

## بررسی میزان تأثیر ساب تایپ های آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA-DRB1) بر شاخص فعالیت بالینی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید مراجعه کننده به کلینیک روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

اکبر سلیمانی<sup>۱</sup>، زهرا موبدی<sup>۲\*</sup>، مرتضی هاشم زاده<sup>۳</sup>، مریم آل رسول<sup>۴</sup>، بهمن صادقی<sup>۵</sup>، عبدالرحیم کاظمی وردنجانی<sup>۶</sup>، ابوالقاسم شریفی فرادنبه<sup>۶</sup>

گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛<sup>۱</sup> گروه روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛<sup>۳</sup> گروه زنان، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛<sup>۴</sup> گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛<sup>۵</sup> معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.  
تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۳

### چکیده:

زمینه و هدف: بیماری آرتریت روماتوئید (RA)، شایع ترین بیماری التهابی مفاصل است و در صورت عدم درمان مناسب می تواند منجر به ناتوانی قابل توجه فرد بیمار گردد. عوامل متعدد ژنتیکی، محیطی و ایمونولوژیک، در پاتوژنز این بیماری نقش دارند. هدف این مطالعه بررسی اثرات ژن HLA-DRB1 بر روی شاخص فعالیت بالینی بیماری (CDAI) در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و نیز تعیین فراوانی نسبی آلل های HLA-DRB1 در این بیماری می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی تحلیلی تعداد ۶۴ نفر از بیماران مبتلا به RA مراجعه کرده به کلینیک روماتولوژی بیمارستان هاجر شهرکرد به روش نمونه گیری در دسترس بر اساس معیار های کالج روماتولوژی آمریکا (ACR) سال ۱۹۸۷ و با نظر تشخیصی روماتولوژیست انتخاب گردیدند. پس از آن همه بیماران برای تعیین CDAI اولیه مورد معاینات بالینی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA بیماران، با استفاده از روش فنل کلو فورم انواع زیر گروه های ژن HLA-DRB1 با استفاده از کیت های تخصصی و بر اساس متد SSP-PCR تعیین گردید. معاینه دوم بیماران ۶ ماه بعد انجام شد و با تکمیل چک لیست مربوط به هر بیمار تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از تست های آماری کای اسکوئر و تی تست گروه های زوجی انجام شد. یافته ها: شایعترین HLA-DRB1 موجود در بیماران مورد مطالعه نوع \*۰۴ با فراوانی نسبی ۳۱/۳ درصد بود. در بیماران دارای \*۱۵، \*۰۱، \*۰۴، HLA-DRB1، شاخص فعالیت بالینی شان بعد از ۶ ماه واضحاً کاهش پیدا کرده (P<۰/۰۵)، ولی در سایر گروه های بیمار این نتایج دیده نشد (P>۰/۰۵).

نتیجه گیری: به نظر می رسد رفتارهای چند عاملی در بیماری RA وجود دارد. بیماران دارای \*۱۵، \*۰۱، \*۰۴ HLA-DRB1 پاسخ های درمانی خوبی به درمان های روتین ما داده اند؛ اما خلاف این موضوع در منابع علمی ذکر شده که به نظر می رسد بیماران دارای \*۰۴ HLA-DRB1 کاهش CDAI ثانویه نداشته باشند. شاید دیگر عوامل محیطی و ژنتیکی در اتیولوژی بیماری اهمیت زیادی داشته باشند.

واژه های کلیدی: آرتریت روماتوئید، آنتی ژن لکوسیت انسانی، شاخص فعالیت بالینی بیماری.

### مقدمه:

عملکردی و روحی، آسیب های جدی بر بیماران وارد نماید و افراد مؤثر جامعه را از چرخه اقتصادی اجتماعی خارج نموده و هزینه های گزافی را بر فرد و جامعه تحمیل نماید. از طرفی

بیماری آرتریت روماتوئید ( Rheumatoid Arthritis=RA) که شایع ترین بیماری التهابی مفصلی است، یک بیماری مزمن با اثرات تخریبی فراوانی بر مفاصل می باشد و می تواند از نظر

\*نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- گروه روماتولوژی- تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۳۵۶۵۴، E-mail: Z\_mobedi@yahoo.com

تحت عنوان اپی توپ مشترک  
(SE = Shared Epitope) دارند (۴).

در حاملین آلل‌های SE آنتی‌بادی‌های ضد CCP تولید می‌شوند و فرجام بیماری بدتر است. برخی از این آلل‌های HLA-DRB1 با خطر بالای بیماری همراهند (۰۴۰۱\*)، در حالی که آلل‌های دیگر خطر معتدل تری در بردارند (۰۱۰۱\*، ۰۴۰۴\*، ۱۰۰۱\*، ۰۹۰۱\*). در مقام مقایسه، آلل‌های ۰۴۰۱\* یا ۰۴۰۴\* در تقریباً ۷۰-۵۰ درصد ساکنین اروپای غربی یافت می‌شوند و آلل‌های خطر ساز غالب در این نژاد می‌باشند. شایع‌ترین آلل‌های SE مستعد کننده در آسیایی‌ها (ژاپنی‌ها، کره‌ای‌ها و چینی‌ها) ۰۴۰۵\* و ۰۹۰۱\* می‌باشند. شیوع RA در نژاد سرخپوستان آمریکا (Yakima, pima) که حدود ۷٪ می‌باشد با آلل ۱۰۴۲\* ارتباط دارد (۳). در سال ۲۰۱۰ معیارهای طبقه بندی ACR (American College of Rheumatology) برای RA مربوط به سال ۱۹۸۷ مورد بازنگری قرار گرفتند و هدف از این بازنگری بهبود روند تشخیص زودرس بیماری به منظور شناسایی بیمارانی بود که می‌توانستند از تجویز زودرس درمان تعدیل‌گر بیماری سود ببرند (۵). معیارها اخیراً بازنگری شده امتیاز (۱۰-۰) را مطرح می‌کند و امتیاز  $\leq 6$  تشخیص RA را قطعی می‌کند، این معیارها به تشخیص زودرس بیمارانی که احتمال پیدایش یک بیماری مزمن همراه با سینوویت و صدمه مفصلی نزد آنان بالاست کمک می‌کند و وجود ندول‌های زیر پوستی یا ساییدگی‌های مفصلی در رادیوگرافی (اروزیون) می‌تواند در مراحل دیررس بیماری به تشخیص RA کمک کند این معیارها عبارتند از: تعداد مفاصل درگیر، تست سرولوژی (تیترا RF و Anti CCP)، واکنش‌گرهای مرحله حاد و مدت زمان

فاکتورهای مؤثر ژنتیکی که همانا HLA-DRB1 و ساب تایپ‌های آن می‌باشد در جوامع و نژادهای مختلف از الگوهای متفاوتی تبعیت می‌کند (۱).

گرچه هنوز هیچ عاملی به عنوان آغازگر اصلی و اولیه بیماری RA مشخص نشده است؛ اما شواهدی وجود دارد که نشان دهنده وجود التهاب سینوویال احتمالاً ناشی از برهم کنش پیچیده عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمنولوژیک می‌باشند. به نظر می‌رسد زودرس‌ترین واقعه، پاسخ التهابی غیر اختصاصی می‌باشد که محرک آغاز آن ناشناخته است و با تجمع ماکروفاژها و سایر سلول‌های تک هسته‌ای در لایه سینوویوم مشخص می‌گردد. فعالیت این سلول‌ها با افزایش ظهور سیتوکین‌های مشتق شده از ماکروفاژها از جمله اینترلوکین ۱ (IL1)، اینترلوکین ۶ (IL6) و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF $\alpha$ ) نشان داده می‌شود (۲). میزان نقش عوامل ژنتیکی در بیماری RA می‌تواند در مطالعات مختلف متفاوت باشد که علت آن برهم کنش‌های ژن-محیط می‌باشد. سیستم آنتی‌ژن لکوسیت انسانی (HLA)، در افراد مختلف با مشخصه‌های مختلف در ایجاد بیماری‌های روماتولوژیک نقش دارد. بخش عمده خطر ابتلا به آرتریت روماتوئید مربوط به تنوع آللی در ژن HLA-DRB1 است که مولکول زنجیره بتای MHC-II را کد می‌کند (۳).

بررسی‌های اولیه نشان داده‌اند که ۷۰٪ مبتلایان به RA، دارای HLA-DR4 می‌باشند (در مقایسه با ۲۸٪ افراد شاهد) و در افرادی که نزد آنان، RA همراه با تولید آنتی‌بادی‌های ضد پلی‌پپتیدهای سیترولینه حلقوی (Anti CCPAb) پدید می‌آید این ارتباط بسیار قوی است. آلل‌های بیماری‌زای HLA-DRB1 یک سکانس آمینو اسیدی مشترک در موقعیت ۷۴-۷۰ در منطقه Hypervariable سوم زنجیره بتای HLA-DR

وجود علائم (۵). در بررسی Ucar و همکارانش در سال ۲۰۱۲ فراوان ترین آلل های مرتبط با بیماری RA در جمعیت ترک در شرق دریای سیاه عبارت بودند از (\*۰۱)، (\*۰۴) و (\*۰۹) و HLA نوع (\*۰۱۳) از همه کمتر بود (۶).

Nagi و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به این نتیجه رسیدند که HLA-DRB1 (\*۰۴) فراوانی بالایی در بیماران RA دارد؛ ولی در گروه کنترل نوع (\*۱۱) فراوان ترین آلل شناخته شده بود که می تواند اثر محافظتی برای بیماری RA داشته باشد (۷). Mackie و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در انگلستان مطالعه ای به منظور بررسی انواع مختلف HLA در بیماران RA با تیتر مثبت آنتی CCP انجام دادند و دریافتند که زیر گروه های \*۰۴۰۱ و \*۰۴۰۴ HLA-DRB1 در پاتوژنز بیماری RA نقش مؤثری دارند. همچنین HLA-DRB1 با SE مثبت در بیماران RF (Rheumatoid factor) مثبت فراوانتر است و نوع \*۷۰ HLA-DRB1 اثر محافظتی برای بیماران با آنتی بادی مثبت دارد (۸).

در مطالعه صندوقی و همکارانش در زاهدان در سال ۲۰۱۱ مشخص گردید که HLA نوع (DRB1FN\*0110) یک ریسک فاکتور و HLA نوع (DRB1FN\*0103) دارای اثر محافظتی برای ابتلا به بیماری RA می باشد (۹).

Mitsunagu و همکارانش سال ۲۰۱۲ در تحقیقی با موضوع بررسی ارتباط میان ۶ مکان کلاسیک HLA و بیماری RA، دریافتند که هیچیک از لوکوس های HLA به طور قابل توجهی با منفی بودن آنتی بادی های ضد CCP (cyclic citrullinated peptide) در بیماران RA ارتباط نداشتند؛ اما بررسی انجام شده در بیماران واجد آنتی بادی های ضد CCP نشان داد که وجود

Laki و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در سوئد به بررسی ارتباط میزان خیلی بالای آنتی بادی ضد CCP و HLA-DRB1 \*۱۵ (غیر SE) در بیماران مبتلا به RA پرداختند و نتایجی که از این مطالعه گرفتند، نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه ای در فعالیت زمینه ای بیماری بین بیماران با تیتر خیلی بالای آنتی CCP و تیتر متوسط آن وجود نداشت؛ ولی در بیماران با تیتر بالا فراوان ترین نوع \*۱۵ HLA-DRB1 بود که می توان نتیجه گرفت خود \*۱۵ HLA-DRB1 ممکن است باعث تحریک تولید میزان بالایی از آنتی CCP بشود (۱۱). Diaz و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در کلمبیا، نتیجه گرفتند آنتی بادی های ضد CCP و HLA نوع [(DRB1 (\*۷۰))] با شروع بیماری RA در سنین پایین تر مرتبط می باشد (۱۲). Louzada و همکارانش در سال ۲۰۰۸ در برزیل پژوهشی با عنوان بررسی ارتباط HLA-DRB1 و SE مثبت و آنتی CCP در بیماران RA انجام دادند. آن ها دریافتند فراوانی مثبت شدن آنتی بادی ضد CCP در بیماران SE مثبت بیشتر از SE منفی است و HLA های \*۰۴۰۱، \*۰۴۰۴، \*۰۴۰۵، \*۰۱۰۱، \*۰۱۰۱، \*۱۴۰۲ فراوان ترین آلل ها بوده و همچنین میزان SE مثبت فراوانی بیشتری دارد (۱۳). شریعتی در سال ۱۳۸۰ با بررسی ۱۲۰ بیمار مبتلا به RA و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان شاهد به این نتیجه رسید که HLA-DRB1 با شیوع ۴۰٪ در بیماران مبتلا به RA وجود دارد، همچنین HLA-DR3,4 کمترین میزان شیوع را داشته و HLA-

وجود علائم (۵). در بررسی Ucar و همکارانش در سال ۲۰۱۲ فراوان ترین آلل های مرتبط با بیماری RA در جمعیت ترک در شرق دریای سیاه عبارت بودند از (\*۰۱)، (\*۰۴) و (\*۰۹) و HLA نوع (\*۰۱۳) از همه کمتر بود (۶).

Nagi و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به این نتیجه رسیدند که HLA-DRB1 (\*۰۴) فراوانی بالایی در بیماران RA دارد؛ ولی در گروه کنترل نوع (\*۱۱) فراوان ترین آلل شناخته شده بود که می تواند اثر محافظتی برای بیماری RA داشته باشد (۷). Mackie و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در انگلستان مطالعه ای به منظور بررسی انواع مختلف HLA در بیماران RA با تیتر مثبت آنتی CCP انجام دادند و دریافتند که زیر گروه های \*۰۴۰۱ و \*۰۴۰۴ HLA-DRB1 در پاتوژنز بیماری RA نقش مؤثری دارند. همچنین HLA-DRB1 با SE مثبت در بیماران RF (Rheumatoid factor) مثبت فراوانتر است و نوع \*۷۰ HLA-DRB1 اثر محافظتی برای بیماران با آنتی بادی مثبت دارد (۸).

در مطالعه صندوقی و همکارانش در زاهدان در سال ۲۰۱۱ مشخص گردید که HLA نوع (DRB1FN\*0110) یک ریسک فاکتور و HLA نوع (DRB1FN\*0103) دارای اثر محافظتی برای ابتلا به بیماری RA می باشد (۹).

Mitsunagu و همکارانش سال ۲۰۱۲ در تحقیقی با موضوع بررسی ارتباط میان ۶ مکان کلاسیک HLA و بیماری RA، دریافتند که هیچیک از لوکوس های HLA به طور قابل توجهی با منفی بودن آنتی بادی های ضد CCP (cyclic citrullinated peptide) در بیماران RA ارتباط نداشتند؛ اما بررسی انجام شده در بیماران واجد آنتی بادی های ضد CCP نشان داد که وجود

## روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی تحلیلی کلیه بیمارانی مراجعه کننده به کلینیک روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (اردیبهشت ۸۹ لغایت مرداد ماه ۹۱) که بر اساس معیارهای ACR (۱۹۸۷) و با نظر روماتولوژیست مبتلا به RA برای آن‌ها اثبات شده به روش نمونه‌گیری در دسترس وارد مطالعه شدند. اطلاعات لازم شامل اطلاعات دموگرافیک از قبیل سن و جنس، طول مدت بیماری، داروهای دریافتی، نتایج معاینه اولیه، اندکس فعالیت بالینی بیماران (CDAI) در پرسشنامه ای ثبت شد. بیمارانی که همزمان آرتریت عفونی داشتند و بیمارانی که رضایت به نمونه‌گیری از آن‌ها داده نمی‌شد از مطالعه خارج شدند. در نهایت ۶۴ بیمار در مطالعه حاضر بودند. پس از توجیه اولیه بیماران و ارائه توضیحات لازم و انجام معاینات فیزیکی کامل و گرفتن شرح حال دقیق، میزان ۵ میلی لیتر خون از بیماران گرفته شد و نمونه‌های خون حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جهت انجام آزمایشات مولکولی و HLA-typing به محیط دوم تحقیقات یعنی مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، انتقال یافت. استخراج DNA با روش فنل کلروفورم انجام شد. جهت بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از روش اسپکتروفوتومتری استفاده شد. پس از استخراج DNA، در آزمایشگاه تخصصی در اصفهان انواع زیر گروه‌های HLA-DRB1 با استفاده از کیت‌های تخصصی تعیین گردید (این عمل به روش SSP. PCR، با استفاده از کیت INNO-TRAIN ساخت کشور آلمان انجام گردید).

DR2,3 و HLA-DRW,232 نقش حفاظتی ایفا می‌نمایند (۱۴). طاهری و همکارانش در سال ۱۳۸۵ در مطالعه‌ای که با عنوان بررسی ارتباط آلل‌های ژن HLA-DQB1 با بیماری RA در استان خراسان انجام دادند به این نتیجه رسیدند که آلل‌های DQ5 و DQ8 در بیماران RA نسبت به افراد سالم بیشتر دیده می‌شوند و می‌توانند در افزایش ریسک ابتلا به بیماری RA در جمعیت خراسانی‌ها نقش داشته باشند (۱۵). در استان چهارمحال و بختیاری، با توجه به وجود ازدواج‌های فامیلی و قومیت‌های مشخص، تا به حال مطالعه‌ای در رابطه با ارتباطات ژنتیکی بیماری‌های روماتولوژیک انجام نشده است و اطلاعاتی در مورد میزان شیوع بیماری و نقشه ژنتیکی مرتبط با این بیماری در دسترس نیست. وجود ارتباط مستقیم بروز و شدت بیماری با نوع و الگو HLA در مناطق جغرافیایی مختلف و از طرفی ارتباط HLA با میزان مثبت شدن فاکتورهای سرولوژیک، اهمیت این مطالعه را که اختصاصاً در یک استان با یک جمعیت مشخص انجام می‌شود، دوچندان می‌کند.

از آنجا که در چندین مطالعه مختلف ارتباط سیستم HLA، به ویژه زیر گروه‌های HLA-DR4 و اختصاصاً HLA-DR1 با بیماری RA مثبت مطرح شده، به نظر می‌رسد تعیین HLA می‌تواند به تعیین پیش‌آگهی بیماری و طراحی نوع درمان کمک کند، بنابراین با توجه به موارد فوق‌الذکر، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی نسبی آلل‌های HLA-DRB1 و تأثیر آن‌ها را بر شاخص فعالیت بالینی (CDAI = Clinical Disease Activity Index) بیماری RA مورد بررسی قرار دهیم.

### یافته ها:

از نظر توصیف متغیرهای دموگرافیک در گروه مطالعه ۱۰/۹ درصد مرد و ۸۹/۱ درصد زن بودند، همچنین سابقه فامیلی ابتلا به RA در ۷۰/۳٪ موارد منفی و در ۲۹/۷٪ مثبت بود. میانگین سنی نمونه ها ۴۹/۵±۱۳/۰۹ سال و طول مدت ابتلاء نیز ۹/۲±۷/۹ سال بود. فراوان ترین HLA در بیماران مراجعه کننده در مطالعه ما HLA-DRB1\*۰۴ بود و بعد از آن HLA-DRB1\*۱۱ و سپس HLA-DRB1\*۰۱. در این مطالعه همچنین در ۶۴ بیمار مورد بررسی حداکثر شاخص فعالیت بالینی اولیه ۲۴ با میانگین ۷/۸۱ و انحراف معیار ۵/۱۳، حاصل شد.

### جدول شماره ۱: مقایسه فراوانی نسبی شایع ترین آلل های

#### HLA-DRB1 در بیماران آرتریت روماتوئید

HLA-DRB1	فراوانی	درصد
۰۴	۲۰	۳۱/۳
۱۱	۱۵	۲۳/۴
۰۱	۱۰	۱۵/۶
۱۵	۹	۱۴/۱
۱۰	۴	۶/۳
۱۴	۳	۴/۷
۰۷	۲	۳/۱
۱۶	۱	۱/۶
جمع کل	۶۴	۱۰۰

از نظر آماری تفاوت معنی داری بین دو جنس از لحاظ سابقه فامیلی ابتلا به بیماری RA وجود نداشت. همچنین بین جنس و نوع HLA، بین جنس و سن بیماران ( $M=52/4 \pm 16$ ) و ( $F=49/1 \pm 12$ )، جنس و طول مدت ابتلا ( $M=8/2 \pm 9$  و  $F=9/3 \pm 7$ ) و جنس و شاخص فعالیت بالینی ( $M=8/1 \pm 5$  و  $F=7/7 \pm 5$ ) تفاوت

برای بررسی محصول PCR از ژل آگارز استفاده شد. این تکنیک، ساده و سریع می باشد و محل قرار گرفتن قطعات DNA در داخل ژل به وسیله ی رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید مشخص می شود. نتایج بر اساس جداولی که توسط کمپانی سازنده کیت ارائه شده است تفسیر شد. در واقع این جداول اطلاعات مورد نیاز در خصوص اندازه طول محصول هر well (اندازه مورد انتظار باند DNA و باند کنترل داخلی در هر well) را در اختیار ما قرار می دهد.

به منظور دستیابی به اهداف طرح پس از شناسایی ساب تایپ های شایع زیر نظر یک نفر فوق تخصص روند درمانی مشابهی به مدت شش ماه برای نمونه ها طراحی و اجرا گردید و در این مدت نیز با پیگیری و معاینات مکرر سعی گردید فرآیند درمان در کل نمونه ها یکسان دنبال گردد. در این مطالعه تعیین شاخص فعالیت بیماری (CDAI) طبق سیستم ۱ تا ۱۰ امتیازی و بر اساس تعداد مفاصل حساس، تعداد مفاصل متورم، ارزیابی بیمار و ارزیابی بالینی پزشک از بیماری قرار گرفتند (۵).

بیماران تحت مداخلات طبی معمول قرار گرفتند و پس از ۶ ماه مجدداً معاینه شدند و پرسشنامه جدید برای ایشان پر شد و شاخص CDAI آنان تعیین گردید. در انتهای مطالعه تغییر اندکس مذکور به عنوان شاخص پاسخ به درمان در هر گروه تعیین و با یکدیگر مقایسه شد. پس از جمع آوری داده ها و ورود اطلاعات در نرم افزار آماری (SPSS۱۶)، با استفاده از تست های آماری کای اسکوئر و تی تست گروه های زوجی، تجزیه و تحلیل داده ها انجام شد.

HLA های شایع ( $P=0/349$ ) و شاخص فعالیت بالینی ( $P=0/123$ ) تفاوت آماری معنی دار نشان داده نشد؛ اما طول مدت بیماری در HLA\*15 با سایر HLA ها تفاوت آماری معنی دار داشت ( $P<0/05$ ).

همچنین تست آماری کای اسکوئر در HLA های شایع نشان داد که بین جنس و نوع HLA ( $P=0/145$ ) و سابقه فامیلی با نوع HLA ( $P=0/213$ ) تفاوت آماری معنی دار وجود ندارد.

آماري معنی داری دیده نشد ( $P>0/05$ ). 35 نفر از بیماران مؤنث دارای سابقه فامیلی منفی و 12 نفر دارای سابقه فامیلی مثبت بودند و همچنین تعداد 4 نفر از بیماران مذکر دارای سابقه مثبت فامیلی و 3 نفر دارای سابقه منفی بودند، تفاوت آماری معنی داری بین جنسیت و سابقه فامیلی در بیماران با HLA های شایع یافت نشد ( $P=0/087$ ). با توجه به توزیع غیر نرمال متغیر های فوق در HLA های شایع بر اساس تست کروسکال والیس بین سن در

### جدول شماره ۲: شدت فعالیت بالینی اولیه و شش ماه بعد به تفکیک ساب تایپ آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA)

P	فعالیت بالینی 6 ماه بعد	فعالیت بالینی اولیه	نوع آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA)
0/002	5/22±3/23	9/32±5/78	HLA-DRB1*04
0/197	8/83±6/76	5/93±3/78	HLA-DRB1*11
0/045	4/6±3/18	8/4±3/93	HLA-DRB1*15
0/046	5/94±4/73	7/75±4/95	HLA های شایع
0/766	4/86±6/25	5/13±7/81	کل نمونه ها

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند.

اولیه در کل بیماران RA کاهش پیدا کرده است ولی با توجه به  $P=0/66$  می توان گفت این تفاوت آماری معنی دار نمی باشد (جدول شماره ۲).

### بحث:

در این مطالعه فراوانی انواع مختلف HLA-DRB1 بترتیب عبارت بودند از: نوع\*04 به میزان 0/31/3، نوع\*11 با فراوانی 23/4٪، نوع\*01 با فراوانی 15/6٪ و نوع\*15 به میزان 15/6٪. همانگونه که مشاهده می شود فراوان ترین آلل در بین بیماران HLA-DRB1\*04 می باشد، که تحت عنوان SE خوانده می شود، و این امر موید همخوانی این مطالعه با بسیاری از مطالعات مشابه انجام شده در این زمینه می باشد. از جمله Ucar و

بر اساس آزمون ناپارامتری من ویتنی شاخص فعالیت بالینی بیماری 6 ماه بعد در دسته بیماران که دارای شایع ترین HLA-DRB1 بودند از نظر عددی کاهش پیدا کرده است ( $P<0/05$ ).

شاخص فعالیت بالینی اولیه و شش ماه بعد در HLA-DRB1\*01 کاهش معنی دار داشت ( $P=0/043$ ).

شاخص فعالیت بالینی بیماری HLA-DRB1\*11 بعد از 6 ماه افزایش پیدا کرده که این خلاف انتظار است؛ ولی با توجه به عدد  $P=0/197$  از نظر آماری این تفاوت معنی دار نبود. شاخص فعالیت بالینی بیماری در 6 ماه بعد نسبت به معاینه

B19، استرپتوکوک و یا مایکو پلاسما و عوامل ژنتیکی دیگر، به نتایج قابل قبول تری دست یافت (۳). میانگین سنی بیماران مورد پژوهش حدود ۴۹/۵ سال بود که با محدوده سنی شیوع این بیماری در جوامع مختلف براساس فرانس های معتبر همخوانی دارد (۳).

در این مطالعه، در بین HLA های بدست آمده از بیماران، ارتباط HLA-DRB1 نوع \*۱۵ با طول مدت ابتلاء بیماری از نظر آماری معنی دار بود که نیاز است در این زمینه مطالعات تکمیلی انجام شود، چرا که در بررسی متون در این رابطه مطلبی یافت نشد (۶). در مطالعه ما بیماران با HLA-DRB1 \*۰۴ در مقایسه با سایر بیماران پاسخ بهتری به درمان داده اند ولی در مطالعه Mori و همکاران در ژاپن (۲۰۱۰) این HLA با شدت بالای بیماری و مقاومت های دارویی به DMARD ها همراه بود (۱۹). احتمالاً تفاوت در سایر عوامل ژنتیکی (به غیر از HLA) توجیه کننده این اختلاف باشد. در بیماران با HLA-DRB1 \*۱۱ که شامل ۱۵ بیمار بوده است CDAI پس از ۶ ماه افزایش نشان داده است که البته معنی دار نبوده ولی قابل انتظار نیست. با توجه به کم بودن تعداد بیماران نمی توان با اطمینان اظهار نظر نمود و توجیه دقیق تر نیازمند مطالعه در سطح وسیعتر است، شاید این نوع HLA با بیماری شدیدتری ارتباط داشته باشد. البته این افزایش می تواند نشان دهنده عدم پاسخ به درمان و احتمال بوجود آمدن مقاومت دارویی در مورد این ساب تایپ نیز باشد. این موضوع از این نظر اهمیت دارد که شاید در آینده بتوان با تعیین الگوی ژنتیکی بیماران، علاوه بر HLA، از جمله STAT4 و PAD4، در طراحی الگوی درمانی (از جمله تصمیم گیری در مورد شروع داروی بیولوژیک) و پیش بینی عوارض دراز مدت قدم های موثری برداشت.

همکاران در ترکیه (۶)، Nagi و همکاران در پاکستان (۷)، Mitsunagu و همکاران در ژاپن (۱۰)، Ben Hamed و همکاران در تونس (۱۶) و Farouk و همکاران در مصر (۱۷). همانگونه که اشاره شد این آلل می تواند استعداد ابتلا به بیماری را افزایش دهد و همچنین با پیش آگهی بیماری RA در ارتباط می باشد (۱۸). یکی از اهداف اساسی پژوهش حاضر بررسی فراوانی شیوع آلل های HLA-DRB1 در جمعیت استان چهارمحال و بختیاری در بین بیماران مبتلا به RA بود. در مطالعات مختلف، بعضی ساب تایپ های خاص در بین نژادها و مناطق جغرافیایی متفاوت دنیا، شیوع بالاتری دارد، مثلاً در جمعیت بیماران مبتلا به RA در ترکیه HLA نوع \*۰۹ و \*۰۴ و \*۰۱ و در جمعیت بیماران تونس HLA-DRB1 نوع \*۰۴ شیوع بیشتری داشته است و حتی به نظر می رسد در خود کشور ایران، در استان های مختلف، ساب تایپ های مختلف شیوع متفاوتی داشته باشند. به عنوان مثال در مطالعه ای که در زاهدان انجام شد، شیوع HLA-DRB1 زیر گروه \*۰۱۱۰ بالاتر گزارش شده (۱۴) و در استان خراسان در مطالعه ای که بین بیماران RA انجام شده شیوع HLA نوع DQ5 میزان بالاتری را به خود اختصاص داده است (۱۵).

انتظار می رفت باتوجه به نقش مؤثر آنتی ژن های لکوسیت انسانی مشخص و الگوهای ژنتیکی در ایجاد بیماری RA، سابقه فامیلی ابتلا به میزان قابل توجهی مثبت باشد، که البته در ۳۰٪ بیماران ما سابقه خانوادگی مثبت است ولی با توجه به اینکه حدود ۷۰٪ بیماران دارای سابقه فامیلی منفی بیماری بودند، به نظر می رسد که نقش عوامل ژنتیک دیگر و یا عوامل محیطی نیز در ایجاد بیماری پر رنگ باشد و نیاز به مطالعات کامل تری می باشد، تا بتوان با مقایسه تأثیر عوامل محیطی همچون سیگار، سیلیکون، روغن معدنی و عوامل عفونی همچون EBV (ویروس اپشتین بار)، پاروو و ویروس

### نتیجه‌گیری:

به نظر می‌رسد رفتارهای چند عاملی در بیماری RA وجود دارد. بیماران دارای HLA-DRB1\*04،\*01،\*15 پاسخ‌های درمانی خوبی به درمان‌های روتین ما داده‌اند؛ اما خلاف این موضوع در منابع علمی ذکر شده که به نظر می‌رسد بیماران دارای HLA-DRB1\*04 کاهش‌ی در CDAI ثانویه نداشته باشند. شاید دیگر عوامل محیطی و ژنتیکی در اتیولوژی بیماری اهمیت زیادی داشته باشند.

### تشکر و قدردانی:

این مطالعه در قالب پایان‌نامه دکترای دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. بدینوسیله از کلیه افرادی که در این پژوهش همکاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

با توجه به اینکه این اولین مطالعه از این نوع در استان چهارمحال و بختیاری می‌باشد، پیشنهاد می‌گردد تحقیقاتی وسیع‌تری (با توجه به میزان شیوع و بروز بیماری) و در مقایسه با گروه شاهد در این بیماری و حتی سایر بیماری‌های روماتولوژیک از جمله SLE، برنامه‌ریزی گردد تا دقیق‌تر بتوان در مورد نقش سیستم HLA به عنوان عامل مستعدکننده یا محافظ اظهار نظر نمود. از آنجا که در برخی مطالعات قبلی نشان داده شده که ممکن است سابقه خانوادگی مثبت یک عامل خطر برای تخریب مفاصل باشد، پیشنهاد می‌شود تا تحقیقاتی در زمینه تعیین HLA در این گروه از بیماران انجام گردد.

### منابع:

1. Al-Shukaili A, Al-Ghafri S, Al-Marhoobi S, Alkaabi J. Evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin antibodies, anti-cyclic citrullinated Peptide antibodies and rheumatoid factor in omani patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheumatol*. 2012; 2012: 285854.
2. Molenaar ET, Voskuyl AE, van der Horst-Bruinsma IE, Schreuder GM, Zanelli E, Dijkmans BA. Influence of HLA polymorphism on persistent remission in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2002 Apr; 61(4): 351-3.
3. Harrison H, Brawnwald G, Fucci T, Kasper R. Principles of internal medicine. 18th ed. USA: McGraw Hili; 2012.
4. Fugger L, Svejgaard A. Association of MHC and rheumatoid arthritis. HLA-DR4 and rheumatoid arthritis: studies in mice and men. *Arthritis Res*. 2000; 2(3): 208-11.
5. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010 Sep; 69(9): 1580-8.
6. Ucar F, Karkucak M, Alemdaroglu E, Capkin E, Yucel B, Sonmez M, et al. HLA-DRB1 allele distribution and its relation to rheumatoid arthritis in eastern Black Sea Turkish population. *Rheumatol Int*. 2012 Apr; 32(4): 1003-7.
7. Naqi N, Ahmed TA, Malik JM, Ahmed M, Bashir MM. HLA DRbeta1 alleles in Pakistani patients with rheumatoid arthritis. *J Coll Physicians Surg Pak: JCPSP*. 2011 Dec; 21(12): 727-30.
8. Mackie SL, Taylor JC, Martin SG, Consortium Y, Consortium U, Wordsworth P, et al. A spectrum of susceptibility to rheumatoid arthritis within HLA-DRB1: stratification by autoantibody status in a large UK population. *Genes Immun*. 2012 Feb; 13(2): 120-8.
9. Sandoughi M, Fazaeli A, Bardestani G, Hashemi M. Frequency of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis patients in Zahedan, southeast Iran. *Ann Saudi Med*. 2011 Mar-Apr; 31(2): 171-3.



10. Mitsunaga S, Suzuki Y, Kuwana M, Sato S, Kaneko Y, Homma Y, et al. Association between six classical HLA loci and rheumatoid arthritis; A comprehensive analysis. *J Tissue Antigens*. 2012.
11. Laki J, Lundstrom E, Sniro, Ronnelid J, Ganji AL, Bengtsson C, et al. Very high levels of anti-citrullinated protein antibodies are associated with HLA-DRB1\*15 non shared epitope allele in patients with rheumatoid arthritis. *J Arthritis Rheum*. 2012; 64(7): 2078-84.
12. Diaz FJ, Rojas-Villarraga A, Salazar JC, Iglesias-Gamarra A, Mantilla RD, Anaya JM. Anti-CCP antibodies are associated with early age at onset in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2011 Mar; 78(2): 175-8.
13. Louzada-Junior P, Freitas MV, Oliveira RD, Deghaide NH, Conde RA, Bertolo MB, et al. A majority of Brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrullinated peptide antibodies. *Braz J Med Biol Res*. 2008 Jun; 41(6): 493-9.
14. Shariati Jale , Hatef MB. A study of HLA system in patients with rheumatoid arthritis. *J Mashad Univ Med Sci*. 2002; 44(43): 9-15.
15. Taheri shoji sadeghizade, Afshari tavakol J. Association between HLA DRB1 with rheumatoid arthritis in Khorasan province in Iran. *J Modares med Science*. 2007; 9(1): 25-39.
16. Ben Hamad M, Mahfoudh N, Marzouk S, Kammoun A, Gaddour L, Hakim F, et al. Association study of human leukocyte antigen-DRB1 alleles with rheumatoid arthritis in south Tunisian patients. *Clin Rheumatol*. 2012 Jun; 31(6): 937-42.
17. Farouk HM, Mansour HE, Rahman SA, Mostafa AA, Shamy HA, Zarouk WA. Effect of the human leukocyte antigen HLA-DRB1 and anti-cyclic citrullinated peptide on the outcome of rheumatoid arthritis patients. *Braz J Med Biol Res*. 2009 Sep; 42(9): 831-8.
18. Kapitany A, Szabo Z, Lakos G, Aleksza M, Vegvari A, Soos L, et al. Associations between serum anti-CCP antibody, rheumatoid factor levels and HLA-DR4 expression in Hungarian patients with rheumatoid arthritis. *Isr Med Assoc J*. 2008 Jan; 10(1): 32-6.
19. Mori S, Hirose J, Yonemura K. Contribution of HLA-DRB1\*04 alleles and anti-cyclic citrullinated antibodies to development of resistance to disease-modifying antirheumatic drugs in early rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2010 Dec; 29(12): 1357-66.

## The effect of HLADRB1 subtypes, on clinical diseases activity index in rheumatoid arthritis patients referred to rheumatology clinic of Shahrekord University of Medical Sciences

Soleimani A<sup>1</sup>, Mobedi Z<sup>2\*</sup>, Hashemzadeh M<sup>3</sup>, Alerasoul M<sup>4</sup>, Sadeghi B<sup>5</sup>, Kazemi-Vardanjani AR<sup>6</sup>, Sharifi-Faradonbeh A<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Internal Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran;

<sup>2</sup>Rheumatology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran;

<sup>3</sup>Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran;

<sup>4</sup>Gynecology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran;

<sup>5</sup>Social Medicine Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran;

<sup>6</sup>Deputy of Research and Technology, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 20/May/2013 Accepted: 0/Oct/2013

**Background and aims:** Rheumatoid Arthritis (RA) is a common inflammatory joint disease with substantial morbidity, specially, if remained untreated. Genetics, environmental and immunologic factors have important roles in pathogenesis of disease. The aim of this study was to investigate the effect of HLADRB1, its subtypes on clinical disease activity index (CDAI) and to diagnose the frequency of HLADRB1 alleles in RA patients.

**Methods:** In this descriptive analytic study, 64 patients with RA were selected based on ACR criteria by convenience sampling. All patients were studied to assess primary CDAI. Patients' DNA was extracted by using phenol chloroform method. Then it was assessed HLADRB1 based on (SSP- PCR) method by innotrain kits made in Germany. After preparing results of lab data, patients was examined for the second stage (6 month later) and completed questionnaires for each patient, and analyzed hypothesis of study.

**Results:** The common HLADRB1 in patients was HLADRB1 (04) in frequency 31.3%. In patients with HLDRB1 (04), (01), (15), CDAI decreased after 6 month ( $p < 0.05$ ), but it was not observed in others patients significant ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** This study showed the multi-factorial character of RA patients may be present. It was found out that the patients with HLADRB1 (04), (01), (15) have good response to routine treatments, against the references that seems HLADRB1 (04) have no decrease in secondary CDAI. Perhaps environmental and genetic factors affect very important in etiology. Supplementary surveys could complete and promote these results.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, HLADRB1, Clinical disease activity index.

Cite this article as: Soleimani A, Mobedi Z, Hashemzadeh M, Alerasoul M, Sadeghi B, Kazemi-Vardanjani AR, Sharifi-Faradonbeh A. The effect of HLADRB1 subtypes, on clinical diseases activity index in rheumatoid arthritis patients referred to rheumatology clinic of Shahrekord University of Medical Sciences. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014 Apr, May; 16(1): 81-90.

**\*Corresponding author:**

Rheumatology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.  
Tel: 00983813335654, E-mail: Z\_mobedi@yahoo.com