

---

# Astımlı çocuklarda TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmleri

Caner AYTEKİN<sup>1</sup>, Figen DOĞU<sup>1</sup>, Aydan İKİNCIOĞULLARI<sup>1</sup>, Yonca EĞİN<sup>2</sup>, Mutlu YÜKSEK<sup>1</sup>,  
Günseli BOZDOĞAN<sup>1</sup>, Nejat AKAR<sup>2</sup>, Emel BABACAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmünoloji-Allerji Bilim Dalı, Ankara,

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalı, Ankara.

## ÖZET

### *Astımlı çocuklarda TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmleri*

“Transforming Growth Factor-beta1 (TGF- $\beta$ 1)” pro ve antiinflamatuvar bir sitokindir ve astımda hava yolu yeniden yapılanmasında önemli bir rol oynar. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) astım patogenezinde yer alan proinflamatuvar bir sitokindir. Sitokinlerin üretimi genetik kontrol altındadır ve sitokin genlerinde allelik varyantlara neden olan bazı tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) yüksek veya düşük sitokin üretimine neden olur. Bazı çalışmalarda astımda TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmleri daha yaygın ve astım ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada astımlı çocuklarda TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmlerinin görülme sıklığı ve bu polimorfizmlerin astım gelişiminde rolü olup olmadığını göstermek amaçlandı. Kırk altı astımlı çocuk ve 67 sağlıklı kontrolde TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle LightCycler cihazı kullanılarak araştırıldı. TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizm sıklığı sırasıyla astımlı çocuklarda %15.2 ve %23.9 iken, kontrol grubunda %8.9 ve %23.8 oranında bulundu ( $p > 0.05$ ). Astım gelişim riski TGF- $\beta$ 1-915G/C (OR: 0.54, %95 CI: 0.17-1.75) ve TNF- $\alpha$ -308G/A (OR: 0.99, %95 CI: 0.41-2.40) polimorfizmleri ile ilişkili bulunmadı. Bu sonuçlar, astımlı çocuklarda TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizm sıklığının sağlıklılardan farklı olmadığını ve bu polimorfizmlerin astım gelişimi için risk oluşturmadığını düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Astım, TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ , polimorfizm.

---

### Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Caner AYTEKİN, Dr. Sami Ulus Çocuk Hastanesi Babür Caddesi No: 44 06080 Altındağ,  
ANKARA - TÜRKİYE

e-mail: caneraytekin@yahoo.com

**SUMMARY****TGF-β1-915G/C and TNF-α-308G/A polymorphisms in children with asthma**

Caner AYTEKİN<sup>1</sup>, Figen DOĞU<sup>1</sup>, Aydan İKİNCİOĞULLARI<sup>1</sup>, Yonca EĞİN<sup>2</sup>, Mutlu YÜKSEK<sup>1</sup>, Günseli BOZDOĞAN<sup>1</sup>, Nejat AKAR<sup>2</sup>, Emel BABACAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Division of Pediatric Immunology-Allergy, Department of Pediatric Health and Diseases, Faculty of Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup> Division of Pediatric Molecular Pathology and Genetics, Department of Pediatric Health and Diseases, Faculty of Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey.

*TGF-β1 is a pro and antiinflammatory cytokine and plays an important role in airway remodelling in asthma. TNF-α is a proinflammatory cytokine that involved in the pathogenesis of asthma. Cytokine production is under genetic control, and certain single nucleotide polymorphisms (SNPs), which lead to allelic variants of cytokine genes are associated with higher or lower cytokine production in vitro. In some studies TGF-β1-915G/C and TNF-α-308G/A polymorphisms are found to be more prevalent and associated with asthma. The aim of this study is to investigate the frequency of TGF-β1-915G/C and TNF-α-308G/A polymorphisms and to determine whether or not these polymorphisms are associated with the development of asthma in children. 46 asthmatic children and 67 healthy controls were investigated by LightCycler PCR analysis for TGF-β1-915G/C and TNF-α-308G/A polymorphisms. The frequency of TGF-β1-915G/C and TNF-α-308G/A polymorphisms in asthmatic children were 15.2% and 23.9% respectively while the corresponding figures were 8.9% and 23.8% in the control group ( $p > 0.05$ ). The risk of asthma development was not associated for TGF-β1 915G/C (OR: 0.54, 95% CI: 0.17-1.75) and TNF-α-308G/A (OR: 0.99, 95% CI: 0.41-2.40) polymorphisms. These results indicated that, the frequency of TGF-β1 915G/C and TNF-α-308G/A polymorphisms did not show any difference in asthmatic children compared to healthy controls and these polymorphisms do not seem to influence susceptibility to asthma.*

**Key Words:** Asthma, TGF-β1, TNF-α, polymorphism.

Astım çok sayıda hücre ve hücreyel elemanların rol aldığı hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalıdır (1). Kronik hava yolu inflamasyonu, yeniden yapılanma olarak adlandırılan (remodelling) hava yollarında yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olan, bronş epitelinin sürekli hasar ve tamiri ile birlikte (2).

“Transforming Growth Factor-beta1 (TGF-β1)” pro ve antiinflamatuvar özellikleri olan çok fonksiyonlu bir sitokindir. T hücre aktivasyonunu, proliferasyonunu ve makrofaj aktivasyonunu inhibe ederken, ekstraselüler matris proteinlerinin sentezi, fibrozis ve doku tamirini düzenlemesi nedeniyle hava yolu yeniden yapılanmasında da rol alır (3,4). Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) multifonksiyonel proinflamatuvar bir sitokindir ve astımda inflamasyonun düzenlenmesinde etkilidir (5). TNF-α'nın hava yolu remodellinginde önemli rol oynayan fibroblast ve düz kas hücreleri gibi mezenşimal hücrelerin uyarılmasında da rolü vardır (6,7).

Genetik olarak kompleks bir hastalık olan astımda, hastalık gelişiminden sorumlu olabilecek aday genler ve bu genlerde varyasyonlara neden olan tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) ile ilgili çalışmalar güncelliğini korumaktadır (8,9). TGF-β1 geninde saptanan -998C/A-800G/A-509C/T, 869T/C, 915G/C gibi bazı polimorfizmlerin astımdaki inflamasyon ve hava yollarının yeniden yapılanmasında rol oynadığı veya etkili olmadığına dair bazı çalışmalar vardır (3,10-14). TNF-α'nın inflamasyondaki rolünden dolayı özellikle TNF-α gen polimorfizmleri üzerinde durulmuştur. TNF-α-308G/A polimorfizminin artmış astım riski, atopi ve bronşiyal hiperreaktivite ile birlikte olduğunu gösteren çalışmalar yanında, astım ile arasında negatif ilişki olduğunu saptadığı çalışmalar da vardır (15-22). Biz de çalışmamızda, ülkemizde astımlı çocuklarda ve sağlıklı bireylerde TGF-β1-915G/C ve TNF-α-308G/A polimorfizmlerinin görülme sıklığı ve varsa astım gelişim riski ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

## MATERYAL ve METOD

### Çalışma Grubunun Seçimi

Bu çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik İmmünoloji-Allerji Bilim Dalında Uluslararası Astım Konsensus Raporu Tanı Kriterlerine göre astım tanısı konan ve tedavi edilen 25'i atopik 21'i nonatopik 46 olgu alındı (2). Kontrol grubunu ise öyküsünde astım ve başka allerjik hastalık olmayan, aile öyküsünde allerjik hastalık bulunmayan 19'u benzer yaş aralığında, toplam 67 sağlıklı birey oluşturdu.

### Örneklerin Toplanması

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Gen polimorfizmlerini incelemeye yönelik olarak hasta ve sağlıklı kontrollerden %0.1 oranında EDTA içeren steril tüplere 10 mL venöz kan örneği, bilgilendirilmiş ebeveyn ya da birey onayı alındıktan sonra alındı. Kan örnekleri alındıktan sonra gen polimorfizm incelemeleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalı laboratuvarında aşağıdaki işlemlere göre gerçekleştirildi.

**DNA ekstraksiyonu:** DNA ekstraksiyonu klasik fenol-kloform ekstraksiyon yöntemi kullanılarak yapıldı.

**TGF- $\beta$ 1-915G/C değişiminin tespiti:** TGF- $\beta$ 1 geni 915 lokusunu içeren 224 baz çiftlik bölge, (5'-ACCACACCAGCCCTGTTTCGC-3') ve (5'-AGCTTGGACAGGATCTTGCC-3') primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile elde edildi.

**TNF- $\alpha$ -308G/A değişiminin tespiti:** TNF- $\alpha$ -308 lokusunu içeren 116 baz çiftlik bölge, TNF- $\alpha$ -308-1 (5' AGGCAATAGGTTTGAGGGCCAT-3') ve TNF- $\alpha$ -308-2 (5' AACTCCCCATCCTCCCTGCT-3') primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile elde edildi. Elde edilen ürün, -308 pozisyonundaki G/A değişikliğinin tespiti için, BspH1 (Fermentas, Litvanya) endonükleaz enzimi ile inkübe edilerek ve etidyum bromid ile boyanarak %2.5'lik agaroz jel elektroforezinde görünür hale getirildi.

Light Cyler (Roche Diagnostics, Almanya) cihazı ile TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A deęi-

şimlerinin tespiti: Light Cyler cihazı ve hazır kit kullanılarak nükleotid değişimleri tespit edildi.

### İstatistiksel Deęerlendirme

Çalışmanın istatistiksel analizi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında SPSS 11.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmlerini karşılaştırmak ve risk hesapları için Odds Ratio (OR) ve güven aralığı (confidence interval: CI) %95 güvenilirlik düzeyinde hesaplandı.

## BULGULAR

Astımlı çocuklara ait demografik ve klinik özellikler Tablo 1'de verilmiştir.

Olgular TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizm sıklığı açısından değerlendirildiğinde, 46 astımlı olgunun 7 (%15.2)'sinin ve 67 kontrol olgusunun 6 (%8.9)'sının bu polimorfizmi taşıdığı saptandı. Astımlı olgular ve kontrol grubu C allel sıklığı açısından karşılaştırıldığında, astım grubu (%7.6) kontrol grubuna (%4.4) göre yaklaşık 2 kat daha fazla C alleli sıklığı gösterse de, bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ). TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizminin astım gelişim riskine etkisi sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılıp incelendiğinde, astımlı olgularda (OR: 0.54, %95 CI: 0.17-1.75) bu polimorfizmin etkili olmadığı saptandı. Olgular atopik ve nonatopik astım şeklinde ayrı ayrı incelendiğinde de atopik astımda

**Tablo 1. Astımlı çocuklara ait demografik ve klinik özellikler.**

	Hastalar (n= 46)
• Yaş (yıl/ortanca) (dağılım aralığı)	10.5 (4-17)
• Cinsiyet (erkek/kız)	25/21
• Ek allerjik hastalık (allerjik rinokonjunktivit)	22 (%47.8)
• Aile bireylerinde allerjik hastalık	13 (%28.2)
• Cilt prik testi pozitifliği (mite, polen, kedi, küf)	25 (%54.3)
• Total IgE (kIU/L) (ortalama) (dağılım aralığı)	198 (0-1091)

(OR: 0.516, %95 CI: 0.133-2.010) ve nonatopik astımda (OR: 0.516, %95 CI: 0.134-2.598) bu polimorfizmin hastalık gelişiminde etkili olmadığı bulunmuştur. Olguların TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizm dağılımı Tablo 2’de sunulmuştur.

Olgular TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizm sıklığı açısından değerlendirildiğinde, 46 astımlı olgunun 11 (%23.9)’inin ve 67 kontrol olgusunun 16 (%23.8)’sının bu polimorfizmi taşıdığı saptandı. A allel sıklığı açısından astımlı olgular (%11.9) ve kontrol grubu (%11.9) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizminin astım gelişim riskine etkisi sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılıp incelendiğinde, astımlı olgularda (OR: 0.99, %95 CI: 0.41-2.40) bu polimorfizmin etkili olmadığı belirlendi. Olgular atopik ve nonatopik astım şeklinde ayrı ayrı incelendiğinde de atopik astımda (OR: 0.993, %95 CI: 0.339-2.914) ve nonatopik astımda (OR: 1.004, %95 CI: 0.138-3.172) bu polimorfizmin hastalık gelişiminde etkili olmadığı bulundu. Olguların TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizm dağılımı Tablo 3’te verilmiştir.

### TARTIŞMA

TGF- $\beta$ 1’in antiinflamatuvar görevi yanında, astımda fibrozis ve hava yolu yeniden yapılanmasına katkıda bulunan proinflamatuvar rolü olduğu da gösterilmiştir (10). TGF- $\beta$ 1 astımda hava yolu yeniden yapılanmasının başlaması ve deva-

mında potent bir profibrotik ajandır (23). Nitekim; TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizminin akciğer transplantasyonu sonrası gelişen fibrozis ve idiyopatik pulmoner fibroziste progresyonu artırdığı gösterilmiştir (24,25).

Yapılan çalışmalarda TGF- $\beta$ 1 polimorfizmlerinin astım ile ilişkisi olduğuna veya astım gelişiminde etkili olmadığına dair çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (3,10-14). TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizmi TGF- $\beta$ 1 plazma düzeyini en fazla artıran polimorfizmdir. Ancak, TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizminin astım gelişimi, atopik durum ve klinik şiddet üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (12-14). Biz de çalışmamızda daha önce yapılan araştırmalarla uyumlu şekilde astımlı çocuklarda TGF- $\beta$ 1 915G/C polimorfizminin astım gelişiminde risk oluşturmadığını ve atopi ile ilişkili olmadığını gösterdik. Araştırmamızda hastalığın klinik şiddeti ile TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizminin ilişkisini incelememize rağmen, olgu sayısının az olması ve gruplar arasındaki dağılımın orantılı olmaması nedeniyle istatistiksel bir sonuca ulaşamadık.

Diğer yandan TGF- $\beta$ 1-509T/C polimorfizminin değişik toplumlarda astım gelişimi, atopik durum ve astım şiddetini etkilediği, ancak Alman ve Çek toplumlarında yapılan iki çalışmada ise bu polimorfizm ile astım arasında bir ilişki gösterilemediği bildirilmiştir (3,10,12-14,26). Son yıllar-

**Tablo 2. TGF- $\beta$ 1-915G/C polimorfizm dağılımı.**

Genotip	Astım grubu (n= 46)	Kontrol grubu (n= 67)	p
G/G n (%)	39 (%84.8)	61 (%91)	> 0.05
G/C n (%)	7 (%15.2)	6 (%8.9)	> 0.05
OR (%95 CI)	0.54 (0.17-1.75)	1	

TGF- $\beta$ 1= Transforming growth factor-beta1.

**Tablo 3. TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizm dağılımı.**

Genotip	Astım grubu (n= 46)	Kontrol grubu (n= 67)	p
G/G n (%)	35 (%76)	51 (%76.1)	> 0.05
G/A n (%)	11 (%23.9)	16 (%23.8)	> 0.05
OR (%95 CI)	0.99 (0.41-2.40)	1	

TNF- $\alpha$ = Tümör nekroz faktörü-alfa.

da astımlı çocuklarda TGF- $\beta$ 1 polimorfizmleri ile çevre kirliliği ve sigara dumanına maruziyet arasındaki ilişki de incelenmiştir. Salam ve arkadaşları TGF- $\beta$ 1-509T/C polimorfizminin erken çocukluk döneminde astım riskini artırdığı ve gebelikte sigara içimi ile trafiğe bağlı hava kirliliğine maruziyetin bu riski daha da artırdığını göstermiştir (27). Li ve arkadaşları aynı polimorfizmin artmış astım riski ve atopik durumla ilişkisini gösterdikleri çalışmalarında ise sigara ve çevresel ozon gibi oksidan streslerin bu risk üzerine etkili olmadığı sonucuna varmışlardır (28). Biz çalışmamızda sigara dumanına maruziyet ve hava kirliliği gibi çevresel faktörleri değerlendirmeye almadık. Ancak ülkemizdeki özellikle büyük kentlerde çevre kirliliği ve çocukların sigara dumanına maruziyeti bilinen bir gerçektir. Bundan dolayı ileride yapılacak çalışmalarda oksidan streslerin de ilişkilendirildiği çok yönlü değerlendirmelerin yapılmasının astım genetiğinin aydınlatılmasında yararlı olacağını düşünmekteyiz.

TNF- $\alpha$  inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli rolü olan proinflamatuvar bir sitokindir ve bundan dolayı astım patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (29). Astımlı hastaların balgam, bronkoalveoler lavaj ve biyopsi örneklerinde TNF- $\alpha$  düzeyinin arttığı saptanmıştır (30). Sağlıklı kişiler ve astımlı hastalarda TNF- $\alpha$  inhalasyonunun bronşiyal aşırı duyarlılığa ve balgamda nötrofil artışına neden olduğu gösterilmiştir (31). TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmi yüksek düzeyde TNF- $\alpha$  üretimine neden olur (32). Bu özelliğinden dolayı TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmi, üzerinde en çok çalışma yapılan TNF- $\alpha$  polimorfizmi olmuştur. Ancak bu polimorfizmle astım arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda birbirini desteklemeyen sonuçlar elde edilmiştir (33).

Bilolikar ve arkadaşları TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizminin astım gelişiminde belirgin risk oluşturduğunu, ancak astımın klinik şiddetiyle ilişkili olmadığını göstermişlerdir (34). Buna karşın TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizminin astım gelişimi, atopik durum ve klinik şiddet üzerine etkilerinin araştırıldığı bazı çalışmalarda anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (18,22,23,35). Hong ve arkadaşları ise çocuklarda bu polimorfizmle astım riski ve atopik durum arasında ilişki saptamazken, ağır bronşiyal aşırı duyarlılık ile ilişki olduğunu belirlemişler-

dir (36). Aoki ve arkadaşları Japon toplumunda TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizminin astım gelişiminde risk oluşturmadığını göstermişlerdir. Ancak, yaptıkları meta-analizde ise bu polimorfizmin astım ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (33). Biz de çalışmamızda daha önce yapılan bazı araştırmalarla uyumlu şekilde astımlı çocuklarımızda TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizminin astım gelişiminde risk oluşturmadığını ve atopik durumla ilişkili olmadığını gösterdik. Araştırmamızda hastalığın klinik şiddeti ile bu polimorfizminin ilişkisini incelememize rağmen, olgu sayısının az olması ve gruplar arasındaki dağılımın orantılı olmaması nedeniyle istatistiksel bir sonuca ulaşamadık.

Bizim çalışmamız bilgilerimiz dahilinde ülkemizde bu polimorfizmlerle çocukluk çağı astım ilişkisinin incelendiği ilk çalışmadır. Araştırmamız az sayıda hastadan oluşan bir ön çalışmadır. Literatürde yer alan çalışmalar arasındaki farklılıklardan bazı çalışmaların erişkinleri de kapsamaması, olgu sayılarındaki azlık, toplumlar arasındaki ırksal farklılıklar, klinik şiddet veya çevresel farklılıkların dikkate alınmaması sorumlu olabilir. Bu çalışmada TGF- $\beta$ 1-915G/C ve TNF- $\alpha$ -308G/A polimorfizmlerinin çocuklarımızda astım gelişimi için bir risk oluşturmadığını düşündüren bulgular elde ettik. Sonuç olarak bu polimorfizmlerle klinik şiddet, tedaviye yanıt ve çevresel faktörlerin de ilişkilendirildiği daha geniş kapsamlı araştırmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

#### TEŞEKKÜR

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 20030809131).

#### KAYNAKLAR

1. Lemanske RF, Busse WW. Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 502-19.
2. Global Initiative for Asthma. *Pocket Guide for Asthma Management and Prevention in Children. A Pocket Guide for Physicians and Nurses Updated 2004: 1-30.*
3. Silverman ES, Palmer LJ, Subramaniam V, et al. Transforming growth factor-beta1 promoter polymorphism C-509T is associated with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 214-9.
4. Sacco O, Silvestri M, Sabatini F, et al. Epithelial cells and fibroblasts: Structural repair and remodelling in the airways. *Paediatr Respir Rev* 2004; 5: 35-40.

5. Babu KS, Davies DE, Holgate ST. Role of tumor necrosis factor alpha in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004; 24: 583-97.
6. Amrani Y, Panettieri RA Jr, Frossard N, Bronner C. Activation of the TNF alpha-p55 receptor induces myocyte proliferation and modulates agonist-evoked calcium transients in cultured human tracheal smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 15: 55-63.
7. Schwingshackl A, Duszyk M, Brown N, Moqbel R. Human eosinophils release matrix metalloproteinase-9 on stimulation with TNF-alpha. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 983-9.
8. Nanavaty U, Goldstein AD, Levine SJ. Polymorphisms in candidate asthma genes. *Am J Med Sci* 2001; 321: 11-6.
9. Steinke JW, Borish L, Rosenwassaer LJ. Genetics of hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 495-501.
10. Nagpal K, Sharma S, B-Rao C, et al. TGF beta1 haplotypes and asthma in Indian populations. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 527-33.
11. Hobbs K, Negri J, Klinnert M, et al. Interleukin-10 and transforming growth factor-beta promoter polymorphism in allergies and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1958-62.
12. Pulleyn LJ, Newton R, Adcock JM, Barnes PJ. TGF-beta 1 allele association with asthma. *Human Genet* 2001; 109: 623-7.
13. Buckova D, Izakovicova Holla L, et al. TGF-beta gene polymorphisms. *Allergy* 2001; 56: 1236-7.
14. Heinzmann A, Bauer E, Ganter K, et al. Polymorphisms of the TGF-beta1 gene are not associated with bronchial asthma in Caucasian children. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 310-4.
15. Albuquerque RV, Hayden CM, Palmer LJ, et al. Association of polymorphism within the tumour necrosis factor genes and childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 578-84.
16. Li Kam Wa TC, Mansur AH, Britton J, et al. Association between beta-308 TNF promoter polymorphism and bronchial hyperreactivity in asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1204-8.
17. Hyoung DS, Byung LP, Lyoung HK, et al. Association of tumor necrosis factor polymorphisms with asthma and serum total IgE. *Human Molecular Genetics* 2004; 13: 397-403.
18. Louis R, Leyder E, Malaise M, et al. Lack of association between adult asthma and the tumour necrosis factor alpha-308 polymorphism gene. *Eur Respir J* 2000; 16: 604-8.
19. Lin YC, Lu CC, Su HJ, et al. The association between tumor necrosis factor, HLA-DR alleles, and IgE-mediated asthma in Taiwanese adolescents. *Allergy* 2002; 57: 831-4.
20. Di Somma C, Charron D, Deichmann K, et al. Atopic asthma and TNF-308 alleles: linkage disequilibrium and association analyses. *Hum Immunol* 2003; 64: 359-65.
21. Shin HD, Park BL, Kim LH, et al. Association of tumor necrosis factor polymorphisms with asthma and serum total IgE. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 397-403.
22. Randolph AG, Lange C, Silverman EK, et al. Extended Haplotype in the Tumor Necrosis Factor Gene Cluster Is Associated with Asthma and Asthma-Related Phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 687-92.
23. Blumenthal MN. The role of genetics in the development of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 141-5.
24. Awad MR, El-Gamel A, Hasleton P, et al. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta1 gene: Association with transforming growth factor-beta1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 1014-20.
25. Xaubet A, Marin-Arguedas A, Lario S, et al. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms are associated with disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 431-5.
26. Mak JC, Leung HC, Ho SP, et al. Analysis of TGF-beta(1) gene polymorphisms in Hong Kong Chinese patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 92-6.
27. Salam MT, Gauderman WJ, McConnell R, et al. Transforming growth factor-1 C-509T polymorphism, oxidant stress, and early-onset childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 1192-9.
28. Li H, Romieu I, Wu H, et al. Genetic polymorphisms in transforming growth factor beta-1 (TGFbeta1) and childhood asthma and atopy. *Hum Genet* 2007; 121: 529-38.
29. Johnson PR, Burgess JK, Ge Q, et al. Connective tissue growth factor induces extracellular matrix in asthmatic airway smooth muscle. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 32-41.
30. Kips JC. Cytokines in asthma. *Eur Respir J Suppl* 2001; 34: 24-33.
31. Thomas PS, Heywood G. Effects of inhaled tumour necrosis factor alpha in subjects with mild asthma. *Thorax* 2002; 57: 774-8.
32. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, et al. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3195-9.
33. Aoki T, Hirota T, Tamari M, et al. An association between asthma and TNF-308G/A polymorphism: Meta-analysis. *J Hum Genet* 2006; 51: 677-85.
34. Bilollikar H, Nam AR, Rosenthal M, et al. Tumour necrosis factor gene polymorphisms and childhood wheezing. *Eur Respir J* 2005; 26: 637-46.
35. Buckova D, Holla LI, Vasku, et al. Lack of association between atopic asthma and the tumor necrosis factor alpha-308 gene polymorphism in a Czech population. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2002; 12: 192-7.
36. Hong SJ, Kim HB, Kang MJ, et al. TNF-alpha (-308 G/A) and CD14 (-159T/C) polymorphisms in the bronchial responsiveness of Korean children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 398-404.