

Vitamin D receptor gene BSMI polymorphisms in systemic lupus erythematosus and healthy subjects

M Abbasi* Z Rezaie Yazdi** J Tavakol Afshari *** M.R Hatf ** M Sahebari***** M Yarjanli*****

* Assistant professor of internal medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Associate professor of rheumatology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

*** Associate professor of immunology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

****Assistant professor of rheumatology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

*****Assistant professor of internal medicine, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran

*Abstract

Background: Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms cause functional differences in immunomodulatory action of vitamin D. An association between VDR gene BSMI polymorphisms and systemic lupus erythematosus (SLE) has been documented.

Objective: To compare the VDR gene BSMI polymorphisms in patients with SLE and healthy controls.

Methods: This was a case-control study conducted in the city of Mashhad (Iran). Sixty patients with lupus from two outpatient rheumatology clinics and 45 non-relative healthy controls of the same sex were selected using the census procedure. VDR gene typing was performed based on polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The results were analyzed using chi square test while a $p < 0.05$ was considered as significant.

Findings: The distribution of VDR genotyping of BSMI polymorphisms in patients with SLE were 23.3% for BB, 60% for Bb and 16.7% for bb. Similarly, the values found for healthy group were 33.3%, 46.7%, and 20% for BB, Bb, and bb, respectively. There was no statistically significant difference between two groups.

Conclusion: No significant difference in relative frequency of VDR gene BSMI polymorphisms in SLE patients and healthy individuals was established.

Keywords: Systemic lupus erythematosus, Polymorphisms, Vitamin D, BSMI gene, polymorphism

Corresponding Address: Metabolic Disease Research Center, Boooli Sina Hospital, Qazvin, Iran

Email: mah.sky1348@yahoo.com

Tell: +98 281-3360084

Received: 2008/05/07

Accepted: 2008/12/21

مقایسه پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا به لوپوس اریتماتوز سیستمیک با افراد سالم

دکتر مهناز عباسی* دکتر زهرا رضائی یزدی** دکتر جلیل توکل افشاری*** دکتر محمدرضا هانف**
دکتر مریم صاحباری**** دکتر معصومه یارچانی****

* استادیار گروه داخلی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
** دانشیار گروه روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
*** دانشیار ایمنی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
**** استادیار گروه روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
***** استادیار گروه داخلی دانشگاه آزاد تهران

Email: mah.sky1348@yahoo.com

آدرس مکاتبه: قزوین، بیمارستان بوعلی سینا، مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک، تلفن ۰۲۸۱-۳۳۶۰۰۸۴
تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۱

* چکیده

زمینه: پلی مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D (VDR) موجب اختلال‌هایی در عملکرد ایمنومدولاتوری آن می‌شوند و بین پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D و استعداد ابتلا به لوپوس ارتباط گزارش شده است.

هدف: مطالعه به منظور مقایسه ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا به لوپوس با افراد سالم انجام شد.
مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به لوپوس و ۴۵ فرد سالم ایرانی غیر خویشاوند با جنس مشابه انجام شد. بیماران به صورت سرشماری از میان مراجعه‌کنندگان به درمانگاه سرپایی روماتولوژی دو بیمارستان شهر مشهد انتخاب شدند. ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D به روش PCR/RFLP تعیین شد. داده‌ها با آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.
یافته‌ها: توزیع ژنوتیپ BSMI ژن گیرنده ویتامین D در بیماران لوپوسی شامل BB ۲۳/۳٪، Bb ۶۰٪ و bb ۱۶/۷٪ و در گروه شاهد BB ۳۳/۳٪ و Bb ۴۶/۷٪ و bb ۲۰٪ بود و اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود.
نتیجه‌گیری: شیوع نسبی پلی مورفیسم‌های BSMI ژن گیرنده ویتامین D در بیماران لوپوس اختلاف معنی‌داری با افراد سالم نداشت.

کلیدواژه‌ها: لوپوس اریتماتوز سیستمیک، پلی مورفیسم، ویتامین D، ژن گیرنده

* مقدمه:

تجمع mRNA برای اینترفرون گاما (INF γ) و اینترلوکین ۲ (IL2) عامل محرک گرانولوسیت و منوسیت (GM-CSF) را در سلول‌ها مهار کند.^(۱) همچنین این ویتامین به عنوان یک هورمون سرکوب‌گر ایمنی می‌تواند به طور منفی با کاهش فعالیت عامل هسته‌ای KB (NF-KB) و باند به توالی P40-KB، میزان تولید IL₁₂ را تنظیم و به طور مستقیم تولید INF γ و IL₂ را توسط کلون‌های Th1 مهار می‌کند.^(۲) در مطالعه‌های اخیر عنوان شده که بیماران لوپوسی نسبت به افراد سالم سطوح پایین‌تری از ۱/۲۵(OH)2D₃ را دارند و واریان‌های آلی گیرنده ویتامین D در عملکرد

لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) یک بیماری چند سیستمی التهابی و اتوایمیون بافت‌همبند با علت ناشناخته است. عوامل متعددی شامل علل آندوکراین و متابولیک، محیطی و ژنتیکی در ایجاد بیماری مطرح هستند. در حال حاضر بیش‌تر از ۲۰ جزء ژنتیکی متفاوت در ایجاد این بیماری شناخته شده است.^(۱) دخالت سیتوکین‌های مختلف در بیماری لوپوس مطرح است و گزارش‌های متعدد از نقش عدم تعادل بین استوکین‌های Th₁/Th₂ در ایجاد لوپوس حمایت می‌کنند. اخیراً ویتامین D به عنوان یک ایمنومدولاتور مطرح و نشان داده شده که این ویتامین در سطح مولکولی قادر است

Backward: 5' GGA GAG GAG CCT GTG TCC CAT TAG3'

استفاده شد. طول باند محصول PCR: 813 bp بود که با آنزیم I (BSMI) Mval 269 (Canada Fermentus) برش خورده و قطعه‌های 477bp و 318bp محصول آن بود.

ژنوتیپ آل‌ها شامل هموزیگوت bb (برش خورده)، هموزیگوت BB (برش نخورده) و هتروزیگوت Bb (یک آل برش خورده و دیگری برش نخورده) بود. پس از انجام آزمایش روی کل نمونه‌ها، اطلاعات در برگه‌های مخصوص ثبت شد.

اطلاعات مربوط به سن، جنس و سابقه بیماری‌های قبلی یا همزمان نیز در پرسش‌نامه درج شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS¹⁴ و فراوانی هر یک از ژنوتیپ‌ها در دو گروه بیمار و شاهد با آزمون آماری مجذور کای مقایسه شد، برای مقایسه میانه مدت ابتلا به بیماری و سن بیماران از آزمون کروسکال والیس استفاده شد.

* یافته‌ها:

از ۶۰ بیمار گروه مورد، ۵۴ نفر (۹۰ درصد) زن و ۶ نفر (۱۰ درصد) مرد و از ۴۵ فرد سالم گروه شاهد، ۳۶ نفر (۸۰ درصد) زن و ۹ نفر (۲۰ درصد) مرد بودند که بین دو گروه بیمار و شاهد از نظر جنسیت اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت.

بین دو گروه از نظر فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم اختلاف معنی دار وجود نداشت (جدول شماره ۱).

در گروه بیماران، ۶۳ مورد (۵۲/۵ درصد) آل B و ۵۷ مورد (۴۷/۵ درصد) آل b و در گروه شاهد، ۵۱ مورد (۵۶/۷ درصد) آل B و ۳۹ مورد (۴۳/۴ درصد) آل b وجود داشت که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. ژنوتیپ‌ها در سنین مختلف اختلاف معنی‌دار آماری داشتند و بیماران با ژنوتیپ Bb که شایع‌ترین ژنوتیپ گزارش شده هم بود، میانگین سنی پایین‌تری از سایر گروه‌ها داشتند (جدول شماره ۲).

آن دخالت می‌کنند و احتمالاً به عنوان یک هورمون سرکوب‌گرایمی موجب اختلال‌هایی در عملکرد آن می‌شوند.^(۳-۶) از شایع‌ترین پلی مورفیسم‌های نوکلوتیدی منفردی (SNP) که در ژن گیرنده ویتامین D بررسی شده است پلی مورفیسم در اینترون ۸ یا BSMI^(۳-۵) است.

این فرض مطرح است که یک ژنوتیپ خاص این پلی مورفیسم، یعنی BB، می‌تواند از طریق مهار ترانس کریپتاسیون ژن IL2 و تنظیم منفی تولید IL12، عدم تعادل سیتوکینی Th₁/Th_F را تحریک کند.^(۳) در همین زمینه مطالعه‌های محدودی برای بررسی پلی مورفیسم فوق در بیماران لوپوسی در نژادهای مختلف انجام شده که نتایج متفاوتی داشته‌اند.^(۳-۵)

این مطالعه به منظور مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D در بیماران لوپوسی با افراد سالم انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به لوپوس اهل استان خراسان و ۴۵ فرد سالم هم نژاد انجام شد. ابتلای بیماران به لوپوس طبق معیارهای انجمن روماتیسم آمریکا (ACR) تعیین شده بود.^(۱) افراد گروه شاهد با روش سرشماری از بین بیماران مراجعه کننده (بستری و سرپایی) به بیمارستان‌های قائم (عج) و امام رضا(ع) مشهد از آذر ۱۳۸۵ تا خرداد ۱۳۸۶ انتخاب شدند. پس از کسب مجوز از کمیته اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و اخذ رضایت آگاهانه از بیماران، ۵ سی‌سی خون وریدی از هر بیمار تهیه شد. نمونه‌ها در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد و پس از فریز کردن در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد جهت انجام PCR DNA به پژوهشکده بوعلی ارسال شدند. PCR با کیت استخراج DNA (بیوژن - ایران) انجام و از سکانس پرایمر:

Forward: 5' AAC TTG CAT GAG GAG GAG CAT GTC3'

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D در دو گروه مورد مطالعه

سطح معنی داری	شاهد		بیمار		ژنوتیپ
	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
p=۰/۳۳۴	۳۳/۳	۱۵	۲۳/۳	۱۴	BB
	۴۶/۷	۲۱	۶۰/۰	۳۶	Bb
	۲۰/۰	۹	۱۶/۷	۱۰	bb
	۱۰۰/۰	۴۵	۱۰۰/۰	۶۰	کل

جدول ۲- میانگین و میانه مدت ابتلا و سن بیماران بر حسب ژنوتیپ

نتیجه آزمون کروسکال-والیس	bb		Bb		BB		ژنوتیپ متغیر
	میانگین	میانه	میانگین	میانه	میانگین	میانه	
p=۰/۰۳۴	۳۳/۴۰ ± ۸/۵۴	۳۲/۵۰	۲۵/۶۳ ± ۷/۲۵	۲۵/۵۰	۳۰/۴۲ ± ۱۱/۸	۲۸/۵۰	سن (سال)
p=۰/۰۵۶	۵/۲ ± ۳/۵۸	۴/۵۰	۲/۸۳ ± ۳/۵۶	۱/۰	۲/۲۸ ± ۲/۴۳	۲	مدت ابتلا (سال)

*بحث و نتیجه گیری:

طریق مهار نسخه برداری ژن IL2 و تنظیم منفی تولید IL12 تشدید کند.^(۵)

در مطالعه هوآنگ بر روی بیماران چینی نیز بیشترین فراوانی در گروه بیمار متعلق به ژنوتیپ Bb (۷۰/۲) درصد در بیماران و ۱۰ درصد در افراد سالم) و کمترین فراوانی در هر دو گروه بیمار و شاهد مربوط به ژنوتیپ BB بوده (۴/۳) درصد در بیماران و ۳/۳ درصد در افراد سالم) و تفاوت بین ژنوتیپ های فوق در گروه بیمار و شاهد معنی دار بوده است (p<۰/۰۰۰۱)^(۴)

در مجموع در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D و بیماری لوپوس در بیماران ایرانی منطقه شمال شرقی (استان خراسان) یافت نشد. بیماران با ژنوتیپ Bb که شایع ترین ژنوتیپ گزارش شده بود، میانگین سنی پایین تری از سایر گروه ها داشتند که می تواند به عنوان یک عامل استعداد ژنتیکی برای ابتلای زودتر به لوپوس در مطالعه های بعدی با وسعت بیشتر بررسی شود. لذا با توجه به اختلاف های واضح گزارش

در مطالعه حاضر بین بیماران مبتلا به لوپوس و افراد سالم از نظر توزیع فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت و در هر دو گروه بیمار و شاهد، بیشترین فراوانی متعلق به ژنوتیپ Bb و کمترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ bb بود.

در مطالعه ساکولپیپاستین بر روی بیماران تابلندی، بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ bb بوده است (۷۶/۲۳) درصد در بیماران و ۸۲/۹۹ درصد در افراد سالم^(۳) در حالی که در مطالعه اوزاکی بر روی بیماران ژاپنی نیز مانند مطالعه حاضر، بیشترین فراوانی در گروه بیمار مربوط به ژنوتیپ Bb (۴۳/۱) درصد در بیماران و ۱۱/۵ درصد در افراد سالم) و کمترین فراوانی در هر دو گروه بیمار و شاهد مربوط به ژنوتیپ BB بوده (۱۵/۵) درصد در بیماران و ۵/۷ درصد در افراد سالم) و تفاوت بین ژنوتیپ ها در گروه بیمار و شاهد معنی دار بوده است (p<۰/۰۰۰۱). آنها نتیجه گرفتند که ژنوتیپ BB ممکن است عدم تعادل سیتوکینی Th1/Th2 را از

3. Sakulpipatsin W, Verasertniyom O, Nantiruj K, et al. Vitamin D receptor gene Bsm1 polymorphisms in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2006; 8(2): R 48
4. Huang CM, Wu MC, Wu JK, Tsai FJ. Association of vitamin D receptor gene Bsm1 polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2002; 11(1):31-4
5. Ozaki Y, Nomura S, Nagahana M, et al. Vitamin-D receptor genotype and renal disorder in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Nephron* 2000 May; 85(1):86-91
6. Huang CM, Wu MC, Wu JY, Tsai FJ. No association of vitamin D receptor gene start codon fok 1 polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002 Jun; 29(6): 1211-3

شده در مطالعه نژادهای مختلف، بررسی وسیع‌تر ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم BSMI ژن گیرنده ویتامین D در مناطق مختلف کشورمان و در افراد با نژادهای متفاوت و همچنین بررسی ارتباط‌های احتمالی این پلی مورفیسم با نفريت لوپوسی و درگیری‌های سایر اعضای بدن در مبتلایان به لوپوس ارزشمند به نظر می‌رسد.

*مراجع:

1. Petri M. Systemic Lupus Erythematosus clinical aspects. In: Koopman WJ, Moreland LW. *Arthritis and allied condition, a textbook of rheumatology*. 15th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005. 1473-97
2. Muller K, Kriegbaum NJ, Baslund B, et al. Vitamin D3 metabolism in patients with rheumatic diseases: Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D3 in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1995 Jul; 14(4):397-400