار: (Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) و (Polyacrylamide gelelectrophoresis, PAGE) به منظور بررسی حضور پلی مورفیسم های سکانس های ژن TIM-۱ در ۲۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۲۰۰ فرد سالم استفاده شد. از آزمون کای دو برای بررسی فراوانی ژنوتیپ افراد و رابطه آن با میزان ایمونوگلوبین E تام سرمی و بیماری آسم استفاده گردید. P<۰/۰۵ معنی دار محسوب شد.

یافته‌ها: فراوانی پلی مورفیسم های ژن TIM-۱ میان دو گروه مبتلا به آسم و کنترل متفاوت بود و ارتباط معنی داری میان این پلی مورفیسم ها و خطر - ابتلا به بیماری آسم دیده شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما در این پژوهش نشان داد که پلی مورفیسم های A>G۵۵۲۹ و -G>C ,-5529A>G۴۱۶ ژن TIM-۱ با بیماری آسم و همچنین این پلی مورفیسم ها با سطح ایمونوگلوبین E تام سرمی ارتباط معنی داری دارند.

کلید واژه‌ها: آسم، TIM-۱، پلی مورفیسم، ایمونوگلوبین E تام سرمی

نحوه استناد به این مقاله: عالی زاده مفرد ف ، دولتشاهی ف، کلاهی م، آقا محمدی ص. پلی مورفیسم های ژن موسینی نوع یک سلول T و ارتباط آنها با سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۴۸-۵۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز(http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

آسم یک بیماری التهابی رایج مزمن مجاری هوایی است که با افزایش انقباض پذیری عضله صاف پیرامونی، منجر به تنگی راه هوایی و علائم کلاسیک خس خس سینه می‌شود(۲،۱). این تنگ شدن به طور معمول چه با درمان یا بدون آن برگشت پذیر است. ویژگی‌های آن عبارتند از: علائم متغیر و عود کننده، انسداد برگشت پذیر جریان هوا، اسپاسم برونش. نشانه‌های رایج آن عبارتند از: خس خس، سرفه و تنگی نفس که به سه گانه آسم معروف است (۳،۴). بیماری آسم از شایع ترین بیماری های مزمن در جهان است و تعداد بیماران در سطح جهان در حدود ۳۰۰ میلیون می‌باشد و پیش بینی می شود که میزان بیماران تا سال ۲۰۲۵ به ۴۰۰ میلیون برسد (۵). میزان بیماران به آسم در ایران در حدود ۵/۵ درصد برآورد می‌شود. آمادگی ابتلا به آسم با جایگاه های ژنی از جمله کروموزوم‌های ۵،۶،۱۱،۱۲ و ۱۴ در ارتباط می باشد (۶،۷). از جمله ژن های مرتبط با بیماری آسم می‌توان به خانواده های TIM (miamod T-llec nilubolgonummi dna nicum) اشاره کرد. که نمونه‌ای از مولکول‌های نقاط وارسی ایمنی شناخته می‌شوند (۸). گلیکوپروتئین های خانواده TIM از موج پپتید، منطقه گذر غشایی، دومن موسین، دومن ایمونوگلوبین و دومن سیتوپلاسمیک تشکیل شده‌اند. این خانواده شامل هشت عضو روی کروموزوم موشی ۱۱ و سه عضو روی کروموزوم شماره ۵ در ناحیه ۵q۳۳/۲۵ می‌باشد. در پژوهش‌های گوناگونی ارتباط چندین ژن از جمله ژن موسینی نوع یک سلول T(TIM-۱ یا ۱ T-clle nilubolgonummi nicum miamod)، با بیماری آسم شناسایی شده است (۱۰،۹). این ژن بر روی لنفوسیت‌های $DCT۴^+$ تمایز یافته با سلول‌های HT۲، بروز می‌یابد و به عنوان یک محرک کمکی برای فعال‌شدن این سلول‌ها عمل کرده و نقش مهمی در تنظیم و عملکرد سلول های hT۲ و سایتو کاین های مرتبط دارد. در نتیجه نقش این ژن ها امروزه به طور گسترده و کارآمدی در بیماران به آسم مورد توجه و تاکید قرار گرفته (۱۳،۱۲،۱۱) و می‌تواند به صورت بالقوی در استراتژی های تشخیصی و درمانی نوین برای بیماران آسمی مد نظر قرار گیرد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی ارتباط پلی مورفیسمهای ۵۵۲۹G<A-، ۱۴۵۴A<G، ۴۱۶C<G-، ۵۳۶۵C>T-و ۲۳۲G<A-ژن TIM-۱ در بیماران مبتلا به آسم در جمعیت ایران می‌باشد.

روش‌کار

مطالعه از نوع مورد- شاهدی می باشد. در این پژوهش بر روی ۲۰۰ فرد مبتلا به بیماری آسم و ۲۰۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل در جمعیت ایرانی انجام شد. در افراد سالم (کنترل) تلاش شد که از نظر جنسیت و سن با گروه بیماران همخوانی داشته و هیچ گونه پیشینه خانوادگی آلرژی، رینیت آلرژیک، آسم و دیگر بیماری‌های آلرژیک را نداشته باشند. پس از کسب رضایت از افراد مورد بررسی، ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از آنها گرفته شد که ۱/۵ میلی لیتر آن با ماده ضد انعقاد EDTA (با غلظت ۰/۵ مولار) جهت استخراج AND سلولی و باقی مانده جهت گرفتن سرم برای اندازه گیری میزان سطح ایمونوگلبولین E تام مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری میزان سطح ایمونوگلبولین E تام افراد بیمار و کنترل با استفاده از روش ASILE و کیت استخراج (سیناژن) طبق دستورالعمل شرکت سازنده در هر دو گروه بیمار و کنترل انجام شد. میزان غلظت DNA استخراج شده با دستگاه اسپیکروفتومتر با جذب اشعه ماورای بنفش به طور دقیق انجام گرفت. به طوری که میزان جذب پرتوهای ماورای بنفش توسط محلول DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر (OD260/OD280) برابر با ۱/۹ بود که بیانگر خلوص مناسب DNA استخراج شده بود. برای بررسی پلی مورفیسم های مورد نظر و مشخص شدن ژنوتیپ های افراد مورد پژوهش، ابتدا قطعه‌های در بر گیرنده‌ای ناحیه رمزگذار TIM-۱ با به کارگیری آغازگرهایی که به صورت اختصاصی طراحی شده بودند، تکثیر گردیدند. در ادامه محصولات PCR از نظر وجود پلی مورفیسم‌های TIM-۱ با روش RFLP-PCR و با بهره‌گیری از آنزیم برشی Pst1(Fermentas، آمریکا) که آلل‌های پلی-مورفیسم را برش می‌دهد مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR در ۳۵ سیکل در حجم ۲۵ میکرولیتر که دارای، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای، ۳ میکرولیتر DNA، ۷ میکرولیتر H_2O و ۱۳ میکرولیتر MasterMix (Ampliqon، دانمارک) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Giagen، آلمان) به قرار زیرانجام شد: یک سیکل در ۹۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۳ دقیقه، آنیلینگ در ۱ دقیقه به مدت ۶۳ درجه سانتی‌گراد، گسترش به مدت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. پس از رویت محصولات PCR روی ژل، برای صحت تعیین ژنوتیپ ها، چند محصول به صورت تصادفی گزینش و تعیین توالی شد. نتایج تعیین توالی با تعیین ژنوتیپ به طور کامل یکسان بود. برای انجام روش RFLP نیز ۱۲ میکرو لیتر از محصولات PCR توسط یک واحد از آنزیم، بر اساس پروتکل همراه آنزیم به مدت ۹۰ دقیقه انکوباسیون و در ۳۷ درجه سانتی-گراد مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. در ادامه ۷ میکرولیتراز محصول PCR هضم شده در مدت ۱۹۰ دقیقه با ولتاژ ۷۰ بر روی ژل ۲ درصد الکتروفورز گردیدند. برای بررسی اختلاف میان توزیع ژنوتیپی در دو گروه مبتلا و کنترل، آزمون آماری کای دو مورد استفاده قرار گرفت و همچنین RO (oitar sddO) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد جهت تخمین ارتباط میان ژنوتیپ های گوناگون پلی مورفیسم‌های -۵۵۲۹G>A، ۱۴۵۴A<G-، ۴۱۶C<G- و ۲۳۲G<A- و سطح ایمونو گلبولین E تام سرم با خطر ابتلای به بیماری آسم، محاسبه گردید. برای تجزیه و تحلیل هاپلوتایپ‌ها از روش logit loglineer استفاده شد و به منظور بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌ها و بیماری آسم از آزمون Logestic-regression استفاده شد. همچنین از آزمون ANOVA برای مقایسه پلی مورفیسم‌های موجود و متغیرهای تاثیرگذار در پاتوژنز بیماری بهره برده شد. در همه محاسبات، $P<0/05$ به عنوان شاخص ارتباط معنی‌دار میان ژنوتیپ ها به بیماری آسم مد نظر قرار گرفت.

یافته‌ها

یافته‌های آزمایشگاهی در کنار داده های مربوط به دو گروه بیمار و کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است. یافته ها بیانگر عدم تفاوت

معنی‌داری میان سن (P=۰/۳۹۹) و جنس (P=۰/۳۶۲) در دو گروه (بیمار و کنترل) بود که نشان‌دهنده همسان سازی متغیرها مورد بررسی در این پژوهش می‌باشد. ولی تعداد ائوزینوفیل ها و سطح ایمونوگلبولین E در دو گروه بیمار و کنترل از لحاظ آماری به طور بسیار معنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰۰۱) که نشان‌دهنده صحت انتخاب دو گروه کنترل و بیمار بود. تعیین ژنوتیپ ها و آلل های در هر دو گروه بیمار و کنترل به طور موفقیت‌آمیزی انجام شد. فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت AA نسبت به ژنوتیپ‌های AG,GG ناحیه پلی‌مورفیسم A>G۵۵۲۹-، در دو گروه دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۰۱) و آلل A پلی‌مورفیسم A>G۵۵۲۹- دارای شیوع بیشتری نسبت به آلل G در گروه بیماران بود (P<۰/۰۱۲، OR=۰/۳۲۵). اما سایر اشکال ژنوتیپی این پلی‌مورفیسم از خود هیچ گونه اثر حفاظتی و خطر ساز در قبال این بیماری نشان ندادند (P>۰/۰۵) (جدول۱-۲). فراوانی ژنوتیپ پلی‌مورفیسم A>G۲۳۲- در دو گروه کنترل و بیمار دارای اختلاف معنی‌داری نبود (P>۰/۰۵) و همچنین تفاوت معنی‌داری در فراوانی آلل A/G ناحیه A>G۲۳۲- در دو گروه دیده نشد (p>۰/۰۵،OR=۱/۱۴۳) (جدول۱-۲). این در حالی بود که فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CC پلی مورفیسم G>C۴۱۶- در بیماران به مراتب کمتر از گروه کنترل بود و تفاوت معنی داری را نشان می‌داد (P<۰/۰۰۱). فراوانی آلل G ناحیه G>C۴۱۶- در بیماران شایع‌تر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۱۸,OR=۳.۶۵۲) (جدول۱-۲). در نتیجه آلل C ممکن است به عنوان یک عامل حفاظتی در بیماری آسم نقش ایفا کند. فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم A>G۱۴۵۴- در بیماران نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نمی داد (p>۰/۰۵). همچنین فراوانی آلل A/G ناحیه G>A ۱۴۵۴- در بیماران نیز تفاوتی با گروه کنترل نشان ندادند (p>۰/۰۵،OR=۱/۱۴۳) (جدول۱-۲). فراوانی ژنوتیپ هموزیگوتCC نسبت به ژنوتیپ های CT,TT ناحیه پلی مورفیسم C>T۵۳۶۵-، در دو گروه دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۰۱) و آلل C پلی مورفیسم C>T۵۳۶۵- دارای شیوع بیشتری از آلل T در گروه بیماران بود (P<۰/۰۱۸,OR=۳.۶۵۲) (جدول۱-۲). بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم های موجود با میزان متغیرهای آزمایشگاهی تاثیرگذار در پاتوژنز بیماری آسم (IgE و ائوزینوفیل) به طور خلاصه در جدول ۲و۳ نشان داده شده است. با توجه به یافته‌ها، میزان IgE در افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت C-۴۱۶C- برابر با ۱/۷۲±۰/۶۵۱ واحد بر میلی‌لیتر بود که بیشتر از سایر ژنوتیپ های این ناحیه بود که از لحاظ آماری معنی‌داری بود (P<۰/۰۰۱). همچنین میزان IgE در افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت C-۵۳۶۵C- برابر با ۲/۱۸۶±۰/۵۸۱ و ژنوتیپ هموزیگوت AA ۵۵۲۹- برابر ۳۸۱/۷۷±۲۳۹/۴۶ واحد بر میلی لیتر بود که ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های هموزیگوت این دو ناحیه با سطح IgE در بیماران نسبت به گروه کنترل نشان می‌داد (به ترتیب P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۱۲). از سوی دیگر ارتباط معنا داری میان ژنوتیپ‌های A>G۲۳۲- و A>G۱۴۵۴- با سطح IgE در پاتوژنز آسم پیدا نشد (P>۰/۰۵) (جدول۲و۳). در ادامه با ارزیابی هاپلوتایپ ها در بیماران و گروه کنترل، یافته‌ها بیانگر این بود که در میان تمام هاپلوتایپ‌ها موجود، هاپلوتایپ GGGCC در بیماران به آسم تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل نشان دادند (P<۰/۰۲۲,OR=۱/۸۰). ولی شیوع هاپلوتایپ هایGAGTT و GGCTT, GACCC دارای تفاوت آماری قابل توجهی نسبت به هاپلوتایپ GGGCC در بیماران نبود (P>۰/۰۵). این یافته‌ها بیانگر احتمال ارتباط میان هاپلوتایپ GGGCC با خطر ابتلا به آسم در جمعیت ایران می‌باشد (P<۰/۰۱).

جدول۱: مشخصات جمعیت مورد مطالعه

	کنترل (۲۰۰مورد)	بیمار (۲۰۰مورد)	P-value
سن (سال)	۱۱/۴۱±۹۶/۴۰	۸۹/۱۴±۱۷/۴۳	۳۹۹/۰
جنس (مرد/زن)	۱۲۰/۸۰	۶۶/۱۴۰	۳۶۲/۰
آئوزینوفیل (تعداد در میلی لیتر)	۰۵/۰ ± ۰۸۵۱/۰	۲۶/۰ ± ۲۳۶۰/۰	۰۰۱/۰
وضعیت مصرف سیگار (خیر/بلی)	۲۶۱/۳۷	۲۶۶/۳۶	۶۸۷/۰

* وجود اختلاف معنی دار

جدول۲: مقایسه فراوانی ژنوتایپ در گروه کنترل و بیمار

پلی مورفیسم	ژنوتایپ	کنترل(درصد)	بیمار(درصد)	χ^2	P-value	OR(95% CI)
G>C۱۴۵۴	GG GG+GC	۳۰(۹/۳۱) ۱۰۰(۰/۷۵)	۴۱(۸/۲۸) ۹۷(۱/۶۹)	۵۳/۶	۰۵/۰<	۱/۳۴۱(۰/۸۸-۱/۵۸۴)
G>C۴۱۶	CC GG+GC	۳۴(۹/۲۷) ۸۵(۰/۷۲)	۱۵(۵/۱۰) ۱۱۱(۸/۸۷)	۸۴۹/۱۲	۰۰۱/۰>	۸۰/۱(۲۸۵/۱-۵۲۲/۲)
A>G۲۳۲	AA GG+AG	۲۷(۴/۲۱) ۹۹(۱/۸۰)	۳۹(۰/۲۸) ۹۸(۰/۷۳)	۴۵/۱	۰۵/۰<	۴۳۰/۱(۸۱۴/۰-۵۱۲/۲)
A>G۵۵۲۹	AA AG+GG	۱۱(۱/۶) ۴۷(۴/۲۴)	۴۵(۳/۲۴) ۴۸(۰/۲۷)	۴۳/۶	۰۰۱/۰>	۹۷۶/۱(۱۶۳/۱-۳۵۸/۳)
C>T۵۳۶۵	CC CT+TT	۲/۱۸(۲/۱۰) ۵۱(۶/۲۸)	۳۹(۱/۲۱) ۵۴(۲/۲۹)	۸۶۰/۵	۰۰۱/۰>	۵۶۷/۲(۱۵۱/۱-۰۱۲/۳)

* وجود اختلاف معنی دار

جدول۳: فرکانس آلل در گروه کنترل و بیمار

پلی مورفیسم	آلل	کنترل (درصد)	بیمار (درصد)	χ^2	P-value	OR(95% CI)
G>C۱۴۵۴-	G	(۱/۳۹)۵۰ (۰/۳۱)۱۴۴	(۲/۳۹)۵۶ (۰/۴۴)۱۳۸	۹۱۰/۱	۰۵/۰<	(۴۸۵/۱-۸۸/۰)۱۴۳/۱
G>C۴۱۶-	A	(۱/۶۱) ۱۵۹ (۷/۴۰)۱۰۴	(۲/۴۶)۱۰۷ (۱/۵۶)۱۲۶	۴۸۳/۱۱	۰۰۱/۰>	(۵۲۲/۲-۲۸۵/۱)۸۰/۱
A>G۲۳۲-	G	(۵/۴۰) ۴۵ (۰/۵۴)۱۵۵	(۵/۴۰)۴۵ (۰/۵۰)۱۲۳	۴۱/۱	۰۵/۰<	(۶۹۸/۱-۸۵۵/۰)۲۰/۱
A>G۵۵۲۹-	A	(۵/۶۷)۱۷۲ (۹/۳۰)۱۱۸	(۰/۶۲)۱۸۱ (۹/۳۶)۱۵۹	۶۱۳/۸	۰۱۲/۰>	(۷۷۹/۰-۱۳۵/۰)۳۲۵/۰
C>T۵۳۶۵-	C	(۲/۵۱) ۱۴۵ (۰/۵۴)۱۵۵	(۳/۴۹)۱۵۶ (۰/۵۰)۱۲۳	۱۲۹/۳	۰۱۸/۰>	(۰۳/۱-۳۳/۱)۶۵۲/۳

* وجود اختلاف معنی دار

جدول ۴: ارتباط میان EgI در پلی مورفیسم ها در ژن TIM-1

پلی مورفیسم ژنی	ژنوتایپ/آلل	تعداد	IG-E	P-value
G>C۱۴۵۴-	G	۱۹۷	۸۸/۵۰۷±۳۴/۵۲۲	۰۵/۰<
	A	۴۰	۸۰/۲۵۷±۸۸/۴۰۰	۰۵/۰<
	AA	۹۹	۹/۱۶۲۰±۱/۷۱۱	۰۵/۰<
	AG	۲۶	۴۰/۱۶۱±۸/۶۲۱	۰۵/۰<
	GG	۷	۵۷۶۳/۱±۶/۵۳۲	۰۵/۰<
	AA	۹۰	۳۱/۱۷۶±۰۰/۴۴۰	۰۵/۰<
	AG+GG	۹۰	۲۷/۲۶۶±۱۹/۳۹۷	۰۵/۰<
G>C۴۱۶-	G	۱۳۹	۷۲/۵۶۵±۹۷/۵۳۴	۶۵/۰=
	C	۱۰۱	۹۴/۳۰۸±۰۶/۴۱۷	۰۶۷/۰=
	CC	۱۳۹	۶۵۱/۰±۷۲/۱	۰۰۱/۰>
	GG	۶۹	۱۸/۲۷۷±۸۲/۴۳۳	۰۶۳/۰=
	GC	۴۰	۱۰/۷۳۶±۱۱/۶۳۳	۰۶/۰<
	CC	۱۵	۶۵۱/۰±۷۲/۱	۰۵/۰<
	GG+GC	۱۱۵	۸۲/۴۳۳±۰۱/۴۴۹	۰۵/۰<
A>G۲۳۲-	A	۱۴۶	۱۷/۴۴۸±۵۸/۵۰۴	۰۵/۰<
	G	۱۰۱	۸۶/۵۵۱±۲۷/۴۹۷	۰۵/۰<
	AA	۳۵	۶۰/۴۵۲±۵۳/۵۷۰	۰۵/۰<
	AG	۹	۳۴/۴۴۵±۱۱/۴۴۶	۰۵/۰<
	GG	۱۴	۷۰/۸۹۷±۳۳/۷۳۰	۰۵/۰<
	AA	۳۹	۶۷۲/۰ ± ۱۱۴/۱	۰۵/۰<
	AG+GG	۸۹	۳۵/۴۹۷±۲۲/۴۶۴	۰۵/۰<
A>G۵۵۲۹-	G	۱۴۶	۵۴/۴۶۵±۳۳/۴۸۰	۰۵/۰<
	A	۱۱۸	۷۶/۵۰۶±۳۲/۵۳۹	۰۵/۰<
	AA	۳۷	۴۶/۲۳۹±۷۷/۳۸۱	۰۱۲/۰>
	AG	۷۷	۶۱۰/۰± ۲۵۸/۱	۰۵/۰<
	GG	۳۶	۱۷/۴۶۸±۵۸/۵۰۱	۰۵/۰<
	AA	۱۶	۴۶/۲۳۹±۷۷/۳۸۱	۰۱۲/۰>
	AG+GG	۱۱۱	۰۸۳/۱±۶۷۳/۱	۰۵/۰<
C>T۵۳۶۵-	C	۸۸	۶۱۰/۰ ± ۲۵۸/۱	۰۵/۰<
	T	۹۵	۶۷۲/۰ ± ۱۱۴/۱	۰۵/۰<
	CC	۱۱۳	۵۸۱/۰ ± ۱۸۶/۲	۰۰۱/۰<
	CT	۵۹	۷۳۶/۰ ± ۱۱۰/۱	۰۵/۰<
	TT	۴۷	۰۸۳/۰ ± ۶۷۳/۱	۰۵/۰<
	CC	۱۷	۶۵۱/۰±۷۲/۱	۰۵/۰<
	CT+TT	۱۲۲	۰۸۳/۱ ± ۶۷۳/۱	۰۵/۰<

بحث

بیماری آسم از جمله بیماری های چند عاملی است که عوامل محیطی و ژنتیکی در آن در استعداد آمادگی ابتلا نقش دارند (۱۳). تأثیر گذارترین عامل خطر آفرین جهت ابتلا به آسم داشتن پیشینه بیماری آتوپیک است. آسم در کسانی که دچار اگزما یا تب یونجه هستند به میزان بسیار بیشتری رخ می‌دهد (۱۴,۱۵). TIM-1 یکی از خانواده های ژنی می‌باشد که به عنوان پذیرنده ای سلولی ویروس هپاتیت A در انسان و

میمون شناخته می‌شود (۱۷،۱۶). نتایج متناقضی در بررسی‌های پژوهشگران در مورد ارتباط میان مولکولی و آمادگی ابتلا به آسم وجود دارد (۹،۱۰،۱۱،۱۳،۱۸). بنابراین این پژوهش برای ارزیابی ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن TIM-۱ در استعداد ابتلا به آسم در جمعیت ایران انجام شد. یافته‌های به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که آلل G ناحیه ۴۱۶-، آلل C ناحیه ۵۳۶۵- و آلل A ناحیه ۵۵۲۹- پلی مورفیسم‌های ژن TIM-۱ در استعداد ابتلا به آسم نقش دارند. این یافته‌ها با یافته‌های پیشین در زمینه پلی‌مورفیسم های ژن TIM-۱ با استعداد ابتلا به آسم هم راستا است که نشان‌دهنده نقش احتمالی پلی مورفیسم های این ژن با بیماری آسم درجمعیت‌های نزدیک ازدیدگاه ژنتیکی (سفید پوست) می‌باشد. Shirzade و همکاران پلی‌مورفیسم C>G۴۱۶- را در ابتلا به آسم در جمعیت ایران موثر گزارش کردند (۱۹). همچنین Mete و همکاران نیز پلی‌مورفیسم C<G۴۱۶- را در استعداد ابتلا به آسم در جمعیت ترکیه را موثر گزارش کردند (۲۰).Cheon chae و همکاران در کشور کره پلی مورفیسم C>T۵۳۶۵,-۵۵۲۹G<A – را در استعداد ابتلا به آسم موثر گزارش کردند (۲۱). از سوی دیگر در این پژوهش ارتباطی میان پلی‌مورفیسم‌های ناحیه A>G۲۳۲- و C>G۱۴۵۴- و بیماری آسم دیده نشد. یافت های Wu و همکاران در چین (۱۳) نیز عدم ارتباط میان پلی‌مورفیسم A>G۲۳۲- با بیماری آسم و همچنین Liu و همکاران نیز پلی مورفیسم های ناحیه G<A۱۴۵۴- را در جمعیت چین در استعداد به ابتلا به آسم را تاثیرگذار قلمداد نکردند که با یافته‌های ما در این پژوهش همخوانی دارد (۲۲). اما در برخی از پژوهش‌های یافته‌های خلاف این پژوهش را گزارش کرده‌اند. برای نمونه Sinaha و همکاران در سال ۲۰۱۵ در بیماران به آسم در هندوستان پلی مورفیسم های ناحیه G<A۱۴۵۴- را در ابتلا به آسم تاثیرگذار قلمداد کردند (۲۳). این یافته‌های متفاوت بیانگر ارتباط این پلی مورفیسم ها در برخی از جوامع و عدم ارتباط آن در دیگر جوامع، با خطر ابتلا به آسم است. بنابراین این یافته‌های متفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی، تاثیر عوامل محیطی، تفاوت در حجم نمونه‌ها دانست. همچنین یافته‌های ما در این پژوهش نشاندهنده نقش موثر پلی‌مورفیسم‌های T>C5365-، G>A5529- و C<G۴۱۶- با افزایش میزان IgE در بیماران می‌باشد. که به نظر می‌رسد این افزایش از راه تاثیر بر تعادل TH1/TH2 به سمت TH2 و به دنبال آن تغییر پروفایل سایتوکاینی به سمت TH2 انجام می‌باشد. همچنین عدم ارتباط میان ژنوتیپ‌های G>A۲۳۲- و G<A۱۴۵۴- با سطح IgE در افراد بیمار علاوه بر عدم تاثیرگذاری این پلی مورفیسم ها بر روی میزان IgE، می‌توان ناشی از اثر عوامل محیطی و تاثیر کم ژن TIM-۱ در تولید آنتی‌بادی یا واکنش‌های متقابل ژن‌های گوناگون عنوان کرد (۲۴،۲۵). با توجه داده‌های به دست آمده در این پژوهش و مشخص‌شدن تاثیرگذاری برخی از پلی مورفیسم های ژن TIM-1 در استعداد ابتلا به آسم، انجام پژوهش‌های مشابه به دلیل تفاوت های ژنتیکی در قومیت‌های کشور مورد نیاز است تا بتوان با مد نظر قرار دادن شیوع و فراوانی این پلی مورفیسم‌ها آنها را در درمان و تشخیص (به عنوان مارکرهای ژنتیکی) در افراد بیمار و دارای زمینه ابتلا به آسم در جمعیت ایران، مورد استفاده قرار داد.

نتیجه گیری

پژوهش حاضر نشان داد که رابطه معنی‌داری میان پلی مورفیسم‌های A>G۵۵۲۹-، A>G۵۵۲۹- و C>G۴۱۶- فرکانس ژن TIM-1 و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی با بیماری آسم در جمعیت ایران وجود دارد.

References

1. Virani Z, McGarry B, Hamm B. Are beta-blockers safe to use in patients with asthma or COPD? *ACGME* 2015; **6**(18): 2-12.
2. Harada T, Yamasaki A, Fukushima T, Hashimoto K, Takata M, Kodani M, et al. Causes of death in patients with asthma and asthma–chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome. *International Journal of COPD* 2015; **10**: 595–602. doi: 10.2147/COPD.S77491
3. Weinstein S F, Ford L B, Zhang B, Pirozzi G, Staudinger H, Robert R, et al. Effect Of Dupilumab On FEV1 And Severe Exacerbations In Patients With Uncontrolled Persistent Asthma: A Subgroup Analysis Defined According To Early-Onset And Late-Onset Asthma. *Atsjournals* 2016; **1**(193): 64-86. doi: 10.1183/1393003.congress-2017.pa3550
4. Brightling C, Chanez P, Leigh R, O'Byrne P, Korn S, She D, et al. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Thelancet* 2015; **9**(3): 692-701. doi: 10.1016/s2213-2600(15)00197-6
5. Hidarnia M, Itazari A, Mihrabs M, Pourpak Z, Moin M. The prevalence of asthma symptoms in a meta-analysis of country. *Pejouhesh Sbmu* 2007; **3**(31): 217-225. [In Persian].
6. Wu H, Romieu I, Shi M, Hancock D B, Li H, Sienra-Monge J J, et al. Evaluation of candidate genes in a genome-wide association study of childhood asthma in Mexicans. *J Allergy Clin Immunol* 2010; **125**: 321-327. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.007
7. Sonar S S, Hsu Y M, Conrad M L, Majeau G R, Kilic A, Garber E, et al. Antagonism of TIM-1blocks the development of disease in ahumanized mouse model of allergic asthma. *J Clin Invest* 2010; **120**(8): 2767-2781. doi: 10.1172/jci39543
8. Li Z, Ju Z, Frieri M. The T-cell immunoglobulin and mucin domain (Tim) gene family in asthma, allergy, and autoimmunity. *Allergy Asthma Proc* 2013; **34**(1): 21-26. doi: 10.2500/aap.2013.34.3646
9. Sadri M, Ganjalikhani Khani hakimi M, Salehi R, Ghasemi R, Rustaqi S. Prevalenc e of TIM-3 Gene Polymorphisms in Patients with Asthma and its correlation with Serum Levels of Immunoglobulin-E

of These Patients in Isfahan. *MUI* 2015; **314**(32): 2193-2201. [In Persian].

10. Lee J, Phong B, Egloff A M, Kane L P. TIM polymorphisms--genetics and function. *Genes Immun* 2011; **12**(8): 595-604. doi: 10.1038/gene.2011.75
11. Yeung M Y, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules intransplantation. *Am J Transplant* 2011; **11**(10): 2012-2019. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03727.x
12. Curtiss M L, Gorman J V, Businga T R, Traver G, Singh M, Meyerholz D K, et al. Tim-1 regulates Th2 responses in an airway hypersensitivity model. *Eur J Immunol* 2012; **42**(3): 61-65. doi: 10.1002/eji.201141581
13. 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 Investig Allergol Clin Immunol* 2009; **19**(2): 146-153. doi: 10.1159/000222677
14. Yeung M Y, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantation. *Am J Transplant* 2011; **11**(10): 2012-2019. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03727.x
15. Ohta K, Ichinose M, Nagase H. Japanese guideline for adult asthma 2014. *Allergology* 2014; **63**(3): 293-333. doi: 10.2332/allergolint.14-rai-0766
16. Iwanaga T, Tohda Y. [Bronchial asthma: progress in diagnosis and treatments. Topics: I. Basic knowledge; 3. Asthma in the elderly]. Nihon Naika Gakkai Zasshi. *Japanese* 2013; **102**(6): 1343-1351. doi: 10.2169/naika.102.1343
17. Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Feinstone S M. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus. *EMBO J* 1996; **15**(16): 82-96. doi: 10.1002/j.1460-2075.1996.tb00803.x
18. Soto-Campos JG, Plaza V, Soriano JB. Causes of death in asthma, COPD and non-respiratory hospitalized patients: a multicentric study. *BMC Pulm Med* 2013; **13**(20): 60-73. doi: 10.1186/1471-2466-13-73
19. Shirzade H, Meshkat R, Ganjalikhani-Hakemi M, Mosayebian A, Ghasemi R, Deress F, et al. Association analysis of −416G>C polymorphism of T-cell immunoglobulin and mucin domain-1 gene with asthma in Iran. *Wiley* 2015; **42**(4): 265-269. doi: 10.1111/iji.12209
20. Mete F, Ozkaya E, Aras S, Koksal V, Etlik O, Baris I. Association between gene polymorphisms in TIM1, TSLP, IL18R1 and childhood asthma in Turkish population. *PMC JOURNAL* 2014; **7**(4): 1071-1077. doi: 10.3109/02770903.2013.834503
21. Cheon Chae S, Hee Song J, Heo J, Lee Y, Kim J, Chung H. Molecular variations in the promoter and coding regions of human Tim-1 gene and their association in Koreans with asthma. *Human Immunology* 2003; **64**(12): 1177-1182. doi: 10.1016/j.humimm.2003.09.011
22. Liu Q, Shang L, Li J, Wang P, Li H, Wei C, Gong Y. A Functional Polymorphis m in the TIM-1 Gene Is Associated with Asthma in a Chinese Han Population. *Allergy Immunol* 2007; **144**: 197-202. doi: 10.1159/000103992
23. Sinaha S, singh J, Jindal S, lung K. Protective Association of TIM-1 Gene in a North Indian Population. *Indian J Med Sci* 2015; **193**(1): 31-38. doi: 10.1159/000103992
24. Rodriguez-Manzanet R, DeKruyff R, Kuchroo VK, Umetsu DT. The costimulatory role of TIM molecules. *Immunol Rev* 2009; **229**(1): 259-270. doi: 10.1111/j.1600-065x.2009.00772.x
25. Graves P E, Siroux V, Guerra S, Klimecki W T, Martinez F D. Association of atopy and eczemawith polymorphisms in T-cell immunoglobulin domain and mucin domain-IL-2-inducible Tcell kinase gene cluster in chromosome 5 q 33. *Allergy Clin Immunol* 2005; **116**(3): 650-662. doi: 10.1016/j.jaci.2005.05.004