مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۱، شماره ۱ ، صفحات ۸۰ تا ۸۹، (سال ۱۳۸۲)

بررسی ارتباط آلل‌های HLA-DRB1, DQA1, DQB1 با بیماران سل ریوی به روش PCR-ssp

دکتر حسین جباری***، دکتر علی‌اکبر امیرزرگر*، دکتر محبوبه حاجی‌عبدالباقی**، دکتر بهروز نیک‌بین*، فریده خسروی*، دکتر محمدحسین نیک‌نام*، بیتا انصاری*، بتول مرادی*، دکتر علیرضا یلدا**

* عضو هیئت علمی، گروه ایمونولوژی (بخش ایمونوژنتیک)، دانشگاه علوم پزشکی تهران
** عضو هیئت علمی گروه بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری

چکیده

مقدمه: بیماری سل گسترده‌ترین اپیدمی عفونی است که دنیای امروز دچار آن است. تخمین زده می‌شود که یک سوم جمعیت دنیا با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده شده‌اند که منجر به ۱۰-۸ میلیون مورد جدید سل و سه میلیون مرگ در سال در سراسر دنیا می‌شود. مطالعات اپیدمیولوژیک بیانگر این است که ترکیب ژنتیکی بعضی از گروه‌های نژادی ممکن است زمینه‌ای مساعد در ابتلاء به عفونت و پیشرفت آن ایجاد کند.

مواد و روشها: در این مطالعه که بصورت تحلیلی و به روش مورد- شاهد (Case-Control) صورت گرفته است سعی شد تا نسبت به شناسایی فاکتورهای ژنتیک مستعد کننده (و/ یا محافظت کننده) در بیماران و افراد کنترل ایرانی در ابتلاء به بیماری سل اقدام گردد. بدین منظور تعداد ۴۰ نفر بیمار سل ریوی خلط مثبت درمان شده یا در حال دریافت درمان به همراه ۱۰۰ نفر شاهد فاقد بیماری‌های زمینه‌ای و نیز سل ریوی از نظر فراوانی آلل‌های HLA class II- (شامل DQB_1 و DQA_1 و HLA-DRB) به روش PCR-ssp برای اولین بار در ایران مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج حاصله بیانگر نقش مستعد کننده آلل HLA-DQA_1 *0101 و نقش محافظت‌کننده آلل‌های DQA1*0501, DQA_1*0301 از لوکوس DQA_1، نقش مستعد کننده آلل HLA-DRB_1*07 و نیز نقش محافظت کننده آلل HLA-DRB*52 (که یک Public Antigen محسوب می‌شود) از لوکوس DRB با P. value های اصلاح شده (Pc) از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. در این مطالعه از لوکوس DQB_1 آلل محافظت کننده یا مستعد کننده آماری معنی‌داری یافت نشد. همچنین تفاوت معنی‌دار آماری هاپلوتیپی در گروه بیمار و شاهد بدست نیامد.

نتیجه گیری و توصیه ها: با توجه به نتایج بدست آمده آلل‌های HLA-DR/DQ می‌توانند در ابتلا و یا مقاومت در برابر ابتلاء به بیماری نقش بارزی داشته باشند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

مقدمه

توبرکلوزیس یا طاعون سفید (white plague) گسترده‌ترین اپیدمی عفونی است که دنیای امروز دچار آنست. یک سوم جمعیت جهان (۱/۷ بیلیون نفر) به میکروب سل آلوده‌اند. تعداد موارد آلوده شده در سال ۱۹۹۰، ۷/۵ میلیون نفر و در سال ۱۹۵۵، ۸/۵ میلیون نفر بوده است و پیش‌بینی می‌شود در بین سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۵ به ترتیب به ۱۰/۲ و ۱۱/۹ میلیون نفر برسد که افزایش بیشتر از ۵۷٪ را در پنج سال نشان می‌دهد. حتی خوش‌بینانه‌ترین سناریوها نیز تخمین می‌زنند که در دوره ده ساله ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۹ بیش از ۸۸ میلیون نفر دچار سل شده و احتمالاً بیش از سی میلیون نفر بعلت آن مرده‌اند. در واقع مرگ سالانهٔ سه میلیون نفر، بیشترین میزان مرگ ناشی از هر عامل عفونی به تنهایی است و بیش از ۲۵٪ علل مرگ قابل پیشگیری را در کشورهای در حال توسعه تشکیل می‌دهد. هر چند سل بر مردم همه دنیا اثر می‌گذارد، توزیع آن خیلی غیر یکنواخت است و بیشترین بار مرگ و میر ناشی از آن بر دوش ملت‌های کمتر توسعه یافته است (۱).

در ایران، طبق آمار سالیانهٔ موارد سل مرکز مدیریت بیماریهای وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در سال ۱۳۷۹، ۱۰۳۰۱ مورد جدید سل و ۳۲۶ مورد عود سل گزارش گردیده است.

شواهد متعددی حاکی از نقش مهم عوامل ژنتیک در ایجاد بیماری سل هستند (۲،۳). این شواهد شامل تفاوت‌های شیوع در ابتلاء به عفونت و بیماری در گروه‌های نژادی انسانی، گونه‌های حیوانی و شیوع هماهنگ بیماری در دوقلوهای یکسان و بالاخره تجمع فامیلی در بیماری سل می‌باشند (۳).

از آنجا که آنتی‌ژن‌های کلاس II سیستم HLA نقش مهمی در تعدیل پاسخ ایمنی دارند، ارتباط احتمالی بین آنتی‌ژن‌های HLA و بیماری سل در جمعیت‌های متعددی مطالعه شده است (۲). از طرفی چون سیستم HLA پلی‌مورفیک‌ترین سیستم بیولوژیک است، از اختلافات نژادی- جمعیتی تأثیر می‌گیرد (۴،۵).

نتایج حاصل از مطالعات انجام شده ضمن تأیید وجود ارتباطی قابل توجه (۷،۶،۲،۳،۸،۹،۱۰)، تفاوت‌های این ارتباط و همراهی آن با آلل مختلف سیستم HLA در میان نژادهای مختلف را به تنوع ژنتیک و قومی مربوط می‌دانند (۳،۸). قدرت این ارتباط در بیماران مبتلا به سل مقاوم به درمان قویتر از بیماران مبتلا به سل با پاسخ درمانی مناسب و نیز جمعیت نرمال بوده است (۳).

تعیین ارتباط بیماری سل با آلل‌های سیستم HLA، می‌تواند در پیشگویی میزان خطر ابتلاء، الگوهای ایمونیزاسیون و مسافرت‌ها، پاسخ به درمان، استفاده از رژیم‌های درمانی مؤثرتر (۳) و یا استفاده از سایر modality های درمانی مانند اینترفرون گاما به همراه درمان‌های معمولی سل در افراد دارای این آلل (۳،۱۱) در جهت ایجاد پاسخ سریعتر درمانی و نیز شناخت راه‌های ایجاد مقاومت و تولید داروهای مؤثرتر در درمان سل (۱۲) و انجام کیموپروفیلاکسی هدفمند بکار آید.

از میان انواع تکنیک‌های آزمایش HLA (سرولوژی، PCR, RFLP و ...) روش PCR، حساس‌ترین روش بوده، قادر است آلل‌های مشابه با اختلاف حتی یک نوکلئوتید را نیز از هم تشخیص دهد و از حساسیت و ویژگی و سادگی بیشتری برخوردار است و می‌تواند تمامی آلل‌ها و زیر گروه‌ها را از همدیگر افتراق دهد (۳) اما روش سرولوژی در مقایسه با روش PCR بعنوان مثال در تایپینگ HLA-DR تا ۲۵٪ موارد، اختلاف نشان می‌دهد (۲،۳).

مروری بر بررسی‌های گذشته

در مطالعه انجام شده در سال ۱۹۹۶ توسط آقای Posplov و همکارانش در انستیتو مرکزی تحقیقات سل مسکو، ارتباطی بین آنتی‌ژن‌های HLA کلاس I (C, B, A) در گروه‌های انتخاب شده جهت پژوهش بدست نیامد (۸) اما این قبیل مطالعات در مورد ارتباط آنتی‌ژن‌های HLA کلاس II با بیماری سل نتایج قطعی‌تری داشته است (۷،۶،۲،۳،۸،۹).

آقای Narayanan و همکارانش در مرکز تحقیق سل هند در سال ۱۹۹۸، ارتباط ژن‌های موتانت هموزیگوت MBP را با استعداد ابتلاء به سل ریوی مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی همچنین با روش سرولوژی آنتی ژنهای HLA در ۱۸۴ بیمار با سل ریوی و ۹۰ مورد کنترل سالم بررسی شدند و ارتباطی قابل توجه بین سل ریوی و $HLA\text{-}DR_2$ بدست آمد ($P= 0.005$; $OR= 2.2$) که این ارتباط مثبت، مستقل از ارتباط MBP با سل ریوی بود (۹).

آقای Goldfeld و همکارانش در سال ۱۹۹۸، توزیع آنتی‌ژن‌های HLA و دو آلل ژن مربوط به TNF-α را در دو دسته

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

افراد مبتلا به سل و افراد فاقد تاریخچهٔ سل در روستاهای شرق کامبوج مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصله بیانگر ارتباط قابل توجه آلل HLA-DQB$_1$*0503 (P= ٠/٠٤) با استعداد به T.B. در بیماران مبتلا به سل است (٦).

همچنین آقای Teran-Escandon و همکارانش در سال ١٩٩٩ در انستیتو ملی بیماری‌های تنفسی در مکزیک با استفاده از روش PCR-SSOP به بررسی HLA کلاس II در چهار گروه متفاوت پرداختند. در این مطالعه ٩٥ فرد سالم، ٥٠ بیمار مبتلا به سل ریوی فاقد ضعف ایمنی، ١٥ مورد بیمار HIV$^+$ (٥) (مرحلهٔ IVc طبق دسته‌بندی CDC) سل ریوی، ٢٧ بیمار HIV$^+$ فاقد علائم (مرحله II طبق دسته‌بندی CDC) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصله بیانگر افزایش قابل توجه شیوع آلل‌های DQA$_1$*0101, (OR;16.8, 95%CI: 2.38-16.08) DQA$_1$*0501 (OR; 16.16, 95%CI; 2.44-17.71) و DRB$_1$*1501 ((OR: 92; 95%CI: 2.71-23.14)) در بیماران مبتلا به سل فاقد ضعف ایمنی در مقایسه با افراد سالم بود (٢).

در مقابل افزایش فراوانی آلل های DRB1*1501 آنتی‌ژن‌های DR4 و DR8 به میزان قابل توجهی در بیماران مبتلا به سل نسبت به افراد سالم کاهش داشت به ترتیب: (OR: 0.18, 95%CI: 0.003-0.92), (OR: 0.10, 95%CI: 0.10-0.74) (٢).

در مطالعه دیگری که در سال ١٩٩٥ و توسط آقای Rajalingam و همکارانش در دهلی‌نو در هند انجام شد، ١٥٣ بیمار مبتلا به سل فعال ریوی و ٢٨٩ نفر کنترل سالم به هر دو روش سرولوژی و PCR-SSOP مورد آزمایش قرار گرفتند، نتایج حاصله بیانگر شیوع HLA-DR2 به میزان ٥١٪ در بیماران سل ریوی در مقابل ٣٦/٣٪ از کنترل سالم به روش PCR-SSOP بود. (X^2= 8.9; Pc= 0.024; RR= 1.8) از میان Subtype های HLA-DR$_2$ نیز، بیشترین آلل‌ها را DRB$_1$*1501 (٦٦٪ در گروه کنترل در مقابل ٧٧٪ در گروه بیماران سل ریوی) و DRB$_1$*1502 (٢٨٪ در گروه کنترل در مقابل ٣٧٪ در گروه بیماران سل ریوی) بخود اختصاص داده بودند.

مسئله جالب توجه دیگر این بود که شیوع HLA-DR$_2$ به میزان قابل توجهی در میان گروه بیماران با شکست درمان (Drug failure) (٦٨٪) در مقایسه با گروه کنترل (٣٦,٣٪) بیشتر بود (X^2= 19.2,Pc= 0.000012) که RR بسیار بالای ٣/٧ را بدست داد (٣).

آقای Ravikumar M. و همکارانش در سال ١٩٩٩ در شهر Madhurai در جنوب هند به منظور بررسی پلی‌مورفیسم آلل‌های HLA-DRB1, DQB$_1$, DQA1, DPB$_1$ ، ١٢٦ بیمار سل ریوی خلط مثبت و ٨٧ کنترل اندمیک را مورد مطالعه قرار دادند. در یک گروه ٦٣ نفره بیماران به همراه کنترل، DPB$_1$*04 نقش محافظت کننده داشت، (OR= 0.45, 95% CI: 0.21-0.95 , P= 0.036, PF = 0.26). نتایج حاصله نشان می‌دهد که HLA-DRB$_1$*1501 و DQB$_1$*0601 استعداد ابتلا به سل ریوی خلط مثبت را افزایش می‌دهند و DPB$_1$*04 نقش محافظت کننده در ابتلا به این بیماری دارد هاپلوتایپ DRB$_1$*1501, DQB$_1$*0601 در بیماران بیشتر از کنترل (P<0.05, X^2= 8.84) بود (١٣).

در بررسی بعمل آمده توسط آقای Dubaniewicz A و همکارانش در دانشگاه گدانسک (Gdansk) هلند به منظور آنالیز ارتباط بین آلل‌های HLA-DRB$_1$ و سل ریوی (P.T.B.) به روش PCR-SSP در جمعیت لهستانی، ٣١ بیمار و ٥٨ داوطلب سالم مورد بررسی قرار گرفتند. این مطالعه نشان داد که وفور آلل‌های DRB1*16 در بین بیماران با P.T.B. مورد آزمایش قرار گرفته بیشتر از گروه سالم بودند (P< 0.05) (١٤).

در مطالعه انجام شده توسط آقای Wang J. و همکاران در چین به منظور بررسی ارتباط ژن‌های HLA-DRB$_1$ با سل ریوی و همچنین ارتباط بین آلل‌های HLA-DRB$_1$ و علائم بالینی بیماران با سل ریوی به روش PCR-SSP در ٧٤ بیمار و ٩٠ کنترل سالم، افزایش قابل توجه در وفور آلل DRB$_1$*15 در مقایسهٔ بین دو گروه یافت شد (34.3%vs 17.0%; Pc< 0.05, RR= 2.91).

در مجموع، در مطالعات مختلف انجام شده در هند، چین، اندونزی، مصر، روسیه، هنگ‌کنگ، مکزیک و در سیاهان شمال آمریکا، ارتباط بیماری سل با آلل‌های مختلف HLA به تأیید رسیده است که این مسئله به ساختار ژنتیک جمعیت‌های مختلف مربوط است. جمعیت انتخاب شده برای بررسی در مطالعه آقای Rajalingam و همکارانش از هندوهای شمال هند، از ایالت‌های پنجاب، هاریانا، اوتارپرادرش و دهلی بودند که از نژاد مهاجران آریایی فلات ایران به این نقطه از هند می‌باشد (٣).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

متأسفانه تاکنون در ایران در زمینه بررسی ارتباط بیماری سل با است و تنها یک مطالعه منتشر نشده به روش سرولوژی توسط انستیتو پاستور انجام شده است.

هدف این مطالعه، مقایسه فراوانی ژن‌های الل‌های مختلف کلاس II سیستم HLA (HLA-DRB, DQA_1, DQB_1) در بیماران مبتلا به سل در بیمارستان امام خمینی (ره) تهران و گروه شاهد سالم به روش PCR-SSp است.

مواد و روشها

با توجه به نوع مطالعه که از نوع مورد- شاهد (case-control) می‌باشد، نمونه‌گیری به صورت غیراحتمالی و متوالی انجام گرفت بدین ترتیب که تمامی بیماران مراجعه کننده سل ریوی خلط مثبت مراجعه کننده به درمانگاه‌ها و بخش‌های بیمارستان امام خمینی (ره) و مراکز بهداشتی- درمانی تحت پوشش دانشگاه تهران پس از آگاهی از نحوه مطالعه و کسب رضایت نسبت به تکمیل پرسشنامه و بررسی معیارهای پذیرش و خروج از مطالعه اقدام به نمونه‌گیری گردید.

به منظور انجام این مطالعه از بیماران سل ریوی خلط مثبت فوق که در معرض خطر ابتلاء به بیماری ایدز قرار نداشتند مقدار آلل‌های سیستم HLA به روش PCR مطالعه‌ای صورت نگرفته ۵ تا ۱۰ سی‌سی خون حاوی ۰/۱۰ میلی‌لیتر EDTA ۵٪ در دو لوله جداگانه جمع‌آوری شد نمونه‌ها در همان روز در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند پس از اتمام نمونه‌گیری و جمع‌آوری کل نمونه‌های مورد نیاز، نمونه‌های خون بتدریج از فریزر بیرون آورده شده و با روش Salting out (۱۵)، Genomic DNA استخراج گردید و با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر OD(Optical density) قرائت گردید و سپس غلظت هر کدام از نمونه‌ها تعیین گردید.

۴ میکروگرم از نمونه‌های DNA استخراج شده در چاهک (well) ها با Master mix (MM) و Primer ها مخلوط شدند و به آنها آنزیم Taq-polymerase اضافه و به سطح آنها جهت جلوگیری از تبخیر روغن اضافه شد. محلول حاصل در ترموسیکلر (Thermocycler) قرار گرفت. ترموسیکلر برای ۱۰ دور افزایش و کاهش سیکلیک (۹۴°C به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۵°C به مدت ۶۰ ثانیه) و سپس ۲۰ دور دیگر افزایش و کاهش سیکلیک دما در درجات متفاوت (۹۴°C به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۴°C به مدت ۵۰ ثانیه و ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه) تنظیم گردید.

جدول شماره ۱- فراوانی آلل‌های $HLA\text{-}DQA_1$ در بیماران سل ریوی و گروه کنترل ایرانی

HLA-DQA1 alleles	گروه شاهد (n= ۸۲)		گروه کنترل (n= ۲۰۰)		P. value	OR (95% CI)
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد		
0101*	۱۱	۱۳/۴	۱۱	۵/۵	۰/۰۴۴۹	۲/۶۶۲ (۱/۱۵-۶/۴۱۴)
0102(2,1)*	۱۳	۱۵/۹	۲۹	۱۴/۵	۰/۹۱۵۷	۱/۱۱ (۰/۵۴۵-۲/۲۶۳)
0103*	۱۳	۱۵/۹	۲۱	۱۰/۵	۰/۲۹۲۶	۱/۶۰۶ (۰/۷۶۲-۳/۳۸۵)
0104*	۸	۹/۸	۱۹	۹/۵	۰/۹۴۷۱	۱/۰۳ (۰/۴۳۲-۲/۴۵۷)
—	۰	۰	۰	۰	—	—
0201*	۱۱	۱۳/۴	۱۵	۷/۵	۰/۱۸۲۷	۱/۹۱۱ (۰/۸۳۷-۴/۳۶۰)
0301(1-3)*	۳	۳/۷	۲۶	۱۳/۰	۰/۰۳۳۲	۰/۲۵۴ (۰/۰۷۵-۰/۸۶۵)
0401*	۱	۱/۲	۱	۰/۵	*۰/۴۹۷۷	۲/۴۵۷ (۰/۱۵۲-۳۹/۷۸)
0501 (1,2)-5*	۲۱	۲۵/۶	۷۸	۳۹/۰	۰/۰۴۵۳	۰/۵۳۹ (۰/۳۰۴-۰/۹۵۴)
06011*	۱	۱/۲	۰	۰	*۰/۲۹۰۸	۷/۳۸ (۰/۲۹۷-۱۸۳/۲)
—	۰	۰	۰	۰	—	—

* with fisher's exact test; others with X^2 test (with Yates correction).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

جدول شماره ٢- فراوانی آلل‌های HLA-DQB1 در بیماران سل ریوی و گروه کنترل ایرانی

HLA-DQB1 alleles	گروه شاهد (n= ٨٢)		گروه کنترل (n= ٢٠٠)		P. value	OR (95% CI)
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد		
0201*	٩	١١/٢	٣٨	١٩/٠	٠/١٦٤٤	٠/٥٤٠ (٠/٢٤٨-١/١٧٧)
0301 (1,2)*	١٩	٢٣/٨	٦٢	٣١/٠	٠/٢٨٧٩	٠/٦٩٣ (٠/٣٨٢-١/٢٥٨)
0302*	٣	٣/٨	١١	٥/٥	*٠/٧٦٣٤	٠/٦٦٩ (٠/١٨٢-٢/٤٦٦)
0303 (1,2)*	٣	٣/٨	٨	٤/٠	*١/٠	٠/٩٣٥ (٠/٢٤٢-٣/٦١٩)
0401*	٢	٢/٥	٢	١/٠	*٠/٣٢٢٧	٢/٥٣٨ (٠/٣٥١-١٨/٣٥)
0501 (1-4)*	٢٥	٣١/٣	٤٤	٢٢/٠	٠/١٤١٨	١/٦١٢ (٠/٩٠٣-٢/٨٧٦)
0601 (1-3)*	١٠	١٢/٥	١٤	٧/٠	٠/٢١١٧	١/٨٩٨ (٠/٨٠٦-٤/٤٧٢)
060 (2,3)*	٣	٣/٨	١٧	٨/٥	٠/٢٥٥٤	١/٠٧٤ (٠/٢٧١-٤/٢٦٣)
060 (4-5)*	١	١/٣	٤	٢/٠	*١/٠	٠/٦٢٠ (٠/٠٦٨-٥/٦٣٩)
—	٠	٠	٠	٠	—	—

* with fisher's exact test; others with κ^2 test (with Yates correction).

جدول شماره ٣- فراوانی آلل‌های HLA-DRB در بیماران سل ریوی و گروه کنترل ایرانی

HLA-DRB1 alleles	گروه شاهد (n= ٨٢)		گروه کنترل (n= ٢٠٠)		P. value	OR (95% CI)
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد		
0101*	١٠	١٢/٢	١١	٥/٥	٠/٠٩١	٢/٣٨٦ (٠/٩٧٢-٥/٨٦١)
15*	١١	١٣/٤	٢٤	١٢/٠	٠/٨٩٧٩	١/١٣٦ (٠/٥٢٩-٢/٤٤٢)
16*	٩	١١/٠	١٣	٦/٥	٠/٣٠٣٩	١/٧٧٣ (٠/٧٢٧-٤/٣٢٨)
0301*	٤	٤/٩	٢٠	١٠/٠	٠/٢٤٤١	٠/٤٦٢ (٠/١٥٣-١/٣٩٥)
0302*	٠	٠	٠	٠	—	—
04*	٤	٤/٩	٢١	١٠/٥	٠/٢٠١٤	٠/٤٣٧ (٠/١٤٥-١/٣١٦)
07*	١٣	١٥/٩	١٣	٦/٥	٠/٠٢٥٢	٢/٧١٠ (١/١٩٧-٦/١٣٥)
08*	١	١/٢	٣	١/٥	*١/٠	٠/٨١١ (٠/٠٨٣-٧/٩١٤)
0901*	٠	٠	٦	٣/٠	*٠/١٨٥٨	٠/١٨١ (٠/٠١٠-٣/٢٥٩)
1001*	٤	٤/٩	٨	٤/٠	*٠/٧٥٠١	١/٢٣١ (٠/٣٦٠-٤/٢٠٧)
11*	١٥	١٨/٣	٥٠	٢٥/٠	٠/٢٨٩٧	٠/٦٧٢ (٠/٣٥٢-١/٢٨٠)
12*	٠	٠	٣	١/٥	*٠/٥٥٨٧	٠/٣٤٢ (٠/٠١٧-٦/٧٠)
1301*	٦	٧/٣	٩	٤/٥	*٠/٣٨٣٢	١/٦٧٥ (٠/٥٧٧-٤/٨٦٩)
1302*	١	١/٢	٤	٢/٠	*١/٠	٠/٦٠٥ (٠/٠٦٧-٥/٤٩٨)
1303*	١	١/٢	١	٠/٥	*٠/٤٩٧٧	٢/٤٥٧ (٠/١٥٢-٣٩/٧٨)
1305*	٠	٠	٣	١/٥	*٠/٥٥٨٧	٠/٣٤٢ (٠/٠١٧-٦/٧٠)
1401*	٤	٤/٩	١١	٥/٥	*١/٠	٠/٨٨١ (٠/٢٧٢-٢/٨٥٢)
—	٠	٠	٠	٠	—	—
52*	٢٢	٢٦/٨	١٠٠	٥٠/٠	٠/٠٠٠٦	٠/٣٦٧ (٠/٢٠٩-٠/٦٤٣)
53*	١٦	١٩/٥	٣٧	١٨/٥	٠/٩٧٦٣	١/٠٦٨ (٠/٥٥٦-٢/٠٥١)
51*	١٨	٢٢/٠	٣٧	١٨/٥	٠/٦١٧٩	١/٢٣٩ (٠/٦٥٨-٢/٣٣٤)

* with fisher's exact test; others with κ^2 test (with Yates correction).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

جدول شماره ۴- مقایسه فراوانی آلل‌های HLA-class II که در ابتلاء و یا مقاومت به بیماری سل مؤثرند

آلل‌ها	Increased/ Decreased risk
DQA_1*0101 Frequency	13.4% v.s. 5.5%
OR	۲/۶۶۲
95% CI	۱/۱۵-۶/۴۱۴
DQA_1*0301 (1-3) Frequency	3.7% v.s. 13.0%
OR	۰/۲۵۴
95% CI	۰/۰۷۵-۰/۸۶۵
DQA_1*0501 (1,2) Frequency	25.6% v.s. 39.0%
OR	۰/۵۳۹
95% CI	۰/۳۰۴-۰/۹۵۴
DRB_1*07 Frequency	15.9% v.s. 6.5%
OR	۲/۷۱۰
95% CI	۱/۱۹۷-۶/۱۳۵
DRB_1*52 Frequency	26.8% v.s. 50.0%
OR	۰/۳۶۷
95% CI	۰/۲۰۹-۰/۶۴۳

سپس نمونه‌ها از ترموسیکلر خارج گردید و در هر چاهک تعبیه شده بر روی ژل آگاروز به میزان ۸ میکرولیتر از نمونهٔ مورد نظر قرار داده شد. سپس در تانک الکتروفورز با استفاده از بافر 1X-TAE به مدت ۱۶ دقیقه و با ولتاژ ۱۴۰ ولت، الکتروفورز انجام شد سپس ژل جهت رنگ‌آمیزی به درون محلول اتیدیم بروماید به مدت ۳-۲ دقیقه منتقل گردید و پس از شسته شدن توسط محلول آب مقطر (D/W)، باندهای تشکیل شده از آلل‌های مختلف HLA به همراه اینترنال کنترل‌های مربوطه با استفاده از (U.V.Transilluminator) خوانده شد. تفسیر نتایج بر اساس وجود و یا عدم وجود باندهای اختصاصی جهت آلل‌های مختلف صورت گرفت (۱۶).

پس از تعیین فراوانی فنوتیپ آلل‌ها در جمعیت مورد و شاهد، با استفاده از تست X^2 و تصحیح Yates (Yates correction)، اختلاف آماری اثبات گردید. سپس با بکارگیری برنامه‌های کامپیوتری (Window's 95, Epi-info, STATA) و با استفاده از مدل Logistic (Risk factor) به نقش آلل‌های HLA در ایجاد/ جلوگیری از سل ریوی خلط مثبت پاسخ داده شد. Odds Ratios (OR) با حدود اطمینان 95% (CI) محاسبه شدند، سپس نتایج نهایی به شکلی مناسب در جداول ۴-۱ ارائه گردیده است.

یافته‌ها

محدودهٔ سنی بیماران شرکت کننده در این مطالعه از ۱۴ تا ۸۶ سال (با متوسط سنی ۵۳/۶ سال) متغیر بود، اما بیشترین گروه سنی مورد مطالعه در محدوده سنی ۷۰-۶۱ سال و به تعداد ۱۱ نفر (۸/۲۶٪) و کمترین آن متعلق به دو گروه ۴۰- ۳۱ و ۹۰- ۸۱ سال، هر کدام به تعداد دو نفر (۴/۹٪) بود.

۲۲ نفر (۵۳/۷٪) از گروه بیماران به جنس مؤنث و ۱۹ نفر (۴۶/۳٪) به جنس مذکر تعلق داشتند (شکل شماره ۶).

در بررسی آلل‌های HLA-DQA$_1$, HLA-DRB (B1, B51, B52, B53) و HLA-DQB$_1$ به روش PCR-SSP یافته‌های زیر بدست آمد:

در لوکوس HLA-DQA$_1$، آلل DQA1*0101 با فراوانی ۱۱ مورد (۱۳/۴٪) در گروه بیمار و با فراوانی ۱۱ مورد (۵/۵٪) در گروه شاهد و با P.value به میزان ۰/۰۴٪ بعنوان آلل مستعد کننده به بیماری سل شناخته شد [OR: 2.662 (95% CI; 1.15-6.414)].

آلل DQA$_1$*0301(103) با فراوانی ۳ مورد (۳/۷٪) در گروه بیمار و ۲۶ مورد در گروه شاهد و با P.value به میزان ۰/۰۳٪ بعنوان آلل محافظت کننده در مقابل ابتلا به بیماری سل شناخته شد [OR: 0.254 (95% CI; 0.075-0.865)].

همچنین آلل DQA$_1$*0501 (1-5) با فراوانی ۲۱ مورد (۲۵/۶٪) در گروه بیمار و ۷۸ مورد (۳۹٪) در گروه شاهد و با P.value به میزان ۰/۰۴٪ بعنوان آلل محافظت کننده در مقابل بیماری سل شناخته شد [OR: 0.539 (95% CI; 0.304-0.954)] (جدول شماره ۱).

با مراجعه به مقادیر 95% CI, OR, P.value آلل‌های لوکوس HLA-DQB$_1$ معلوم شد که تفاوت معنی‌دار آماری در هیچیک از آلل‌های این لوکوس در گروه بیمار و شاهد مشاهده نشده است (جدول شماره ۲).

در لوکوس HLA-DRB، آلل DRB$_1$*07 با ۱۳ مورد (۱۵/۹٪) در گروه بیمار و ۱۳ مورد (۶/۵٪) در گروه شاهد و با P.value به میزان ۰/۰۲۵۲ بعنوان آلل مستعد کننده به بیماری سل

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

شناخته شد [P= 0.0252, OR: 2.710 {95% CI: 1.197-6.135)].

آلل DRB52 با ٢٢ مورد (٢٦/٨٪) در گروه بیمار و ١٠٠ مورد (٥٠٪) در گروه شاهد و با P= 0.0006 بعنوان آلل محافظت کننده در مقابل بیماری سل شناخته شد [P= 0.0006, OR: 0.367 (0.209-0.643)]. همانطور که می‌دانیم این آلل بعنوان یک Public Antigen محسوب می‌شود (جدول شماره ٣).

در بررسی هاپلوتیپ (Haplotype) های مختلف بیماران و گروه شاهد نتایج زیر بدست آمد:

بیشترین فراوانی هاپلوتیپ در گروه بیماران متعلق به هاپلوتیپ DQA_1*0501, DQB_1*0301 و DRB_1*11 با ١٢ مورد (١٥٪) بود. این هاپلوتیپ همچنین فراوان‌ترین هاپلوتیپ در گروه شاهد با ٥٠ مورد (٢٥٪) بود [P= -.0967, OR: 0.530 (95% CI: 0.265-1.028)].

همچنین هاپلوتیپ HLA-DRB_1*0301, DQA_1*0501, DQB_1*0201 در گروه بیمار ٣/٨٪ و در گروه کنترل ١٠٪ بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین هاپلوتیپ HLA-DRB_1*0101, DQA_1*0101, DQB_1*05 در گروه بیمار ١٠٪ و در گروه کنترل ٥/٥٪ بود ولی همچنان از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

در مقایسه آماری یافته‌های آللی و هاپلوتیپی گروه‌های شاهد و بیمار، بر حسب مورد از تست‌های X^2 و Fisher's exact استفاده گردیده است که در پانویس هر جدول مشخص شده است.

بحث

مقایسه نتایج حاصل از مطالعه حاضر با مطالعات قبلی در سایر ملل (ذکر شد در مرور بررسی‌های گذشته) بیانگر نکات جالب زیر است:

در این مطالعه از مجموعه آلل‌های لوکوس HLA-DQA_1 آلل DQA_1*0101 بعنوان آلل مستعد کننده به بیماری سل شناخته شد [P= 0.04, OR: 2.66 (95% CI: 1.15-6.414)]. وجود این ارتباط در مطالعات قبلی انجام شده به روش سرولوژی و یا PCR تنها در مطالعه آقای D. Teran Escandon و همکاران که در سال ١٩٩٩ در مکزیک و به روش PCR انجام شده است، گزارش گردیده است [OR: 6.18 (95% CI: 2.38-16.08)] و در هیچیک از مطالعات مشابه تفاوت معنی‌دار آماری در رابطه با این آلل گزارش نگردیده است. متأسفانه در این زمینه قبلاً مطالعه‌ای در ایران صورت نگرفته است تا بتوان در این مورد مقایسه نمود.

در بررسی حاضر، آلل DQA1*0501 [P= 0.04, OR: 0.539 (95% CI: 0.304-0.954)] و همچنین آلل DQA_1*0301 [P= 0.03, OR: 0.254 (95%CI: 0.075-0.865)] بعنوان آلل‌های محافظت کننده در مقابل بیماری سل از لوکوس HLA-DQA_1 شناخته شدند.

در مورد DQA1*0501 (1-5) در مطالعه آقای D. Teran Escandon و همکاران [Case: 34.00% v.s. Controls: 46.31%] و نیز آقای Anne E.Goldfeld و همکاران [Case: 16.3% v.s. Controls: 14.7% P= 0.60] که به ترتیب در مکزیک و شرق کامبوج انجام شده است، تفاوت آماری معنی‌داری بدست نیامده است و در مورد سایر مطالعات نیز اشاره‌ای نشده است.

در مورد آلل DQA1*0301 (1-3) نیز مطالعه آقای D. Teran Escandon و همکاران [Case: 30.0% v.s. Controls: 48.42%] و نیز آقای Anne E. Goldfeld و همکاران [Case: 12.8% v.s. Controls: 16.3%] با تفاوت آماری معنی‌داری همراه نبوده است و در سایر مطالعات نیز به آن اشاره‌ای نشده است.

نکته قابل توجه این است که در اکثر مطالعات مشابه، آلل‌های لوکوس HLA-DQB_1 بصورت‌های متناقضی بعنوان آلل‌های پیشگیری کننده و یا بعنوان آلل‌های مستعد کننده سل شناخته شده‌اند. بعنوان مثال در مطالعه آقای D.Teran Escandon و همکاران در مکزیک در سال ١٩٩٩ و به روش PCR آلل DQB_1*0501 بعنوان آلل مستعد کننده به سل [P< 0.001, OR: 6.16 (95% CI: 2.44-17.71)] و آلل DQB_1*0402 بعنوان آلل محافظت کننده از بیماری سل شناخته شده است [OR: 0.18 (95% CI: 0.003-0.92)]. در مطالعه آقای Anne E. Goldfeld و همکاران به روش PCR آلل DQB_1*0503 بعنوان آلل مستعد کننده به بیماری سل شناخته شد (P= 0.04). همچنین در مطالعه آقای Zhao Y. و همکاران در سال ٢٠٠١ در جمعیت قوم Han در شمال چین و به روش

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

PCR، آلل DQB_1*05 بعنوان آلل محافظت کننده از بیماری سل در بیماران دیابتی شناخته شد (۱۷).

[7.17% v.s. 19.24%, RR: 0.30,]

با مقایسه مطالعه حاضر با مطالعات دیگر مشخص می‌شود که آلل (4-1) DQB_1*05 هر چند در این مطالعه تفاوت معنی‌دار آماری نداشته است اما بعنوان شایع‌ترین آلل در گروه بیماران شناخته شده است [31.3% v.s. 22%, P= 0.1418, OR: 1.612 (95% CI: 0.903-2.876)] و بنابراین آللی است که overpresent شده است هر چند از نظر آماری این مسئله قابل توجه و معنی‌دار نبوده است. آلل DQB_1*0402 که در مطالعات دیگران بعنوان آلل محافظت کننده شناخته شده است، در این مطالعه مورد شناسایی قرار نگرفته است اما آلل نزدیکتر به آن یعنی DQB_1*0401 تفاوت معنی‌دار آماری نداشته است و بعکس سایر مطالعات در گروه بیماران حتی درصد بیشتری را بخود اختصاص داده است [2.5% v.s. 1% P= 0.3227, OR: 2.538 (0.351-18.35)] آلل DQB_1*0301 با ۳۱٪ فراوانی در گروه کنترل و ۲۳/۸٪ فراوانی در گروه شاهد، underpresent شده است [P= 0.2879, OR: 0.693 (95% CI: 0.382-1.058)] (جدول شماره ۲).

در مطالعه حاضر از لوکوس ژنی HLA-DRB، آلل DRB_1*07 بعنوان آلل مستعد کننده به بیماری سل شناخته شد [P= 0.0252, OR: 2.710 (95% CI: 1.197-6.135)] و آلل DRB_{52} بعنوان آلل محافظت کننده در مقابل بیماری سل شناخته شد [P= 0.0006, OR: 0.367 (95% CI: 0.209-0.643)].

نتایج مطالعات مشابه قبلی در مورد این لوکوس (HLA-DRB) که به روش‌های سرولوژی و PCR انجام شده است، متفاوت می‌نماید.

بعنوان مثال در مطالعه آقای L. E. Posplov و همکاران (۱۹۹۶، در روسیه و به روش سرولوژی)، آلل $HLA-DR_2$ به صورت marginal [κ^2= 7.37, P< 0.01, Pc> 0.05, RR: 3.32)] و آلل $HLA-DR_{w53}$ بصورت معنی‌دار [κ^2= 18.28, P< 0.001, Pc< 0.05, RR: 11.88] بعنوان آلل مستعد کننده به بیماری سل شناخته شده است. در مطالعه آقای Bothamley و همکاران در سال ۱۹۸۹ و به روش سرولوژی در اندونزی نیز آلل $HLA-DR_2$ بعنوان آلل مستعد کننده شناسایی شده است. همین‌طور در مطالعه آقای Singh S.P.N در هندیهای شمال این کشور به روش سرولوژی در سال ۱۹۸۳، $HLA-DR_2$ بعنوان آلل مستعد کننده و $HLA-DRW_6$ بعنوان آلل محافظت کننده معلوم شده است.

در مطالعه انجام شده در ششم قومیت مختلف شوروی سابق به روش سرولوژی از $HLA-DR_2$ بعنوان آلل محافظت کننده یاد شده است. در مطالعه آقای Anne E. Goldfeld و همکاران در شرق کامبوج و به روش PCR در سال ۱۹۹۸، آلل‌های HLA-DR_{15}, -DR_{16} (مجموعاً HLA-DR2) افزایش کمی در بیماران سل داشته‌اند اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.

با توجه به نتایج مطالعات انجام شده قبلی و مقایسهٔ آن با مطالعه حاضر، استعداد ابتلا به بیماری سل در مطالعات قبلی در حضور آلل $HLA-DRB_1$*1501 افزایش یافته است اما وقتی این آلل بصورت ترکیبی با آلل $HLA-DRB_1$*16 (مجموعاً تحت عنوان $HLA-DR_2$) مورد مقایسه قرار گرفته است، تفاوت معنی‌دار آماری بدست نیامده است و یا اگر تفاوتی مشاهده شده است عمدتاً از طریق روش‌های سرولوژی (و نه PCR) بوده است. نتایج حاصله از آلل‌های HLA-DR2 در این مطالعه به قرار زیر است:

$HLA-DR_{15}$: 13.4% v.s. 12%, P= 0.8979,
OR: 1.136 (95% CI: 0.529-2.442)
$HLA-DR_{16}$: 11% v.s. 6.5%, P= 0.3039, OR: 1.773 (95% CI: 0.727-4.328)

بنابراین آلل‌های DR15 و DR16 (مجموعاً DR2) در مطالعه حاضر overpresent شده است اما این مسئله فاقد اهمیت معنی‌دار آماری است.

هر دو آلل $HLA-DRB_1$*1501 (در مطالعه آقای Ravikumar M. و همکاران) و $HLA-DRB_1$*16 (در مطالعه آقای Dubaniewicz A. و همکاران) همانطور که قبلاً اشاره آن رفت بعنوان آلل مستعد کننده شناسایی شده‌اند اما مجموع آلل $HLA-DR_{15}$ با $HLA-DR_{16}$ این تأثیر را از نظر آماری (و نه واقعی) فاقد اهمیت جلوه داده است.

آلل $HLA-DRB_1$*13 که در مطالعه آقای Dubaniewicz A. و همکاران نقش محافظت کننده داشته است اما در ترکیب با $HLA-DRB_1$*14 (مجموعاً تحت عنوان $HLA-DR_6$) ان تفاوت آماری را از دست داده است، در مطالعه حاضر بصورت Subtype های [$HLA-DRB_1$*1401,2, $HLA-DRB_1$ *130 1,2,3,5] مورد بررسی قرار گرفته است اما هیچکدام از آنها با تفاوت معنی‌دار آماری همراه نبوده است هر چند فراوانی آلل HLA-

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

DRB_1*1401 (کـه در مطالعـات قبلی از آن بعنوان آلل محافظت کننده یاد شده است) در گروه شاهد بیشتر است اما از نظر آماری معنی‌دار نیست.

هـر چـند در مطالعـه حاضـر بروز آلل HLA-DRB_1*04 در گـروه بـیمار و شـاهد تفـاوت آمـاری معنـی‌داری نداشـته اسـت (بـرخلاف مطالعـات قبلـی انجـام شـده مشـابه که نقش محافظت کنندگـی داشـته است)، اما درصد فراوانی آن در گروه شاهد بیشتر از گروه بیمار بوده است.

[4.9% v.s. 5.5%, P= 0.2014, OR: 0.437 (95% CI: 0.145-1.316)]

و ایـن مسـئله بـا مطالعـات قبلـی هـم راسـتایی (و نـه کـاملاً همخوانـی) دارد. همیـن مسـئله در مـورد HLA-DR_8 کـه در مطالعـات قبلـی نقـش محافظت کننده برای آن قائل شده‌اند، مانند HLA-DR_4 اما نه به دقت آن مشاهده می‌شود.

[1.2% v.s. 1.5%, P= 1.0, OR: 0.811 (95% CI: 0.083-7.914)]

نکته قابل توجه و جالب، تفاوت آماری معنی‌داری است که در مطالعه حاضر از نقش محافظت کنندگی آلل [P= 0.0006, OR: 367 (95% CI: 0.209-0.643)] HLA-DR52 و نقـش مستعد کننـده آلـل HLA-DR_7 در ابتـلا بـه بیمـاری سـل اسـت [P= 0.0252, OR: 2.710 (95% CI: 1.179-6.135)] کـه در مطالعـات دیگـر یـا از آنهـا ذکـری به میان نیامده است و یا اینکه تفـاوت آمـاری معنی‌داری از آنها بدست نیامده است. بعنوان مثال Anne E. Goldfeld و همکـاران در مطالعه خود به روش PCR در سـال ۱۹۹۸ در روسـتاهـای شـرق کامبـوج تفـاوت HLA-DRB_1*0701 (7.7% v.s. 9.2%, P= 0.81) و HLA-DR_{52} را در گـروه بـیماران و کنـترل فـاقد ارتباط آماری معنی‌دار دانسته‌اند.

در مطالعه حاضر عدم توازن بروز هاپلوتیپی معنی‌دار آماری در گروه‌های بیمار و کنترل شناسایی نشد.

در مطالعـه آقـای D.Teran Escandion و همکـاران که قبلاً نـیز بـه آن اشـاره گـردیده اسـت نیز عدم توازن بروز هاپلوتیپی با تفـاوت معنـی‌دار آمـاری گـزارش نشده است، اما در مطالعه آقای Ravikumar M. و همکـاران فراوانی هاپلوتیپ HLA-DRB_1*1501-DQB_1*0601 بصورت معنی‌داری از نظر آماری در گروه بیماران بیشتر بوده است.

[Patients: 1324/ 10,000, X^2= 27.7 v.s. Controls: F-404/ 10.000, X^2= 8.84]

در مطالعـه حاضـر امـا فراوانـی هاپلوتیـپ مذکور هر چند در گـروه بـیماران Overpresent شـده اسـت، اما این مسئله تفاوت معنـی‌دار آمـاری نداشـته اسـت [8.8% v.s. 6%, P= 0.5731, OR: 1.502 (95% CI: 0.569-3.966)].

از طـرفـی هاپلـوتیـپ [P= 0.0967, OR: 0.530 (95% CI:0.265-0.058)]DRB1*11 و DQA1*0501 و DQB1 *0301 underpresent شـده اسـت، در حـالـی کـه هاپلوتیـپ HLA-DRB_1*15-DQA1*0102$_1$-DQB_1*0501 overpresent [P= 0.1428, OR: 3.857 (95% CI:0.632-23.54)] شده است.

در مجموع با جمع‌بندی یافته‌های این مطالعه و مطالعات مشابه قبلـی در قومیـت‌هـا و ملیـت‌هـای مختلف مـی‌تـوان دریافت که آلـل‌های مستعد کننده یا محافظت کننده بویژه در لوکوس HLA-DQA_1 بـا سـایر مطالعـات و بدون تأثیرپذیری از قومیت یا ملیت همخوانـی دارد. در مـورد لوکـوس HLA-DQB_1 ایـن همخوانی ضعیف است و بویژه در مورد لوکوس HLA-DRB نتایجی کاملاً متفاوت و جالـب و گـاه همخـوان بدست آمده است اما در مورد توازن فروانی هاپلوتیپ‌ها حداقل با یکی از دو مطالعه در دسترس همخوانی دارد.

با تقدیر و تشکر از:

معاونـت محـترم پژوهشـی دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت تأمین اعتبار طرح شمارهٔ ۹۲۹ (بودجه پژوهشی این تحقیق توسط معاونت پژوهشی دانشگاه از محل طرح پژوهشی شماره ۹۲۹ تأمین اعتبار گردیده است).

جناب آقای دکتر حاجی‌حسینی که زحمت آنالیز آماری و رسم نمودارها را متقبل شدند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]

منابع

1. Peter M, Small and Uzi M. Selcer. Hunter's Tropical medicin and emerging infectious diseases. 2000.

2. David Terdn-Escandon, Luis Teran ortiz, Angel Camare Olvera, Georgia Gonzalez-Avila, Miguel Angel Vaca-Ma Julio Granados, Moises Selman. Human-Leukoeyte Antigen Associated Susceptibility to pulmonary Tuberculosis. CHEST 1999; 115: 428-433.

3. R. Raialingam NK, Mebra RC, Jain VP, Myneedu and J.N. Pande. Polymerase chain Reaction-Base Sequence-Specific Oligonucleotide Hybridization Analysis of HLA-Class 11 Antigens in pulmonary Tuberculosis: Relevance to chemotherapy and Disease Severity. J I D 1996; 173: 669-679.

4. Ian Mackay, Fred S.Rosen. The HLA System: First of two parts). The New England Journal of Medicine, 2000; 343: 702-709.

5. Ian Mackay, Fred S.Rosen. The HLA System: Second of two parts). The New England Journal of Medicine 2000; 343:782-786.

6. Anne E. Goldfeld, Julio C. Delgado, Sok Thim, M. Vivian Bozon, Adele M. Uiglialoro, David Turbay, Carol Cohen, Edmond J. Yunis. Association of an HLA-DQ Allel With Clinical Tuberculosis. JAMA 1998; 279: 226-228.

7. P.W. Roche, C.G. Feng and W.J. Britton. Human T-Cell epitope on the Mycobacterium Tuberculosis secreted protein (N1TP64): Scand J Immunol. 1996; 43: 662-670.

8. L.E. Pospelov, A.G. Matrakshin, L.N. Chernouse, K.N. Tsoi, K.I. Afanavsjev, G.A. Rubstova, V.W. Yeremyev. Association of various genetic markers with tuberculosis and other lung diseases in tuvinian children. Tubercle and Lung Disease 1996; 77:77-80

9. P.Selvaraj, P.R. Narayanan, A.M. Reetha. Association of functional mutant homozygotes of the mannose binding protein gen with susceptibility to pulmonary T.B. in India. Tubercle and Lung Disease 1999; 79: 221-227.

10. S.K. Schwander, E.Sada, M.Torrese, D.Escobedo, J.G. Sierra, S.AAt and E.A. Rich. T-Lymphocytic and immature Alveolitis in Active pulmonary tuberculosis. J I D. 1996; 173: 1267-1272.

11. Joan Stephenson. Findings on Host Resistance Genes for infectious Diseases are Pointing the way to Drugs, Vaccines. J AM A 1996; 275: 1464-1467.

12. Adrian V.S. Hill; Principles and practice of infectious diseases. U.S.A., Churchill Livingstone 2000.

13. Ravikumar M, Dheenadhayalan V, Rajaram K, Lakshmi S.S, Kumaran P.P, Parmasivan CN, Balakrishnan K, Pitchappan RM, Association of HLA-DRBI, DQB] and DPB, alleles with pulmonary tuberculosis in south India. Tubercle and Lung Disease 1999; 79(5): 309-17.

14. Dubaniewicz A, Lewko B, Mszkowska G, Zamorska B, Stepinski J. Molecular subtypes of HLA-DR antigens in pulmonary tuberculosis int. J Infect Dis 2000; 4(3): 129-133.

15. Miller SA, Dykes DD. A simple salting out proceducer for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acid Res 1988; 16: 12-15.

16. Olerup O, Zeherauist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. Tissue antigen 1992; 39: 225-235.

17. Wang J, Song C, Wang S. Association of HLA-DRB1 genes with pulmonary tuberculosis. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 2001 May; 24(5): 302-305.

۱۸- آمار سالیانه موارد سل ۱۳۷۹ (اصلاحیه) مرکز مدیریت بیماری‌های وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی تهران ۱۳۷۹.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-18]