

## بررسی فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 و HLA-DQB1 در کودکان مبتلا به ریفلاکس وزیکویورترال اولیه

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۲۸ آنلاین: ۱۳۹۳/۰۹/۲۰

**زمینه و هدف:** ریفلاکس وزیکویورترال (Vesicoureteral Reflux, VUR) جریان برگشتی ادرار از مثانه به طرف حالب و به سمت کلیه است. ریفلاکس وزیکویورترال شایع‌ترین بیماری ارثی سیستم ادراری-تناسلی است که باعث افزایش استعداد به عفونت ادراری در کودکان می‌شود. با توجه به اینکه روش‌های رایج تشخیصی VUR برای کودکان و والدین آنها ناخوشایند است از این‌روی آنالیزهای مولکولی از جمله بررسی ژن‌های آنتی‌ژنی لکوسیتی انسان شاید به شناسایی ژن مسبب کمک نماید.

**روش بررسی:** این مطالعه بر روی ۴۰ کودک که به علت Urinary Tract Infection (UTI) در بیمارستان افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان بستری و VUR اولیه توسط Voiding Cystourethrogram (VCUG) در آنها اثبات شده بود، انجام گردید. ۴۰ کودک نیز پس از ارزیابی کامل اورولوژیکی و تایید عدم وجود VUR در گروه کنترل قرار گرفتند. DNA از نمونه خون کامل استخراج و با استفاده از روش Polymerase Chain Reaction- Sequence-Specific Priming (PCR-SSP) تکثیر داده شده و میران فراوانی آلل‌های HLA-DQ و HLA-DR در دو گروه دو مقایسه گردیدند.

**یافته‌ها:** فراوانی آنتی‌ژن HLA-DR17 در بیماران دارای VUR به‌طور معناداری بیشتر از افراد کنترل بود ( $P=0/039$ ). در حالی که فراوانی آنتی‌ژن HLA-DR16 در گروه بیماران دارای VUR به‌طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود ( $P=0/024$ ). از طرف دیگر، فراوانی آنتی‌ژن HLA-DQ2 در بیماران دارای VUR به‌طور معناداری بیشتر از افراد کنترل بود ( $P=0/002$ ). همچنین فراوانی هاپلوتیپ‌های (۱ و ۱۷) HLA-DRB1 و (۲ و ۷) HLA-DQB1 در بیماران VUR به‌طور معناداری بیشتر از افراد گروه کنترل بود ( $P=0/027$  و  $P=0/01$ ).

**نتیجه‌گیری:** امکان دارد که استعداد بروز ریفلاکس تا حدی توسط ژن‌های HLA کنترل شود که لوکوس مسئول آن به احتمال زیاد در نزدیکی ژن‌های DRB1 و DQB1 قرار دارد.

**کلمات کلیدی:** آنتی‌ژن لکوسیتی انسان، ریفلاکس وزیکویورترال، HLA DRB1، HLA DQ B1

محمدرضا بذرافشانی<sup>۱\*</sup>  
سعیده پرورش<sup>۲</sup>  
علی صادقی لطف‌آبادی<sup>۲</sup>  
فاطمه‌السادات حسینی<sup>۳</sup>

۱- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.  
۲- گروه کودکان، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.  
۳- آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر محمدرضا بذرافشانی کرمان، کرمان، ایران.

\* نویسنده مسئول: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، گروه ژنتیک پزشکی  
تلفن: ۰۳۴-۳۲۴۳۶۸۰  
E-mail: bazr61@yahoo.co.uk

### مقدمه

روی می‌دهد و با داخل شدن غیرطبیعی حالب به درون مثانه ایجاد می‌شود.<sup>۱</sup> حالت ثانویه ناشی از عوامل ایجاد فشار بالا در مثانه مانند مثانه نوروژن است و عوامل انسدادی نیز باعث تسهیل ریفلاکس ادراری از اسفنکتر نارسا می‌شود و درجه ریفلاکس را شدیدتر می‌کند.<sup>۲-۴</sup>

ریفلاکس به‌طور معمول در طی ارزیابی کودکان مبتلا به عفونت

ریفلاکس وزیکویورترال (Vesicoureteral Reflux, VUR)، به معنای برگشت ادرار از مثانه به حالب و لگنچه کلیه است و به دو صورت اولیه و ثانویه طبقه‌بندی می‌گردد. ریفلاکس اولیه، یک نقص مادرزادی دستگاه ادراری است و به‌طور تقریبی در کودکان (۱٪)

غیرتهاجمی برای شناسایی VUR هستند.<sup>۱۰-۱۳</sup>

از جمله ژن‌های کاندید، سیستم آنتی‌ژنی لکوسیتی انسان یا HLA است که اولین بار در سال ۱۹۵۴ توسط Dausset شناسایی شد. در انسان ناحیه مزبور روی بازوی کوتاه کروموزوم شش (6p21) واقع شده است و در حدود چهار مگاباز از DNA را اشغال می‌کند.<sup>۱۶</sup> جایگاه ژنی HLA حاوی بیشترین اطلاعات برای عرضه مناسب آنتی‌ژن‌ها می‌باشد.<sup>۱۷، ۱۸</sup> ژن‌های این مجموعه به دو ناحیه اصلی کلاس I و کلاس II گروه‌بندی شده‌اند. ناحیه کلاس II بیش از ۸۰۰ کیلوباز از DNA را در بر می‌گیرد و حداقل از ۹ ژن عملکردی تشکیل شده است که شامل، DRB4, DRB3, DRB1, DRA1, DPB1, DPA1, DQB1, است که شامل، DQA1, DRB5 می‌باشد.<sup>۱۹</sup>

گروه ژنومی HLA-DRB1 دارای بالاترین تنوع پلی‌مورفیسمی در خانواده HLA کلاس II است.<sup>۲۰</sup>

با توجه به نتایج مثبت مشاهده‌شده در مطالعه Kawauchi مبنی بر وجود ارتباط میان HLA-DRB1 و VUR،<sup>۱۲</sup> این پژوهش با هدف کشف هرگونه ارتباط میان آنتی‌ژن‌های HLA-DRB1 و HLA-DQB1 و بیماری VUR در جمعیت جنوب شرق ایران انجام گردید.

## روش بررسی

در این مطالعه مورد-شاهدی (Case-control) که در سال ۱۳۹۰ انجام شد، ۴۰ کودک سه تا هشت ساله از شهر کرمان و شهرستان‌های تابعه که به‌علت UTI در بیمارستان افضلی‌پور بستری و VUR اولیه توسط VCUG در آنها اثبات شده بود، به‌روش نمونه‌گیری در دسترس انتخاب و وارد مطالعه شدند. تعداد ۴۰ نفر کودک سالم (از جهت عدم وجود اختلال بارز کلیوی) و در طیف سنی مشابه نیز با تاکید بر عدم وجود سابقه ابتلای به عفونت ادراری یا مشکلات کلیوی و عدم سابقه فشارخون بالا در فرد و افراد درجه یک منسوبش انتخاب شدند و پس از تایید عدم وجود اختلال بارز کلیوی در گروه کنترل قرار گرفتند.

کودکان پس از ارایه توضیحات لازم و دریافت رضایت‌نامه کتبی آگاهانه از والدین، وارد مطالعه شدند. کلیه مراحل طرح به تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان رسانده شد. از هر یک از افراد مورد بررسی، ۵ ml خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد

ادراری کشف می‌شود. این کودکان در ۸۰٪ موارد دختر هستند و متوسط سن تشخیص دو تا سه سالگی است. VUR اولیه یکی از مهمترین اختلالات مادرزادی است و شایع‌ترین بیماری ارثی سیستم ادراری-تناسلی است که باعث افزایش استعداد به عفونت ادراری در شیرخواران می‌شود و همچنین خطر ایجاد اسکار کلیوی را افزایش می‌دهد.<sup>۵</sup> اسکار کلیوی به‌طور مستقیم با افزایش احتمال خطر ریفلکس نفروپاتی، پرفشاری خون و در نهایت نارسایی کلیوی در آینده همراه می‌باشد و به‌همین علت تشخیص به‌موقع و مدیریت مناسب ریفلکس و عفونت‌های ادراری از اهمیت بسیار زیادی برای پیشگیری از پیامدهای یاد شده برخوردار است. ریفلکس نفروپاتی به‌طور تقریبی در ۲۵٪ اطفال تحت دیالیز و ۱۵-۱۰٪ بالغین در انتظار پیوند کلیه مشاهده می‌گردد.<sup>۷</sup>

این بیماری که به‌عنوان یک بیماری فامیلیال و ژنتیک شناخته شده است و مسیر انتقال آن از نوع اتوزومال غالب می‌باشد که در ۵۰-۳۰٪ شیرخواران با عفونت ادراری و در بیش از ۱۰٪ نوزادان با هیدرونفروز مادرزادی دیده می‌شود.<sup>۶، ۸-۱۰</sup> به‌طور تقریبی ۳۵٪ خواهران و برادران کودکان مبتلا به ریفلکس نیز دارای این بیماری هستند و این احتمال به‌درجه ریفلکس و جنس بیمار بستگی ندارد. ۵۰٪ فرزندان زنانی که مبتلا به ریفلکس هستند نیز ریفلکس دارند. حدود ۱۲٪ خواهران و برادران بدون علامت که مبتلا به ریفلکس هستند، اسکار کلیوی دارند. هرچه سن بروز عفونت لوله‌های ادراری (Urinary Tract Infection, UTI) کمتر باشد، احتمال همراهی آن با ریفلکس بیشتر است، به‌طوری که در ۷۰٪ بچه‌های زیر یک سال، ۲۵٪ از کودکان کمتر از چهار سال و ۱۵٪ از اطفال ۱۲-۴ سال، این همراهی مشاهده می‌گردد.<sup>۱۱</sup>

Voiding Cystourethrogram (VCUG) و Direct Radionuclide

Cystography (DRC) نیازمند سونداژ و وارد کردن ماده حاجب و تصویربرداری مجاری فوقانی و تحتانی ادراری است که ممکن است کودکان به‌علت سونداژ دچار ترومای روحی شوند. آماده‌سازی درست همراه با تجویز داروهای خواب‌آور، پیش از انجام این عمل می‌تواند باعث کاهش اثرات این تجربه دردناک شود.<sup>۱</sup>

با توجه به اهمیت تشخیص و درمان هرچه سریعتر VUR و ژنتیکی بودن آن و اینکه VCUG یا DRC روش‌هایی ناخوشایند برای کودکان و والدین آنهاست، از این‌روی پژوهشگران به‌دنبال روش‌هایی

درصد و میزان فراوانی هر آلل و یا هاپلوتیپ به صورت مستقل بین دو گروه بیمار و کنترل محاسبه گردیده است.

جدول ۱: فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 در بیماران VUR و گروه کنترل (هر گروه ۴۰ نفر)

| نوع آلل | بیماران<br>Frequency (%) | کنترل<br>Frequency (%) | P     |
|---------|--------------------------|------------------------|-------|
| ۱۶      | ۲(۵)                     | ۹(۲۲/۵)                | ۰/۰۲۴ |
| ۰۷      | ۱۰(۲۵)                   | ۵(۱۲/۵)                | *NS   |
| ۱۵      | ۸(۲۰)                    | ۱۰(۲۵)                 | NS    |
| ۱۱      | ۱۲(۳۰)                   | ۱۰(۲۵)                 | NS    |
| ۰۱      | ۵(۱۲/۵)                  | ۶(۱۵)                  | NS    |
| ۱۴      | ۴(۱۰)                    | ۴(۱۰)                  | NS    |
| ۱۳      | ۵(۱۲/۵)                  | ۸(۲۰)                  | NS    |
| ۱۷      | ۱۵(۳۷/۵)                 | ۷(۱۷/۵)                | ۰/۰۳۹ |
| ۰۴      | ۸(۲۰)                    | ۶(۱۵)                  | NS    |
| ۱۰      | ۱(۲/۵)                   | ۱(۲/۵)                 | NS    |
| ۰۸      | ۰                        | ۴(۱۰)                  | NS    |
| ۱۲      | ۰                        | ۲(۵)                   | NS    |

\* NS: Not Significant

جدول ۲: فراوانی آلل‌های HLA-DQB1 در بیماران VUR و گروه کنترل (هر گروه ۴۰ نفر)

| نوع آلل | بیماران<br>Frequency (%) | کنترل<br>Frequency (%) | P     |
|---------|--------------------------|------------------------|-------|
| ۰۵      | ۱۲(۳۰)                   | ۱۶(۴۰)                 | *NS   |
| ۰۲      | ۲۵(۶۲/۵)                 | ۱۱(۲۷/۵)               | ۰/۰۰۲ |
| ۰۷      | ۱۴(۳۵)                   | ۱۶(۴۰)                 | NS    |
| ۰۶      | ۱۵(۳۷/۵)                 | ۱۴(۳۵)                 | NS    |
| ۰۴      | ۲(۵)                     | ۵(۱۰)                  | NS    |
| ۰۸      | ۵(۱۲/۵)                  | ۴(۱۲/۵)                | NS    |
| ۰۹      | ۰                        | ۱(۲/۵)                 | NS    |

\* NS: Not Significant

EDTA-K2 جمع‌آوری و DNA از WBC خون محیطی استخراج شد (K1132 DNA Extraction Kit, KBC Co., Tehran, Iran). سپس با استفاده از روش Polymerase Chain Reaction- Sequence-Specific Priming (PCR-SSP) و کیت (HISTO TYPE DR/DQB, BAG Health BAG (PCR-SSP) و کیت HLA-DRB1, Care GmbH. Amtsgerichtsstr, Germany) تعیین شدند. برای انجام PCR چاهک کنترل آلودگی نیز مشخص شده بود. در انتها الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ انجام گردید.

با جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۹ تجزیه و تحلیل نتایج انجام شد. به منظور توصیف داده‌ها از فراوانی نسبی و مطلق استفاده شد. از آزمون  $\chi^2$  جهت مقایسه فراوانی HLA در دو گروه استفاده شد. آزمون Logistic regression جهت محاسبه نسبت شانس (Odds Ratio, OR) استفاده گردید. همچنین  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنادار شدن آزمون در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه فراوانی آنتی‌ژن HLA-DR17 در بیماران دارای VUR، از لحاظ آماری به طور معناداری بیشتر از افراد کنترل شد (۳۷/۵٪ در مقابل ۱۷/۵٪،  $P = 0/039$ ،  $OR = 0/35$ ). از طرف دیگر، فراوانی آنتی‌ژن HLA-DR16 در گروه بیماران دارای VUR به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود (۵٪ در مقابل ۲۲/۵٪،  $P = 0/024$ ،  $OR = 0/51$ ) (جدول ۱).

همچنین، در بررسی ژنوتیپی گروه HLA-DQ مشاهده شد که فراوانی آنتی‌ژن HLA-DQ2 در بیماران دارای VUR به طور معناداری بیشتر از افراد کنترل بود (۶۲/۵٪ در مقابل ۲۷/۵٪،  $P = 0/002$ ،  $OR = 0/22$ ) (جدول ۲). در بررسی هاپلوتیپ‌های HLA کلاس II ژن HLA-DRB1، فراوانی هاپلوتیپ ۱۱ و ۱۷ در بیماران VUR به طور معناداری بیشتر از افراد گروه کنترل بود (۱۲/۵٪ در مقابل ۰٪،  $P = 0/027$ ،  $OR = 0/10$ ) (جدول ۳).

همچنین با بررسی هاپلوتیپ‌های HLA کلاس II ژن DQ، فراوانی هاپلوتیپ ۲ و ۷ در بیماران VUR به طور معناداری بیشتر از افراد گروه کنترل بود (۲۰٪ در مقابل ۲/۵٪،  $P = 0/01$ ،  $OR = 0/103$ ) (جدول ۴). نکته قابل توجه اینکه در تمامی جداول و محاسبات،

جدول ۳: فراوانی هاپلوتیپ‌های HLA-DRB1 در بیماران VUR و گروه کنترل (هر گروه ۴۰ نفر)

| P     | کنترل         | بیماران       | هاپلوتیپ |
|-------|---------------|---------------|----------|
|       | Frequency (%) | Frequency (%) |          |
| *NS   | ۲(۰.۵)        | ۲(۰.۵)        | ۱۵ و ۱۴  |
| NS    | ۰             | ۲(۰.۵)        | ۱۳ و ۰۷  |
| ۰/۰۲۷ | ۰             | ۵(۱۲.۵)       | ۱۷ و ۱۱  |
| NS    | ۰             | ۲(۰.۵)        | ۱۷ و ۱۴  |
| NS    | ۰             | ۲(۰.۵)        | ۱۱ و ۰۴  |

\* NS: Not Significant

جدول ۴: فراوانی هاپلوتیپ‌های HLA-DQB1 در بیماران VUR و گروه کنترل (هر گروه ۴۰ نفر)

| P    | کنترل         | بیماران       | هاپلوتیپ |
|------|---------------|---------------|----------|
|      | Frequency (%) | Frequency (%) |          |
| *NS  | ۲(۰.۵)        | ۵(۱۲.۵)       | ۰۵ و ۰۲  |
| NS   | ۶(۱۵)         | ۲(۰.۵)        | ۰۷ و ۰۶  |
| NS   | ۵(۱۲.۵)       | ۴(۱۰)         | ۰۶ و ۰۵  |
| NS   | ۴(۱۰)         | ۷(۱۷.۵)       | ۰۶ و ۰۲  |
| ۰/۰۱ | ۱(۲.۵)        | ۸(۲۰)         | ۰۷ و ۰۲  |
| NS   | ۱(۲.۵)        | ۳(۷.۵)        | ۰۸ و ۰۷  |

\* NS: Not Significant

## بحث

آنتی‌ژن‌های HLA-DR از اهمیت بیشتری در مقایسه با آنتی‌ژن‌های HLA کلاس I در ارتباط با پاسخ ایمنی برخوردار می‌باشند.<sup>۱۳</sup> به عبارت دیگر، نوع مشخصی از HLA ممکن است بیماری اتوایمیونی مثل دیابت نوع یک را ایجاد نماید.<sup>۳۳</sup>

در مطالعه حاضر، اختلاف آماری معناداری در آنتی‌ژن‌های HLA-DR17 و HLA-DQ2 در بین بیماران دارای ریفلاکس با گروه کنترل دیده شد. همچنین، فراوانی هاپلوتیپ ۱۱ و ۱۷ ژن DRB1 و هاپلوتیپ ۲ و ۷ ژن DQ در بیماران VUR به‌طور معناداری بیشتر از افراد گروه کنترل بود HLA-DQ. آلفا در بیماران مبتلا به ریفلاکس توسط Albarus و همکاران مطالعه شد، اما این مطالعات هیچ‌گونه اختلاف معناداری را نشان ندادند.<sup>۲۴</sup> در مطالعه Kawachi و همکاران نشان داده شد که آنتی‌ژن‌های HLA-DR11 در سطح Low-resolution و آلل‌های HLA-DRB1\*1101 و HLA-DRB1\*1502 در سطح High-resolution در بیماران مبتلا به ریفلاکس به‌طور معناداری بیشتر از افراد سالم بود.<sup>۱۲</sup> هرچند که علت اختلاف مشاهده شده در زمینه HLA-DRB1 در مطالعه حاضر با بقیه مطالعات نامشخص است. اما بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی HLA و تغییرات اپی‌ژنتیک در تعیین حساسیت افراد به بیماری‌های کلیوی دارای نقش اساسی می‌باشند.<sup>۳۳</sup>

از طرف دیگر، سیستم HLA یکی از پلی‌مورفیک‌ترین سیستم‌های ژنتیکی است که در انسان شناسایی شده است و هر یک از نژادهای

مطالعه حاضر در ارتباط با نقش آلل‌های HLA-DQ در بیماری ریفلاکس و زیکوویورتال اولیه برای نخستین بار در ایران صورت گرفته است.

Zervas و همکاران نشان دادند که کودکان حامل HLA-AW19+29 در ریسک بیشتری برای ابتلا به VUR قرار دارند.<sup>۱۴</sup> در مطالعه‌ای که Falahatkar و همکاران بر روی ۳۰ بیمار مبتلا به ریفلاکس انجام دادند، همبستگی معناداری میان HLA-A9 و HLA-B44 با VUR اولیه مشاهده شد.<sup>۱۵</sup> همبستگی میان HLA-A9 و VUR اولیه در مطالعه Bodmer و همکاران نیز پیش از این نشان داده شده بود.<sup>۲۱</sup> Torres و همکاران، ۴۴ بیمار نارسایی کلیوی مرحله انتهایی ثانویه به ریفلاکس نفروپاتی را مورد بررسی قرار دادند، نتایج آنها نشان داد که فراوانی HLA-B12 در بیماران زن، B8 با همراهی A9 یا BW15 در بیماران مرد و BW15 در هر دو جنس بیشتر از فراوانی آنها در افراد گروه کنترل بود.<sup>۱۳</sup>

اما تمامی مطالعاتی که در بالا به آنها اشاره شد بر روی HLA کلاس I انجام شده بود. در سال‌های اخیر تعیین ژنوتیپ HLA کلاس II به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است که امکان آنالیز دقیق این آنتی‌ژن‌ها را میسر نموده است. از آنجایی که آنتی‌ژن‌های کلاس II انتقال پیام بین ایمنوسیت‌ها را تسهیل می‌کنند، در پاتوژنز برخی از بیماری‌ها اهمیت دارند. در مطالعه Klemme و همکاران، HLA-DR و HLA-DQ در رابطه با سندرم‌های ناهنجاری‌های فامیلی مورد بررسی قرار گرفته است.<sup>۲۲</sup> همچنین، در مطالعه Torres نشان داده شد که

مانند VCUG، وجود خواهد داشت.

محدودیت‌های مطالعه: با توجه به اینکه کشور ما دارای تنوع وسیعی از اقوام و جمعیت‌ها است، از این‌روی نیاز است تا مطالعات بیشتری با گروه‌های بزرگ‌تری صورت بگیرد تا بتوان تصمیم صحیحی در مورد ارتباط آنتی‌ژن‌های HLA کلاس II و بیماری ریفلاکس و زیکیورتال گرفت. همچنین با دسترس داشتن گریدهای بیماری ریفلاکس و زیکیورتال در مورد هر کدام از بیماران می‌توان اطلاعات دقیق‌تری در مورد نقش آنتی‌ژن HLA کلاس II در این بیماری به‌دست آورد.

نتیجه‌گیری: افزایش معنادار آلل‌های HLA-DR17 و آنتی‌ژن HLA-DQ2 در بیماران دارای VUR نسبت به گروه کنترل نشان‌دهنده نقش بسیار قوی این آلل‌ها در بیماری می‌باشد. همچنین، به‌منظور روشن ساختن ارتباط VUR اولیه با سیستم HLA، انجام مطالعات بیشتر در سطح High-resolution برای مشخص کردن آلل‌های اختصاصی و نیز بررسی ارتباط سیستم HLA با اسکار کلیوی ناشی از ریفلاکس نفروپاتی ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی HLA در کودکان مبتلا به ریفلاکس و زیکیورتال" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان در سال ۱۳۹۰ با کد ۹۰/۳۱۲ می‌باشد و با حمایت مالی مرکز تحقیقات فیزیولوژی این دانشگاه اجرا شده است.

عمده دنیا، با درجات بالا و پایین فراوانی آنتی‌ژن‌های HLA و هاپلوتیپ‌های خاص HLA مشخص شده‌اند. به‌عبارت دیگر، فراوانی آنتی‌ژن‌های HLA کلاس I و II و نیز هاپلوتیپ‌های شاخص HLA در جوامع و اقوام مختلف متفاوت می‌باشد.<sup>۲۵</sup> بنابراین لازم است که آنتی‌ژن‌ها بر روی جمعیت هر منطقه بررسی شوند.<sup>۲۶</sup> پژوهش حاضر در منطقه جنوب شرق ایران و به‌خصوص در کرمان انجام گرفت بنابراین، به‌نظر می‌آید که ارتباط بین آلل‌ها و هاپلوتیپ‌های HLA کلاس II و بیماری VUR به ویژگی‌های قومی و جغرافیایی هر منطقه بستگی دارد. همچنین، نباید فراموش کرد شرایط محیطی و نیز عوامل بیماری‌زا که در این مناطق شایع هستند با یکدیگر اختلاف دارند. مولکول‌های HLA کلاس II ارتباط تنگاتنگی با پاسخ‌های ایمنی نسبت به عفونت‌های ناشی از پاتوژن‌های خارج سلولی دارند البته ممکن است که آلل‌های HLA کلاس II تحت تاثیر برهمکنش میزبان-پاتوژن خارجی نیز قرار گیرند.

با توجه به اهمیت تشخیص و درمان هرچه سریعتر ریفلاکس و با توجه به اینکه ریفلاکس یک اختلال ژنتیکی است و انجام VCUG یا DRC روشی ناخوشایند است و از طرف دیگر در ۶۰-۳۰٪ موارد، ریفلاکس و عفونت ادراری مکرر و بدون درمان مناسب، باعث اسکار کلیوی می‌شود. بنابراین، با پی بردن به زمینه ژنتیکی این بیماری و تشخیص فراوانی آلل‌های HLA کلاس II امکان جایگزین کردن تست‌های تشخیصی غیرتهاجمی مولکولی به‌جای تست‌های تشخیصی

## References

- Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editors. In: Nelson Textbook of Pediatrics. 18<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2008; p. 2228-34.
- Rushton GH. Vesicoureteral reflux and scarring. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, editors. Pediatric Nephrology. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2004; p. 1027-48.
- Homayoon K, Chen JJ, Cummings JM, Steinhardt GF. Voiding dysfunction: outcome in infants with congenital vesicoureteral reflux. *Urology* 2005;66(5):1091-4; discussion 1094.
- Baka-Ostrowska M. Vesicoureteral reflux and urinary tract infections. *Pol Merkur Lekarski* 2008;24 Suppl 4:95-7.
- Vesicoureteric reflux: all in the genes? Report of a meeting of physicians at the Hospital for Sick Children, Great Ormond Street, London. *Lancet* 1996;348(9029):725-8.
- Sargent MA. What is the normal prevalence of vesicoureteral reflux? *Pediatr Radiol* 2000;30(9):587-93.
- Bailey RR, Mailing TMJ, Swainson CP. Vesicoureteric reflux and reflux nephropathy. In: Scherier RW, Gottschalk CW, editors. Disease of the Kidney. 5<sup>th</sup> ed. Boston: Little, Brown and Co.; 1993. p. 689-727.
- Lebowitz RL. The detection and characterization of vesicoureteral reflux in the child. *J Urol* 1992;148(5 Pt 2):1640-2.
- Woodward M, Frank D. Postnatal management of antenatal hydronephrosis. *BJU Int* 2002;89(2):149-56.
- Carvas F, Silva A, Nguyen HT. The genetics of primary, nonsyndromic vesicoureteral reflux. *Curr Opin Urol* 2010;20(4):336-42.
- Baker R, Maxted W, Maylath J, Shuman I. Relation of age, sex, and infection to reflux: Data indicating high spontaneous cure rate in pediatric patients. *J Urol* 1966;95(1):27-32.
- Kawauchi A, Takahara S, Sada M, Goto R, Nakatani T, Miki T. Susceptibility to vesicoureteral reflux in Japanese is linked to HLA-DR antigen. *Urology* 2001;58(6):1036-40.

13. Torres VE, Moore SB, Kurtz SB, Offord KP, Kelalis PP. In search of marker for genetic susceptibility to reflux nephropathy. *Clin Nephrol* 1980;14(5):217-22.
14. Zervas J, Costi-Mantsis E, Constantopoulos C, Dimopoulos C. Human leukocyte antigens and vesicoureteral reflux in Greek children. *Eur Urol* 1986;12(4):230-1.
15. Falahatkar S, Mokhtari GH, Askari SA. Correlation between HLA system and primary vesicoureteral reflux. *IRCMJ* 2005;8(1):13-5.
16. Rathika C, Balakrishnan K, Manikandan T, Raja N and et al. Involvement of HLA-DR/DQ, ApoE and ACE I/D Gene polymorphisms in development of secondary complication in south Indian T2DM patients. *Int J Hum Genet* 2012;12(1):21-32.
17. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000. p. 63-75.
18. Dyer P, Middleton D, editors. Histocompatibility Testing: A Practical Approach. New York, NY: Oxford University Press Inc;1993. p. 1-10.
19. Marsh SG, Bodmer JG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2000. *Hum Immunol* 2001;62(4):419-68.
20. Amirzargar A, Mytilineos J, Farjadian S, Doroudchi M, Scherer S, Opelz G, et al. Human leukocyte antigen class II allele frequencies and haplotype association in Iranian normal population. *Hum Immunol* 2001;62(11):1234-8.
21. Bodmer WF, Bodmer JG. Evaluation and function of the HLA system. *Br Med Bull* 1978;34:309-16.
22. Klemme L, Fish AJ, Rich S, Greenberg B, Senske B, Segall M. Familial ureteral abnormalities syndrome: genomic mapping, clinical findings. *Pediatr Nephrol* 1998;12(5):349-56.
23. Cao Q, Xie D, Liu J, Zou H, Zhang Y, Zhang H, et al. HLA polymorphism and susceptibility to end-stage renal disease in Cantonese patients awaiting kidney transplantation. *PLoS One* 2014;9(6):e90869.
24. Albarus MH, Salzano FM, Goldraich NP. Genetic markers and acute febrile urinary tract infection in the 1st year of life. *Pediatr Nephrol* 1997;11(6):691-4.
25. Nelson KA. HLA typing. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder Jr HW, editors. Clinical Immunology: Principles and Practice. London: Mosby; 2001. p. 126.
26. Falahatkar S, Donyamali H, Joafshani MA, Shahrokhi Damavand R, Hoda S, Esmaeili S, et al. The comparison between human leukocyte antigen system incidence in patients with bladder cancer and normal controls. *Urol J* 2014;10(4):1059-62.

## Frequency determination of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles in children with primary vesicoureteral reflux

### Abstract

Received: 10 May 2014 Accepted: 19 Nov. 2014 Available online: 11 Dec. 2014

Mohammadreza Bazrafshani  
Ph.D.<sup>1\*</sup>  
Saeideh Parvaresh M.D.<sup>2</sup>  
Ali Sadeghi Lotfabadi M.D.<sup>2</sup>  
Fatemesadat Hosseini M.Sc.<sup>3</sup>

1- Department of Medical Genetics,  
Afzalipour School of Medicine and  
Physiology Research Center,  
Kerman University of Medical  
Sciences, Kerman, Iran.

2- Department of Pediatrics,  
Afzalipour School of Medicine,  
Kerman University of Medical  
Sciences, Kerman, Iran.

3- Dr Mohammadreza Bazrafshani  
Medical Genetic laboratory,  
Kerman, Iran.

\* Corresponding author: Department of  
Medical Genetics, Afzalipour School of  
Medicine, Kerman University of Medical  
Sciences, Kerman, Iran.  
Tel: +98-34-32436880  
E-mail: bazr61@yahoo.co.uk

**Background:** Vesicoureteral reflux (VUR) is the retrograde flow of urine from the bladder into the ureter and toward the kidney. Vesicoureteral reflux is the most common inherited disease in urogenital system. Primary VUR is the most common urological anomaly in children and it has been reported in 30-50% of those who present with urinary tract infection (UTI). The association of vesicoureteral reflux, urinary tract infection and renal damage is well known. Current methods for vesicoureteral reflux diagnosis are unpleasant. Therefore, human leukocyte antigen system not only might help to detect causative gene but also would assist to establish better prognoses tests of this disease. In this study, the relationship between vesicoureteral reflux and HLA-DRB1 and HLA-DQB1 genes were investigated.

**Methods:** This study applied on forty vesicoureteral reflux confirmed children from Kerman province, Iran. These children have been admitted to the Afzalipour Hospital for UTI and primary VUR for them was proved by voiding cystourethrogram (VCUG). Also, forty children without any VUR sign as control group. DNA was extracted from the whole blood sample and was amplified using sequence-specific priming polymerase chain reaction (PCR-SSP) method. Finally PCR products were evaluated by electrophoresis in 1.5% agarose gel and frequency of alleles and haplotypes were compared by Chi-square test. Significance level was assumed at  $P < 0.05$ .

**Results:** Low-resolution HLA typing showed the frequency of the HLA-DR17 antigen was significantly increased in vesicoureteral reflux children compared to control group ( $P = 0.039$ ). On the other hand HLA-DR16 was significantly decreased in vesicoureteral reflux group. Also, frequency of HLA-DQ2 was significantly higher in patients compared to control group ( $P = 0.002$ ). DRB1 (11, 17) and DQ (2, 7) haplotypes were also higher in vesicoureteral reflux patients ( $P = 0.027$ ,  $P = 0.01$ ).

**Conclusion:** The HLA cluster might affect on susceptibility to vesicoureteral reflux especially by locus which located close to HLA-DRB1 and HLA-DQB1 genes. This study demonstrates for the first time in Iran. However, further extensive researches with a large number of samples from different populations and ethnicities are required to validate the results obtained in this study.

**Keywords:** HLA-DQB1, HLA-DRB1, human leukocyte antigen, vesicoureteral reflux.