Arak Medical University Journal (AMUJ)
2014; 17(84): 19-25

Original Article

Investigation of HLA-DRB and DQB in multiple sclerosis patients by single specific primer-polymerase chain reaction (PCR- SSP)

Shojapuor M[1], Mosayebi G[2*], Faraji F[3], Ghasami K[3], Ghazavi A[4]

1. PhD student of Molecular Medicine, Molecular and Medicine research center,Arak University of Medical Sciences , Arak, Iran
2. Professor; Immunologist, Molecular and Medicine research center,Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
3. Assistant Professor, Neurologist, Department of Internal Medicine, Arak University of Medical, Arak, Iran
4. Lecturer ,PhD student of Immunology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

Received:3 Feb 2014, Accepted: 9 Apr 2014

Abstract

Introduction: Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disorder with unknown etiology. Genetic and environmental factors associated with MS susceptibility. Genetic studies show an important role for human leukocyte antigens (HLA) and susceptibility to autoimmune diseases such as MS. There is controversy between the association of HLA alleles with MS susceptibility in various studies. However, with consider the high incidence of MS in Iranian population and limit information about association of HLA and MS, we analyzed HLA alleles in MS patients.

Materials and Methods: In this case-control study, 60 MS patients and 40 normal individuals with the same ethic background and geographic area were analyzed for HLA-DRB and DQB alleles by single specific primer-polymerase chain reaction (SSP-PCR) method.

Results: HLA-DRB1*03 and DQB1*02 alleles frequencies in MS patients were greater than healthy controls. There was no significant difference in frequency of other HLA-DR alleles between the MS patients and normal individuals.

Conclusions: DRB1*03 and DQB1*02 alleles confer increased susceptibility to MS in this population. However, to determine the role of HLA in Iranian MS patients, more studies are needed.

Keywords: Human Leukocyte Antigens, Multiple sclerosis, Polymerase chain reactions

Archive of SID

*Corresponding author:
Address: Molecular and Medicine research center,Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
E.mail: ghasemmosayebi@arakmu.ac.ir

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 17، شماره 3 (شماره پیاپی 84)، خرداد 1393، 25-19

بررسی هاپلوتیپ های HLA-DRB و HLA-DQB با روش SSP-PCR در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس – استان مرکزی

مانا شجاع پور[1]، قاسم مسیبی[2*]، فردین فرجی[3]، کیوان قاسمی[3]، علی قضاوی[4]

1- دانشجوی دکتری پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
2- استاد، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
3- استادیار، گروه نورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
4- مربی، دانشجوی دکتری ایمنی شناسی، گروه میکروب شناسی و ایمی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: 92/11/14 تاریخ پذیرش: 93/1/20

چکیده

زمینه و هدف: مولتیپل اسکلروزیس یک بیماری خود ایمن با اتیولوژی نامشخص می‌باشد. فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در استعداد ابتلا به بیماری نقش دارند. مطالعات ژنتیکی نشان می‌دهد که ژنهای کد کننده آنتی ژن‌های سازگار نسجی (HLA) با بروز برخی از بیماری‌های خود ایمن از جمله مولتیپل اسکلروزیس ارتباط دارند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که در جوامع مختلف بین همراهی این ژن‌ها و بیماری مغایرت وجود دارد. با توجه به تفاوت نژادی افراد در جوامع مختلف و مطالعات محدود انجام شده در جمعیت ایرانی و شیوع روز افزون بیماری مولتیپل اسکلروزیس، فراوانی آلل‌های HLA در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، به منظور تعیین آلل‌های HLA-DR و HLA-DQ از روش PCR-SSP بر روی 60 بیمار مبتلا به بیماری مولتیپل اسکروزیس و 40 فرد سالم با زمینه نژادی و جغرافیایی مشابه استفاده گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DR) کلاس 2 و HLA(DQ) کلاس 2 در بیماران، به ترتیب مربوط به آنتی ژن DRB1*03 و آنتی ژن DQB1*02 بود. اختلاف معنی‌داری در سایر آلل‌های HLA-DR و HLA-DQ بین دو گروه مشاهد نشد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شد که آلل‌های DRB1*03 و DQB1*02 در جمعیت مورد مطالعه با استعداد ابتلا به بیماری ارتباط دارند. در هر صورت به دلیل تفاوت نژادی در نقاط مختلف ایران نیاز است مطالعات بیشتری صورت گیرد.

واژگان کلیدی: آنتی ژن HLA، مولتیپل اسکلروزیس، ژنتیک

***نویسنده مسئول:** اراک، میدان بسیج، پردیس دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اراک

Email:ghasemmosayebi@arakmu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis- MS) نوعی بیماری مزمن و اغلب پیشرونده دستگاه عصبی مرکزی است که با از بین رفتن غشای میلین در برخی از اعصاب مغز و نخاع به صورت تکه‌های کوچک مشخص می‌شود(1).

پاتوژنز MS به طور کامل مشخص نشده است. اما معتقدند که MS نتیجه فرایندهای اتوایمیون مرتبط با فعالیت لنفوسیت‌های T علیه آنتی ژن‌های خودی است. مطالعات Linkage و همبستگی مشخص نمود که قوی‌ترین عامل ژنتیکی مرتبط با حساسیت به MS، کمپلکس‌های سازگاری نسجی (Human Leukocyte Antigen-HLA) کلاس II بر روی کروموزوم شماره 2 (6P21.3) می‌باشد(2، 3).

ارتباط بین MS و HLA کلاس II اولین بار در سال 1973 توسط ژسیلد و همکاران گزارش گردید(4). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که جایگاه ژنی HLA نقش عمده‌ای در افزایش استعداد به MS ایفا می‌کند. هانیس و همکاران درسال 1998 هم‌چنین روبیو و همکاران نشان دادند که ارتباطی ویژه‌ای بین مولکول‌های DRB1*1501 و هاپلوتایپ‌های مربوط به آن در بیشتر جمعیت‌های مبتلا به MS وجود دارد(5، 6).

این مطالعات البته حاکی از این مطلب نیز بوده‌اند که جایگاه‌های ژنی "جزیی" در خارج از جایگاه HLAهم احتمالاً وجود دارد، ولی نقش آنها به اندازه لوکوس HLA بارز نیست(7-9). با توجه به این که بین همراهی و ارتباط HLA در جوامع مختلف با بیماری نتایج متفاوت است، مطالعات انجام شده در این زمینه در کشور ما ناکافی بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتر را می‌طلبد. بر این اساس در این مطالعه به بررسی همراهی هاپلوتیپ های HLA تیپ II با بیماری MS در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس در استان مرکزی پرداخته شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه مورد- شاهدی، 60 بیمار مبتلا به MS و40 فرد سالم و فاقد بیماری‌های نورولوژیک شناخته شده به تایید متخصص مغز و اعصاب وارد مطالعه شدند. پس از اخذ رضایتنامه کتبی آگاهانه مقدار 5 میلی‌لیتر خون سیاهرگی از هر داوطلب گرفته شد و به یک لوله آزمایش استریل حاوی ماده ضد انعقاد منتقل گردید. سپس برای انجام آزمایشPCR، DNA از نمونه خون محیطی با استفاده از کیت استخراج DNA(DNG-Plus) استخراج گردید. این پژوهش با کد 9-102-89 در شورای اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک به تصویب رسید.

PCR-SSP(Polymerse chain reraction – sequence specific priming):

در این تحقیق HLA-typing به روش مولکولی PCR-SSP انجام گردید. روش PCR-SSP بر اساس تکثیر قطعات DNA مورد نظر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر ژن یا مجموعه ژن‌هایی که آنتی ژن مربوطه را کد می‌کنند انجام می‌شود. در هر لوله دو جفت پرایمر وجود دارد، یکی پرایمر اختصاصی برای PCR-SSP ژن HLA مورد نظر و یک جفت پرایمر برای کنترل داخلی که سکانس آن بر اساس ژن هورمون رشد می‌باشد. مجموعه پرایمرهای اختصاصی DRB1,DRB5,DRB4,DRB3 (23جفت) و پرایمرهای اختصاصی DQB1 (8 جفت) برای هر HLA-typing استفاده شد(10، 11). شرایط دمایی برنامه PCR شامل واسرشت سازی اولیه در 96 درجه سانتی‌گراد برای 120 ثانیه، سپس 10 سیکل به صورت96 درجه سانتی‌گراد برای 15 ثانیه، 56 درجه سانتی‌گراد برای 60 ثانیه، در نهایت20 سیکل شامل: 96 درجه سانتی‌گراد برای 15 ثانیه، 61 درجه سانتی‌گراد برای 50 ثانیه و دمای پایانی 72 درجه سانتی‌گراد برای 30 دقیقه بود.

به منظور مشاهده نتیجه PCR از الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید 8 درصد استفاده شد (شکل 1). در مرحله بعد با استفاده از نرم افزار مربوط به کیت به نام INNO TRAIN software، نتایج به دست آمده از هر نمونه را وارد کرده و نتیجه تفسیر شد.

Archive of SID

www.SID.ir

آنالیز آماری

اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل سن، جنس، مرحله بیماری و اطلاعات مولکولی به دست آمده با کمک نرم افزار SPSS آنالیز گردید. از روش‌های آماری مناسب مانند ضریب همبستگی و correlation جهت ارتباط HLA با بیماری استفاده شد.

یافته ها

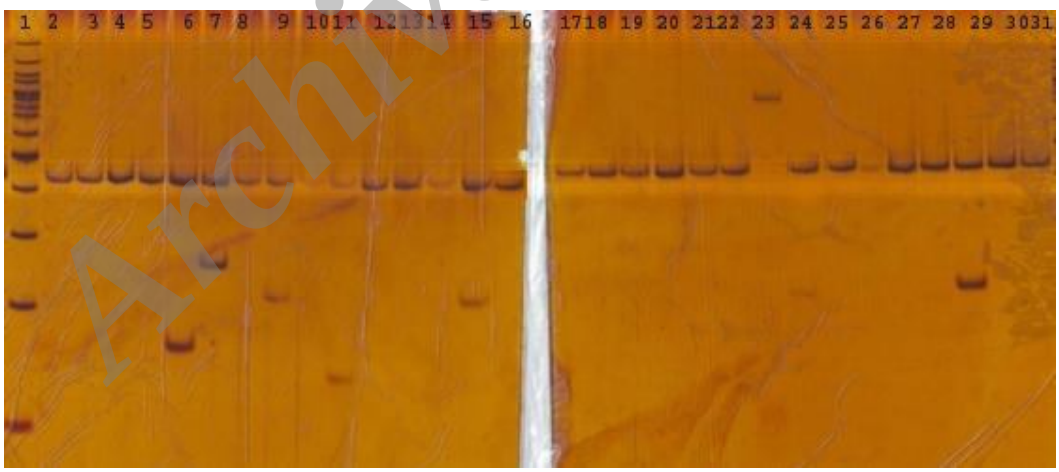
در این تحقیق 60 بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و 40 فرد سالم به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. 51/7 درصد بیماران از نظر ماهیت علائم بالینی بیماری مولتیپل اسکلروزیس دارای اختلالات حسی بودند و حدود 2 درصد بیماران مشکلات مغزی – مخچه‌ای داشتند.

در این مطالعه بر اساس نوع بیماری، بیماران به سه دسته Primary progressive (single demyelinating), Relapsing/remitting, and Secondary progressive طبقه‌بندی شدند. نوع Relapsing/remitting با 53/3 درصد بیشترین فراوانی و نوع Secondary progressive کمترین فراوانی را داشت.

نتایج به دست آمده از میانگین شدت بیماری که به صورت EDSS بیان می‌شود، نشان داد بیش از 20 درصد بیماران دارای شدت 7 می‌باشند. افراد دارای اسکور 7 و بالاتر توانایی حرکتی نداشته و غالباً، بستری در منزل یا بیمارستان بودند.

نتایج PCR-SSP

آنتی ژن‌های لوکوسی انسانی کلاس2 شامل: DRB*1, DRB*2, DRB*3, DRB*4, DRB*5 (23 واکنش) و DQB1*(8 واکنش) با روش PCR-SSP برسی شدند (شکل 1).



شکل 1. نتیجه الکتروفورزیس محصولات PCR-SSP
1: مارکر bp 100(SM0241)، 2: کنترل منفی(فقط پرایمر رشد)، 3-31:نتایج تکثیر با پرایمرهای مختلف

بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DR) کلاس 2 در بیماران مربوط به آنتی ژن DRB1*03 و کمترین آنها DRB1*01:03 و DRB1*13:09 بود. هم‌چنین بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DQ) کلاس 2 در بیماران مربوط به آنتی ژن DQB1*02 و کمترین آنها DRB1*03:23 و DRB1*02:03 بود(جدول 1).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1. توزیع درصد فراوانی و شاخص‌های آماری آلل‌های HLA-CLASS II DR به روش مولکولی در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و افراد کنترل

آلل ها	درصد فراوانی		Odd-ratio	p
	بیمار	کنترل		
DRB1*01	5	0	1/28	0/10
DRB1*03	16	1	6/712	0/01
DRB1*04	7	4	1/99	0/158
DRB1*07	7	11	1/76	0/18
DRB1*08	4	5	0/06	0/8
DRB1*09	5	1	0/02	0/9
DRB1*10	4	4	1/99	0/158
DRB1*11	9	0	2/09	0/148
DRB1*12	4	0	0/005	0/9
DRB1*13	10	7	1/82	0/177
DRB1*14	6	11	1/46	0/227
DRB1*15	9	12	0/06	0/8
DRB1*16	3	1	2/82	0/09
DRB1*13:09	1	0	0/68	0/48
DRB1*01:03	1	0	1/38	0/24
DRB3	0	2	0/05	0/7
DRB1*24	0	1	1/49	0/22
DRB1*82	0	1	1/49	0/22
DRB1*14:57	0	2	1/49	0/22

از طرفی بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DR) کلاس 2 در جامعه کنترل مربوط به آنتی ژن DRB1*15 و کمترین آنها DRB1*01:03 و DRB1*16،DRB1*24 ، DRB1*82، DRB1*09، DRB1*13:58بود. بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DQ) کلاس 2 در جامعه کنترل مربوط به آنتی ژن DRB1*05 و کمترین آنها DRB1*23 بود(جدول2).

در این مطالعه مشاهده گردید که ارتباط معنی‌داری بین وجود آنتی ژن DRB1*03 و بیماری مولتیپل اسکلروزیس وجود دارد(p=0/01). هم‌چنین خطر احتمال ابتلا به مولتیپل اسکلروزیس در افراد واجد آلل DRB1*03، 6 برابر بیشتر از سایرین است(جدول1).

ارتباط معنی‌داری بین وجود آنتی ژن‌های DQB1*02 و بیماری مولتیپل اسکلروزیس وجود دارد(p=0/005). هم‌چنین خطر نسبی ابتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس در افراد واجد آلل DQB1*02 چند برابر بیشتر از افرادی است که این آلل وجود ندارد(جدول2).

جدول2. توزیع درصد فراوانی و شاخص های آماری آلل های HLA-CLASS II DQ به روش مولکولی در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و افراد کنترل

آلل ها	درصد فراوانی		Odd-ratio	p
	بیمار	کنترل		
DQB1*02	16	4	7/88	0/005
DQB1*03	29	16	0/166	0/68
DQB1*05	11	12	4/229	0/4
DQB1*06	19	13	0/49	0/48
DQB1*02:03	2	0	0/078	0/78
DQB1*03:23	3	3	0/06	0/8
DQB1*04	0	2	1/49	0/22
DQB1*23	0	1	1/49	0/22
DQB1*06:29	0	2	3/011	0/08

بحث

در این مطالعه نشان داده شد بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DR) کلاس 2 در بیماران مربوط به آنتی ژن DRB1*03 و کمترین آنها DRB1*01:03 و DRB1*13:09 بود. بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DQ) کلاس 2 در بیماران مربوط به آنتی ژن DQB1*02 و کمترین آنها DRB1*03:23 و RB1*02:03 بود. هم‌چنین بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DR) کلاس 2 در جامعه کنترل مربوط به آنتی ژن DRB1*15 و کمترین آنها DRB1*01:03 و DRB1*16، DRB1*24، DRB1*82 ، DRB1*09، DRB1*13:58 بود و بیشترین فراوانی آنتی ژن‌های HLA(DQ) کلاس 2 در جامعه کنترل مربوط به آنتی ژن DRB1*05 و کمترین آنها DRB1*23 بود. ارتباط مثبتی بین وجود آنتی ژن DRB1*03، DQB1*02 در بیماران MS در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت.

در مطالعه مونتانی و همکاران در سال 1991 همراهی بین DR2 و MS نشان داده شد(12). در مطالعاتی توسط هاگرت و همکاران در بررسی مبتلایان به MS دراروپای شمالی، آمریکا و سیاه پوستان آمریکایی به طور

Archive of SID

www.SID.ir

قابل توجهی بین MS و هاپلوتیپ‌های HLA-DQB10602, DQA1*0102, DRB1*1501 همراهی گزارش شد(13، 14). هم‌چنین در مطالعه امیرزرگر و همکاران، فراوانترین هاپلوتیپ‌ها را در بیمارن ایرانی مبتلا به MS شامل DRB10404,DQ0301,DQB1*02 گزارش گردید(15). همبستگی هاپلوتایپ‌های HLA کلاس 2(DRB1*1501, DQA1*0102, DQR1*0602) با بیماریMS در همه گروه‌های نژادی و به طور ویژه در جمعیت قفقازی تایید شده است(16).HLA DRB1*1501 مهم‌ترین واریانت درگیر در خطر ابتلا به بیماری می‌باشد(17). به طور تقریبی در همه مطالعاتی که آلل 1501 را بررسی کرده‌اند، محققین دریافتند که فراوانی این آلل به طور قابل توجهی در بیماران MS بیشتر از جامعه کنترل می‌باشد(18).

در چندین مطالعه در هند، آفروآمریکن و آفروبرزیلین گزارش کردند که فراوانی 1501 در بیماران پایین‌تر از کنترل است و یا این که فراوانی این آلل در هر دو جامعه کم هست(21-19). در مطالعه بیات و همکاران، 183 بیمار مولتیپل اسکلروزیس مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که HLA DRB1*1501 به طور معنی‌داری در بین بیماران فراوان‌تر از جامعه کنترل بود(22). در مطالعه‌ای در اسپانیا نشان داده شده که ارتباط مثبتی بین DRB1*03 و خطر ابتلا به MS وجود دارد(23).

از طرفی نتایج متناقضی در ارتباط با همراهی وجود آنتی ژن‌های HLA کلاس 2 و خصوصیات بالینی بیماری وجود دارد. برخی مطالعات آنتی ژن HLA DRB1*1501 را مرتبط با شروع بیماری در دوره جوانی می‌دانند. هم‌چنین وجود HLA DRB1*1501 در جنس مونث در برخی مطالعات نشان داده شده است اما در سایر مطالعات تفاوتی در وجود این آنتی ژن با نوع جنس مشاهده نگردید(24). متاسفانه در این مطالعه به دلیل پراکنده بودن اطلاعات خصوصیات بالینی امکان آنالیز آماری و نتیجه‌گیری در این زمینه وجود نداشت.

نتیجه گیری

در این مطالعه نشان داده شد که آلل‌های DRB1*03 و DQB1*02 در جمعیت مورد مطالعه با استعداد ابتلا به بیماری MS ارتباط دارند. در هر صورت به دلیل تفاوت نژادی در نقاط مختلف ایران نیاز به مطالعات بیشتری در این راستا می باشد.

تشکر و قدردانی

این گزارش حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد که بدین وسیله از زحمات همه همکاران محترم آن معاونت و شورای محترم پژوهشی تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Compston A, Coles A. "Multiple sclerosis". Lancet . 2008; 372 (9648): 1502–17.
2. Minagar A, Jy W, Jimenez J, Alexander JS. Multiple sclerosis as a vascular disease. Neurological research. 2006;28(3):230-5.
3. Nakahara J, Maeda M, Aiso S, Suzuki N. Current concepts in multiple sclerosis: autoimmunity versus oligodendrogliopathy. Clinical reviews in allergy & immunology. 2012; 42(1): 26-34.
4. Jersild C, Svejgaard A, Fog T. HL-A antigens and multiple sclerosis. The lancet. 1972; 299(7762): 1240-1.
5. Haines JL, Terwedow HA, Burgess K, Pericak-Vance MA, Rimmler JB, Martin ER, et al. Linkage of the MHC to familial multiple sclerosis suggests genetic heterogeneity. Human molecular genetics. 1998; 7(8):1229-34.
6. Rubio JP, Bahlo M, Butzkueven H, van der Mei IA, Sale MM, Dickinson JL, et al. Genetic dissection of the human leukocyte antigen region by use of haplotypes of Tasmanians with multiple sclerosis. The American Journal of Human Genetics. 2002;70(5):1125-37.
7. Jersild C, Hansen G, Svejgaard A, Fog T, Thomsen M, Dupont B. Histocompatibility determinants in multiple sclerosis, with special reference to clinical course. The lancet. 1973; 302(7840):1221-5.

Archive of SID

www.SID.ir

8. Terasaki PI, Park MS, Opelz G, Ting A. Multiple sclerosis and high incidence of a B lymphocyte antigen. Science. 1976; 193(4259): 1245-7.
9. Fogdell A, Hillert J, Sachs C, Olerup O. The multiple sclerosis-and narcolepsy-associated HLA class II haplotype includes the DRB5* 0101 allele. Tissue antigens. 1995;46(4):333-6.
10. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. Tissue antigens. 1992; 39(5): 225-35.
11. Barcellos L, Oksenberg J, Begovich A, Martin E, Schmidt S, Vittinghoff E, et al. HLA-DR2 Dose Effect on Susceptibility to Multiple Sclerosis and Influence on Disease Course. The American Journal of Human Genetics. 2003; 72(3): 710-6.
12. Muntoni F, Murru M, Costa G, Congia M, Cucca F, Cossu P, et al. Different HLA DR2-DQw1 haplotypes in Sardinian and northern Italian populations: Implications for multiple sclerosis susceptibility. Tissue antigens. 1991; 38(2): 34-6.
13. Haegert D, Michaud M, Francis G. Multiple sclerosis in French Canadians: evidence for HLA class II susceptibility and resistance genes. The Canadian journal of neurological sciences Le journal canadien des sciences neurologiques. 1990; 17(4):382-6.
14. Haegert D, Muntoni F, Murru M, Costa G, Francis G, Marrosu M. HLA-DQA1 and-DQB1 associations with multiple sclerosis in Sardinia and French Canada Evidence for immunogenetically distinct patient groups. Neurology. 1993;43(3 Part 1):548-52.
15. Amirzargar A, Mytilineos J, Yousefipour A, Farjadian S, Scherer S, Opelz G, et al. HLA class II (DRB1, DQA1 and DQB1) associated genetic susceptibility in Iranian multiple sclerosis (MS) patients. European journal of immunogenetics. 1998; 25(4):297-301.
16. Hooper-Van Veen T, Berkhof J, Polman CH, Uitdehaag BM. Analysing the effect of candidate genes on complex traits: an application in multiple sclerosis. Immunogenetics. 2006;58(5-6):347-54.
17. Schmidt H, Williamson D, Ashley-Koch A. HLA-DR15 haplotype and multiple sclerosis: a HuGE review. American journal of epidemiology. 2007;165(10):1097-109.
18. Kankonkar S, Jeyanti G, Singhal B, Shankarkumar U. Evidence for novel DRB1* 15 allele association among clinically definite multiple sclerosis patients from Mumbai, India. Human immunology. 2003;64(4):478-82.
19. Karni A, Kohn Y, Saftirmnn C, Abraimsky O, Barcellos L, Oksenberg J, et al. Evidence for the genetic role of human leukocyte antigens in low frequency DRBI* 1501 multiple sclerosis patients in Israel. Multiple sclerosis. 1999; 5(6):410-5.
20. Oksenberg JR, Barcellos LF, Cree BA, Baranzini SE, Bugawan TL, Khan O, et al. Mapping Multiple Sclerosis Susceptibility to the HLA-DR Locus in African Americans. The American Journal of Human Genetics. 2004; 74(1): 160-7.
21. Kalanie H, Kamgooyan M, Sadeghian H, Kalanie A. Histocompatibility antigen (HLA) associations with multiple sclerosis in Iran. Multiple sclerosis. 2000;6(5):317-9.
22. Bayati A, Ghabaee M, Amri Saroukolaei Sh, Sanati MH, Hooshmand M, Sadeghian H, et al. Case control study on genetic susceptibility in Multiple Sclerosis. Iranian Journal of Neurology. 2008; 7(21): 143-52.[Persian]
23. Emilio G, Cavanillas ML, Cénit MC, Urcelay E, Arroyo R, Fernández Ó, et al. DRB1* 03: 01 haplotypes: differential contribution to multiple sclerosis risk and specific association with the presence of intrathecal IgM bands. PloS one. 2012; 7(2): e31018.
24. Hensiek A, Sawcer S, Feakes R, Deans J, Mander A, Akesson E, et al. HLA-DR 15 is associated with female sex and younger age at diagnosis in multiple sclerosis. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. 2002; 72(2):184-7.

Archive of SID

www.SID.ir