ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of T-bet and GATA-3 Gene Expression in Allergic Asthma Patients

AtiehRafatmanesh[1],
Siavash Abedi[2],
Javad Ghaffari[3],
Mojtaba Najafi[4],
Saeid Abediankenari[5]

[1] MSc Student in Immunology, Immunogenetic Research Center, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Associate Professor, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] PhD Student in Animal Breeding and Genetics,Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran
[5]Associate Professor, Department of Immunology, ImmunogeneticResearch Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 11, 2014 ; Accepted September 8, 2014)

Abstract

Background and purpose: Allergic asthma is a chronic inflammatory disease identified by high response to allergens and excessive air ways edema. T-bet and GATA-3 are two transcriptional factors that differentiate Th1 and Th2 from Tnaive. In this study, we examined the expression levels of these two factors in patients with allergic asthma incomparison with healthy controls.

Materials and methods: In a case- control study, 26 patients with allergic asthma and 26 healthy subjects were studied who were matched for age and sex. Sampling was done and peripheral blood mononuclear cells were isolated and cDNA was synthesized after RNA extraction. Gene's expressions were evaluated by Real-time Polymerase chain reaction.

Results: The results showed that T-bet and GATA-3 expression levels significantly increased in patients in comparison with control group. In addition, GATA-3/T-bet ratio showed a significant increase in case group (P=0.005).

Conclusion: This study showed that the genes expression of T-bet and GATA-3 regulate the balance ofTh1/Th2. Therefore, evaluation of T-bet and GATA-3 is believed to have an important role in treatment and clinical condition of asthma patients.

Keywords: Allergic asthma, T-bet, GATA-3

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(117): 29-38 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۷ مهر سال ۱۳۹۳ (۳۸-۲۹)

بررسی بیان ژن های T-bet و Gata-3 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک

عطیه رفعت منش[۱]
سیاوش عابدی[۲]
جواد غفاری[۳]
مجتبی نجفی[۴]
سعید عابدیان کناری[۵]

چکیده

سابقه و هدف: آسم آلرژیک بیماری التهابی مزمنی است که به وسیله پاسخ بیش از حد به آلرژن‌ها وادمراههای هوایی مشخص می‌شود. T-bet و GATA-3 دو فاکتور نسخه‌برداری هستند که موجب تمایز Th1 و Th2 از Tnaive می‌شوند. در این مطالعه ما به بررسی میزان بیان این دو فاکتور در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک در مقایسه با گروه شاهد پرداختیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، ۲۶ بیمار مبتلا به آسم آلرژیک و ۲۶ فرد سالم که با گروه مورد از لحاظ سن و جنس همسان‌سازی شده بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از خونگیری سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی جدا گردید، RNA آن‌ها استخراج و cDNA سنتز شد و با استفاده از Real-time PCR (Real-time Polymerase chainreaction) بیان ژن‌های T-bet و GATA-3مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد میزان بیان T-betوGATA-3 در بیماران افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد داشت. به علاوه نسبت GATA-3/T-bet نیز در گروه مورد افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد داشت (p=۰/۰۰۵).

استنتاج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که میزان بیان این دو فاکتور، سبب تنظیم تعادل سلول‌های Th1وTh2می گردد. لذا پیشنهاد می‌شود ارزیابی ژن‌های T-bet و GATA-3 نقش مهمی در درمان و تعیین وضعیت بالینی بیماران مبتلا به آسم آلرژیک داشته باشد.

واژه های کلیدی: آسم آلرژیک، GATA-3، T-bet

مقدمه

کلمه "ASTHMA" برگرفته از زبان یونانی و به معنای تنگی نفس می‌باشد(۱). آسم آلرژیک بیماری التهابی مزمنی است که با التهاب و تغییرات مجاری هوایی مشخص می‌شود و سلول‌های مختلفی از جمله لنفوسیت‌های T، ماست سل‌ها و ائوزینوفیل‌ها در ایجاد آن دخالت دارند(۵-۲). فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در این بیماری نقش به سزایی ایفا می کنند(۷،۶). شیوع آسم از سال ۱۹۷۰ به‌طور قابل توجهی رو به افزایش است(۸).

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۳۱۷- ۹۱ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: سعید عابدیان کناری- ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استادیار، گروه داخلی، فوق تخصص ریه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشیار، گروه اطفال، فوق تخصص آسم و آلرژی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشجوی دکترای ژنتیک و اصلاح دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران
۵. دانشیار، گروه ایمونوولوژی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۲/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۵/۱۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۶/۱۷

بر طبق آخرین آمار WHO تعداد افراد مبتلا به آسم در کل دنیا ۳۰۰ میلیون نفر می‌باشد و این تعداد تا سال ۲۰۲۵ به ۴۰۰ میلیون نفر نیز می‌تواند برسد(۹). این آمار نشان‌دهنده اهمیت این مشکل و تعداد بالای بیماران مبتلا به آن است به علاوه در صورت عدم درمان، این بیماری می‌تواند به یک مشکل جدی برای بهداشت عمومی تبدیل شود(۵).

سلول‌های $CD4^+$ T در پاسخ به انواع پاتوژن‌ها نقش مهمی دارند که در جهت‌دهی پاسخ‌های ایمنی به سمت سلولی و هومورال می‌توانند موثر باشند(۱۰). پاسخ Th1 و Th2 به صورت یک نسبت تعادل (Th1/Th2 ratio) در نظر گرفته می‌شود که بر یکدیگر اثر تنظیمی دارند و عدم تعادل مابین Th1 و Th2 می‌تواند در بروز بیماری‌های آتوپیک و آسم دخیل باشد(۱۱). سلول‌های Th1 سایتوکاین‌های IFN-γ و IL-2 و TNF را تولید کرده وبا ایمنی وابسته به سلول (CMI) مرتبط بوده و از تمایز سلول‌های Th2 جلوگیری می‌کند(۱۳،۱۲). در حالی که لنفوسیت‌های Th2اینترلوکین‌های ۴، ۵ و ۱۳ (IL-4 ، IL-5 و IL-13) را تولید کرده که این سایتوکاین‌ها در بیماران مبتلا به آسم به فراوانی یافت می‌شوند و می‌تواند بروز برخی از واکنش‌های ایمنی سلولی جلوگیری کرده و در پیشروی ایمنی هومورال نقش داشته باشند.علاوه بر این، سایتوکاین‌های تولیدی توسط Th2 نقش مهمی در فعال‌سازی و انفیلتراسیون ائوزینوفیل‌ها ایفا می‌کنندکه فعال شدن این سلول‌ها منجر به آزاد شدن کموکاین‌ها، لوکوترین‌ها، مولکول‌های اتصالی و در نهایت ایجاد التهاب در مجاری هوایی می‌شود(۱۹-۱۴).

GATA-3 (GATA binding protein 3) فاکتور نسخه بردار تمایز Th2 بوده که متعلق به خانواده GATA است که به سکانس (ATGATAAG) از DNA باند می‌شود(۲۱،۲۰). در سال‌های ابتدای کشف GATA-3 تصور می‌شد این فاکتور تنظیم کننده بیان ژن سایتوکاین‌ها در سلول‌های T است، اما در مطالعات بعدی مشخص شد GATA-3 یکی از مولکول‌های مهم تمایزدهنده سلول‌های Th2 است(۲۴-۲۲). T-bet عضوی از خانواده T-box[1] بوده، دارای سکانس محافظت شده DNA است که ۲۰۰ اسید آمینه را کد می‌کند(۲۵). T-bet فاکتور نسخه‌برداری است که باعث تمایز سلول‌های Th1 از سلول‌های T اولیه (naive) می‌شود(۲۷،۲۶،۲۴). به علاوه مولکول‌های GATA-3 نقش مهمی در بروز بیماری‌های مختلف از قبیل بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها دارند(۲۸).

با توجه به آمار بالای بیماران مبتلا به آسم به ویژه در شمال کشور و با توجه به نقش مهمی که این دو فاکتور نسخه‌برداری و سایتوکاین‌های Th1 و Th2 در تنظیم پاسخ ایمنی و بالانس میان Th1/Th2 دارند و البته نقش مهم و اثبات شده سلول‌های Th2 در بیماری‌های آلرژیک و آسم، مطالعه حاضر بر اساس بررسی میزان بیان T-bet و GATA-3 در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به آسم آلرژیک طراحی شده است. لذا با انجام این مطالعه و شناخت برخی از مکانیسم‌های مولکولی به می‌توان الگویی مناسب در پیشگیری و درمان آن تعریف نمود و از این طریق گامی موثر در بهبود وضعیت بالینی این بیماران داشته باشیم.

مواد و روش‌ها

در مطالعه مورد- شاهدی حاضر، تعداد ۲۶ بیمار مبتلا به آسم آلرژیک که با علائم سرفه، تنگی نفس، مشکلات تنفسی به همراه آلرژی به پزشک فوق تخصص آلرژی کلینیک طوبی ساری در سال ۹۲ مراجعه کرده بودند، با توجه به مطالعات مشابه نزدیک انتخاب شدند. تشخیص بیماری بر اساس آزمایشات کلینیکی و پارا کلینیکی و انجام تست اسپیرومتری صورت گرفت. معیارهای ورود به مطالعه داشتن علائم بالینی بیماری آسم به همراه آلرژی و معیارهای خروجی مصرف هرگونه

۱. فاکتورهای نسخه بردار

دارو، اعتیاد به مواد مخدر، دیابت و بیماری زمینه ای بود.به علاوه تعداد ۲۶ فرد نرمال هم سن و هم جنس نیز به عنوان گروه کنترل در این مطالعه قرار گرفتند.

پس از کسب رضایت نامه آگاهانه، از هر نفر ۸ میلی لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد و به روش زیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی آنها جدا گردید.

جداسازی سلول‌های تک هسته ای خون محیطی (PBMC)

۵ میلی‌لیتر از خون کاملهر داوطلب به آرامی به ۲/۵ میلی‌لیتر فایکول ۱/۰۷۷، (Biosera، انگلستان) اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور g × ۴۰۰ سانتریفوژ و لایه حاوی سلول‌های تک هسته ایجادشدند.بعد از دو بار شستشو با PBS، شمارش سلولی با استفاده از لام نئوبارصورت گرفت و در ادامه ۵×۱۰^{۶} سلول، تحت مطالعه جهت استخراج RNA مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج RNA با استفاده ازکیت تجاری RNeasy mini Kit شرکت QIAGEN (آلمان) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت و نهایتا در ۵۰µL آب DEPC حل شد. پس از استخراج RNA، جذب نوری آن با استفاده از دستگاه Pico Drop 2000 (انگلستان) در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و خلوص آن به صورت نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر (A۲۶۰/۲۸۰) سنجش گردید.

ساخت cDNA

ساخت cDNA با استفاده از کیت RevertAid first strand cDNA synthesis (Thermo scientific، ایتالیا) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. حجم نهایی مخلوط ۲۰ میکرولیتر بود و خلوص cDNA با استفاده از دستگاه Pico Drop 2000 (انگلستان) تعیین شد.

واکنش Real-Time PCR

ارزیابی میزان بیان دو ژن T-bet و GATA-3 با استفاده از روش Real-Time PCR به وسیله کیت

Quanti Fast SYBR Green PCR Master Mix (Thermo scientific، ایتالیا) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و دستگاه ترموسیکلر بیوراد Multicolor Real time PCR detectionsystemBio Rad iQ5 صورت گرفت. در این مطالعه از ژن EF-1(elongation factor-1) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و بیان دو ژن دیگر نسبت به بیان این ژن سنجیده شد. ساخت و تولید ۳ پرایمر GATA-3، T-bet و EF-1 توسط شرکت Bioneer (کره جنوبی) انجام گرفت.پروتکل دمایی که در این مطالعه استفاده شد شامل ۹۵ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه جهت واسرشت اولیه، ۴۵ سیکل به صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه بود. داده‌های خام به صورت Ct [1] ازدستگاه خارج شد(۲۹).

تجزیه و تحلیل Ctها با استفاده از نرم‌افزار Excel، تست Tukeyو برنامه SAS انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱: توالی پرایمر مورد استفاده در Real Time PCR

ژن	پرایمر	سکانس	طول محصول (جفت باز)
EF-1	Forward Reverse	CTGAACCATCCAGGCCAAAT GCCGTGTGGCAATCCAAT	59
T-bet	Forward Reverse	GATGCGCCAGGAAGTTTCAT GCACAATCATCTGGGTCACATT	83
GATA-3	Forward Reverse	GCGGGCTCTATCACAAAATGA GCTCTCCTGGCTGCAGACAGC	79

1. Threshold cycle

یافته ها

از میان ۵۲ داوطلب شرکت‌کننده در این مطالعه، تعداد ۲۶ نفر مبتلا به آسم آلرژیک و ۲۶ نفر آن‌ها گروه شاهد بودند که این دو گروه با یکدیگر از نظر سن و جنس همسازی شدند. توزیع فراوانی خصوصیات فردی گروه مورد و شاهد در جدول شماره ۲ بیان شده است.

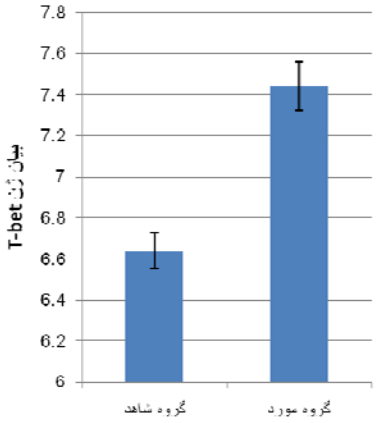
جدول شماره ۲: مقایسه ویژگی های دموگرافیک گروه مورد و شاهد (حذف موارد ذکر شده)

خصوصیات	گروه کنترل	موردگروه
میانگین سنی (سال)	۱۰/۴۸±۳۲/۳۳	۹/۵±۳۰/۴۲
رنج سنی (سال)	۱۴-۵۱	۱۴-۵۱
جنس		
مرد (درصد)	۱۰(۳۸/۵)	۱۰(۳۸/۵)
زن (درصد)	۱۶ (۶۱/۵)	۱۶ (۶۱/۵)
درصد ائوزینوفیل	۲±۰/۷۵	۶/۶۵±۱۲/۶۴
سابقه بیماری آسم (سال)	منفی	۵/۹۳±۳/۳۹
سابقه مصرف دارو	منفی	منفی
مکان زندگی		
شهر (درصد)	۱۶(۶۱)	۱۹(۷۰)
روستا (درصد)	۱۰(۳۹)	۷(۳۰)

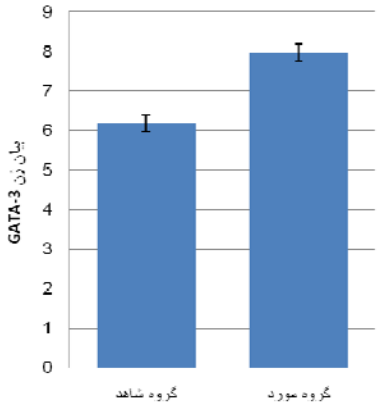
نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیان دو ژن GATA-3 و T-bet در افراد مبتلا به آسم آلرژیک افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد دارد. همچنین نسبت این دو ژن که به صورت نسبت GATA-3/T-bet ارزیابی شد نیز در گروه بیماران افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد داشت (جدول شماره ۳ و نمودارهای شماره۱، ۲ و۳).

جدول شماره ۳: میزان بیان ژن های T-bet و GATA-3 و GATA-3/T-bet

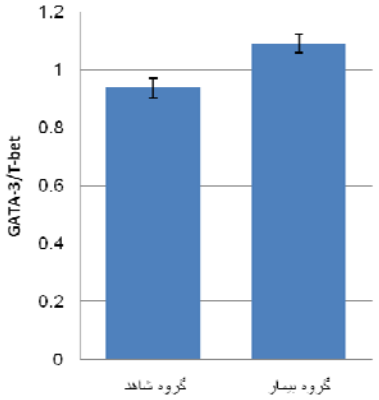
ژن	گروه شاهد(Mean ± SEM)	گروه مورد(Mean ± SEM)
T-bet	۶/۶±۰/۰۸	۷/۴±۰/۱۱
GATA-3	۶/۱±۰/۲	۷/۹±۰/۲
GATA-3/T-bet	۰/۹±۰/۰۳	۱±۰/۰۳



نمودار شماره ۱: بیان ژن T-bet در دو گروه مورد و شاهد، نتایج بر حسب Δct و mean±SEM است (p=۰/۰۰۲)



نمودار شماره۲: بیان ژن GATA-3 در دو گروه مورد و شاهد ، نتایج بر حسب Δct و mean±SEM است(p=۰/۰۰۱).



نمودار شماره۳: نسبت بیان ژن GATA-3/T-bet در دو گروه مورد و شاهد، نتایج بر حسب Δct و mean±SEM است (p=۰/۰۰۲).

بحث

در این مطالعه بیان دو ژن T-bet و GATA-3 که در بالانس بین Th1/Th2 نقش موثری دارند، در آسم آلرژیک مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از افزایش معنادار دو ژن T-bet و GATA-3 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک نسبت به گروه شاهد بوده است، به علاوه نسبت GATA-3/T-bet نیز در گروه مورد افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد داشت.

آسم آلرژیک بیماری التهابی و مزمن ریوی است که به وسیله پاسخ بیش از حد به آلرژن‌ها، ادمراه هوایی و افزایش ترشح مخاط مشخص می‌شود(۳۰). شروع این بیماری در اکثر موارد از دوران کودکی می‌باشد که غالبا سطح سرمی IgE توتال و IgE اختصاصی افزایش یافته است(۳۲،۳۱). عوامل محیطی و ژنتیکی بر شدت پاسخ آسم تاثیر می‌گذارند و فاکتورهایی همچون ویروس‌ها، آلرژن‌ها و تماس‌های شغلی می‌توانند تغییردهنده سیر بیماری باشند(۳۴،۳۳).

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد کهتعداد زنان مبتلا به آسم آلرژیک نسبت به مردان مبتلا به آسم آلرژیک بیشتر است و از لحاظ منطقه سکونت نیز ۷۰ درصد از بیماران در منطقه شهری سکونت داشتند. این آمار بیانگر این مطلب است که میزان بیماری آسم در مناطق خوش آب و هوا و روستایی نسبت به مناطق شهری کمتر است که نشان‌دهنده تاثیر عوامل محیطی در بروز بیماری‌های آلرژیک از قبیل آسم می‌باشد.

مکانیسم های ایمونولوژیک آسم در سال ۱۹۸۶ ابتدا در موش و سپس در انسان کشف شدند. ژن‌های زیادی در بروز آسم دخالت دارند که در این مطالعه به بررسی بیان دو ژن T-bet و GATA-3 پرداخته شد. در انسان تیپ‌های متفاوتی از سلول‌های $T\ CD4^+$ وجود دارد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به Th1 و Th2 اشاره کرد که یکی از دلایل اصلی تفاوتبین این سلول‌ها، سایتوکاین‌های تولید شده توسط آن‌ها می‌باشد(۳۶،۳۵). Th2 مسئول واکنش‌های آلرژیک بوده که در نهایت می‌تواند منجر به بروز بیماری آسم شود(۳۸،۳۷). IL-4 تولید شده توسط Th2 یکی از تنظیم کننده‌های واکنش‌های ایمنی با واسطه IgE، ماست سل و ائوزینوفیل است. نقص ژن IL-4 منجر به عدم پاسخ Th2 و یا عدم تولید IL-5 و IL-13 و کاهش سطح سرمی IgG و IgE می‌شود(۴۰،۳۹). رسپتور IL-4 یک هترودایمر است که با اتصال به IL-4 از طریق مسیر STAT Jak- و به کمک STAT-6 منجر به بیان GATA-3، تمایز Th2 و تولید IL-4، IL-5 و IL-13 می‌شود(۴۳-۴۱). T-bet تمایز دهنده Th1 از سلول‌های T اولیه (naive) است(۲۹).

مطالعات فراوانی برای تعیین علل ژنتیکی آسم صورت گرفته که بیانگر نقش مهم دو ژن T-bet و GATA-3 در آسم است. YONG JI و همکارانش با استفاده از تکنیک RT-PCR به‌طور کیفی نشان دادند که میزان GATA-3 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک افزایش یافته و بالعکس میزان T-bet و نسبت T-bet/GATA-3 در این بیماران کاهش می‌یابد(۵). در مطالعه دیگر Jun Sik Lee و همکارانش نشان دادند که میزان بیان دو ژن T-bet و GATA-3 در بافت ریه موهای مبتلا به آسم افزایش می‌یابد(۴۴). همچنین You Lu و همکارانش مشخص کردند که میزان بیان T-bet و GATA-3 در سلول‌های $CD4^+\ CD25^+$ و $CD4^+\ CD25^-$ بافت ریه موش افزایش دارد(۴۵).

در مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران و با توجه به شیوع بالای آسم آلرژیک در استان مازندران به بررسی میزان بیان دو ژن T-bet و GATA-3 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک پرداختیم، که نتایج حاصل از مطالعه نشان داد میزان بیان T-bet و GATA-3 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک افزایشمعناداری نسبت به گروه کنترل دارند وهمچنین میزان نسبت بیان GATA-3/T-bet نیز در گروه مورد افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد داشت که این نتایج با نتایج مطالعات انجام شده بر روی مدل‌های موشی مبتلا به آسم هم راستا

می‌باشد(۱۸،۵). اما در مطالعه‌ای که Vale-Pereira و همکارانش برای تعیین میزان بیان T-bet و GATA-3 بر روی افراد مسن مبتلا به آسم انجام دادند نشان دادند که میزان بیان ژن GATA-3 بر خلاف یافته‌های تحقیق حاضر، نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود، که از دلایل آن می‌توان به فاکتور افزایش سن اشاره کرد به طوری‌که در مطالعه Vale-Pereira به بررسی بیماران با میانگین سنی ۷۲ سال پرداخته بود. لذا به نظر می‌رسد همراه با افزایش سن، وضعیت سیستم ایمنی دستخوش تغییر شده و احتمالا بیان این ژن را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

در این مطالعه میزان بیان هر دو ژن در مقایسه با کنترل افزایش داشته است به‌طوری‌که سطح GATA-3 از مقدار بالاتری برخوردار بوده است که باعث افزایش نسبت GATA-3/T-bet شده است که هم راستا با سایر مطالعات نزدیک بوده است(۱۸،۵). از محدودیت‌های این پژوهش عدم اندازه‌گیری پروتئین‌های مرتبط با دو ژن T-bet و GATA-3 در این تحقیق می‌باشد(۲۹).

بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه از دو فاکتور نسخه برداری T-bet و GATA-3 و نیز تاثیر این دو مولکول در تولید سایتوکاین‌ها و آنتی‌بادی‌های ایجادکننده آسم و همین طور نقش این مولکول‌ها در تعادل میان Th1/Th2، پیشنهاد می‌شود بررسی این دو ژن در تعیین روند بیماری، شناسایی دقیق بیماران مبتلا به آسم و نیز پاسخ به درمان مورد ارزیابی قرار گیرد تا گامی موثر در شناخت مکانیسم مولکولی ایجاد بیماری به منظور رسیدن به اهداف توصیف شده برداشته شود.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از پایان نامه خانم عطیه رفعت منش به شماره (۱۵۳۶- ۹۱) می‌باشد که با مساعدت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است که بدینوسیله مراتب قدردانی خود را از آن معاونت اعلام می‌دارد.

References

1. Marketos SG, Ballas CN. Bronchial asthma in the medical literature of Greek antiquity. J Asthma 1982; 19(4): 263-269.
2. Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. Nature 1999; 402(6760 Suppl): B2-4.
3. Drazen JM. Asthma and the human genome project: summary of the 45th Annual Thomas L. Petty Aspen Lung Conference. Chest 2003; 123(3 Suppl): 447S-9S.
4. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. N Engl J Med 1989; 320(5): 271-277.
5. Yong J, Chen GQ, Huang B, Wu S. Correlation between the ratio of T-bet/GATA-3 and the levels of IL-4 and IFN-gamma in patients with allergicasthma. Mol Med Rep 2011; 4(4): 663-666.
6. Martinez FD. Genes, environments, development and asthma: a reappraisal. Eur Respir J 2007; 29(1): 179-184.
7. Miller RL, Ho SM. Environmental epigenetics and asthma: current concepts and call for studies. Am J Respir Crit Care Med 2008; 177(6): 567-573.
8. Frascina F. Revision, Revisionism and Rehabilitation, 1959/1999: The American Century, ModernStarts and Cultural Memory. J Contemporary History 2004; 39(1): 93-116.
9. Pawankar R, Canonica GW, Holgate TS, Lockey RF. (WAO) White book onallergy,

1th ed, United Kingdom: World Allergy Organization (WAO); 2011.
10. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J Immunol 1986; 136(7): 2348-2357.
11. Abediankenari S, Ghasemi M. Generation of immune inhibitory dendritic cells and CD4+T regulatory cells inducing by TGF-beta. Iran J Allergy Asthma Immunol 2009; 8(1): 25-30.
12. Peric A, Vojvodic D, Peric AV, Radulovic V, Miljanovic O. Correlation between cytokine levels in nasal fluid and scored clinical parameters in patients with nasal polyposis. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg 2013; 65(Suppl 2): 295-300.
13. Zhou M, Ouyang W. The function role of GATA-3 in Th1 and Th2 differentiation. Immunol Res 2003; 28(1): 25-37.
14. Wong CK, Ho CY, Ko FWS, Chan CHS, Ho ASS, Hui DSC, et al. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-γ, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. Clin Exp Immunol 2001; 125(2): 177-183.
15. Kiwamoto T, Ishii Y, Morishima Y, Yoh K, Maeda A, Ishizaki K, et al. Transcription Factors T-bet and GATA-3 Regulate Developmentof Airway Remodeling. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174(2): 142-151.
16. Afshar R, Medoff BD, Luster AD. Allergic asthma: a tale of many T cells. Clin Exp Allergy 2008; 38(12): 1847-1857.
17. Larche M, RobinsonDS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. J Allergy Clin Immunol 2003; 111(3): 450-463.
18. Wu ZQ, Xu YP, Xiang H, Shen HH. Effects of CpG oligodeoxynucleotide on transcription factors GATA-3 and T-bet mRNA expression in asthmaticmice. Acta Pharmacol Sin 2005; 26(9): 1117-1122.
19. Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. Science 1998; 282(5397): 2258-2261.
20. Pandolfi PP, Roth ME, Karis A, Leonard MW, Dzierzak E, Grosveld FG, et al. Targeted disruption of the GATA3 gene causes severe abnormalities in the nervous system and in fetal liver haematopoiesis. Nat Genet 1995; 11(1): 40-44.
21. Ting CN, Olson MC, Barton KP, Leiden JM. Transcription factor GATA-3 is required for development of the T-cell lineage. Nature 1996; 384(6608): 474-478.
22. Zheng W, Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells .Cell 1997; 89(4): 587-596.
23. Rayees S, Malik F, Bukhari SI, Singh G. Linking GATA-3 and interleukin-13: implications in asthma. Inflamm Res 2014; 63(4): 255-265.
24. Mo L, Li JX, Kravitz J, Tang CZ, Guo ZK, Li PY, et al. Effects of acupoint injection of autoblood on expression of pulmonary transcription factor GATA 3 and T-bet proteins and genes in asthma rats. Zhen Ci Yan Jiu 2012; 37(5): 357-362.
25. Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. Cell 2000; 100(6): 655-669.
26. Yao R, Lin Y, Li Q, Zhou X, Pan X, Bao Y, et al. Downregulation of T-bet/GATA-3 ratio induced by IL-11 treatment is responsible for Th1/Th2 balance restoration in human

immune thrombocytopenic purpura (ITP). J Thromb Thrombolysis 2014; 38(2): 183-189.
27. Kim SH, Hong JH, Lee YC. Oleanolic acid suppresses ovalbumin-induced airway inflammation and Th2-mediated allergic asthma by modulating the transcription factors T-bet, GATA-3, RORyt and Foxp3 in asthmatic mice. Int Immunopharmacol 2014; 18(2): 311-324.
28. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature 2012; 490(7418): 61-70.
29. Vale-Pereira S, Todo-Bom A, Geraldes L, Schmidt-Weber C, Akdis CA, Mota-Pinto A. FoxP3, GATA-3 and T-bet expression in elderly asthma. Clin Exp Allergy 2011; 41(4): 490-496
30. Park HJ, Lee CM, Jung ID, Lee JS, Jeong YI, Chang JH, et al. Quercetin regulates Th1/Th2 balance in a murine model of asthma. Int Immunopharmacol 2009; 9(3): 261-267.
31. Gergen PJ, Mullally DI, Evans R 3rd. National survey of prevalence of asthma among children in the United States, 1976 to 1980. Pediatrics 1988; 81(1): 1-7.
32. Hassannia H, Abediankenari S, Ghaffari J. FOXP3 and TGF-beta gene polymorphisms in allergic rhinitis. Iran J Immunol 2011; 8(4): 218-225.
33. Choudhry S, Seibold MA, Borrell LN, Tang H, Serebrisky D, Chapela R, et al. Dissecting complex diseases in complex populations: asthma in latino americans. Proc Am Thorac Soc 2007; 4(3): 226-233.
34. Finotto S, Glimcher L. T cell directives for transcriptional regulation in asthma. Springer Semin Immunopathol 2004; 25(3-4): 281-294.
35. Coffman RL, Carty J. A T cell activity that enhances polyclonal IgE production and its inhibition by interferon-gamma. J Immunol 1986; 136(3): 949-954.
36. Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, Chretien I, Tiri A, Macchia D, et al. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. J Immunol 1988; 140(12): 4193-4198.
37. Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, et al. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. N Engl J Med 1992; 326(5): 298-304.
38. Erb KJ, Le Gros G. The role of Th2 type CD4 + T cells and Th2 type CD8+ T cells in asthma. Immunol Cell Biol 1996; 74(2): 206-208.
39. Kopf M, Le Gros G, Bachmann M, Lamers MC, Bluethmann H, Kohler G. Disruption of the murine IL-4 gene blocks Th2 cytokine responses. Nature 1993; 362(6417): 245-248.
40. Kuhn R, Rajewsky K, Muller W. Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. Science 1991; 254(5032): 707-710.
41. Hou J, Schindler U, Henzel WJ, Ho TC, Brasseur M, McKnight SL. An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat. Science 1994; 265(5179): 1701-1706.
42. Quelle FW, Shimoda K, Thierfelder W, Fischer C, Kim A, Ruben SM, et al. Cloning of murine Stat6 and human Stat6 ,Stat proteins that are tyrosine phosphorylated in responses to IL-4 and IL-3 but are not required for mitogenesis. Mol cell Biol 1995; 15(6): 3336-3343.
43. Bowen H, Kelly A, Lee T, Lavender P. Control of cytokine gene transcription in Th1

and Th2 cells. Clin Exp Allergy 2008; 38(9): 1422-1431.

44. Lee JS, Lee CM, Jeong YI, Jung ID, Kim BH, Seong EY, et al. D-pinitol regulates Th1/Th2 balance via suppressing Th2 immune response in ovalbumin-induced asthma. FEBS Lett 2007; 581(1): 57-64.

45. Lu Y, Malmhall C, Sjostrand M, Radinger M, O'Neil SE, Lotvall J, et al. Expansion of CD4(+) CD25(+) and CD25(-) T-Bet, GATA-3, Foxp3 and RORyt cells in allergic inflammation, local lung distribution and chemokine gene expression. PLoS One 2011; 6(5): e19889.