بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های شایع ژن پذیرنده ویتامین D (VDR) با استعداد ابتلاء به سل ریوی

*دکتر نادرتاجیک I

محمد جعفری II

محمدرضا نصیری II

دکتر طاهره موسوی III

دکتر پریسا فرنیا IV

دکتر علیرضا سالک مقدم III

چکیده

زمینه و هدف: ابتلاء به بیماری سل علاوه بر مواجهه با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس (Mycobacterium tuberculosis-MTB)، تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی میزبان بوده و تنها کمتر از ۱۰٪ آلوده شدگان علائم بالینی بیماری را بروز می‌دهند. متابولیسم ویتامین D سبب فعال شدن ماکروفاژها گردیده و از تکثیر درون سلولی مایکوباکتریوم جلوگیری می‌کند. این روند می‌تواند تحت تأثیر پلی‌مورفیسم‌های شایع ژن پذیرنده ویتامین D (Vitamin D Receptor –VDR) قرار گیرد. در این مطالعه اثر تغییرات ژنتیکی VDR در ابتلاء به بیماری سل ریوی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: این مطالعه به صورت Case-control در جمعیت ایرانی انجام شده است. در این بررسی، اثر ٤ پلی‌مورفیسم شایع ژن پذیرنده ویتامین D (این پلی‌مورفیسم‌ها بر مبنای اثر آنزیم‌های محدودگری که آن‌ها را شناسایی می‌کنند، نامگذاری شده‌اند و عبارتند از: FokI (F/f)، BsmI (B/b)، TaqI (T/t) و ApaI (A/a)) در ۹٦ بیمار مبتلا به سل ریوی و ۱۲۲ فرد سالم در گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه از یک تکنیک PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction with Sequence-Specific Primers) اصلاح شده توسط آزمایشگاه ما برای تشخیص پلی‌مورفیسم‌های این ژن استفاده گردید. جهت مقایسه بین مبتلایان به سل ریوی و افراد سالم گروه کنترل، از آزمون مجذور کای (Chi-square) استفاده شد.

یافته‌ها: مشخص گردید که فراوانی اللی و ژنوتایپی نواحی پلی مورفیک ژن VDR در گروه‌های بیماران و افراد سالم اختلاف معنی‌داری با همدیگر ندارند.

نتیجه‌گیری: این نتایج اهمیت پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی VDR در ابتلاء به بیماری سل را در جمعیت ایرانی غیرمحتمل نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: ۱- سل ریوی ۲- ویتامین D ۳- پذیرنده ویتامین D ٤- پلی‌مورفیسم ژنتیکی

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۵، تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۳۰

مقدمه

سل، یکی از مشکلات بهداشتی مهم در سراسر جهان است. این بیماری توسط مایکوباکتریوم توبرکولوزیس (Mycobacterium tuberculosis-MTB) ایجاد شده و غالباً ریه‌ها را درگیر می‌کند. حدود یک سوم از جمعیت جهان به این میکروب آلوده هستند و از این تعداد سالانه ۸ میلیون نفر به بیماری سل مبتلا می‌گردند که بیش از ۲ میلیون نفرآن‌ها در اثر این بیماری می‌میرند.[۱]

در اکثر افراد یک پاسخ ایمنی مؤثر بعد از عفونت با MTB ایجاد شده که از گسترش پاتوژن جلوگیری می‌کند و کمتر از ۱۰ درصد آلوده شدگان علائم بالینی بیماری را بروز می‌دهند. در بین مبتلایان تنها تعداد کمی دارای ریسک فاکتورهای شناخته شده‌ای نظیر دیابت، سن بالا، مصرف الکل، عفونت با ویروس HIV و استفاده از داروهای کورتیکواستروییدی می‌باشند. احتمالاً ترکیبی از فاکتورهای محیطی و ژنتیکی سبب ایجاد بیماری می‌شود. تفاوت‌های نژادی موجود در ابتلاء به بیماری سل و

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه آقای محمد جعفری جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد ایمونولوژی با راهنمایی دکتر نادرتاجیک و دکتر طاهره موسوی و مشاوره دکتر پریسا فرنیا و دکتر علیرضا سالک مقدم، سال ۱۳۸۷.

I) دانشیار و متخصص ایمونولوژی، بخش ایمونولوژی پیوند و ایمونوژنتیک، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه‌های شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی– درمانی ایران، تهران، ایران (* مولف مسؤول)

II) کارشناس ارشد ایمونولوژی، بخش ایمونولوژی پیوند و ایمونوژنتیک، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی–درمانی ایران، تهران، ایران

III) استاد و متخصص ایمونولوژی، بخش ایمونولوژی پیوند و ایمونوژنتیک، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی– درمانی ایران، تهران، ایران

IV) دانشیار و متخصص میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی– درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

همچنین مطالعاتی که بر روی دوقلوهای منوزیگوت انجام شده، نشان‌دهنده نقش مؤثر فاکتورهای ژنتیکی در حساسیت به بیماری سل است.[۲]

در کنترل عفونت MTB ایمنی ذاتی نقش مهمی به عهده دارد. متعاقب ورود باسیل سل از راه تنفس به بدن، ماکروفاژهای آلوئولی از طریق پذیرنده‌های غشایی خود از جمله پذیرنده‌های شبه Toll (Tool Like Receptors-TLRs)، باکتری را شناسایی کرده و علاوه بر بلع آن با ایجاد یک پاسخ التهابی، خط مقدم دفاع علیه مایکوباکتریوم را ایجاد می‌کنند. سایتوکاین‌های تولید شده توسط ماکروفاژها سبب فراخوانی سایر سلول‌های ایمنی ذاتی شامل سلول‌های کشنده طبیعی (Natural Killer-NK) و لنفوسیت‌ها γδ T d به موضع گردیده که به نوبه خود با ترشح سایتوکاین‌های فعال‌کننده ماکروفاژ، ظرفیت نابودسازی مایکوباکتریوم توسط این سلول‌ها راافزایش می‌دهند.

شواهد اپیدمیولوژیک موید این مطلب است که در ۷۰٪ موارد، این پاسخ التهابی مبتنی بر ایمنی ذاتی به تنهایی کافی بوده و می‌تواند سبب نابودیMTB گردد؛ در بسیاری از افرادی که با مسلولین تماس مستقیم داشته‌اند، آزمایش PPD مثبت نمی‌شود که این خود بر حذف باسیل سل بدون مشارکت سلول‌های T و ایجاد خاطره ایمونولوژیک دلالت دارد.[۳]

در سایر موارد، پاسخ ایمنی ذاتی به تنهایی کافی نبوده و پس از عرضه آنی ژن‌های باکتری توسط سلول‌های دندریتی به لنفوسیت‌های T در گره‌های لنفاوی موضعی پاسخ ایمنی اکتسابی فعال می‌گردد؛ در نتیجه پس از تکثیر لنفوسیت‌های T و مهاجرت آن‌ها به ریه، تشکیل گرانولوما که یک پاسخ T_H1 می‌باشد، موجب محدود شدن عفونت خواهد شد.

پذیرنده ویتامین D (Vitamin D Receptor-VDR) که عضوی از خانواده پذیرنده‌های استروییدی است در لنفوسیت‌هایT و B فعال شده و منوسیت ها/ماکروفاژها وجود دارد و همین امر سبب شده که ویتامین D به عنوان یک تنظیم‌کننده سیستم ایمنی مطرح گردد.[۴] نقش تنظیمی این ویتامین از طریق اتصال فرم فعال آن یعنی $1,25(OH)_2D3$ به VDR انجام می‌گیرد.[۵]

ویتامین D سبب تعادل الگوی T_H1/T_H2 می‌گردد. این کار با تأثیر منفی بر سلول‌های T_H1 و یا اثر تنظیمی مثبت بر سلول‌ها T_H2 اعمال می‌شود.[۴] در حقیقت $1,25(OH)_2D3$ سبب کاهش تولید سایتوکاین‌های T_H1 شده و سنتز سایتوکاین‌های T_H2 را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر، در مطالعات آزمایشگاهی نشان داده شده که نگهداری منوسیت‌های انسان (که پذیرنده ویتامینِD دارند) در مجاورت فرم فعال ویتامین D باعث افزایش توانایی این سلول‌ها در ممانعت از رشد MTB می‌گردد.[۶]

در افراد مبتلا به سل، تولید $1,25(OH)_2D3$ توسط سلول‌های T فعال شده در محل گرانولوما و یا ویتامین D موجود در خون محیطی می‌تواند سبب افزایش توانایی ماکروفاژها در ممانعت از رشد مایکوباکتریوم گردد. به عبارت دیگر اگر فردی دچار کمبود ویتامین D باشد، به علت وجود نقص در عملکرد ماکروفاژها و منوسیت‌ها، بیشتر در معرض ابتلاء به بیماری سل است.[۷] از طرفی چون ویتامین D از طریق پذیرنده خود بر سلول‌های سیستم ایمنی اثر می‌کند، این احتمال وجود دارد که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی VDR پاسخ سلول به ویتامین D را تحت تأثیر قرار داده، از این طریق باعث حساسیت و یا مقاومت به بیماری سل گردند.

ارتباط این پلی‌مورفیسم‌ها با بیماری سل ریوی در کشورهایی نظیر تانزانیا،[۸] آفریقای جنوبی،[۹] چین[۱۰] و گامبیا[۱۱] نیز مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از انجام این پژوهش تعیین اثر پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی VDR در ابتلاء به بیماری سل ریوی در جمعیت ایرانی بود.

روش بررسی

گروه بیمار و کنترل

این مطالعه به صورت Case-control بر روی ۹۶ بیمار ایرانی مبتلا به سل ریوی که در فاصله زمانی شهریور ماه ۱۳۸۶ تا بهمن ماه همان سال، به بیمارستان مسیح دانشوری (دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) واقع در شهر تهران مراجعه کرده بودند، انجام گردید. در این مطالعه، افراد دارای بیماری دیابت، مبتلایان به ایدز و مصرف‌کننده‌های داروهای

جدول شماره ۱- پرایمرهای استفاده شده در ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR و اندازه محصولات PCR

Gene Location		Primers	Amplicon size (bp)
Exon 2	FokI F(46559145-46559162)	5'-TGGCCGCCATTGCCTCCG-3'	77
	FokI f (46559145-46559162)	5'-TGGCCGCCATTGCCTCCA-3	
	FokI C (46559204-46559221)	5'-AGCTGGCCCTGGCACTGA-3'	
Intron8	BsmI B(46526083-46526102)	5'-AGCCTGAGTACTGGGAATGT-3'	534
	BsmI b(46526083-46526102)	5'-AGCCTGAGTACTGGGAATGC-3'	
	BsmI C(46526599-46526616)	5'-GGGAGGGAGTTAGGCACC-3'	
Intron8	ApaI A(46525104-46525123)	5'-TGGGATTGAGCAGTGAGGT-3'	229
	ApaI a(46525104-46525123)	5'-TGGGATTGAGCAGTGAGGG-3'	
	ApaI C(46524894-46524912)	5'-CCTCATTGAGGCTGCGCAG-3'	
Exon 9	TaqI T(46525024-46525041)	5'-CAGGACGCCGCGCTGATT-3'	148
	TaqI t(46525024-46525041)	5'-CAGGACGCCGCGCTGATC-3'	
	TaqI C(46524894-46524912)	5'-CCTCATTGAGGCTGCGCAG-3'	

کورتیکواستروییدی و کلیه افرادی که از نژادهای غیر ایرانی بودند از گروه بیماران حذف گردیدند. همچنین ۱۲۲ فرد مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقاتی- آموزشی علوم آزمایشگاهی (دانشگاه علوم پزشکی ایران)، که سلامت آن‌ها توسط معاینات پزشکی تأیید شده بود به عنوان گروه کنترل انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

روش انجامGenotyping ژن VDR

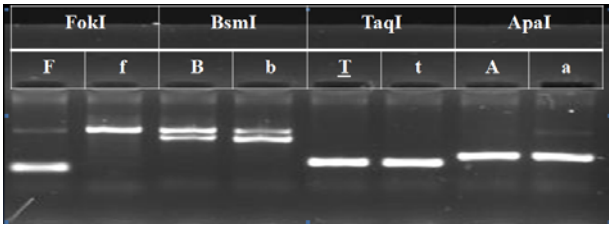
در این مطالعه پلی‌مورفیسم‌های FokI، BsmI، ApaI و TaqI که به ترتیب در اگزون ۲، اینترون ۸، اینترون ۸ و اگزون ۹ از ژن VDR قرار دارند، مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR از تکنیک PCR-SSP (Polymerase chain reaction-sequence specific primers) که قبلاً توسط Soborg و Lombard طراحی شده بود،[۸و۹] با انجام تغییراتی در پرایمرها و بهینه سازی مجدد واکنش، استفاده گردید. جدول شماره ۱ توالی پرایمرهای استفاده شده و اندازه محصولات PCR را نشان می‌دهد. به عنوان کنترل داخلی در واکنش PCR از پرایمرهای 5'TGCCAAGTGGAGCACCCAA3' و 5'GCATCTTGCTCTGTGCAGAT3' که قطعه‌ای به‌اندازه ۷۹۶ زوج باز را در اینترون ۳ ژن DRB1 تکثیر می‌کنند، استفاده شد.

به منظور تهیه DNA از هر یک از بیماران و افراد گروه کنترل، ۳ میلی‌لیتر خون گرفته شد و DNA آن‌ها به روش Salting-out استخراج گردید. واکنش PCR در حجم کل ۱۵ میکرولیتر در محیط بافری سولفات آمونیم انجام شد. این واکنش تحت شرایط غلظتی زیر در ۲ واکنش جداگانه برای بررسی هر کدام از پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR انجام گردید: مقدار DNA در هر واکنش ng ۱۰۰-۷۵، غلظت dNTPs معادل ۲۰۰ میکرومولار، غلظتMgCl2 ۱/۵ میلی‌مولار، غلظت هر کدام از پرایمرهای اختصاصی بین ۰/۵ تا ۲ میکرومولار، غلظت پرایمر کنترل ۰/۱ میکرومولار و غلظت آنزیم Taq DNA Polymerase ۰/۵ واحد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه Eppendorf (Mastercycler) و به‌ور همزمان برای تمامی پلی‌مورفیسم‌ها تحت شرایط دمایی و زمانی یکسان به ترتیب زیر انجام گردید: ۲ دقیقه در ۹۴ $^{\circ}C$ برای باز شدن اولیه زنجیره‌های DNA؛۱۰سیکلِ ۱۰ ثانیه‌ای در ۹۴ $^{\circ}C$ و ۱ دقیقه‌ای در ۶۵ $^{\circ}C$؛ ۲۰ سیکلِ ۱۰ ثانیه‌ای در ۹۴ $^{\circ}C$، ۵۰ ثانیه‌ای در۶۱ $^{\circ}C$ و ۳۰ ثانیه‌ای در ۷۲ $^{\circ}C$. بعد از انجام PCR، محصولات حاصل از واکنش در ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و پس از عکس‌برداری ژنوتایپ افراد مشخص گردید (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۲- فراوانی اللی و ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR در گروه‌های بیمار و کنترل

	FokI					BsmI					TaqI					ApaI				
	Genotype(%)			Alelle(%)		Genotype(%)			Alelle(%)		Genotype(%)			Alelle(%)		Genotype(%)			Alelle(%)	
	FF	Ff	Ff	F	f	BB	Bb	bb	B	b	TT	Tt	tt	T	t	AA	Aa	aa	A	a
Patients	٤٣	٥٢	٥	٦٩	٣١	١١	٤٤	٤٥	٣٣	٦٧	٤٠	٤٨	١٢	٦٤	٣٦	٣٥	٤٤	٢١	٥١	٤٣
Controls	٤٥	٥٠	٥	٧٠	٣٠	١٢	٤٣	٤٥	٣٤	٦٦	٤٦	٤٧	٧	٧٠	٣٠	٣٠	٤٥	٢٥	٥٢	٤٨



شکل شماره ۱- الگوی ژنوتایپینگ VDR با استفاده از تکنیک PCR-SSP در یک فرد. ژنوتایپ این فرد FF، Bb، Tt و Aa می‌باشد. محصول بزرگ‌تر (۷۹٦ زوج باز) که در پشت محصولات اختصاصی قرار دارد و در تعدادی از خانه‌ها قابل مشاهده است در اثر تکثیر قطعه‌ای از اینترون سوم ژن DRB1 حاصل می‌گردد.

بعد از انجام ژنوتایپینگ، فراوانی اللی و ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR در گروه‌های کنترل و بیمار مشخص گردید و توسط آزمون مجذور کای (نرم‌افزار SPSS V.12) مقایسه شد.

یافته‌ها

فراوانی اللی و ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR در بیماران و افراد سالم در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. با آنالیز آماری مشخص گردید که تفاوت معنی‌داری بین نتایج دو گروه بیمار و کنترل وجود ندارد.

بحث

حساسیت و یا مقاومت به بیماری سل در اثر تعامل پیچیده‌ای که بین ژنتیک میزبان و فاکتورهای محیطی وجود دارد، شکل می‌گیرد. در مطالعاتی که قبلاً انجام شده تأثیر عواملی نظیر واکسیناسیون با BCG، سابقه بیماری زمینه‌ای، مصرف الکل، وضعیت تغذیه، وضعیت اقتصادی- اجتماعی افراد، تراکم جمعیت و رعایت اصول بهداشتی، در ابتلاء به بیماری سل به اثبات رسیده است. از طرفی اهمیت ژنتیک میزبان در ابتلاء به این بیماری نیز توسط مطالعات اپیدمیولوژیک و مدل‌های حیوانی مشخص شده است. اما با این وجود شاخص‌های ژنتیکی استعداد ابتلاء به سل در بیمارانی که سیستم ایمنی آن‌ها عملکرد سالمی دارد، تا حدود زیادی ناشناخته هستند.[۱۰] اگرچه مکانیزم‌های بیولوژیکی مسیر ویتامین VDR/D به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است، ولی تعیین نقش احتمالی پلی‌مورفیسم‌های ژنی آن به بررسی بیشتری نیاز دارد. مطالعات اخیر اثرات چندگانه و ضد التهابی ویتامین D را تأیید می‌کنند. ژن‌های IL-2، GM-CSF و IFN-γ در سلول‌های T_H1، به طور مستقیم توسط ویتامین D مهار می‌شوند.[۱۲] در ضمن تحریک VDR مانع از ترشح IL-12 توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتی فعال شده می‌گردد، که کاهش تولید سلول‌های T_H1 را به همراه دارد.[۱۳] همچنین ویتامین D با مهار بیان mRNA مولکول FasL، مانع از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های آلوده توسط لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک می‌گردد.[۱٤] از طرف دیگر مشخص شده که تحریک TLRs بوسیله MTB با افزایش بیان VDR و تولید شکل فعال ویتامین D در راستای نابودسازی مایکوباکتریوم توسط

ماکروفاژهاهمراه بوده است.[۷] در واقع می‌توان گفت که این ویتامین، ایمنی اکتسابی را سرکوب و ایمنی ذاتی را تقویت می‌نماید.

استدلال‌های متعددی در ارتباط با نقش پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR در پاتوژنز بیماری سل ریوی وجود دارد. به عنوان مثال پلی‌مورفیسم TaqI در اگزون ۹، ناحیه کدکننده در این ژن را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد؛ اما الل t از این پلی‌مورفیسم به طور ضعیف با افزایش پایداری mRNA ژن VDR و افزایش غلظت سرمی ویتامین D3 در ارتباط بوده است.[۱۵]

در یک مطالعه در گامبیا ژنوتایپ tt نقش محافظتی در سل ریوی داشته،[۱۱] درحالی که در مطالعه‌ای دیگر ژنوتایپ tt سبب افزایش حساسیت زنان ساکن هند جنوبی به سل ریوی شده است.[۱۶] پلی‌مورفیسم FokI در اثر جایگزینی C به T در اولین کدون از ۲ کدون شروع‌کننده ترجمه در اگزون شماره ۲ ایجاد می‌شود. در مطالعاتی که در In vitro انجام شده ثابت گردیده است که ژنوتیپ FF سبب بیان بیشتر مولکول VDR می شود، و این موضوع توجیه قابل قبولی برای احتمال وجود ارتباط بین این پلی‌مورفیسم و بیماری سل می‌باشد.[۱۷] با این حال، در مطالعات متعدد ارتباطی بین ژنوتایپ‌های FokI و بیماری سل یافت نگردیده است[۸، ۹و۱۸] و تنها در مطالعه‌ای که در چین انجام شده ژنوتایپ ff در گروه بیماران افزایش بیشتری داشته است.[۱۰]

در مطالعه حاضر نیز مقایسه فراوانی اللی و ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌های شایع ژن VDR در گروه بیماران و افراد کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این نتایج اهمیت پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی VDR در ابتلاء به بیماری سل را در جمعیت ایرانی غیر محتمل نشان می‌دهد که می‌تواند تأییدکننده مطالعات انجام شده در تانزانیا،[۸] آفریقای جنوبی[۹] و کامبوج[۱] باشد.

در طی ۱۰ سال گذشته، مطالعاتی که در نژادهای مختلف بر روی بیماران مبتلا به سل انجام گردیده نشان می‌دهند که بین ژن‌های مستقل از مجموعه اصلی سازگاری بافتی (Major Histocompatibilty Complex-MHC) با حساسیت و یا مقاومت به بیماری سل، ارتباطات متفاوتی وجود دارد.[۱] حتی در خصوص ارتباط یک پلی مورفیسم خاص با بیماری سل در جمعیت‌های مختلف، نتایج ضد و نقیضی مشاهده می‌گردد- به عنوان مثال ژنوتیپ tt در مطالعات گامبیا و جنوب هند. تفاوت های موجود در نتایج حاصل از مطالعاتی که بر روی گروه های نژادی مختلف انجام شده، می‌تواند خود بازتابی از سهم متفاوت ژن‌ها و یا الل های مختلف در الگوی توارث چند ژنی بیماری سل باشد. همچنین، پلی‌مورفیسم‌هایی که سبب حساسیت یک جمعیت و مقاومت در جمعیت دیگر می‌شوند، احتمالاً دارای پیوستگی ترجیحی(Linkage disequilibrium) با دیگر لوکوس‌های ژنی (که هنوز اثر آن در این جمعیت‌ها مشخص نشده است) هستند.[۱۳]

در حقیقت این گونه به نظر می‌رسد که تعدادی از پلی‌مورفیسم‌های غیر مرتبط سبب افزایش استعداد ابتلاء به سل در یک جمعیت می‌شوند و اگر چه اثر هر کدام از آن‌ها به تنهایی خفیف تا متوسط است، اما هم افزایی اثرات آن‌ها می‌تواند خطر قابل توجهی ایجاد کند. پلی‌مورفیسم‌های پذیرنده ویتامین D نیز از این قاعده مستثنی نبوده و در صورت داشتن ارتباط با بیماری سل تنها در صورت تعامل با سایر ژن‌ها و پلی‌مورفیسم‌های دیگر می‌توانند سبب بروز بیماری گردند؛ لذا مطالعات بیشتری به منظور شناسایی سایر عوامل ژنتیکی حساسیت به سل مورد نیاز است.

با توجه به ظهور سویه‌های MTB مقاوم به دارو در سراسر جهان که موفقیت درمان را به شدت مورد تهدید قرار می‌دهد، انتظار می‌رود که افزایش دانش ما از ژنتیک میزبان سبب آشکار شدن نقاط تاریک بیولوژی و پاتوژنز بیماری سل گردد. به علاوه، این دانش توان ما را در شناسایی جمعیت‌های در معرض خطر افزایش داده و با ابداع راهکارهای فارماکوژنتیک می‌تواند مانع از پیشرفت

عفونت مایکوباکتریایی به بیماری فعال سل شود.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به کوچک بودن جمعیت مورد مطالعه اشاره کرد که در صورت افزایش آن ممکن بود بعضی از ژنوتایپ‌ها ارتباط معنی‌داری با بیماری سل پیدا کنند. به عنوان مثال در این مطالعه فراوانی ژنوتایپ tt در گروه کنترل (tt=7%) نسبت به گروه بیمار(tt =12%) کمتر بود و لذا اگر تعداد افراد مورد مطالعه زیادتر می‌شد، احتمالاً ژنوتایپ tt ارتباط معنی‌داری با حساسیت به بیماری سل پیدا می‌کرد. همچنین در این مطالعه غلظت سرمی ویتامین D مورد بررسی قرار نگرفت که این امر خود باید به عنوان یک عامل مؤثر در مطالعه مسیر ویتامین VDR / D مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین فراوانی ژنوتایپی و اللی چهار پلی‌مورفیسم‌های شایع ژن VDR که شامل FokI (F/f)، BsmI (B/b)، TaqI (T/t) و ApaI (A/a) هستند، با بیماری سل در جمعیت ایرانی وجود نداشت. بنابراین این مطالعه اهمیت قابل توجه پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی VDR در ابتلاء به بیماری سل را در جمعیت ایرانی غیرمحتمل نشان می‌دهد.

فهرست منابع

1- Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. Ethnic-Specific genetic association with pulmonary tuberculosis. J Infec Dis 2002; 186:1463-8.

2- Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV. Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. N Engl J Med 1998; 338: 640–44.

3- Hanekom W, Abel B, Scriba T. Immunological protection against tuberculosis. SAMJ 2007; 97: 973-977.

4- Bikle DD. Vitamin D and the immune system: role in protection against bacterial infection. Curr Opin Nephrol Hypertens 2008; 17: 348-52.

5- Roy S, Frodsham A, Saha B, Hazra SK, Mascie-Taylor CGN, Hill AVS. Association of vitamin D receptor genotype with leprosy type. J Infec Dis 1999; 179: 187-91.

6- Rook G. Vitamin D and tuberculosis. Tubercle 1986; 67: 155-158.

7- Bikle D. Vitamin D and the immune system: role in protection against bacterial infection. Curr Opin Nephrol Hypertens 2008; 17: 348-352.

8- Christian S, Aase Bengaard A, Nyagosya R, Wabyahe M, Henrik F, Pascal M, etal. Influence of candidate susceptibility genes on tuberculosis in a high endemic region. Mol Immunol 2007; 44: 2213–2220.

9- Zane L, Desiré-Lee D, Philip A, Venter Robert C, Bornman WL. Association of HLA-DR, -DQ, and vitamin D receptor alleles and haplotypes withtuberculosis in the Venda of South Africa. Hum Immunol 2006; 67: 643–654.

10- Liu W, Cao WC, Zhang CY, Tian L, Wu XM, Habbema JD, et al. VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. Int J Tuberc Lung Dis 2004; 8: 428-434.

11- Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Thursz M, Whittle HC, et al. Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene. J Infect Dis 1999; 179: 721–24.

12- Fernando S, Warwick J. Genetic susceptibility to mycobacterial disease in humans. Immunol Cell Biol 2006; 84: 125–137.

13- D'Ambrosio D, Cippitelli M, Cocciolo MG, Mazzeo D, Di Lucia P, Lang R, et al. Inhibition of IL-12 production by 1,25-dihydroxyvitamin D3:Involvement of NF-kappaB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. J Clin Invest 1998; 101: 252–62.

14- Cippitelli M, Fionda C, Di Bona D, Di Rosa F, Lupo A, Piccoli M, et al. Negative regulation of CD95 ligand gene expression by vitamin D3 in T lymphocytes. J Immunol 2002; 168: 1154–66.

15- Eisman JA. Vitamin D receptor gene variants: implications for therapy. Curr Opin Genet Dev 1996; 6: 361–65.

16- Selvaraj P, Narayanan RR, Reetha AM. Association of vitamin D receptor genotypes with the susceptibility to pulmonary tuberculosis in female patients and resistance in female contacts. Indian J Med

Res 2000; 111: 172-179.

17- Gross C, Krishnan AV, Malloy PJ, Eccleshall TR, Zhao XY, Feldman D. The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of FokI variants. J Bone Miner Res 1998; 13: 1691–1699.

18- Wilkinson RJ, Llewelyn M, Toossi Z, Patel P, Pasvol G, Lalvani A, et al. Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in west London: a case-control study. Lancet 2000; 355: 618-621.

The Study of the Association Between Vitamin D Receptor Common Genetic Polymorphisms and Susceptibility to Pulmonary Tuberculosis

***N.Tajik ,PhD[I] M. Jafari, Msc[II] M.R. Nasiri, MSc[II]**
T. Mousavi, PhD[III] P. Farnia, PhD[IV]
A. Salekmogaddam, MD, PhD[III]

Abstract

Background and Aim: In addition to exposure to Mycobacterium tuberculosis (MTB), development of tuberculosis is influenced by environmental and host genetic factors, and clinical disease only occurs in less than 10% of the infected individuals. Vitamin D metabolism leads to activation of macrophages and restricts the intracellular growth of mycobacterium. This effect may be influenced by polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene. In the present study we investigated the impact of VDR gene variation in susceptibility to pulmonary tuberculosis.

Materials and Methods: This study was a case-control analysis in an Iranian population. We evaluated four VDR gene polymorphisms [defined by the presence of restriction endonuclease sites for FokI (F/f), BsmI (B/b), TaqI (T/t), and ApaI (A/a)] in 96 patients with tuberculosis and 122 matched healthy controls. A modified polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP) technique was used to identify these polymorphisms in VDR gene simultaneously.Chi square was used for data analysis.

Results: Comparison of allele and genotype frequencies for the above VDR gene polymorphic sites revealed no significant difference between patient and control groups.

Conclusion: This data may rule out the importance of VDR gene polymorphisms in susceptibility to tuberculosis among Iranian population.

Key Words: 1) Pulmonary tuberculosis 2)Vitamin D 3)Vitamin D receptor 4)Genetic polymorphism

This article is a summary of the thesis by M. Jafari for the degree of MSc in Immunology under supervision of N. Tajik, Ph.D. and T. Mousavi, Ph.D. and consultation with P.Farnia, Ph.D. and A. Salekmogaddam, MD, Ph.D,(2008).

I) Associate Professor of Immunology, Division of Transplant Immunology and Immunogenetics, Department of Immunology,Crossing of Shaheed Hemmat and Chamran Expressways, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (Corresponding Author)*
II) MSc in Immunology, Division of Transplant Immunology and Immunogenetics, Department of Immunology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran
III) Professor of Immunology, Division of Transplant Immunology and Immunogenetics, Department of Immunology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran
IV) Associate Professor of Microbiology,Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran