مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۱۷۹/هفته اول اردیبهشت ماه ۱۳۹۱
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۲۴

پلی‌مورفیسم‌های ژنی عامل نکروزدهنده‌ی تومور آلفا در افراد بومی جنوب ایران

دکتر محمد کارگر[۱]، معصومه رحمانیان[۲]، دکتر مجید یاوریان[۳]، دکتر احمد آقانگهی[۴]، صادق قربانی دالینی[۲]

چکیده

مقدمه: میکروستلیت‌ها، نواحی دارای توالی‌های کوتاه ژنوم در یوکاریوت‌ها هستند که پلی‌مورفیسم آن‌ها با برخی ویژگی‌های ژنتیک جمعیت و بیماری‌ها در ارتباط است. این مطالعه با هدف بررسی پلی‌مورفیسم ژنی عامل نکروزدهنده‌ی تومور آلفا (Tumor necrotizing factor-α یا TNF-α) ناحیه‌ی HLA در افراد بومی جنوب ایران انجام شد.

روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی نمونه‌های خون محیطی ۵۰ فرد بومی ساکن در استان هرمزگان انجام شد. با استفاده از پرایمر اختصاصی پلی‌مورفیسم‌های آللی TNF-α مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس با استفاده از نرم‌افزارهای Pop gene و SPSS آنالیز آماری انجام شد.

یافته‌ها: ارزیابی پلی‌مورفیسم جمعیت مورد پژوهش نشان داد که تمامی ۱۳ آلل متداول TNF-α در افراد مورد بررسی وجود داشت. آلل‌های ۴ و ۳ TNF-α به ترتیب با فراوانی‌های نسبی ۲۴ و ۱۶ درصد متداول‌ترین و آلل‌های ۱ و ۲ هر کدام با فراوانی ۲ درصد نادرترین آلل‌های مورد پایش بودند. همچنین بین فراوانی آلل‌های مشاهده شده و جمعیت مورد پژوهش اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: میکروستلیت‌های ناحیه‌ی HLA می‌توانند در مورد شناسایی ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن TNF-α و بیماری‌های ژنتیکی در مناطق مختلف کشور کمک نمایند. همچنین این داده‌ها می‌توانند در طراحی اولین پایگاه داده‌های ژنتیکی STR (Short tandem repeat) در جمعیت ایرانی مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم ژنی، میکروستلیت، عامل نکروز دهنده‌ی توموری آلفا

مقدمه

کشف پلی‌مورفیسم‌های تکراری پشت سر هم توالی‌های کوتاه (Short tandem repeat یا STR) یا میکروستلیت‌ها در اواسط دهه‌ی ۱۹۹۰، تحول عظیمی را در علم زیست‌شناسی مولکولی ایجاد کرد. در ژنوم انواع یوکاریوت‌ها عناصر تکراری پشت سر هم DNA در اندازه‌های متفاوت وجود دارد (۴-۱). توارث این توالی‌ها از قوانین مندلی پیروی می‌کند و می‌توانند به صورت دی، تری، تترا، پنتا و هگزا نوکلئوتیدی بین ۱۰ تا ۱۰۰ بار تکرار شوند (۶-۵).

حدود ۱۵ سال است که STRها در ژنوم مورد مطالعه و ارزیابی دقیق قرار گرفته‌اند. تاکنون بیش از ۲۰۰۰۰ لوکوس STR بر روی ژنوم انسان شناسایی شده است که بیش از ۱۰۰۰ عدد آن در ناحیه ی HLA قرار دارند (۷). میکروستلیت‌ها، مارکرهای مفیدی در این منطقه محسوب می‌شوند و در بردارنده‌ی اطلاعاتی هستند که می‌تواند کاربردهای گسترده‌ای را در مطالعات و پژوهش‌های ژنتیکی داشته باشد.

در زمینه‌ی ژنتیک انسانی مطالعات گسترده‌ای بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژنی در جمعیت‌های مختلف

[۱] دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، جهرم، ایران
[۲] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، باشگاه پژوهشگران جوان، جهرم، ایران
[۳] دانشیار، گروه ژنتیک انسانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
[۴] استادیار، گروه نورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، هرمزگان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد کارگر
Email: mkargar@jia.ac.ir

دنیا انجام شده است. در پژوهش‌های مختلف نشان داده شده است که بین قرابت ژنتیکی دو جمعیت و شباهت درصد پلی‌مورفیسم‌های آللی ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۸). نمونه‌ی بارز این شباهت در پلی‌مورفیسم‌های ژنی کمپلکس سازگاری بافتی (HLA) و ایمنوگلوبولین‌ها مشاهده می‌شود (۹-۸). طی دو دهه‌ی گذشته از این پلی‌مورفیسم‌های ژنی به عنوان مارکرهای قابل اعتماد برای کشف چگونگی انشقاق مردم نقاط مختلف دنیا استفاده شده است (۹).

ناحیه‌ی HLA حدود ۴۰۰۰ Kb از گستره‌ی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ را فراگرفته است و در طول تکامل انسان محافظت شده است. بنابراین مطالعه‌ی پلی‌مورفیسم ژن‌های HLA کاربرد گسترده‌ای را در مطالعات ژنتیک جمعیت دارد. یکی از مهم‌ترین میکروستلیت‌های این منطقه عامل نکروزدهنده‌ی تومور آلفا (Tumor necrotizing factor-α یا TNF-α) نام دارد که در ۳/۵ Kb از بالا دست ژن TNF (۶p۲۱.۳) و در بین HLA-B و لوکوس‌های کمپلمان قرار گرفته است. این میکروستلیت دارای تکرارهای AC/CG می‌باشد (۱۱-۱۰).

تکرارهای نوکئوتیدی AC در ژنوم انسان و سایر یوکاریوت‌ها بسیار فراوان هستند (۵). تاکنون ۱۳ آلل از این میکروستلیت مشاهده شده است (۱۲-۱۰). ژن TNF، سایتوکینی را کد می‌کند که در التهاب سیستمیک دخالت دارد و وابسته به گروه سایتوکین‌های محرک واکنش فاز حاد می‌باشد (۱۳). این سایتوکین در تنظیم گروه گسترده‌ای از فرایندهای بیولوژیکی به ویژه تکثیر و تمایز سلولی، القای مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی و واکنش‌های التهابی، متابولیسم لیپید، ایجاد لخته، مهار تومور و همانند سازی ویروسی شرکت دارد (۱۴).

ارتباط برخی از آلل‌های TNF-α و بیماری‌های خودایمن مانند مولتیپل اسکلروز (Multiple sclerosis یا MS)، دیابت ملیتوس وابسته به انسولین (IDDM یا Insulin dependent diabets Melitus)، بیماری سلیاک (Coeliac) (۱۰) و سرطان (۱۳) شناسایی شده است. اغلب از نظر ژنتیکی میکروستلیت‌ها خنثی و غالب (Co-dominant) هستند (۶) و می‌توانند به عنوان مارکرهای ژنتیکی در مطالعه‌ی جمعیت و بیماری‌های خاص مورد استفاده قرار گیرند (۵).

هدف از این پژوهش، بررسی لوکوس بسیار پلی‌مورفیک میکروستلیت TNF-α ناحیه‌ی HLA-III افراد بومی منطقه‌ی گرمسیری جنوب ایران به منظور ارزیابی استعداد ژنتیکی مردم این منطقه به ابتلا به بیماری‌های خودایمن بود.

روش‌ها

این مطالعه ی مقطعی- توصیفی پس از کسب موافقت کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و رضایت‌نامه ی کتبی افراد مورد پژوهش بر روی نمونه‌های خون محیطی ۵۰ فرد داوطلب (۳۰ زن و ۲۰ مرد) ساکن در استان هرمزگان انجام شد. انتخاب تعداد نمونه‌های مورد پژوهش بر اساس فرمول محاسبه‌ی حجم نمونه انجام گرفت. همچنین تمامی افراد مورد مطالعه از نظر سلامت عمومی و کلینیکی توسط پزشک متخصص معاینه و تأیید شدند. پس از جمع‌آوری نمونه ها، استخراج DNA با استفاده از کیت DNP™ شرکت سیناژن مطابق دستورالعمل انجام گردید.

به منظور بررسی آلل‌های میکروستلیتی از پرایمرهای اختصاصی TNF-α طراحی شده توسط سایت NCBI

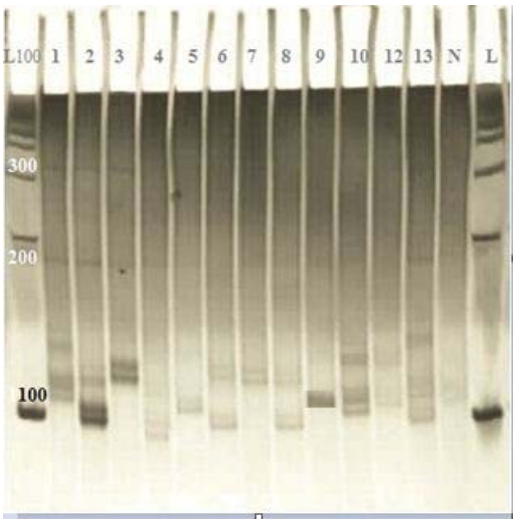
www.mui.ac.ir

R: و F: 5'-CCTCTCTCCCCTGCAACACACA-3'
5'-GCCTCTAGATTTCATCCAGCCACAGA-3'
استفاده شد. برای اطمینان از اختصاصی بودن، پرایمر مجدد Blast شد. آزمون Polymerase chain reaction (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Techne (ساخت کشور انگلستان) بر روی تمامی نمونه‌های افراد مورد پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی جهرم انجام شد.

تکثیر قطعه ی هدف در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر حاوی ۲۰ میکرولیتر مخلوط اجزای واکنش PCR، ۲ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رقیق شده (غلظت ۱۰ میکرومولار)، ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم از DNA هدف و یک واحد آنزیم تک پلی‌مراز (تمامی واکنش‌گرها ساخت شرکت سیناژن) انجام شد. شرایط دمایی PCR شامل ۲ دقیقه واسرشت ابتدایی در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و در ادامه، ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۶۵ درجه ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه ی سانتی‌گراد بود.

پس از انجام واکنش PCR، محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۲/۵ درصد الکتروفورز و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید با دستگاه ژل داکیومنتیشن ساخت کمپانی Syngene (انگلستان) عکس‌برداری شد. سپس با هدف تمایز بیشتر و دقیق‌تر آلل‌ها، مقدار ۱/۵ تا ۲ میکرولیتر از محصول PCR به دست آمده با روش پلی‌اکریل‌آمید ژل الکتروفورز (Polyacrylamide gel electrophoresis یا PAGE) در ابعاد ۰/۷۵ × ۲۵ × ۱۵ سانتی‌متر (شرکت پویا پژوهش) بارگذاری و در ولتاژ ۱۲۰ ولت به مدت ۱۲-۱۰ ساعت الکتروفورز شد.

پس از رنگ‌آمیزی نقره برای نمایان سازی مناسب‌تر از دستگاه ژل داکیومنتیشن Biorad (ساخت کشور آمریکا) استفاده شد. سپس اندازه‌ی آلل‌ها با استفاده از سایز مارکر، ۱۰۰ جفت بازی شرکت فرمنتاز مشخص گردید (شکل ۱).



شکل ۱. الکتروفورز قطعات تکثیر یافته‌ی TNF-α بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید

ستون **L** سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون‌های ۱۳-۱ نمونه‌های مورد بررسی و ستون **N** شاهد منفی است.

برای ارزیابی آمار توصیفی از نسخه‌ی ۱/۳۰ نرم‌افزار Pop gene (http://genepop.curtin.edu.au) و نرم‌افزار SPSS (version 15, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده گردید (۱۶-۱۵). به منظور تجزیه تحلیل نمونه‌ها و محاسبه‌ی شاخص‌های فراوانی آللی، درصد ژنوتیپ‌های هتروزیگوت مورد انتظار و مشاهده شده از آزمون‌های χ^2 و ANOVA استفاده شد. سطح معنی‌داری به صورت $P < ۰/۰۵$ تعریف گردید.

یافته‌ها

جمعیت مورد نظر در مطالعه‌ی حاضر در محدوده‌ی

سنی ۱۸ تا ۵۲ سال با میانگین سنی ۱/۲۳۳ ± ۳۰/۶۸ سال قرار داشتند. بیشترین افراد مورد پژوهش مربوط به گروه سنی ۳۹–۳۰ سال با فراوانی ۴۲ درصد بودند. با استفاده از آزمون ANOVA مشخص گردید که بین سن و جنس افراد مورد بررسی ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۰۹$). نسبت زن به مرد، ۶۰ درصد به ۴۰ درصد بود.

افراد هموزیگوت دارای آلل‌های مشابهی بودند که سایز یکسان داشتند. اما در افراد هتروزیگوت دو باند (آلل) متفاوت مشاهده شد. در کل ۱۳ آلل مختلف TNF-α، در ۱۰۰ کروموزوم مورد بررسی شناسایی گردید. این آلل‌ها با توجه به تعداد توالی‌های تکراری GT و حذف شدگی، محدوده‌ی bp ۹۷ (آلل ۱) تا bp ۱۲۱ (آلل ۱۳) را داشتند (جدول ۱).

آلل‌های ۴ (bp ۱۰۳) و ۳ (bp ۱۰۱) TNF-α به ترتیب با فراوانی ۲۴ و ۱۶ درصد بیشترین و آلل‌های ۲ و ۱ هر دو با فراوانی ۲ درصد، کمترین آلل‌های مشاهده شده بودند. با استفاده از نرم‌افزار Pop gene مشخص شد که مقدار P جمعیت مورد پژوهش به ترتیب ۰/۰۳۸ و ۰/۰۵۶ بود. این مسأله می‌تواند نشان دهنده‌ی هموژنسیتی و توزیع یکنواخت آلل‌های TNF-α در جمعیت باشد.

از مجموع ژنوتیپ‌های مشاهده شده، ۱۴ درصد هموزیگوت و ۸۶ درصد هتروزیگوت بود، اما ژنوتیپ‌های مورد انتظار هموزیگوت و هتروزیگوت به ترتیب ۱۰/۱۲ و ۸۹/۸۸ درصد بود.

بحث

نزدیک به یک چهارم لوکوس‌های میکروستلیتی انسان پلی‌مورفیک هستند و به همین دلیل یکی از شاخص‌های معتبر ارزیابی سریع و دقیق پایش‌های ژنتیکی محسوب می‌شوند (۲۱–۱۷). با وجود ترکیب جغرافیایی متنوع و منحصر به فرد جمعیتی، تاکنون مارکر میکروستلیتی TNF-α در میان ایرانیان مطالعه

جدول ۱. توزیع آلل‌های میکروستلیت TNF-α در جمعیت مورد بررسی

[GT]n	توالی	آلل (TNF-α)	تعداد	سایز (bp)	فراوانی (درصد)
۱۲	[GTGC]1	α1	۲	۹۷	۰/۰۲
۱۱	[GTGC]2	α2	۲	۹۹	۰/۰۲
۱۲	[GTGC]2	α3	۱۶	۱۰۱	۰/۱۶
۱۳	[GTGC]2	α4	۲۴	۱۰۳	۰/۲۴
۱۴	[GTGC]2	α5	۵	۱۰۵	۰/۰۵
۱۵	[GTGC]2	α6	۹	۱۰۷	۰/۰۹
۱۶	[GTGC]2	α7	۶	۱۰۹	۰/۰۶
۱۳	[GTGC]2 ATGC[GTGC]1	α8	۱۲	۱۱۱	۰/۱۲
۱۴	[GTGC]2 ATGC[GTGC]1	α9	۴	۱۱۳	۰/۰۴
۱۹	[GTGC]2 ATGC[GTGC]1	α10	۴	۱۱۵	۰/۰۴
۱۶	[GTGC]2 ATGC[GTGC]1	α11	۵	۱۱۷	۰/۰۵
۱۷	[GTGC]2 ATGC[GTGC]1	α12	۷	۱۱۹	۰/۰۷
۱۶	[GTGC]2 ATGC[GTGC]2	α13	۴	۱۲۱	۰/۰۴

www.mui.ac.ir

نشده است. چنین پژوهش‌هایی می‌تواند تأثیر قابل توجهی در غنی‌سازی اطلاعات برای کاربرد در مقیاس محلی و جهانی داشته باشد.

بیش از ۱۰۰۰ لوکوس میکروستلیتی در ناحیه‌ی HLA قرار دارد و به تازگی به صورت موفقیت‌آمیزی تعدادی از این میکروستلیت‌ها در مطالعات مختلف شامل ژنتیک جمعیت و بررسی ارتباطات ژنتیکی بین آلل‌های به خصوص و بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. دلیل انتخاب ناحیه‌ی ژنی TNF در این مطالعه و سایر پژوهش‌ها، ویژگی حفاظت شده‌ی آن در طول تکامل انسان می‌باشد. تاکنون پنج نوع میکروستلیت پلی‌مورفیک و یک نوع RFLP (Restriction fragment length polymorphism) در لوکوس TNF شناسایی شده است. اما TNF-α متداول‌ترین میکروستلیت مورد استفاده به عنوان یک مارکر ژنتیکی می‌باشد. در برخی از مطالعات، ارتباط بین آلل‌های مختلف TNF و بیماری‌های گوناگون به ویژه بیماری‌های خودایمنی مانند MS (۲۰)، آرتریت واکنشی (Reactive arthritis) (۶) و سرطان کولورکتال (۲۲) به اثبات رسیده است.

Godde و همکاران در آلمان، آلل‌های مختلف TNF را در ۱۹۸ فرد سالم با میانگین سنی ۹/۹ ± ۴۰/۳ سال مورد بررسی قرار دادند. آلل‌های ۳، ۱۲، ۴ و ۸ هر کدام به ترتیب با فراوانی‌های ۲۲، ۱۱، ۱۰ و ۱۰ درصد بیشترین آلل شناسایی شده به وسیله‌ی محققین یاد شده بود. اما آلل‌های ۱ و ۲ مشاهده نشد (۲۳).

Favorova و همکاران آلل‌های TNF-α را در ۳۶۲ نفر از افراد بومی روسیه (۲۰۳ مرد و ۱۵۹ زن) با میانگین سنی ۱۱ ± ۳۰ سال و با استفاده از روش Nested PCR بررسی نمودند. آلل‌های ۱۰ و ۲ به ترتیب با فراوانی‌های ۳۵ و ۴۰ درصد بیشترین آلل‌های شناسایی شده بود، اما آلل‌های ۸ و ۱۲ در این جمعیت گزارش نشد (۱۱).

Pena و همکاران در شمال اسپانیا، ۳ میکروستلیت موجود در منطقه‌ی HLA (D6s265، TNF-α و D6S105) را در ۱۰۷ فرد سالم از اهالی باسک به منظور بررسی قرابت ژنتیکی مورد بررسی قرار دادند. در این منطقه‌ی خاص از اسپانیا در کمال تعجب آلل‌های ۲، ۷ و ۱ به ترتیب با فراوانی ۲۱/۲، ۱۳/۷ و ۱۱/۸ درصد بیشترین و آلل‌های ۳ و ۱۲ مشاهده نشد. فراوانی آلل ۱ در اهالی باسک، به دلیل کمیاب بودن و یا مشاهده نشدن آن در اکثر جمعیت‌های اروپایی قابل توجه است (۱۰).

همچنین در مطالعه‌ای مشابهSandberg-Wollheim و همکاران با بررسی ۱۷۸ نفر از اهالی جنوب سوئیس گزارش نمودند که آلل‌های ۲-α و ۱۱-α به ترتیب با مقادیر ۲۸/۴ و ۲۰/۵ درصد بیشترین و آلل‌های ۱-α و ۱۳-α با مقادیر ۰/۳ و ۰/۶ درصد کمیاب‌ترین آلل‌های شناسایی شده بود (۲۴).

مقایسه‌ی درصد فراوانی‌های آلل‌های سایر پژوهش‌ها با مطالعه ی حاضر نشان می‌دهد که فراوانی آلل‌های TNF-α در منطقه ی گرمسیری ایران شباهت بیشتری با گزارش Godde و همکاران (۲۳) دارد. این مسأله می‌تواند نشان دهنده‌ی قرابت ژنتیکی دو جمعیت یاد شده باشد. همچنین در راستای این موضوع مطالعات وسیعی بر روی ژنوم افراد مبتلا به MS در سال‌های اخیر صورت گرفته است. آنالیز داده‌ها و یافته‌های ۶۰۰۰ مارکر میکروستلیتی در پروژه ی عظیم GAMES (Genetic analysis of multiple sclerosis in europeans) در ۱۹ گروه بزرگ به صورت

www.mui.ac.ir

مورد- شاهدی و ۱۰ گروه سه نفری از یک خانواده (Trio familial) در ۱۵ کشور دنیا (استرالیا، بلژیک، فنلاند، فرانسه، آلمان، مجارستان، ایسلند، ایرلند، ایتالیا، لهستان، پرتغال، اسکاندیناوی، اسپانیا، ترکیه و انگلستان) نشان داد که بین میکروستلیت TNF-α و استعداد ژنتیکی به بیماری خودایمنی MS ارتباط بسیار قوی وجود دارد (۲۵).

در تمامی جمعیت‌ها ممکن است زمینه ی استعداد ژنتیکی اشخاص به بیماری‌های خودایمن وجود داشته باشد. همچنین امکان وابسته به جنس بودن بیماری خودایمن به دلیل عملکرد هورمون‌های جنسی و یا تفاوت‌های ژنتیکی به ویژه در مورد سیتوکین‌ها و ژن‌های منطقه‌ی HLA وجود دارد (۲۶). پایش گسترده‌تر ژنتیکی پلی‌مورفیسم میکروستلیت‌های TNF-α در سایر مناطق آب و هوایی گوناگون و اقوام مختلف کشور ما می‌تواند زمینه ساز پژوهش‌های کاربردی و بیشتر در مورد بررسی ارتباط بین ژن‌های ناحیه‌ی III HLA و بیماری‌های مختلف به ویژه MS باشد. همچنین ذخیره و پردازش این داده‌ها می‌تواند در راه‌اندازی اولین پایگاه داده‌های ژنتیکی STR در جمعیت ایرانی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، تمامی افراد داوطلب این مطالعه و همچنین خانم‌ها نسیم ایزدی، قدرتمند، افسانه رشیدی و ساره رئیس‌زاده جهرمی و آقایان افشین اژدری، مهدی کارگر و ضلعی به دلیل همکاری اجرایی و علمی کمال امتنان را دارند.

References

1. Butler JM. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. Biotechniques 2007; 43(4): ii-iv.
2. Schichman SA, Suess P, Vertino AM, Gray PS. Comparison of short tandem repeat and variable number tandem repeat genetic markers for quantitative determination of allogeneic bone marrow transplant engraftment. Bone Marrow Transplant 2002; 29(3): 243-8.
3. Carril JC, Ocana MA, Sierra O, Molino A, Cospedal R, Puente J. Allele frequencies of 15 STR loci in a Spanish population. International Conngress Series 2004; 1261: 142-4.
4. Rapley R, Whitehouse D. Molecular Forensics. 1st ed. London: John Wiley and Sons; 2007. p. 71-100.
5. Goldstein DB, Ruiz LA, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. Genetics 1995; 139(1): 463-71.
6. Fakhfakh Karray E, Bendhifallah I, Benabdelghani K, Hamzaoui K, Zakraoui L. Tumor necrosis factor gene polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis in regional Tunisian population. J Infect Dis Immun 2011; 3(2): 30-5.
7. Butler JM. Forensic DNA Typing Workshop [Online]. 2006 [cited 2006 Aug 17]; Available from: URL: http://www.cstl.nist.gov/strbase/pub_pres/Chiapas_Aug2006_English.pdf.
8. Senemar S, Doroudchi M, Pezeshki AM, Ghaderi A, Fathzadeh M, Torab Jahromi A, et al. Frequency of cystathionine b-synthase 844ins 68 polymorphism in southern Iraninan population. Iranian Journal of Biology 2007; 20(2): 225-32.
9. Franco RF, Elion J, Lavinha J, Krishnamoorthy R, Tavella MH, Zago MA. Heterogeneous ethnic distribution of the 844ins68 in the cystathionine beta-synthase gene. Hum Hered 1998; 48(6): 338-42.
10. Pena JA, Calderon R, Perez-Miranda A, Vidales C, Dugoujon JM, Carrion M, et al. Microsatellite DNA markers from HLA region (D6S105, D6S265 and TNFa) in autochthonous Basques from Northern Navarre (Spain). Ann Hum Biol 2002; 29(2): 176-91.
11. Favorova OO, Favorov AV, Boiko AN, Andreewski TV, Sudomoina MA, Alekseenkov AD, et al. Three allele combinations associated with multiple sclerosis. BMC Med Genet 2006; 7: 63.

12. Van der Slik AR, Shing DC, Eerligh P, Giphart MJ. Subtyping for TNFa microsatellite sequence variation. Immunogenetics 2000; 52(1-2): 29-34.
13. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. Cell 2001; 104(4): 487-501.
14. NCBI. Entrez Gene. TNF Tumor Necrosis Factor [Homo Sapien] [Online]. 2010. Available from: URL: http://www.nkm.nih.gov.
15. Xu TJ, Sun DQ, Shi G, Wang RX. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers in the gray mullet (Mugil cephalus). Genet Mol Res 2010; 9(3): 1791-5.
16. Vanecek T, Trubac P, Vorel F, Sip M. Population genetics of 11 nuclear and 1 mitochondrial short tandem repeat loci in a population of South Bohemia, Czech Republic. J Appl Biomed 2005; 3(3): 129-31.
17. Ghaffari SH, Chahardouli B, Gavamzadeh A, Alimoghaddam K. Evaluation of hematopoietic chimerism following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with amelogenin marker. Arch Iran Med 2008; 11(1): 35-41.
18. Schmidt H, Williamson D, Ashley-Koch A. HLA-DR15 haplotype and multiple sclerosis: a HuGE review. Am J Epidemiol 2007; 165(10): 1097-109.
19. Tuokko J, Koskinen S, Westman P, Yli-Kerttula U, Toivanen A, Ilonen J. Tumour necrosis factor microsatellites in reactive arthritis. Br J Rheumatol 1998; 37(11): 1203-6.
20. Nada MA, Labib DA. Tumor necrosis factor alpha gene -376 polymorphism and susceptibility to multiple sclerosis: an Egyptian study. J Neuroimmune Pharmacol 2011; 6(1): 142-7.
21. Honchel R, McDonnell S, Schaid DJ, Thibodeau SN. Tumor necrosis factor-alpha allelic frequency and chromosome 6 allelic imbalance in patients with colorectal cancer. Cancer Res 1996; 56(1): 145-9.
22. Goedde R, Sawcer S, Boehringer S, Miterski B, Sindern E, Haupts M, et al. A genome screen for linkage disequilibrium in HLA-DRB1*15-positive Germans with multiple sclerosis based on 4666 microsatellite markers. Hum Genet 2002; 111(3): 270-7.
23. Godde R, Nigmatova V, Jagiello P, Sindern E, Haupts M, Schimrigk S, et al. Refining the results of a whole-genome screen based on 4666 microsatellite markers for defining predisposition factors for multiple sclerosis. Electrophoresis 2004; 25(14): 2212-8.
24. Sandberg-Wollheim M, Ciusani E, Salmaggi A, Pociot F. An evaluation of tumor necrosis factor microsatellite alleles in genetic susceptibility to multiple sclerosis. Mult Scler 1995; 1(3): 181-5.
25. Ban M, Booth D, Heard R, Stewart G, Goris A, Vandenbroeck K, et al. Linkage disequilibrium screening for multiple sclerosis implicates JAG1 and POU2AF1 as susceptibility genes in Europeans. J Neuroimmunol 2006; 179(1-2): 108-16.
26. Oikonen M. Ecological and Epidemiological Analyses of Multiple Sclerosis Relapse Rate [PhD Thesis]. Turku: Turun Yliopisto University of Turku; 2010.

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 30, No 179, 1st week, May 2012 Received: 21.8.2011 Accepted: 13.2.2012

Tumor Necrosis Factor Alpha Gene Polymorphism in Native Southern Population of Iran

Mohammad Kargar PhD[1], Masoomeh Rahmanian MSc[2], Majid Yavarian PhD[3], Ahmad Aghanegahi PhD[4], Sadegh Ghorbani Dalini MSc[2]

Abstract

Background: Microsatellites are the short tandem repeat regions in eukaryotic genome whose polymorphisms have an association with some population genetic properties and also some diseases. In this study, we aimed to investigate the gene polymorphism of tumor necrosis factor alpha (TNF-α) of human leukocyte antigen (HLA) locus in native population of Southern Iran.

Methods: This cross-sectional descriptive study was performed on 50 peripheral blood samples of native Southern Iranians. Allelic polymorphisms of TNF-α were studied using specialized primers. Statistical analyses were computed by SPSS and Popgene softwares.

Findings: Polymorphism evaluations showed that all 13 typical alleles of TNF-α were present in this Iranian group. TNF-α*3 and TNF-α*4 were the most prevalent alleles with relative frequencies of 24 and 1.6 percent, respectively. On the other hand, TNF-α*1 and TNF-α*2 were the rarest alleles with relative frequency of 2 percent. In addition, the differences between the frequencies of alleles and the studied population were significant ($P < 0.05$).

Conclusion: HLA microsatellites can be useful in identifying the relation between gene polymorphism of TNF and genetic diseases in different parts of Iran. Then can also be beneficial in preparing the first Iranian STR gene database.

Keywords: Gene polymorphism, Microsatellite, Tumor necrosis factor alpha

[1] Associate Professor, Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[2] Department of Microbiology, Jahrom Branch, Young Researcher's Club, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[3] Associate Professor, Department of Genetics, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Neurology, School of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences, Hormozgan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Kargar PhD, Email: mkargar@jia.ac.ir