©2017 ASP Ins., *Afarand Scholarly Publishing Institute, Iran*
ISSN: 2252-0805 *Horizon of Medical Sciences 2017;23(3):175-180. DOI: 18869/acadpub.hms.23.3.175*

Effect of Complement Factor B Gene Polymorphisms on Age-Related Macular Degeneration in North-East of Iran Population

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Roshani Pour N.[1] *MSc*,
Jabbarpour Bonyadi M.* *PhD*,
Jabbarpour Bonyadi M.H.[2] *MD*

How to cite this article
Roshani Pour N, Jabbarpour Bonyadi M, Jabbarpour Bonyadi M H. Effect of Complement Factor B Gene Polymorphisms on Age-Related Macular Degeneration in North-East of Iran Population. Horizon of Medical Sciences. 2017;23(3):175-180.

*Center of Excellence for Biodiversity, Natural Sciences Faculty, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[1]Biology Department, Genetic School, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[2]Ophthalmic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Correspondence
Address: Natural Sciences Faculty, University of Tabriz, 29 Bahman Street, Tabriz, Iran
Phone: +98 (41) 33357622
Fax: +98(41) 33357622
jabbarpour@tabrizu.ac.ir

Article History
Received: December 15, 2016
Accepted: February 27, 2016
ePublished: July 22, 2017

ABSTRACT

Aims Age-related macular degeneration (AMD) is the most prevalent cause of irreversible blindness and debilitating in old stages, in developed and developing countries that engage the central part of the retina or macula. The aim of this study was to evaluate the relationship of the rs4151667 position of the complement factor B gene polymorphism with AMD (dry type with geographic atrophy phenotype) in the North East of Iran population.
Materials & Methods In this descriptive cross-sectional study in 2016-2017, 44 AMD patients (dry type with geographic atrophy phenotype) were randomly selected from Gonabad City, Iran, health centers as the patient group. 50 healthy individuals from the same society that have no relative relations with each other or the patients, but were adapted by age and sex to the patient group, were selected as the control group. The ¬¬polymorphism of rs4151667 (c.26T>A)¬ position of the complement factor B gene was determined for all samples by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Data was analyzed the Chi-square test in 2x2.Contingency software.
Findings The frequency of TT genotype in AMD patients (95.5%) was significantly (p=0.048) more than the control group (88.0%), but the frequency of AT genotype in AMD patients (4.5%) was significantly (p=0.025) less than the control group (12.0%).
Conclusion The polymorphism of rs4151667 (c.26T>A) position of complement factor B is effective on the development of AMD in North East of Iran population.

Keywords Age-related macular degeneration; Complement Factor B; Polymorphism, Genetic; RFLP

CITATION LINKS

[1] Clegg cellular models and therapies for age-related ... [2] Psychosocial effects of age-related macular ... [3] Systematic review and meta-analysis of ... [4] Causes of blindness and visual impairment in a population ... [5] Risk factors of age-related maculopathy in a population ... [6] Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and ... [7] Prevalence and risk factors for age-related macular degeneration ... [8] Complement first of two ... [9] Drusen proteome analysis: an approach to the etiology ... [10] Complement factor H polymorphism in ... [11] Polymorphisms in C2, CFB and C3 are associated with ... [12] Extended haplotypes in the complement factor H ... [13] Com-plexity of complement activation ... [14] Allelic differences in hemolytic activity ... [15] Risk factors for incident age-related ... [16] Com-plement factor H polymorphisms ... [17] Characterization of the third component of ... [18] A simple salting out procedure for extracting DNA ... [19] Age-related macular degeneration. Clinical features in ... [20] Global prevalence of age-related macular degeneration ... [21] Racial differences in the prevalence of age-related macular ... [22] Age and gender variations in age-related macular ... [23] Prevalence of age-related macular degeneration ... [24] The prevalence and causes of visual impairment ... [25] Unraveling a multifactorial late-onset ... [26] Age-related macular degeneration-clinical review ... [27] Systemic complement activation in age-related ... [28] Plasma complement components and activation ... [29] Analysis of the Y402H variant of the complement factor ... [29] The effect of breast milk odor on ... [30] The epsilon2 and epsilon4 alleles of the apolipoprotein ... [31] Association betweenExudative Age-related Macular ... [32] Association study of complement factor H ... [33] Association analysis of CFH ... [34] Noncoding variant in the complement factor ... [35] The involvement of complement factor B ... [36] The association between complement ... [37] CFH haplotypes and ARMS2, C2, C3, and CFB ...

Copyright© 2017 ASP Ins. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

تاثیر پلی‌مورفیسم ژن فاکتور کمپلمان B بر تحلیل ماکولای وابسته به سن در شمال شرق ایران

نسرین روشنی‌پور MSc
گروه زیست‌شناسی، دانشکده ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
مرتضی جبارپور بنیادی* PhD
گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
محمدحسین جبارپور بنیادی MD
مرکز تحقیقات چشم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده
اهداف: تحلیل ماکولای وابسته به سن (AMD)، شایع‌ترین علت نابینایی برگشت‌ناپذیر و ناتوان‌کننده در دوران کهولت، در جوامع پیشرفته و در حال پیشرفت است که بخش مرکزی شبکیه یا ماکولا را درگیر می‌کند. هدف این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم جایگاه rs4151667 ژن فاکتور کمپلمان B با AMD (نوع خشک با فنوتیپ آتروفی جغرافیایی) در جمعیت شمال شرق ایران بود.
مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی در سال ۹۶-۱۳۹۵، ۴۴ بیمار AMD نوع خشک با فنوتیپ آتروفی جغرافیایی از مراکز درمانی شهرستان گناباد به‌صورت تصادفی به‌عنوان گروه بیمار انتخاب شدند. ۵۰ فرد سالم از همان جامعه که رابطه خویشاوندی با یکدیگر یا با بیماران نداشته، ولی از لحاظ سن و جنسیت با گروه بیمار مطابقت داشتند، به‌عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. پلی‌مورفیسم جایگاه rs4151667 (c.26T>A) ژن فاکتور کمپلمان B با استفاده از روش "پلی‌مورفیسم طول قطعات هضم‌شونده" برای همه افراد تعیین شد. داده‌ها با کمک نرم‌افزار 2x2.Contingency و با استفاده از آزمون مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.
یافته‌ها: در گروه بیماران AMD، فراوانی ژنوتیپ TT (۹۵/۵٪) به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل (۸۸/۰٪) بود (p=۰/۰۴۸)، اما فراوانی ژنوتیپ AT (۴/۵٪) از گروه کنترل (۱۲/۰٪) کمتر بود (p=۰/۰۲۵).
نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم جایگاه rs4151667 ژن فاکتور کمپلمان B در پیشرفت AMD در جمعیت شمال شرق ایران موثر است.
کلیدواژه‌ها: تحلیل ماکولای وابسته به سن، فاکتور کمپلمان B، پلی‌مورفیسم ژنتیکی، پلی‌مورفیسم طول قطعات هضم‌شونده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۰۹
*نویسنده مسئول: jabbarpour@tabrizu.ac.ir

مقدمه

تحلیل ماکولای وابسته به سن (AMD) یکی از علل اصلی نابینایی میلیون‌ها نفر از مردم بالای ۶۰ سال است[1]. این بیماری نه‌تنها با آسیب به بینایی همراه است، بلکه میزان بالای افسردگی، اضطراب و استرس‌های روحی و روانی را نیز در پی دارد. اختلال بینایی در AMD با انحطاط سلول‌های اپی‌تلیوم رنگدانه‌ای شبکیه (RPE) و سلول‌های گیرنده نوری حساس به نور همراه است. آسیب این سلول‌ها باعث التهاب مزمن در چشم و در نهایت تشکیل رسوب غیرطبیعی به‌نام "دروزن" (drusen) می‌شود که عملکرد سلول RPE را مختل می‌کند[2].

مشخصه اصلی مراحل اولیه بیماری، تجمع رسوب‌هایی به‌نام دروزن تشکیل‌یافته از لیپید و پروتئین است که مابین بخش اپی‌تلیوم رنگدانه‌ای شبکیه و غشای بروک قرار دارد[3]. این بیماری از نظر بالینی به دو شکل خشک (آتروفی جغرافیایی؛ GA) و مرطوب (نئوواسکولاریزاسیون کوروئید؛ CNV) تقسیم می‌شود. نوع خشک باعث آتروفی در ناحیه ماکولا شده و رگ‌های خونی مشیمیه به‌وضوح قابل رویت است. این حالت، معمولاً چندین سال طول می‌کشد تا به بینایی آسیب جدی وارد کند[3]. در مقابل، AMD مرطوب حالتی شدیدتر است و عوارض متعددی را در ناحیه شبکیه ایجاد می‌کند، شامل: رگ‌زایی کوروئیدال، نشت و تجمع مایع در زیر غشای شبکیه، نشت خون یا هموراژی، جداشدن اپی‌تلیوم رنگدانه‌ای شبکیه و فیبروز که اغلب زخم صفحه‌وار نامیده شده و در مراحل آخر بیماری ایجاد می‌شود. در صورتی که AMD به مرحله پیشرفته و رگ‌زایی برسد می‌تواند شدیداً باعث تضعیف دید مرکزی بیمار و نهایتاً کوری شود[4]. در حالت کلی، AMD خشک شایع‌تر از AMD مرطوب است، به‌طوری که ۹۰-۸۵٪ بیماران مبتلا به AMD پیشرفته، مبتلا به نوع خشک هستند[5].

مدارک رو به رشد نشان می‌دهد که AMD یک بیماری پیچیده است و علت اصلی بیماری به‌طور قطعی شناسایی نشده است. چندین عامل موثر در این بیماری وجود دارد، از قبیل افزایش سن، سیگارکشیدن، چاقی، فشار خون، رژیم غذایی، نژاد سفید، نور و اشعه و فاکتورهای ژنتیک[6, 7]. سیستم کمپلمان، وظیفه دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا، واکنش‌های ایمنی تطبیقی و نابودی کمپلکس‌های ایمنی و سلول‌های آپوپتوتیک را بر عهده دارد[8]. تعدادی از مطالعات در بیماران AMD، حضور اجزا و پروتئین‌های تنظیمی سیستم کمپلمان را در دروزن و نزدیک اپی‌تلیوم رنگدانه‌ای شبکیه (RPE) نشان دادند[9].

از مهم‌ترین آلل‌های ایجاد حساسیت در بروز این بیماری می‌توان به تعدادی از اجزای سیستم کمپلمان از جمله CFI (فاکتور کمپلمان I)، C3 (جزء سوم کمپلمان)، C2 (جزء دوم کمپلمان)، CFB (فاکتور کمپلمان B) و CFH (فاکتور کمپلمان H) اشاره کرد[10, 11]. CFB یک سرین پروتئازی است که برای تنظیم آبشار کمپلمان ضروری است. این ژن توسط فاکتور D باعث تجزیه دو زیرواحد Ba و Bb می‌شود. در نتیجه زیرواحد Bb همراه با C3b کونورتاز مسیر فرعی را تشکیل می‌دهد[12, 13]. نقش دقیق CFB در ابتلا به بیماری AMD هنوز ثابت نشده است. با وجود آن نشان داده شده است که این پروتئین محافظ CFB که شامل گلوتامین در موقعیت ۳۲ است، در مقایسه با پروتئین حاوی آرژنین دارای فعالیت کاهش‌یافته همولیتیک است[14, 15]. براساس این داده‌ها، فرض بر این بوده که CFB با فعالیت کاهش‌یافته ممکن است خطر کمتری را از سوی پاسخ کمپلمان مزمن که منجر به AMD است فراهم کند[16].

تحقیقات نشان داده است که بیان ژن CFB در شبکیه عصبی چشم، منجر به RPE و کوروئید افزایش‌یافته می‌شود و علاوه بر این بررسی‌ها نشان داده است که پروتئین CFB در حال حاضر بیشتر در دروزن، غشای بروک و کمتر در استرومای مشیمیه قابل مشاهده است. بنابراین نقص در عملکرد پروتئین CFB باعث به‌وجودآمدن عوارض زیادی در بدن از جمله دروزن‌ها در چشم می‌شود. به همین علت گفته می‌شود که این پروتئین یکی از مهم‌ترین مولکول‌های اصلی در سیستم ایمنی است[17]. پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی rs4151667 (c.26T>A) در اگزون۱ ژن CFB واقع شده است. بررسی تاثیر این پلی‌مورفیسم نشانگر این است که ژن CFB در بیماری AMD و تغییرات در ژن‌های سیستم کمپلمان با AMD همراه است که برخی از آنها ممکن است باعث فعال‌شدن بیش از حد سیستم کمپلمان شود که در نهایت منجر به یک بیماری التهابی مزمن می‌شود. این

محرک‌های التهابی غیرطبیعی تاثیر نامطلوبی بر سلول RPE و ترویج تشکیل دروزن دارند[1].

هدف این مطالعه، بررسی همراهی پلی‌مورفیسم جایگاه rs4151667 ژن CFB با بیماری AMD (نوع خشک با فنوتیپ آتروفی جغرافیایی) در جمعیت شمال شرق ایران بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی در سال ۹۶-۱۳۹۵، ۴۴ فرد بالای ۶۰ سال مبتلا به بیماری AMD نوع خشک با فنوتیپ آتروفی جغرافیایی توسط متخصص چشم‌پزشکی از شهرستان گناباد به مراکز درمانی معرفی و به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. افراد، تحت معاینه کامل چشم‌پزشکی شامل بررسی حدت بینایی، فوندوسکوپی، فوندوس فوتوگرافی و فلوروسین آنژیوگرافی قرار گرفتند. تصویربرداری‌های بیماران در بیمارستان ۲۲بهمن شهرستان گناباد انجام شد. همزمان ۵۰ فرد سالم از همان جمعیت که رابطه خویشاوندی با یکدیگر یا با بیماران نداشته، ولی از لحاظ سن و جنس با گروه بیمار مطابقت داشتند، به‌عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. بنابراین در مجموع، ۹۴ نفر از نظر جایگاه پلی‌مورفیسم (c.26T>A) rs4151667 در ژن CFB مورد بررسی ژنتیک قرار گرفتند.

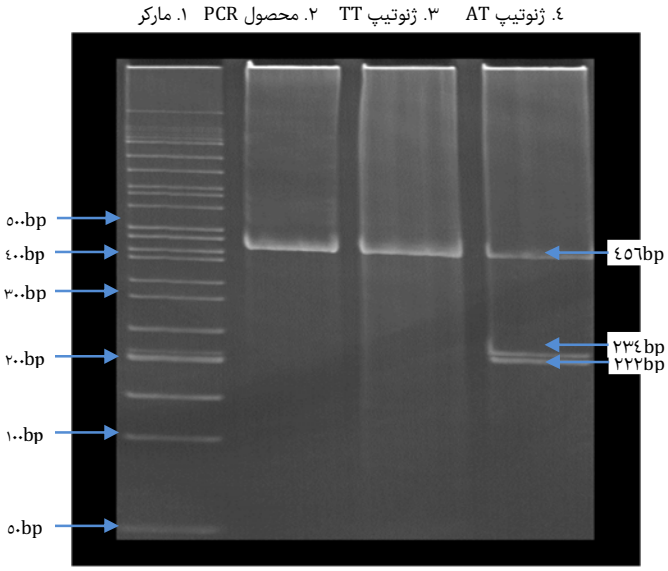
از هر دو گروه بیمار و کنترل، پس از تکمیل فرم رضایت خونگیری به‌عمل آمد. DNA ژنومی از ۴میلی‌لیتر خون افراد با استفاده از پروتکل استاندارد استخراج DNA (نمک اشباع) استخراج شد[18]. DNA استخراج‌شده با استفاده از روش PCR (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز) تکثیر و با استفاده از روش PCR-RFLP (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز براساس پلی‌مورفیسم طول قطعات هضم‌شونده) ژنوتیپ افراد در جایگاه c.26T>A تعیین شد.

روش انجام PCR: به‌اختصار، برای هر واکنش شامل یک‌میکرولیتر پرایمر جلوبرنده و معکوس (با غلظت ۱۰پیکومولار)، ۲/۵میکرولیتر بافر (10X)، ۰/۵میکرولیتر dNTP (داکسی‌نوکلوئوتید تری‌فسفات) ۱۰میلی‌مولار، یک‌میکرولیتر منیزیم‌کلراید ۵۰میلی‌مولار، ۰/۱۸میکرولیتر از آنزیم Taq DNAپلی‌مراز (10X) (شرکت سیناژن؛ ایران) و ۳میکرولیتر از DNA بود که با آب مقطر دوبار تقطیر به‌حجم ۲۵میلی‌لیتر رسانده شد.

برای انجام برنامه PCR، واسرشت‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵°C انجام شد. قطعات DNA در ۳۴ سیکل (۳۰ ثانیه در ۹۴°C، ۳۰ ثانیه در ۵۹°C و ۳۰ ثانیه در ۷۲°C) تکثیر شدند. سپس یک مرحله طویل‌سازی (۵ دقیقه در ۷۲°C) انجام شد. ۵میکرولیتر از محصولات PCR برای اطمینان از کارکرد PCR روی ژل آگاروز ۱/۵% الکتروفورز شده و در زیر نور ماورای بنفش چک شدند. سپس ۲۰میکرولیتر باقی‌مانده محصولات PCR توسط آنزیم BtsαI و روش PCR-RFLP به‌منظور تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. محصول اصلی PCR که ۴۵۶ جفت‌باز طول دارد، محلی برای برش آنزیم BtsαI دارد و آنزیم می‌تواند دو قطعه ۲۳٤ و ۲۲۲جفت‌بازی ایجاد کند. ولی در صورت جایگزینی نوکلئوتید T (تایمیدین) به‌جای نوکلئوتید A (آدنوزین) آنزیم نمی‌تواند برشی ایجاد نماید. بنابراین در نمونه‌های با ژنوتیپ AA دو باند و در ژنوتیپ AT سه باند ۲۳۴، ۲۲۲ و ۴۵۶جفت‌بازی مشاهده شدند (شکل ۱).

برای اطمینان از صحت ژنوتیپ‌های تعیین‌شده، تعدادی از نمونه‌ها توالی‌یابی شدند که نتایج حاصل از PCR-RFLP را تایید کرد.

فراوانی هر ژنوتیپ در دو گروه با کمک نرم‌افزار 2x2.Contingency و با استفاده از آزمون مجذور کای تجزیه و تحلیل شد.



شکل ۱) نتایج محصولات RFLP پلی‌مورفیسم c.26T>A ژن CFB روی ژل آگرز آمید

یافته‌ها

از ۴۴ بیمار مورد بررسی، ۴۲ نفر (۹۵/۵٪) دارای ژنوتیپ TT و ۲ نفر (۴/۵%) دارای ژنوتیپ AT و از ۵۰ نفر گروه کنترل، ۴۴ نفر (۸۸/۰%) دارای ژنوتیپ TT و ۶ نفر (۱۲/۰%) دارای ژنوتیپ AT بودند و در هیچ کدام از گروه‌ها ژنوتیپ AA وجود نداشت. دو گروه از نظر فراوانی ژنوتیپ‌های TT و AT دارای تفاوت‌معنی‌دار بودند (p<۰/۰۵).

جدول ۱) مقایسه توزیع فراوانی (تعداد و درصد) ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم rs4151667 (c.26T>A) ژن CFB بین گروه بیمار (۴۴ نفر) و کنترل (۵۰ نفر) در جمعیت گناباد

متغیرها	گروه بیمار	گروه کنترل	درصد شانس	سطح معنی‌داری
ژنوتیپ‌ها				
AA	۰	۰	۰	۱/۰۰
AT	۲ (۴/۵%)	۶ (۱۲/۰%)	۰/۳۴	۰/۰۲۵
TT	۴۲ (۹۵/۵%)	۴۴ (۸۸/۰%)	۲/۸۶	۰/۰۴۸
آلل‌ها				
A	۲ (۲/۳%)	۶ (۶/۰%)	۰/۳۶	۰/۱۲
T	۸۶ (۹۷/۷%)	۹۴ (۹۴/۰%)	۲/۷۳	۰/۱۷

درصد شانس برای ژنوتیپ TT در حدود ۲/۸ بود و فرکانس آلل T در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل بالا بود (جدول ۱).

بحث

مفهوم بیماری AMD توسط *کلین* و همکاران به‌منظور مشخص‌کردن دلیل ایجاد رسوب‌های رنگدانه در چشم خانواده‌ای شامل ۱۰ عضو تعریف شد. بنابراین در مطالعه‌ای که روی این خانواده ۱۰عضوی صورت گرفت، وجود رنگدانه‌هایی به‌صورت رسوب‌های بزرگ و کوچک همراه با درجاتی از دژنراسیون غشای

اپی‌تلیوم رنگدانه و آتروفی جغرافیایی مشاهده شد که به‌مرور زمان با بیشترشدن این رنگدانه‌ها و گسترش آنها به نقاط مختلف شبکیه، همراه با خونریزی منجر به کاهش دید مرکزی افراد خانواده و در نهایت کوری آنها شد. این بیماری به‌دلیل شیوع بیشتر در افراد مسن‌تر به آتروفی ماکولای وابسته به سن نامگذاری شد[19].

انتشار این بیماری به‌طور وسیعی در گروه‌های نژادی گوناگون متفاوت است و تحقیقات در این زمینه نشان داده است که ۸/۷% جمعیت کره زمین به بیماری AMD مبتلا هستند. چنین احتمال داده شده است که تا سال ۲۰۲۰، این میزان به حدود ۱۹۶میلیون نفر برسد و این جمعیت تا سال ۲۰۴۰ به ۲۸۸میلیون نفر افزایش پیدا کند[20]. براساس نتایج منتشرشده درباره جمعیت‌هایی که این بیماری را بروز داده‌اند، بیشترین بروز بیماری بین افراد مسن در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه است. به‌دلیل شیوه زندگی افراد در جوامع پیشرفته، امکان بروز و پیشرفت این بیماری در بین این افراد بیشتر است. به‌غیر از جوامع پیشرفته، افراد سفیدپوست قفقازی نیز به‌دلیل نژاد خاص و رنگ پوست و چشم روشن سالیان سال این بیماری را داشته و به نسل‌های بعدی منتقل نموده‌اند[21]. این بیماری همچنین عامل اصلی نابینایی در بین سالمندان در کشورهای آسیایی است که تعداد افراد مبتلا در این کشورها به‌طور چشمگیری رو به فزون است که دلیل آن ممکن است غربی‌شدن شکل زندگی در جوامع آسیایی باشد[22]. مطالعات اپیدمیولوژیک در ارتباط با شیوع AMD پیشرفته در میان گروه‌های قومی مختلف تفاوت‌هایی نشان داده است. یک آنالیز از جمعیت ایالات متحده در "چندقومی مطالعه آترواسکلروز" (MESA)، شیوع AMD را در افراد ۴۵ تا ۸۵ سال، ۲/۴% در آمریکایی‌های آفریقایی‌تبار، ۴/۲% در اسپانیایی‌ها، ۴/۶% در افراد چینی‌تبار و ۵/۴% در سفیدپوستان گزارش کرد[23]. شیوع AMD در جمعیت ایران نسبت به کشورهای غربی کمتر و نسبت به کشورهای شرق آسیا بیشتر است[24].

نقش ژنتیک در بیماری AMD به‌طور دقیق طی سال‌های ۱۹۹۰ میلادی با گزارشات به‌دست‌آمده از تجمع خانوادگی بیماری، فنوتیپ‌های مشابه در دوقلوها و ریسک بالای ابتلا به بیماری در بستگان درجه یک افراد بیمار ثابت شد [۲۵]. شناسایی جایگاه‌های متعدد ژنتیک باعث شد چندین مسیر بیولوژیک مهم از جمله سیستم کمپلمان در بیماری‌زایی AMD دخیل دانسته شود[26]. محصولات فعال‌سازی کمپلمان را در خون نیز می‌توان تشخیص داد. مشاهدات نشان داد که C3d، قطعه Ba از CFB و CFD (فاکتور کمپلمان D) در خون بیماران AMD افزایش یافته است. حضور محصولات فعال کمپلمان در گردش خون نشان می‌دهد که التهاب حاصل از AMD به شبکیه محدود نمی‌شود، بلکه سیستمیک است[27]. بررسی‌ها نشان داده است که فعالیت سیستم کمپلمان با ایجاد اختلال در ماتریکس خارج‌سلولی و ساختار ترشح‌شده از سلول‌های شبکیه چشم، نقش مهمی در تشکیل دروزن بازی می‌کند[28]. این مدارک نقش مسیر کمپلمان در بیماریAMD را تایید می‌کند. برای نمونه، همراهی پلی‌مورفیسم Y402H ژن CFH به‌طور مداوم به‌عنوان یک عامل خطر مهم برای بیماری AMD نشان داده شده است، به‌طوری که همراهی این پلی‌مورفیسم با بیماری AMD به‌طور گسترده‌ای در گروه‌های قومی مختلف به‌جز جمعیت ژاپن تایید شده است[29]. پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی در ژن‌های کدکننده مسیر التهابی مانند CX3CR1 نیز با بیماری AMD همراهی نشان می‌دهند. این یافته‌ها از نقش مرکزی سیستم کمپلمان و مدل التهابی در پاتوژنز بیماری AMD حمایت می‌کنند[30].

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ در بین جمعیت جنوب ایران- استان فارس انجام شد، همراهی بین پلی‌مورفیسم G6721T در ژن XRCC7 با بیماری AMD مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش افراد مورد مطالعه را با توجه به نوع شغل (محیط باز و محیط بسته) طبقه‌بندی کردند. نتایج نشان داد که آلل T از پلی‌مورفیسم G6721T ژن XRCC7 با افزایش خطر AMD در افرادی که بیشتر در معرض نور خورشید قرار گرفته‌اند، همراه است[31]. در جهت بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن CFB با خطر بروز AMD مطالعات محدودی انجام شده است. مطالعات پیشین در جمعیت‌های مختلف نتایج متفاوتی را برای ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن CFB با بیماری AMD نشان داده است. نتایج کار *لیو* و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های rs4151667 و rs641153 ژن CFB در جمعیت چینی‌های قوم "هان" هیچ گونه ارتباط معنی‌داری با AMD اگزوداتیو ندارد[32]. اما مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ توسط *لی* و همکاران انجام شد نشان داد که در افراد چینی سنگاپور پلی‌مورفیسم‌های rs4151667 و rs641153 ژن CFB با بیماری AMD به‌طور قابل توجهی با عروق مشیمیه ارتباط دارد[33]. به همین ترتیب در مطالعه‌ای که در بین یک گروه هندی انجام دادند، هیچ ارتباطی بین پلی‌مورفیسم rs4151667 ژن CFB و بیماری AMD مشاهده نشد. بنابراین اثرات ژنتیک پلی‌مورفیسم CFB در AMD اگزوداتیو، در جمعیت‌هایی که سفیدپوست هستند مهم است، در حالی که در جمعیت کره‌ای زیاد مهم و قابل توجه نیست[34, 35].

در مطالعه حاضر، پلی‌مورفیسم ژن CFB و رابطه آن با بیماری AMD در منطقه گناباد از شمال شرق کشور برای اولین‌بار مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ جایگاه rs4151667 ژن CFB با بیماری AMD دیده شد. براساس این مطالعه فراوانی ژنوتیپ TT در افراد گروه کنترل ۸۸/۰% و در افراد بیمار ۹۵/۵% به‌دست آمد. به این ترتیب میزان فراوانی ژنوتیپ TT و ژنوتیپ AT بین افراد سالم و افراد بیمار تفاوت معنی‌داری نشان داد که نشان‌دهنده افزایش استعداد ابتلا به بیماری AMD در افراد با ژنوتیپ TT بود. فراوانی ژنوتیپ AT ٤/٥% در افراد بیمار و ۱۲/۰% در افراد کنترل مشاهده شد. در این مطالعه علی‌رغم اینکه ژنوتیپ AA در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد، ولی مشاهده فراوانی کمتر ژنوتیپ AT در گروه مبتلایان، احتمالاً نشانگر این است که آلل A حتی در حضور آلل T نقش حفاظتی خود را اعمال نموده است. بنابراین می‌توان احتمال داد که آلل A در این جمعیت دارای نقش حفاظتی در بروز بیماری AMD است.

در مطالعات متفاوت در جمعیت‌های آسیایی (ژاپن، چین، کره) هیچ ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs4151667 (c.26T>A) با بیماری AMD دیده نشده و فراوانی آلل خطرناک برای rs4151667 در CFB بسیار پایین بوده است[36]. با این وجود، نتایج حاصل از مطالعه *تاکینستیان* و همکاران[36] در جمعیت قفقازی و مطالعه *کنتره‌راس* و همکاران در سال ۲۰۱۴ در جمعیت مکزیک نشان‌دهنده اثر حفاظتی آلل A در بروز بیماری AMD در این جمعیت‌ها است[37]. به‌نظر می‌رسد نتایج متفاوت حاصله از مطالعات در زمینه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ژن CFB با بیماری AMD در جمعیت‌های متفاوت به‌دلیل تفاوت ژنتیک بین جمعیت‌ها باشد که بیانگر نقش ژنتیک در بروز بیماریAMD

است[33]. با توجه به فنوتیپ پیچیده بیماری AMD، مغایرت در نتایج ممکن است در اثر فاکتورهای محیطی، تعامل این پلی‌مورفیسم با سایر پلی‌مورفیسم‌ها، اثر "ژن‌های تغییردهنده" یا ترکیبی از این فاکتورها باشد که می‌توانند روی بیان و عملکرد ژن تاثیرگذار باشند.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به تعداد کم بیماران اشاره کرد. بهتر است با انجام آزمایش‌های مولکولی بیشتر، ارتباط این ژن با بیماری AMD در سطح RNA بررسی شود. همچنین بررسی افراد مورد مطالعه از نظر متغیرهای سیگارکشیدن و در معرض نور قرارگرفتن که از عوامل مهم درگیر در ابتلا به AMD هستند توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

پلی‌مورفیسم rs4151667 ژن CFB نقش قابل توجهی در پیشرفت بیماری AMD (نوع خشک با فنوتیپ آتروفی جغرافیایی) در جمعیت شمال شرق ایران دارد. به این صورت که وجود ژنوتیپ TT در افراد، احتمال بیماری AMD را ۲/۸برابر نسبت به افرادی که ژنوتیپی غیر از TT دارند، افزایش می‌دهد و ژنوتیپ AT نقش محافظتی در برابر این بیماری دارد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان این مقاله از تمامی افراد گروه بیمار و کنترل برای همکاری در این طرح تحقیقاتی نهایت تشکر را دارند.

تاییدیه اخلاقی: تاییدیه اخلاقی این پژوهش از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گناباد با کد GMU.REC.1393.73 اخذ شد.

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

سهم نویسندگان: نسرین روشنی‌پور (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی/نگارنده مقدمه/تحلیل‌گر داده‌ها (۴۰%)؛ مرتضی جبارپور بنیادی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/نگارنده بحث (۴۰%)؛ محمدحسین جبارپور بنیادی (نویسنده سوم) پژوهشگر کمکی (۲۰%)

منبع مالی: منبع مالی این پروژه از قطب علمی تنوع زیستی تامین شده است.

منابع

1- David L, Lincoln V, Johnson, Dennis O. Clegg cellular models and therapies for age-related macular degeneration. Dis Model Mech. 2015;8(5):421-7.
2- Berman K, Brodaty H. Psychosocial effects of age-related macular degeneration. Int Psychogeriatr. 2006;18(3):415-28.
3- Thakkinstian A, McKay GJ, McEvoy M, Chakravarthy U, Chakrabarti S, Silvestri G, et al. Systematic review and meta-analysis of the association between complement component 3 and age-related macular degeneration: A HuGE review and meta-analysis. Am J Epidemiol. 2011;173(12):1365-79.
4- Munoz B, West SK, Rubin GS, Schein OD, Quigley HA, et al. Causes of blindness and visual impairment in a population of older Americans: The salisbury eye evaluation study. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(6):819-25.
5- Hirvela H, Luukinen H, Laara E, Sc L, Laatikainen L. Risk factors of age-related maculopathy in a population 70 years of age or older. Ophthalmology. 1996;103(6):871-7.
6- Weiter JJ, Delori FC, Wing GL, Fitch KA. Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1986;27(2):145-52.
7- Kawasaki R, Wang JJ, Ji GJ, Taylor B, Oizumi T, Daimon M, et al. Prevalence and risk factors for age-related macular degeneration in an adult Japanese population: The Funagata study. Ophthalmology. 2008;115(5):1376-81.
8- Walport MJ. Complement first of two parts. N Engl J Med. 2001;344(14):1058-66.
9- Crabb JW, Miyagi M, Gu X, Shadrach K, West KA, Sakaguchi H, et al. Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(23):14682-7.
10- Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. Science. 2005;308(5270):384-9.
11- Francis PJ, Hamon SC, Ott J, Weleber RG, Klein ML. Polymorphisms in C2, CFB and C3 are associated with progression to advanced age related macular degeneration associated with visual loss. J Med Genet. 2009;46(5):300-7.
12- Hageman GS, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs KM, Anderson DH, Johnson LV, et al. Extended haplotypes in the complement factor H (CFH) and CFH-related (CFHR) family of genes protect against age-related macular degeneration: characterization, ethnic distribution and evolutionary implications. Ann Med. 2006;38(8):592-604.
13- Markiewski MM, Deangelis RA, Lambris JD. Complexity of complement activation in sepsis. J Cell Mol Med. 2008;12(6A):2245-54.
14- Lokki ML, Koskimies SA. Allelic differences in hemolytic activity and protein concentration of BF molecules are found in association with particular HLA haplotypes. Immunogenetics. 1991;34(4):242-6.
15- Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, et al. Risk factors for incident age-related macular degeneration: Pooled findings from 3 continents. Ophthalmology. 2004;111(7):1280-7.
16- Xing C, Sivakumaran TA, Wang JJ, Rochtchina E, Joshi T, Smith W, et al. Complement factor H polymorphisms, renal phenotypes and age-related macular degeneration: The Blue Mountains Eye Study. Genes Immun. 2008;9(3):231-9.
17- Kew RR, Ghebrehiwet B, Janoff A. Characterization of the third component of complement (C3) after activation by cigarette smoke. Clin Immunol Immunopathol. 1987;44(2):248-58.
18- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.
19- Klein ML, Schultz DW, Edwards A, Matise TC, Rust K, Berselli CB, et al. Age-related macular degeneration. Clinical features in a large family and linkage to chromosome 1q. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(8):1082-8.
20- Wong WL, Xinyi Su, Xiang Li, Cheung CM, Klein R, Cheng C, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: A systematic review and meta-analysis. Lancet Glob Health. 2014;2(2):e106-16.
21- Bressler SB, Munoz B, Solomon SD, West SK. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: The Salisbury Eye Evaluation (SEE)

Project. *Arch Ophthalmol*. 2008;126(2):241-5.
22- Rudnicka AR, Jarrar Z, Wormald R, Cook DG, Fletcher A, Owen CG. Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalence in populations of European ancestry: A meta-analysis. Ophthalmology. 2012;119(3):571-80.
23- Klein R, Klein BE, Knudtson MD, Wong TY, Cotch MF, Liu K, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in 4 racial/ethnic groups in the multi-ethnic study of atherosclerosis. Ophthalmology. 2006;113(3):373-80.
24- Fotouhi A, Hashemi H, Mohammad K, Jalali KH. The prevalence and causes of visual impairment in Tehran: the Tehran Eye Study. *Br J Ophthalmol. 2004;88(6):740-5*.
25- Swaroop A, Chew EY, Rickman CB, Abecasis GR. Unraveling a multifactorial late-onset disease: from genetic susceptibility to disease mechanisms for age-related macular degeneration. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2009;10:19-43.
26- Ratnapriya R, Chew EY. Age-related macular degeneration-clinical review and genetic update. Clin Genet. 2013;84(2):160-6.
27- Scholl HP, Charbel Issa P, Walier M, Janzer S, Pollok-Kopp B, Börncke F, et al. Systemic complement activation in age-related macular degeneration. PLoS One. 2008;3(7):e2593.
28- Reynolds R, Hartnett ME, Atkinson JP, Giclas PC, Rosner B, Seddon JM. Plasma complement components and activation fragments: associations with age-related macular degeneration genotypes and phenotypes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50(12):5818-27.
29- Baird PN, Islam FM, Richardson AJ, Cain M, Hunt N, Guymer R. Analysis of the Y402H variant of the complement factor H gene in age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 47(10):4194-8.
30- Baird PN, Guida E, Chu DT, Vu HT, Guymer RH. The epsilon2 and epsilon4 alleles of the apolipoprotein gene are associated with age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004;45(5):1311-5.
31- Saadat I, Vakili-Ghartavol R, Farvardin-Jahromi M, Saadat M. Association betweenExudative Age-related Macular Degeneration and the G6721T Polymorphism of XRCC7 inOutdoor Subjects. Korean J Ophthalmol. 2012;26(6):423-7.
32- Liu X, Zhao P, Tang S, Lu F, Hu J, Lei C, et al. Association study of complement factor H, C2, CFB, and C3 and age related macular degeneration in a Han Chinese population. Retina. 2010;30(8):1177-84.
33- Lee KY, Vithana EN, Mathur R, Yong VH, Yeo IY, Thalamuthu A, et al. Association analysis of CFH, C2, BF, and HTRA1 gene polymorphisms in Chinese patients with polypoidal choroidal vasculopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49(6):2613-9.
34- Cui L, Zhou H, Yu J, Sun E, Zhang Y, Jia W, et al. Noncoding variant in the complement factor H gene and risk of exudative age-related macular degeneration in a Chinese population. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(2):1116-20.
35- Kaur I, Katta S, Reddy RK, Narayanan R, Mathai A, Majji AB, et al. The involvement of complement factor B and complement component C2 in an Indian cohort with age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(1):59-63.
36- Thakkinstian A, McEvoy M, Chakravarthy U, Chakrabarti S, McKay GJ, Ryu E, et al. The association between complement component 2/complement factor B polymorphisms and age-related macular degeneration: A HuGE review and meta-analysis. Am J Epidemiol. 2012;176(5):361-72.
37- Contreras AV, Zenteno JC, Fernández-López JC, Rodríguez-Corona U, Falfán-Valencia R, Sebastian L, et al. CFH haplotypes and ARMS2, C2, C3, and CFB alleles show association with susceptibility to age-related macular degeneration in Mexicans. Mol Vis. 2014;20:105-16.