Archive of SID

مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـــگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۵، شماره‌ی ۱۰۸، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶، صفحات ۱۲۹ تا ۱۳۶

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

بررسی فراوانی موتاسیون آللی *CCR5Δ32* در افراد سالم استان زنجان

عالیه فرشباف[۱]، دکتر علیرضا بیگلری[۲]، دکتر سقراط فقیه زاده[۳]، دکترعبدالرضا اسماعیل زاده[۴و۵]

نویسنده‌ی مسوول: گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان a46reza@zums.ac.ir

دریافت: ۹۴/۱۰/۱۵ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: *CCR5 به‌عنوان کورسپتور اصلی در عفونت HIV شناخته شده است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند حذف شدگی 32bp در هر دو آلل CCR5 سبب مقاومت طبیعی به‌عفونت HIV می‌شود، بنابراین رویکردهای جدید درمانی بر اساس ژن درمانی و سلول درمانی با القای این مقاومت بنا شده‌اند. هدف از این پروژه، علاوه بر تعیین فراوانی جهش CCR5 Δ32 برای اولین بار در افراد سالم در استان زنجان، یافتن کاندید مناسب برای استراتژی‌های اخیر درمانی بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه، نمونه‌های خونی از ۲۰۰ فرد سالم در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شدند. DNA ژنومی استخراج شد و برای جهش CCR5 Δ32 توسط GAP-PCR مورد آنالیز قرار گرفت. فراوانی آللی و شایستگی با تعادل هاردی واینبرگ محاسبه شد.*

یافته‌ها: *نتایج مانشان داد ۱ نفر در جمعیت سالم دارای جهش هموزیگوت CCR5 Δ32/Δ32 می‌باشد و فراوانی آللی CCR5 Δ32، ۰/۵ درصد محاسبه شد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج به‌دست آمده از این مطالعه گزارش‌های قبلی را تایید کرد که ایرانیان در مقایسه با جمعیت اروپاییان مستعد ابتلا به HIV و ایدز هستند. شرایط آب و هوایی مختلف، مهاجرت و انتخاب طبیعی مثبت می‌تواند پراکندگی مختلف فراوانی آللی Δ32 را در کشورهای اروپایی در مقایسه با ایران توضیح دهد. بنابراین، جمعیت ایران نیازمند به کارگیری رویکردهای موثرتر و جدیدتر درمانی برای علاج عفونت HIV و کاهش محدودیت‌های داروهای رتروویروسی می‌باشد.*

واژگان کلیدی: CCR5 Δ32، HIV، ایدز، ایران

مقدمه

ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) نوعی لنتی ویروس است که با آلودگی سلول‌های ماکروفاژ، دندریتیک و لنفوسیت $CD4^+$ TCD سبب ضعف پیشرونده‌ی سیستم ایمنی، عفونت‌های فرصت طلب، بدخیمی و در نهایت ابتلا به ایدز (AIDS) می‌شود. یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ورود HIV به سلول‌های ایمنی، کورسپتور cc-کوکاین -۵ (CCR5) می‌باشد (۱). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند در صورت حذف شدگی ۳۲bp در اگزون ۴ ژن *CCR5* در جایگاه

۱- کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، گروه ژنتیک پزشکی و پزشکی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۲- دکترای تخصصی ژنتیک، دانشیار گروه ژنتیک پزشکی و پزشکی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۳- دکترای تخصصی آمار زیستی، استاد گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۴- دکترای تخصصی ایمونولوژی بالینی، استادیارگروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۵- دکترای تخصصی ایمونولوژی بالینی، استادیارگروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ژن درمانی سرطان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

کروموزومی 3p21.31، پروتئین ناقصی تولید خواهد شد که ویروس HIV توانایی ورود به سلول‌های ایمنی بدن میزبان را حتی در حضور رسپتور اصلی (CD^{4+}) از دست خواهد داد (۳و ۲). به‌همین علت CCR5 را کورسپتور اصلی در ابتلا به عفونت HIV دانسته‌اند (۵و ۴). نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده‌اند حذف شدگی ۳۲bp به صورت هموزیگوت *(CCR5 Δ32/Δ32)* در هر دو آلل فرد، سبب بروز مقاومت به عفونت HIV می‌شود (۳و ۲). در حالی که در افراد هتروزیگوت *(CCR5 wt/Δ32)* پس از آلودگی، ابتلا به ایدز حدود ۲ تا ۴ سال نسبت به افراد عادی با تاخیر مواجه می‌شود (۶). به همین دلیل بسیاری از رویکردهای جدید و موفق ژن درمانی و سلول درمانی با کمک CCR5 انجام شده است. یکی از مهم‌ترین رخدادهای موثر در ژن درمانی در سال ۲۰۰۹ در بیماری به نام برلین انجام شد (۷). در این مطالعه، سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک از فرد دارای ژنوتیپ *CCR5 Δ32/Δ32* به فرد مبتلا به HIV و فاقد آلل *Δ۳۲* به‌صورت آلوژنیک انتقال یافت و پس از مدتی حذف ژنوم ویروس از بدن وی مشاهده شد (۹و ۸). مشابه با این رویکرد، بیمار بوستون تحت پیوند با سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک به‌صورت آلوژنیک قرار گرفت و نتایج رضایت بخش اعلام شد (۱۰). همچنین، در سال ۲۰۱۴ با دستکاری سلول‌های بنیادی فرد مبتلا در محیط *ex vivo* توسط نوکلئازهای انگشت روی (ZFN) در ژن *CCR5* و بازگرداندن سلول‌های مهندسی شده به‌صورت اتولوگ به خود فرد، مقاومت به HIV در بدن بیمار القا شد (۱۱). استراتژی‌های اخیر درمانی اهمیت CCR5 را بیش از پیش نشان می‌دهد؛ زیرا با کمک ژن CCR5، مقاومت به HIV در بدن افراد مبتلا القا شده است. علاوه بر موفقیت‌های درمانی مذکور، مطالعاتی جهت ارائه‌ی درمان موثرتر و کارآمدتر HIV با کمک CCR5 انجام شده است (۱۳و ۱۲). همچنین پیشنهاداتی توسط نویسندگان این مقاله در زمینه ارتقای راهکار درمانی ارائه شده است (۱۵و ۱۴). یکی از مهم‌ترین اقدامات در جهت پیاده سازی رویکردهای اخیر ژن درمانی و سلول درمانی، یافتن کاندید مناسب جهت اهدای ژنوتیپ *Δ۳۲* می‌باشد. به‌دلیل آن که تاکنون پروژه‌ای جهت بررسی فراوانی *CCR5 Δ32* و یافتن کاندید با ژنوتیپ مذکور در استان زنجان ارائه نشده است، مطالعه‌ی حاضر طراحی وانجام گردید.

روش بررسی

نمونه گیری: در این مطالعه‌ی علوم پایه با بررسی مقطعی، از ۲۰۰ فرد سالم ۴ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی در لوله‌های حاوی ضد انعقاد (EDTA) جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی از بین مراجعه کنندگان به درمانگاه‌های استان زنجان و با کسب رضایت کتبی جهت اطلاع از انجام پروژه‌ی تحقیقاتی صورت گرفت. این پروژه با نظارت کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زنجان با کد A-۱۲-۳۳-۲ در آذر ماه ۱۳۹۳ تایید شد.

استخراج DNA ژنومی: DNA ژنومی با استفاده از کیت تجاری شرکت کیاژن (Qiagen, Cat.No: 51104) طبق دستورالعمل موجود از خون کامل استخراج شد و تا زمان انجام واکنش GAP-PCR در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

واکنش GAP-PCR: پس از اجرای چند روش قبلی که معمولا در سری سوم و چهارم محصول GAP-PCR قابل تشخیص بود، بهینه‌سازی پروتکل طبق مراحل زیر انجام شد. واکنش در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل موارد ذیل بود: ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix تهیه شده از شرکت تجاری سینا کلون، ایران (Cat.NO:PR8251C)، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها، ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی استخراج شده به همراه ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه شده‌ی استریل. پرایمرهای مورد استفاده به گونه‌ای بودند که دو طرف توالی

www.SID.ir

Archive of SID

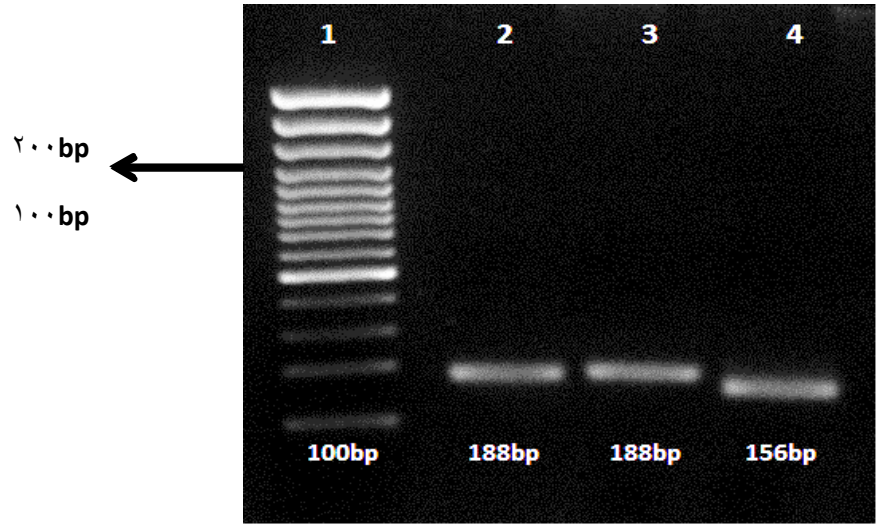
Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

مورد نظر را در بر گرفته و بر اساس اندازه‌ی قطعات به دست آمده از محصولات GAP-PCR نمونه‌های سالم و جهش یافته قابل تمایز از یکدیگر بودند. توالی پرایمرها به صورت F:5′-CAAAAAGAAGGTCTTCATTACACC-3′ ، و R:5′-CCTGTGCCTCTTCTTCTCATTTCG-3′ بودند که طبق سفارش به شرکت سینا کلون ایران ساخته شدند (۱۶). جهت انجام واکنش توسط دستگاه ترموسایکلر گرادیانت (Analytikjena) ابتدا یک سیکل به‌ترتیب ذکر شده انجام شد: ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۷/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ ثانیه و سپس ۳۰ سیکل با شرایط مقابل اجرا گردید: ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۵۷/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه. جهت مشاهده‌ی محصولات تکثیر شده، ژل آگارز ۲ درصد به همراه اتیدیوم بروماید تهیه شد. ۵ میکرولیتر از محصولات تکثیر شده به همراه ۱ میکرولیتر بافر (Cat.No: R0611 Fermentase) به‌همراه DNA Ladder 100bp(Cat.No: SM0243 Fermentase) بر روی ژل آگارز الکتروفورز شدند.

آنالیز آماری: نتایج به دست آمده طبق قوانین هاردی واینبرگ مورد بررسی قرار گرفت و فراوانی آللی با برآورد فاصله‌ی نسبت‌ها تعیین شد. اطلاعات دموگرافیک بیماران توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۰۰ فرد سالم از لحاظ حذف شدگی ۳۲bp ژن *CCR5* مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن افراد ۳۴/۸ بود و ۱۴۶نفر مرد (۷۳ درصد) و ۵۴ نفر زن (۲۷ درصد) در این مطالعه حضور داشتند. جمع‌آوری نمونه‌ها در سطح استان زنجان انجام شد که ۵۳/۹ درصد نمونه‌ها از شهر زنجان، ۲۸/۴ درصد از خرمدره و ۱۷/۶ درصد از ابهر بودند. در بین ۲۰۰ فرد شرکت کننده، ۱ نفر فرم *CCR5 Δ32/Δ32* هموزیگوت را نشان داد (شکل ۱). هیچ یک از شرکت کنندگان فرم هتروزیگوت را نشان ندادند. فراوانی آللی *CCR5 Δ32* ۰/۵ درصد محاسبه شد که در تعادل با هاردی واینبرگ نبود.



شکل ۱: ستون۱: ladder 100bp ستون ۲ و ۳: قطعه ۱۸۸bp آلل وحشی (CCR5 wt/wt)، ستون ۴: قطعه ۱۵۶bp آلل هموزیگوت موتانت (CCR5 Δ32/Δ32).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

بحث

امروزه به دلیل اهمیت *CCR5* در رویکردهای اخیر ژن درمانی و سلول درمانی HIV، بسیاری از محققان در مناطق مختلف ایران و جهان تشویق به یافتن Δ۳۲ شده‌اند. به‌طور کلی پراکندگی این حذف شدگی در مناطق مختلف جهان متفاوت اعلام شده است. نتایج به دست آمده از بسیاری مطالعات نشان داده‌اند بیشترین فراوانی آللی Δ۳۲ درشمال اروپا مربوط به جمعیت قفقازی ۱۶درصد (هتروزیگوت) و ۱ درصد (هموزیگوت موتانت) می‌باشد و در کشورهای فنلاند، سوئد، ایسلند و شمال روسیه ۱۵ تا ۱۶ درصد می‌باشد (۱۸و ۱۷). هر چه به جنوب اروپا نزدیکتر شویم، رفته رفته این میزان کاهش یافته، به‌طوری که در قسمت مرکز و غرب اروپا ۱۰ درصد و در بخش جنوب اروپا همانند یونان و پرتغال به ۴ تا ۶ درصد می‌رسد (۱۹و ۱۷). تفاوت در پراکندگی *Δ32* را می‌توان ناشی از حوادث و رخدادهای تاریخی نسبت داد که به دنبال تغییرات شرایط آب و هوایی و جغرافیایی، مهاجرت، ادغام آمیزش و انتخاب مثبت برای اپیدمیولوژی بیماری‌های عفونی ایجاد شده‌اند؛ عوامل مذکور از جمله فاکتورهای برهم زننده‌ی تعادل هاردی- واینبرگ هستند. به نظر می‌رسد جمعیت بنیان گذار برای گسترش Δ۳۲ در شمال اروپا حضور داشته‌اند و با مهاجرت اقوام مختلف، فراوانی Δ۳۲ در بین جمعیت‌های گوناگون افزایش یافته است (۲۰). در این میان، مطالعات فیلوژنیک نشان داده‌اند اقوام آریایی در میان ایرانیان دارای جد مشترک با جمعیت یونان، آلمان، انگلیس و شمال هند بوده‌اند. یکی از دلایل تفاوت در فروانی Δ۳۲ در بین جمعیت‌های مذکور با ایران تعدادی از حوادث تاریخی شناخته شده است که ایرانیان را وادار به ازدواج با اقوام دیگر و در نتیجه هتروژنی جمعیت نموده است، در حالی که در جمعیت اروپایی درون آمیزی به حفظ فراوانی Δ۳۲ کمک کرده است (۲۱). همچنین گسترش تعدادی از عفونت‌ها همانند آبله مرغان، توبرکلوزیس و آنفولانزا در قرن چهاردهم در بین جمعیت اروپایی سبب نوعی انتخاب طبیعی مثبت در حفظ Δ۳۲ به عنوان فاکتورحفظ بقا قرار گرفته است (۲۲). اپیدمیولوژی در بیماری‌های عفونی مذکور، پس از مهاجرت اقوام آریایی صورت گرفته است و این را یکی دیگر از دلایل افزایش فراوانی آللی Δ۳۲ در بین اروپاییان نسبت به ایران و جمعیت خاورمیانه دانسته‌اند (۲۰). شرایط آب و هوایی و جغرافیایی مختلف عامل دیگری در گسترش فراوانی Δ۳۲ معرفی شده است (۲۳).

فراوانی آللی Δ۳۲ در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۸۵ از شیراز توسط دکتر غاراگوزلو و همکارانش آغاز شد. در بین ۳۹۵ فرد سالم، فرکانس آللی Δ۳۲ را ۱/۴ درصد اعلام کردند. در این مطالعه فراوانی هتروزیگوتی Δ۳۲، ۲/۸ درصد گزارش شد، در حالی که هیچ نمونه‌ی هموزیگوت موتانت یافت نشد. در این مطالعه پیش‌بینی شد که فراوانی Δ۳۲ در استان‌های شمالی کشور بیشتر می‌باشد (۲۴). در سال ۱۳۸۹ دکتر عمرانی و همکارش در بین ۱۹۰ فرد سالم در ارومیه فرکانس آللی Δ۳۲ را ۰/۰۲ درصد و فراوانی هتروزیگوت ۲/۱ درصد را عنوان کردند (۲۵). علاوه بر این در سال ۱۳۹۳ دکتر رحیمی و همکارانش فراوانی آللی Δ۳۲ را در ۵۳۰ فرد سالم بین ۱۳ استان (گیلان، آذربایجان غربی و شرقی، قزوین، تهران، سمنان، کردستان، قم، اصفهان، خراسان، یزد، لرستان، هرمزگان) مورد بررسی قرار دادند و فراوانی هتروزیگوتی Δ۳۲ را ۱/۱ درصد و هموزیگوتی Δ۳۲ را ۰/۱۹ درصد منتشر کردند (۲۶)(جدول ۱).

با توجه به مطالعات فوق، فراوانی Δ۳۲ در استان زنجان تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته بود. طبق نتایج به‌دست آمده در این مطالعه در بین ۲۰۰ فرد سالم، ۱ نفر ژنوتیپ هموزیگوت Δ۳۲ را نشان داد و هیچ مورد هتروزیگوت یافت نشد و فرکانس آللیΔ۳۲، ۰/۵ درصد به‌دست آمد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

جدول ۱: فراوانی آللی ۳۲Δ در مناطق مختلف ایران

استان	تعداد نمونه‌ها	فرکانس آللی *WT/Δ32*	فرکانس آللی *Δ32/Δ32*	منبع
گیلان	۲۰	۱	۰	(۲۶)
آذربایجان شرقی	۵۰	۱	۰	
آذربایجان غربی	۵۰	۱	۰	
قزوین	۴۵	۱	۰	
تهران	۱۰۰	۲	۱	
سمنان	۳۰	۰	۰	
کردستان	۳۵	۰	۰	
قم	۳۰	۰	۰	
اصفهان	۴۰	۰	۰	
خراسان	۴۰	۰	۰	
یزد	۳۰	۰	۰	
لرستان	۳۰	۰	۰	
هرمزگان	۳۰	۰	۰	
فارس	۳۹۵	۱۱	۰	(۲۴)
ارومیه	۱۹۰	۴	۰	(۲۵)
زنجان	۲۰۰	۰	۱	(مطالعه حاضر)

طبق توضیحات ارائه شده در بخش مطالعات مربوط به ایران، به نظر می‌رسد فراوانی ۳۲Δ در بین مناطق مختلف ایران تفاوت آشکاری وجود ندارد. اما یافتن هموزیگوت‌های موتانت ۳۲Δ با وجود تعداد محدود می‌توانند افراد کاندید جهت اهدای سلول‌های بنیادی جهت درمان حتی یک نفر مبتلا به HIV را ارائه دهد. این چشم انداز با توجه به مشترک بودن اجداد آریایی در بین جمعیت آلمان، انگلیس و یونان می‌تواند تعدادی از مشکلات سازگاری HLA و رد پیوند را برطرف کند.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات انجام شده، جمعیت ایران نسبت به جمعیت‌های اروپایی استعداد ژنتیکی بیشتری جهت ابتلا به عفونت HIV دارد. با توجه به فراوانی آللی ۳۲Δ در بین جمعیت اعراب کشورهای همسایه نیز کاهش فرکانس آللی ۳۲Δ از سمت شمال اروپا به سمت جنوب آن و حتی در بخش خاورمیانه تایید می‌شود. لازم به ذکر است که علاوه بر حذف شدگی ۳۲bp در ژن *CCR5* فاکتورهای محدود کننده‌ی دیگری در ابتلا به عفونت HIV و سایر بیماری‌های صعب العلاج وجود دارند که ممکن است در ایران با فراوانی بیشتری وجود داشته باشند که با بررسی این فاکتورها می‌توان در زمینه‌ی پیشگیری و یا درمان، از ابتلا و گسترش آنها جلوگیری کرد و یا اینکه از ژنوتیپ آن‌ها به‌عنوان کاندید در ژن درمانی و

www.SID.ir

Archive of SID

یا سلـول درمانی بیماران خویشاوند و یا غیره استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه‌ی کارشناسـی ارشـد ژنتیـک پزشکی مصوب شورای گـروه و شـورای پژوهـشی معاونـت محترم تحقیقات و فـن‌آوری دانـشگاه علـوم پزشـکی زنجـان بـه‌شـماره ۲- ۳۳-۱۲-A مـی‌باشـد کـه بـدین وسـیله تقـدیر و تشکر مـی‌گـردد. همچنـین از جنـاب آقـای دکتـر صـائینی، معاونـت محتـرم بهداشـت و جنـاب آقـای شـادی مـسئول بخش مبارزه با بیمـاری‌هـا و جنـاب آقـای کـارگر کارشـناس آزمایشگاه ایدز در دانشگاه علوم پزشکی زنجان کمـال تـشکر را داریم.

References

1- Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, et al. Identification of rantes, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science*. 1995; 270: 1811-5.

2- Samson M, Libert F, Doranz BJ, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*. 1996; 382: 722-5.

3- Liu R, Paxton WA, Choe S, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. Cell. 1996; 86: 367-77.

4- Deng H, Liu R, Ellmeier W, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. Nature. 1996; 381: 661-6.

5- Dragic T, Litwin V, Allaway GP, et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature*. 1996; 381: 667-73.

6- Huang Y, Paxton WA, Wolinsky SM, et al. The role of a mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat Med*. 1996; 2: 1240-3.

7- Hutter G, Nowak D, Mossner M, et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2009; 360: 692-8.

8- Hutter G, Thiel E. Allogeneic transplantation of CCR5-deficient progenitor cells in a patient with HIV infection: an update after 3 years and the search for patient no. 2. AIDS. 2011; 25: 273-4.

9- Allers K, Hutter G, Hofmann J, et al. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Delta32/Delta32 stem cell transplantation. Blood. 2011; 117: 2791-9.

10- Henrich TJ, Hu Z, Li JZ, *et al*. Long-term reduction in peripheral blood HIV type 1 reservoirs following reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *J Infect Dis*. 2013; 207: 1694-702.

11- Tebas P, Stein D, Tang WW, et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

persons infected with HIV. *N Engl J Med*. 2014; 370: 901-10.

12- Petz LD, Redei I, Bryson Y, et al. Hematopoietic cell transplantation with cord blood for cure of HIV infections. *Biol Blood* Marrow Transplant. 2013; 19: 393-7.

13- Petz L. Cord blood transplantation for cure of HIV infections. *Stem Cells Transl Med*. 2013; 2: 635-7.

14- Esmaeilzadeh A, Farshbaf A. Novel Approaches Based on Autologous Stem Cell Engineering and Gene-Modification; Evidence for the Cure of HIV/AIDS. *J Genet Syndr Gene Ther*. 2015; 6.

15- EsmaeilzadehA, Farshbaf A, Erfanmanesh M. Autologous Hematopoietic Stem Cells transplantation and genetic modification of CCR5 m303/m303 mutant patient for HIV/AIDS. *Med Hypotheses*. 2015; 84: 216-18.

16- Arababadi MK, Naghavi N, Hassanshahi G, Mahmoodi M. Is CCR5-?32 mutation associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes? *Ann Saudi Med*. 2009; 29: 413.

17- Martinson JJ, Chapman NH, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. *Nat Genet*. 1997; 16: 100-3.

18- Libert F, Cochaux P, Beckman G, et al. The deltaccr5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. *Hum Mol Genet*. 1998; 7: 399-406.

19- Papa A, Papadimitriou E, Adwan G, et al. HIV-1 co-receptorCCR5 and CCR2 mutations among Greeks. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000; 28: 87-9.

20- Arenzana-Seisdedos F, Parmentier M. Genetics of resistance to HIV infection: Role of co-receptors and co-receptor ligands. *Semin Immunol*. 2006; 18: 387-403.

21- Marchof AK. The titans—a history of white race. Burlington, USA: Ostara Publications. 1999.

22- Galvani AP, Slatkin M. Evaluating plague and smallpox as historical selective pressures for the CCR5-Delta 32 HIV-resistance allele. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 15276-9.

23- Limborska SA, Balanovsky OP, Balanovskaya EV, et al. Analysis of CCR5Delta32 geographic distribution and its correlation with some climatic and geographic factors. *Hum Hered*. 2002; 53: 49-54.

24- Gharagozloo M, Doroudchi M, Farjadian S, Pezeshki AM, Ghaderi A. The frequency of CCR5Delta32 and CCR2-64I in southern Iranian normal population. *Immunol Lett*. 2005; 96: 277-81.

25- Omrani MD, Bagheri M. Frequency of CCR5Δ32 variant in North-West of Iran. *J Sci Iran*. 2009; 20: 105-110.

26- Rahimi H, Farajollahi MM, Hosseini A. Distribution of the mutated delta 32 allele of CCR5 co-receptor gene in Iranian population. *Med J I.IR Iran*. 2014; 28: 140.

www.SID.ir

Archive of SID

Frequency of *CCR5Δ32* Allelic Mutation in Healthy Individuals in Zanjan Province

Farshbaf A[1], Biglari AR[1], Faghihzadeh S[2], Esmaeilzadeh AR[3,4]

[1]Dept. of Genetic & Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[2]Dept. of Biostatistics and Epidemiology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[3]Dept. of Immunology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[4]Cancer Gene Therapy Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Corresponding Author: Esmaeilzadeh AR, Dept. of Immunology, Faculty of, Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

E-mail: a46reza@zums.ac.ir

Received: 5 Jan 2016 **Accepted:** 5 Mar 2016

Background and Objective: CCR5 is known as a main co-receptor in HIV infection. Many studies demonstrated that 32bp deletion in both *CCR5* alleles provide natural resistance to HIV infection, so new treatment approaches are based on inducing this resistance by means of gene and cell therapies. This projects aim was the discovery of suitable candidates for new therapeutic strategies in addition to determining the *CCR5 Δ32* mutation frequency in healthy individuals in Zanjan province for the first time.

Materials and Methods: Blood samples were collected from 200 healthy individuals in EDTA pre-coated tubes. Genomic DNA was extracted and analyzed for *CCR5 Δ32* mutation by GAP-PCR. The allele frequency was calculated using the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE).

Results: Our findings showed 1 healthy individual had *CCR5 Δ32/Δ32* mutation and the allele frequency of *CCR5Δ32* was calculated to be 0.5%.

Conclusion: Results of this study proved previous reports that Iranian populations are more susceptible to HIV/AIDS compared to the European population. Different climate-geographical conditions, migration and positive natural selection could explain various distribution of *Δ32* allele frequency in European countries compared to Iran. Consequently, Iranians require more effective and novel therapeutic approaches for HIV infection therapy and could benefit from reducing retro-viral drug restrictions.

Key Words: CCR5 Δ32, HIV, AIDS, Iran

Downloaded from zums.ac.ir at 14:40 IRST on Wednesday December 28th 2016

www.SID.ir