

بررسی پلی مورفیسم ژن های (IFN- γ R1(-611) ، IFN- γ (2109) و (-) IL-12B

1188 با بیماری سل ریوی

مونا افزایی کرهودی^۱، پریسا فرنیآ^۲، فاطمه مریم شیخ الاسلامی^۳، پیام طبرسی^۴، مهدی کاظم پور^۵، رشید رمضان زاده^۶، محمد رضا مسجدی^۷، علی اکبر ولایتی^۸

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی - تهران، ایران (مولف مسوول) تلفن: ۰۲۴۱-۴۲۲۳۰۰۱ mona.afraei@gmail.com
۲. دانشیار گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی - تهران، تهران، ایران
۳. استادیار گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی - تهران، تهران، ایران
۴. استادیار گروه عفونی، مرکز تحقیقات سل و بیماری های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران
۵. کارشناس ارشد آمار زیستی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی - تهران، تهران، ایران
۶. دانشیار مرکز تحقیقات سلولی - مولکولی و گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی کردستان، سنندج، ایران
۷. استاد گروه داخلی، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی - تهران، تهران، ایران
۸. استاد گروه اطفال، پژوهشکده سل و بیماری های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی - تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بسیاری از عوامل می توانند در پیشرفت بیماری سل دخیل باشند، اما فاکتور های ژنتیکی میزبان مهمترین نقش را در پیشرفت این بیماری دارند. یکی از این فاکتور های ژنتیکی، پلی مورفیسم ژن های کد کننده ی سایتوکاین ها می باشد. مطالعات اخیر نشان می دهد که سایتو کاین هایی مانند IL-12 و IFN- γ نقش محوری را در تنظیم نوع، و میزان پاسخ های ایمنی در عفونت های مایکوباکتریومی بازی می کنند و موتاسیون در این ژنها شاید با استعداد ابتلاء به عفونت به سل ریوی مرتبط باشد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژنهای (IFN- γ R1(-611) ، IFN- γ (2109) و IL-12B(-1188) و ارتباط آن با استعداد ابتلاء به سل در بین جمعیت ایرانی است.

روش بررسی: این مطالعه به صورت موردی - شاهدی انجام شد. ۳۰ بیمار مبتلا به سل (با اسمیر مثبت)، که در بخش های سل بیمارستان مسیح دانشوری تهران بستری شده بودند و ۳۰ فرد سالم بدون سابقه ی سل برای این مطالعه انتخاب شدند و ژنوتیپ ژن های مذکور با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. محصولات PCR با استفاده از آنزیم های محدود الاثر برش داده شدند. نتایج حاصل از هضم با استفاده از نرم افزار SPSS و تعادل هاردی - واینبرگ آنالیز شد.

یافته ها: نتایج بدست آمده ارتباط معنی داری را در ناحیه ی ۶۱۱- از ژن IFN- γ R1 و ۱۱۸۸- از ژن IL-12B بین دو گروه شاهد و بیمار نشان داد ($p < 0/05$) اما این ارتباط در مورد IFN- γ (2109) دیده نشد.

نتیجه گیری: وجود موتاسیون در ناحیه ی ۶۱۱- از ژن IFN- γ R1 و ۱۱۸۸- از ژن IL-12B احتمالاً می تواند حساسیت افراد را در برابر عفونت مایکوباکتریوم افزایش دهد و تعیین ژنوتیپ این نواحی می تواند در شناسایی افراد با ریسک بالای ابتلاء مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه ها: پلی مورفیسم، سل ریوی، IFN- γ R1 / IFN- γ / IL-12B

وصول مقاله: ۹۰/۰۶/۱۳ اصلاحیه مقاله: ۹۰/۱۱/۱۸ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۲۰

مقدمه

سل ریوی یکی از بیماری های عفونی شایع در جهان است (۱). ۱۲ میلیون مورد جدید سل و ۴ میلیون مرگ و میر ناشی از آن سالانه تا سال ۲۰۱۰ ثبت شده است (۲)، اما تنها ۵ تا ۱۰ درصد از این افراد، سل فعال را بروز می دهند (۳). عامل ایجاد کننده ی این بیماری میکوباکتریوم توبرکلوزیس، یک پاتوژن باکتریایی داخل سلولی است که خود و آنتی ژن هایش توانایی تحریک تولید سایتوکاین ها را توسط فآگوسیت های تک هسته ای دارند (۴). بررسی ها نشان می دهد که حساسیت به این بیماری در میان افراد مختلف متفاوت بوده، هر فردی که در معرض این باکتری قرار می گیرد لزوماً به سل مبتلا نمی شود و حتی دوره و سیر بیماری نیز در میان افراد مختلف متفاوت می باشد این تفاوتها می تواند ناشی از فاکتور های میزبان و خصوصاً حساسیت ژنتیکی افراد مختلف به این بیماری باشد (۵). ایمنی سلولی یک مکانیسم دفاعی علیه میکروب هایی است که درون بیگانه خوارها و یا دیگر سلول ها بقاء یافته اند و مکانیسم اصلی دفاعی بدن، در مقابله با بیماری سل می باشد (۶). ایمنی سلولی به وسیله ی لنفوسیت های T اعمال می شود و این لنفوسیت ها به دو گروه اصلی لنفوسیت های T کمکی و T کشنده تقسیم می شوند. سلول های T کمکی در پاسخ به تحریک آنتی ژنی پروتئین هایی موسوم به سایتوکاین ها ترشح می کنند (۷). سایتوکاین ها نقش محوری را در تنظیم نوع، و میزان پاسخ های ایمنی در عفونت های میکوباکتریومی بازی می کنند (۸). در این میان سایتوکاین IL-12 نقش مهمی را در تنظیم پاسخ های ایمنی سلولی و توانایی القای تولید IFN- γ ، توسط سلول های موثر را در ایمنی ذاتی و تطبیقی دارا می باشد (۸). این سایتوکاین هترودایمی شامل دو زیر واحد ۳۵ کیلو دالتونی (p35) و ۴۰ کیلو دالتونی (p40)^۱ است (۸). از سوی دیگر IFN- نیز یک سایتوکاین کلیدی می باشد که علاوه بر لنفوسیت

T های به وسیله سلول های NK نیز تولید می شود و نقش محوری را در فعال کردن ماکروفاژها برای کنترل عفونت های میکوباکتریومی دارد (۹). حال با توجه به اینکه سایتوکاین ها در فرآیند مقابله با سل نقش محوری بازی می کنند، تغییرات ژنتیکی در نواحی کد کننده سایتوکاین ها می تواند بر کارایی و قابلیت پاسخ های ایمنی در برابر عفونت تاثیر گذار باشد (۹ و ۱۰). موتاسیون های تک نوکلئوتیدی (SNP)^۲ از شناخته شده ترین تغییرات ژنتیکی می باشند و با فراوانی یک مورد در هر ۱۰۰۰ bp در طول ژنوم رخ می دهند (۱۱). طی مطالعه ای که در روسیه بر روی ارتباط پلی مورفیسم IL-12B (-1188) و سل انجام شد نتیجه گیری فریدین و همکارانش، وجود ارتباط بین تغییر A/C در موقعیت ۱۱۸۸- در 3' UTR از ژن IL-12B با سل در روسیه بود (۱۲). هدف ما هم از این مطالعه بررسی فراوانی آلل و ژنوتیپ ژن های IFN- γ (R1(-611), IFN- γ (2109) و IL-12B (-1188) و ارتباط آن با بیماری سل ریوی است.

روش بررسی

این مطالعه به صورت موردی-شاهدی در مرکز تحقیقات میکوباکتریولوژی (بیمارستان مسیح دانشوری) انجام گرفته است. ۳۰ نفر از بیمارانی که با تشخیص قطعی سل ریوی، (با اسمیر و کشت مثبت) در بخش های سل بیمارستان مسیح دانشوری تهران بستری شده بودند، پس از اخذ رضایت نامه کتبی مورد مطالعه قرار گرفتند. به عنوان گروه شاهد نیز ۳۰ نفر از کارکنان و دانشجویان مرکز تحقیقات میکوباکتریولوژی و آزمایشگاه رفرانس سل کشوری انتخاب شدند که فاقد هر گونه سابقه ابتلا به بیماری سل (با اسمیر و کشت منفی)، عفونت HIV، بیماری های اتوایمن و بدخیمی ها بودند و پس از معاینه پزشک و اخذ رضایت نامه وارد مطالعه شدند.

^۲ Single Nucleotide Polymorphisms

^۱ IL-12B

در ابتدا DNA ژنومی هر دو گروه شاهد و کنترل، از لئوسیت های خون محیطی به روش فنل - کلروفرم - ایزوآمیل الکل استخراج گردید (۱۳). برای بررسی پلی مورفیسم ژن های فوق الذکر ابتدا با استفاده از جفت پرایمرهایی که توالی آنها در جدول ۱ آمده است، PCR انجام گردید. برای اطمینان از تکثیر قطعات مورد نظر، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ لود و با ایتیدیوم برماید رنگ آمیزی شد. در مرحله ی بعد قطعه ی تکثیر یافته ژن IFN- R1(-611) که طولی در حدود

۸۵ bp داشت تحت اثر آنزیم NlaIII قرار گرفت. در صورتی که ناحیه ۶۱۱- از ژن IFN- R1 واجد نوکلئوتید A باشد توسط این آنزیم برش خواهد خورد، اما اگر در این ناحیه نوکلئوتید G مستقر باشد برش نخواهد خورد. برای بررسی اثر آنزیم و مشاهده الگوی برش، نمونه ها را بر روی ژل پلی آکریل آمید ۸٪ الکتروفورز کردیم و ژل را به روش ایتیدیوم برماید رنگ آمیزی نمودیم. در صورتی که قطعه مورد نظر برش خورده باشد دو باند ۴۵ bp و ۴۰ bp قابل مشاهده خواهد بود (شکل ۱).

جدول ۱: توالی پرایمرها

IFN- γ (2109)	AAT CGC TGA AGT ATG TAA T 3' 5'
	5' GCATTGTAGAGTTTTG 3'
IFN- γ R1(-611)	5' AGACAAACCCAGAGAGGTAAGAGA 3'
	5' ACCTTCTCAGCAATTCAGTGTCAAA 3'
IL-12B 1188(-)	TTCTATCTGATTTGCTTTA 3' 5'
	TTCTATCTGATTTGCTTTA 3' 5'

شکل ۱: الگوی برش ژن IFN- γ R1(-611)

ستون های ۲، ۱، ۴، ۸ و ۹ ایجاد برش (هتروزیگوت AG)، ستون های ۳، ۵ و ۷ ایجاد برش (هموزیگوت AA)، ستون های ۶، ۱۰ و ۱۱ عدم برش (هموزیگوت GG) همچنین برای بررسی پلی مورفیسم در نواحی ۲۱۰۹ از ژن IFN- ۱۱۸۸- از ژن IL-12B به ترتیب با استفاده از جفت پرایمرهای ذکر شده در جدول ۱، نواحی مورد نظر را تکثیر داده و قطعات بدست آمده که به ترتیب در حدود ۳۶۶ bp و ۲۳۴ bp می باشند تحت اثر آنزیم های برش دهنده قرار گرفتند که برای ناحیه ۲۱۰۹ از ژن IFN- γ از آنزیم Fau I و برای ناحیه ۱۱۸۸- از ژن IL-12B از آنزیم صورتی که نوکلئوتید A مستقر باشد برش نخواهد خورد (شکل ۲)

ستون های ۱، ۲، ۴، ۸ و ۹ ایجاد برش (هتروزیگوت AG)، ستون های ۳، ۵ و ۷ ایجاد برش (هموزیگوت AA)، ستون های ۶، ۱۰ و ۱۱ عدم برش (هموزیگوت GG) همچنین برای بررسی پلی مورفیسم در نواحی ۲۱۰۹ از ژن IFN- ۱۱۸۸- از ژن IL-12B به ترتیب با استفاده از جفت پرایمرهای ذکر شده در جدول ۱، نواحی مورد نظر را تکثیر داده و قطعات بدست آمده که به ترتیب در حدود ۳۶۶ bp و ۲۳۴ bp می باشند تحت اثر آنزیم های برش دهنده قرار گرفتند که برای ناحیه ۲۱۰۹ از ژن IFN- γ از آنزیم Fau I و برای ناحیه ۱۱۸۸- از ژن IL-12B از آنزیم صورتی که نوکلئوتید A مستقر باشد برش نخواهد خورد (شکل ۲)



شکل ۲: الگوی برش ژن IL-12B (-1188)

ستون های ۱، ۳ و ۶ عدم برش (هموزیگوت AA)، ستون های ۲، ۵، ۷ و ۸ ایجاد برش (هتروزیگوت AC)، ستون ۴ ایجاد برش (هموزیگوت CC)

اختصار در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. و در نهایت تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون های Chi-square و فیشر انجام شد.

البته ذکر این نکته ضروری است که در همه نواحی مورد بررسی واجد پلی مورفیسم، الگوی حاصل از هضم آنزیمی ممکن است به صورت هتروزیگوت یا هموزیگوت ظاهر شود. نحوه ی آنالیز قطعات حاصل از هضم آنزیمی به

جدول ۲: نحوه تفسیر نتایج ژنوتیپینگ هر ناحیه به روش PCR-RFLP

الگوی هضم	آنزیم	اندازه ی محصول PCR	SNP
A (۳۶۶ bp) G (۹۷ و ۲۶۹ bp)	Fau I	۳۶۶ bp	A → G
A (۴۰ و ۴۵ bp) G (۸۵ bp)	Nla III	۸۵ bp	A → G
A (۲۳۴ bp) C (۷۰ و ۱۶۴ bp)	Taq I	۲۳۴ bp	A → C

و در افراد کنترل به ترتیب ۷/۷۶٪ و ۳/۲۳٪ می باشد (۰/۵ < p). فراوانی ژنوتیپ های A/A، A/C و C/C ژن IL-12B (-1188) در افراد بیمار به ترتیب ۳/۴۳٪ و ۷/۵۶٪ و در افراد کنترل به ترتیب ۳/۷۳٪ و ۶/۲۶٪ است (۰/۵ < p). بر اساس آزمون دقیق فیشر میزان موتاسیون در ژن IFN- R1 (-611) و IL-12B(-1188) ارتباط معنی داری را بین دو گروه بیمار و کنترل نشان می دهد. ضمن اینکه فراوانی آللی بین دو گروه کنترل و بیمار در مورد هر سه ژن معنی دار می باشد (۰/۵ < p).

یافته ها

مقایسه ی توزیع فراوانی آلل ها و ژنوتیپ های مختلف بین دو گروه بیمار و کنترل به طور خلاصه در جدول ۳ قابل مشاهده است. بر اساس داده های این جدول فراوانی ژنوتیپ های A/A، A/G و G/G ژن IFN - (2109) بین دو گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۶۰٪ و ۴۰٪ و در افراد کنترل به ترتیب ۳/۸۳٪ و ۷/۱۶٪ می باشد (۰/۵ > p). در مورد ژن IFN- R1 (-611) فراوانی ژنوتیپ های A/A، A/G و G/G در افراد بیمار به ترتیب ۴۰٪ و ۶۰٪

جدول ۳: توزیع فراوانی آلل ها و ژنوتیپ های مختلف بین دو گروه بیمار و کنترل

		بیمار	کنترل	P-value
ژنوتیپ IFN- γ (2109)	A/A	۱۸	۲۵	۰/۰۸۴
	A/G	۱۲	۵	
	G/G			
آلل IFN- γ (2109)	A	۴۴	۵۵	۰/۰۱۵
	G	۱۶	۵	
ژنوتیپ IFN- γ R1 (-611)	A/A	۱۲	۲۳	۰/۰۰۸
	A/G	۱۸	۷	
	G/G			
آلل IFN- R1 (-611)	A	۴۰	۵۱	۰/۰۱۸
	G	۲۰	۹	
ژنوتیپ IL-12B (-1188)	A/A	۱۳	۲۲	۰/۰۳۵
	A/C	۱۷	۸	
	C/C			
آلل IL-12B (-1188)	A	۴۰	۵۱	۰/۰۳۲
	C	۲۰	۹	

بحث

شواهد اپیدمیولوژی قابل توجهی وجود دارد که عوامل ژنتیکی میزان در تعیین حساسیت به مایکوباکتریوم ها شرکت می کنند و بسیاری از مطالعات برای تشخیص ژن ها در جمعیت های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. به طور مثال مطالعات اخیر بر روی ژن های HLA، VDR،^۳ NRMP1، TNF- β ، IL-12، IFN- γ و IL-10 و ارتباط آن ها با سل ریوی تمرکز دارد (۱۵ و ۱۴).

سایتو کاین ها نقش محوری را در تنظیم نوع، و میزان پاسخ های ایمنی در عفونت های مایکوباکتریومی بازی می کنند. در این میان سایتوکاین IL-12 نقش مهمی را در تنظیم پاسخ های ایمنی سلولی و توانایی القای تولید IFN- γ ، توسط سلول های موثر را در ایمنی ذاتی و تطبیقی دارا می باشد. این سایتوکاین یکی از واسطه های اصلی ایمنی ذاتی

اولیه در برابر میکروب های داخل سلولی و القاء کننده قوی ایمنی سلولی در برابر این میکروب ها است (۱۶). در مطالعه ای که سعادی جهرمی و همکارانش در مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی بر روی رسپتور بتا ۱ IL-12 انجام دادند هیچ ارتباط معنی داری را در پلی مورفیسم این ژن و سل ریوی مشاهده نکردند (۱۷).

در مطالعه ای ما که بر روی موقعیت ۱۱۸- از ژن IL-12B انجام گرفت نتیجه ی مشابهی را با این مطالعه نشان می دهد اما در مطالعه ای امیر زرگر و همکارانش که پلی مورفیسم A/C ناحیه ۱۱۸- را در ژن اینترلوکین ۱۲ مورد بررسی قرار دادند، این پلی مورفیسم هیچ تاثیری را در افزایش یا کاهش ابتلا به بیماری سل در افراد مورد بررسی نشان نداد (۱۸) اینترفرون گاما نیز یک سایتوکاین کلیدی در عفونت های مایکوباکتریومی می باشد که توسط سلول های NK و لنفوسیت های T تولید می شود و نقش محوری را در فعال کردن ماکروفاژها، برای کنترل عفونت های مایکوباکتریومی دارد. گیرنده ی IFN- γ از دو پلی پپتید

^۳ Natural Resistance –Associated Macrophage Protein 1

تحقیقات مایکوباکتریولوژی سطح سرمی و پلی مورفیسم TNF- و IFN- را با استفاده از روش الیزا و PCR- بین افراد سالم در جمعیت های مختلف نژادی تا حدودی متفاوت می باشد. در مطالعه ای که ما انجام دادیم پلی مورفیسم موقعیت ۲۱۰۹ از ژن IFN- γ هیچ ارتباطی با استعداد ابتلاء به سل نداشت حال آنکه به نظر می رسد به علت اهمیت بالای این ناحیه این بررسی باید با یک جامعه آماری بزرگ تر ادامه یابد اما در همین مطالعه ارتباط معنی داری را در موقعیت ۶۱۱- از ژن IFN- R1 و نیز فراوانی آلی بین دو گروه کنترل و بیمار در مورد هر سه ژن مشاهده کردیم.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده ارتباط معنی داری را در ناحیه ی ۶۱۱- از ژن IFN- γ R1 و ناحیه ی ۱۱۸- از ژن IL-12B بین دو گروه شاهد و بیمار نشان داد ($p < 0.05$). این نتایج بیان گر آن است که وجود موتاسیون در این دو ناحیه احتمالاً می تواند حساسیت افراد را در برابر عفونت به مایکوباکتریوم افزایش دهد اما این ارتباط در مورد ناحیه ی ۲۱۰۹ از ژن IFN- مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی آزمایشگاه رفرانس سل کشوری واقع در بیمارستان مسیح دانشوری تهران به ویژه خانم دکتر فرنیبا جهت فراهم نمودن شرایط پژوهشی و همچنین دیگر پرسنل این بخش تشکر و قدردانی می گردد

Reference

1. Mirsaedi SM , Houshmand M , Tabarsi P. Lack of association between interferon-gammareceptor-1 polymorphism and pulmonary TB inIranian population sample . Journal of Infection 2006;52:374-377.
2. Kremer K , Kam Yan Au B .Use of variable-number tandem-repeat typing to differentiate Mycobacterium tuberculosis Beijing family isolates from HongKong and comparison with IS6110 restriction fragment length polymorphism typing and spoligotyping . Journal of Clinical Microbiology 2005;43:1-8.
3. Crevel R , Ottenhoff HM . Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology 2002;15:294-309.

با ساختمان مشابه تشکیل شده است که IFN- R1 و IFN- R2 نام دارند (۱۹). بیات و همکارانش در مرکز RFLP در بیماران مبتلا به سل ریوی مورد ارزیابی قرار داد. این گروه توانستند تفاوت معنی داری را در موقعیت ۸۵۷- و ۳۰۸- از ژن TNF- مشاهده نمایند . اما این تفاوت در هیچ یک از نقاط دیگر TNF- و IFN- مشاهده نشد (۲۰).

Hwang و همکاران، پلی مورفیسم ژن های IFN- γ (موقعیت +۸۷۴) و IFN- γ R1 (موقعیت های ۶۱۱-، ۲۷۰-، ۵۶- و ۹۵+) و ارتباط آن را با استعداد ابتلاء به سل، در جمعیت کره مورد بررسی قرار دادند. DNA ۸۰ نفر بیمار و کنترل با PCR بررسی شد، ولی نتایج حاصله نشان دادند که پلی مورفیسم موقعیت های ذکر شده در ژن های IFN- γ R1 و IFN- γ مسئول استعداد ابتلاء به سل در جمعیت کره نمی باشد (۱۹).

Awomoyi و همکاران پلی مورفیسم ژن های IFN- γ و IFN- γ R1 و ارتباط آن را با استعداد ابتلاء به سل در جمعیت گامبیا مورد مطالعه قرار دادند . DNA ۳۲۰ نفر بیمار و کنترل با تکنیک PCR بررسی شد، ولی هیچ تفاوت معنی داری در فراوانی الل وژنوتیپ IFN- γ و IFN- γ R1 بین افراد کنترل و بیماران مبتلا به سل دیده نشد(۲۱).

نتایج به دست آمده از مطالعات دیگر نیز تا حدودی با هم متفاوت بودند، که این تفاوت ها ممکن است با تفاوت های نژادی جمعیت های مختلف در ارتباط باشد. به طوری که نتایج بررسی ها نشان می دهد که پراکندگی این آلل ها در

4. Scott A ,Johenson M . Interleukin-12 production by human monocytes infected with *Mycobacterium tuberculosis*: role of phagocytosis. *Infection and Immunity* 1996; 64:2523–2531.
5. Oh JH , Yang C. Polymorphisms of interleukin-10 and tumour necrosis factor- α genes are associated with newly diagnosed and recurrent pulmonary tuberculosis. *Respirology* 2007;12:594–640.
6. AbulKA , Andrew H . Cellular and Molecular Immunology .*Journal of Elsevier* 2007; 43 : 1-8.
7. DhedK ,Schwander S. The immunology of tuberculosis: From bench to bedside.*Respirology* 2010; 15: 434 - 480.
8. StanilovaS ,Miteva M . Taq-I polymorphism in 3' UTR of the IL-12B and association with IL-12p40 production from human PBMC . *Genes and Immunity* 2005; 6 : 364–366.
9. Hye Hwang J ,Joo Kim E . Polymorphisms of interferon- γ and interferon- γ receptor 1 genes and pulmonary tuberculosis in Koreans .*Respirology* 2007; 12: 906–910.
10. Jepson A , Fowler A , Banya W. Genetic regulation of acquired immune responses to antigens of *Mycobacterium tuberculosis*: a study of twins in West Africa. *Infect Immun* 2001; 69:3989-94 .
11. Aguillón JC, Cruzat A, Aravena O, Salazar L. Could single nucleotide tumour necrosis factor promoter be considered as part of rheumatoid arthritis evolution? *Immunobiology* 2006; 211: 75-84.
12. Freidin M Rudko A . Association between the 1188 A/C polymorphism in the human IL12B gene and Th1-mediated infectious diseases. *International Journal of Immunogenetics* 2006; 33 : 200-231 .
13. StanilovaS ,Miteva L . Taq-I polymorphism in 3' UTR of the IL-12B and association with IL-12p40 production from human PBMC . *Genes and Immunity* 2005 ; 6 : 364–366.
14. Marashian SM, Farnia P, Seyf S, Anoosheh S, Velayati AA . Evaluating the role of vitamin D receptor polymorphisms on susceptibility to tuberculosis among Iranian patients: a case-control study. *Pub Med* 2008 ; 54: 269 – 271.
15. Merza M , Farnia P, Anoosheh S , Varahram M , Kazampour M . The NRAMPI, VDR and TNF- α gene polymorphisms in Iranian tuberculosis patients: the study on host susceptibility .*Braz J Infect Dis* 2009 ; 134 : 252-256.
16. Prabhu A ,Selvaraj P . Interleukin-12B and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis . *ICMR* 2007 ; 126 :135- 140 .
17. Saadaei N, Farnia P. Association between IL-12 beta- 1 gene polymorphism and tuberculosis in Iranian . *World of Microbs* 2010 ; 2 : 113-116 .
18. Amirzargar A .IL-2 , IFN- γ , and IL-12 gene polymorphisms and susceptibility to TB . *J Clin Immunol* 2004; 29:747–751 .
19. Hwang H, Joo KIM E . Polymorphisms of interferon- γ and interferon- γ receptor 1 genes and pulmonary tuberculosis in Koreans. *Respirology* 2007;12;906–910.
20. Bayat M, Farnia P . Study of TNF- α & IFN- γ concentration level of serum in TB patients & control healthy group by Elisa and evaluation of their polymorphism by PCR-RFLP . *Iranian Journal of Medical Microbiology* 2010;3:15-23.
21. Awomoyi A, Nejentsev S. No association between interferon- γ receptor 1 gene polymorphism and pulmonary tuberculosis in a Gambian population sample. *Tuberculosis* 2010;12:291-301.