



Correlation of C→T Polymorphism in -509 Promoter Region of TGF-β1 Gene with Long-Term Pulmonary Complications in Sulfur Mustard Chemical Injures

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Mohammadi M.¹ BSc,

Ghazanfari T.* PhD,

Amani D.² PhD,

Naghizadeh M.M.³ PhD

How to cite this article

Mohammadi M, Ghazanfari T, Amani D, Naghizadeh M.M. Correlation of C→T Polymorphism in -509 Promoter Region of TGF-β1 Gene with Long-Term Pulmonary Complications in Sulfur Mustard Chemical Injures. Iranian Journal of War & Public Health. 2014;6(5):221-226.

ABSTRACT

Aims Sulfur mustard causes blister and was used for the first time as a chemical weapon in World War I and during the Iran-Iraq war as well. The aim of this study was to investigate the correlation of C→T polymorphism in -509 promoter region of TGF-β1 gene with long-term pulmonary complications in sulfur mustard chemical injures.

Materials & Methods This study was done on 252 chemically-injured veterans including 107 exposed subjects with pulmonary problems and 145 subjects without pulmonary problems. Peripheral blood samples were collected in the tubes containing EDTA. Then, genomic DNA was extracted of peripheral blood leukocytes. PCR-RFLP method was used to determine genotype of the subjects. Statistical analysis was done using SPSS 18 by Chi-square test.

Findings 33 subjects in chemically-injured patients with pulmonary problems group and 43 subjects in groups without pulmonary problems had CC homozygous genotype. 59 chemically-injured patients with pulmonary problems and 76 subjects of the group without pulmonary problems had CT heterozygous genotype (p=0.967). Also, 15 subjects of pulmonary problems group and 26 subjects of the group without pulmonary problems had TT homozygous genotype (p=0.473). No significant difference was observed between different genotype distribution of the polymorphism of C→T in -509 promoter region of TGF-β1 gene of with and without pulmonary problem groups.

Conclusion C→T polymorphism in -509 promoter region of TGF-β1 gene is not correlated with pulmonary problems in chemical injured veterans.

Keywords Mustard Gas; TGF-β₁; Polymorphism, Genetic; Lung Diseases

CITATION LINKS

[1] Loss of expression of TGF-βs and their receptors in chronic skin lesions induced by ... [2] The long-term consequences of sulfur mustard on ... [3] Medical aspects of sulphur mustard ... [4] NFκB gene expression survey in peripheral blood cell of ... [5] Sulfur mustard-induced pulmonary injury: therapeutic approaches to ... [6] Long-term pulmonary complications in sulfur mustard victims of ... [7] COPD due to sulfur mustard ... [8] Long-term respiratory disorders of claimers with ... [9] Sardasht-Iran cohort study of ... [10] Alterations in the serum levels of chemokines 20 years after ... [11] Alterations in serum levels of inflammatory cytokines (TNF, IL-1α, IL-1β and IL-1Ra) 20 years after ... [12] Alterations in the serum levels of soluble L, P and E-selectin 20 years after ... [13] Levels of cytokine in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid in ... [14] Overexpression of transforming growth factor (TGF)-β1 and TGF-β3 genes in ... [15] Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage ... [16] Increased expression of transforming growth factor-β and ... [17] TGF-β in blood: A complex ... [18] Polymorphism of the promoter region of C-509T of ... [19] The promoter region (-800, -509) polymorphisms of ... [20] Transforming growth factor-β1 gene polymorphisms associated ... [21] Genetic association analysis of functional impairment in ... [22] Transforming growth factor-β1 gene polymorphisms are associated with ... [23] Effects of single nucleotide polymorphisms ... [24] Transforming growth factor-β1 genotype and susceptibility to ... [25] The transforming growth factor-β1 (TGFB1) gene is associated with ... [26] The association of transforming growth factor beta ... [27] Genotypic analysis of the TGF beta-509 allele in ... [28] Wound healing of cutaneous sulfur mustard injuries: strategies for ... [29] Incidence of lung, eye, and skin lesions as ... [30] Elevated plasma TGF-β1 levels in ... [31] Cytokine gene polymorphisms are ...

*Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
1Immunology Department, Medicine Faculty, Shahed University, Tehran, Iran

2Immunology Department, Medicine Faculty, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3Biostatistics Department, Medicine Faculty, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

Correspondence

Address: No. 21, Medicine Faculty, Shahed University, Shahid Abdolhazade Street, Keshavarz Boulevard, Tehran, Iran

Phone: +98 2188964792

Fax: +98 2188966310

tghazanfari@yahoo.com

Article History

Received: July 1, 2014

Accepted: August 25, 2014

ePublished: November 6, 2014

ارتباط پلی مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتر ژن $TGF-\beta_1$ با عوارض دیررس ریوی در مصدومان شیمیایی با گاز خردل

منیژه محمدی BSc

گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

طوبی غضنفری * PhD

مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

داور امانی PhD

گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

محمد مهدی نقی‌زاده PhD

گروه آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

چکیده

اهداف: گاز خردل ماده‌ای تاول‌زاست که برای اولین بار به‌عنوان سلاح شیمیایی در جنگ جهانی اول و نیز در طول جنگ عراق علیه ایران مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتر ژن $TGF-\beta_1$ با عوارض دیررس ریوی در مصدومان شیمیایی با گاز خردل بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در میان ۲۵۲ نفر جانباز شیمیایی که به دو گروه ۱۰۷ نفر افراد مواجه با گاز خردل با مشکل ریوی و ۱۴۵ نفر بدون مشکل ریوی تقسیم شده بودند، انجام شد. خون محیطی از افراد مورد مطالعه در لوله حاوی EDTA جمع‌آوری و سپس، DNA ژنومی از لوکوسیت‌ها استخراج شد. برای تعیین ژنوتیپ افراد از روش-PCR و RFLP استفاده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 و آزمون مجذور کای انجام گرفت.

یافته‌ها: در گروه مصدومان شیمیایی دارای مشکل ریوی ۳۳ نفر و در گروه بدون مشکل ریوی ۴۳ نفر دارای ژنوتیپ هموزیگوت CC بودند. ۵۹ نفر از مصدومان شیمیایی دارای مشکل ریوی و ۷۶ نفر از گروه بدون مشکل ریوی ژنوتیپ هتروزیگوت CT داشتند ($p=0/967$). همچنین، در گروه دارای مشکل ریوی ۱۵ نفر و در گروه بدون مشکل ریوی ۲۶ نفر دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT بودند ($p=0/473$). تفاوت معنی‌داری بین توزیع ژنوتیپی مختلف پلی مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتر ژن $TGF-\beta_1$ در گروه مواجهه بدون مشکل و دارای مشکل ریوی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: ارتباطی بین عوارض درازمدت ریوی ناشی از گاز خردل و پلی مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتر ژن $TGF-\beta_1$ وجود ندارد. **کلیدواژه‌ها:** گاز خردل، $TGF-\beta_1$ ؛ پلی مورفیسم؛ مشکلات ریوی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۶/۰۳

*نویسنده مسئول: tghazanfari@yahoo.com

مقدمه

گاز خردل ماده‌ای تاول‌زاست که برای اولین بار به‌عنوان سلاح شیمیایی در جنگ جهانی اول و نیز در طول جنگ عراق و ایران مورد استفاده قرار گرفته است [۱]. بمباران شیمیایی سردشت در تاریخ ۲۸ ژوئن ۱۹۸۷ (۷ تیر ۱۳۶۶) باعث مواجهه بیش از ۴۵۰۰ نفر از ساکنان آن شهر با این گاز شد [۲]. گاز خردل عموماً عوارض خود را از طریق پتانسیل آلکیل‌کردن اجزای سلولی مانند RNA، DNA، پروتئین‌ها و غشای لیپیدی انجام می‌دهد و منجر به آسیب‌های سلولی در سطح ژنتیک و متابولیک می‌شود [۳]. سال‌ها پس از مواجهه، مصدومان شیمیایی هنوز از عوارض این گاز شامل عوارض چشمی، پوستی، تنفسی و اختلال‌های روانی رنج می‌برند [۴]. این گاز بسیار سمی، در ریه باعث القای عوارض زودرس و تاخیری می‌شود [۵]. عوارض تنفسی از مهم‌ترین عوارض درازمدت گاز خردل محسوب می‌شود [۶]. به‌دلیل ناشناخته‌بودن مکانیسم‌های مولکولی و عدم وجود روش‌های تشخیصی مناسب، تشخیص عوارض ریوی با مشکلاتی روبه‌رو است. براساس گزارشات موجود، شایع‌ترین عوارض تاخیری ریوی شامل بیماری انسدادی مزمن ریه، برونشیت مزمن، برونشیکتازیس، ازدیاد پاسخ مسیر هوایی و فیبروز ریه است [۷]. اما مطالعات بعدی نشان داد که برونشیت انسدادی، شایع‌ترین بیماری ریوی در مصدومان شیمیایی ایرانی است [۸]. غضنفری و همکاران در مطالعه هم‌گروهی مصدومان شیمیایی سردشت به‌صورت تصادفی از بین مصدومان شیمیایی سردشت ۳۷۲ نمونه انتخاب و بروز مشکلات ریوی را در آنان بررسی نمودند. نتایج نشان می‌دهد که مواجهان دارای عوارض ریوی در سطوح مختلف (خفیف، متوسط و شدید) و حتی بدون عوارض ریوی هستند [۹]. نتایج این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که سطح سرمی فاکتورهای MCP 1/CCL2 در این افراد افزایش و میزان CCL5، IL-8/CXCL8 و RANTES کاهش یافته است [۱۰]. همچنین در مطالعات *یاری* و همکاران در میان مصدومان شیمیایی سردشت، مشخص شد که میزان سایتوکاین‌های التهابی شامل $IL-1\alpha$ ، $IL-1\beta$ ، $IL-1Ra$ و TNF کاهش یافته است [۱۱] و نیز سطح سرمی سلکتین‌های محلول L، E و P (از واسطه‌های التهابی) دچار تغییر شده‌اند که P و L کاهش و E افزایش داشتند [۱۲]. همچنین، مطالعات نشان می‌دهد که بین افزایش $TGF-\beta_1$ و عوارض دیررس ریوی در مصدومان شیمیایی ارتباط وجود دارد [۱۶-۱۳].

$TGF-\beta$ سایتوکاینی با اعمال متنوع مثل بازسازی ماتریکس خارج سلولی، سازمان‌یابی سلول، تنظیم رشد سلولی و تمایز، تنظیم پاسخ‌های سیستم ایمنی، ترمیم زخم است و در اختلال‌های سیستم ایمنی در رابطه با سرطان، بیماری‌های خودایمنی و عوارض فیبروزی نقش دارد [۱۷، ۱۸]. این سایتوکاین توسط سلول‌های مختلفی از جمله سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و سلول‌های

متخصص و فوق تخصص ریه به صورت مصاحبه و معاینه دقیق و کامل انجام شد و پرسش نامه تخصصی معاینات ریه تکمیل شد. اسپیرومتری براساس ضوابط جامعه قفسه سینه آمریکا (۱۹۹۵)، با استفاده از دستگاه اسپیرومتر (Chest801؛ ژاپن) تحت نظارت دقیق گروهی از پرستاران کارآموده انجام شد.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ TGF-β₁: خون محیطی از افراد مورد مطالعه در لوله حاوی EDTA جمع آوری شد. DNA ژنومی از لکوسیت های خون محیطی، با استفاده از کیت (DNG PlusTM؛ سیناژن) و براساس دستورالعمل کیت و طی مراحل زیر استخراج شد:

۱- گرم کردن محلول DNG PlusTM با قراردادن در ۳۷°C به مدت ۲۰ دقیقه؛

۲- هموژنیزه نمودن نمونه (۱/۱ میلی لیتر) با استفاده از ۷۰/۷ میلی لیتر از محلول DNG PlusTM و ۲۰-۱۵ ثانیه ورتکس؛

۳- افزودن ۵۰/۵ میلی لیتر ایزوپروپانول و مخلوط کردن با ورتکس. سانتریفوژ کردن نمونه در دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه (پس از سانتریفوژ ۲ لایه تشکیل می شود)؛

۴- محلول رویی را خالی نموده و لوله میکروتیوب را روی گاز استریل برگردانده تا خشک شود؛

۵- افزودن یک میلی لیتر اتانول ۷۵٪ روی رسوب باقیمانده، ۳-۵ ثانیه ورتکس و سانتریفوژ در دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه (تکرار این مرحله بیش از یک بار)؛

۶- خالی کردن اتانول به طور کامل و قراردادن نمونه ها در ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه (برای خشک شدن)؛

۷- حل کردن رسوب به دست آمده (DNA) در ۵۰ میکرولیت آب مقطر استریل و قراردادن نمونه ها در ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه؛

۸- ۳۰ ثانیه سانتریفوژ با دور ۱۲۰۰۰rpm (محلول حاصل حاوی DNA خالص شده است)

جدول ۱) توالی پرایمر مورد استفاده برای تکثیر ناحیه ۵۰۹- پروموتور ژن β₁- TGF [۱۹]

پرایمر	دمای آنیلینگ	طول آمپلیکون
F: AGTAAATGTATGGGGTCGCAG R: GGTGTCAGTGGGAGGAGGG	۶۴	۱۵۳bp

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از پرایمر (TIB MOLBIOL؛ آلمان) انجام گرفت (جدول ۱) و دستگاه ترمال سایکلر برای تکثیر قطعه DNA مورد نظر با یک دور واسرشت اولیه (۹۵°C؛ ۷ دقیقه)، ۳۰ دور واسرشت (۹۵°C؛ ۳۰ ثانیه) و یک دور بسط نهایی (۷۲°C؛ ۵ دقیقه) برنامه ریزی شد. از تکنیک PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ استفاده شد. محصولات PCR

T تنظیم کننده ترشح می شود [۱۹]. خانواده TGF-β دارای ۳ ایزوفرم شامل TGF-β₁، TGF-β₂ و TGF-β₃ با شباهت های ساختمانی و عملکردی زیاد است. TGF-β₁ فراوان ترین ایزوفرم است که توالی اولیه آن در طول تکامل به شدت حفظ شده است [۲۰]. در انسان TGF-β₁ روی کروموزوم ۱۹q واقع شده و چندین پلی مورفیسم در این ژن شناسایی شده است [۱۹، ۲۱، ۲۲]. نشان داده شده که برخی از پلی مورفیسم های ژن TGF-β₁ در تنظیم بیان آن موثر است [۲۳]. ارتباط برخی از ژنوتایپ ها با بروز بیماری های التهابی مزمن ریه مانند بیماری انسدادی مزمن ریه، فیروز ریوی ایدیوپاتیک و غیره نشان داده شده است [۲۱، ۲۶]. همچنین، نشان داده شده است که پلی مورفیسم در نواحی پروموتور منجر به تغییراتی در تنظیم رونویسی شده و بنابراین روی پیشرفت و شدت بیماری های مرتبط با TGF-β₁ تاثیر می گذارد [۱۹]. از طرف دیگر، بین پلی مورفیسم های شناخته شده، تغییر C→T در جایگاه ۵۰۹- پروموتور TGF-β₁ به طور معنی داری با غلظت پلاسمایی TGF-β₁ ارتباط دارد [۲۷]. با توجه به پاسخ مختلف افراد به گاز خردل در بروز بیماری ریوی و نقش احتمالی TGF-β₁ در این بیماری، به نظر می آید پلی مورفیسم ژن TGF-β₁ افزایش سطح سرمی آن و در نتیجه شدت عوارض ریوی موثر باشد. از آن جا که تاکنون در این زمینه مطالعه ای در مصدومان شیمیایی با گاز خردل صورت نگرفته است، این مطالعه با هدف بررسی رابطه پلی مورفیسم C→T در جایگاه ۵۰۹- پروموتور ژن TGF-β₁ با عوارض دیررس ریوی در مصدومان شیمیایی با گاز خردل انجام شد.

مواد و روش ها

۲۵۲ نفر از مصدومان شیمیایی شهر سردشت که در مطالعه هم گروهی مصدومان شیمیایی سردشت نمونه گیری شده بودند، جامعه آماری مطالعه حاضر را تشکیل دادند. شرایط ورود به مطالعه سردشت اثبات مواجهه قطعی با گاز خردل در تیرماه سال ۱۳۶۶ (ژوئن ۱۹۸۷) براساس پرونده پزشکی جانبازان در بنیاد شهید و امور ایثارگر، جنسیت مذکر، محدوده سنی ۲۰ تا ۶۰ سال، عدم مصرف داروی سرکوب کننده سیستم ایمنی در فاصله زمانی یک ماه منتهی به نمونه گیری بود. افراد دارای سابقه بیماری سیستمیک قبل از مواجهه با گاز خردل براساس پرونده پزشکی و همچنین افرادی که دارای نقص در اطلاعات پرونده پزشکی ریه بودند به مطالعه وارد نشدند. پس از بررسی بیماران براساس معیارهای ورود از مطالعه، ۱۰۷ نفر از مصدومان شیمیایی با عوارض ریوی و ۱۴۵ نفر بدون عوارض ریوی مورد مطالعه قرار گرفتند.

افراد مورد بررسی، پرسش نامه جمعیت شناختی که شامل سن، شاخص توده بدنی، وضعیت تاهل و سابقه سیگار کشیدن بود را تکمیل نمودند. سپس معاینات کامل ریوی به ترتیب توسط

مربوط به ناحیه ۵۰۹- با استفاده از آنزیم محدودکننده Eco81 I (Thermo Scientific؛ آمریکا) هضم شد. مرحله هضم آنزیمی براساس دستورالعمل شرکت سازنده آنزیم انجام گرفت. به منظور تشخیص قطعات حاصل از هضم آنزیمی، محصولات روی ژل آگاروز ۲/۵ تا ۳/۵٪ الکتروفورز شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 18 انجام گرفت. تعیین فراوانی آلل‌ها با روش شمارش آللی انجام شد. مقایسه ژنوتیپ در گروه‌های مطالعه با استفاده از آزمون مجذور کای انجام شد.

یافته‌ها

تفاوت آماری معنی‌داری بین توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتور $TGF-\beta_1$ و فراوانی آلل‌های مربوطه در گروه بدون مشکل ریوی و دارای مشکل ریوی مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲) مقایسه فراوانی مطلق و نسبی ژنوتیپ‌های مختلف و آلل‌ها در پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتور $TGF-\beta_1$ بین گروه بدون مشکل و دارای مشکل ریوی با استفاده از آزمون مجذور کای (اعداد داخل پرانتز درصد هستند)

شاخص	بدون مشکل ریوی	دارای مشکل ریوی	سطح معنی‌داری
ژنوتیپ			
CC	۴۳ (۲۹/۷)	۳۳ (۳۰/۸)	۰/۶۸۳
CT	۷۶ (۵۲/۴)	۵۹ (۵۵/۱)	۰/۹۶۷
TT	۲۶ (۱۷/۹)	۱۵ (۱۴/۰)	۰/۴۷۳
CT + TT	۱۰۲ (۷۰/۳)	۷۴ (۶۹/۲)	۰/۸۳۹
آلل			
C	۱۶۲ (۵۵/۹)	۱۲۵ (۵۸/۴)	۰/۷۰۲
T	۱۲۸ (۴۴/۱)	۸۹ (۴۱/۶)	۰/۵۶۸

بحث

گاز خردل به عنوان یک عامل آلکیل‌کننده تاول‌زا با ویژگی‌های سایتوتوکسیک و موتاژنیک شناخته شده است که دارای عوارض زودرس و دیررس است. ریه، یکی از مهم‌ترین اعضای درگیر در مصدومان شیمیایی که سال‌ها قبل با گاز خردل مواجهه داشته‌اند است که نشان‌دهنده فعالیت مکانیسم‌های ایمنی و التهاب است [۲۹، ۲۸]. $TGF-\beta_1$ سایتوکاینی با اعمال متنوع است [۱۷] که نتایج مطالعات نشان داده افزایش آن در مصدومان شیمیایی، با عوارض دیررس ریوی ارتباط دارد [۱۶-۱۳]. گزارش شده است که پلی‌مورفیسم ژن $TGF-\beta_1$ در بیان آن موثر است [۲۳]. پلی‌مورفیسم در ناحیه پروموتور $TGF-\beta_1$ در موقعیت‌های ۵۰۹-، ۸۰۰- و ۹۸۸- گزارش شده است [۱۹]. پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ ۵۰۹-،

به طور معنی‌داری با غلظت پلاسمایی $TGF-\beta_1$ ارتباط دارد [۲۷]. برخی مطالعات نشان می‌دهند پلی‌مورفیسم‌های ناحیه پروموتور ممکن است منجر به تغییر در تنظیم رونویسی ژن شده و در تشدید بیماری‌های وابسته به $TGF-\beta_1$ موثر باشند [۱۹]. از طرف دیگر، گزارش شده است که آلل T از پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ ۵۰۹- باعث ایجاد تغییر در جایگاه اتصال فاکتور رونویسی YY1 می‌شود که اتصال YY1 و عملکرد پروموتور را افزایش می‌دهد. این تغییر با فعالیت بالای رونویسی ژن همراه است [۲۵] و در نتیجه موجب افزایش تولید $TGF-\beta_1$ فعال می‌شود [۲۰]. ارتباط برخی از ژنوتایپ‌ها با بروز بیماری‌های التهابی مزمن ریه مانند بیماری انسدادی مزمن ریه، فیبروز ریوی ایدیوپاتیک و غیره نشان داده شده است [۲۶-۲۱].

در این مطالعه، پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- پروموتور ژن $TGF-\beta_1$ در ۲۵۲ نفر از افراد مواجهه‌یافته با گاز خردل مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌های آماری نشان داد بین دو گروه مواجهه بدون مشکل و دارای مشکل ریوی از لحاظ توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- ژن $TGF-\beta_1$ و فراوانی آلل‌های مربوطه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در بررسی منابع موجود، تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با پلی‌مورفیسم $TGF-\beta_1$ در مصدومان شیمیایی گزارش نشده است. در مطالعه‌ای سطح تعدادی از سایتوکاین‌ها از جمله $TGF-\beta$ را در بیماران فیبروز ریوی در اثر مواجهه با گاز خردل بررسی کرده‌اند. نتایج نشان داده که سطح $TGF-\beta$ در بیماران با فیبروز ریوی در اثر مواجهه با گاز خردل در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است [۱۳]. همچنین، سطح $TGF-\beta_1$ در مایع BAL (bronchoalveolar lavage) مصدومان شیمیایی مواجهه با گاز خردل اندازه‌گیری شده است. تفاوت معنی‌دار بین مصدومان شیمیایی و گروه کنترل مصدومان شیمیایی مشاهده شده است [۱۵]. نتایج مطالعه‌ای دیگر نشان می‌دهد بیان ژن‌های $TGF-\beta_1$ و $TGF-\beta_2$ در سلول‌های فیبروبلاست راه هوایی جدا شده از مصدومان شیمیایی نسبت به نمونه‌های گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته است [۱۶]. در برخی مطالعات پلی‌مورفیسم ژن $TGF-\beta_1$ در بیماری‌های ریوی بررسی شده است. در مطالعه‌ای سطح پلاسمایی $TGF-\beta_1$ و ارتباط آن با پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- و $C \rightarrow T$ در جایگاه ۸۶۹+ ژن $TGF-\beta_1$ را در بیماران مبتلا به بیماری انسدادی مزمن ریه و گروه کنترل بررسی کرده‌اند. نشان داده شده که سطح پلاسمایی $TGF-\beta_1$ بین دو گروه به طور معنی‌داری متفاوت است، در حالی که توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل در دو گروه تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. پیشنهاد شده است که بالابودن سطح پلاسمایی $TGF-\beta_1$ ممکن است در پاتوژنز بیماری انسدادی مزمن ریه نقش داشته باشد. از طرف دیگر، پلی‌مورفیسم $C \rightarrow T$ در جایگاه ۵۰۹- و $C \rightarrow T$ در جایگاه ۸۶۹+ ژن $TGF-\beta_1$ استعداد

امور ایثارگران و پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان به انجام رسیده است.

منابع

- 1- Khareshi I, Keshavarz S, Imani Fooladi AA, Ebrahimi M, Yazdani S, Panahi Y, et al. Loss of expression of TGF-βs and their receptors in chronic skin lesions induced by sulfur mustard as compared with chronic contact dermatitis patients. *BMC Dermatol*. 2011;11:1-2.
- 2- Ghazanfari T, Mohammad Hassan Z, Foroutan A. The long-term consequences of sulfur mustard on Iranian chemical victims: Introduction. *Toxin Rev*. 2009;28(1):1-2.
- 3- Kehe K, Szinicz L. Medical aspects of sulphur mustard poisoning. *Toxicology*. 2005;214(3):198-209.
- 4- Parvizpour F, Ghazanfari T, Salimi H, Faghihzadeh S, Yaraee R, Sharifnia Z, et al. NFκB gene expression survey in peripheral blood cell of Sardasht Warfare Agent victims 20 years after exposure to sulfur mustard. *Iran J War Pub Health*. 2011;3(12):38-47.
- 5- Weinberger B, Laskin JD, Sunil VR, Sinko PJ, Heck DE, Laskin DL. Sulfur mustard-induced pulmonary injury: therapeutic approaches to mitigating toxicity. *Pulm Pharmacol Ther*. 2011;24(1):92-9.
- 6- Pourfarzam S, Ghazanfari T, Merasizadeh J, Ghanei M, Azimi G, Araghizadeh H, et al. Long-term pulmonary complications in sulfur mustard victims of Sardasht, Iran. *Toxin Rev*. 2009;28(1):8-13.
- 7- Lari SM, Attaran D, Towhidi M. COPD due to sulfur mustard (mustard lung). Available from: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/30169.pdf>.
- 8- Ghanei M, Fathi H, Mohammad MM, Aslani J, Nematizadeh F. Long-term respiratory disorders of claimers with subclinical exposure to chemical warfare agents. *Inhal Toxicol*. 2004;16(8):491-5.
- 9- Ghazanfari T, Faghihzadeh S, Araghizadeh H, Soroush MR, Yaraee R, Mohammad Hassan Z, et al. Sardasht-Iran cohort study of chemical warfare victims: Design and methods. *Arch Iran Med*. 2009;12(1):5-14.
- 10- Ghazanfari T, Yaraee R, Kariminia A, Ebtekar M, Faghihzadeh S, Vaez-Mahdavi MR, et al. Alterations in the serum levels of chemokines 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran Cohort Study. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(13-14):1471-6.
- 11- Yaraee R, Ghazanfari T, Ebtekar M, Ardestani SK, Rezaei A, Kariminia A, et al. Alterations in serum levels of inflammatory cytokines (TNF, IL-1α, IL-1β and IL-1Ra) 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran cohort study. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(13-14):1466-70.
- 12- Yaraee R, Ghazanfari T, Faghihzadeh S, Mostafaie A, Soroush MR, Inai K, et al. Alterations in the serum levels of soluble L, P and E-selectin 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran Cohort Study. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(13-14):1477-81.
- 13- Emad A, Emad Y. Levels of cytokine in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid in patients with pulmonary fibrosis due to sulfur mustard gas inhalation. *J Interferon Cytokine Res*. 2007;27(1):38-43.
- 14- Arzan Zarin A, Behmanesh M, Tavallaei M, Shohrati M, Ghanei M. Overexpression of transforming growth factor (TGF)-β1 and TGF-β3 genes in lung of toxic-inhaled patients. *Exp Lung Res*. 2010;36(5):284-91.
- 15- Aghanouri R, Ghanei M, Aslani J, Keivani-Amine H, Rastegar F, Karkhane A. Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage aspirates 15 years after exposure to

ژنتیکی برای ابتلا به بیماری انسدادی مزمن ریه را در افراد چینی نشان نداده است [۳۰] که تاحدودی با مطالعه ما همخوانی دارد. این در حالی است که در مطالعه‌ای دیگر پلی‌مورفیزم TGF-β_۱ و ارتباط آن با بیماری انسدادی مزمن ریه را مورد بررسی قرار داده‌اند. بر خلاف مطالعه ما نتایج نشان داده که فراوانی آلل T در جایگاه ۵۰۹- در گروه کنترل نسبت به افراد مبتلا به بیماری انسدادی مزمن ریه به‌طور معنی‌داری بالا بوده است و در افراد مبتلا به بیماری انسدادی مزمن ریه فراوانی آلل A در جایگاه ۸۰۰- در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بالا بوده است که می‌تواند نشان‌دهنده نقش احتمالی پلی‌مورفیزم پروموتور ژن TGF-β_۱ در ابتلا به بیماری انسدادی مزمن ریه باشد [۲۰]. همچنین، پلی‌مورفیزم تعدادی از سایتوکاین‌ها از جمله T→C در جایگاه ۸۶۹+ و C→G در جایگاه ۹۱۵+ ژن TGF-β_۱ را در افرادی که از سال ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۸ تحت پیوند ریه قرار گرفته بودند، بررسی کردند. در این مطالعه افرادی که حداقل عمده پس از پیوند، زنده ماندند بودند یا به سندروم برونشولیت آبلیترانس (Bronchiolitis Obliterans) مبتلا شده بودند، ارزیابی شدند و تفاوتی در پلی‌مورفیزم سایتوکاین‌های مورد بررسی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیزم این سایتوکاین‌ها نمی‌تواند روی شروع برونشولیت آبلیترانس یا بقای پیوند در افراد گیرنده تأثیری داشته باشد [۳۱].

با توجه به وجود پلی‌مورفیزم در نواحی دیگر پروموتور، بررسی تغییر سایر جایگاه‌ها مثل پلی‌مورفیزم G→A در جایگاه ۸۰۰- و ارتباط آن با عوارض درازمدت ریوی پیشنهاد می‌شود. همچنین پیشنهاد می‌شود که ارتباط این ژنوتیپ‌ها با سایر عوارض درازمدت گاز خردل شامل چشمی و پوستی در مطالعات دیگر بررسی شود.

نتیجه‌گیری

ارتباطی بین عوارض درازمدت ریوی ناشی از گاز خردل و پلی‌مورفیزم C→T در جایگاه ۵۰۹- پروموتور ژن TGF-β_۱ وجود ندارد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از تمامی کسانی که آنها را در انجام این پروژه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تأییدیه اخلاقی: پروژه هم‌گروهی مصدومان شیمیایی سردشت در کمیته اخلاق پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان و شورای پژوهشی دانشگاه شاهد تصویب شد.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه شاهد است که در مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد با حمایت مالی دانشگاه شاهد، بنیاد شهید و

- factor- β 1 gene on chronic obstructive pulmonary disease susceptibility in Chinese. *Chin Med J*. 2010;123(4):390-4.
- 24- Wu L, Chau J, Young R, Pokorny V, Mills G, Hopkins R, et al. Transforming growth factor- β 1 genotype and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2004;59(2):126-9.
- 25- Celedón JC, Lange C, Raby BA, Litonjua AA, Palmer LJ, DeMeo DL, et al. The transforming growth factor- β 1 (TGFB1) gene is associated with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Hum Mol Genet*. 2004;13(15):1649-56.
- 26- Ito M, Hanaoka M, Droma Y, Hatayama O, Sato E, Katsuyama Y, et al. The association of transforming growth factor beta 1 gene polymorphisms with the emphysema phenotype of COPD in Japanese. *Intern Med*. 2008;47(15):1387-94.
- 27- Caserta TM, Knisley AA, Tan FK, Arnett FC, Brown TL. Genotypic analysis of the TGF beta-509 allele in patients with systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *Ann Genet*. 2004;47(4):359-63.
- 28- Graham JS, Chilcott RP, Rice P, Milner SM, Hurst CG, Maliner BI. Wound healing of cutaneous sulfur mustard injuries: strategies for the development of improved therapies. *J Burns Wounds*. 2005;4:e1.
- 29- Khateri Sh, Ghanei M, Keshavarz S, Soroush M, Haines D. Incidence of lung, eye, and skin lesions as late complications in 34,000 Iranians with wartime exposure to mustard agent. *J Occup Environ Med*. 2003;45(11):1136-43.
- 30- Mak JC, Chan-Yeung MM, Ho SP, Chan KS, Choo K, Yee KS, et al. Elevated plasma TGF- β 1 levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2009;103(7):1083-9.
- 31- Snyder LD, Hartwig MG, Ganous T, Davis RD, Herczyk WF, Reinsmoen NL, et al. Cytokine gene polymorphisms are not associated with bronchiolitis obliterans syndrome or survival after lung transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2006;25(11):1330-5.
- sulfur mustard. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287(6):L1160-4.
- 16- Mirzamani MS, Nourani MR, Imani Fooladi AA, Zare S, Ebrahimi M, Yazdani S, et al. Increased expression of transforming growth factor- β and receptors in primary human airway fibroblasts from chemical inhalation patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2013;12(2):144-52.
- 17- Grainger DJ, Mosedale DE, Metcalfe JC. TGF- β in blood: A complex problem. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2000;11(1-2):133-45.
- 18- Tamizifar B, Bagheri-Lankarani K, Naeemi S, Rismankar-Zadeh M, Taghavi A, Ghaderi A. Polymorphism of the promoter region of C-509T of transforming growth factor-beta1 gene and ulcerative colitis. *Arch Iran Med*. 2007;10(2):171-5.
- 19- Amani D, Zolghadri J, Samsami Dehaghani A, Pezeshki AM, Ghaderi A. The promoter region (- 800,- 509) polymorphisms of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) gene and recurrent spontaneous abortion. *J Reprod Immunol*. 2004;62(1-2):159-66.
- 20- Su ZG, Wen FQ, Feng YL, Xiao M, Wu XL. Transforming growth factor- β 1 gene polymorphisms associated with chronic obstructive pulmonary disease in Chinese population. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005;26(6):714-20.
- 21- Hersh CP, Demeo DL, Lazarus R, Celedón JC, Raby BA, Benditt JO, et al. Genetic association analysis of functional impairment in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173(9):977-84.
- 22- Xaubet A, Marin-Arguedas A, Lario S, Ancochea J, Morell F, Ruiz-Manzano J, et al. Transforming growth factor- β 1 gene polymorphisms are associated with disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(4):431-5.
- 23- Liu DS, Li XO, Ying BW, Chen L, Wang T, Xu D, Wen, et al. Effects of single nucleotide polymorphisms 869 T/C and 915 G/C in the exon 1 locus of transforming growth