Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.13, No.4, Winter 2013, Pages 379- 387

*Apa*I Polymorphism of Vitamin D Receptor Gene and Association with Susceptibility to Tuberculosis

Rashedi J[1], Asgharzadeh M[2], Moaddab SR[2], Amani M[1], Mazani M[1*]

[1]Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
[2]Department of Biotechnology and Microbiology, School of Paramedicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* Corresponding Author. Tel: +984515510052 Fax: +984515513776 E-mail: m.mazani@arums.ac.ir

Received: 10 Jul 2013 Accepted: 22 Oct 2013

ABSTRACT

Background & Objectives: It is estimated that one third of the world's population is infected by *M. tuberculosis*. Because of differences in immune system activity against the invasive microorganisms, the disease is developed only among 10% of them. Vitamin D metabolism and its receptor activity are important factors in human native immune system against tuberculosis. In the present study we investigated *Apa*I polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene and association with susceptibility to tuberculosis.

Method: This study was performed on 84 cases with tuberclosis (male =50, female =34) and 90 controls (male =49, female = 41). DNA was extracted from cases and controls leucocytes and elected sequences amplified in polymerase chain reaction (PCR) procedure by using specific primers. *Apa*I polymorphism of VDR gene evaluated by RFLP technique on PCR products. Finally statistical analysis performed using Chi- square to compare genotype frequencies between cases and controls.

Results: In case and control groups, AA genotype frequency were 34.5% and 33.3% respectively (OR=0.905, 95% CI 0.469-1.747, p = 0.766) and a genotype frequency in patients and control group were 15.47% and 13.3% respectively (OR=0.808, 95% CI 0.333 –1.961, p=0.637).

Conclusion: In the present study we could not find any significant relationship between genotype frequency of *Apa*I (A/a) polymorphism in VDR gene and susceptibility to tuberculosis.

Key words: Tuberculosis; Vitamin D; Polymorphism; Genetics

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

بررسی پلی مورفیسم *Apa*I در ژن گیرنده ویتامین D و حساسیت نسبت به توبرکلوزیس

جلیل راشدی[۱]، محمد اصغرزاده[۲]، سید رضا مؤدب[۲]، مجتبی امانی[۱]، محمد مأذنی[۱]*

[۱] گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران [۲] گروه بیوتکنولوژی و میکروب شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۱۵۵۱۰۰۵۲ فاکس: ۰۴۵۱۵۵۱۳۷۷۶ پست الکترونیک: m.mazani@arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: تخمین زده می شود یک سوم جمعیت دنیا با باسیل سل آلوده هستند ولی بعلت تفاوت در فعالیتهای سیستم ایمنی افراد علیه میکروارگانیسمهای مهاجم، تنها در ۱۰٪ آنها بیماری بصورت بالینی بروز می کند. متابولیسم ویتامین D و فعالیت صحیح گیرنده این ویتامین (VDR) از فاکتورهای مهم تنظیمی در ایمنی ذاتی افراد علیه باسیل سل محسوب می شوند. در مطالعه حاضر ارتباط پلی مورفیسم *Apa*I در ژن VDR با بیماری سل مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار: این مطالعه بر روی ۸٤ بیمار مبتلا به سل ریوی و ۹۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام پذیرفت. از لکوسیتهای خونی تمام افراد در هر دو گروه، DNA استخراج و به کمک تکنیک PCR تکثیر ژنی انجام گرفت. سپس جهت بررسی ناحیه پلی مورفیسمی *Apa*I در ژن VDR، بر روی تمام محصولات PCR، پروسه RFLP اجرا و نهایتاً آنالیزهای آماری با استفاده از فراوانی ژنوتیپی، جهت مقایسه بین مبتلایان به سل ریوی و افراد گروه سالم توسط آزمون مجذور کای انجام پذیرفت.

یافته ها: در گروه بیمار ۵۰ نفر مرد و ۳٤ نفر زن و در گروه کنترل ٤۹ نفر مرد و ٤۱ نفر زن مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی ژنوتیپ AA در گروه بیمار ۳٤/۵٪ و در گروه کنترل ۳۳/۳٪ (p =۰/۷۶۶ ۰/٤۶۹-۱/۷٤۷ CI ٪۹۵ ,OR =۰/۹۰۵) و نیز فراوانی ژنوتیپ aa در گروه بیمار ۱۵/٤۷٪ و در گروه کنترل ۱۳/۳٪ (p = ۰/۶۳۷ ۰/۳۳۳-۱/۹۶۱ CI ٪۹۵ ,۰/۸۰۸ =OR) بدست آمد.

نتیجه گیری: در این مطالعه بین فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم (*Apa*I (A/a در ژن VDR و حساسیت نسبت به بیماری سل در جامعه آماری مربوطه ارتباط معنی داری مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: توبرکلوزیس؛ ویتامین D؛ پلی مورفیسم؛ ژنتیک

دریافت: ۹۲/٤/۱۹ **پذیرش:** ۹۲/۷/۳۰

مقدمه

بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۱، توبرکلوزیس دومین عامل مرگ و میر ناشی از بیماری عفونی در دنیا (بعد از HIV) بوده است. میزان بروز آن ۸/۸ میلیون مورد، با مرگ و میر نزدیک به دو میلیون نفر در سال گزارش شده است [۱،۲]. بیشترین نوع ابتلا آن ریوی بوده و به راحتی از طریق سرفه و تنفس به دیگر افراد سرایت می کند. در ضمن، عفونت با ویروس عامل ایدز که با تضعیف سیستم ایمنی میزبان همراه است عامل مهم گسترش بیماری سل در سال های اخیر بوده است [۳،٤].

تخمین زده می شود، یک سوم جمعیت دنیا با باسیل سل آلوده باشند، ولی تنها در ۱۰٪ آنها بیماری به صورت بالینی بروز می کند. این موضوع حکایت از دخالت عوامل دیگری غیر از خود باکتری دارد که موجب ظهور بیماری در افراد می شود. فاکتورهای مذکور را می توان از عوامل محیطی از جمله: فقر اقتصادی، سوءِ تغذیه، دیابت، استرس و عوامل

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

ژنتیکی که فرد را مستعد ابتلا به بیماری سل می کند، به حساب آورد [۶،۵].

این اختلافات فردی در بروز یا عدم بروز شکل فعال بیماری، زمینه را برای مطالعات گسترده ای در خصوص فاکتورهای ژنتیکی میزبان فراهم کرده است. ژن هایی که استعداد ابتلا به توبرکلوزیس در مورد آنها بیشتر مورد بحث و بررسی است به دو دسته HLA[1] و non-HLA[2] تقسیم بندی می شوند [۷].

از دسته عوامل non-HLA ها: گیرنده ویتامین D (VDR)[3] [۸]، پروتئین ماکروفاژی مرتبط با مقاومت طبیعی از نوع ۱ (NRAMP1)[4] [۹]، لکتین متصل شونده به مانوز (MBL)[5] [۱۰،۱۱]، فاکتور نکروز دهنده توموری (TNF)[6] و اینترلوکین ۱۰ (IL-10)[7] [۱۲] مواردی هستند که بیش از پیش مورد توجه محققین واقع بوده است. بررسی های آزمایشگاهی ثابت کرده اند که مجاورت شکل فعال ویتامین D با منوسیت های انسان که برای این ویتامین گیرنده دارند، با افزایش اتصال و آمیزش فاگوزوم به لیزوزوم درون ماکروفاژها و نیز تحریک سنتز رادیکال آزاد نیتریک اکسید (NO) موجب افزایش توانایی این سلولها در ممانعت از رشد باسیل می گردد [۱۳،۱۴].

ویتامین D یک ویتامین محلول در چربی و یک هورمون استروئیدی می باشد که در کبد به 25-$(OH)D_3$ متابولیزه شده و وارد جریان خون می شود و در خون به پروتئین حامل (VDBP)[8] متصل شده و نهایتاً در کلیه ها و ماکرو فاژها به $1,25(OH)_2D_3$ (شکل فعال ویتامین D) تبدیل می‌شود. همین شکل فعال است که لیگاند اصلی گیرنده ویتامین D بر روی هسته ماکروفاژها محسوب می‌شود. ویتامین D علاوه از نقشهای متعددی در رشد، تکثیر بافتی و دانسیته معدنی استخوان (BMD)[9] یک نقش مهم دیگری به عنوان تنظیم کننده ایمنی ذاتی در میزبان را ایفا می کند [۴،۷،۱۳]. از یک طرف سطح سرمی ویتامین D و از طرفی دیگر فعالیت صحیح گیرنده این ویتامین بر روی هسته ماکرو فاژها (VDR)، در ایفای نقش به عنوان جزئی از ایمنی ذاتی، دو مقوله ای است که می‌تواند در حساسیت یا مقاومت در برابر توبرکلوزیس مورد بحث و پژوهش قرار گیرد [۱۵،۱۶].

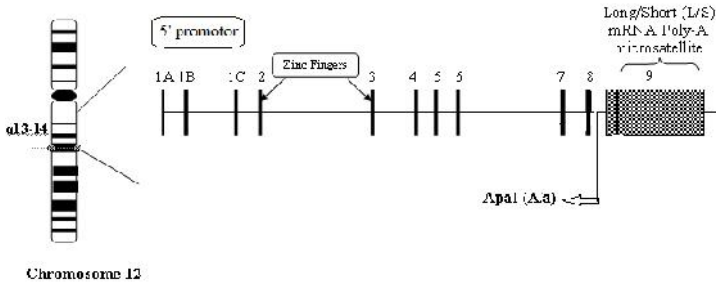
اخیراً پلی مورفیسم های متعددی در ناحیه 3`UTR ازجمله *Apa*I در ژن VDR واقع بر روی کروموزوم ۱۲ (شکل ۱) و نقش این پلی مورفیسم ها در حساسیت یا مقاومت به توبرکلوزیس مورد توجه ویژه قرار گرفته است [۱۷]. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم *Apa*I در ژن گیرنده ویتامین D و حساسیت به توبرکلوزیس بر روی بیماران مسلول به عنوان مورد و افراد سالم به عنوان شاهد انجام یافته است.

روش کار

در این مطالعه با در نظر گرفتن Z_β= ۰/۸۴، Z_α=۱/۹۶، نسبت تعداد افراد در گروه مورد به شاهد: $r_=$ ۱ ، تناسب مواجهه (ژنوتایپ aa) در گروه کنترل: ۰/۰۷ و در گروه مورد: ۰/۲ با استفاده از فرمول $n=(\frac{r+1}{r})\frac{(\bar{p})(1-\bar{p})(Z+Z_{\sim/2})^2}{(p_1-p_2)^2}$ محاسبه گردید. لذا به علت خروج تعداد اندکی از افراد تحت مطالعه (به جهت بیماری دیابت و آلوده بودن به HIV)، بررسی برروی ۸۴ بیمار مبتلا به سل ریوی که از

[1] Human Leucocyte Antigen
[2] non HLA: non- Human Leucocyte Antigen
[3] Vitamin D Receptor
[4] Natural Resistance Associated Macrophage Protein
[5] Mannose Binding Lectin
[6] Tumor Necrosis Factor
[7] Interleukin -10
[8] Vitamin D Binding Protein
[9] Bone Mineral Density

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]



شکل۱. ساختار اگزون- اینترون ژن گیرنده ویتامین D برروی کروموزوم شماره ۱۲ انسانی و محل پلی مورفیسم *ApaI*

ابتدای سال ۱۳۹۱ تا پایان همان سال به مرکز تحقیقات سل و بیماری های ریوی تبریز و نیز مرکز بهداشت استان اردبیل مراجعه کرده بودند انجام گردید. اثبات ابتلا به توبرکلوزیس در گروه بیمار از طریق تهیه اسمیر و کشت از خلط مراجعه کنندگان به روش پتروف (Petroff) و رنگ آمیزی ذیل- نلسون (Ziehl -Neelsen) و نهایتاً بررسی میکروسکوپی آنها صورت پذیرفت [۱۸]. نمونه های گروه شاهد به تعداد ۹۰ نفر از بین پرسنل سالم مرکز تحقیقات سل و بیماری های ریوی تبریز و نیز مرکز بهداشت استان اردبیل و نیز افراد مشکوک مراجعه کننده به مراکز مذکور که ابتلا به بیماری سل در آنها با توسل به معاینات بالینی که توسط پزشک های مراکز مذکور انجام گرفته و نیز توسط روشهای پاراکلینیکی از جمله بررسی لام مستقیم، کشت برروی محیط کشت لون اشتاین -جانسون (Lowenstein– Jensen medium)، رادیو گرافی سینه و تست پوستی توبرکولین (PPD[1]) رد شده بود انتخاب گردید.

از هر دو گروه بیمار و سالم پس از کسب رضایت آگاهانه از ایشان، ۲ میلی لیتر خون وریدی (حاوی ضد انعقاد سیترات سدیم) أخذ گردید. جهت بهره برداری از لکوسیتها برای استخراج DNA، نمونه های خون سانتریفیوژ گردیده و قسمت بافی کوت آنها که مملو از لکوسیت بود به میکرو تیوب های ۱/۵ میلی لیتری منتقل گردید. استخراج DNA با استفاده از پروتکل CTAB[2] اصلاح شده انجام گرفت [۱۱]. طی این پروتکل ابتدا لکوسیتها به مدت ۱۵ ساعت در معرض بافر TE[3] با PH= ۸ و ۱۰٪ SDS[4] و پروتئیناز K (محصول شرکت فرمنتاز: Fermentas) در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد انکوبه گذاری گردیدند. بعد از اتمام زمان انکوباسیون، بر روی تمام نمونه ها NaCl ۵ مولار و همچنین ترکیب CTAB/NaCl اضافه گردید. پس از مخلوط نمودن کامل ترکیبات داخل هر میکروتیوب مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس محلول Chloroform / Iso Amylalchol اضافه گردیده و در g ۱۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. محلول روئین حاصل به میکرو تیوب دیگری منتقل شده و به آن ایزوپروپانول افزوده شد، بعد از مخلوط شدن، به دمای ۲۰- درجه سانتی گراد (به مدت نیم ساعت) منتقل شدند. بعد از اتمام زمان مذکور، جهت ایجاد رسوب DNA در ته میکروتیوب، به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. نهایتاً محلول روئین دور ریخته شده و به رسوب تحتانی، ۱ میلی لیتر اتانول ۷۰٪ سرد اضافه شد و نمونه ها مجدداً در g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. دوباره محلول روئین را دور ریخته و رسوب تحتانی (DNA) در آب دیونیزه حل گردیده و ذخیره سازی شد.

[1] Purified Protein Derivative

[2] Cetyl trimethyl Ammonium Bromide
[3] Tris EDTA buffer
[4] Sodium Dodecyl Sulfate

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

تعیین ژنوتیپ ژن VDR: در این مطالعه پلی مورفیسم *Apa*I از ژن VDR که در اینترون ۸ قرار گرفته است مورد بررسی قرار گرفت. واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR[1]) بر روی نمونه ای که حاوی ۵۰۰-۵۰ نانوگرم DNA بود به همراه پرایمرهای اختصاصی [۱۹] (محصول شرکت جنری بیوتک: Generay Biotech):

5'- CAG AGC ATG GAC AGG GAG CAA-3'
5`-GCA ACT CCT CAT GGC TGA GGT CTC-3'

به غلظت نهایی ۰/۵ میکرومول به همراه بافر ۱۰ X، $MgCl_2$ (۱/۵ میلی مول) dNTP (۱۰۰ میکرومول) و دو واحد آنزیم Taq DNA Polymerase (محصول شرکت سیناژن) اجرا شد.

تکثیر DNA برای تمام نمونه ها در شرایط یکسان در دستگاه ترمال سایکلر(Thermal cycler) با طی پروسه ۶ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد برای Initial denaturation، ۳۵ سیکل (۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی گراد، ۵۰ ثانیه در ۶۷ درجه سانتی گراد برای Annealing، ۶۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد) و نهایتاً ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد برای Final Extension اجرا شد. بعد از اتمام مراحل PCR، محصول مذکور بر روی ژل آگاروز ۱٪ الکتروفورز گردید.

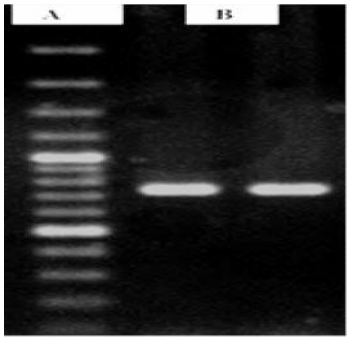
جهت اجرای مرحله RFLP[1]: آنزیم *Apa*I (محصول شرکت ترمو ساینتیفیک: (Thermo Scientific) به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد بر محصولات PCR اثر داده شد. سپس جهت غیر فعال نمودن آنزیم مذکور، محصولات مذکور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند.

محصولات نهایی PCR-RFLP در کنار سایز مارکر Size marker (Ladder):(100bp-Plus، محصول همان شرکت) بر روی ژل آگاروز ۲/۵٪ الکتروفورز گردید.

با توجه به قطعات حاصل، فراوانی هر کدام از الل ها در گروه های مورد و شاهد مشخص گردیده و توسط آزمون مجذور کای (Chi Square) با استفاده از نرم افزار SPSS V.14 آنالیز شدند.

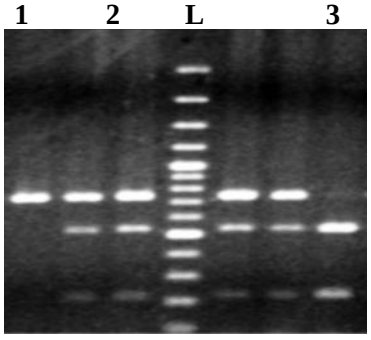
یافته ها

در گروه بیماران به تعداد ۵۰ نفر مرد (۵۹/۵۲٪) و ۳۴ نفر زن (۴۰/۴۷٪) و نیز در گروه شاهد ۴۹ نفر مرد (۵۴/۴۴٪) و ۴۱ نفر زن (۴۵/۵۵٪) مورد بررسی قرار گرفت. در الکتروفوزر محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱٪ باندی به اندازه ۷۴۰bp (base pair) مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱. نتیجه الکتروفورز محصولات PCR برروی ژل آگاروز ۱٪
A ـ سایزمارکر (100 bp – plus : Fermentas company)
B ـ محصول ۷۴۰ bp

محصولات نهایی حاصل از PCR-RFLP در الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۲/۵٪ قطعاتی به اندازه‌های AA (۷۴۰ bp)، (۷۴۰، ۵۳۰، ۲۱۰bp) Aa و (۵۳۰،۲۱۰ bp) aa حاصل شد (شکل ۲).



شکل۲. قطعات حاصل ازاثرآنزیم *Apa*I برمحصولات ۷۴۰ bp
ردیف ۱) ژنوتیپ AA (۷۴۰ bp)

[1] Polymerase Chain Reaction
[1]Restriction Fragment Length Polymorphism

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

ردیف ۲) ژنوتیپ Aa (۷٤۰، ۲۱۰،۵۳۰bp)
ردیف ۳) ژنوتیپ aa (۵۳۰،۲۱۰ bp)
L= سایزمارکر (۱۰۰bp- plus)

فراوانی ژنوتایپی پلی مورفیسم *Apa*I در ژن VDR در بین بیماران و افراد سالم طبق جدول ۱ حاصل شد. با وجود اینکه نسبت شانس بیماری در زنان بیشتر از مردان بود این نسبت از نظر آماری معنی دار نبود.

جدول ۱. فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم *Apa*I در ژن VDR در گروههای مورد وشاهد

ژنوتایپ	فراوانی (٪) بیمار	فراوانی (٪) سالم	نسبت شانس	حدود اطمینان۹۵٪	P Value
Aa	٤۲ (٪۵۰)	٤۸ (٪۵۳/۳)	۱	-	-
AA	۲۹ (٪۳٤/۵۲)	۳۰ (٪۳۳/۳)	۰/۹۰۵	۰/٤۶۹ – ۱/۷٤۷	۰/۷۶۶
aa	۱۳ (٪۱۵/٤۷)	۱۲ (٪۱۳/۳)	۰/۸۰۸	۰/۳۳۳ – ۱/۹۶۱	۰/۶۳۷

(OR ۰/۷۸، ٪۹۵ CI ۰/٤۳ – ۱/٤۲ p =۰/٤۱). بین سن افراد شرکت کننده و ابتلا به بیماری سل نیز ارتباط معنی داری وجود نداشت (p=۰/۲ ۲/۲- ۱۰/٤۲- ٪۹۵ CI ، ٤/۱ = Mean Difference).

بحث

از ۲۲ پلی مورفیسم شناخته شده در ژن VDR، ٤ پلی مورفیسم ژنی مهم که با حساسیت نسبت به توبرکلوزیس مرتبط هستند توسط PCR-RFLP شناسایی شده اند که یکی از آنها *Apa*I در مجاورت ناحیه ژن 3`UTR بوده که نقش تنظیمی در بیان ژن VDR دارد [۱۳،۲۰،۲۱].

با فرض مذکور، احتمال این وجود دارد که پلی مورفیسم *Apa*I بتواند موجبات تغییر در عملکرد پروتئین VDR را فراهم آورد، بنابراین VDR در نهایت نتوانسته بطور موثر با فرم فعال ویتامین D ترکیب شده و فعالیتش در کمک به ماکروفاژها در مهار رشد درون سلولی مایکوباکتریوم بطور آشکارا آسیب ببیند [۷].

طبق بررسیهای به عمل آمده برروی جمعیت رومانی، حضور ژنوتیپ *Apa*I-Aa و احتمال ایجاد حساسیت به توبرکلوزیس معنی دار بوده است [۲۲].

سلواراج[1] و همکارانش [۲۳] در بررسی مشابهی در هند، ژنوتیپ *Taq*I-AA در مردان را با مقاومت در برابر این بیماری محتمل دانسته اند. لارکومب[2] و همکارانش [۲۱] در کشور کانادا آلل های کوچک *Apa*I را در کاهش فعالیت VDR در ارتباط با توبرکلوزیس محسوس یافتند. بر خلاف نتایج مذکور، پلی مورفیسم *Apa*I در ژن VDR در سه کشور گامبیا، گینه، و گینه بیسائو ارتباط معنی داری بین دو گروه مورد و شاهد در ابتلا به بیماری سل نشان نداد (p =۰/۷۵۱) [۶].

در ایران در بررسیهایی که دکتر مرعشیان و همکارانش [۲٤] در بیمارستان مسیح دانشوری تهران انجام دادند معلوم کردند که پلی مورفیسم *Apa*I در ژن VDR در بین دو گروه شاهد و مورد از نظر فراوانی ژنوتیپی تفاوت آماری معنی داری نداشته است. همچنین در یک مقطع زمانی دیگر، دکتر تاجیک و همکارانش [۳] در همان بیمارستان طی یک مطالعه بر روی گروه دیگری (۹۶ بیمار مسلول و ۱۲۲ فرد سالم)، باز به نتیجه ی مشابه نتیجه قبلی دست یافتند. در نتایج مورد بررسی ما در شمال غرب ایران (همانند بررسیهای انجام یافته در تهران) نیز با وجود اینکه نسبت شانس بیماری در ژنوتیپ Aa بیشتر از AA و aa بوده، لیکن به لحاظ آنالیز آماری ارتباط معنی داری بین فراوانی ژنوتیپ های مذکور از *Apa*I در بیماران و افراد سالم بدست نیامد.

با توجه به نتایج حاصل در بررسی های چند سال اخیر در جامعه ایرانی، احتمال دارد سهم این پلی مورفیسم در مقایسه با سه پلی مورفیسم دیگر *Bsm*I, *Fok*I,

[1] Selvaraj
[2] Larcombe

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

*Taq*I در ژن VDR در حساسیت یا مقاومت به توبرکلوزیس کمتر باشد. بررسی این پلی مورفیسمها در ژن VDR به همراه پلی مورفیسم *Apa*I و اثر سینرژیکی آنها با یکدیگر، ما را به قضاوت کامل تری از موضوع رهنمون می سازد. البته کوچک بودن حجم جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق، دخالت فاکتورهای محیطی مخصوصاً میزان غلظت خونی ویتامین D و حضور پلی مورفیسم های دیگر ژنی همچون IL-10، NRAMP1, MBL, TNF-α و ... علاوه از پلی مورفیسمهای ژن VDR، موضوعاتی هستند که نبایستی اثر آنها را نادیده گرفت.

در حالت کلی یک ناهمگونی اساسی در مورد نتایج بررسیها در اقصی نقاط دنیا وجود دارد که نتیجه گیری قطعی را دشوار ساخته است. علت آن را شاید بتوان در ترکیب های مختلف جمعیتی، تعاریف مختلف از مورد و شاهد، حجم کوچک نمونه ها، نژادهای مختلف جمعیتی و غلظت های متفاوت سرمی ویتامین D دانست. که در این بین غلظت سرمی ویتامین D یکی از موضوعات مهم در بحث حساسیت به بیماری سل می باشد، به گونه ای که در اغلب مطالعات و بررسیها، نقص سرمی ویتامین D را با حساسیت نسبت به توبرکلوزیس بطور قوی مرتبط یافته اند [۲۵، ۲۶]. البته اثر ترکیبی و سینرژیکی سطح سرمی این ویتامین با پلی مورفیسمهای ژنی VDR می تواند بصورت جبرانی عمل نماید، به گونه ای که اختلال عملکردی گیرنده ویتامین D، که احتمالاً بر اثر پلی مورفیسمهای ژنی VDR حاصل می شود؛ توسط غلظتهای متفاوت ویتامین D حاصله از مکانیسم فیدبک در بدن جبران شود. همانطور که آپارنا[1] و همکارانش [۱۷] در هند نتیجه گرفتند که غلظت خونی ویتامین D در افرادی که ژنوتیپ آنها بصورت *Taq*I-tt بوده نسبت به افراد غیر *Taq*I-tt بالاتر بوده است، و این افراد نسبت به بیماری سل مقاومتر بوده اند. بنابراین بررسی سطح سرمی ویتامین D به همراه دیگر پلی مورفیسمهای ژنی مرتبط می تواند ما را به نتایج دقیق تری هدایت نماید.

[1] Aparna

نتیجه گیری

در این مطالعه بین فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم *Apa*I (A/a) در ژن VDR و حساسیت نسبت به بیماری سل در جامعه ی آماری مربوطه ارتباط معنی داری مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل مساعدتهای مالی و امکانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (مربوط به پایان نامه شماره ۰۷) و مرکز تحقیقات سل و بیماری های ریوی تبریز بوده است. مولفان مقاله مراتب تقدیر و تشکر را از کارمندان و پرسنل شاغل در آن مراکز دارند.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

References

1- World Health Organization. Global Tuberculosis control. WHO report 2011. Available from: www.who. int/tb/publications/global‌report/2011.

2- Alikhani MY, Aslani MM, Piridougaheh H, Dehghan MH. Comparison of conventional bacteriology with polymerase chain reaction (PCR) technique for rapid diagnosis of tuberculous meningitis. J Ardabil Univ Med Sci. 2007 Aug; 8(2): 167-171 (Full Tex in Persian).

3- Tajik N, Jafari M, Nasiri RM, Mousavi T, Farnia P, Salekmogaddam A. The study of the association between vitamin D receptor common genetic polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis. Razi Journal of Medical Sciences. 2009 Oct; 16 (64): 14-21(Full Tex in Persian).

4- Gao L, Tao Y, Zhang L, Jin Q. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis. Int J Tuberc Lung Dis. 2010 Jan; 14(1): 15-23.

5- Leandro AC, Rocha MA, Cardoso CS, Bonecini-Almeida MG. Genetic polymorphisms in vitamin D receptor, vitamin D-binding protein, Toll-like receptor 2, nitric oxide synthase 2, and interferon-gamma genes and its association with susceptibility to tuberculosis. Braz J Med Biol Res. 2009 Apr; 42(4): 312-22.

6- Bornman L, Campbell SJ, Fielding K, Bah B, Sillah J, Gustafson P, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in west Africa: A case-control and family study. J Infect Dis. 2004 Nov 1; 190(9): 1631-41.

7- Cao S, Luo PF, Li W, Tang WQ, Cong XN, Wei PM. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis among Chinese Han ethnic group. Chin Med J Engl. 2012 Mar; 125(5): 920-5.

8- Kaufmann SH, Cole ST, Mizrahi V, Rubin E, Nathan C. Mycobacterum tuberculosis and the host response. J Exp Med. 2005 Jun 6; 201(11): 1693-7.

9- Merza M, Farnia P, Anoosheh S, Varahram M, Kazampour M, Pajand O, et al. The NRAMPI, VDR and TNF-α gene polymorphisms in Iranian tuberculosis patients: the study on host susceptibility. Braz J Infect Dis. 2009 Aug; 13(4): 252-6.

10- Singla N, Gupta D, Joshi A, Batra N, Singh J, Birbian N. Association of mannose-binding lectin gene polymorphism with tuberculosis susceptibility and sputum conversion time. Int J Immunogenet. 2012 Feb; 39(1): 10-4.

11- Asgharzadeh M, Samadi KH. Comparing mannose binding lectin genetic diversity in intracellular and extracellular pathogens. Afr J Biotechnol. 2007 Sep; 6 (17): 2028-2032.

12- Oral HB, Budak F, Uzaslan EK, Baştürk B, Bekar A, Akalin H, et al. Interleukin-10 (IL-10) gene polymorphism as a potential host susceptibility factor in tuberculosis. Cytokine. 2006 Aug; 35(3-4): 143-7.

13- Selvaraj P. Host genetics and tuberculosis susceptibility. Current Science. 2004 Jan; 86(1): 115-121.

14- Chocano-Bedoya P, Ronnenberg AG. Vitamin D and tuberculosis. Nutr Rev. 2009 may; 67(5): 289-93.

15- Raja A. Immunology of tuberculosis. Indian J Med Res. 2004 Oct; 120(4): 213-32.

16- Berrinton RW, Hawn RT. Mycobacterium tuberculosis, macrophages, and the innate immune response: does common variation matter? Immunol Rev. 2007 Oct; 219: 167-86.

17- Bhanushali AA, Lajpal N, Kulkarni SS, Chavan SS, Bagadi SS, Das BR. Frequency of fokI and taqI polymorphism of vitamin D receptor gene in Indian population and its association with 25- hydroxyvitamin D levels. Indian J Hum Genet. 2009 Sep; 15(3): 108-13.

18- Rafi A, Moaddab SR. Principles of mycobacteriology, 1th ed. Tabriz: Sotoodeh, 2002: 231-240. (In Persian).

19- Carling T, Ridefelt P, Hellman P, Rastad J, Akerström G. Vitamin D receptor polymorphisms correlate to parathyroid cell function in primary hyperparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 1997 Jun; 82(6): 1772-5.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]

20- Larcombe L, Mookherjee N, Slater J, Slivinski C, Singer M, Whaley C, et al. Vitamin D in a northern Canadian first nation population: dietary intake, serum concentrations and functional gene polymorphisms. PLOS One. 2012 Nov; 7(11): e49872.
21- Larcombe LA, Orr PH, Lodge AM, Brown JS, Dembinski IJ, Milligan LC, et al. Functional gene polymorphisms in Canadian aboriginal populations with high rates of tuberculosis. J Infect Dis. 2008 Oct 15; 198(8): 1175-9.
22- Alexandra SG, Georgiana DC, Nicoleta C, Daniela PM, Traian S, Veronica S. ApaI and TaqI polymorphisms of VDR (vitamin D receptor) gene in association with susceptibility to tuberculosis in the Romanian population. Rom Biotech Lett. 2013 Jan-Feb; 18(1): 7956-7962.
23- Selvaraj P, Chandra G, Kurian SM, Reetha AM, Narayanan PR. Association of vitamin D receptor gene variants of BsmI, ApaI and FokI polymorphisms with susceptibility or resistance to pulmonary tuberculosis. Current Science. 2003 Jun; 84(12): 1564-68.
24- Marashian M, Parnia P, Seif SH, Anoosheh S. The frequency of vitamin D receptor gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis (TB) patients and its relation with susceptibility to TB. J Zanjan Univ Med Sci. 2009 Jun; 17 (67): 1-10 (Full Tex in Persian).
25- Nnoaham KE, Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Int J Epidemiol. 2008 Feb; 37 (1): 113–119.
26- Talat N, Perry S, Parsonnet J, Dawood G, Hussain R. Vitamin D deficiency and tuberculosis progression. Emerg Infect Dis. 2010 may; 16(5): 853-855.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-28]