ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی پذیرنده شبه Toll ۴ (TLR4) و استعداد ابتلا به سل ریوی

* دکتر نادر تاجیکI

محمدرضا نصیریII

محمد جعفریII

دکتر طاهره موسویIII

دکتر پریسا فرنیاIV

دکتر علیرضا سالک مقدمIII

دکتر مجتبی سنکیانV

چکیده

زمینه و هدف: TLR2 و TLR4 اعضایی از خانواده پذیرنده‌های شبه Toll بوده و نقش مهمی را در شناسایی و متعاقب آن پاسخ ایمنی علیه مایکوباکتری‌ها ایفا می‌کنند. ۲ پلی‌مورفیسم فونکسیونل برای ژن‌های TLR2 (Arg677Trp C→T, Arg753Gln G→A) و TLR4 (Asp299Gly A→G Thr399Ile C→T) با اثر منفی بر عملکرد آنها مرتبط بوده‌اند، از اینرو ممکن است پاسخ ایمنی ذاتی میزبان در برابر مایکوباکتری‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. هدف از این مطالعه بررسی واریانت‌های ژنتیکی TLR2 و TLR4 در جمعیتی از بیماران ایرانی مبتلا به سل ریوی و مقایسه آنها با افراد سالم بوده است.

روش بررسی: بر روی ۹۶ بیمار و ۱۲۲ فرد شاهد سالم یک مطالعه "مورد-شاهد" انجام شد. روش تعیین ژنوتایپ بر پایه یک تکنیک جدیدPCR-SSP صورت گرفت. توزیع آللی و ژنوتایپی پلی مورفیسم های مذکور توسط آزمون دقیق فیشر در گروه های بیماران و افراد کنترل مقایسه شدند.

یافته‌ها: فراوانی آلل‌های واریانت TLR4 (Gly299 وIle399) در بیماران به صورت معنی‌داری بیشتر از افراد گروه کنترل بود (P value=۰/۰۲۸، OR =۲/٦٦، ۲/۹٪ vs ۷/۳٪ : Gly299 و P value =۰/۰۲۲، OR=٥/۲٦، ۰/۸٪ vs ٤/۲٪ : Ile399). در مورد پلی‌مورفیسم Arg753Gln ژنTLR2، هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و بیمار مشاهده نشد (p>۰/۰٥ ؛ ۰٪ vs ۰/۸٪). (پلی‌مورفیسم دیگر TLR2 (Arg677Trp) نیز در هیچ کدام از موارد مورد مطالعه یافت نگردید.

نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان می‌دهند که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی TLR4 ممکن است درخطر ایجاد بیماری سل پس از مواجهه با مایکوباکتریوم مؤثر باشند. علاوه بر این فراوانی بسیار کم واریانت های ژنتیکی TLR2 نیز در جمعیت ایرانی آشکار گردید.

کلیدواژه‌ها: ۱- سل ۲- پلی‌مورفیسم ژنتیکی ۳- پذیرنده‌های شبهToll ٤- جمعیت ایرانی

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱۴ ، **تاریخ پذیرش:** ۸۷/۱۲/۲۶

مقدمه

سل (TB) به عنوان یک مشکل اساسی در بهداشت جهانی، سالیانه بیش از دو میلیون نفر را به کام مرگ می‌کشد. عفونت با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس (M.TB) عامل ایجاد سل، تقریبا در یک سوم جمعیت دنیا اتفاق افتاده ولی فقط حدود ۱۰٪ از این افراد در طول حیات خود در معرض خطر بروز TB قرار دارند.[۱] تفاوت‌های ژنتیکی افراد آلوده در عاقبت عفونت مؤثر می‌باشد. با این وجود شاخص‌های ژنتیکی استعداد ابتلا به TB، در افرادی که سیستم ایمنی آنها عملکرد سالمی دارد به مقدار زیادی نا شناخته هستند. ژن‌های دخیل در روندهای ایمونولوژیک که برای کنترل عفونت M.TB ضروری می‌باشند، به عنوان عوامل مستعد کننده بیماری محسوب می‌گردند.[۲]

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه آقای محمدرضا نصیری جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر نادر تاجیک و دکتر طاهره موسوی و مشاوره دکتر علیرضا سالک مقدم، دکتر پریسا فرنیا و دکتر مجتبی سنکیان، سال ۱۳۸۷.

I) دانشیار بخش ایمونولوژی پیوند و ایمونوژنتیک، گروه و مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسؤول)

II) کارشناسی ارشد، بخش ایمونولوژی پیوند و ایمونوژنتیک، گروه و مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

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

IV) استادیار، آزمایشگاه مایکوباکتریولوژی، بیمارستان مسیح دانشوری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

V) استادیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

ایمنی ذاتی در مقابله با مایکوباکتریوم نقش مهمی بر عهده دارد. با ورود باسیل سل از راه تنفس به بدن، ماکروفاژهای آلوئولی از طریق پذیرنده‌های غشایی مختلفی مانند پذیرنده‌های کمپلمان، پذیرنده مانوز، پذیرنده‌های پاکسازی کننده و پذیرنده‌های شبه Toll (TLRs) باکتری را شناسایی کرده و علاوه بر بلع آن با ایجاد یک پاسخ التهابی، خط مقدم دفاع علیه مایکوباکتریوم را شکل می‌دهند. TLRها خانواده‌ای از پذیرنده‌های غشایی بوده که طیف وسیعی از الگوهای میکروبی را تشخیص می‌دهند. تا کنون ۱۳ عضو در این خانواده شناسایی شده که ۱۰ عدد از آنها (TLR1-TLR10) در انسان وجود دارند. تمامی TLRهای شناخته شده دارای یک دومین خارج سلولی هستند که از توالی‌های تکراری غنی از اسید آمینه لوسین (Leucine rich repeats) تشکیل می‌شود و در عمل شناسایی لیگاند دخالت دارد. به علاوه یک دومین سیتوپلاسمی که همولوگ دومین انتقال پیام در پذیرنده اینترلوکین-۱ (IL-1R) بوده و TIR (Toll/IL-1 Receptor) نام دارد، عمل ارسال پیام به داخل سلول را انجام می‌دهد. از میان آنتی ژن‌های مایکوباکتریوم می‌توان به یک فاکتور حساس به حرارت مایکوباکتریوم که لیگاند TLR4 می‌باشد، همچنین لیپوآرابینو مانان، لیپومانان، فسفاتیدیل مایواینوزیتول مانوزید، لیپوپروتئین ۱۹ کیلودالتونی محلول LpqH، لیپوپروتئین LprG و لیپوپروتئین LprA اشاره کرد که توسط TLR2 شناسایی می‌شوند.[۸-۳] شناسایی مایکوباکتریوم توسط TLRها منجر به وقایع سیتوپلاسمی گشته که در نهایت موجب فعالیت فاکتورهای رونویسی نظیر NFκB و AP-1، و انتقال آنها به هسته و تحریک رونویسی از ژن هایی مانند ژن سایتوکاین‌های التهابی، کموکاین ها، مولکول‌های کمک تحریکی و مولکول‌های چسبندگی می‌گردد. سایتوکاین‌های تولید شده توسط ماکروفاژها سبب فراخوانی سایر سلول‌های ایمنی ذاتی شامل سلول‌های کشنده طبیعی (NK) و لنفوسیت‌های γδ T به موضع گردیده که به نوبه خود با ترشح سایتوکاین‌های فعال کننده ماکروفاژ، ظرفیت نابودسازی مایکوباکتریوم توسط این سلول‌ها را افزایش می‌دهند. شواهد اپیدمیولوژیک مؤید این نکته هستند که در ۷۰٪ موارد، پاسخ التهابی مبتنی بر ایمنی ذاتی به تنهایی کافی بوده و می‌تواند سبب نابودی M.TB گردد. در بسیاری از افرادی که با مسلولین تماس مستقیم داشته‌اند، آزمون PPD مثبت نمی‌شود که این خود بر حذف باسیل سل بدون مشارکت سلول‌های T و ایجاد خاطره ایمونولوژیک دلالت دارد.[۹] در سایر موارد، پاسخ ایمنی ذاتی به تنهایی کافی نبوده و پس از عرضه آنتی ژن‌های باکتری توسط سلول‌های دندریتی به لنفوسیت‌های T موجود در گره‌های لنفاوی موضعی، پاسخ ایمنی اکتسابی ایجاد می‌شود. در نتیجه پس از تکثیر لنفوسیت‌های T و مهاجرت آنها به ریه، فعالیت سلول‌های T_H1 و ماکروفاژها منجر به شکل گیری گرانولوما و محدود شدن عفونت می‌گردد.

پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در نواحی مختلف ژن می‌توانند بر بیان یا عملکرد مولکول مورد نظر تاثیرگذار باشند. بسیاری از این پلی‌مورفیسم‌ها در ژن‌های دخیل در پاسخ ایمنی از جمله ایمنی ذاتی شناسایی شده‌اند. تغییرات جزئی در این مولکول‌ها ممکن است تاثیر زیادی در پاسخ‌های بعدی که برای شکل گیری التهاب و یا دفاع میزبان ضروری هستند، داشته باشد. در مورد TLR2 که ژن آن بر روی بازوی بلند کروموزوم ٤ واقع شده، جایگزینی نوکلئوتید سیتوزین (C) در موقعیت ۲۱۸۰ در اگزون ۳ با تیمین (T) منجر به تبدیل اسیدآمینه آرژنین (Arg) به تریپتوفان (Trp) در کدون ٦٧٧ شده (Arg677Trp) و جایگزینی گوانین

(G) با آدنین (A) در موقعیت ۲۲۵۱ دراگزون ۳ باعث تبدیل آرژنین (Arg) به گلوتامین (Gln) در کدون ۷۵۳ (Arg753Gln) می‌گردد. از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی شایع TLR4 که ژن آن بر روی بازوی بلند کروموزوم ۹ قرار دارد، می‌توان به Asp299Gly و Thr399Ile اشاره کرد که در مورد اول نوکلئوتید آدنین (A) در موقعیت ۸۹۶ در اگزون ۳ با گوانین (G) جایگزین شده و در مورد دوم نیز نوکلئوتید سیتوزین (C) در موقعیت ۱۱۹۶ در اگزون ۳ به جای تیمین (T) قرار می‌گیرد. هدف ما در این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ذکر شده در مورد TLR2 و TLR4 با استعداد ابتلا به سل ریوی در جمعیت ایرانی بوده است.

روش بررسی

گروه‌های شاهد و بیمار

این مطالعه به صورت Case-control بر روی ۹۶ بیمار مبتلا به سل ریوی که در فاصله زمانی شهریور ماه لغایت بهمن ماه سال ۱۳۸۶، در بخش عفونی بیمارستان مسیح دانشوری (دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) شهر تهران، بستری و تحت درمان سل قرار گرفته بودند، انجام گردید. افراد +HIV، مبتلایان به دیابت و مصرف کننده‌های داروهای کورتیکواستروئیدی از جمعیت مورد مطالعه حذف شدند. تمامی بیماران ایرانی بودند و در محدوده سنی ۳۵±۵۱ سال قرار داشتند. ۵۸/۳ درصد این افراد را مردان و ۴۱/۷ در صد آنها را زنان تشکیل می‌دادند. از نظر مقاومت دارویی نمونه‌های جدا شده از بیماران، در ۸۶/۵٪ موارد، حساسیت به دارو وجود داشت و ۱۱/۵٪ نیز به دارو مقاوم بودند. تعداد ۱۲۲ نفر از مراجعین به مرکز تحقیقاتی- آموزشی علوم آزمایشگاهی (دانشگاه علوم پزشکی ایران) نیز که سلامت آنها با معاینات پزشکی تایید شده بود، به عنوان گروه کنترل انتخاب گردیدند.

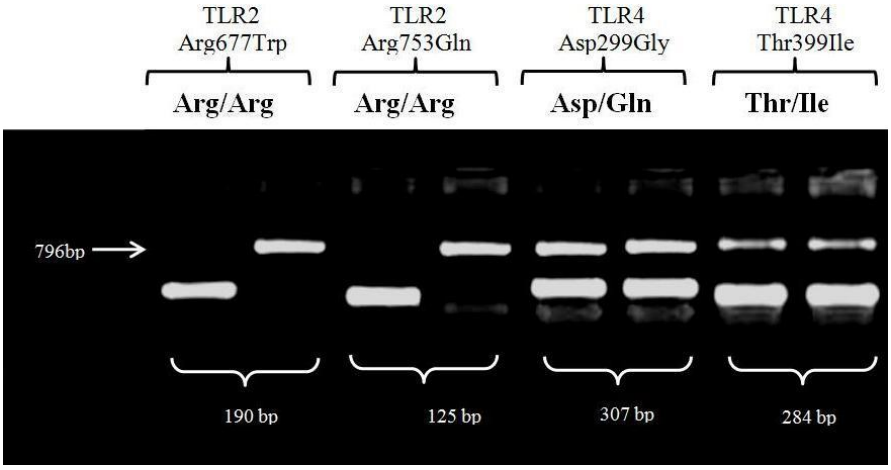
روش انجام ژنوتایپینگ

در این مطالعه، پلی‌مورفیسم‌های Arg677Trp و Arg753Gln در TLR2 و همچنین پلی‌مورفیسم‌های Asp299Gly و Thr399Ile در TLR4، با استفاده از تکنیک PCR-SSP (Polymerase chain reaction Sequence-Specific Primers) مورد بررسی قرار گرفتند. طراحی پرایمرهای مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار Primer premier 5.0 صورت گرفت. بهینه سازی واکنش PCR نیز در آزمایشگاه ایمونوژنتیک انجام پذیرفت و با تعیین توالی (Sequencing) دو طرفه محصولات PCR صحت پرایمرهای طراحی شده، تایید گردید. جدول شماره ۱ توالی پرایمرهای استفاده شده و اندازه محصولات را نشان می‌دهد. در تمامی واکنش‌ها قطعه‌ای از اینترون سوم ژن HLA-DRB1 به طول ۷۹۶ جفت باز به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور تخلیص DNA، از هر کدام از بیماران و افراد گروه کنترل ۳ میلی لیتر خون بر روی ضد انعقاد EDTA گرفته شد و DNA مورد نظر از گلبول‌های سفید خون محیطی و با روش Salting-out استخراج گردید. واکنش PCR در حجم کلی ۱۵ میکرولیتر و در محیط بافری سولفات آمونیوم انجام شد. برای بررسی هر کدام از پلی‌مورفیسم‌های ذکر شده دو واکنش جداگانه با شریط غلظتی زیر انجام گردید.

مقدار DNA در هر واکنش 50-100ng dNTPs MgCl2 1.5mM; 200µM; غلظت هر کدام از پرایمرهای اختصاصی 0.5-2 µM، غلظت پرایمر کنترل 0.1µM و غلظت آنزیم Taq DNA polymerase 0.5 واحد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه Eppendorf (Mastercycler) و به طور همزمان برای تمامی پلی‌مورفیسم‌ها و تحت شرایط دمایی و زمانی یکسان به ترتیب زیرانجام شد.



شکل شماره ۱- الگوی ژنوتایپینگ TLR2 و TLR4 با استفاده از تکنیک PCR-SSP. ژنوتایپ این فرد در مورد TLR2: 677Arg/Arg و 753Arg/Arg و در مورد TLR4: 299Asp/Gly و 399Thr/Ile می‌باشد.

جدول شماره ۱- پرایمرهای استفاده شده در ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی TLR2 و TLR4 و اندازه محصولات PCR

			Primers	Size (bp)
TLR2	Arg 677 Trp	F	5'- TCAAGTTGTGTC**C**TCATAAGC-3'	190
		F'	5'- TCAAGTTGTGTC**C**TCATAAGT-3'	
		R	5'- ATGGCAGCATCATTGTTCTC-3'	
	Arg 753 Gln	F	5'- TCTTGGTGTTCATTATCTTCC-3'	125
		F'	5'- TCTTGGTGTTCATTATCTTCT-3'	
		R	5'- CTTCTCCCATTTCCGTCTT-3'	
TLR4	Asp 299 Gln	F	5'- TTAGACTACTACC**C**CGATGA-3'	307
		F'	5'- TTAGACTACTACC**C**CGATGG-3'	
		R	5'- CACTTTGAGAACAGCAACC-3'	
	Thr 399 Ile	F	5'- CAAAGTGATTT**C**GGGACAAC-3'	284
		F'	5'-CAAAGTGATTT**C**GGGACAAT-3'	
		R	5'-ACTTCGAGACTGGACAAGC-3'	
HLA-DRB1 (Internal control)		F	5'-TGCCAAGTGGAGCACCCAA-3'	796
		R	5'-GCATCTTGCTCTGTGCAGAT-3'	

توضیح: به منظور افزایش کارآیی برخی از پرایمرها یک جایگزینی T به C اعمال گردیده که نوکلئوتید مذکور به صورت پررنگ نشان داده شده است (Mismatched Primers).

۲ دقیقه در ۹٤ °C برای باز شدن اولیه زنجیره‌های DNA، ۱۰ سیکل ۱۰ ثانیه‌ای در ۹٤ °C و ۱ دقیقه‌ای در ٦٥ °C؛ ۲۰ سیکل ۱۰ ثانیه‌ای در ۹٤ °C، ٥٠ ثانیه‌ای در ٦١ °C و ۳۰ ثانیه‌ای در ۷۲ °C.

بعد از انجام PCR محصولات واکنش در ژل آگارز ۱/٥ درصد الکتروفورز شد و پس از عکسبرداری، ژنوتایپ افراد مشخص گردید (شکل شماره ۱).

آنالیز آماری

پس از انجام ژنوتایپینگ، تمامی اطلاعات توسط نرم‌افزار SPSS v.11 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در آنالیزهای توصیفی، فراوانی آللی و ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌های ژن TLR2 و TLR4 در گروه‌های شاهد و بیمار مشخص گردید (جدول شماره ۲). در آنالیز تحلیلی از آزمون کای اسکوئر پیرسون و آزمون دقیق فیشر برای بررسی وجود و یا عدم وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن TLR2 و TLR4 و بیماری سل استفاده شد.

یافته‌ها

در مورد پلی‌مورفیسم‌های TLR2، آلل 677Trp در

جدول شماره ۲ – فراوانی آللی و ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌های ژن TLR2 و TLR4 در گروه‌های بیمار و کنترل.

	Arg677Trp					Arg753Gln					Asp299Gly					Thr399Ile				
	Genotype%			Allele%		Genotype%			Allele%		Genotype%			Allele%		Genotype%			Allele%	
	RR	RW	WW	R	W	RR	RQ	QQ	R	Q	DD	DG	GG	D	G	TT	TI	II	T	I
Patients	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۸۳/٤	۱٤/٦	۰	۹۲/۷	۷/۳*	۹۱/۷	۸/۳	۰	۹۵/۸	٤/۲*
Controls	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۹۸/٤	۱/٦	۰	۹۹/۲	۰/۸	۹٤/۲	۵/۸	۰	۹۷/۱	۲/۹	۹۸/٤	۱/٦	۰	۹۹/۲	۰/۸

هیچ کدام از گروه‌های شاهد و بیمار مشاهده نگردید. فراوانی آلل 753Gln در گروه شاهد ۰/۸٪ بود و در جمعیت مبتلا به سل وجود نداشت. در رابطه با پلی‌مورفیسم‌های TLR4 که ارتباط معنی‌داری با بیماری سل ریوی داشتند، فراوانی آلل 299G در گروه‌های بیمار و شاهد به ترتیب ۷/۳٪ و ۲/۹٪ بود (P value = ۰/۰۲۸، ۶/۷۳-۱/۱؛ CI ۹۵٪، OR=۲/۶۶) و فراوانی آللی 399I در بیماران ۰/۸٪ و در افراد گروه شاهد ٤/۲٪ بود (P value = ۰/۰۲۲، ۲۵/۱-۱/۱؛ CI ۹۵٪، OR = ۵/۲۶). در هیچ کدام از گروه‌های بررسی شده، حالت هموزیگوت آلل جهش یافته وجود نداشت.

بحث

مطالعات حیوانی نشان داده اند که موش‌های فاقد ژن TLR2، مستعد سپتی سمی ناشی از برخی باکتری‌های گرم مثبت و عفونت با مایکوباکتریوم می‌باشند.[۱۰و۱۱] به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی TLR2 نیزکه در عملکرد مولکول اختلال ایجاد می‌کنند هم منجر به نقص در پاسخ ایمنی ذاتی به طیف مشخصی از پاتوژن‌های میکروبی گردند. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی Arg677Trp و Arg753Gln در دومین TIR مولکول TLR2 تغییر ایجاد کرده و عمل انتقال پیام را مختل می‌نمایند.[۱۲] با توجه به مطالعات گذشته به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم Arg677Trp تنها در جمعیت‌های آفریقایی و آسیای شرقی وجود داشته باشد و در نژاد سفیدپوست یافت نشده است.[۱۳] در شرایط In vitro، این پلی‌مورفیسم فعالیت NFκB را در پاسخ به مایکوباکتریوم لپره و مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، مهار می‌کند و درافرادی که حامل این جهش می‌باشند، سطح پایه IL-12 و سطح این سایتوکاین پس از تحریک با مایکوباکتریوم کاهش دارد.[۱۴و۱۵] IL-12 موجب القای مسیر IFN-γ و ایجاد پاسخ T_H1 گشته که می‌تواند توجیه کننده ارتباط بالینی این پلی‌مورفیسم با بیماری‌های مایکوباکتریال (جذام لپروماتوز در کره و سل ریوی در تونس باشد.[۱۶و۱۷] این پلی‌مورفیسم در ۲۲٪ بیماران مبتلا به جذام در کره دیده شده که فقط مربوط به جذام لپروماتوز بوده و در هیچ کدام از افراد گروه کنترل و افراد مبتلا به جذام توبرکولوئید (فرمی از بیماری که با میزان کم باسیل همراه است)، یافت نشده است.[۱۶] در مورد پلی‌مورفیسم Arg753Gln، در یک مطالعه ارتباط آن با شوک سپتیک باکتری‌های گرم مثبت گزارش شده و فراوانی آن نیز در سفید پوستان ۲/۷٪ بوده است.[۱۸]

در مطالعات زیادی نشان داده شده که پس از استنشاق LPS اشخاص دچار حالتی شبیه آسم می‌گردند. این حالت در افراد آلرژیک شدیدتر از افراد طبیعی بوده اما در عین حال برخی افراد نیز با استنشاق LPS به صورت تجربی هیچ پاسخی از خود نشان نمی‌دهند.[۱۹] در ژن TLR4 افراد بی پاسخ به LPS، دو پلی‌مورفیسم Asp299Gly و Thr399Ile بیشتر دیده شده‌اند.[۱۹و۲۰] به دلیل این که SNPهای فوق در ناحیه شناسایی کننده مولکول TLR4 قرار دارند، بنابراین انتظار می‌رود که عمل شناسایی لیگاند در آلل‌های جهش یافته به خوبی صورت نگیرد. برخی از مطالعات دیگر نیز تاثیر این SNPها را بر استعداد ابتلا به

عفونت‌ها مانند شوک سپتیک طی عفونت با باکتری‌های گرم منفی، سپسیس پس از جراحی، شدت سندرم پاسخ التهابی حاد، کلونیزاسیون واژینال خانم‌های باردار با باکتری‌های کومنسال، برونشیت حاد ناشی از RSV در نوزادان، بیماری‌های مننگوککی، پریودنتیت مزمن متوسط و حاد و آرتریت روماتوئید و لوپوس مورد ارزیابی قرار دادند که برخی از آنها موفق به یافتن ارتباط بین SNP مورد نظر و افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های فوق گردیده‌اند.[۲۱-۳۰]

مطالعات ژنتیکی نه تنها در تعیین استعداد ابتلا به یک بیماری خاص حائز اهمیت هستند بلکه می‌توانند در روشن تر شدن بیولوژی و پاتوژنز بیماری نیز بسیار سودمند وکمک کننده باشند. آگاهی بیشتر ما از این مکانیسم‌ها در مورد بیماری‌های عفونی نهایتاً می‌تواند منجر به شکل گیری راهکارهای درمانی جدید (مانند ایمونوتراپی و استفاده از لیگاندهای TLRها)، ساخت واکسن‌های مؤثرتر و پیشبرد روش‌های فارماکوژنومیک گردیده و از پیشرفت عفونت به فرم فعال بیماری جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهند که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی مولکول TLR4 (Asp299Gly و Thr399Ile) ممکن است بر استعداد ابتلا به سل ریوی در جمعیت ایرانی تاثیر گذار باشند و این در حالی است که پلی‌مورفیسم‌های Arg677Trp و Arg753Gln مولکول TLR2 در جمعیت ایرانی شیوع بسیار پایینی داشته و تاثیر آنها بر استعداد ابتلا به سل ریوی غیر محتمل به نظر می‌رسد.

فهرست منابع

1- Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. Ethnic-Specific genetic association with pulmonary tuberculosis. J inf dis. 2002; 186: 1463-680

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

3- Underhill DM, Ozinsky A, Smith KD, Aderem A. Toll-like receptor-2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. Proc Natl Acad Sci. 1999; 96: 14459-463

4- Feng CG, Scanga CA, Collazo-Custodio CM, Cheever AW, Hieny S, Caspar P, et al. Mice lacking myeloid differentiation factor 88 display profound defects in host resistance and immune responses to Mycobacterium avium infection not exhibited by Toll-like receptor 2 (TLR2)- and TLR4- deficient animals. J Immunol. 2003; 171: 4758-764

5- Gilleron M, Quesniaux VF, Puzo G. Acylation state of the phosphatidyl inositol hexamannosides from Mycobacterium bovis BCG and Mycobacterium tuberculosis H37Rv and its implication in TLR response. J Biol Chem. 2003; 278: 29880-889

6- Pai RK, Convery M, Hamilton TA, Boom WH, Harding CV. Inhibition of IFN-_-induced class II transactivator expression by a 19-kDa lipoprotein from Mycobacterium tuberculosis: a potential mechanism for immune evasion. J Immunol. 2003; 171: 175-84

7- Pecora ND, Gehring AJ, Canaday DH, Boom WH, Harding CV. Mycobacterium tuberculosis LprA Is a Lipoprotein Agonist of TLR2 That Regulates Innate Immunity and APC Function. J Immunol. 2006; 177: 422-29

8- Means TK, Lien E, Yoshimura A, Wang S, Golenbock DT, Fenton MJ. The CD14 ligands lipoarabinomannan and lipopolysaccharide differ in their requirement for Toll-like receptors. J Immunol. 1999; 163: 6748-755

9- Hanekom W, Abel B, Scriba T. Immunological protection against tuberculosis. SAMJ. 2007; 97: 973-77

10- Takeuchi O, Hoshino K, Akira S. Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to Staphylococcus aureus infection. J

Immunol. 2000; 165: 5392-396

11- Wetzler L. The role of Toll-like receptor 2 in microbial disease and immunity. Vaccine. 2003; 21: 55-60

12- Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature. 1997; 388: 394-97

13- Schroder NW, Schumann RR. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease. Lancet Infect Dis. 2005; 5:156-64

14- Kang TJ, Yeum CE, Kim BC, You EY, Chae GT. Differential production of interleukin-10 and interleukin-12 in mononuclear cells from leprosy patients with a Toll-like receptor 2 mutation. Immunology. 2004; 112: 674-80

15- Bochud PY, Hawn TR, Aderem A. Cutting edge: A Toll-like receptor 2 polymorphism that is associated with lepromatous leprosy is unable to mediatemycobacterial signaling. J Immunol. 2003; 170: 3451-454

16- Kang TJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. FEMS Immunol Med Microbiol. 2001; 31: 53-58

17- Ben-Ali M, Barbouche MR, Bousnina S, Chabbou A, Dellagi K. Toll-like receptors 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients. Clin Diagn Lab Immunol. 2004; 11: 625-26

18- Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, Arbour NC, Schwartz DA. A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. Infect Immun. 2000; 68: 6398-401

19- Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zabner J, Keline JN, Jones M, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. Nat Genet. 2000; 25: 187-91

20- Naik S, Kelly EJ, Meijer L, Pettersson S, Sanderson IR. Absence of Toll-like receptor 4 explains endotoxin hyporesponsiveness in human intestinal epithelium. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2001; 32(4): 449-53

21- Lorenz E, Mira JP, Frees KL, Schwartz DA. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. Arch Intern Med. 2002; 162: 1028-32

22- Feterowski C, Emmanuilidis K, Miethke T, Gerauer K, Rump M, Ulm K, et al. Effects of functional Toll-like receptor-4 mutations on the immune response to human and experimental sepsis. Immunology. 2003; 109: 426-31

23- Genc MR, Vardhana S, Delaney ML, Onderdonk A, Tuomala R, Norwitz E, et al. Relationship between a toll-like receptor-4 gene polymorphism, bacterial vaginosis-related flora and vaginal cytokine responses in pregnant women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004; 116: 152-56

24- Tal G, Mandelberg A, Dalal I, Cesar K, Somekh E, Tal A, et al. Association between common Toll-like receptor 4 mutations and severe respiratory syncytial virus disease. J Infect Dis. 2004; 189: 2057-63

25- Allen A, Obaro S, Bojang K, Awomoyi AA, Greenwood BM, Whittle H, et al. Variation in Toll-like receptor 4 and susceptibility to group A meningococcal meningitis in Gambian children. Pediatr Infect Dis J. 2003; 22: 1018-19

26- Read RC, Pullin J, Gregory S, Borrow R, Kaczmarski EB, Di-Giovine FS, et al. A functional polymorphism of toll-like receptor 4 is not associated with likelihood or severity of meningococcal disease. J Infect Dis. 2001; 184: 640-42

27- Moens L, Verhaegen J, Pierik M, Vermeire S, De Boeck K, Peetermans WE, et al. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 polymorphisms in invasive pneumococcal disease. Microbes Infect. 2007; 9(1): 15-20

28- Berdeli A, Emingil G, Han Saygan B, Gürkan A, Atilla G, Köse T, et al. TLR2 Arg753Gly, TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile gene polymorphisms are not associated with chronic periodontitis in a Turkish population. J Clin Periodontol. 2007; 34: 551-57

29- Fukusaki T, Ohara N, Hara Y, Yoshimura A, Yoshiura K. Evidence for association between a Toll-like receptor 4 gene polymorphism and moderate/severe periodontitis in the Japanese population. J Periodont Res. 2007; 42: 541-45

30- Sánchez E, Orozco G, López-Nevot M, Jiménez-Alonso J, Martín J. Polymorphisms of toll-like receptor 2 and 4 genes in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Tissue Antigens. 2004; 63(1): 54-57

Association between Toll-like Receptor 4 (TLR4) Genetic Polymorphisms and Susceptibility to Pulmonary Tuberculosis

N.Tajik,PhD[I] M.R.Nasiri,MSc[II] M.Jafari,Msc[II] T.Mousavi,PhD[III] P.Farnia,PhD[IV] A.R.Salekmoghaddam,PhD[III] M.Sankian,PhD[V]

Abstract

Background & Aim: Toll-like receptor 2 (TLR2) and Toll-like receptor 4 (TLR4) are the members of the Toll-like receptor family and play important roles in recognition and subsequent immune response against mycobacteria. Two functional polymorphisms for TLR2 (Arg677Trp, C→T; Arg753Gln, G→A) and TLR4 (Asp299Gly, A→G; Thr399Ile, C→T) genes have been associated with a negative influence on their function, which may affect the innate host response to mycobacteria. The aim of this study was to investigate TLR2 and TLR4 genetic variants in a sample of Iranian patients with pulmonary tuberculosis compared to healthy controls.

Patients and Method: A case-control study was carried out on 96 patients and 122 ethnically matched healthy controls. Genotyping protocol was based on a novel polymerase chain reaction sequence-specific primers (PCR-SSP) method. Allelic and genotypic distribution of mentioned polymorphisms were compared by using Fischer's exact test between patient and control groups.

Results: The prevalence of TLR4 variant alleles (Gly299 and Ile399) was significantly higher among patients compared to control individuals (Gly299: 7.2% vs. 2.9%, OR=2.66, P=0.028 and Ile399: 4.2% vs. 0.8%, OR= 5.26, P value = 0.022). Regarding TLR2 Arg753Gln polymorphism, no significant difference was observed between patient and control groups (0% vs.0.8%, P>0.05). The other TLR2 polymorphism (Arg677Trp) was not found in any of the studied subjects.

Conclusion: Our data demonstrates that TLR4 genetic polymorphisms may influence the risk of developing tuberculosis after exposure to mycobacterium. In addition, very low frequency of TLR2 genetic variants is revealed in Iranian population.

Key Words: 1) Tuberculosis 2) Genetic Polymorphism 3)Toll-like Receptors 4) Iranian Population

This article is an abstract of M.R.Nasiri's thesis advised by Dr.Tajik and Dr.Mousavi and read by Dr. Salekmoghddam, Dr. Farnia and Dr. Sankian in partial fulfillment of an MSc degree in immunology.

*I) Associate Professor of Immunology, Division of Transplant Immunology and Immunogenetics. Department and Research Center of Immunology.Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.(*Corresponding Author)*

II) MSc in Immunology,. Division of Transplant Immunology and Immunogenetics. Department and Research Center of Immunology.Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.

III) Professor of Immunology, Division of Transplant Immunology and Immunogenetics. Department and Research Center of Immunology.Faculty of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.

Iv) Assistant Professor of Mycrobiology, Mycobacteriology Research Center. Masih-Daneshvari Hospital.Faculty of Medicine. Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.

v) Assistant Professor of Immunology, Department of Immunology. Faculty of Medicine. Mashhad University of Medical Sciences and Health Services.Mashhad,Iran.