Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2016; 19(108): 71-79

Lack of Association between Tumor Necrosis Factor Alpha (TNFα) Gene -1031C/T Polymorphisms and Susceptibility to Inflammatory Bowel Disease (IBD)

Mahyar Nourian[1], Ali Mohammad Asgharian[2*], Hamid Asadzadeh Aghdaei[3]

1- MSc, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
3-Assistant Professor, Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 28 Nov 2015, Accepted: 9 March 2016

Abstract

Background: Inflammatory bowel disease (IBD) includes two basic categories ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) that the etiology of which remains unclear. Tumor necrosis factor alpha (TNFα) promoter polymorphisms are a good candidate for susceptibility to IBD as there is a significant relationship between them. The main aim of this study was to assess TNFα gene polymorphisms with IBD susceptibility at positions -1031in Iranian patients.

Materials and Methods: In this case-control study, were studied 101 patients with IBD (86 ulcerative colitis, 15 Crohn's disease) and 100 healthy controls were studied. PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) was used for determining of genotyping. In following, allele frequency and genotype distribution of polymorphism T> C in TNFα gene between *the* case and control groups were typed.

Results: The frequency of genotype TT, TC and CC among patients was 64.4%, 28.7% and 6.9% and in control group was 63%, 29% and 8%, respectively. Also, allele frequency T-1031 of TNFα gene in IBD patients was high, while there is no statistical significant ($p>0.05$).

Conclusion: There was no significant correlation between TNFα gene polymorphisms and susceptibility to IBD at position -1031. Our results showed that TNFα gene polymorphisms cannot be considered as a potential prognostic marker cause of IBD in Iranian population.

Keywords: Inflammatory bowel disease, TNF-alpha, Single nucleotide polymorphism

*Corresponding Author:
Address: Department of Cell and Molecular Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
Email: Mehranasgharian@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۹، شماره ۳ (شماره پیاپی ۱۰۸)، خرداد ۱۳۹۵، ۷۹-۷۱

عدم ارتباط میان پلی مورفیسم C/T -1031 در ژن گیرنده نکروز دهنده توموری آلفا (TNFα) و استعداد ابتلا به بیماری های التهابی روده (IBD)

مهیار نوریان[۱]،علی محمد اصغریان[۲*]،حمید اسد زاده عقدایی[۳]

۱- کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۲- استادیار، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

۳- استادیار، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های التهابی روده(IBD) شامل دو دسته اساسی کولیت اولسرو(UC) و کرون(CD) می‌باشند که اتیولوژی آن‌ها هم‌چنان مبهم باقی مانده است. پلی مورفیسم‌های پروموتر فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNFα) نامزد مناسبی در استعداد ابتلا به IBD می‌باشند، هم‌چنان که رابطه معنی‌داری بین آن‌ها وجود دارد. هدف اصلی این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن TNFα در ناحیه ۱۰۳۱- با استعداد ابتلا به IBD در بیماران ایرانی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۰۱ نفر بیمار مبتلا به IBD (۸۶ نفر کولیت اولسرو و ۱۵ نفر کرون) و ۱۰۰ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتایپ استفاده شد. در نهایت فرکانس آللی و توزیع ژنوتیپی در پلی مورفیسم T>C ژن TNFα بین دو گروه تعیین گردید.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ TT، TC و CC در بیماران به ترتیب ۶۴/۴ ، ۲۸/۷ و ۶/۹ درصد و در گروه شاهد به ترتیب ۶۳ ، ۲۹ و ۸ درصد محاسبه گردید. هم‌چنین فرکانس آلل ۱۰۳۱T- ژن TNFα در بیماران مبتلا به IBD بالا بود، در حالی که از نظر آماری معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ناحیه ۱۰۳۱- در ژن TNFα و استعداد ابتلا به IBD دست نیامد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم مطالعه شده در ژن TNFα به عنوان عامل پیش آگهی در مورد استعداد افراد به ایجاد IBD در جمعیت ایرانی مطرح نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: بیماری‌های التهابی روده، فاکتور نکروز دهنده تومورآلفا، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی

***نویسنده مسئول:** ایران، تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی

Email: mehranasgharian@yahoo.com

مقدمه

بیماری‌های التهابی روده شامل دو بیماری اصلی کرون و کولیت اولسرو هستند و یک بیماری مزمن دستگاه گوارش محسوب می‌شوند(۱، ۲). بیماری‌های التهابی روده، روده بزرگ و روده کوچک را در گیر می‌کنند و در حال حاضر از علل شایع درگیری‌های دستگاه گوارش در کشورهای توسعه یافته هستند(۱). پاتوژنز این بیماری به طور دقیق مشخص نشده است و محققان سه فاکتور ژنتیک، ایمونوژنتیک و محیط را در پاتوژنز بیماری مهم می‌دانند(۲، ۳). شواهد بسیاری در حمایت از نقش ژنتیک در پاتوژنز بیماری‌های التهابی روده وجود دارد؛ شواهدی هم‌چون: افزایش بیماری‌های التهابی روده در میان دوقولوهای همسان مبتلا به بیماری‌های التهابی روده در مقایسه با دوقلوهای نا همسان، در میان خواهر و برادر، تفاوت در گروه‌های قومی مختلف و افزایش بروز خانوادگی. اگرچه این عوامل نشان می‌دهد که اساس ژنتیک برای بیماری‌های التهابی روده وجود دارد، ولی تاکنون ژن خاصی که مسئول ایجاد بیماری‌های التهابی روده باشد، شناسایی نشده است(۴، ۵).

بیماری‌های التهابی روده سبب ایجاد عوارض متعدد و پایین آمدن کیفیت زندگی به خصوص در بالغین جوان می‌شود که این مساله باعث تحمیل بار اجتماعی و اقتصادی زیاد می‌گردد، از این رو نیاز به توجه بیشتری دارد و بر طبق گزارشات غیر رسمی این بیماری در ایران رو به فزونی است. اگرچه بیماری‌های التهابی روده در هر سنی می‌توانند بروز نمایند، اما شیوع آن‌ها در کودکان و نوجوانان بسیار نادر است و در کل نرخ بروز بیماری کرون در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر ۰/۷۰ درصد و نرخ بروز بیماری کولیت اولسرو در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر ۱/۸۵ درصد در سال در سراسر جهان است(۶).

فاکتور نکروز توموری آلفا یک سایتوکاین قوی، چند منظوره و یک میانجی مهم در پاسخ بدن به عفونت است و در پاسخ به عفونت نقش دارد و آن را به عنوان دارو برای درمان برخی بیماری‌ها می‌توان استفاده کرد(۷). فاکتور نکروز توموری آلفا به عنوان یک سایتوکاین کلیدی در بیماری‌های التهابی روده در نظر گرفته می‌شود و نیز در روده بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده مقدار فاکتور نکروز توموری آلفا و فاگوسیت‌های محیطی به طور قابل توجهی مشهود است(۸). در ناحیه پروموتری فاکتور نکروز توموری آلفا پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی شناخته شده‌اند. ناحیه پروموتری فاکتور نکروز توموری آلفا شامل پلی‌مورفیسم‌های مختلفی از جمله ۳۰۸- ، ۱۰۳۱- ، ۲۳۸- ، ۸۶۳- و ۸۵۷- است(۱۱-۹).

فاکتور نکروز توموری آلفا تأثیر ویژه‌ای در تکامل و تبدیل لنفوسیت‌های T به زیر گروه Th1 دارد که Th1 در تنظیم و تکثیر سلول‌های ایمنی و پاسخ ضد ویروسی نقش دارد(۱۲). فاکتور نکروز توموری آلفا روی کروموزوم ۶ در قسمت MHC کلاس III و بین HLA-B و HLA-DR قرار گرفته است و در ناحیه پروموتر آن پلی‌مورفیسم زیادی مشاهده شده است و به نظر می‌رسد برخی از این پلی‌مورفیسم‌های ژنی به ویژه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در جایگاه ۱۰۳۱- ، نقش عمده‌ای در میزان بیان آن دارد(۱۲، ۱۳). سطح TNFα در سرم، مخاط و مدفوع بیماران التهابی روده بالاست و با تزریق آنتی‌بادی منوکلونال ضد TNFα در درمان بسیار موثر است و نیز آنتی بادی TNFα اخیراً به عنوان درمان موثر برای بیماران کرون ذکر شده است. فاکتور نکروز توموری آلفا به دو دلیل، ژن مستعد قوی برای بیماران کرون است. اولاً ژن TNFα در بیماران مبتلا به کرون سطح بالایی دارد و ثانیاً منطقه حضور TNFα با IBD روی کروموزوم یکسان است و سازگاری دارد(۱۴).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ناحیه ۱۰۳۱- ژن TNFα با پاتوژنز بیماری‌های التهابی روده بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد - شاهدی بر روی ۱۰۱ نمونه بیمار مبتلا به بیماری‌های التهابی روده مراجعه کننده به

بیمارستان طالقانی تهران و ۱۰۰ نمونه کنترل سالم بین سال‌های۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ انجام گرفت. ازکلیه افراد وارد شده به مطالعه رضایت‌نامه آگاهانه کتبی دریافت گردید و مطالعه با مجوز کمیته اخلاق مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش وکبد دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. ۱۰۱ نمونه بیمار با توجه به معیارهای متعارف، تشخیص و میزان بیماری‌های التهابی روده بر اساس علائم بالینی، آندوسکوپی، رادیولوژی و یافته‌های هیستوپاتولوژیک شناخته شده است(۱۵). معیار ورود به گروه بیمار با تایید بیماری‌های التهابی روده با انجام کلونوسکوپی و تایید پاتولوژی بود.

استخراج DNA

از افراد بیمار و کنترل ۴ میلی‌لیتر خون کامل محیطی گرفته شد و برای جلوگیری از لخته شدن، ضد انعقاد EDTA به لوله‌های حاوی خون اضافه شد و از روش استخراج نمک برای تلخیص DNA ژنومیک استفاده گردید(۱۶) و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد در میکروتیوپ‌های ۰/۵ میکرولیتری نگهداری شد، سپس غلظت DNA از طریق طیف سنج ماورای بنفش در طول موج ۲۶۰ نانومتر مشخص گردید.

طراحی پرایمر

برای طراحی پرایمر پلی‌مورفیسم واقع در ناحیه ۱۰۳۱- پروموتر ژن TNFα از نرم افزار Primer3 و Gene Runner و قسمت BLAST سایت NCBI استفاده گردید. دو پرایمر پیش رو و پس رو برای تکثیر DNA از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) طراحی شدند(جدول۱).

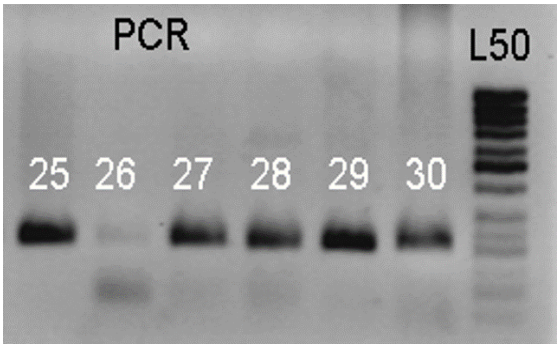
جدول۱. اطلاعات مربوط به پرایمرهای مورد استفاده

جهت پرایمر	توالی پرایمر	GC (درصد)	طول توالی	دمای اتصال
پیش رو	5’ CTTCAGGGATATGTGATGGACTC 3’	۴۷/۸۳	۲۳bp.	۵۸/۱۱
پس رو	5' ACATCTCCCCAGAGGTCTCC 3'	۶۰/۰۰	۲۰bp.	۶۰/۰۳

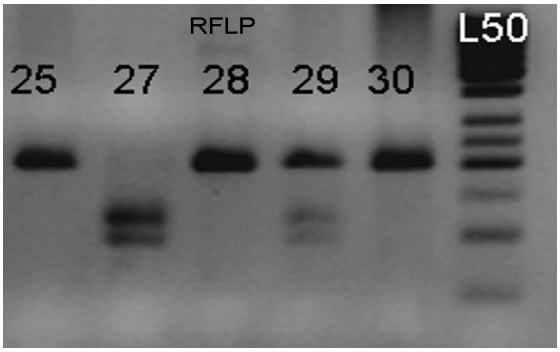
تعیین ژنوتایپ

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از ۱۰۰ نانو گرم DNA استخراج شده و پرایمرهای اختصاصی انجام شد. مواد مورد استفاده در مخلوط PCR بدین صورت اضافه شدند: ۲/۵ میکرولیتر بافر حاوی MgCl2 و ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلی‌مولار از هر dNTP (شرکت ژن فن آوران-ایران)، ۵ پیکومول از هر پرایمر (Bioneer)، ۵ درصد حجم واکنش(۱/۲۵ میکرولیتر) دی متیل سولفوکسید(شرکت سیگما، آلمان) و ۲/۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز(Super Taq شرکت ژن فن آوران- ایران) سپس مخلوط آماده شده در دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (اپندورف، آلمان) قرارداده شد و دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۶ چرخه تکثیر (هرچرخه شامل سه مرحله دمایی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۶۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه) و در انتها در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. در مرحله بعد، محصول PCR تحت هضم با اثر آنزیم محدود کننده BpiI(BbsI) (ترموساینتفیک، ایالات متحده آمریکا) به روش RFLP قرار گرفت. باند محصول PCR و نواحی شناسایی آنزیم‌های محدود کننده در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. میزان آنزیم مورد نیاز در هر واکنش ۰/۴ میکرولیتر (۴ واحد) بود. مخلوط واکنش(محصول PCR میزان مورد نظر ذکر شده و مواد لازم برای انجام RFLP) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوباسیون گردید. محصولات حاصل از RFLP بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد قرار داده شد تا باندها آشکار شوند. آنزیم مورد استفاده در این مطالعه آنزیم محدود کننده BbsI می‌باشد که این آنزیم

توالی GAAGAC را شناسایی می‌کند و نوکلئوتید مورد نظرکه دارای پلی‌مورفیسم است با حرف بزرگ‌تر نشان داده شده است. نتیجه هضم آنزیمی بدین شرح مشخص گردید که ۳ ژنوتیپ با اندازه باند ژنوتیپ هموزیگوت TT ۱۸۶ جفت باز، ژنوتیپ هتروزیگوت TC ۸۰ ، ۱۰۶ ، ۱۸۶ جفت باز و ژنوتیپ هموزیگوت CC ۸۰ و ۱۰۶ جفت باز حاصل شد.



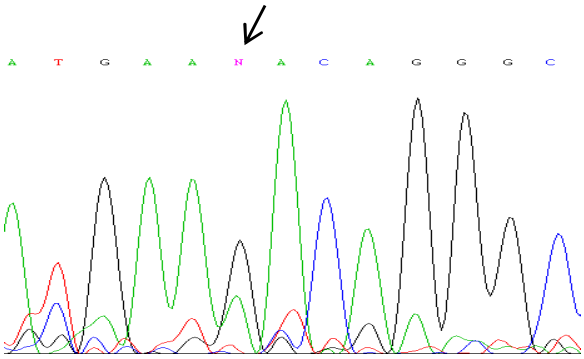
شکل ۱. نتیجه الکتروفورز محصول PCR بـا انـدازه ۱۶۸bp (چاهک ۲۵ تا ۳۰) و چاهک آخر مربوط بـه Ladder 50bp (Fermentas) می باشد.



شکل ۲. نتیجه الکتروفورز محصول هضم آنزیمی بـر روی ژل آگارز ۳ ٪. قطعات حاصـل از بـرش آنزیمـی RFLP. نمونـه شماره ۲۸،۲۵ و۳۰ ژنوتیپ TT ، نمونه شـماره ۲۹ ژنوتیـپ CT و نمونه شماره ۲۷ ژنوتیپ CC و مـارکر وزن مولکـولی (Gene Ruler 50bp DNA Ladder) بـه همـراه نقـش Ladder50

تعیین توالی

جهت تایید نتایج ژنوتایپینگ، ۱۰ درصد نمونه‌ها با استفاده از جفت پرایمر پیش رو (که حدود ۱۰۰ جفت باز بالا دست جایگاه پلی‌مورفیسم به رشته الگو متصل می‌شود) و پس رو تکثیر شدند و به روش تعیین توالی مستقیم با استفاده از سیستم ABI توالی یابی شدند(شکل ۳).



شکل ۳. نتیجه تعیین توالی مستقیم محصول PCR، در ایـن تـصویر قطعـه ای از ناحیـه ۱۰۳۱- ژن TNFα بـا پیکـان مشخص شده است و نشانگر ژنوتیپ هتروزیگـوت CT مـی باشد.

تحلیل آماری

نتایج به دست آمده به وسیله نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) تحلیل گردید. توزیع آللی با استفاده از تعادل هاردی-واینبرگ به طور جداگانه در گروه بیماران و کنترل مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی با استفاده از آزمون مجذور کای صورت پذیرفت. احتمال p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. در این تحلیل جنسیت یک عامل مخدوش کننده است که با آزمون لوجستیگ رگرسیون حذف گردید.

یافته‌ها

دو گروه مورد مطالعه بیمار و شاهد از نظر سن، جنس، شاخص توده بدنی و مصرف سیگار مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج آن در جدول ۲ ارائه شده است. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین جنس(p=۰/۱۳۸)، شاخص توده بدنی (p=۰/۵۵۳) و مصرف سیگار (p=۰/۴۶۲) بین گروه بیمار و شاهد وجود نداشت، ولی بین جنس و بیماری التهابی روده اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده شد(p=<۰/۰۰۱).

جدول۲. مشخصات افراد مورد مطالعه

گروه	مشخصه	بیمار	کل افراد	p
میانگین سن(سال)		۳۴/۱۴۹ سال	۳۸/۰۵۵ سال	<۰/۰۰۱
BMI		۲۵/۴۹۸۰	۲۵/۳۴۶۰	۰/۵۵۳
فراوانی جنس(درصد)	زن	٪ ۴۱/۶	٪ ۴۷/۸	۰/۱۳۸
	مرد	٪ ۵۸/۴	٪ ۵۲/۲	
فراوانی دخانیات(درصد)	سیگاری	٪ ۱۵/۸	٪ ۱۵/۹	۰/۴۶۲
	غیر سیگاری	٪ ۸۴/۲	٪ ۸۴/۱	

جامعه مورد مطالعه، ۲۰۱ فرد شامل ۱۰۱ فرد بیمار و ۱۰۰ نفر شاهد است که طی مشاهدات آماری هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ دو گروه بیمار و سالم مشاهده نشد(p=۰/۹۵۵). در بین بیماران مورد مطالعه ۶۰/۴ درصد از بیماران در فاز شدت بیماری و ۳۹/۶ درصد از بیماران در فاز خاموشی بیماری به سر می برند و اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ افرادی که در فاز شدت بیماری و فاز خاموشی بیماری هستند وجود ندارد(p=۰/۶۰۶). در بین ۱۰۱ بیمار مورد مطالعه، ۸۶ نفر کولیت اولسرو و ۱۵ نفر کرون دارند که طی بررسی‌های آماری انجام شده اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ این دو گروه بیماری مشاهده نشد(p=۰/۲۶۲). فراوانی ژنوتیپ TT، TC و CC در بیماران به ترتیب ۶۴/۴، ۲۸/۷ و ۶/۹ درصد و در گروه کنترل به ترتیب ۶۳، ۲۹ و ۸ درصد محاسبه گردید. نتایج حاصل از تحلیل بین دو گروه بیمار و کنترل نشان داد که فراوانی آلل در تعادل هاردی- واینبرگ می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه در جدول ۳ ارائه گردیده است. در شکل ۱ باند حاصل از PCR و در شکل ۲ باند حاصل از RFLP مشاهده می‌شود.

جدول۳. فراوانی ژنوتیپ پلی مورفیسم ۱۰۳۱- ژن TNFα در جمعیت مورد مطالعه

متغییر	فراوانی تعداد(درصد)	بیمار(درصد)	شاهد(درصد)	P	OR	CI
ژنوتیپ	TT	(۶۴/۴)۶۵	(۶۳)۶۳	۰/۸۹۲	مرجع	مرجع
	CT	(۲۸/۷)۲۹	(۲۹)۲۹	۰/۹۶۸	۰/۹۸۶	۰/۵۰۹-۱/۹۱۲
	CC	(۶/۹)۷	(۸)۸	۰/۶۴۴	۱/۳۰۸	۰/۴۱۹-۴/۰۸۸

بحث

بیماری‌های کولیت اولسرو و کرون، بیماری‌های مزمن التهابی روده هستند که به طور کامل شناخته نشده‌اند و داده‌های جدید نشان می‌دهد که تغییرات در سنتز سایتوکاین ممکن است نقشی در پاتوژنز بیماری التهابی روده بازی کند(۱۷).

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در مناطق پروموتری ژن که در تولید سایتوکاین نقش دارد ممکن است فعالیت بیماری را تحت تأثیر قرار دهد(۱۸).

ژن TNFα یک سایتوکاین پیش التهابی مهم است که در پاتوژنز بیماری‌های التهابی روده دخیل است. بیان بالای TNFα در مخاط روده ملتهب طبیعی بوده و در سرم بیماران مبتلا به IBD مشاهده شده است(۱۹).

در مطالعات در مورد ارتباط پلی مورفیسم ژن TNFα و استعداد ابتلا به بیماری التهابی روده نتایج متناقضی گزارش شده است. برخی از مطالعات، بسته به جمعیت‌های مورد مطالعه، حاکی از معنی‌داری این نوع ارتباط هستند و برخی دیگر عدم معنی‌داری این ارتباط را گزارش کرده‌اند.

زیپرلین و همکاران در سال ۲۰۰۴ در کشور کانادا ارتباط ۵ پلی مورفیسم(۸۵۷- (C/T)، ۳۰۸- (G/A)، ۲۳۸- (G/A)، ۱۰۳۱- (T/C)، ۸۶۳- (G/A)) ژن TNFα را با بیماری کرون (CD) بررسی کردند، یافته‌های آن‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین افراد بیمار CD و کنترل وجود ندارد و این یافته‌ها نشان‌گر عدم هم‌بستگی پنج SNP مورد نظر با خطر ابتلا به بیماری کرون می‌باشد(۱۹). ولی در مقابل، در مطالعه‌ای دیگر، بالدینگ و همکاران در سال ۲۰۰۴ تنوع قابل توجهی در پلی‌مورفیسم ۳۰۸- ژن TNFα

یافتند که نشان از معنی‌دار شدن اختلاف در گروه شاهد با بیماران UC در کشور فرانسه داشت(۲۰).

لو و همکاران در سال ۲۰۰۸ در کشور چین نشان دادند که پلی‌مورفیسم ۳۰۸- ژن TNFα باعث خطر قابل توجهی برای گسترش بیماری UC در شرق آسیا می‌شود، اما هیچ ارتباطی با بیماران UC در اروپا ندارد(۲۱).

ارتباط بین پلی‌مورفیسم IBD و TNFα به تغییرات ژنتیکی در اقوام مختلف و تنوع قومی بستگی دارد و به همین خاطر پلی‌مورفیسم‌های ژن TNFα در این مطالعه و مطالعه دیگران نتایج متنوعی دارد(۴، ۲۰، ۲۲).

نادری و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای ارتباط ۵ پلی مورفیسم (۸۵۷- (C/T)، ۳۰۸- (G/A)، ۲۳۸- (G/A)، ۱۰۳۱- (T/C) و ۸۶۳- (G/A)) ژن TNFα را با بیماران التهابی روده (IBD) بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد که در بین ۵ پلی‌مورفیسم مورد مطالعه، فقط پلی‌مورفیسم ۱۰۳۱- ارتباط معنی‌داری بین گروه بیماران CD و افراد سالم نشان داده است و در بقیه پلی‌مورفیسم‌ها ارتباط معنی‌دار قابل توجهی مشاهده نشد. بنابراین پلی‌مورفیسم ۱۰۳۱- ممکن است نقشی در استعداد ابتلا به بیماری کرون در ایران بازی کند(۲۳).

بنیادی و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای ارتباط ۲ پلی‌مورفیسم (۳۰۸- (G/A) و ۱۰۳۱- (T/C)) ژن TNFα را با بیماران ایرانی آذری ترکیه که به بیماری‌های التهابی روده (IBD) دچار بودند بررسی کردند. یافته‌های حاصل از PCR-RFLP نشان داد که آلل TT در پلی مورفیسم ۱۰۳۱- خطر قابل توجهی برای گسترش بیماری UC در ایرانیان آذری ترکیه است. آلل CC در بیماران UC به طور قابل توجهی پایین بود که ممکن است نقش حفاظتی در بیماران UC داشته باشد(۲۴).

نتیجه گیری

بر طبق این مطالعه، توزیع ژنوتیپی و آللی در بین افراد بیمار و سالم تقریبا یکسان و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده نشد. بین زیر گروه‌های بیماری‌های التهابی روده از جمله کولیت اولسرو و کرون نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هم‌چنین اکثر افراد ایران از لحاظ فنوتیپ و از نظر میزان تولید TNFα با افراد کشورهای آسیای شرقی و ترکیه مشابه بودند و آلل T نشانه تولید بیشتر TNFα در افراد می‌باشد(۱۱، ۲۷-۲۵). بنابر این می‌توان گفت بیشتر افراد بررسی شده دارای فنوتیپ مقاوم‌تر در برابر ایجاد عفونت و نیز دارای فنوتیپ مستعد ایجاد بیماری‌های التهابی روده می‌باشند. پیشنهاد می‌شود این مطالعه با تعداد نمونه بیشتر و در نقاط مختلف کشور انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد مهیار نوریان می‌باشد که در مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش بیمارستان طالقانی انجام شده است. بدین وسیله از همکاران آن مرکز جهت همکاری در این طرح نهایت تشکر و سپاس گزاری را می‌نماییم.

منابع

1. Baumgart DC. The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. Dtsch Arztebl Int. 2009; 106(8):123-33.
2. Van Heel DA, Udalova IA, De Silva AP, McGovern DP, Kinouchi Y, Hull J, et al. Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF-κB transcription factors. Human Molecular Genetics. 2002; 11(11): 1281-9.
3. Bonen DK, Cho JH. The genetics of inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 2003; 124(2):521-36.
4. Bouma G, Xia B, Crusius J, Bioque G, Koutroubakis I, Blomberg BV, et al. Distribution of four polymorphisms in the tumour necrosis factor (TNF) genes in patients with inflammatory bowel disease (IBD). Clinical & Experimental Immunology. 1996; 103(3): 391-6.

5. Meijer MJ, Mieremet-Ooms MA, Van Hogezand RA, Lamers C, Hommes DW, Verspaget HW. Role of matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of metalloproteinase and tumor necrosis factor-alpha single nucleotide gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. WorldJournal of Gastroenterology. 2007; 13(21):2960-1.
6. Fan W, Maoqing W, Wangyang C, Fulan H, Dandan L, Jiaojiao R, et al. Relationship between the polymorphism of tumor necrosis factor-α-308 G> A and susceptibility to inflammatory bowel diseases and colorectal cancer: a meta-analysis. European Journal of Human Genetics. 2011; 19(4):432-7.
7. Cao Q, Zhu Q, Wu M-L, Hu W-L, Gao M, Si J-M. Genetic susceptibility to ulcerative colitis in the Chinese Han ethnic population: association with TNF polymorphisms. Chinesemedical journal. 2006; 119(14):1198-203.
8. Hampe J, Shaw SH, Saiz R, Leysens N, Lantermann A, Mascheretti S, et al. Linkage of inflammatory bowel disease to human chromosome 6p. The American Journal of Human Genetics. 1999; 65(6):1647-55.
9. Tremelling M, Waller S, Bredin F, Greenfield S, Parkes M. Genetic variants in TNF□α but not DLG5 are associated with inflammatory bowel disease in a large United Kingdom cohort. Inflammatory bowel diseases. 2006;12(3):178-84.
10. ajeer AH, Hutchinson IV. TNF□α gene polymorphism: Clinical and biological implications. Microscopy research and technique. 2000; 50(3):216-28.
11. Kohaar I, Tiwari P, Kumar R, Nasare V, Thakur N, Das BC, et al. Association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in TNF-LTA locus with breastcancer risk in Indian population. Breast cancer research and treatment. 2009; 114(2):347-55.
12. Yang S-K, Lee S-G, Cho Y-K, Lim J, Lee I, Song K. Association of TNF-α/LTA polymorphisms with Crohn's disease in Koreans. Cytokine. 2006; 35(1):13-20.
13. ThioC, Goedert J, Mosbruger T, Vlahov D, Strathdee S, O'Brien S, et al. An analysis of tumor necrosis factor α gene polymorphisms and haplotypes with natural clearance of hepatitis C virus infection. Genes and immunity. 2004; 5(4):294-300.
14. Sashio H, Tamura K, Ito R, Yamamoto Y, Bamba H, Kosaka T, et al. Polymorphisms of the TNF gene and the TNF receptor superfamily member 1B gene are associated with susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease, respectively. Immunogenetics. 2002; 53(12):1020-7.
15. Lennard-Jones J. Classification of inflammatory bowel disease. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 1989; 24(S170):2-6.
16. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids research. 1988; 16(3):1215-6.
17. Cantor MJ, Nickerson P, Bernstein CN. The role of cytokine gene polymorphisms in determining disease susceptibility and phenotype in inflammatory bowel disease. The American journal of gastroenterology. 2005; 100(5):1134-42.
18. Sýkora J, Šubrt I, Dìdek P, Siala K, Schwarz J, Machalová V, et al. Cytokine Tumor Necrosis Factor-alpha A Promoter Gene Polymorphism at Position− 30۸ G→ A and Pediatric Inflammatory Bowel Disease: Implications in Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2006; 42(5):479-87.
19. ipperlen K, Peddle L, Melay B, Hefferton D, Rahman P. Association of TNF-α polymorphisms in Crohn disease. Human immunology. 2005; 66(1):56-9.
20. Balding J, Livingstone WJ, Conroy J, Mynett-Johnson L, Weir DG, Mahmud N, et al. Inflammatory bowel disease: the role of inflammatory cytokine gene polymorphisms. Mediators of inflammation. 2004; 13(3):181-7.
21. Lu Z, Chen L, Li H, Zhao Y, Lin L. Effect of the polymorphism of tumor necrosis factor-α-308 G/A gene promoter on the susceptibility to ulcerative colitis: a meta-analysis. Digestion. 2008; 78(1):44-51.
22. Vatay Á, Bene L, Kovács Á, Prohászka Z, Szalai C, Romics L, et al. Relationship between the tumor necrosis factor alpha polymorphism and the serum C-reactive protein levels in

inflammatory bowel disease. Immunogenetics. 2003; 55(4):247-52.
23. Naderi N, Farnood A, Dadaei T, Habibi M, Balaii H, Firouzi F, et al. Association of Tumor Necrosis Factor Alpha Gene Polymor-phisms with Inflammatory Bowel Disease in Iran. Iranian Journal of Public Health. 2014; 43(5): 630-6.
24. onyadi M, Abdolmohammadi R, Jahanafrooz Z, Somy M-H, Khoshbaten M. TNF-alpha gene polymorphisms in Iranian Azari Turkish patients with inflammatory bowel diseases. Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association. 2014; 20(2):108-9.
25. Karakus N, Kara N, Ulusoy AN, Özaslan C, Bek Y. Tumor necrosis factor alpha and beta and interferon gamma gene polymorphisms in Turkish breast cancer patients. DNA and cell biology. 2011; 30(6):371-7.
26. Park K, Mok J, Ko H, Tokunaga K, Lee M. Polymorphisms of tumour necrosis factors Aand B in breast cancer. European journal of immunogenetics. 2002; 29(1):7-10.
27. Messer G, Spengler U, Jung MC, Honold G, Blömer K, Pape GR, et al. Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron ofthe human TNF-beta gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF-beta production. The Journal of experimental medicine. 1991;173(1):209-19.