Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Investigation of CTLA-4 +49 A/G gene polymorphism in the Leprosy patients and their effects on type and severity of disease

Khalil Yeghaneh[1*], Behrooz Naghili[2], Zohreh Babalou[3], mohamade Raza Ail Paristy[3]

[1]Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2]Center of Infectious Disease Research, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[3]Department of Immunology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: khalilyeghaneh@gmail.com

Received: 24 August 2017 Accepted: 21 September 2017 First Published online: 7 September 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 October- November; 41(4):101-109

Abstract

Background: Leprosy is still a global health problem, especially in developing countries are important, and Iran is an endemic area for leprosy in the Middle East. Leprosy is a disease caused by the intracellular bacterium Mycobacterium leprae, is a chronic infectious disease of humans that causes inflammatory lesions in the skin and peripheral nerves with the granuloma. Numerous studies, the important role of host genetics in susceptibility to leprosy are confirmed. CTLA4 gene is one of the four exons. Polymorphisms have been identified in the CTLA4 gene with susceptibility to a wide range of autoimmune and infectious diseases dependent on T cells are connected. The aim of this study was to investigate the relationship between polymorphisms of CTLA-4 +49 A / G and susceptibility to leprosy and its impact on the type and severity of disease.

Methods: In this study, 157 treated leprosy patients living in nursing homes in Tabriz Baba Baghi and 185 healthy human subjects were enrolled as controls. First blood samples (8-10 ml) of patients Gene polymorphism CTLA-4 +49 A / G were determined, and then the genotype frequencies in two groups were compared. In addition, for each patient clinical forms of the disease, the performance, age at onset, duration of illness, symptoms, age, sex and relationship between genotypes and allele polymorphism review was studied.

Results: The average age was 11.90 ± 65.87 years and the highest prevalence of leprosy at the age of 16 to 30 years old. The most common side effects of organ failure, neurological diseases, leprosy protests eye and ear, nose and throat incidence was 33%.

Conclusion: Gene CTLA-4 (+49 A / G) showed that the frequency of AA greater was than the other two types.

Keyword: Leprosy, CTLA-4, Gene polymorphism

How to cite this article: Yeghaneh Kh, Naghili B, Babalou Z, Ail Paristy M R. [Investigation of CTLA-4 +49 A/G gene polymorphism in the Leprosy patients and their effects on type and severity of disease]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 October- November; 41(4):101-109. Persian.

© 2019 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

ارتباط پلی‌مورفیسم ژنی CTLA-4 (+49 A/G) با بیماری جذام (leprosy) و تاثیرات آن بر نوع و شدت بیماری

خلیل یگانه*[۱]، بهروز نقیلی[۲]، زهره بابالو[۳]، محمدرضا علی‌پرستی[۳]

[۱] گروه بیماریهای عفونی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۲] مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۳] گروه ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: khalilyeghaneh@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۳۰ انتشار برخط: ۱۳۹۸/۶/۱۶
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. مهر و آبان ۱۳۹۸؛ ۴۱(۴):۱۰۱-۱۰۹

چکیده

زمینه: جذام هنوز یک مشکل مهم سلامت جهانی مخصوصا در کشورهای در حال توسعه می‌باشد، و ایران یکی از مناطق اندمیک برای جذام در خاورمیانه محسوب می‌شود. بیماری جذام که توسط باکتری داخل‌سلولی مایکوباکتریوم لپره ایجاد می‌شود، یک بیماری عفونی مزمن انسان می‌باشد که موجب ایجاد ضایعات التهابی در پوست و اعصاب محیطی همراه با گرانولوم می‌گردد. مطالعات متعدد، نقش مهم ژنتیک میزبان در استعداد ابتلا به بیماری جذام را تایید می‌نمایند. ژن کد کننده CTLA4 انسان از چهار اگزون تشکیل شده است. پلی‌مورفیسم هایی در ژن CTLA4 شناسایی شده‌اند که با استعداد ابتلا به طیف گسترده‌ای از بیماری‌های مختلف خودایمنی و عفونی وابسته به سلول T در ارتباط می‌باشند.

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم CTLA-4 +49 A/G و استعداد ابتلا به بیماری جذام و تاثیرات آن بر نوع و شدت بیماری می‌باشد.

روش کار: در این تحقیق تعداد ۱۵۷ نفر از بیماران جذامی درمان شده ساکن آسایشگاه بابا باغی تبریز و تعداد ۱۸۵نفر به عنوان فرد سالم به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. ابتدا با نمونه گیری خون (۸-۱۰ml) از بیماران DNA ژنومی استخراج و سپس پلی‌مورفیسم ژنی CTLA-4 در ناحیه +49 A/G در آنها تعیین شد، سپس فراوانی ژنوتیپ ها در دو گروه با هم مقایسه شدند. همچنین برای هر یک از بیماران اشکال بالینی بیماری، وضعیت کارآیی، سن شروع بیماری، طول مدت بیماری، نشانه‌های بالینی بیماری، سن و جنس بررسی و ارتباط بین ژنوتیپ و الل پلی‌مورفیسم مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین سنی نمونه‌ی مورد مطالعه ۶۵۸۷ سال با انحراف معیار ۱۱.۹۰± به دست آمد و بیشترین میزان شیوع جذام در سنین ۱۶ تا ۳۰ سالگی مشاهده شد. ترکیب جنسیتی شامل ۹۴ نفر مرد و ۶۳ نفر زن بود. جذام لپروماتوز با درصد فراوانی ۶۷.۵٪ بیشترین فروانی و جذام نوع BT با درصد فراوانی ۱.۹٪ کم‌ترین فراوانی را داشت. شایع‌ترین عوارض ناتوانی اعضا، علایم عصبی، تظاهرات چشمی و جذام گوش، حلق و بینی با ۳۳ درصد شیوع به دست آمد.

نتیجه‌گیری : بررسی ژنوتایپی حاصل از پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G) تفاوت معنی‌داری را بین گروه بیماران و گروه شاهد نشان نداد.

کلید واژه ها: جذام، CTLA-4، پلی‌مورفیسم ژنی

نحوه استناد به این مقاله: یگانه خ، نقیلی ب، بابالو ز، علی‌پرستی م ر. ارتباط پلی مورفیسم ژنی CTLA-4 (+49 A/G) با بیماری جذام (leprosy) و تاثیرات آن بر نوع و شدت بیماری. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۴): ۱۰۱-۱۰۹

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

بیماری جذام (leprosy)، که توسط باکتری داخل سلولی مایکوباکتریوم لپره (M. leprae) ایجاد می‌شود، یک بیماری عفونی مزمن انسان می‌باشد که سیر پیشرفت آهسته‌ای دارد و همچنین موجب ایجاد ضایعات التهابی در پوست و اعصاب محیطی همراه با گرانولوم می‌گردد، این باسیل داخل سیتوپلاسم ماکروفاژها و سلول‌های شوان رشد می‌کند (۱).

جذام هنوز یک مشکل مهم سلامت جهانی مخصوصا در کشورهای در حال توسعه می‌باشد، به طوری که سالانه بیش از ۲۰۰۰۰۰ مورد بیمار جذامی جدید ثبت می‌شود (۲و ۳). ایران یکی از مناطق اندمیک برای جذام در خاورمیانه محسوب می‌شود (۴). مطالعات متعدد، نقش مهم ژنتیک میزبان در استعداد ابتلا به بیماری جذام را تایید می‌کند (۵و ۶).

جذام یک بیماری طیفی است که تظاهرات آن نسبت به وضعیت سیستم ایمنی فرد مبتلا متغیر است (۷و ۸). در جذام توبرکلوئیدی (TT)، بیمار یک پاسخ ایمنی سلولی قوی را در پوست و اعصاب محیطی ارتقا می‌دهد، تکوین و فراخوانی لنفوسیت‌های T (عمدتا Th1) منجر به واکنش‌های ازدیاد حساسیت تاخیری (DTH) و تشکیل گرانولوما می‌شود (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲).

کنش متقابل گیرنده‌های کمک محرک (co-stimulatory) و کمک مهاری (co-inhibitory) (به عنوان مثال، CD28 و CTLA-4) که در سطح سلول‌های T بیان می‌شوند با لیگاندهای آن‌ها (به عنوان مثال، CD80 و CD86) که درسطح سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن بیان می‌شوند، شدت و مدت پاسخ‌های سلول T اختصاصی آنتی‌ژن را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۳– ۱۴). سلول‌های T فعال شده CTLA-4 را (که گیرنده برای CD86 است) بیان می‌کنند که هر دو هومولوگ CD28 بوده و عضوی از خانواده بزرگ ایمونوگلوبین محسوب می‌شوند. CTLA-4 با افینیتی ۲۰– ۱۰۰ مرتبه بیشتر از CD28 به هر دو مولکول CD80 و CD86 متصل شده و یک سیگنال مهاری را انتقال می‌دهد که با عملکرد CD28 در سطح لنفوسیت T مخالفت می‌کند. CTLA-4 و CD28 به لیگاندهای مشابه CD80 و CD86 متصل می‌شوند ولی CTLA-4 سیگنال کمک مهاری و CD28 سیگنال کمک محرک را مهیا می‌نماید (۱۵– ۲۰).

ژن کد کننده CTLA4 انسان در بازوی بلند کروموزوم شماره ۲ در جایگاه q33۲ واقع شده و از چهار اگزون تشکیل شده است (۲۱). پلی مورفیسم‌هایی در ژن CTLA4 شناسایی شده‌اند که با استعداد ابتلاء به طیف گسترده‌ای از بیماری‌های مختلف خودایمنی (۲۲– ۲۳) و عفونی (۲۴– ۲۵) وابسته به سلول T در ارتباط می‌باشند. چندین پلی‌مورفیسم تک نوکلوتیدی (SNP) در ناحیه پروموتر و اگزون ۱ ژن CTLA-4 شناسایی شده است از جمله انها -1661A/G، -1722C/T و C/T 318- در ناحیه پروموتر و جایگزینی A به G در ناحیه ترجمه نشونده از اگزون شماره ۱ در جایگاه ۴۹ می‌باشند (۲۶).

پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G) منجر به جایگزینی اسید آمینه آلانین به ترئونین کدون ۱۷ از پپتید رهنما (A17T) می‌شود (۲۷). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که پلی‌مورفیسم CTLA-4 در ناحیه +49 A/G توزیع درون سلولی CTLA-4 و تولید IL-2 را تغییر داده و در نتیجه تکثیر سلول T تغییر می‌دهد (۲۸– ۲۹). مطالعات متعددی نقش قوی CTLA-4 +49 A/G را در بیماری‌های مختلف عفونی بواسطه سلول T، مانند عفونت با هپاتیت B ، هپاتیت C و مایکوباکتریم توبرکلوزیس نشان می‌دهند (۳۰).

با این حال، تاکنون هیچ مطالعه ای مبنی بر ارتباط CTLA-4 +49 A/G و بیماری جذام انجام نگرفته است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم CTLA-4 +49 A/G و استعداد ابتلا به بیماری جذام و تاثیرات آن بر نوع و شدت بیماری در جمعیت خالص آذری در شمال غرب ایران است.

روش کار

این مطالعه از نوع مورد–شاهدی (case-control) می‌باشد که فراوانی پلی‌مورفیسم‌های ژنی CTLA-4(+49A/G) با هم مقایسه می‌شوند. این مطالعه از تاریخ اول مهر ماه ۱۳۹۳ تا آخر شهریور ۱۳۹۴ در مرکز بابا باغی شهر تبریز انجام پذیرفت.

با همکاری آسایشگاه بابا باغی تبریز و با نظارت پزشکان متخصص عفونی، تعداد کل بیماران مستقر در مرکز بابا باغی تبریز که شامل ۱۷۸ نفر از بیماران جذامی درمان شده می‌باشند نمونه‌گیری شد که با توجه به معیارهای ورود و خروج ۱۵۷ نفر از بیماران وارد مطالعه شدند و ۲۱ بیمار به دلیل داشتن بیماری‌های زمینه ای دیگر از مطالعه کنار گذاشته شدند. ۱۸۵ نفر از افراد عادی جامعه بدون سابقه‌ی بیماری نیز به عنوان گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند.

۸–۱۰ml خون وریدی نمونه‌گیری شده و در ظروف حاوی ضد انعقاد مناسب مثل EDTA جمع‌آوری شد و DNA آن‌ها با استفاده از روش Protein kinas k استخراج شد و در فریزر ۸۰°C– نگهداری شدند و پلی‌مورفیسم ژنی CTLA-4 +49 A/G در آن‌ها به روش (T-ARMS-PCR)، تعیین گردید. سپس فراوانی الل‌ها و ژنوتیپ‌ها در بیماران مورد مطالعه و گروه کنترل بررسی شدند. بطور خلاصه ۰.۲µg DNA با پرایمرهای اختصاصی هر لوکوس و PCR master mix حاوی Taq DNA polymerase مخلوط شد و اجازه داده شد تا واکنش PCR تحت annealing temperature خاص که ۵۶ °C می‌باشد، انجام پذیرد.

سپس محصول PCR در ژل آگاروز ۳٪ الکتروفورز شد، و وجود باندهای اختصاصی ژنوتیپ‌های AA,AG,GG در دستگاه (Gel ducument) زیر نور UV مشخص گردید.

همچنین قبل از نمونه گیری از بیماران جذامی، برای هر یک از بیماران اشکال بالینی بیماری Lepromatous (LL), Tuberculoid (TT), Borderline Lepromatous (BL), Borderline Tuberculoid (BT), Borderline borderline (BB), وضعیت کارآیی (performance status)، سن شروع بیماری (Onset age of the disease)، طول مدت بیماری، نشانه‌های بالینی بیماری (clinical manifestation of disease)، سن و جنس توسط همکاران بالینی طرح مشخص گردید و ارتباط بین ژنوتیپ و الل پلی‌مورفیسم مورد مطالعه با یافته های بالینی فوق با تست آماری Fisher's exact test یا Chi squre یا One way anowa و Kruskal-Wallis test هر کدام که مناسب بودند انجام پذیرفت.

در خصوص معیارهای ورود به مطالعه تمام افراد جمعیت هدف و گروه کنترل پرسش‌نامه پیوستی را پر نمودند و نیز فرم رضایت‌نامه کتبی را در موقع خون‌گیری امضا کردند. از افراد جمعیت هدف و نیز گروه کنترل ml ۱۰- ۸ خون وریدی نمونه‌گیری شد و در ظروف حاوی ضد انعقاد مناسب مثل EDTA جمع‌آوری گردید. افراد منتخبی که با رضایت شخصی توانایی حضور در مطالعه را داشتند وارد مطالعه شدند. برای گروه کنترل شرط نداشتن هیچ گونه ارتباط فامیلی با گروه شاهد مد نظر قرار گرفته است.

همچنین معیارهای خروج بیماران از مطالعه عبارت بودند از بیمارانی که مبتلا به بیماری‌های مزمن، آلرژی، بیماری کلیوی end-stage، بیماری‌های سرکوبگر سیستم ایمنی یا تحت درمان با داروهای سرکوبگر ایمنی بودند از مطالعه حذف شدند.

با توجه به منابع موجود، متغیرهای مخدوش کننده شناسائی نشده‌اند ولی در مطالعات ژنتیکی، متغیر مخدوش کننده مهم هتروژنیسیته ژنتیکی در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد که بویژه در کشورهای مهاجر پذیر از اهمیت خاصی برخوردار است و به نظر می‌رسد در مطالعه فعلی در منطقه این متغیر تاثیر مخدوش کنندگی قابل بحثی در نتیجه گیری نداشته باشد با این وصف، در مرحله نمونه‌گیری این نکته مد نظر قرار گرفت تا در صورت لزوم تدابیر مربوطه اتخاذ گردد.

در ابتدا از بیماران مورد مطالعه در این پژوهش توسط شخص آموزش دیده، شرح حال پزشکی و اطلاعات بیماری کسب شد. سپس با استفاده از روش خون‌گیری وریدی، ۸-۱۰ میلی‌لیتر خون از هر بیمار گرفته شد و در ظرف مخصوصی به آزمایشگاه ارسال گردید تا از نظر پلی‌مورفیسم ژنی مورد بررسی قرار گیرند.

اطلاعات جمع‌آوری شده، وارد کامپیوتر گردید و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16 تجزیه و تحلیل شد. در تجزیه و تحلیل اطلاعات از گزارش آماره‌های توصیفی، میانگین و فراوانی نسبی استفاده بعمل آمد. کلیه آزمون‌ها دوطرفه و حد معنی داده‌های آماری ۰/۰۵ برای آزمون‌ها مدنظر قرار گرفت. تعداد بیماران شرکت کننده در این مطالعه ۳۴۲ نفر بود. ۱۵۷ نفر از بیماران مبتلا به جذام به عنوان گروه مطالعه و ۱۸۵ نفر از افراد عادی جامعه در گروه شاهد وارد شدند. میانگین سنی گروه مطالعه ۶۵.۸۷ سال با انحراف معیار ۱۱.۹۰± به دست آمد. جوان‌ترین شرکت کننده در مطالعه‌ی ما ۲۸ ساله و مسن‌ترین شرکت کننده ۱۱۸ ساله بود. شرکت کنندگان شامل ۹۴ نفر مرد و ۶۳ نفر زن بودند. همچنین در گروه شاهد میانگین سنی شرکت کنندگان ۳۱/۳ سال با انحراف از معیار ۸/۴۹ سال به دست آمد. از ۱۵۷ نفر مورد مطالعه، اطلاعات مربوط به اشکال بالینی جذام برای ۱۵۲ بیمار در دسترس بود که بر اساس طیف ایمونوپاتولوژی در ۵ گروه بالینی طبقه‌بندی شدند که این ۵ گروه عبارتد از:

1- Lepromatous (LL)
2- Tuberculoid (TT)
3- Borderline Lepromatous (BL)
4- Borderline Tuberculoid (BT)
5- Borderline borderline (BB).

فراوانی بیماری جذام با تفکیک جنسیت بیماران در این تحقیق در نمودار زیر آمده است (نمودار ۱).

برای بیان درصد فراوانی انواع بیماری جذام ارائه شده است؛ که جذام لپروماتوز با درصد فراوانی ۶۷/۵٪ بیشترین فروانی را دارد، همچنین جذام توبرکلوئیدی با درصد فراوانی ۲۴/۲٪ در جایگاه دوم قرار دارد و همچنین جذام نوع BT با درصد فراوانی ۱/۹٪ کم‌ترین فراوانی را دارد. عوارض مختلف بیماری جذام در جدول ۱ آورده شده است.

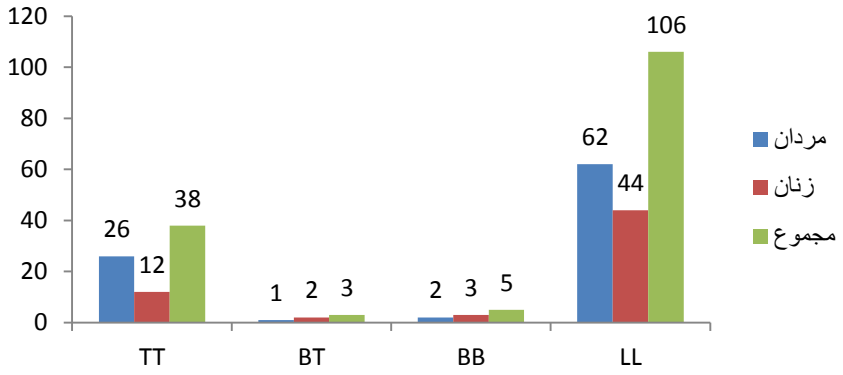
در این جدول ۶ نفر از بیماران در بررسی عوارض بیماری فاقد اطلاعات بالینی بوده‌اند. و درصد موثر فراوانی درصدی است که با در نظر گرفتن ۶ نفر حذف شده و با مجموع ۱۵۱ بیمار محاسبه شده است. در این تحقیق میزان از کار افتادگی بیماران توسط معیار کارنوفسکی که بیانی از سطح کیفیت زندگی روزانه بیماران را ارائه می‌دهد مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از میان ۱۵۷ بیمار ۲۹ نفر فاقد اطلاعات مربوط به ازکار افتادگی بودند.

همچنین در نمودار زیر دسته‌بندی میزان از کارافتادگی بیماران توسط معیار KPS ارائه شده است: میزان از کارافتادگی در سه حالت ملایم (KPS ۸۰-۱۰۰)، متوسط (KPS ۵۰-۷۰) و شدید (KPS ۴۰-۵۰) طبقه‌بندی شدند که این نیز معیاری از کیفیت زندگی بیماران را نشان می‌دهد که طبق این معیار ۱۸.۵٪ از بیماران دارای کیفیت مناسبی از زندگی هستند ولی در مقابل ۳۸.۹٪ بیماران شرایط مطلوب زندگی را ندارند. شیوع بیماری اکثرا در بازه‌ی سنی ۱۶ تا ۳۰ سالگی اتفاق می‌افتد، و شیوع در سن ۱۶ سال به پایین بسیار کم است. اطلاعات مربوط به فراوانی ژنوتیپ‌های خاص از پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G) در بیماران و ارتباط آن با خصوصیات بالینی بیماری: در مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های حاصل

از پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G) در بیماران مذکر و مونث اختلاف معنی‌داری دیده شد (P-VALUE=0.011). این اختلاف به علت افزایش فراوانی ژنوتیپ GG در بیماران مذکر (۱۳.۹٪) نسبت به بیماران مونث (۳.۳٪) و افزایش ژنوتیپ AG در بیماران مونث (۴۲.۶٪) نسبت به بیماران مذکر (۲۳.۶٪) می‌باشد (جدول ۲). در مقایسه ژنوتیپ‌های حاصل از SNP مذکور و وجود سابقه بیماری در فامیل، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p= ۰/۷). در نمودار زیر بررسی سن شروع بیماری به تفکیک ژنوتیپ‌های حاصل از پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G) آورده شده است:

همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین میزان شروع جذام در سنین ۱۶ تا ۳۰ سالگی است، در مقایسه ژنوتیپ‌های حاصل از snp مذکور در خصوص سن شروع بیماری با اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (p= ۰/۳۲).

بررسی ارتباط فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G)با اشکال بالینی بیماری جذام در نمودار ۲ ارائه شده است. فراوانی پلی‌مورفیسم‌های ژن CTLA-4 (+49 A/G) و ارتباط آن‌ها با سابقه بیماری جذام در فامیل خواهیم پرداخت که در جدول ۳ ارائه شده‌اند.



نمودار ۱: بررسی فراوانی انواع بیماری جذام در بیماران با تفکیک جنسیت

جدول ۱: عوارض بیماری جذام در بیماران مورد مطالعه

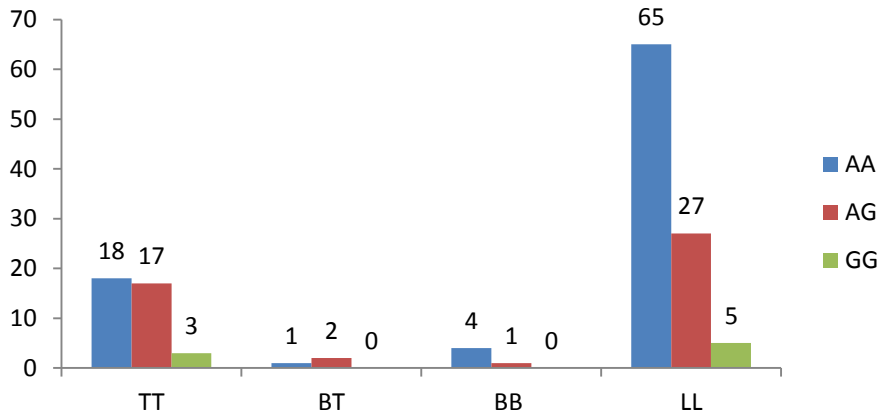
	فراوانی	درصد فراوانی	درصد موثر فراوانی	درصد تجمعی
ناتوانی اعضای (دست و پا)	۱۱	۷	۷/۳	۷/۳
علایم عصبی	۱۰	۶/۴	۶/۶	۱۳/۹
تظاهرات چشمی	۳	۱/۹	۲	۱۵/۹
جذام گوش، حلق و بینی	۸	۵/۱	۵/۳	۲۱/۲
ناتوانی اعضا و علایم عصبی	۱۴	۸/۹	۹/۳	۳۰/۵
ناتوانی اعضا و تظاهرات چشمی	۱۴	۸/۹	۹/۳	۳۹/۸
ناتوانی اعضا و جذام گوش حلق و بینی	۷	۴/۵	۴/۶	۴۴/۴
علایم عصبی و تظاهرات چشمی	۲	۱/۳	۱/۳	۴۵/۷
علایم عصبی و جذام گوش حلق و بینی	۱۱	۷	۷.۳	۵۳
ناتوانی اعضا، علایم عصبی و تظاهرات چشمی	۱۸	۱۱/۵	۱۱/۹	۶۴/۹
ناتوانی اعضا، تظاهرات چشمی و جذام گوش حلق وبینی	۱۰	۶/۴	۶/۶	۷۱/۵
ناتوانی اعضا، علایم عصبی و جذام گوش حلق و بینی	۱۰	۶/۴	۶/۶	۷۸/۱
ناتوانی اعضا، علایم عصبی، تظاهرات چشمی و جذام گوش، حلق و بینی	۳۳	۲۱	۲۱/۹	۱۰۰
کل	۱۵۱	۹۶/۲	۱۰۰	
بدون اطلاعات بالینی	۶	۳/۸		
کل	۱۵۷	۱۰۰		

جدول ۲: تغییرات CTLA-4 (+49 A/G)

جنس	AA	AG	GG
مذکر	۵۸ (٪۶۲/۳)	۲۲ (٪۲۳/۶)	۱۳ (٪۱۳/۹)
مونث	۳۳ (٪۵۴)	۲۶ (٪۴۲/۶)	۲ (٪۳/۳)
جمع	۹۱	۴۸	۱۵

جدول ۳: بررسی انواع ژن CTLA-4 (+49 A/G) و ارتباطشان با سابقه بیماری در فامیل

انواع ژن	دارای زمینه بیماری خانوادگی	عدم زمینه بیماری خانوادگی	کل
AA	۲۹	۵۷	۸۶
AG	۱۵	۳۱	۴۶
GG	۶	۸	۱۴
کل	۵۰	۹۶	۱۴۶



نمودار ۲: دسته بندی انواع بیماری جذام بر اساس ژن های مختلف

در مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های حاصل از SNP مذکور و اشکال بالینی بیماری جذام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p= ۰/۲۹). مقایسه‌ی ژنوتیپ‌های حاصل از پلی‌مورفیسم CTLA-4 (+49 A/G) و شدت از کار افتادگی بر حسب KPS : در مقایسه ی ژنوتیپ‌های حاصل از SNP مذکور و شدت از کارافتادگی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p= ۰/۵۵).

بحث

تعداد بیماران شرکت کننده در این مطالعه ۱۵۷ نفر بیمار مبتلا به جذام در گروه مطالعه با میانگین سنی ۶۵/۸۷ سال با انحراف معیار ۱۱/۹۰± و ۱۸۵ فرد سالم با میانگین سنی ۳۰ سال با انحراف معیار ۸/۴۹ سال به دست آمد. بیشترین سن شیوع بیماری ۱۶–۳۰ سال بود در حالی که نتایج مطالعه ی گلفروشان (۲۰۱۱) حاکی از این امر است که سن اوج بیماری در مطالعه ی مذکور مربوط به دهه‌ی چهارم زندگی می‌شد. همچنین ترکیب جنسیتی نمونه‌ی مورد مطالعه‌ی ما نشان داد که بیماران شامل ۹۴ نفر مرد و ۶۳ نفر زن بودند. در مطالعه‌ی گلفروشان نیز تعداد بیماران مرد با ٪۶۷ نسبت بیشتری را نسبت به زنان با ٪۳۳ به خود اختصاص دادند(۴). جذام لپروماتوز (LL) با درصد فراوانی ٪۶۷.۵ بیشترین فروانی را دارد، همچنین جذام توبرکلوئیدی (TT) با درصد فراوانی ٪۲۴/۲ در جایگاه دوم قرار دارد. بعد از آن نیز جذام از نوع borderline borderline (BB) با فراوانی ۳/۲ درصد قرار داشت و همچنین جذام نوع borderline tubercloid(BT) با درصد فراوانی ٪۱.۹ کم‌ترین فراوانی را دارد. به طور کلی با اختلاف بسیار زیادی شایع‌ترین نوع جذام در بیماران مورد مطالعه در مطالعه‌ی ما جذام از نوع لپروماتوز بود. در مطالعه‌ای که توسط خان و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفت نشان داد که شایع‌ترین ساب تایپ بیماری جذام لپروماتوس لپروسی بود که با نتایج مطالعه تطابق دارد. همچنین در این مطالعه نیز نسبت مردان به زنان ۴ به ۱ گزارش شد. (۱۳).

در طی بررسی‌ها مشخص شد که بیماران مبتلا به جذام معمولا ترکیبی از چندین عارضه‌ی مختلف را با خود دارند به

طوری که ۷ درصد از بیماران مبتلا به اختلالات اندام‌ها و حدود ۶/۴ درصد از بیماران دارای علایم عصبی و ۱/۹ بیماران از اختلالات بینایی رنج می‌بردند؛ همچنین در ۵/۹ درصد عوارض مربوط به گوش و حلق و بینی مشهود بود. اما شایع‌ترین عارضه‌ی جذام در بیماران مورد مطالعه ترکیبی از عوارض فوق بود بطوری که ترکیب ناتوانی اعضا، علایم عصبی، تظاهرات چشمی و جذام گوش، حلق و بینی در ۲۱ درصد از بیماران مشاهده می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط ووریس و همکاران (۱۹۸۲) صورت گرفته بود نشان داد که شایع‌ترین مشکلات ،شامل مشکلات پوستی بخصوص پلک‌ها، از دست دادن ابرو و مژه، علایم عصبی بخصوص درگیری عصب اولنار و ریزش موها می‌باشد (۹).

با توجه به مطالعه‌ی وان و همکاران (۱۹۹۹) که بر روی کیفیت زندگی مرتبط با سلامت انجام شد، مشخص گردید که معیار وضعیت عملکردی کارنوفسکی، پیش‌بینی‌کننده معنی‌دار ابعاد کیفیت زندگی مرتبط با سلامت می‌باشد. بیمارانی که وضعیت عملکردی بالاتری داشتند، میانگین امتیازات رفاه جسمی، رفاه عاطفی و عملکردی بیشتری را گزارش نمودند (۱۴). در مطالعات پیشین این معیار در دفعات متعددی برای سنجش کیفیت زندگی بیماران مبتلا به سرطان بکار گرفته شده است. به عنوان نمونه مومنی و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد که با افزایش یک نمره وضعیت عملکردی کارنوفسکی، میانگین کیفیت زندگی مرتبط با سلامت به میزان ۰/۷۳۳ افزایش می‌یابد و در مجموع کیفیت زندگی ۷۶ درصد بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال متوسط و پایین‌تر می‌باشد (۱۵). در این مطالعه نیز دسته‌بندی بیماران توسط معیار KPS که معیاری از کیفیت زندگی بیماران را نشان می‌دهد انجام گرفت. که طبق این معیار ۱۸.۵٪ از بیماران دارای کیفیت مناسبی از زندگی هستند ولی در مقابل ۳۸/۹٪ بیماران شرایط مطلوب زندگی را ندارند. همچنین در طی مطالعه مشخص شد که ۲۴.۲ درصد از بیماران مورد مطالعه از نظر کیفیت زندگی در حد متوسط قرار دارند.

یکی از مولفه‌های مهم در مورد بیماری جذام شیوع بالای ابتلا به این بیماری در سنین جوانی است و این بیماری دقیقا زمانی که فرد حضور فعالی در اجتماع دارد فرد را گرفتار می‌کند و از این رو هزینه‌های بالایی را به جامعه تحمیل می‌کند. همان گونه که در ادامه و در نمودار زیر خواهید دید ۶۳ درصد مبتلایان به جذام در بازه‌ی سنی ۱۶ الی ۳۰ سال به این بیماری مبتلا شده‌اند و تنها ۳۰ درصد از بیماران در زمان ابتلا به بیماری بالای ۳۰ سال سن داشته‌اند. این امر نشان می‌دهد که مبتلایان به جذام در مدت زمان طولانی با عوارض این بیماری درگیر بوده‌اند.

مطالعات مختلف صورت گرفته در مبتلایان به بیماری‌های عفونی بیانگر دخالت ژن CTLA-4 (+49 A/G) در شیوع و وخامت حال بیماران است به همین دلیل ما به بررسی ژن های فوق‌الذکر در مبتلایان به جذام پرداختیم و فراوانی ژنوم فوق را در بیماران مبتلا به جذام و انواع زیرگروه‌های این بیماری مورد بررسی قرار دادیم. به وضوح فراوانی ژن نوع AA در مبتلایان به جذام بیشتر از دو نوع دیگر است و بعد از آن نیز ژن AG در رتبه‌ی دوم قرار دارد و ژن نوع GG با کمترین فراوانی در جایگاه آخر قرار داشت. البته نتایج گروه شاهد نیز مشابه، و تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. نتایج مطالعه‌ی الکیس و کانسوا (۲۰۰۵) که به بررسی ژنتیکی جذام پرداختند نیز نشان داد که بیشترین ژن موجود در مبتلایان به جذام ژن AA با ۴۸ درصد شیوع بود. بررسی زمینه‌ی خانوادگی بیماران مبتلا به جذام نشان داد که در مورد تمام ژن‌های فوق‌الذکر تعداد بیماران عدم زمینه‌ی خانوادگی بیش از تعداد بیماران دارای زمینه‌ی خانوادگی است. با این حال مطالعه‌ی آلتر و همکاران (۲۰۱۱) اهمیت ژنوم میزبان در ابتلا به جذام را مطرح نموده و در نتایج پژوهش خود به تشابه زمینه‌ی ژنتیکی در ابتلا به جذام به عنوان نوعی از بیماری‌های مایکوباکتریایی تاکید کرده است (۶). همچنین نتایج مطالعه‌ی مرادی (۱۳۷۳) نیز نشان داد که تنها ۲۰ درصد بیماران مورد مطالعه سابقه‌ی بیماری ابتلا به بیماری در سایر اعضاء خانواده را داشته‌اند (۱۴).

نتیجه‌گیری

میانگین سنی گروه مطالعه ۶۵.۸۷ سال با انحراف معیار ۱۱.۹۰± و گروه شاهد ۳۰ سال با انحراف ۸.۴۹ سال به دست آمد. جذام لپروماتوز با درصد فراوانی ۶۷.۵٪ بیشترین فروانی را دارد، همچنین جذام نوع BT با درصد فراوانی ۱.۹٪ کم‌ترین فراوانی را دارد. شایع‌ترین عوارض ناتوانی اعضا، علایم عصبی، تظاهرات چشمی و جذام گوش، حلق و بینی با ۳۳ درصد شیوع به دست آمد. معیار کارنوفسکی برای کیفیت زندگی بیماران نشان داد که طبق این معیار ۱۸/۵٪ از بیماران دارای کیفیت مناسبی از زندگی هستند ولی در مقابل ۳۸/۹٪ بیماران شرایط مطلوب زندگی را ندارند. بررسی ژن CTLA-4 (+49 A/G) نشان داد که در گروه مطالعه و گروه شاهد فراوانی نوع AA بیشتر از دو نوع دیگر است. تفاوت معنی‌داری در دو گروه از نظر شیوع ژنوتایپ CTLA-4 (+49 A/G) وجود نداشت. عدم زمینه بیماری خانوادگی در تمام ژن‌ها بیشتر از افراد دارای سابقه‌ی ابتلای خانوادگی بود. بیشترین میزان شیوع جذام در سنین ۱۶ تا ۳۰ سالگی مشاهده شد.

پیشنهادات

با توجه به اینکه جذام همواره یک مسئله مهم بهداشتی و اجتماعی را تشکیل می‌دهد پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی توجه بیشتری به تاثیر ژن CTLA-4 (+49 A / G) در انتقال بیماری جذام گردد.

قدردانی

بدینوسیله از مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیر دانشگاه علوم پزشکی تبریز که در راستای به سرانجام رسیدن این رساله زحمات فراوانی را متحمل شدند و از راهنمایی‌های سودمند ایشان تشکر می‌نماییم.

ملاحظات اخلاقی

قبل از اخذ نمونه، موضوع تحقیق به بیماران توضیح داده شد و رضایت کتبی از بیماران اخذ شد. همچنین اصل محرمانه بودن اطلاعات بیماران و اصول اخلاق حرفه‌ای پزشکی بر مبنای مصوبات کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه اجرا شد.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی توسط مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز می‌باشد.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

خ ی، ب ن و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند و همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

References

1. Britton W J, Lockwood D N. Leprosy. *Lancet* 2004; **363**(9416): 1209-1219.
2. Vannberg F O, Chapman S J, Hill A V. Human genetic susceptibility to intracellular pathogens. *Immunological reviews* 2011; **240**(1): 105-116. doi: 10.1111/j.1600-065x.2010.00996.x
3. World Health O. WHO Expert Committee on Leprosy. *World Health Organization technical report series* 2012; **968**: 1-61.
4. Golfurushan F, Sadeghi M, Goldust M, Yosefi N. Leprosy in Iran: an analysis of 195 cases from 1994-2009. *JPMA the Journal of the Pakistan Medical Association* 2011; **61**(6): 558-561.
5. Alcais A, Mira M, Casanova J L, Schurr E, Abel L. Genetic dissection of immunity in leprosy. *Current opinion in immunology* 2005; **17**(1): 44-48. doi: 10.1016/j.coi.2004.11.006
6. Alter A, Grant A, Abel L, Alcais A, Schurr E. Leprosy as a genetic disease. *Mammalian genome: official journal of the International Mammalian Genome Society* 2011; **22**(1-2): 19-31. doi: 10.1007/s00335-010-9287-1
7. Fitness J, Tosh K, Hill AV. Genetics of susceptibility to leprosy. *Genes and Immunity* 2002; **3**(8): 441-453. doi: 10.1038/sj.gene.6363926
8. Ridley D S, Jopling W H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases: official organ of the International Leprosy Association* 1966; **34**(3): 255-273.
9. Van Voorhis W C, Kaplan G, Sarno E N, Horwitz M A, Steinman R M. The cutaneous infiltrates of leprosy: cellular characteristics and the predominant T-cell phenotypes. *The New England journal of medicine* 1982; **307**(26): 1593-1597. doi: 10.1056/nejm198212233072601
10. Faber W R, Leiker D L, Nengerman I M, Zeijlemaker W P, Schellekens P T. Lymphocyte transformation test in leprosy: decreased lymphocyte reactivity to Mycobacterium leprae in lepromatous leprosy, with no evidence for a generalized impairment. *Infection and immunity* 1978; **22**(3): 649-656.
11. Yamamura M, Uyemura K, Deans R J, Weinberg K, Rea T H.(). Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* 1991; **254**(5029): 277-279. doi: 10.1126/science.1925582
12. Murray R A, Siddiqui M R, Mendillo M, Krahenbuhl J, Kaplan G. *Mycobacterium leprae* inhibits dendritic cell activation and maturation. *J Immunol* 2007; **178**: 338-344.
13. Khan T, Awan A A, Kazmi H S, Shah A A, Muhammad S. Frequency of ocular complications of leprosy in institutionalized patients in NWFP Pakistan. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad JAMC* 2001; **14**(4): 29-33.
14. Wan G J, Counte M A, Cella D F, Hernandez L, Deasy S, Shiomoto G. An analysis of the impact of demographic, clinical, and social factors on health – related quality of life. *Value in health* 1999; **2**(4): 308-318. doi: 10.1046/j.1524-4733.1999.24006.x
15. Momeni M, Ganbari A, Jokar F, Nezhaddalili Ehsan K. The Predictive Predictors of Quality of Life in Patients with Colorectal Cancer. *Comprehensive Nursing and Midwifery Yearbook* 2012; **67**: 53-54.
16. Moradi N. Leprosy and its ten years review in Kermanshah province. *Doctoral dissertation, Kerman University of Medical Sciences and Health Services* 1994.
17. Mahmodi A. *Combination Therapy Examination in the Treatment of Leprosy Patients and Comparison of Side*

Effects of Drugs. Leprosy Evaluation in Azadegan Health Center (Tehran Leprosy Center). Doctoral dissertation, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, 1993.

18. Dilmec F, Ozgonul A, Uzunkoy A, Akkafa F. Investigation of CTLA-4 and CD28 gene polymorphisms in a group of Turkish patients with colorectal cancer. *Int J Immunogenet* 2008; **35**: 317-321. doi: 10.1111/j.1744-313x.2008.00782.x
19. Chistiakov D A, Turakulov R I. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. *J Mol Endocrinol* 2003; **31**: 21-36. doi: 10.1677/jme.0.0310021
20. Liu Y, Liang W B, Gao L B, Pan X M, Chen T Y, Wang Y Y, et al. CTLA4 and CD86 gene polymorphisms and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Immunol* 2010; **71**: 1141-1146. doi: 10.1016/j.humimm.2010.08.007
21. Ip W K, Wong C K, Leung T F, Lam C W. Plasma concentrations of soluble CTLA-4, CD28, CD80 and CD86 costimulatory molecules reflect disease severity of acute asthma in children. *Pediatric Pulmonology* 2006; **41**: 674-682. doi: 10.1002/ppul.20432
22. Homann D, Dummer W, Wolfe T, Rodrigo E, Theofilopoulos A N, Oldstone M B, et al. Lack of intrinsic CTLA-4 expression has minimal effect on regulation of antiviral T-cell immunity. *J Virol* 2006; **80**: 270-280. doi: 10.1128/jvi.80.1.270-280.2006
23. Sutherland R M, Brady J L, Georgiou H M, Thomas H E, Lew A M. Protective effect of CTLA4Ig secreted by transgenic fetal pancreas allografts. *Transplantation* 2000; **69**: 1806-1812. doi: 10.1097/00007890-200005150-00013
24. Kristiansen O P, Larsen Z M, Pociot F. CTLA-4 in autoimmune diseases-a general susceptibility gene to autoimmunity? *Genes Immun* 2000; **1**: 170-184. doi: 10.1038/sj.gene.6363655
25. Kim SH, Lee J E, Jee Y K, Kim Y K, Park H S, Min K U, et al. Allelic variants of CD40 and CD40L genes interact to promote antibiotic-induced cutaneous allergic reactions. *Clin Exp Allergy* 2009; **39**: 1852-1856. doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03336.x
26. Liu C P, Jiang J A, Wang T, Liu X M, Gao L, Zhu R R, et al. CTLA-4 and CD86 genetic variants and haplotypes in patients with rheumatoid arthritis in southeastern China. *Genet Mol Res* 2013; **12**: 1373-1382. doi: 10.4238/2013.april.25.8
27. Chen D Q, Zeng Y, Zhou J, Yang L, Jiang S, Huang J D, et al. Association of candidate susceptible loci with chronic infection with hepatitis B virus in a Chinese population. *J Med Virol* 2010; **82**: 371-378. doi: 10.1002/jmv.21716
28. Danilovic D L, Mendes-Correa M C, Lima E U, Zambrini H, Barros R, Marui S. Correlations of CTLA-4 gene polymorphisms and hepatitis C chronic infection. *Liver Int* 2012; **32**: 803-808. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02694.x
29. Johnson G C, Esposito L, Barratt B J, Smith A N, Heward J, Di Genova G, et al. Haplotype tagging for the identification of common disease genes. *Nat Genet* 2001; **29**: 233-237. doi: 10.1038/ng1001-233
30. Domanski L, Bobrek-Lesiakowska K, Kloda K, Pawlik A, Safranow K, Wisniewska M, et al. The impact of rs231775 (49AG) CTLA4 gene polymorphism on transplanted kidney function. *Ann Transplant* 2012; **3**: 16-23. doi: 10.12659/aot.883455