



## ارتباط بین پلی مورفیسم‌های rs2787094 ژن ADAM33 و rs11650354 ژن TBX21 با بیماری آسم در بیماران ایرانی

سارا شاه‌حسینی<sup>۱\*</sup> (MSc)، مریم زارع<sup>۲\*\*</sup> (PhD)

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور مرکز شهر ری، شهر ری، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۲۰ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۱۶)

### چکیده

زمینه: آسم یک بیماری شایع التهابی در مجاری هوایی است که با علائم متغیر و عودکننده مشخص می‌شود. این بیماری باعث التهاب و واکنش بیش از حد مجاری هوایی، انسداد برگشت‌پذیر راه‌های هوایی و تغییر شکل مجاری هوایی شده و با علائمی مانند تنگی نفس، سرفه و خس خس سینه در بیماران همراه است. عوامل محیطی و عوامل ژنتیکی مانند پلی مورفیسم‌های ژنی در بروز آسم دخالت دارند. پلی مورفیسم‌های ژنتیکی عملکرد ژن را تغییر می‌دهند بنابراین در پیشرفت بیماری نقش دارند. بر اساس مطالعات، پلی مورفیسم در ژن‌های ADAM33 و TBX21 در بروز آسم نقش دارند.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق برای اولین بار پلی مورفیسم rs2787094 در ژن ADAM33 و rs11650354 در ژن TBX21 در بیماران ایرانی مبتلا به آسم آلرژیک و افراد سالم بررسی شد. به این منظور نمونه خون از ۳۰ بیمار و ۳۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل تهیه شد. سپس استخراج DNA انجام شده و تکنیک ARMS-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای آلل‌های طبیعی و جهش یافته برای هر پلی مورفیسم انجام شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند بین پلی مورفیسم rs2787094 در ژن ADAM33 و خطر بروز بیماری آسم ارتباط معنی‌داری وجود دارد، در حالی که بین پلی مورفیسم rs11650354 در ژن TBX21 و خطر ابتلا به آسم ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بنظر می‌رسد که پلی مورفیسم rs2787094 در ژن ADAM33 و وجود ژنوتیپ‌های مختلف در این جایگاه نقش مؤثری در بروز آسم در بیماران ایرانی دارد.

واژگان کلیدی: آسم، ژن ADAM33، ژن TBX21، پلی مورفیسم

\*\* تهران، بلوار ارتش، خیابان نخل، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه

## مقدمه

آسم یک بیماری التهابی مزمن است که با شدت‌های مختلف در گروه‌های سنی متفاوت به خصوص کودکان ظاهر شده و در تمام طول عمر همراه فرد است (۱). فعالیت‌های التهابی که عامل آن سیتوکین‌های نوع دو است عامل کلیدی در پاتولوژی آسم می‌باشد (۲). آسم یک بیماری مزمن و ناهمگن راه‌های هوایی است که فنوتیپ‌های متفاوتی دارد. در این بیماری راه‌های هوایی دچار التهابات حاد و مزمن شده و بازسازی آن‌ها صورت می‌گیرد. این امر سبب ضخیم شدن دیواره راه‌های هوایی، فیبروز سلول‌های زیر مخاطی و افزایش توده عضلات صاف می‌شود. در نتیجه راه‌های هوایی به عبور هوا مقاوم شده و جریان هوا محدود می‌شود (۲) و (۳). این بیماری به عنوان یک اختلال شایع تنفسی با دوره‌های مکرر سرفه، خس خس سینه و تنگی نفس مشخص می‌شود. علائم آن متغیر و مکرر بوده و شامل اسپاسم برونش‌ها، انسداد برگشت‌پذیر مسیرهای هوایی و ازدیاد ترشح موکوسی است. همچنین سبب بروز التهاب و تورم در مجاری هوایی شده که نتیجه آن تغییر شکل یا آسیب‌های دائمی مجاری هوایی می‌باشد. علائم ممکن است چند بار در روز یا چند بار در هفته رخ دهند. همچنین در برخی افراد ممکن است علائم بیماری در شب یا با انجام حرکات ورزشی بدتر شود (۲ و ۴).

هر دو عامل ژنتیک (پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی، سابقه خانوادگی) و عوامل محیطی (سیگار و تنباکو، آلرژن‌ها، آلودگی هوا و عفونت‌های میکروبی) در بروز آسم دخالت دارند (۵ و ۶). بعلاوه، سبک زندگی و عواملی از جمله عادات غذایی، کم تحرکی و چاقی ممکن است سبب افزایش شیوع آسم شوند. در این راستا عواملی همچون آلرژن‌ها، افزایش سطح بهداشت، میکروبیوم

انسانی، عفونت‌های ویروسی تنفسی، عفونت‌های باکتریایی حساسیت‌زا، آلودگی هوا، و سایر عوامل در دوران اولیه زندگی و مواجهه شغلی در زمره عوامل خطر ابتلا به آسم می‌باشند (۷ و ۸).

آسم معمولاً به دو دسته آلرژیک و غیرآلرژیک تقسیم می‌شود. شیوع آسم آلرژیک از ۵ درصد در سال ۱۹۹۶ به ۶ درصد در سال ۲۰۰۶ و به ۷/۳ درصد در سال ۲۰۱۶ رسید، در حالی که شیوع آسم غیر آلرژیک ۳/۴ درصد تا ۳/۸ درصد ثابت مانده است (۹). بر اساس آمارها تعداد مبتلایان به آسم در سال ۲۰۱۹ حدود ۲۶۲ میلیون نفر در دنیا بوده و با توجه به گسترش شیوع آن در سراسر جهان، تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۲۵ این میزان به ۴۰۰ میلیون نفر افزایش یابد (۱۰ و ۱۱). از نظر جنسیت، شیوع آسم در زنان بزرگسال بالاتر بوده و میزان آن در زنان ۹ درصد و در مردان ۷ درصد است. همچنین شیوع آن در کودکان بیشتر از بزرگسالان است و در کشورهای فقیرتر سرعت رشد بیشتری دارد (۸، ۱۰ و ۱۱). مؤثرترین درمان کنترل کننده این بیماری استفاده از کورتیکواستروئیدهای استنشاقی است که استفاده از آن‌ها سبب کاهش مرگ و میر می‌شود. برای ارزیابی اثرات درمانی کورتیکواستروئیدهای استنشاقی معمولاً عملکرد ریه مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱۲ و ۱۳). آسم ممکن است سبب ایجاد ناتوانی دائمی یا مرگ زودرس شود. همچنین بر جنبه‌های جسمی، اجتماعی و شغلی افراد مبتلا نیز تأثیر می‌گذارد (۱).

مطالعات مختلف نقش عوامل ژنتیکی را در بروز این بیماری نشان داده‌اند که از میان آن‌ها می‌توان به پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) اشاره نمود. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، جایگزینی یک نوکلئوتید تکی در یک جایگاه خاص در ژنوم می‌باشد، بطوری‌که در بیش از ۱ درصد افراد یک جمعیت وجود داشته

باشد. در واقع این پدیده شامل تغییر یک نوکلئوتید در توالی DNA در ژنوم افراد یک گونه و یا بین یک جفت کروموزوم در یک فرد است و به عنوان معمول‌ترین نوع تفاوت ژنتیکی بین افراد محسوب می‌شود. به عنوان مثال ممکن است در یک جایگاه مشخص در ژنوم انسان نوکلئوتید G در بیشتر افراد وجود داشته باشد، در حالیکه تعداد کمتری از افراد دارای نوکلئوتید A در همین جایگاه ژنومی باشند. به عبارتی دو فرد متفاوت از نظر یک توالی ثابت، فقط در یک نوکلئوتید با هم فرق دارند که نشان‌دهنده وجود پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در این جایگاه است. در این حالت گفته می‌شود که در آن جایگاه دو آلل وجود دارد. در ژنوم انسان حدود ۱۰ میلیون جایگاه دارای پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی وجود دارد که تنوع آلی ایجاد شده در این جایگاه‌ها به‌طور مشخص باعث گوناگونی ترکیب ژنتیکی افراد و یا تنوع ژنتیکی می‌شوند در بین جمعیت انسان‌ها تفاوت‌های گوناگونی وجود دارد، بنابراین یک آلل SNP که در یک منطقه جغرافیایی یا در یک گروه نژادی مشترک است، ممکن است در جمعیتی دیگر کمتر باشد (۱۴ و ۱۵).

تفاوت‌های پلی‌مورفیسم ژنتیکی همچنین تفاوت‌های اپی ژنتیک مانند متیلاسیون که سبب افزایش خطر ابتلا یا افزایش شدت بیماری می‌گردد، در بروز این بیماری دخالت دارند (۱۶ و ۱۷). در بررسی جمعیت‌های مختلف مشخص شده، آلل‌های مشابه، در یک جمعیت سبب افزایش خطر ابتلا و در جمعیت دیگر سبب کاهش خطر ابتلا به آسم می‌شوند. احتمال ابتلا به آسم در افرادی که دارای پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در ژن‌های گیرنده آلفا ۴-IL و ۱۳-IL هستند نسبت به افرادی که این ژنوتیپ‌های خطرزا را ندارند، ۵ برابر است. افزایش بیان یا فعالیت IL-4R و IL-13 عملکرد

مشخص این دو مولکول را در پاتوژنز بیماری آسم نشان می‌دهد (۱۶ و ۱۸).

یکی از ژن‌های مور توجه در بروز آسم ژن ADAM می‌باشد. ژن ADAM زیر مجموعه‌ای از متالو پروتئینازهای وابسته به روی (Zn) است که دارای پروتئین‌های سطحی با خاصیت چسبندگی و پروتئازی می‌باشد. ADAM ژنی با طول ۱۴ کیلو باز است که روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲۰ (20p13) قرار دارد و از ۲۲ اکزون و ۲۱ اینترون تشکیل شده است. این ژن یک ماتریکس متالوپروتئیناز طولی ۸۱۳ اسید آمینه‌ای را کد می‌کند و دارای یک منطقه ترجمه نشدنی طولی در بخش 3' (3'UTR) است و در این ناحیه، ۷ جایگاه پلی‌مورفیسم یا چند شکلی (Polymorphism) وجود دارد (۳ و ۱۸).

ADAM33 عضوی از خانواده ADAM است که با انسان بیشترین ارتباط را داشته و همگی دارای فعالیت پروتئولیتیک هستند (۱۹ و ۲۰). رونویسی ADAM33 ویژگی بافتی را نشان می‌دهد که در سلول‌های عضلات صاف ریوی و فیبروبلاست‌ها بیان بالایی داشته و در سلول‌های اپیتلیال مجاری تنفسی، سلول‌های T و سایر سلول‌های ایمنی با شدت کمتر بیان می‌شوند. تغییر در بیان ADAM33 سبب تغییرات عملکردی در سلول‌های عضلانی صاف مجاری تنفسی و فیبروبلاست می‌شود. همچنین سبب ترمیم سلول‌ها پس از آسیب به سلول‌های اپیتلیال مجاری تنفسی می‌گردد بنابراین ADAM33 در بازسازی مجاری هوایی کوچک و بروز واکنش و التهاب بیش از حد مؤثر است و در بروز آسم دخالت دارد (۲۱-۱۸). این ژن دارای ۱۷۹ جایگاه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) است و تاکنون بیش از ۱۰۰ پلی‌مورفیسم نقطه‌ای در ژن ADAM33 مشخص شده که در بروز آسم دخالت دارند (۳ و ۱۶).

بر اساس مطالعات ADAM33 محرک آنژیوژنز است و می‌تواند به عنوان ژن بازسازی کننده بافت، مستقل از التهاب موجود، سبب انسداد راه‌های هوایی و اختلال عملکرد ریه شود. به علاوه بیان رونوشت این ژن در عضله صاف، فیبروبلاست و میوفیبروبلاست‌ها نشان می‌دهد که ناهنجاری عملکرد این عضلات منجر به حساسیت بیش از حد برونشیا (BHR) و بازسازی دیواره راه‌های هوایی می‌شود که منشاء بروز آسم در سنین پایین است (۳). همچنین افزایش بیان پروتئین ADAM33 نیز در افراد مبتلا به آسم مشاهده شده است (۲۱).

ژن TBX-21 عضوی از خانواده ژن‌های T-box است که عامل رونویسی T-bet (T-box expressed in T cells) را کد می‌کند. T-bet عامل رونویسی است که مسئول تبدیل سلول‌های Th ساده به Th1 می‌باشد. T-bet سبب تولید اینترفرون گاما IFN- $\gamma$  شده و IL-4 و IL-5 را سرکوب می‌کند (۲۰). T-bet نقش مهمی در تنظیم تعادل Th1/Th2 دارد و با تحریک سیتوکین‌های Th1 و مهار سیتوکین‌های Th2 تنظیم Th1 را انجام می‌دهد (۲۲-۲۴).

پلی‌مورفیسم TBX21 ممکن است منجر به عدم تعادل سیتوکین Th1/Th2 شود و سیتوکین‌های Th2 را افزایش دهد. پلی‌مورفیسم TBX21 سبب می‌شود سلول‌های TCD4+ به سمت Th1 متمایز نشده و با پیش فرض قبلی تبدیل به Th2 شوند در نتیجه سبب افزایش سطح IL-5 و IL-4 و افزایش IL-13 در پلاسما می‌شوند (۲۳-۲۵). در بیماری آسم لنفوسیت‌های Th2 در راه‌های هوایی نفوذ می‌کنند. در سلول‌های T که از مجاری تنفسی افراد مبتلا به آسم به دست آمده، کاهش بیان Th1 و فاکتور رونویسی T-bet نسبت به افراد سالم مشاهده شد همچنین کاهش بیان

اینترفرون گاما و افزایش بیان IL-4 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک مشاهده شده است. TBX21 با القای تولید اینترفرون گاما و مهار اینترلوکین‌های IL-4، IL-5، IL-13 و سیتوکین‌های Th2 به عنوان تنظیم کننده Th1 عمل می‌کند. (۲۸-۲۶). موش‌های ناک اوت که فاقد ژن TBX21 هستند، به طور خود به خودی دچار واکنش بیش از حد برونش‌ها و آسم شدند (۲۵). کورتیکواستروئیدهای استنشاقی مؤثرترین و متداول‌ترین روش‌های درمانی در مدیریت آسم هستند. از آنجا که استفاده از کورتیکواستروئیدهای استنشاقی در بیماران مبتلا به آسم ازدیاد حساسیت برونشیا (BHR) را تعدیل می‌کند، می‌توان گفت تفاوت‌های ژنتیکی در TBX21 سبب تغییر فنوتیپ آسم و میزان پاسخ دهی بیمار به این روش درمانی می‌شود. همچنین بنظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن TBX21 می‌تواند سبب بهبود پاسخ‌های راه‌های هوایی به کورتیکواستروئیدهای استنشاقی شود (۱۳ و ۲۹). در مدل‌های سلولی مشخص شد که تفاوت‌های TBX21 سبب افزایش بیان سیتوکین Th1 و کاهش بیان سیتوکین Th2 با شدت‌های متفاوت می‌شود.

بنابراین TBX21 یک عامل فارماکوژنتیک قوی در درمان آسم با کورتیکواستروئیدهای استنشاقی به حساب می‌آید. همچنین مطالعات کاهش میزان رونوشت این ژن را در خون محیطی بیماران مبتلا به آسم نشان داده‌اند (۱۷ و ۲۶).

با توجه به نقش این دو ژن در بروز بیماری آسم، در این مطالعه ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های آلل T rs2787094 و TBX21 rs11650354 و آلل G در ADAM33 با حساسیت ابتلا به آسم آلرژیک بررسی گردیده است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه افراد مورد بررسی شامل بیماران مبتلا به آسم آلرژیک به عنوان گروه بیمار و گروهی از افراد غیرمبتلا و بدون وجود علائم به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. نمونه‌ها از بیماران مراجعه کننده به کلینیک آسم و آلرژی بیمارستان ابن سینا تهران طی یک دوره ۳ ماهه از تیر ۱۴۰۰ تا شهریور ۱۴۰۰ جمع‌آوری شدند. تعداد افراد مورد بررسی شامل ۳۰ فرد مبتلا به آسم آلرژیک به عنوان گروه بیمار و ۳۰ فرد غیر مبتلا به عنوان گروه کنترل می‌باشد. برای انجام این مطالعه، نمونه خون افراد، مورد بررسی قرار گرفت. از هر فرد به میزان ۵ میلی‌لیتر نمونه خون در لوله‌های حاوی EDTA استریل دریافت شد. نمونه‌ها در شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل شدند. اهداف پژوهش برای همه افراد شرکت کننده توضیح داده شد و همه افراد بیمار و گروه کنترل غیربیمار با آگاهی کامل و تکمیل و امضا فرم رضایت آگاهانه در این مطالعه مشارکت نمودند. همچنین ابتلا بیماران به آسم آلرژیک بر اساس سابقه بیماری و وجود پرونده پزشکی و نیز توسط متخصص ریه به همراه انجام تست‌های تخصصی مانند اسپرومتری مورد تأیید قرار گرفت. اطلاعات کلینیکوپاتولوژی بیماران شامل سن، جنس، مصرف

دخانیات و وجود بیماری در سایر افراد خانواده نیز جمع‌آوری گردید. گروه کنترل نیز شامل افراد عادی و غیربیماری بوده که هیچ گونه علائم و یا سابقه خانوادگی آلرژی و آسم و سایر بیماری‌های تنفسی را نداشتند. متعاقباً، استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از کیت تکاپوزیست مدل DYnaBio Blood/Tissue DNA Extraction Mini Kit (شرکت تکاپو زیست، ایران) انجام گرفت. بررسی کمی DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ Nano Drop ND-1000, Thermo (USA) و به روش اسپکتروفتومتری انجام شد. کیفیت DNA استخراج شده، با الکتروفورز مقداری از نمونه DNA بر روی ژل آگارز ۱ درصد انجام شد. سپس برای بررسی وضعیت پلی‌مورفیسم در ژن‌های مورد نظر تکثیر DNAهای استخراج شده با روش ARMS-PCR انجام شد. برای هر یک از نمونه‌های DNA استخراج شده، دو میکروتیوپ، یکی برای حالت نرمال و دیگری برای حالت موتانت در نظر گرفته شده و واکنش ARMS-PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و در دستگاه Thermal cycler (BioRad, USA) انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده (شرکت تکاپو زیست، ایران) در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱) توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های ADAM33 و TBX21

| توالی                 | پرایمر                   |
|-----------------------|--------------------------|
| TGCTGTGACCCGTTTTC     | پرایمر FC برای ژن TBX21  |
| TGCTGTGACCCGTTTTT     | پرایمر FT برای ژن TBX21  |
| GGCTGGGAACAGGATACTG   | پرایمر R برای ژن TBX21   |
| CAGAGGCCAGCCAGGCTC    | پرایمر FC برای ژن ADAM33 |
| CAGAGGCCAGCCAGGCTG    | پرایمر FG برای ژن ADAM33 |
| CCTACATGCAATTTCCACGGA | پرایمر R برای ژن ADAM33  |

به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و سطح معنی داری به میزان کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ( $P < 0/05$ ). چگونگی وقوع دو پلی مورفیسم به سه حالت نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت در دو گروه بیمار و کنترل با استفاده از آزمون خی دو ( $\chi^2$ ) Chi Square مورد بررسی قرار گرفته و با سطح معنی داری مقایسه شد.

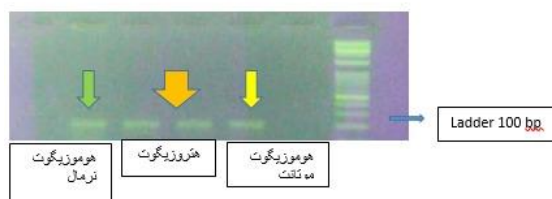
### یافته‌ها

برای بررسی کیفیت DNA استخراج شده، الکتروفورز نمونه های DNA بر روی ژل آگارز ۱ درصد انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده، در تمام نمونه ها DNA بصورت تک باند بوده است و در هیچ کدام از آنها، آلودگی RNA (وجود نوار اضافی در زیر نوار اصلی) مشاهده نشد. برای بررسی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2787094 و rs11650354 در ژن های ADAM33 و TBX21 از تکنیک ARMS-PCR استفاده شد. الکتروفورز محصولات به دست آمده در روش ARMS-PCR برای جفت پرایمر مربوط به پلی مورفیسم rs2787094 مربوط به ژن ADAM33 نشان داده است که افراد در سه گروه هموزیگوت نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت موتانت قرار می گیرند (شکل ۱). در افراد هموزیگوت نرمال با ژنوتیپ CC، فقط در مخلوط واکنش مربوط به پرایمر نرمال محصول PCR بصورت تک باند مشاهده شده است. در این افراد واکنش PCR با پرایمر موتانت هیچ محصولی ایجاد نکرده است که نشان دهنده عدم وجود آلل G در این افراد می باشد.

برای ژن ADAM33 مخلوط واکنش PCR در دو میکروتیوب جداگانه شامل ۱۰ میکرولیتر از Master mix 2X (سیناکلون، ایران)، ۳/۵ میکرولیتر از DNA الگو، ۰/۷۵ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها به همراه ۵ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز (سیناکلون، ایران) آماده سازی شد. متعاقباً مخلوط واکنش در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفته و واکنش PCR تحت شرایط اختصاصی انجام شد. شرایط و پروفایل دمایی به این صورت بوده است: ۱ سیکل برای واسرشتگی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، سپس ۳۲ سیکل تکثیر شامل ۳۰ ثانیه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، ۳۰ ثانیه در دمای  $61/5^{\circ}\text{C}$  و ۳۰ ثانیه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  و ۱ سیکل نهایی در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه. برای ژن TBX21 نیز مخلوط واکنش PCR در دو میکروتیوب جداگانه شامل ۱۰ میکرولیتر از Master mix 2X، ۴ میکرولیتر از DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها و ۴ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز آماده سازی شد. متعاقباً مخلوط واکنش در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفته و واکنش PCR تحت شرایط اختصاصی انجام شد. شرایط مذکور به این صورت بوده است: ۱ سیکل برای واسرشتگی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، سپس ۳۰ سیکل تکثیر شامل ۳۰ ثانیه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، ۳۰ ثانیه در دمای  $62/5^{\circ}\text{C}$  و ۳۰ ثانیه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  و ۱ سیکل نهایی در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه. صحت PCR با انجام الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز (Merk, Germany) ۱ درصد پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید (Merk, Germany) زیر نور UV بررسی گردید. در این مطالعه ابتدا توصیف داده های جمعیت شناختی و سپس آزمون های آمار استنباطی انجام شد. نتایج

TBX21 نیز مشخص شده است که افراد در سه گروه هموزیگوت نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت موتانت قرار می‌گیرند (شکل ۲). افراد هموزیگوت نرمال دارای ژنوتیپ CC بوده و فقط در مخلوط واکنش مربوط به پرایمر نرمال دارای محصول PCR می‌باشند. عدم ایجاد محصول تک باند در واکنش PCR با پرایمر موتانت نشان می‌دهد که این افراد فاقد آلل موتانت T می‌باشند. افراد هتروزیگوت دارای ژنوتیپ CT بوده و دارای محصول PCR تک باند در هر دو مخلوط واکنش (با پرایمر حالت موتانت و پرایمر حالت نرمال) می‌باشند. همچنین در افراد هموزیگوت موتانت با ژنوتیپ TT، فقط در مخلوط واکنش مربوط به پرایمر موتانت محصول PCR بصورت تک باند مشاهده شده است. در این افراد نیز عدم تشکیل محصول PCR با پرایمر نرمال، نشان‌دهنده عدم وجود آلل C در این افراد می‌باشد.

عکس ژل ADAM33 (123 bp)



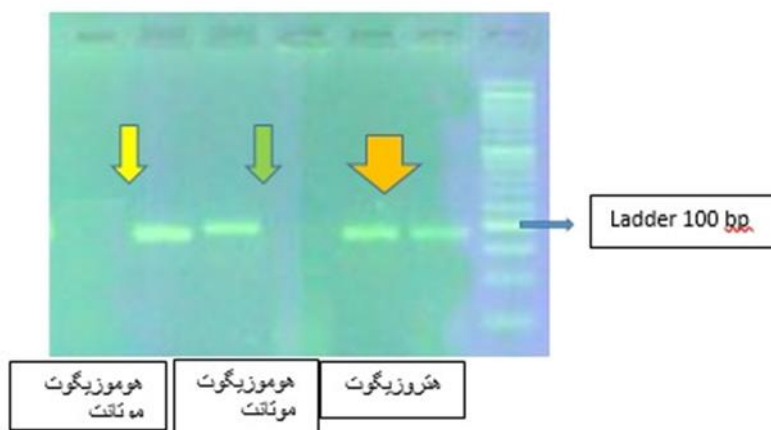
شکل ۱) الکتروفورز محصولات PCR در روش ARMS-PCR

مربوط به پلی‌مورفیسم جایگاه rs2787094 در ژن ADAM33: فلش سبز نشانگر فرد هموزیگوت نرمال با ژنوتیپ CC است. فلش نارنجی نشان‌دهنده فرد هتروزیگوت با ژنوتیپ CG است و فلش زرد نشان‌دهنده فرد هموزیگوت موتانت با ژنوتیپ GG است. اندازه باند ۱۲۳bp می‌باشد.

Fig 1) Electrophoresis of ARMS-PCR products for rs2787094 polymorphism of ADAM33. Green arrow shows the normal homozygote person (CC). Orange arrow shows heterozygote person (CG) and yellow arrow shows mutant homozygote person (GG). The size of band is 123bp.

با بررسی محصولات ARMS-PCR برای جفت پرایمر مربوط به پلی‌مورفیسم جایگاه rs11650354 در ژن

TBX21 (153 bp)



شکل ۲) الکتروفورز محصول PCR در روش ARMS-PCR برای جفت پرایمر مربوط به پلی‌مورفیسم rs11650354 در ژن TBX21: فلش سبز نشانگر فرد هموزیگوت نرمال CC است. فلش نارنجی نشانگر فرد هتروزیگوت با ژنوتیپ CT است و فلش زرد نشانگر فرد هموزیگوت موتانت با ژنوتیپ TT است. اندازه باند ۱۵۳ bp می‌باشد.

Fig 2) Electrophoresis of ARMS-PCR products for rs11650354 polymorphism of TBX21. Green arrow shows the normal homozygote person (CC). Orange arrow shows heterozygote person (CT) and yellow arrow shows mutant homozygote person (TT). The size of band is 153bp.

در این مطالعه ۶۰ نمونه خون (۳۰ بیمار و ۳۰ کنترل نرمال) مورد بررسی قرار گرفتند. فراوانی و درصد پلی مورفیسم rs2787094 در ژن ADAM33 در دو گروه بیمار و کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است.

| جدول ۲) فراوانی و درصد پلی مورفیسم rs2787094 در ژن ADAM33 در دو گروه بیمار و کنترل |             |        |       |        |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------|-------|--------|
| ADAM33 (rs2787094)                                                                 |             |        |       |        |
| ژنوتیپ‌ها                                                                          |             | بیمار  | کنترل | کل     |
| ژنوتیپ CC                                                                          | تعداد       | ۴      | ۱۸    | ۲۲     |
|                                                                                    | % داخل گروه | ۱۳/۳ % | ۶۰ %  | ۳۶/۷ % |
| ژنوتیپ CG                                                                          | تعداد       | ۱۶     | ۹     | ۲۵     |
|                                                                                    | % داخل گروه | ۵۳/۳ % | ۳۰ %  | ۴۱/۷ % |
| ژنوتیپ GG                                                                          | تعداد       | ۱۰     | ۳     | ۱۳     |
|                                                                                    | % داخل گروه | ۳۳/۳ % | ۱۰ %  | ۲۱/۷ % |
| کل                                                                                 | تعداد       | ۳۰     | ۳۰    | ۶۰     |
|                                                                                    | % داخل گروه | ۱۰۰ %  | ۱۰۰ % | ۱۰۰ %  |

به ۶۰ درصد می‌رسد (جدول ۲). از آنجا که سطح معنادار آماری (P value) کمتر از ۰/۰۰۱ است، این نتایج نشان می‌دهد که بین این پلی مورفیسم و خطر بروز بیماری ارتباط معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0/001$ ) (جدول ۳).

میزان بروز ژنوتیپ هموزیگوت موتانت GG در افراد بیمار ۳۳/۳ درصد و در افراد سالم ۱۰ درصد است. میزان بروز ژنوتیپ هتروزیگوت CG در افراد بیمار ۵۳/۳ درصد و در افراد سالم ۳۰ درصد است. در حالیکه میزان بروز ژنوتیپ هموزیگوت نرمال CC در افراد بیمار تنها ۱۳/۳ درصد بوده که این میزان در افراد نرمال

| جدول ۳) بررسی رابطه بین پلی مورفیسم rs2787094 وخطر بروز بیماری در دو گروه بیمار و کنترل |         |    |             |           |           |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------|----|-------------|-----------|-----------|-------|
|                                                                                         | P.value | X2 | تعداد(درصد) |           |           |       |
|                                                                                         |         |    | ژنوتیپ      |           |           |       |
|                                                                                         |         |    | GG          | CG        | CC        |       |
| ۰/۰۰۱                                                                                   | ۱۴/۶۳۸  |    | ۱۰ (٪۲۳/۳)  | ۱۶(٪۵۳/۳) | ۴ (٪۱۳/۳) | نرمال |
|                                                                                         |         |    | ۳(٪۱۰)      | ۹ (٪۶۰)   | ۱۸(٪۶۰)   | بیمار |

در افراد بیمار ۳۳/۳ درصد و در افراد سالم ۳۰ درصد است. میزان بروز ژنوتیپ هموزیگوت نرمال در افراد بیمار ۴۰ درصد و در افراد نرمال ۲۰ درصد است (جدول ۴).

جدول ۴ فراوانی و درصد پلی مورفیسم جایگاه rs11650354 در ژن TBX21 را در دو گروه بیمار و کنترل نشان می‌دهد. میزان بروز ژنوتیپ هموزیگوت موتانت TT در افراد بیمار ۲۶/۷ درصد و در افراد سالم ۵۰ درصد است. میزان بروز ژنوتیپ هتروزیگوت CT



| جدول ۴) فراوانی و درصد پلی‌مورفیسم rs11650354 در ژن TBX21 در دو گروه بیمار و کنترل |                      |             |            |             |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------|------------|-------------|
| ژنوتیپ‌ها                                                                          |                      | بیمار       | کنترل      | کل          |
| ژنوتیپ CC                                                                          | تعداد<br>% داخل گروه | ۱۲<br>۴۰٪   | ۶<br>۲۰٪   | ۱۸<br>۳۰٪   |
| ژنوتیپ CT                                                                          | تعداد<br>% داخل گروه | ۱۰<br>۳۳/۳٪ | ۹<br>۳۰٪   | ۱۹<br>۳۱/۷٪ |
| ژنوتیپ TT                                                                          | تعداد<br>% داخل گروه | ۸<br>۲۶/۷٪  | ۱۵<br>۵۰٪  | ۲۳<br>۳۸/۳٪ |
| کل                                                                                 | تعداد<br>% داخل گروه | ۳۰<br>۱۰۰٪  | ۳۰<br>۱۰۰٪ | ۶۰<br>۱۰۰٪  |

براساس نتایج بدست آمده، از آنجا که سطح معناداری (P value) بیشتر از ۰/۰۵ است بین پلی‌مورفیسم rs11650354 و خطر بروز بیماری ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ( $P=0/123$ ) (جدول ۵).

| جدول ۵) بررسی رابطه بین پلی مورفیسم rs11650354 و خطر بروز بیماری در دو گروه بیمار و کنترل |       |             |            |          |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------|------------|----------|-------|
| P.value                                                                                   | X2    | تعداد(درصد) |            |          |       |
|                                                                                           |       | ژنوتیپ      |            |          |       |
|                                                                                           |       | GG          | CG         | CC       |       |
|                                                                                           |       |             |            |          |       |
| ۰/۱۲۳                                                                                     | ۴/۱۸۳ | ۱۵ (۵۰٪)    | ۹ (۳۰٪)    | ۶ (۲۰٪)  | نرمال |
|                                                                                           |       | ۸ (۲۶٪/۷)   | ۱۰ (۳۳٪/۳) | ۱۲ (۴۰٪) | بیمار |

هیستامین‌ها منجر به التهاب و واکنش بیش از حد مجاری هوایی، انسداد برگشت‌پذیر راه‌های هوایی و تغییر شکل مجاری هوایی می‌شود (۱ و ۲). عوامل محیطی مانند دود تنباکو، آلودگی هوا، مواد آلرژی‌زا به همراه عوامل ژنتیکی مثل چند شکلی ژنتیکی و سابقه خانوادگی در ایجاد آسم نقش قابل توجهی دارند (۵). تعدادی از ژن‌های درگیر در سیستم ایمنی و التهاب در افزایش خطر ابتلا به این بیماری دخیل هستند. در این راستا، در یک مطالعه در سال ۲۰۰۶، بیش از ۱۰۰ ژن دخیل در ایجاد بیماری آسم شناسایی شد که این تعداد نیز در حال افزایش است. با این حال، این تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های مختلف، نتایج متفاوتی را نشان داده است (۶).

هیچ یک از پارامترهای سن، جنس، مصرف دخانیات و وجود بیماری در سایر افراد خانواده با پلی‌مورفیسم‌های rs11650354 در ژن TBX21 و rs2787094 در ژن ADAM33 رابطه معنی‌دار نداشتند. به عبارت دیگر این دو پلی‌مورفیسم مستقل از پارامترهای بررسی شده در این پژوهش بودند.

## بحث

آسم یک بیماری شایع التهابی مزمن در مجاری هوایی ریه در کودکان و بزرگسالان در سراسر جهان است. این بیماری با علائم متغیر و عود کننده مشخص می‌شود و با دخالت اجزای درگیر در سیستم ایمنی از جمله لنفوسیت T، ماکروفاژها، ائوزینوفیل، کموکاین‌ها و

از سوی دیگر، پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) به عنوان رایج‌ترین نوع تغییرات ژنتیکی در میان افراد و عامل مؤثری در ایجاد تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها می‌باشند. وجود بیش از ۱۰ میلیون جایگاه دارای پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژنوم انسان و تنوع آلی حاصل از آن باعث می‌شود که فراوانی آلل‌های مختلف یک ژن در بین جمعیت‌ها، اقوام، نژادها و مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت باشد. وجود برخی آلل‌ها نیز با صفات فنوتیپی خاص از جمله استعداد ابتلا به بیماری‌ها و یا نحوه پاسخ به درمان تأثیرگذار است (۱۴ و ۱۵).

همچنین چندشکلی ژنتیکی ممکن است عملکرد ژن را تغییر دهد، بنابراین در پیشرفت بیماری نقش دارد (۳، ۱۴ و ۱۷). در مطالعه‌ای که توسط وان اردوق (Van Eerdewegh) و همکاران، انجام شد، پهنای ژنوم در ۴۶۰ خانواده سفید پوست بررسی شده و مشخص گردید ناحیه‌ای در کروموزوم 20p13 با میزان شیوع آسم و حساسیت بیش از حد برونش ارتباط دارد. پایش ۱۳۵ پلی مورفیسم در ۲۳ ژن مشخص کرد ژن ADAM33 ارتباط قابل توجهی با بروز آسم دارد و ژن ADAM33 به عنوان ژن مرتبط با آسم مشخص گردید (۱۸).

در مطالعه‌ای که توسط مارتینز (Martinez) و همکاران، انجام شد، تعامل عوامل محیطی همزمان با پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی CD14/-15 بررسی شده و تعامل ژن با محیط مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی‌ها تعاملات پیچیده بین ژن و محیط را نشان داده‌اند (۵). روان (Ruan) و همکاران، با بررسی ۱۸ پلی مورفیسم از ۷ ژن در کودکان چینی مبتلا به آسم نشان دادند که ۹ پلی مورفیسم ژن‌های IL-4، IL-13، ADAM33 و VDR با خطر ابتلا به آسم در ارتباط بوده و در بین آن‌ها ۴ پلی مورفیسم شامل F+1، T2، T1، ST+4 مربوط به ژن ADAM33 بوده است (۳۰).

در مطالعه‌ای که توسط لی (Lee) و همکاران، انجام شد، ژن ADAM33 در افراد مبتلا به آسم و افراد سالم به عنوان گروه کنترل بررسی گردید. از بین ۱۴ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی بررسی شده، پنج مورد شامل پلی مورفیسم‌های V4C>GG>A، T1T>C، V-1c>A، S1، V1T>A با آسم در ارتباط بودند (۳۱).

مطالعه انجام شده توسط فولی (Foley) و همکاران، نیز نشان داده است که ADAM33 به عنوان عامل خطر برای بروز آسم و حساسیت بیش از حد برونشial بوده و به عنوان ژن مؤثر در بازسازی مجاری هوایی می‌باشد. در این بررسی میزان بیان پروتئین و mRNA دو ژن ADAM8 و ADAM33 در بیوپسی برونشial افراد مبتلا به آسم بررسی شده و با افراد کنترل مقایسه گردید. میزان بیان رونوشت ADAM33 در افراد مبتلا به آسم متوسط تا شدید در مقایسه با افراد سالم و افراد مبتلا با شدت ملایم به میزان قابل توجهی افزایش نشان داده و این افزایش بیان با افزایش شدت بروز آسم مرتبط می‌باشد (۳۲). تریپاتی (Tripathi) و همکاران نیز نشان داده‌اند که میزان بیان پروتئین ADAM33 در اپیتلیوم، عضلات صاف و سلول‌های مزانشیال افراد مبتلا به آسم نسبت به افراد سالم بیشتر است. اما ارتباطی بین میزان بیان این پروتئین با شدت آسم مشخص نشد (۲۱). نتایج بدست آمده از مطالعه زند کریمی و همکاران بر روی ژن ADAM33 نیز ارتباط پلی مورفیسم ADAM33 را با بروز بیماری آسم نشان داده است (۳۳). دنگ (Deng) و همکاران، نیز نشان داده‌اند که پلی مورفیسم T1 (rs2280091) در ژن ADAM33 با خطر ابتلا به آسم در جمعیت کودکان آسیایی ارتباط دارد (۳۴).

ژن (A disintegrin and metalloprotease 33) ADAM33 بر روی کروموزوم 20p13 قرار داشته و یکی از اولین ژن‌های شناسایی شده مرتبط با بروز آسم

می‌باشد. این ژن یکی از اعضای خانواده ADAM است که متالوپروتئازهای وابسته به روی (Zn) هستند. ADAM33 دارای ۲۲ اگزون بوده و یک توالی سیگنال و چندین دومین شامل یک دومین اولیه، یک دومین کاتالیتیکی، یک دومین غنی از سیستئین، یک دومین فاکتور رشد اپیدرمی، یک دومین تراغشایی و یک دومین سیتوپلاسمی را به همراه یک منطقه ترجمه نشدنی بلند در بخش 3' کدگذاری می‌کند. این دومین‌های مختلف مسئول عملکردهای مختلف بیولوژیکی هستند که شامل فعال شدن سلول، پروتئولیز، چسبندگی، هم‌جوشی و سیگنالینگ داخل سلولی می‌باشد (۲۱-۱۹).

شواهد نشان داده است که ADAM33 به عنوان یک ژن هدف حساسیت به آسم عمل می‌کند. پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی ممکن است عملکرد ژن‌ها را تغییر داده و از اینرو در پیشرفت و ایجاد بیماری مؤثر باشند. تاکنون تعدادی از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ژن ADAM33 که با بروز آسم مرتبط بوده‌اند شناسایی شده‌اند برخی از آن‌ها عبارتند از (C/G)، (3'UTR، rs2787094)، (V4، G/A)، (T + 1، rs2280089، intron)، (G/A)، (T2(rs2280090، cytoplasmic domain)، و (G/C)، (S2(rs528557، transmembrane domain). همچنین مشخص شده که برخی از این جایگاه‌های پلی‌مورفیک منحصراً در جمعیت‌های مشخص با بروز آسم مرتبط هستند (۳). بنابراین در این مطالعه پلی‌مورفیسم V4 و وجود آلل G در جایگاه rs2787094 ژن ADAM33 در جمعیت بیماران ایرانی بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که که بین این پلی‌مورفیسم و خطر بروز بیماری ارتباط معنی‌داری وجود دارد. در همین راستا مطالعه انجام

شده توسط زند کریمی و همکاران به عنوان تنها مطالعه انجام شده در ایران نیز نتایجی مشابه با مطالعه حاضر را نشان داده است. در مطالعه مذکور که در سال ۲۰۱۴ در ایران و در سطح شهر مشهد انجام شد، تعداد ۹۵ بیمار مبتلا به آسم و ۸۶ فرد سالم به عنوان گروه کنترل از نظر SNP‌های V4، S1، T2 و T1 در ژن ADAM33 بررسی شدند. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم آلل C در جایگاه (rs2280091) T1 با بروز آسم شدید و پلی‌مورفیسم آلل G در جایگاه (rs2787094) V4 نیز با ابتلا به آسم با شدت متوسط ارتباط معنی‌داری دارد (۳۳).

لازم به ذکر است که با توجه به وجود اقوام و قومیت‌های مختلف در جمعیت ایران و اهمیت پدیده پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ایجاد تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها، بررسی این پلی‌مورفیسم در مناطق مختلف کشور و مقایسه نتایج حاصله با اهمیت بنظر می‌رسد. همچنین، بررسی انجام شده توسط لی (Li) و همکاران، نیز نشان داده است که پلی‌مورفیسم (rs2787094) V4 با بروز آسم در جمعیت قفقازی مرتبط بوده و از نظر رده سنی نیز این پلی‌مورفیسم با خطر بروز آسم در بزرگسالان ارتباط مؤثری دارد (۳). بعلاوه ژنگ (Zheng) و همکاران، نشان داده‌اند پلی‌مورفیسم V4 در ژن ADAM33 با بروز آسم مرتبط است و می‌تواند به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص زودهنگام این بیماری بکار رود (۳۵). مطالعه انجام شده در جمعیت اقوام مغول نیز مشخص نموده است که پلی‌مورفیسم V4 در میان این افراد با بروز آسم مرتبط است در حالیکه پلی‌مورفیسم T2 ارتباط مؤثری با بروز آسم در این قومیت ندارد (۳۶).

ژن TBX21 کد کننده فاکتور رونویسی T-box (T-bet) است و برای تکوین طبیعی لنفوسیت T و

تولید اینترفرون گاما حیاتی است. فاکتور رونویسی که توسط TBX21 کد می‌شود رشد لنفوسیت‌های T نابالغ را تنظیم می‌کند. این فاکتور در تبدیل سلول‌های Th به Th1 نقش دارد. همچنین از طریق القای IFN- $\gamma$  و مهار سایتوکاین‌هایی از جمله IL-4, IL-5, IL-3, IL-13 موجب برقراری تعادل و تنظیم فعالیت Th2 /Th1 می‌شود (۲۳ و ۲۴). در برخی از مطالعات نشان داده شد که چندشکلی‌های TBX21 با آسم در ارتباط است (۲۵). بنظر می‌رسد که وجود واریانت‌های مختلف این ژن می‌تواند میزان ابتلای افراد به آسم را در جمعیت‌های مختلف تحت تأثیر قرار دهد.

در بررسی که توسط تانتیسیرا (Tantisira) و همکاران، انجام شد، ارتباط پلی‌مورفیسم TBX21 با میزان پاسخ‌دهی به داروهای کورتیکواستروئید تعیین گردید. در این مطالعه مشخص شد که پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2240017 (H33Q) در ژن TBX21 که هیستیدین ۳۳ را با گلوتامین جایگزین می‌کند، به میزان قابل توجهی سبب بهبود پاسخ‌دهی راه هوایی می‌شود (۲۶). بطور مشابهی بررسی یی (Ye) و همکاران، نیز نشان داده است که میزان کنترل و درمان آسم با کورتیکواستروئیدهای استنشاقی با پلی‌مورفیسم rs2240017 (H33Q) در بیماران مرتبط است (۲۹). همچنین لوپرت (Lopert) و همکاران، با بررسی پلی‌مورفیسم rs9910408 در ژن TBX21 در بیماران بالغ مبتلا به آسم که به مدت سه سال تحت درمان با کورتیکوئیدهای استنشاقی (ICS) بودند، نشان دادند که ارتباط مؤثری بین این پلی‌مورفیسم و پاسخ به درمان وجود دارد، بطوریکه وجود یک ژنوتیپ خاص در افراد مبتلا باعث پاسخ مؤثرتر و بهتر به درمان می‌شود (۱۳). مطالعه انجام شده توسط شارما (Sharma) و همکاران، نشان داده است که وجود پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی

در جایگاه rs4794067 (C>T) ژن TBX21 بطور مؤثری با خطر ابتلا به آسم و نیز شدت بیماری در جمعیت هندی مرتبط است، در حالیکه پلی‌مورفیسم rs16947078 (G>A) در این ژن ارتباطی با خطر ابتلا به آسم و یا شدت بروز آن ندارد (۲۵).

در این مطالعه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در جایگاه rs11650354 در ژن TBX21 بررسی شد و نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که وجود آلل‌های مختلف در این جایگاه ارتباط مؤثری با خطر بروز بیماری آسم ندارد. در این رابطه مطالعه انجام شده توسط مونته -کاس (Munthe-kass) و همکاران، نشان داده است که پلی‌مورفیسم rs11650354 به همراه پلی‌مورفیسم rs16947078 در ژن TBX21 با بروز آسم آلرژیک در کودکان ارتباط مؤثری دارند (۲۲).

در همین راستا، برخی مطالعات انجام شده در ایران نیز ارتباط پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی سایر ژن‌ها را با بیماری آسم نشان داده‌اند. شیرزاد و همکاران نشان داده‌اند، که پلی‌مورفیسم insertion/deletion 5383-5397 در ژن TIM-1 (T-cell immunoglobulin mucin) با بروز بیماری آسم و سطح IgE تام سرمی مرتبط است (۳۷). مطالعه صدری و همکاران نیز ارتباط پلی‌مورفیسم 4259 G>T در ژن TIM-3 را با بروز بیماری آسم نشان داده است (۳۸). مطالعه نادری و همکاران نیز نشان داد که پلی‌مورفیسم ژن HPA-1 (آنتی ژن پلاکت انسانی-۱) ارتباط معناداری با بروز بیماری آسم ندارد، با این وجود فراوانی آلل Ia و ژنوتیپ Ia+Ia با شدت آسم ارتباط مستقیم دارد (۳۹).

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داده است که پلی‌مورفیسم rs2787094 در ژن ADAM33 و وجود ژنوتیپ‌های

ADAM33 و TBX21 و البته در جامعه آماری بزرگ‌تر و با تعداد نمونه بیشتر می‌تواند اطلاعات دقیق‌تر و کامل‌تری را در مورد نقش این دو ژن در بروز بیماری آسم در جمعیت ایرانی مشخص نماید. تحقیق مورد نظر تحت حمایت مالی سازمان یا مؤسسه‌ای نبوده و با هزینه دانشجو انجام شده است.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

مختلف در این جایگاه نقش مؤثری در بروز آسم در بیماران ایرانی دارد. با توجه به اینکه پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ممکن است در جمعیت‌های مختلف و رده‌های سنی متفاوت، عملکرد متفاوتی داشته باشد و نیز واریانت‌های اختصاصی ژن‌های مرتبط با آسم، باعث پاسخ‌های متفاوتی به درمان می‌شوند (۳۵)، از اینرو رویکرد درمان شخصی (personalized medicine) بر اساس ژنوتیپ افراد می‌تواند یکی از روش‌های درمانی مهم در آینده باشد. در این راستا با توجه به جامعه آماری نسبتاً کوچک در این مطالعه، بررسی‌های دقیق‌تر و بیشتر در مورد پلی‌مورفیسم‌های مورد نظر در این مطالعه و نیز سایر پلی‌مورفیسم‌ها در ژن‌های

### References:

1. Nunes C, Pereira AM, Morais-Almeida M. Asthma costs and social impact. *Asthma Res Pract* 2017; 3: 1. doi: [10.1186/s40733-016-0029-3](https://doi.org/10.1186/s40733-016-0029-3).
2. Patadia MO, Murrill LL, Corey J. Asthma: symptoms and presentation. *Otolaryngol Clin North Am* 2014; 47(1): 23-32. doi: [10.1016/j.otc.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.otc.2013.10.001).
3. Li Hf, Yan Lp, Wang K, et al. Association between ADAM33 polymorphisms and asthma risk: a systematic review and meta-analysis. *Respir Res* 2019; 20(1): 38. doi: [10.1186/s12931-019-1006-1](https://doi.org/10.1186/s12931-019-1006-1).
4. Fuchs O, Bahmer T, Rabe KF, et al. Asthma transition from childhood into adulthood. *Lancet Respir Med* 2017; 5(3): 224-34. doi: [10.1016/S2213-2600\(16\)30187-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(16)30187-4).
5. Martinez FD. Genes, environments, development and asthma: a reappraisal. *Eur Respir J* 2007; 29(1): 179-84. doi: [10.1183/09031936.00087906](https://doi.org/10.1183/09031936.00087906).
6. Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun* 2006; 7(2): 95-100. doi: [10.1038/sj.gene.6364284](https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364284).
7. Lu KD, Forno E. Exercise and lifestyle changes in pediatric asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2020; 26(1): 103-111. doi: [10.1097/MCP.0000000000000636](https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000636).
8. Molarius A, Hasselgren M. Socioeconomic status, lifestyle factors and asthma prevalence: results from a population-based study in Sweden. *Scand J Public Health* 2021; 14034948211060821. doi: [10.1177/14034948211060821](https://doi.org/10.1177/14034948211060821).
9. Backman H, Räisänen P, Hedman L, et al. Increased prevalence of allergic asthma from 1996 to 2006 and further to 2016-results from three population surveys. *Clin Exp Allergy* 2017; 47(11): 1426-1435. doi: [10.1111/cea.12963](https://doi.org/10.1111/cea.12963).
10. Stern J, Pier J, Litonjua AA. Asthma epidemiology and risk factors. *Semin Immunopathol* 2020; 42(1): 5-15. doi: [10.1007/s00281-020-00785-1](https://doi.org/10.1007/s00281-020-00785-1).
11. Song P, Adeloye D, Salim H, et al. Global, regional, and national prevalence of asthma in 2019: a systematic analysis and modelling study. *J Glob Health* 2022; 12: 04052. doi: [10.7189/jogh.12.04052](https://doi.org/10.7189/jogh.12.04052).
12. Al Huneiti R, Saeed B, Nusr R, et al. National clinical guidelines: The diagnosis and management of asthma in adults. *Qatar Med J* 2022; 2022(2): 12. doi: [10.5339/qmj.2022.fqac.12](https://doi.org/10.5339/qmj.2022.fqac.12).

13. Lopert A, Rijavec M, Žavbi M, et al. Asthma treatment outcome in adults is associated with rs9910408 in TBX21 gene. *Sci Rep* 2013; 3: 2915. doi: [10.1038/srep02915](https://doi.org/10.1038/srep02915).
14. Robert F, Pelletier J. Exploring the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Translation. *Front Genet* 2018; 9: 507. doi: [10.3389/fgene.2018.00507](https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00507).
15. Shastry BS. SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods Mol Biol* 2009; 578: 3-22. doi: [10.1007/978-1-60327-411-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1).
16. Shi F, Zhang Y, Qiu C. Gene polymorphisms in asthma: a narrative review. *Ann Transl Med* 2022; 10(12): 711. doi: [10.21037/atm-22-2170](https://doi.org/10.21037/atm-22-2170).
17. Ranjbar M, Whetstone CE, Omer H, et al. The Genetic Factors of the Airway Epithelium Associated with the Pathology of Asthma. *Genes (Basel)* 2022; 13(10): 1870. doi: [10.3390/genes13101870](https://doi.org/10.3390/genes13101870).
18. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002; 418(6896): 426-30. doi: [10.1038/nature00878](https://doi.org/10.1038/nature00878).
19. Tripathi P, Awasthi S, Gao P. ADAM Metalloproteinase Domain 33 (ADAM33): A Promising Target for Asthma. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 572025. doi: [10.1155/2014/572025](https://doi.org/10.1155/2014/572025).
20. Holgate ST, Davies DE, Powell RM, et al. ADAM33: a newly identified gene in the pathogenesis of asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 2005; 25(4): 655-68. doi: [10.1016/j.jac.2005.07.003](https://doi.org/10.1016/j.jac.2005.07.003).
21. Tripathi P, Awasthi S, Husain N, et al. Increased expression of ADAM33 protein in asthmatic patients as compared to non-asthmatic controls. *Indian J Med Res* 2013; 137(3): 507-14. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3705658/>.
22. Munthe-Kaas MC, Carlsen KH, Håland G, et al. T cell-specific T-box transcription factor haplotype is associated with allergic asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121(1): 51-6. doi: [10.1016/j.jaci.2007.07.068](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.07.068). [Epub 2007 Oct 18](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18000000/).
23. Yong J, Chen GQ, Huang B, et al. Correlation between the ratio of T-bet/GATA-3 and the levels of IL-4 and IFN- $\gamma$  in patients with allergic asthma. *Mol Med Rep* 2011; 4(4): 663-666. doi: [10.3892/mmr.2011.469](https://doi.org/10.3892/mmr.2011.469).
24. Dong L, Chen M, Zhang Q, et al. T-bet/GATA-3 ratio is a surrogate measure of Th1/Th2 cytokine profiles and may be novel targets for CpG ODN treatment in asthma patients. *Chin Med J (Engl)* 2006; 119(16): 1396-1399. doi: [abs/10.5555/cmj.0366-6999.119.16.p1396.01](https://doi.org/abs/10.5555/cmj.0366-6999.119.16.p1396.01).
25. Sharma N, Jaiswal I, Mandal RK, et al. Genetic variation of TBX21 gene increases risk of asthma and its severity in Indian children. *J Hum Genet* 2014; 59(8): 437-43. doi: [10.1038/jhg.2014.52](https://doi.org/10.1038/jhg.2014.52).
26. Tantisira KG, Hwang ES, Raby BA, et al. TBX21: a functional variant predicts improvement in asthma with the use of inhaled corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(52): 18099-104. doi: [10.1073/pnas.0408532102](https://doi.org/10.1073/pnas.0408532102).
27. Abedian kenari S, Rafat manesh A, Aftabi Y, et al. Evaluation of IL-4 and IFN- $\gamma$  levels in cell culture supernatant of allergic asthma patients. *Iran South Med J* 2016; 19(3): 342-350. (Persian) doi: [10.18869/acadpub.ismj.19.3.342](https://doi.org/10.18869/acadpub.ismj.19.3.342).
28. Zhao Sh, Shen W, Yu J, et al. TBX21 predicts prognosis of patients and drives cancer stem cell maintenance via the TBX21-IL-4 pathway in lung adenocarcinoma. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9(1): 89. doi: [10.1186/s13287-018-0820-6](https://doi.org/10.1186/s13287-018-0820-6).
29. Ye YM, Lee HY, Kim SH, et al. Pharmacogenetic study of the effects of NK2R G231E G>A and TBX21 H33Q C>G polymorphisms on asthma control with inhaled corticosteroid treatment. *J Clin Pharm Ther* 2009; 34(6): 693-701. doi: [10.1111/j.1365-2710.2009.01054.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2009.01054.x).
30. Ruan Z, Shi Z, Zhang G, et al. Asthma susceptible genes in children: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2020; 99(45): e23051. doi: [10.1097/MD.00000000000023051](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000023051).
31. Lee JH, Park HS, Park SW, et al. ADAM33 polymorphism: association with bronchial hyper-responsiveness in Korean asthmatics. *Clin*

- Exp Allergy 2004; 34(6): 860-5. doi: [10.1111/j.1365-2222.2004.01977.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01977.x).
- 32.Foley SC, Mogas AK, Olivenstein R, et al. Increased expression of ADAM33 and ADAM8 with disease progression in asthma. J Allergy Clin Immunol 2007; 119(4): 863-71. doi: [10.1016/j.jaci.2006.12.665](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.12.665).
- 33.Zand Karimi MR, Faridhosseini R, Abbaszadegan MR, et al. Association of ADAM33 gene polymorphisms with allergic asthma. Iran J Basic Med Sci 2014; 17(9): 716-21. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4322157/>.
- 34.Deng R, Zhao F, Zhong X. T1 polymorphism in a disintegrin and metalloproteinase 33 (ADAM33) gene may contribute to the risk of childhood asthma in Asians. Inflamm Res 2017; 66(5): 413-424. doi: [10.1007/s00011-017-1024-8](https://doi.org/10.1007/s00011-017-1024-8).
- 35.Zheng W, Wang L, Su X, et al. Association between V4 polymorphism in the ADAM33 gene and asthma risk: a meta-analysis. Genet Mol Res 2015; 14(1): 989-99. doi: [10.4238/2015.February.6.2](https://doi.org/10.4238/2015.February.6.2).
- 36.Zhu S, Li P, Suo H, et al. Association of ADAM33 gene polymorphisms with asthma in Mongolian and Han groups in Inner Mongolia. Saudi J Biol Sci 2018; 25(8): 1795-1799. doi: [10.1016/j.sjbs.2018.08.018](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.018).
- 37.Shirzad H, Meshkat R, Gangalikhani-Hakemi M, et al. Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383-5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Control. J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1-10. [https://jims.mui.ac.ir/article\\_14425.html](https://jims.mui.ac.ir/article_14425.html).
- 38.Sadri M, Ganjalikhani-Hakemi M, Salehi R, et al. Prevalence of TIM-3 Gene Polymorphisms in Patients with Asthma and its correlation with Serum Levels of Immunoglobulin-E of These Patients in Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2015; 32(314): 2193-2201. (Persian) [https://jims.mui.ac.ir/article\\_14510.html?lang=en](https://jims.mui.ac.ir/article_14510.html?lang=en).
- 39.Nadi E, Hajiloeei M, Roshani M, et al. Analysis of HPA-1 polymorphism in patients with bronchial asthma. Yafteh 2007; 8(2): 61-69. (Persian) URL: <http://yafte.lums.ac.ir/article-1-1014-fa.html>.



Original Article

# Association of rs2787094 in ADAM33 and rs11650354 in TBX21 Gene Polymorphisms with Asthma in Iranian Patients

S. Shahhosseini (MSc)<sup>1\*</sup>, M. Zare (PhD)<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, School of Sciences, Payame Noor University, Shahre Rey, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, School of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

(Received 10 Jan, 2023

Accepted 7 Mar, 2023)

**Background:** Asthma is a common inflammatory disease of the airways which is characterized by variable and recurrent symptoms. The disease causes airway inflammation and hyperresponsiveness, reversible airway obstruction and airway deformity, and accompanied with symptoms including shortness of breath, cough and wheezing in patients. Environmental and genetic factors such as gene polymorphisms are involved in the development of asthma. Gene polymorphisms alter the function of genes, hence they involve in disease progression. Studies have shown genetic polymorphism in ADAM33 and TBX21 genes are associated with the risk of asthma.

**Materials and Methods:** In present study, the polymorphism rs2787094 of ADAM33 and rs11650354 of TBX21 genes was assessed for the first time in Iranian patients with asthma and healthy individuals. For this purpose, 30 blood samples from patients with asthma and 30 samples from healthy donors were collected. Then their DNA was extracted, and subsequently ARMS-PCR technique was used, applying specific designed primers for normal and mutant alleles for each polymorphism of candidate genes. Then the results were analysed.

**Results:** The results indicated rs2787094 polymorphism in ADAM33 was significantly associated with the risk of asthma, while there was no significant relationship between rs11650354 in TBX21 and asthma risk.

**Conclusion:** It appears that rs2787094 polymorphism in ADAM33 and different genotypes in this locus play a significant role in asthma risk in Iranian patients.

**Keywords:** Asthma, ADAM33 gene, TBX21 gene, Polymorphism

©Iran South Med J. All rights reserved

---

Cite this article as: Shahhosseini S, Zare M. Association of rs2787094 in ADAM33 and rs11650354 in TBX21 Gene Polymorphisms with Asthma in Iranian Patients. Iran South Med J 2023; 25(6): 489-504

---

<sup>\*\*</sup>Address for correspondence: Department of Biology, School of Sciences, Payame Noor University, Nakhli Street, Artesh boulevard, Tehran, Iran. E.mail: m\_zare@pnu.ac.ir

\*ORCID: 0009-0005-8618-7367

\*\*ORCID: 0000-0001-6511-4963

Website: <http://bpums.ac.ir>  
Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>