دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

(گرایش ژنتیک)

تنوع ژنتیکی ژن HLA-G در بیماران مبتلا به سیستمیک لوپوس اریتماتوز(SLE)

از:

لیلا عسلی سالک معلمی

استاد راهنما:

دکتر زیور صالحی

استاد مشاور:

دکتر سید حبیب زینی

مرداد 1392

تقدیم

به پدر و مادر عزیزم که همواره در تمام مراحل زندگی یاری ام نمودند

و آن ها که صمیمانه دوستشان دارم...

تقدیر و تشکر

اکنون که به لطف و عنایت خداوند متعال و همکاری اساتید محترم حاصل کار در قالب این پایان نامه به اتمام رسیده است مراتب سپاسگزاری خود را از استاد ارجمند راهنما سرکار خانم دکتر زیور صالحی که با راهنمایی های ارزنده ایشان این مهم به انجام رسید ابراز می نمایم.

از استاد محترم مشاور جناب آقای دکتر سید حبیب زینی که با توصیه ها و نظرات ارزشمند خویش در تکمیل این پایان نامه یاری ام نمودند صمیمانه قدردانی می نمایم.

از اساتید گرامی؛ جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی و جناب آقای دکتر حمیدرضا وزیری که زحمت داوری پایان نامه ام را برعهده گرفتند و از سرکار خانم دکتر ریحانه سریری نماینده ی محترم تحصیلات تکمیلی بی نهایت سپاسگزارم.

از دوستان بسیار عزیزم و تمامی کسانی که به هر نحوی اینجانب را در انجام این پژوهش یاری نمودند، تقدیر و تشکر می کنم و توفیق روز افزونشان را از خداوند متعال خواهانم.

لیلا عسلی سالک معلمی

مرداد 1392

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی.....ح
چکیده انگلیسی.....خ

فصل اول: مقدمه

1- مقدمه.....1
1-1- تعریف.....1
1-2- علائم بالینی.....1
1-3- انواع لوپوس.....4
1-4- اپیدمیولوژی.....6
1-5- تشخیص بیماری.....7
1-6- بیماری‌زایی.....8
1-7- درمان.....10
1-8- سبب‌شناسی.....14
1-8-1- عوامل ژنتیکی.....15
1-9- ژن HLA-G.....19
1-9-1- عمکرد ژن HLA-G.....19
1-9-2- ساختار مولکول HLA-G.....21
1-9-3- آلل‌ها و پلی‌مورفیسم‌های ژن HLA-G.....23
1-10- هدف از بررسی.....27

فصل دوم: مواد و روش‌ها

2-1- مواد و لوازم مورد نیاز.....28
2-1-1- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه گیری.....28
2-1-2- مواد و وسایل مور نیاز جهت استخراج DNA از لوکوسیت‌های خون محیطی.....28
2-1-3- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده.....29
2-1-4- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction=PCR).....29
2-1-5- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز.....30
2-1-6- آماده سازی بافرها و محلول‌ها.....30
الف) بافر TBE با غلظت 10X(10XTBE).....30
ب) بافر TBE با غلظت 1X (1XTBE).....31
2-2- لیست دستگاه ها و تجهیزاتی که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرند.....31
2-3- روش کار.....32
2-3-1- نمونه‌گیری.....32

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

2-3-2- استخراج DNA ژنومی از خون.....32
2-3-3- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی).....33
2-3-4- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR).....34
2-3-4-1- آغازگرهای مورد استفاده.....35
2-3-4-2- چرخه حرارتی PCR آلل درج ژن HLA-G.....37
2-3-4-3- پروفایل حرارتی واکنش PCR آلل درج ژنHLA-G 37
2-3-4-4- چرخه حرارتی PCR آلل حذف ژن HLA-G.....38
2-3-4-5- پروفایل حرارتی واکنش PCR آلل حذف ژنHLA-G 38
2-4- آنالیز آماری.....39

فصل سوم: نتایج

3- نتایج..... 40
3-1- خصوصیات نمونه‌ها..... 40
3-2- نتایج بررسی‌های مولکولی..... 40
3-2-1- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز 1% (الکتروفورز افقی).....40
3-2-2- نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR).....41
3-2-2-1- نتایج حاصل از ژنوتایپینگ HLA-G.....41
3-2-2-1-1- بررسی کیفیت قطعات DNA استخراج شده توسط ژل آگارز 2 % (الکتروفورز افقی).....42

3-2-2-1-2- نتایج آنالیز آماری HLA-G.....43
3-2-2-1-3- بررسی ژنوتیپی ژن HLA-G.....43
3-2-2-1-4- بررسی آللی پلی‌مورفیسم INDEL ژن HLA-G.....44

فصل چهارم: بحث

4- بحث.....45
4-1- پیشنهادات.....51

منابع.....52
پیوست.....61
صورت جلسه دفاع.....64

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول1-1- معیار دسته‌بندی اصلاح شده 1997 سیستمیک لوپوس اریتماتوز (SLE)..... 2
جدول1-2- داروهای استفاده شده متداول برای درمان سیستمیک لوپوس اریتماتوز..... 12
جدول1-3- ژن‌های مرتبط با SLE..... 16
جدول 2-1- مواد مصرفی در واکنش PCR ژن HLA-G..... 34
جدول 2-2- فهرست آغازگرهای مورد استفاده در بررسی مربوط به ژن HLA-G..... 35
جدول2-3- چرخه حرارتی PCR آلل درج ژن HLA-G..... 37
جدول2-4- چرخه حرارتی PCR آلل حذف ژن HLA-G..... 38
جدول 3-1- خصوصیات نمونه‌ها..... 40
جدول 3-2- تعداد و بررسی فراوانی ژنوتیپ‌های ژن HLA-G..... 43
جدول 3-3- بررسی آللی پلی‌مورفیسم INDEL ژن HLA-G..... 44

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل 1-1- راش پروانه‌ای.....3
شکل 1-2- تصویری از زخم DLE.....5
شکل 1-3- مکانیسم‌های بیماری‌زایی SLE.....10
شکل 1-4- مدلی از فاکتورهای موثر بر جریان و نتیجه SLE.....15
شکل 1-5- سیر تاریخی اکتشافات ژن‌ها.....16
شکل 1-6- تصویر شماتیک ژن HLA-G.....21
شکل 1-7- ایزوفرم‌های HLA-G تولیدی از آلترناتیو اسپلایسینگ mRNA اولیه.....22
شکل 1-8- هاپلوتایپ‌های ژن HLA-G.....24
شکل 1-9- ناحیه ترجمه نشده '3 ژن HLA-G.....26
شکل 2-1- انطباق (Alignment) آغازگرهای آلل درج ژن HLA-G با نرم افزار Oligo 7.....36
شکل 2-2- انطباق آغازگرهای رو به جلو (F) و رو به عقب (R) آلل درج ژن HLA-G انسان.....36
شکل 2-3- انطباق (Alignment) آغازگرهای آلل حذف ژن HLA-G با نرم افزار Oligo 7.....36
شکل 2-4- انطباق آغازگرهای رو به جلو (F) و رو به عقب (R) آلل حذف ژن HLA-G انسان.....36
شکل 2-5- پروفایل حرارتی واکنش PCR آلل درج ژن HLA-G.....37
شکل 2-6- پروفایل حرارتی واکنش PCR آلل حذف ژن HLA-G.....38
شکل 3-1- تصویر مربوط به ژل آگارز 1% DNA ژنومی استخراج شده از لوکوسیت‌های خون محیطی.....41
شکل3-2- ژل آگارز 2% مربوط به الکتروفورز محصولات PCR 42
شکل 3-3- نمودار بررسی فراوانی ژنوتیپ HLA-G در دو گروه کنترل و بیمار.....44

چکیده

تنوع ژنتیکی ژن HLA-G در بیماران مبتلا به سیستمیک لوپوس اریتماتوز(SLE)

لیلا عسلی

سیستمیک لوپوس اریتماتوز (SLE) یک بیماری خودایمنی است و با حضور مستقیم اتوآنتی‌بادی‌ها، در برابر آنتی‌ژن‌های هسته‌ای مشخص می‌گردد. SLE می‌تواند هر اندامی را در بدن از جمله مفاصل، پوست و کلیه‌ها تحت‌تاثیر قرار دهد. علت دقیق بیماری‌زایی SLE تاکنون ناشناخته بوده، اما بسیاری از ژن‌هایی که در مسیرهای کلیدی شامل کمپلکس‌های ایمنی، انتقال سیگنال ایمنی میزبان و مسیرهای اینترفرونی فعال بوده در بیماری‌زایی SLE نقش دارند. از آن‌جایی که مولکول‌های HLA کلاس I و II نقش بسیار مهمی را در ارائه پپتید عوامل بیماری‌زا به اجزاء سیستم دفاعی بدن داشته، ژن‌های کدکننده این مولکول‌ها می‌توانند کاندید-های اولیه‌ای برای استعداد ابتلا به بیماری‌های خودایمنی باشند. HLA-G به خانواده آنتی‌ژن‌های غیر کلاسیک HLA کلاس I تعلق دارد. این مولکول بخاطر داشتن ساختار مولکولی متفاوت، درجه پلی‌مورفیسم کم‌تر و مشارکت در پاسخ‌های ایمنی با اعضا کلاسیک کلاس HLA I، متفاوت می‌باشد. این ژن در موقعیت 6p 21.3 قرار دارد. یکی از پلی‌مورفیسم‌های مهم این ژن، پلی-مورفیسم INDEL (درج/حذف قطعه 14bp) در ناحیه 3'UTR (اگزون 8) بوده که روی بیان HLA-G تاثیر داشته و با بیماری-های خودایمنی ارتباط دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم INDEL ناحیه 3'UTR ژن HLA-G در بیماران مبتلا به سیستمیک لوپوس اریتماتوز می‌باشد. در این تحقیق 40 بیمار مبتلا به SLE و 51 فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا DNA ژنومی از خون محیطی استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ به وسیله‌ی واکنش زنجیره ای پلیمراز اختصاصی آلل (AS-PCR) صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار MedCalac (ویرایش دوازدهم) صورت گرفت. در بررسی انجام شده فراوانی ژنوتیپ‌های 14bp/+14bp ، 14bp/+14bp- و 14bp-/14bp- در افراد سالم به ترتیب 21/57% ، 41/18% و 37/25% و در افراد بیمار 17/5% ، 42/5% و 40% به دست آمد.. لذا ارتباط معنی داری بین پلی‌مورفیسم ناحیه 3'UTR ژن HLA-G و بیماری سیستمیک لوپوس اریتماتوز نبود (P>0.05). بطور کلی نتایج حاصل از این مطالعه، عدم ارتباط پلی‌مورفیسم ناحیه 3'UTR ژن HLA-G را با بیماری SLE در جمعیت مورد مطالعه پیشنهاد می نماید. اگرچه برای تایید این یافته به تحقیقات بیشتری نیاز است.

کلیدواژه: سیستمیک *لوپوس اریتماتوز*، ژن *HLA-G* ، پلی مورفیسم 14bp

Abstract

Genetic variation of HLA-G gene in patients with systemic lupus erythematosus (SLE)

Leila Asali

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune desease, and is characterized by the presence of autoantibodies directed against nuclear antigens. SLE can affect every organ in the body, including joints, skin and kidneys. The exact cause of SLE is unknown, but many of these genes fall into key pathways including immune complexes, host immune signal transduction, and interferon pathways implicating in the pathogenesis of SLE. Since classical HLA class I and II molecules are highly implicated in peptide presentation, the genes that encode these molecules have been the primary candidates associated with susceptibility to or protection against the development of autoimmunity. HLA-G belongs to the family of non-classical HLA class I antigens. This molecule differs from the classical HLA class I molecules with regard to variability of molecule structure, degree of polymorphism, and immune functions. This gene located on 6p21.3. One of the most important polymorphisms of this gene is called INDEL polymorphism (insertion/deletion of a 14 bp particle) which is located in 3ʾ UTR region (8th exon), affects on expression level of HLA-G and is related to autoimmune deseases. The purpose of this study is to evaluate the probable relationship between INDEL polymorphism of 3ʾ UTR region of HLA-G gene and occurrence of SLE. In this study, 40 patients with SLE and 51 healthy individuals were examined. At first genomic DNA was extracted from peripheral blood. The genotypes were determined using allele-specific PCR (AS- PCR). Data analysis was performed by MedCalc (12^{th} edition). As a result, genotype frequencies of +14bp/+14bp, -14bp/+14bp and -14bp/-14bp in healthy persons were 21/57%, 41/18% and 37/25%. These parameters were respectively 17/5%, 42/5% and 40% in patients. There was not significant relationship between the polymorphism of 3ʾ UTR region of HLA-G gene and SLE ($P>0.05$). In conclusion, there was no evidence that the polymorphism of 3ʾ UTR region of HLA-G gene were associated with systemic lupus erythematosus in this population. However, further research is needed to determine the validity of this result.

Key words: *systemic lupus erythematosus, HLA-G gene, 14bp polymorphism*

فصل اول

مقدمه

1- مقدمه

1-1- تعریف

سیستمیک لوپوس اریتماتوز (SLE[1]) یک بیماری هتروژن[2] بالینی است که جزء بیماری‌های خودایمنی می‌باشد و از طریق حضور مستقیم اتوآنتی‌بادی‌ها[3]، در برابر آنتی‌ژن‌های هسته ای[4] مشخص می‌شود. هتروژنی بالینی این بیماری به علت اتیوپاتوژنز[5] پیچیده آن می‌باشد که اهمیت فاکتورهای ژنتیکی و قابلیت فردی را در برابر عوامل محیطی نمایان می‌کند. اصطلاح "لوپوس" (لاتین "گرگ") اولین بار برای توصیف جراحت‌های پوستی مخرب ناشی از گاز گرفتگی گرگ استفاده شده بود. SLE می‌تواند هر اندامی را در بدن تحت‌تاثیر قرار دهد (Manson and Rahman, 2006).

1-2- علائم بالینی

کالج آمریکایی روماتولوژی (ACR[6]) در سال 1982 مجموعه‌ای از معیارهای دسته‌بندی را برای بیماری SLE پیشنهاد نمود (Tan *et al.*, 1982). در سال 1997 آنتی‌بادی‌های ضد فسفولیپید[7]، نیز به این معیار دسته‌بندی اضافه شد (جدول 1-1) (Hochberg, 1997). در مجموع 11 معیار تشخیصی برای SLE ارائه گردید. اگر فردی 4 مورد از این 11 علائم را به طور همزمان یا پشت سر هم نشان دهد مبتلا به SLE می‌باشد. معیارها عبارتند از: 1- راش گونه ای[8]، 2- راش دیسکوییید[9]، 3- حساسیت به نور، 4- زخم مخاطی، 5- سروزیت[10]، 6- آرتریت[11]، 7- اختلال کلیه‌ای، 8- اختلال عصبی، 9- اختلال خونی، 10- اختلال خودایمنی و 11- آنتی بادی ضد هسته‌ای[12].

[1] Systemic lupus erythematosus
[2] Heterogeneous
[3] Autoantibodies
[4] Nuclear Antigens
[5] Aetiopathogenesis
[6] American College of Rheumatology
[7] Anti-phospholipid antibodies
[8] Malar rash
[9] Discoid rash
[10] Serositis
[11] Arthritis
[12] Anti-nuclear antibody

جدول 1-1) معیار دسته‌بندی اصلاح شده 1997 سیستمیک لوپوس اریتماتوز (SLE) (Tan *et al.*, 1982).

معیار دسته‌بندی	تعریف/نمونه‌ها
1. راش گونه‌ای	التهاب پوستی معین، بیش‌تر راش های برجسته، تمایل به چین‌های نازک بینی و لب
2. راش دیسکوییید	زخم‌های برجسته اریتماتوز، باقی ماندن جای زخم
3. حساسیت به نور	راش پوستی به عنوان یک نتیجه واکنش غیر معمول پوستی
4. زخم‌های مخاطی	معمولا بدون درد
5. سروزیت	الف) التهاب لایه پلور- درد ریوی، آسیب ریوی، نفوذ مولکولی ریوی ب) التهاب پرده پریکارد- تغییرات ECG[1]، آسیب، نفوذ مولکولی پریکاردیال[2]
6. آرتریت	غیر فرسایش‌گر، درد مفاصل جاکود[3]
7. اختلال کلیه‌ای	الف) وجود پروتئین در ادرار (بیشتر از 0/5 یا 3 گرم در روز) ب) بلورهای سلولی در ادرار
8. اختلال عصبی	الف) حملات صرع ب) بیماری روانی
9. اختلال خونی	الف) آنمی همولیتیک[4] ب) کاهش تعداد گلبول‌های سفید خون ج) کاهش تعداد لنفوسیت‌ها د) کاهش تعداد پلاکت‌ها
10. اختلال خودایمنی	الف) آنتی‌بادی‌های ضد DNA دو رشته‌ای ب) آنتی‌بادی‌های ضد sm[5] ج) آنتی‌بادی-های ضد فسفولیپید
11. آنتی بادی ضد هسته‌ای	شامل دلایل دارویی

علایم و نشانه‌های کلی مشاهده شده در SLE شامل تب، خستگی و کاهش وزن می‌باشد (Maidhof and Hilas, 2012). ویژگی‌های اساسی همچون خستگی، کاهش وزن و تب تهدیدکننده زندگی نیستند اما به طور چشمگیری روی کیفیت زندگی بیماران تاثیر می‌گذارد (Manson and Rahman, 2006). پوست، سیستم اسکلتی ماهیچه‌ای و سیستم ریوی اصولا تحت تاثیر هستند (Pons-Estel *et al.*, 2010). بیماران SLE با درگیری پوست، در زمان قرارگیری در معرض نور خورشید یک راش قرمز رنگ روی بینی و گونه‌هایشان آشکار می‌نمایند. در سال 1846 پزشکی به نام ون هبرا (1816-1880) تشبیه پروانه ای را برای توصیف راش گونه‌ای مطرح نمود.

[1] Echocardiogram
[2] pericardial
[3] Jaccoud
[4] Haemolytic anaemia
[5] Anti-Sm antibodies

او همچنین اصطلاح لوپوس اریتماتوز را بکار برد و اولین تصاویر را در کتاب اطلس بیماری‌های پوستی در سال 1856 منتشر نمود. این راش "پروانه ای[1]" در تعداد چشمگیری از بیماران SLE در جریان بیماری دیده می‌شود (شکل1-1). لوپوس اولین‌بار به عنوان یک بیماری سیستمیک با بروزهای احشایی توسط کاپوسی (1837-1902) معرفی شد. بیماران، راش‌های پوستی را علاوه بر بینی و گونه‌ها، در نواحی دیگری از بدنشان که در معرض نور خورشید قرار گیرد بروز می‌دهند (Maidhof and Hilas, 2012). علاوه بر راش‌های گونه‌ای و دیسکوییید کلاسیک، قرار گرفتن در معرض نور به عنوان عامل محرک بیماری سیستمیک نیز شناخته می‌شود (Manson and Rahman, 2006). علائم دیگر مرتبط با درگیری پوستی در بیماران شامل ریزش مو، پدیده رینود[2] و زخم هایی در دهان یا بینی می‌باشد.

شکل 1-1) راش پروانه‌ای. تصویری از یک راش پروانه‌ای روی صورت، از علائم خاص بیماری سیستمیک لوپوس اریتماتوز است (www.images.rheumatology.org).

درگیری اسکلتی ماهیچه‌ای نیز شامل درد مفصلی، درد ماهیچه‌ای و آرتریت می‌باشد. بیمارانی با علائم ریوی تنفس دردناک، سرفه و تنگی نفس را گزارش دادند. SLE همچنین روی سیستم‌های قلبی عروقی، روده‌ای معده‌ای، کلیوی و خونی به همراه سیستم عصبی مرکزی (CNS[3]) بدن هم تاثیر می‌گذارد (Maidhof and Hilas, 2012). اثرات قلبی عروقی اغلب شامل پریکاردیت (آماس برون شامه قلب)، میوکاردیت[4] (آماس ماهیچه قلب)، اندوکاردیت[5] (آماس غشای درون قلب) و بیماری شریان کرونری[6] می‌باشد (Sitia *et al.*, 2009). در دهه اخیر مشخص شده که بیماران SLE در خطر افزایش یافته‌ی تصلب شریان

[1] butterfly
[2] Raynaud's phenomenon
[3] Central nervous system
[4] Myocarditis
[5] Endocarditis
[6] Coronary artery disease

نیز هستند (Manson and Rahman, 2006). در درگیری روده‌ای معده‌ای، تهوع، استفراغ و درد شکمی متداول می‌باشد (Maidhof and Hilas, 2012).

تغییرات خونی گزارش شده در SLE شامل کم خونی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید خون و کاهش تعداد پلاکت‌ها می‌شود (Quismorio Jr, 2002). وجود آنتی بادی‌های ضد فسفولیپید در بیماران SLE می‌تواند منجر به ترومبوز (لخته خون) یا از دست رفتن جنین شود. سندرم ضد فسفولیپید (APS[1]) اولین بار توسط هوگز در گروهی از بیماران SLE توصیف شد. APS بوسیله عوارض زایمان و ترومبوزهای برگشت‌پذیر در حضور آنتی بادی‌های ضد فسفولیپید (aPL) مشخص می‌شود (Hughes, 1985). بیماران می توانند APS را به دو صورت بروز دهند. در دسته اول سندرم ضد فسفولیپید را بدون هیچ مشخصه‌ای از SLE ارائه داده که به آن APS اولیه (PAPS[2]) گویند. در حالیکه در دسته دوم سندرم ضد فسفولیپید با تظاهرات گوناگون SLE همراه بوده که آن را APS ثانویه (APS[3]) می‌نامند. برخلاف SLE، PAPS اصولا بیماری سیستمیک در نظرگرفته نمی‌شود (Agmon-Levin *et al.*, 2012).

علائم مربوط سیستم عصبی مرکزی در بیماران SLE شامل سردرد، افسردگی، اضطراب، حملات صرع، سکته یا اختلال شناختی می‌باشد (Maidhof and Hilas, 2012). درگیری سیستم عصبی مرکزی در این بیماران معمولا از طریق MRI[4] (تصویربرداری رزونانس مغناطیسی) مغز و طناب نخاعی و آزمایش مایع مغزی نخاعی تایید می‌شود (Manson and Rahman, 2006). درگیری کلیه معمولا کاهش عملکرد کلیه‌ها را در پی دارد، که می‌تواند موجب بالا رفتن سطوح کراتینین[5] سرم و وجود پروتئین در ادرار شود. تقریبا 50% بیماران لوپوس، دچار التهاب کلیه[6] پیشرفته می‌باشند (Maidhof and Hilas, 2012). اتوآنتی‌بادی‌ها در تشکیل کمپلکس‌های ایمنی مشارکت نموده و می‌توانند در کلیه‌ها رسوب نمایند، بدین ترتیب موجب التهاب کلیه‌ها می‌شوند (Nowling and Gilkeson, 2011).

1-3- انواع لوپوس

چهار نوع اصلی از لوپوس شامل، لوپوس اریتماتوز نوزادی (NLE[7])، دیسکویید لوپوس اریتماتوز (DLE[8])، لوپوس القا شده از دارو (DIL[9]) و سیستمیک لوپوس اریتماتوز می‌باشد.

[1] Antiphospholipid syndrome
[2] Primary APS
[3] Secondary APS
[4] Magnetic resonance imaging
[5] Creatinine
[6] Nephritis
[7] Neonatal lupus erythematosus
[8] Discoid lupus erythematosus
[9] Drug induced lupus

1. NLE شکل نادری از انواع لوپوس بوده که در نتیجه عبور اتوآنتی بادی‌های مادری از جفت در نوزادان مشاهده می-شود. اما از تمام نوزادانی که اتوآنتی‌بادی‌های مادری مثبت دارند، تنها حدود 1% آن‌ها NLE را توسعه می‌دهند. تظاهرات بالینی متداول در NLE شامل درگیری قلب، کبد و پوست می‌باشد (Maidhof and Hilas, 2012). در موارد درگیری قلب، مرگ و میر بالایی دیده شده، در حالیکه در تظاهرات پوستی، کبد و خون گاهی علائم و نشانه‌ها به صورت خودبخود بعد از 4 تا 6 ماه رفع می‌شود (Elish and Silverberg, 2006).
2. DLE یک جراحت مزمن و بیماری پوستی‌ای در نتیجه حساسیت به نور بوده که می‌تواند به نوع SLE تبدیل شود یا در بیماران SLE نیز بروز یابد (شکل 1-2). DLE میزان شیوع بالایی را در زنان، آمریکایی‌های آفریقایی و افرادی بین سن 20 تا 40 سال دارد. تشخیص DLE می‌تواند از طریق نمونه‌برداری یک راش روی پوست سر، صورت، گردن یا بازوها صورت گیرد (Maidhof and Hilas, 2012).

شکل 1-2) تصویری از زخم DLE (Ghosh, 2007).

3. DIL نوعی از لوپوس بوده که به علت قرارگیری در معرض یک دارو و ایجاد یک پاسخ خودایمنی روی می‌دهد (Maidhof and Hilas, 2012). هر ساله، تقریبا 15000 تا 30000 موارد از لوپوس از طریق یک محصول دارویی القا می شود (Shmerling, 2005). اگرچه امروزه داروهایی چون پروسینامید[1] و هیدرالازین[2] به فراوانی کاربرد نداشته اما ارتباط آن با القا DIL اثبات شده است (Dalle Vedove *et al.*, 2009). علاوه بر این، ارتباط داروهایی چون پنی سیلین[3]، مینوسیلین[4]، ایزونیازید[5]، متیل دوپا[6] و ضد فاکتور نکروز تومور (anti-TNF[7]) نیز با DIL کشف

[1] Procainamide
[2] Hydralazine
[3] Penicillamine
[4] Minocycline
[5] Isoniazid
[6] Methyldopa
[7] Anti–tumor necrosis factor

شده است (Maidhof and Hilas, 2012). برخلاف SLE میزان بروز DIL در میان زنان و مردان مشابه بوده و در سن بالا بروز می‌یابد (BORCHERS *et al.*, 2007).

4. SLE متداول‌ترین نوع لوپوس بوده که بوسیله اثرات سیستمیک خود از انواع دیگر آن جدا می‌شود (Pons-Estel *et al.*, 2010). میزان بروز SLE تقریبا 20 تا 150 مورد به ازای 100000 فرد بوده و معمولا در زنان در سنین باروری دیده می‌شود (Maidhof and Hilas, 2012). SLE می‌تواند مردان یا زنان را در هر سنی مبتلا کند. SLE در آمریکایی‌های آفریقایی، آسیایی‌ها، اسپانیایی‌ها و آمریکایی‌ها ی بومی به صورت بسیار متداولی مشاهده می‌شود.

1-4- اپیدمیولوژی[1]

میزان بروز SLE تحت تاثیر موقعیت جغرافیایی، گروه‌های نژادی، جنسیت و سن تغییر می‌کند (Maidhof and Hilas, 2012). میزان شیوع گزارش شده از SLE در جمعیت انسانی تقریبا 20 تا 150 مورد به ازای 100000 نفر به دست آمد (Pons-Estel *et al.*, 2010). این میزان در جمعیتی با زمینه آفریقایی یا آسیایی تقریبا 2 تا 3 برابر بیش‌تر از جمعیت‌های سفید می‌باشد (Chakravarty *et al.*, 2007). علاوه بر این، SLE در میان استرلیایی‌های بومی نسبت به غیر بومی (Bossingham, 2003) و در برخی اقوام اولیه یا گروه‌های آمریکایی بومی در کانادا و ایالات متحده (Peschken and Esdaile, 2000) بسیار شایع‌تر است. تظاهرات فنوتیپی لوپوس بین افراد گروه‌های نژادی مختلف متفاوت می‌باشد (Pons-Estel *et al.*, 2010). تفاوت‌ها در بین گروه‌های نژادی در شروع بیماری، احتمالا نقش اجزاء ژنتیکی قومیت را منعکس نموده، در حالیکه اختلافات مشاهده شده در ادامه روند بیماری، نشان‌دهنده نقش اجزاء غیر ژنتیکی قومیت همچون وضعیت اجتماعی، اقتصادی و در دسترس بودن مراقبت‌های پزشکی می‌باشد (Alarcon, 2001). بیماری در مناطق شهری به صورت متداول‌تری نسبت به مناطق روستایی بروز می‌نماید. میزان بروز و شیوع SLE در دوران کودکی، به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از میزان‌های آن در مقایسه با بزرگسالی می‌باشد (Pons-Estel *et al.*, 2010). SLE می‌تواند در هر سنی ایجاد شود (O'Neill and Cervera, 2010). شروع بیماری در 65% از بیماران بین سال‌های 16 و 55 سالگی، 20% قبل 16 سالگی و 15% بعد از 55 سالگی می‌باشد. در بررسی‌هایی از اروپا و آمریکای شمالی، میزان بروز یک ساله SLE در کودکان (کمتر از 16 سال) کمتر از 1 مورد به ازای 100000 فرد بود (Huemer *et al.*, 2001). مهم‌ترین فاکتور خطر برای SLE به وضوح جنسیت است (Pons-Estel *et al.*, 2010). SLE در زنان خصوصا در سنین بارداری تا 10 برابر شایع‌تر از مردان می‌باشد (Cervera *et al.*, 2003). این تفاوت در شیوع بین جنس‌ها می‌تواند ناشی از هم اثرات مستقیم کروموزوم‌های جنسی و یا اثرات غیر مستقیم کروموزوم‌ها مثل هورمون‌های جنسی باشد. زنان مبتلا به SLE، دارای خطر بالایی برای عوارض جدی پزشکی و بارداری

[1] Epidemiology

همچون ترومبوز[1]، عفونت، ترومبوسیتی (کاهش پلاکت‌ها)، تزریق خون، پری‌اکلامپی[2] و مرگ هستند (Clowse *et al.*, 2008). پزشکان به آن دسته از زنانی که دارای بیماری فعال یا درگیری چشمگیر ارگانی می‌باشند توصیه می‌شود تا به علت خطر بالای سقط‌های غیر خودبخودی جنین، زایمان بچه مرده، زایمان بچه نارس و تشدید بیماری، باردار نشوند (Maidhof and Hilas, 2012). پس از زایمان نیز نوزادان باید به دقت برای انتقال جفتی آنتی بادی‌های مادری ارزیابی شوند تا مانع بروز تظاهرات پوستی یا قلبی در آن‌ها شوند (Izmirly *et al.*, 2010). همه مطالعاتی که میزان مرگ و میر را برای گروه‌های نژادی مشخص، بررسی نمودند (Alarcón *et al.*, 2001)، مرگ و میر بالاتری را در میان گروه‌های سیاه، اسپانیایی و اقوام اولیه در مقایسه با جمعیت‌های سفید گزارش دادند. علت مرگ در جریان بیماری متفاوت می‌باشد (Manson and Rahman, 2006). برای مثال در یک بررسی عامل تعداد زیادی از مرگ‌ها در کمتر از 5 سال اول ابتلا به بیماری، لوپوس کلیه شناخته شده است. در حالیکه در مطالعه‌ای دیگر، درگیری عروقی فاکتور بسیار مهمی بود که پس از طی زمان طولانی‌تری موجب مرگ می‌شود (Moss *et al.*, 2002). مردان در جمعیت عمومی نسبت به زنان میزان مرگ مورد انتظار بالاتری را دارند. در حقیقت مردان مبتلا به SLE اوضاع بدتری را نسبت به زنان مبتلا نداشته، بلکه مردان همیشه یک خطر مطلق بالاتری از مرگ و میر را دارا می‌باشند (O'Neill and Cervera, 2010).

1-5- تشخیص بیماری

تشخیص بیماری SLE می‌تواند بر مبنای علائم و نشانه‌های مشاهده شده، آزمون‌های آزمایشگاهی و تشخیصی باشد (Maidhof and Hilas, 2012). پیشرفت‌های جدید در روش‌های تشخیصی، موجب شناسایی فرم‌های ملایم یا شناسایی بیماری در مراحل اولیه شده که در نتیجه با بقای بیش‌تر بیماران مرتبط می‌باشد (Pons-Estel *et al.*, 2010). برای نمونه بیش از 90% بیماران SLE آنتی‌بادی‌های ضد هسته‌ای مثبت (ANA[3]) دارند، از این رو ارزیابی ANA در تشخیص زود هنگام بیماری SLE بسیار ضروری است (Tan and Von-Muhlen, 1995). اکثریت بیماران سطوح بالایی از آنتی‌بادی‌ها را خصوصا در برابر اجزای هسته‌ای مثل نوکلئوزوم‌ها[4]، DNA و هیستون‌ها[5] دارند. به طور کلی رسوب کمپلکس‌های ایمنی در اندام‌های هدف یا واکنش متقابل با آنتی‌ژن‌های عملکردی به طور مستقیم موجب بیماری‌زایی SLE می‌شود. علاوه بر SLE، ANA مثبت در برخی از بیماری‌های دیگر همچون سسیستمیک اسکلروزیس[6]، پلی‌میوزیت[7]، آرتریت روماتویید[8] یا برخی

[1] Thrombosis
[2] Pre-eclampsia
[3] Anti-nuclear antibody
[4] Nucleosomes
[5] Histones
[6] Systemic sclerosis
[7] Polymyositis
[8] Rheumatoid arthritis

عفونت‌های خاص نیز وجود دارد (Manson and Rahman, 2006). آنتی‌بادی ضد DNA دو رشته‌ای و آنتی‌بادی ضد sm، دو اتوآنتی‌بادی اختصاصی برای تشخیص قوی SLE می‌باشند (Brasington *et al.*, 2003). علاوه بر بررسی ANA، همه بیماران باید برای آنتی‌ژن‌های هسته‌ای قابل استخراج (ENA[1]) نیز آزمایش شوند. ENAهای مختلفی چون آنتی‌بادی ضد sm مرتبط با درگیری کلیه و آنتی‌بادی ضد Ro با سندرم شوگرن[2] ثانویه ارتباط دارند. در SLE آنتی‌بادی‌ها در برابر DNA دو رشته‌ای و نوکلئوزوم‌ها بسیار اختصاصی هستند (Manson and Rahman, 2006). مثال‌های دیگری از ANAها آنتی‌بادی-های ضد Ro و La هستند که در طی بارداری آشکار شده و با آسیب قلبی جنین مرتبط می‌باشند (Clancy *et al.*, 2004). دسته دیگری از اتوآنتی‌بادی‌ها بخش فسفولیپید کمپلکس فعال‌کننده پروترومبین[3] و نیز کاردیولیپین[4] را هدف گذاری می‌نمایند. این آنتی‌بادی‌های ضد فسفولیپید می‌توانند منجر به لخته شدن غیر طبیعی خون و نیز از دست رفتن جنین شوند (Maidhof and Hilas, 2012). به طور کلی میزان تیتر آنتی‌بادی‌ها با فعالیت بیماری تغییر یافته و آزمایش متناوب یک ابزار مشاهده مفید می‌باشد (Manson and Rahman, 2006). معمولا شعله‌وری بیماری با تیترهای بالای آنتی‌بادی‌های ضد DNA دو رشته‌ای، میزان رسوب اریتروسیت (ESR[5])، کاهش اجزاء کمپلمان[6] و لنفوسیت‌ها[7] همراه است. برخلاف ESR، پروتئین C واکنش‌پذیر (CRP[8]) با فعالیت بیماری تغییر نکرده بلکه در هنگام وجود بیماری‌های دیگری چون آرتریت یا سروزیت افزایش می‌یابد. از این رو CRP افزایش یافته در یک بیمار SLE نشان‌دهنده عفونت می‌باشد (Pons-Estel *et al.*, 2010). علاوه بر آزمایش اتوآنتی‌بادی، آنالیزهای آزمایشگاهی تشخیصی متداول دیگری همچون محاسبه کامل خون (CBC[9]) به همراه ضریب متغیر، پروفایل متابولیکی کامل، تجزیه شیمیایی ادرار برای تعیین کلیرانس[10] کراتینین و حضور پروتئین در ادرار یا رسوب فعال نیز انجام می شود (Maidhof and Hilas, 2012). در طی شعله‌ور شدن بیماری، بررسی سطح کمپلمان (C4 و C3) به عنوان نشانگرهای بالقوه استفاده می‌شود (Birmingham *et al.*, 2010).

1-6- بیماری زایی[11]

SLE بیماری مزمنی است که اندام‌های متنوعی را تحت تاثیر قرار داده و اصولا در نتیجه‌ی تشکیل و رسوب اتوآنتی بادی‌ها و

[1] Extractable nuclear antigens
[2] Sjogren's syndrome
[3] Prothrombin activator complex
[4] Cardiolipin
[5] Erythrocyte sedimentation rate
[6] Complement
[7] Lymphocyte
[8] C Reactive Protein
[9] Complete blood count
[10] Clearance
[11] Pathogenesis

کمپلکس‌های ایمنی منجر به آسیب‌های بافتی می‌گردد (Maidhof and Hilas, 2012). پاسخ ایمنی در برابر آنتی ژن‌های هسته‌ای درونی از مشخصه‌های بیماری‌زایی بیماری SLE است. در واقع اتوآنتی‌ژن‌های[1] آزاد شده از طریق سلول‌های آپوپتوزی[2]، توسط سلول‌های دندرتیک (DC[3]) به سلول‌های T عرضه شده که منجر به فعال‌سازی شان می‌شود. سلول‌های T فعال شده یک به یک به سلول‌های B کمک نموده تا آنتی‌بادی‌ها را بواسطه ترشح سایتوکاین‌هایی[4] همچون IL10[5] و IL23[6] تولید نمایند. چون در آپاپتوزیس[7]، پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی مشارکت داشته، در بیماری‌زایی SLE، گروه زیادی از سلول‌ها و مولکول‌ها درگیر می‌باشند. با وجود تحقیقات گسترده، تاکنون مکانیسم‌های دقیق بیماری‌زایی SLE به طور کامل درک نشده است (Manson and Rahman, 2006). سلول‌های B بسیار فعال ناشی از تحریک سلول T و آنتی‌ژن، تولید آنتی‌بادی‌ها را در برابر آنتی‌ژن‌هایی که روی سطح سلول‌های آپاپتوزی ارائه شده، افزایش می‌دهند. آنتی‌ژن‌های محرک سلول T و B در بیماران SLE، می‌توانند موجب انهدام نادرست سلول‌های آپاپتوزی شوند. در جریان مرگ سلولی، بخش‌هایی از مواد سلولی روی سطح سلول در حال مرگ قرار می‌گیرند. در واقع این بخش‌ها، آنتی‌ژن‌هایی هستند که به طور طبیعی هیچگاه روی سطح یک سلول حضور نداشته و در درون سلول‌ها قرار دارند، اما با انهدام نادرست روی سطح سلول ظاهر می‌شوند (Maidhof and Hilas, 2012). نمونه‌هایی از این آنتی‌ژن‌ها، نوکلئوزوم‌ها و فسفولیپیدهای آنیونی[8] هستند که در بیماران SLE شناسایی شده و پتانسیل تحریک یک پاسخ ایمنی را دارند (Casciola-Rosen *et al.*, 1994). عقیده کلی بر این است که کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوزی خطرناک بوده زیرا به کارکرد صحیح سلول‌های فاگوسیت‌کننده[9] آسیب می‌رساند. در نتیجه‌ی آن موجب انهدام غیر بهینه سلول‌های در حال مرگ شده و شناسایی آنتی‌ژن ها توسط سیستم ایمنی در بیماران SLE می‌شود (Munoz *et al.*, 2005). به نظر می‌رسد بیماری SLE زمانی که یک لنفوسیت T به یک سلول ارائه دهنده آنتی‌ژن (APC[10]) معرفی شود توسعه می‌یابد (Maidhof and Hilas, 2012). گیرنده سلول T به بخش اصلی کمپلکس سازگار بافتی (MHC[11]) APC متصل شده، که می‌تواند منجر به آزادسازی سایتوکاین، التهاب و تحریک سلول B شود. تحریک تقسیم سلول B و تولید اتوآنتی‌بادی‌های ایمنوگلوبولین G (IgG[12]) که موجب آسیب بافتی شده در بیماری‌زایی SLE اتفاق می‌افتد (شکل 1-3) (Rahman, 2004).

[1] Autantigens
[2] Apoptotic cells
[3] Dendritic cell
[4] Cytokines
[5] Interleukin-10
[6] Interleukin-23
[7] Apoptosis
[8] Anionic phospholipids
[9] Phagocytic cells
[10] Antigen-presenting cell
[11] Major histocompatibility complex
[12] Immunoglobulin G