

بررسی فراوانی آلل‌های HLA-DRB1, DQB1 در بیماران مبتلا به سل قومیت سیستانی در مقایسه با افراد کنترل سالم

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵ ویرایش: ۱۳۹۶/۰۳/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۶/۰۳/۳۱

زمینه و هدف: بیماری سل یک معضل بهداشتی در سراسر جهان است. حدود یک سوم جمعیت جهان با این باکتری آلوده هستند که تنها ۱۰٪-۵٪ افراد به سل فعال مبتلا می‌باشند. عوامل ژنتیکی و محیطی در ابتلا به این بیماری نقش مهمی ایفا می‌کنند. مطالعات نشان داده است که آلل‌های Human leukocyte antigen (HLA) در دفاع میزبان در این بیماری اهمیت زیادی دارند. در این مطالعه فراوانی آلل‌های HLA در گروه شاهد و کنترل مورد بررسی و مقایسه آماری قرار گرفته‌اند.

روش بررسی: این مطالعه به صورت تحلیلی و به روش مورد-شاهد (Case-control) انجام گرفته است. این بررسی از مهر ماه تا اسفند ۱۳۹۴ تعداد ۵۰ بیمار مبتلا به سل از نژاد سیستانی و ۱۰۰ نفر گروه کنترل سالم سیستانی ساکن استان گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز بهداشت انتخاب شدند، نمونه‌ها پس از انتقال به تهران آزمایشگاه ایمونوژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، استخراج ژنومیک DNA و سپس آلل‌های HLA کلاس II (HLA-DRB1 و HLA-DQB1) با روش PCR-SSP تعیین گردید.

یافته‌ها: فراوانی آلل DRB1*04:03 ($P=0/01$)، DRB1*14:04 ($P=0/01$)، DQB1*06:01 ($P=0/004$) و DQB1*02:01 ($P=0/003$) DRB1*07 در بیماران به طور معناداری از گروه کنترل بیشتر بود، در حالی که فراوانی آلل‌های DRB1*07 ($P=0/003$) در گروه کنترل بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان می‌دهد که احتمالاً برخی از آلل‌های HLA کلاس II در استعداد ابتلا به سل و برخی دیگر در محافظت از بیماری در قومیت سیستانی نقش دارند. با این حال مطالعه نقش آلل‌های HLA در اقوام و جمعیت‌های مختلف ضروری است.

کلمات کلیدی: مطالعه مورد-شاهد، آنتی‌ژن HLA، توبرکلوزیس، ایران، PCR، پلی‌مورفیسم.

صادق بنی‌عقیل^۱

غلامرضا نیکبخت بروجنی^۱

حسن تاج‌بخش^۱

عاطفه اسماعیل‌نژاد^۲

علی اکبر امیرزرگر^{۳*}

۱- گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۳- مرکز تحقیقات ایمونولوژی مولکولی و گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان دکتر قریب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی مولکولی، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی.

تلفن: ۸۹۵۳۰۰۹-۰۲۱

E-mail: amirzara@tums.ac.ir

مقدمه

و محیطی در ابتلا به سل، بروز بیماری در مناطق مختلف بسیار متفاوت است. تقریباً یک سوم جمعیت جهان با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده هستند، و حدود ۹/۴ میلیون مورد جدید و ۱/۷ میلیون مرگ در سال گزارش شده است.^۱

پاتوژن توبرکلوزیس یک فرایند پیچیده است که به طور کامل شناسایی نشده است. عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در انسان ممکن است به وسیله پاسخ میزبان ریشه‌کن شده یا پنهان و نهفته باقی

توبرکلوزیس، که عامل آن مایکوباکتریوم توبرکلوزیس است، یک مشکل مهم بهداشتی جهان است. بیماری سل حتی بیشتر از ایدز نگران‌کننده است چون از طریق تنفس منتقل می‌شود، با این حال در سال‌های اخیر به دلیل شیوع بیشتر ایدز بروز سل نیز در جوامع صنعتی و نیمه‌صنعتی رو به گسترش است. با توجه به نقش عوامل اپی‌ژنتیکی

سیستم سازگاری نسجی اصلی (MHC) که در انسان سیستم آنتی‌ژن لکوسیت انسان (HLA) نامیده می‌شود نقش مهمی در کنترل پاسخ ایمنی ایفا می‌کند.^{۱۰} ناحیه HLA در انسان بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ قرار دارد که به سه ناحیه ژنی HLA کلاس I, II, III تقسیم می‌شود. ناحیه HLA کلاس II آنتی‌ژن‌های DR, DQ و DP را کد می‌کند. ژن‌های HLA کلاس I و II گلیکوپروتئین‌هایی را در سطح سلول کد می‌کنند که نقش در هموستاز پاسخ ایمنی به وسیله عرضه پپتید آنتی‌ژن به گیرنده TCD4 و TCD8 ایفا می‌کند.^{۱۱} ژن HLA-DRB1 و DQB1- بیشترین تنوع را در HLA کلاس II دارد، این تنوع آلی موجب تنوع در اتصال به پپتیدهای آنتی‌ژنیک و ارتباط با حساسیت یا مقاومت در تعدادی از بیماری‌های عفونی از جمله توبرکلوزیس است.^{۱۲}

همانطور که پیش‌تر بیان شد یک سوم جمعیت جهان با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده‌اند، اما تنها ۱۰٪-۵ در طول عمر خود به بیماری فعال مبتلا می‌شوند. مطالعات زیادی پیشنهاد می‌کند که فاکتورهای ژنتیکی میزبان واکنش بین میزبان و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را تعیین می‌کند، هر چند ژن‌های اختصاصی موثر و تنوع آن‌ها که گسترش بیماری را کنترل می‌کند به‌طور کامل شناسایی نشده است. مطالعات مختلف بر روی نقش فاکتورهای ژنتیکی و استعداد ابتلا به سل نشان داده شده است که ژن‌های کدکننده CD14, TLR2,4, C-type lectins, سایتوکین‌ها و کموکین‌ها و گیرنده‌های آن (MMP-1, MCP-1, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ), VDR (Proton-coupled divalent metal ion transporters), SLC11A1 و تنوع در این ژن‌ها در حساسیت یا مقاومت بر ضد توبرکلوزیس موثر است.^{۱۴}

در این مطالعه ارتباط بین آنتی‌ژن‌های سیستم HLA کلاس II و استعداد ابتلا و یا مقاومت در برابر توبرکلوزیس در قومیت سیستانی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بود، که از مهرماه تا اسفند ۱۳۹۴ در دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز بهداشت استان گلستان انجام شد. نحوه نمونه‌گیری مطالعه به‌صورت تصادفی بود. در گروه بیمار

بماند، به‌طوری‌که تنها ۱۰٪ از اشخاص آلوده در طی زندگی به سمت بیماری پیش می‌روند.^۲

بیماری سل شایعترین علت مرگ ناشی از بیماری‌های عفونی تک عاملی در دنیا است و از نظر بار جهانی در رتبه دهم قرار دارد، پیش‌بینی می‌شود این بیماری تا سال ۲۰۲۰ همچنان در این جایگاه بماند و یا تا رتبه هفتم بالا رود.^۳ بیش از ۹۰٪ موارد بیماری و مرگ ناشی از سل در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهد.^۴

طی ۴۵ سال گذشته به‌دلیل افزایش سطح بهداشت عمومی، واکسیناسیون گسترده در نوزادان و بزرگسالان و تشخیص و درمان به‌موقع و موثر، روند نزولی بروز بیماری در کشور ایران مشهود است، به‌طوری‌که از ۱۴۲ مورد در صد هزار نفر در ۱۳۴۲ تا ۱۳/۴ در صد هزار نفر در سال ۱۳۸۷ کاهش داشته است.^۵ میزان بروز و شیوع بیماری سل در مناطق حاشیه‌ای کشور به‌دلیل مهاجرت‌های زیاد و گاهی غیر قانونی مثل سیستان و بلوچستان، خراسان، مازندران، گیلان، آذربایجان غربی و شرقی، اردبیل، کردستان، خوزستان و سواحل جنوبی دریای خزر بالاست درحالی‌که در قسمت‌های مرکزی کشور پایین‌تر است.^۶ در میان استان‌های یاد شده، استان گلستان و سیستان و بلوچستان بیشترین میزان‌های بروز و شیوع را در کشور دارا هستند.^۷

در استان سیستان و بلوچستان با توجه به همسایگی با دو کشور افغانستان و پاکستان شیوع این بیماری به میزان بالایی مشاهده می‌شود. میزان بروز موارد جدید سل بر حسب جمعیت تحت پوشش در گزارش سال ۱۳۸۷ و ۸۸ دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به‌ترتیب ۳۶/۷ و ۳۶/۶ در صد هزار نفر بود.^۸ در بررسی سل ریوی در قومیت‌های مختلف استان گلستان بیشترین بروز انواع سل بدون در نظر گرفتن ملیت بیماران در استان گلستان طی سال‌های ۱۳۸۷ تا ۸۲، ۲۷۷۳ فرد مبتلا به سل (۳۶ مورد در صد هزار نفر) گزارش شدند، با این‌که سیستانی‌ها و بلوچ‌ها ۲۰٪ کل جمعیت استان را دربر می‌گیرند ولی بیش از ۵۰٪ کل موارد سل را به خود اختصاص دادند.^۸

بررسی‌ها نشان می‌دهد حساسیت به بیماری سل در افراد مختلف متفاوت است، هر فردی که در معرض این باکتری قرار می‌گیرد لزوماً به بیماری مبتلا نمی‌شود و حتی دوره و سیر بیماری نیز در میان افراد مختلف متفاوت است. این تفاوت می‌تواند ناشی از فاکتورهای محیطی و اپی‌ژنتیکی و عوامل زمینه‌ای و ژنتیکی میزبان باشد.^۹

ولتاژ ۱۴۰ ولت الکتروفورز شد. باندهای تشکیل شده اختصاصی آلل‌های HLA به‌همراه کنترل داخلی توسط (LMS-20E, upland CA UVP Ultraviolet transilluminator (USA 91786 خوانده شد. تفسیر نتایج بر اساس وجود یا عدم وجود باندهای اختصاصی جهت آلل‌های مختلف صورت گرفت.

فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 و DQB1 در گروه بیماران و گروه کنترل تعیین شد و فراوانی آلل در دو گروه با استفاده از نرم‌افزار EPI info و با انجام Chi square test و Fisher exact test مورد آنالیز قرار گرفت و odd ratio با ضریب اطمینان ۹۵٪ (Confidence interval) محاسبه و $P < 0/05$ تعیین گردید.

یافته‌ها

در بررسی آلل‌های لکوس HLA-DRB در بیماران مبتلا به سل، آلل DRB1*04:03 و DRB1*14:04 هر کدام با فراوانی ۳ مورد (۳٪) در گروه بیماران در برابر صفر در گروه کنترل با $P=0/01$ به‌عنوان آلل مستعدکننده شناسایی شد.

در این بررسی آلل‌های DRB1*07، ۳۵ مورد (۱۷/۵٪) در گروه کنترل در برابر ۴ مورد (۴٪) در گروه بیماران، با $P=0/0003$ به‌عنوان آلل محافظت‌کننده شناسایی شد. در بررسی آلل‌های جایگاه ژنی HLA-DQB1 در بیماران و گروه کنترل مشخص شد آلل DQB1*0201 ($P=0/009$) و DQB1*0601 ($P=0/004$) به‌ترتیب با فراوانی ۲۰ مورد (۲۰٪) و ۱۷ مورد (۱۷٪) در بیماران نقش مستعدکننده داشت.

در مقایسه آماری آلل‌های گروه بیمار و گروه شاهد بر حسب مورد از Chi square test و Fishers exact test استفاده شد. نتایج در جدول ۱ و ۲ نشان داده شد.

بحث

آلل‌های HLA به‌علت تنوع بالا و نقش آن در پاسخ ایمنی، به عوامل پاتوژن، به‌عنوان یک مارکر بیولوژیک مهم در حساسیت و مقاومت در ابتلا به بیماری‌های عفونی مطرح می‌باشد، ارتباط HLA و حساسیت به بیماری در بیش از ۵۰۰ بیماری از جمله توبرکلوزیس

تعداد ۵۰ نفر مبتلا به سل از قومیت سیستانی با میانگین ۵۶ سال (۶۳-۲۲ سال)، نسبت مرد به زن پنج به یک می‌باشد که بیماری آنان با روش مستقیم و کشت تایید شده و در مرکز بهداشت دارای پرونده بوده، انتخاب شدند، همچنین در گروه شاهد ۱۰۰ نفر اهداکننده سالم سیستانی ۶۵-۱۸ سال و میانگین ۴۰ سال، نسبت مرد به زن هشت به دو انتخاب شدند. گروه کنترل (اهداکنندگان) فاقد هر گونه بیماری عفونی بودند، بیماران شامل افراد خلط مثبت که فاقد هر گونه سابقه بیماری اتوایمیون، بدخیمی و بیماری نقص ایمنی اکتسابی ایدز انتخاب شدند، تشخیص بیماری اولیه بیماری بر اساس علائم بالینی و رادیوگرافی ریه و تست توبرکولین انجام شد، برای تایید از روش باکتریولوژی (میکروسکوپی و کشت) استفاده شد.

پس از آگاهی این افراد از نحوه مطالعه و کسب رضایت‌نامه فردی و معاینه پزشک نمونه‌گیری از دو گروه انجام شد. از هر فرد ۱۰ ml خون در دو لوله EDTA به‌صورت جدا جمع‌آوری شد. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در دمای 70°C نگهداری شد.

پس از تکمیل نمونه‌گیری و جمع‌آوری نمونه، پس از انتقال به تهران در آزمایشگاه ایمونوژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، نمونه‌های خون به‌تدریج از فریزر خارج شد و با روش Salting out، DNA ژنومیک از لکوسیت‌های خون محیطی در مجاورت پروتیین کیناز استخراج شد. جذب نوری (Optical density) DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر UV در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ nm قرائت شد و سپس غلظت هر کدام از نمونه‌ها تعیین گردید. $3-4\ \mu\text{g}$ از DNA استخراج شده از هر نمونه با Master mix حاوی پرایمرهای اختصاصی و کنترل داخلی مخلوط شدند، به مخلوط فوق آنزیم Taq پلیمرز اضافه گردید.

نمونه آماده در ترموسایکلر قرار داده شد. ترموسایکلر برای دو دقیقه در 94°C و سپس ۱۰ دور افزایش و کاهش سیکلیک (94°C) به مدت ۱۰ ثانیه و 65°C به مدت ۶۰ ثانیه (سپس ۲۰ دور افزایش و کاهش سیکلیک دما در درجات متفاوت 94°C به مدت ۱۰ ثانیه، 64°C به مدت ۵۰ ثانیه و 72°C به مدت ۳۰ ثانیه تنظیم گردید و در پایان در 72°C به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند.

پس از خروج نمونه‌ها از ترموسایکلر مقدار $6\ \mu\text{l}$ از نمونه در چاهک تعبیه شده در ژل آگارز ۲٪ حاوی DNA stain فلورسنت قرار داده شد. سپس ژل در تانک الکتروفورز در بافر به‌مدت ۲۵ دقیقه و با

جدول ۱: فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 در بیماران توپرکلوزیس در مقایسه با گروه کنترل سالم

Chi-square test	P**	OR (CI %۹۵)	گروه بیمار		گروه کنترل		HLA alleles
			N=۵۰		N=۱۰۰		
			درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۲/۲۰	۰/۱۳۸	۰/۴۸(۰/۱۶-۱/۳۸)	۶	۶	۱۱	۲۲	DRB1*01
۰/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰(۰/۴۵-۲/۳۳)	۱۵	۱۵	۱۵	۳۰	DQB1*03
۱/۳۳	۰/۲۵	۰/۸۷(۰/۱-۱/۹۱)	۶	۶	۶/۲	۱۲	DRB1*04
۶/۱۲	۰/۰۱	۳/۱۳(۲/۴۷-۳/۹۶)	۳	۳	۰	۰	DRB1*04:03
۱۲/۶۳	۰/۰۰۳	۰/۱۶(۰/۰۵-۰/۵۲)	۴	۴	۱۷/۵	۳۵	DRB1*07*
۲/۰۵	۰/۱۵	۰/۰۰(۰/۰۰-۳/۰۸)	۰	۰	۲	۴	DRB1*08
۰/۲۱	۰/۶۴	۱/۳۶(۰/۳-۵/۸۲)	۴	۴	۳	۶	DRB1*09
۰/۷۸	۰/۳۷	۰/۳۹(۰/۰۲-۳/۵۷)	۱	۱	۲/۵	۵	DRB1*10
۰/۰۸	۰/۷۷	۱/۱۳(۰/۴۵-۲/۷۸)	۱۱	۱۱	۱۰	۲۰	DRB1*11
۰/۵	۰/۴۸	۰/۷۳(۰/۲۸-۱/۸۶)	۹	۹	۱۱/۵	۲۳	DRB1*13
۲/۰۵	۰/۱۵	۰/۰۰(۰/۰۰-۳/۰۸)	۰	۰	۱/۸	۴	DRB1*13:05
۰/۵	۰/۴۷	۰/۰۰(۰/۰۰-۳۵/۲۰)	۰	۰	۰/۵	۱	DRB1*14
۶/۱۲	۰/۰۱	۳/۱۳(۲/۴۷-۳/۹۶)	۳	۳	۰	۰	DRB1*14:04*
۰/۱۶	۰/۶۹	۱/۱۷(۰/۵۱-۲/۶۸)	۱۴	۱۴	۱۲/۵	۲۵	DRB1*15
۰/۰۵	۰/۸	۱/۱۶(۰/۲۷-۴/۷۱)	۴	۴	۳/۵	۷	DRB1*16

* آلل‌های حساسیت و مقاومت، ** آزمون آماری: Chi-square test, P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

OR=Odd Ratio, CI=Confidence Interval

جدول ۲: فراوانی آلل‌های HLA-DQB1 در بیماران توپرکلوزیس در مقایسه با گروه کنترل سالم

Chi-square test	P**	OR (CI %۹۵)	گروه بیمار		گروه کنترل		HLA alleles
			N=۵۰		N=۱۰۰		
			درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۶/۸۲	۰/۰۰۹	۲/۶۷(۱/۱۸-۶/۰۴)	۲۰	۲۰	۱۰	۲۰	DQB1*0201*
۰/۲	۰/۸۸	۰/۶۴(۰/۳۷-۲/۳۵)	۱۰	۱۰	۱۰/۶	۲۱	DQB1*0301
۰/۰۳	۰/۸۷	۰/۹۲(۰/۳۱-۲/۶۵)	۷	۷	۷/۵	۱۵	DQB1*0302
۰/۲۶	۰/۶۱	۰/۷۱(۰/۱۴-۳/۰۵)	۳	۳	۳/۴	۹	DQB1*0303
۰/۷۸	۰/۳۷	۰/۳۹(۰/۰۲-۳/۵۷)	۱	۱	۲/۵	۵	DQB1*0401
۱/۲	۰/۲۷	۱/۴۸(۰/۶۹-۳/۱۹)	۲۰	۲۰	۱۵/۶	۳۰	DQB1*0501
۸/۱۳۳	۰/۰۰۴	۳/۱۶(۱/۳۶-۷/۷۳)	۱۷	۱۷	۶/۸	۱۴	DQB1*0601*

* آلل‌های حساسیت و مقاومت، ** آزمون آماری: Chi-square test, P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

OR=Odd Ratio, CI=Confidence Interval

DRB1*15 در Sahariya tribe در شمال مرکزی هند، چین، لهستان، آلل DRB1*14 در ایران و پرتغال، DRB1*16 در لهستان آلل

گزارش شده است.^{۱۵} تعدادی از مطالعات گویای از ارتباط مثبت بین آلل‌های HLA-DRB1 در مناطق مختلف است، برای نمونه آلل

DQB1*0201 و DQB1*0601 به‌عنوان آلل مستعدکننده شناخته شد و نتایج در آلل DQB1*0601 با نتایج مطالعه Kim, Ravi kumar و مطالعه متآنالیز He مشابه است،^{۲۹-۳۱} در حالی که در آلل DQB1*0201 در بررسی سایر مطالعات همخوانی با این نتایج مشاهده نشد.

علت تفاوت فنوتیپ در مطالعات مختلف می‌تواند به تفاوت عرضه اپی‌توپ‌های مختلف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس که به‌وسیله HLA عرضه می‌شود مرتبط باشد، بنابراین تفاوت و تشابه در نتایج مطالعه حاضر و ارتباط آلل‌های HLA در قومیت سیستانی ایران با سایر نقاط با توجه به ویژگی‌های ژنتیکی افراد و جمعیت مورد مطالعه امری طبیعی و مورد انتظار است. هدف این نوع مطالعات، به‌دست آوردن نشانه‌هایی برای پیشگویی ابتلا عفونت با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌باشد، با توجه به اینکه تمام افرادی که آلوده می‌شوند به سمت بیماری پیش نمی‌روند احتمالاً عوامل ژنتیک میزبان از جمله آلل‌های HLA می‌تواند دخیل باشد که در این مطالعه این نکته تا حدودی روشن گردید، از این رو پیشنهاد می‌گردد مطالعات ژنتیکی در افراد سالم مناطق مختلف ایران و گروه‌های مختلف جمعیتی و نژادی برای تعیین ژنوتیپ آن‌ها صورت گیرد زیرا در صورت نبود الگوی ژنومی جمعیت‌ها نمی‌توان ارتباط دقیق پارامترهای ژنتیکی با بیماری‌ها را بیان کرد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی حضور آلل‌های مجتمع پذیرش بافتی کلاس II، MHC (Class II) در بیماران مبتلا به سل در قومیت سیستانی ایران در سال ۱۳۹۴ است با مساعدت دانشگاه علوم پزشکی گلستان، در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و همکاری بخش ایمنوژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه تهران انجام شد.

DRB1*04 در سوریه و آلل DRB1*07 در ایران.^{۱۶-۳۳} همچنین تعدادی از مطالعات نشان‌دهنده ارتباط منفی آلل‌های HLA-DRB1 در مناطق مختلف است، در اندونزی آلل DRB1*1202، در لهستان آلل DRB1*13 و آلل DRB1*04 نقش محافظت کننده دارد.^{۲۴،۲۱} با توجه به نتایج مختلف حاصل از مطالعات در مناطق مختلف مطالعات متآنالیز جهت بررسی ارتباط آلل‌های HLA و خطر توبرکلوزیس انجام شده است. در مطالعه Contini و همکاران آلل 14،*15،*16،*17،*18،*19،*20،*21،*22،*23،*24،*25،*26،*27،*28،*29،*30،*31،*32،*33،*34،*35،*36،*37،*38،*39،*40،*41،*42،*43،*44،*45،*46،*47،*48،*49،*50،*51،*52،*53،*54،*55،*56،*57،*58،*59،*60،*61،*62،*63،*64،*65،*66،*67،*68،*69،*70،*71،*72،*73،*74،*75،*76،*77،*78،*79،*80،*81،*82،*83،*84،*85،*86،*87،*88،*89،*90،*91،*92،*93،*94،*95،*96،*97،*98،*99،*100،*101،*102،*103،*104،*105،*106،*107،*108،*109،*110،*111،*112،*113،*114،*115،*116،*117،*118،*119،*120،*121،*122،*123،*124،*125،*126،*127،*128،*129،*130،*131،*132،*133،*134،*135،*136،*137،*138،*139،*140،*141،*142،*143،*144،*145،*146،*147،*148،*149،*150،*151،*152،*153،*154،*155،*156،*157،*158،*159،*160،*161،*162،*163،*164،*165،*166،*167،*168،*169،*170،*171،*172،*173،*174،*175،*176،*177،*178،*179،*180،*181،*182،*183،*184،*185،*186،*187،*188،*189،*190،*191،*192،*193،*194،*195،*196،*197،*198،*199،*200،*201،*202،*203،*204،*205،*206،*207،*208،*209،*210،*211،*212،*213،*214،*215،*216،*217،*218،*219،*220،*221،*222،*223،*224،*225،*226،*227،*228،*229،*230،*231،*232،*233،*234،*235،*236،*237،*238،*239،*240،*241،*242،*243،*244،*245،*246،*247،*248،*249،*250،*251،*252،*253،*254،*255،*256،*257،*258،*259،*260،*261،*262،*263،*264،*265،*266،*267،*268،*269،*270،*271،*272،*273،*274،*275،*276،*277،*278،*279،*280،*281،*282،*283،*284،*285،*286،*287،*288،*289،*290،*291،*292،*293،*294،*295،*296،*297،*298،*299،*300،*301،*302،*303،*304،*305،*306،*307،*308،*309،*310،*311،*312،*313،*314،*315،*316،*317،*318،*319،*320،*321،*322،*323،*324،*325،*326،*327،*328،*329،*330،*331،*332،*333،*334،*335،*336،*337،*338،*339،*340،*341،*342،*343،*344،*345،*346،*347،*348،*349،*350،*351،*352،*353،*354،*355،*356،*357،*358،*359،*360،*361،*362،*363،*364،*365،*366،*367،*368،*369،*370،*371،*372،*373،*374،*375،*376،*377،*378،*379،*380،*381،*382،*383،*384،*385،*386،*387،*388،*389،*390،*391،*392،*393،*394،*395،*396،*397،*398،*399،*400،*401،*402،*403،*404،*405،*406،*407،*408،*409،*410،*411،*412،*413،*414،*415،*416،*417،*418،*419،*420،*421،*422،*423،*424،*425،*426،*427،*428،*429،*430،*431،*432،*433،*434،*435،*436،*437،*438،*439،*440،*441،*442،*443،*444،*445،*446،*447،*448،*449،*450،*451،*452،*453،*454،*455،*456،*457،*458،*459،*460،*461،*462،*463،*464،*465،*466،*467،*468،*469،*470،*471،*472،*473،*474،*475،*476،*477،*478،*479،*480،*481،*482،*483،*484،*485،*486،*487،*488،*489،*490،*491،*492،*493،*494،*495،*496،*497،*498،*499،*500،*501،*502،*503،*504،*505،*506،*507،*508،*509،*510،*511،*512،*513،*514،*515،*516،*517،*518،*519،*520،*521،*522،*523،*524،*525،*526،*527،*528،*529،*530،*531،*532،*533،*534،*535،*536،*537،*538،*539،*540،*541،*542،*543،*544،*545،*546،*547،*548،*549،*550،*551،*552،*553،*554،*555،*556،*557،*558،*559،*560،*561،*562،*563،*564،*565،*566،*567،*568،*569،*570،*571،*572،*573،*574،*575،*576،*577،*578،*579،*580،*581،*582،*583،*584،*585،*586،*587،*588،*589،*590،*591،*592،*593،*594،*595،*596،*597،*598،*599،*600،*601،*602،*603،*604،*605،*606،*607،*608،*609،*610،*611،*612،*613،*614،*615،*616،*617،*618،*619،*620،*621،*622،*623،*624،*625،*626،*627،*628،*629،*630،*631،*632،*633،*634،*635،*636،*637،*638،*639،*640،*641،*642،*643،*644،*645،*646،*647،*648،*649،*650،*651،*652،*653،*654،*655،*656،*657،*658،*659،*660،*661،*662،*663،*664،*665،*666،*667،*668،*669،*670،*671،*672،*673،*674،*675،*676،*677،*678،*679،*680،*681،*682،*683،*684،*685،*686،*687،*688،*689،*690،*691،*692،*693،*694،*695،*696،*697،*698،*699،*700،*701،*702،*703،*704،*705،*706،*707،*708،*709،*710،*711،*712،*713،*714،*715،*716،*717،*718،*719،*720،*721،*722،*723،*724،*725،*726،*727،*728،*729،*730،*731،*732،*733،*734،*735،*736،*737،*738،*739،*740،*741،*742،*743،*744،*745،*746،*747،*748،*749،*750،*751،*752،*753،*754،*755،*756،*757،*758،*759،*760،*761،*762،*763،*764،*765،*766،*767،*768،*769،*770،*771،*772،*773،*774،*775،*776،*777،*778،*779،*780،*781،*782،*783،*784،*785،*786،*787،*788،*789،*790،*791،*792،*793،*794،*795،*796،*797،*798،*799،*800،*801،*802،*803،*804،*805،*806،*807،*808،*809،*810،*811،*812،*813،*814،*815،*816،*817،*818،*819،*820،*821،*822،*823،*824،*825،*826،*827،*828،*829،*830،*831،*832،*833،*834،*835،*836،*837،*838،*839،*840،*841،*842،*843،*844،*845،*846،*847،*848،*849،*850،*851،*852،*853،*854،*855،*856،*857،*858،*859،*860،*861،*862،*863،*864،*865،*866،*867،*868،*869،*870،*871،*872،*873،*874،*875،*876،*877،*878،*879،*880،*881،*882،*883،*884،*885،*886،*887،*888،*889،*890،*891،*892،*893،*894،*895،*896،*897،*898،*899،*900،*901،*902،*903،*904،*905،*906،*907،*908،*909،*910،*911،*912،*913،*914،*915،*916،*917،*918،*919،*920،*921،*922،*923،*924،*925،*926،*927،*928،*929،*930،*931،*932،*933،*934،*935،*936،*937،*938،*939،*940،*941،*942،*943،*944،*945،*946،*947،*948،*949،*950،*951،*952،*953،*954،*955،*956،*957،*958،*959،*960،*961،*962،*963،*964،*965،*966،*967،*968،*969،*970،*971،*972،*973،*974،*975،*976،*977،*978،*979،*980،*981،*982،*983،*984،*985،*986،*987،*988،*989،*990،*991،*992،*993،*994،*995،*996،*997،*998،*999،*1000.

در مطالعه کنونی در جایگاه ژنی HLA-DRB1، آلل DRB1*04- به‌عنوان آلل مستعدکننده شناخته شد که با مطالعه Harfouch Lima, Hammoud و مطالعه متآنالیز Tong همخوانی دارد.^{۲۸،۲۷،۲۲} همچنین جایگاه ژنی DRB1*14:04- که در مطالعه حاضر آلل مستعدکننده شناسایی شد با نتایج مطالعه Mahmoudzadeh Niknam، Durate و Contini همخوانی دارد.^{۲۵،۲۴،۲۰}

در آلل DRB1*07 که آلل محافظت‌کننده شناسایی شد، با مطالعه Amirzargr و همکاران به‌عنوان آلل مستعدکننده متفاوت است، تفاوت در نتایج می‌تواند به‌علت تفاوت جمعیت‌های مورد مطالعه باشد به‌دلیل این‌که فراوانی آلل‌ها در جمعیت‌های مختلف متفاوت است.^{۳۳} در جایگاه ژنی HLA-DQB1 در این مطالعه آلل

References

1. Zumla A, George A, Sharma V, Herbert N, Baroness Masham of Ilton. WHO's 2013 global report on tuberculosis: successes, threats, and opportunities. *Lancet* 2013;382(9907):1765-7.
2. Azad AK, Sadee W, Schlesinger LS. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. *Infect Immun* 2012;80(10):3343-59.
3. World Health Organization (WHO). Tuberculosis: WHO fact sheet no. 104. [Internet] 2017 Mar [cited 2017 Apr 15]. Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>
4. World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis report 2012. [Internet] 2012 [cited 2017 May 15]. Available from:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75938/1/9789241564502_eng.pdf

5. Azizi MH. the brief history of tuberculosis in the world and Iran. *History Med J* 2010;2(3):11-36. [Persian]
6. Veliati AA, Azizi F, Hatami H, Janghorbani M. Tuberculosis. In: Azizi F, Hatami H, Janghorbani M, Editors. *Epidemiology and Control of Common Disorder in Iran*. 2nd ed. Tehran: Khosravi Press; 2004. P. 602-17.
7. Mohammadpour A, Matlabi M, Fani MJ, Shams H. Epidemiology of tuberculosis disease during 1372-80 in Gonbad city. *Ofoogh-e-Danesh* 2002;1(8):45-51. [Persian]

8. Salek S, Masjedi M, Salek SO, Emami H. Prevalence of pulmonary tuberculosis in different racial populations in Golestan 1999-2003. *Iran J Epidemiol* 2008;3(4):15-20.
9. Oh JH, Yang CS, Noh YK, Kweon YM, Jung SS, Son JW, et al. Polymorphisms of interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha genes are associated with newly diagnosed and recurrent pulmonary tuberculosis. *Respirology* 2007;12(4):594-8.
10. Tizard IR. *Veterinary Immunology*. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2009.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2012.
12. Roitt IM, Delves PJ. *Roitt's Essential Immunology*. 10th ed. Oxford: Blackwell Science; 2001.
13. Marsh SGE. Nomenclature for factors of the HLA system, update March 2017. *Hum Immunol* 2017;78(5-6):461-465.
14. Fol M, Druszczynska M1, Wlodarczyk M1, Ograczyk E1, Rudnicka W1. Immune response gene polymorphisms in tuberculosis. *Acta Biochim Pol* 2015;62(4):633-40.
15. Ocejó-vinyals G, Ausin F, Ferrer D, Aguero R, Ferrer D, Fariñas C, et al. Association of human leukocyte antigen class I and II variants with susceptibility to pulmonary tuberculosis in a caucasian population from Northern Spain. *J Mycobac Dis* 2013;3(3):1-5.
16. Mishra G, Kumar N, Kaur G, Jain S, Tiwari PK, Mehra NK. Distribution of HLA-A, B and DRB1 alleles in Sahariya tribe of North Central India: an association with pulmonary tuberculosis. *Infect Genet Evol* 2014;22:175-82.
17. Shi GL, Hu XL, Yang L, Rong CL, Guo YL, Song CX. Association of HLA-DRB alleles and pulmonary tuberculosis in North Chinese patients. *Genet Mol Res* 2011;10(3):1331-6.
18. Dubaniewicz A, Moszkowska G, Szczerkowska Z. Frequency of DRB1-DQB1 two-locus haplotypes in tuberculosis: preliminary report. *Tuberculosis (Edinb)* 2005;85(4):259-67.
19. Duarte R, Carvalho C, Pereira C, Bettencourt A, Carvalho A, Villar M, et al. HLA class II alleles as markers of tuberculosis susceptibility and resistance. *Rev Port Pneumol* 2011;17(1):15-9.
20. Mahmoudzadeh-Niknam H, Khalili G, Fadavi P. Allelic distribution of human leukocyte antigen in Iranian patients with pulmonary tuberculosis. *Hum Immunol* 2003;64(1):124-9.
21. Dubaniewicz A, Lewko B, Moszkowska G, Zamorska B, Stepinski J. Molecular subtypes of the HLA-DR antigens in pulmonary tuberculosis. *Int J Infect Dis* 2000;4(3):129-33.
22. Harfouch-Hammoud EI, Daher NA. Susceptibility to and severity of tuberculosis is genetically controlled by human leukocyte antigens. *Saudi Med J* 2008;29(11):1625-9.
23. Amirzargar AA, Yalda A, Hajabolbaghi M, Khosravi F, Jabbari H, Rezaei N, et al. The association of HLA-DRB, DQA1, DQB1 alleles and haplotype frequency in Iranian patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8(8):1017-21.
24. Yuliwulandari R, Sachrowardi Q, Nakajima H, Kashiwase K, Hirayasu K, Mabuchi A. Association of HLA-A, -B, and -DRB1 with pulmonary tuberculosis in western Javanese Indonesia. *Hum Immunol* 2010;71(7):697-701.
25. Contini S, Pallante M, Vejbaesya S, Park MH, Chierakul N, Kim HS, et al. A model of phenotypic susceptibility to tuberculosis: deficient in silico selection of Mycobacterium tuberculosis epitopes by HLA alleles. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2008;25(1):21-8.
26. Chen BF, Wang R, Chen YJ, Zhu Y, Ding L, Wen YF. Association between HLA-DRB1 alleles and tuberculosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2015;14(4):15859-68.
27. Tong X, Chen L, Liu S, Yan Z, Peng S, Zhang Y, et al. Polymorphisms in HLA-DRB1 gene and the risk of tuberculosis: a meta-analysis of 31 studies. *Lung* 2015;193(2):309-18.
28. Souza de Lima D, Morishi Ogusku M, Porto Dos Santos M2, de Melo Silva CM, Alves de Almeida V, Assumpção Antunes I4, et al. Alleles of HLA-DRB1*04 Associated with Pulmonary Tuberculosis in Amazon Brazilian Population. *PLoS One* 2016;11(2):e0147543.
29. Ravikumar M, Dheenadhayalan V, Rajaram K, Lakshmi SS, Kumaran PP, Paramasivan CN, et al. Associations of HLA-DRB1, DQB1 and DPB1 alleles with pulmonary tuberculosis in south India. *Tuber Lung Dis* 1999;79(5):309-17.
30. Kim HS, Park MH, Song EY, Park H, Kwon SY, Han SK, et al. Association of HLA-DR and HLA-DQ genes with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Koreans: preliminary evidence of associations with drug resistance, disease severity, and disease recurrence. *Hum Immunol* 2005;66(10):1074-81.
31. Li C, Zhou Y, Xiang X, Zhou Y, He M. The Relationship of HLA-DQ Alleles with Tuberculosis Risk: A Meta-analysis. *Lung* 2015;193(4):521-30.

HLA-DRB1, DQB1 allele frequencies in Iranian patients (sistani ethnic) With tuberculosis and healthy control

Abstract

Received: 13 Feb. 2017 Revised: 08 Jun. 2017 Accepted: 20 Jun. 2017 Available online: 21 Jun. 2017

Sadegh Baniaghil Ph.D.
Student¹

Gholamreza Nikbakht Borujeni
Ph.D.¹

Hassan Tajbakhsh Ph.D.¹

Atefeh Esmailnejad Ph.D.²

Ali Akbar Amirzargar Ph.D.^{3*}

1- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz, Iran.

3- Molecular Immunology Research Center and Department of Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background: HLA disease association was investigated in several autoimmune, cancer and infectious diseases. The outcome of tuberculosis (TB) infection may be influenced by host genetic factors like MMP-1, MCP-1, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ and human leukocyte antigen (HLA). Given the paucity of information with regard to the association between the human leukocyte antigens (HLA) and TB infection among Iranians, we aimed to identify HLA polymorphisms that might confer susceptibility or protect against TB.

Methods: In this case-control study, to investigate the association between the HLA-DRB1 and DQB1 alleles and TB, 50 patients with tuberculosis were selected from Sistani population in Golstan University of Medical Sciences, Golestan Province, North East of Iran, from September 2015 to February 2016. Allele frequencies in patients were compared with a 100 aged and sex match control group from healthy blood donor of that ethnic population. HLA-DRB1 and -DQB1 alleles were determined using polymerase chain reaction based on sequence specific primer (PCR-SSP) method by low to intermediate resolution kits supplied by CTS (Collaborative Transplant Study, Heidelberg University, Germany). Using EPI-info statistical software Chi-square test and fisher exact test, 95% confidence interval and odd ratio were calculated and allele frequencies in patients and control subjects were compared. P-value less than 0.05 were considering statistically significant.

Results: The results of this study showed a significant increase and positive association with -DRB1*04:03 (OR=3.13, CI 95% (2.47-3.96)), -DRB1*14:04 (OR=3.13, CI 95% (2.47-3.96)), -DQB1*0201 (OR=2.67, CI 95% (1.18-6.04)), -DQB1*0601 (OR=3.16, CI 95% (1.36-7.73)), while the frequency of -DRB1*07 (OR=0.16, CI 95% (0.05-0.52)) were lower in patients than control group and shows negative association.

Conclusion: The results of this study confirmed some of the previous positive and/or negative association, however it is suggested that HLA-DRB1*04:03, -DRB1*14:04, -DQB1*0201, -DQB1*0601- have an important role in susceptibility to tuberculosis infection and -DRB1*07 was associated with protection in Iranian Sistani population. Larger case-control sample size studies may be helpful to confirm our investigation. In addition population-specific studies is needed for evaluation of the role of HLA polymorphisms in tuberculosis in different ethnic groups.

Keywords: case-control studies, polymerase chain reaction, polymorphism, HLA antigens, Iran, tuberculosis.

*Corresponding author: Molecular Immunology Research Center, Department of Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Poursina St., Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 88953009
E-mail: amirzara@tums.ac.ir