



Scan online to view this article

Investigation of HLA-DQB2 allele in Patients with Alopecia Areata

Reyhaneh Abgoon¹, Pardis Sadat Tabatabaei Panah¹, Reza Akbarzadeh²

1- Department of Biology, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran

2- Urogenital Stem Cell Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Shahid Labbafi Nejad Educational Hospital, Tehran, Iran.

Abstract:

Aim and Background: Alopecia Areata (AA) is a common immune-mediated disease which considered as the second most common cause of hair loss in humans. This hair loss targets hair follicles, and has a genetically complex inheritance. HLA genes such as HLA class II can influence the development of AA. The aim of the study was to investigate whether HLA-DQB2 allele is associated with AA.

Materials and Methods: Alopecia Areata patients and control subjects were enrolled in this study. A total of 30 AA patients (13 female and 17 male with mean age 26.3 ± 12.5) and 15 healthy controls (5 Female and 10 Male with mean age 30 ± 5.88) were included and analyzed in a case-control study. Genomic DNA was prepared using DNG plus method. Polymerase chain reaction with sequence specific primers technique (PCR-SSP) used to detect HLA-DQB2. Association of HLA-DQB2 allele with family history, age of onset, and stress were assessed by logistic regression analysis.

Results: HLA-DQB2 allele did not show a significant association with susceptibility to AA and had a frequency of 56.7% in AA patient vs 26.7% in healthy controls (OR = 3.596, 95% CI = 0.929-13.916, *p* value = 0.064). Furthermore, this study did not show any association of HLA-DQB2 allele with family history (OR = 0.3, 95% CI = 0.06 – 2.32, *p* value = 0.3), phobia (OR = 1.57, 95% CI = 0.38-6.4 *p* value = 0.5) and stress (OR = 1.36, 95% CI = 0.28-6.48 *p* value = 0.6), family history (OR=0.4, 95%CI=0.06, *p* value=0.3). the significant association found with sunlight exposure with HLA-DQB2 allele in AA (OR=4.46,95%CI=0.95-20.83, *p* value=0.05).

Conclusion: Our data do not show a correlation between the HLA-DQB2 allele and occurrence of AA and clinical data in Iranian population. To our knowledge this is the first study to frequency of HLA-DQB2 allele in Iranian AA patients.

Keywords: HLA-DQB2, PCR-SSP, Alopecia Areata, autoimmune disease

Corresponding author:

Department of Biology, Islamic Azad University, East Tehran Branch, Tehran, Iran

Email: tabatabacipanah@gmail.com



برای مشاهده این مقاله به صورت
آنلاین اسکن کنید

بررسی فراوانی آلل HLA-DQB2 در بیماران مبتلا به آلوپسیا آره آتا

ریحانه آبگون^۱، پردیس سادات طباطبائی پناه^{۱*}، رضا اکبرزاده^۲

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شرق، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات سلول های بنیادی اروژنیال، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، بیمارستان آموزشی شهید لبافی نژاد، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: آلوپسیا آره آتا (AA) یک بیماری چند عاملی است که با ریزش موی سر به خصوص در ناحیه سر شناسایی می شود که ۵ میلیون نفر را تحت تأثیر خود قرار داده است. نواحی خاصی از HLA ها شناسایی شده که با پاتوژن بیماری آلوپسیا آره آتا در ارتباط است. در این تحقیق اثر فراوانی آلل HLA-DQB2 در بروز بیماری آلوپسیا آره آتا در جامعه بیمار و کنترل بررسی شده است.

مواد و روش ها: این مطالعه شامل ۳۰ بیمار AA (۱۳ زن و ۱۷ مرد، میانگین سنی ۲۶/۳) و ۱۵ نفر کنترل سالم (۵ زن و ۱۰ مرد با میانگین سنی ۳۰) است. DNA از نمونه های خون با استفاده از روش DNG plus استخراج شد و با روش PCR-SSP تشخیص HLA(HLA-DQB2) انجام شد. علاوه بر این ارتباط بین این آلل HLA با فاکتورهای دموگرافیک بررسی شد.

یافته ها: فرکانس آلل HLA-DQB2 در مقایسه با افراد کنترل (۲۶/۷٪) در بیماران به طور چشم گیری بالاتر بوده است. از بین فاکتورهای دموگرافیک، فقط در معرض آفتاب بودن با وجود آلل HLA-DQB2 ارتباط معنی داری نشان داده است. همچنین هیچ ارتباط معنی داری بین ترس، استرس، سابقه خانوادگی در بیمارانی با بیماری AA با وجود این آلل یافت نشده است.

بحث: داده های ما هیچ ارتباطی بین آلل HLA-DQB2 و وقوع بیماری آلوپسیا آره آتا نشان نمی دهند، گرچه میزان وجود آن در بیماران AA به طرز چشم گیری نسبت به افراد سالم بیشتر است.

واژه های کلیدی: HLA-DQB2، PCR-SSP، آلوپسیا آره آتا، بیماری خودایمنی

مقدمه

بیماری آلوپسیا آره آتا^۱ (AA) یک اختلال خودایمنی شایع پوستی است که به شکل اختصاصی فولیکول های مو را نشان می رود و مانع از رشد آن ها در منطقه خاصی از بدن فرد می شود (۱۹). رخداد این بیماری وابسته به بسیاری از عوامل مثل فاکتورهای ژنتیکی، بی نظمی های سیستم عصبی، حضور فاکتورهای التهابی و هورمونی، عوارض دارویی و کم

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شرق، تهران، ایران.

پست الکترونیکی: tabatabaeipناه@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۵

¹ Alopecia Areata

هدف از انجام این مطالعه، مقایسه فراوانی آلل بین HLA-DQB2 میان بیماران AA و افراد کنترل و بررسی ارتباط این آلل با استعداد به ابتلا به AA در جمعیت ایرانی است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این مطالعه از ۳۰ نمونه بیماران مبتلا به آلپسیا آره‌آتا که به بیمارستان‌های فوق تخصصی شهدای تجریش و بیمارستان فوق تخصصی لقمان از مرداد سال ۹۳ تا آبان سال ۹۴ مراجعه کرده بودند، استفاده شد (اکثر افراد دارای این بیماری به علت عدم اطلاع از بیماری خود به مراکز درمانی مراجعه نمی‌کنند). نمونه‌گیری زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه پزشکی شهید بهشتی و تحت معیارهای سازمان بهداشت جهانی^۱ (WHO) بود. هم‌چنین از ۱۵ فرد کنترل نیز نمونه جمع‌آوری شد. افراد کنترلی که خود یا خانواده شان مبتلا به بیماری آلپسیا آره‌آتا بودند از مطالعه خارج شدند. در هنگام جمع‌آوری خون افراد، فرم پرسش‌نامه تکمیل شد. سؤال‌های پرسش‌نامه براساس ارتباط این بیماری با فاکتورهای مهم دخیل در ایجاد آن طراحی شد و برای طراحی سؤال‌های این پرسش‌نامه از مقاله‌های معتبر (۱۴) استفاده گردید. نمونه‌های خون در فالتکون‌های حاوی EDTA 1mg جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج کامل نگهداری شدند.

تعیین ژن HLA-DQB2

پس از جمع‌آوری نمونه‌های افراد بیمار و کنترل، نمونه‌های خون از فریزر بیرون آورده شد و DNA ژنومیک به کیت DNG plus (شرکت سیناکلون، ایران) استخراج شد. کیفیت DNA استخراج شده به روش الکتروفورز ژل آگارز تأیید و کمیت DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر مشخص گردید. جذب نوری DNA^۳ استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر قرائت و سپس غلظت هر کدام از نمونه‌ها تعیین شد.

خونی است (۱۷). بروز درمیان دوقلوهای همسان در ۵۵٪ موارد دیده می‌شود که بر مهم بودن عوامل ژنتیک در کنار عوامل محیطی تأکید دارد (۱۳). شیوع این عارضه در حدود ۱۵۰ مورد در هر صد هزار نفر تخمین زده می‌شود که معادل ۲/۱۰٪ از جمعیت بر آورد می‌شود. افراد مبتلا به AA، دچار از دست دادن منطقه‌ای مو در برخی از نواحی سر یا بدن می‌شوند (۱۰). شیوع AA به شکل خانوادگی بین ۳ تا ۴۲ درصد است. مشخص شده است که ۳۷ درصد از بیمارانی که بیماری آن‌ها قبل از ۳۰ سال بروز می‌کند، دارای سابقه خانوادگی هستند. حدود ۶۰ درصد از این بیماری قبل از ۲۰ سالگی رخ می‌دهد و شیوع بیماری در هر دو جنس به صورت تقریبی یکسان است. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که عوامل نژادی هم می‌تواند در شیوع این بیماری مؤثر باشد (۲۲).

یکی از فاکتورهای ژنتیکی مربوط با پیشرفت AA، لوکوس HLA^۱ است. ژن‌های سیستم HLA بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ قرار گرفته است (۱۸). در منطقه HLA ژن‌های کلاس I، II و III وجود دارند. منطقه HLA کلاس II متراکم‌ترین ناحیه ژنوم برای ارتباط با بیماری‌ها است. این منطقه شامل ژن‌های بسیار پلی‌مورفیک DQ، DP و DR است (۲۰). مولکول‌های کلاس II شامل یک زنجیره آلفا (DQA) و یک زنجیره بتا (DQB) هستند و نقش مهمی در سیستم ایمنی توسط ارائه پروتئین‌های خارج سلولی دارند. این مولکول‌ها به میزان زیادی در سطح سلول‌های ارائه کننده آنتی‌ژن مانند سلول‌های دندریتیک بیان می‌شوند (۱).

مطالعه‌های روی بیماری AA، ارتباط بین این بیماری با آنتی‌ژن‌های HLA کلاس I و II را نشان می‌دهند HLA-DQB2 آلل ژنی مربوط به زنجیره بتای HLA-DQ است که جزء HLA‌های کلاس II است که در برخی جمعیت‌ها با بیماری AA مربوط است (۲۳، ۸).

¹ World Health Organization

³ Optical Density

¹ Human Leukocyte Antigen

ژن HLA-DQB2 توسط واکنش زنجیره ای پلی مرارز با تکنیک پرایمرهای اختصاصی سکانس^۱ (PCR-SSP) تکثیر و شناسایی شد. این روش PCR در تعیین HLA روشی حساس و دقیق است. در این روش هر جفت پرایمر قادر به شناسایی توالی اختصاصی مربوط به خود است. توالی نوکلئوتیدی، غلظت، طول، Tm پرایمر و اندازه محصول در جدول ۱ آمده است.

هر ۲۵ میکرولیتر واکنش PCR شامل ۱ میکرولیتر DNA ژنومی، بافر ۱۰ x PCR (۵/۲ میکرولیتر)، ۰/۷۵ میکرولیتر MgCl₂ (۵۰ mM)، ۱۰ dNTP میلی مولار (۵/۰ میکرولیتر)، آنزیم Taq polymerase ۵ U/μl (۴/۰ میکرولیتر) و ۱ میکرولیتر از پرایمرهای Forward و Reverse اختصاصی (که همگی از شرکت Bioneer کره جنوبی بودند) می شد. محلول حاصل در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت. واکنش PCR به شکل زیر انجام شد: پس از یک واسرشتگی اولیه در ۹۳ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه، DNAها توسط ۴۰ سیکل تکثیر شدند. این سیکلها شامل مرحله واسرشتگی در ۹۳ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمر در ۶۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه و مرحله گسترش در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه بود. هم چنین گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. پس از انجام PCR نمونه ها به روی ژل آگارز ۲٪ رنگ شده با سایبر گرین (سیناکلون، ایران) برده شدند و نتیجه ژل زیر نور فلورسانس مورد بررسی قرار گرفت. تفسیر نتایج بر اساس وجود و یا عدم وجود باندهای اختصاصی انجام پذیرفت.

آنالیز آماری

آنالیز آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. نتایج متغیرهای کمی به شکل میانگین و SE و نتایج متغیرهای کیفی به شکل عدد و فراوانی عنوان گردید و به شکل گراف ترسیم شد. برای مشخص کردن توزیع نرمال داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۲ استفاده شد. جهت مقایسه مقادیر متغیرهای کیفی در دو گروه از آزمون

مربع کای و برای مقادیر متغیرهای کمی از آزمون student's t-test استفاده گردید. از آزمون لوجستیک رگرسیون^۳ برای اندازه گیری نسبت شانس^۴ (OR) و ضریب اطمینان ۹۵٪ (CI)^۵ به منظور بررسی فاکتورهای خطر استفاده شد. CIها در ۹۵٪ تنظیم گردید. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

این مطالعه شامل ۳۰ بیمار AA (۱۷ مرد و ۱۳ زن) با میانگین سنی ۱۲/۵ ± ۳/۲۶ و هم چنین ۱۵ نفر کنترل (۱۰ مرد و ۵ زن) با میانگین سنی ۵/۸۸ ± ۳۰ (p=۲۶/۰) بود. نتایج اطلاعات دموگرافیک بیماران (جدول ۲) نشان می دهد که بر خلاف اکثر بیماری ها که با افزایش سن، افزایش می یابد، بیماری AA در محدوده سنی ۲۶ تا ۳۲ سال بیشترین فراوانی را دارد (شکل ۱).

میزان فراوانی شدت بیماری متوسط (زیر ۵۰٪) و شدت بیماری شدید (بالای ۵۰٪) است. نتایج نشان می دهند که ۵۰٪ از بیماران دارای بیماری شدید و ۵۰٪ از بیماران دارای شدت بیماری متوسط بوده اند. بیماران دارای شدت بیماری شدید، ریزش موی شدید و بیماران دارای شدت بیماری متوسط، ریزش موی کمتری را نشان می دهند. هم چنین نتایج ما حاکی از این است که سر با ۸۶/۷ درصد بیشترین فراوانی را در محل ریزش مو نسبت به منطقه ریش و سبیل (۳۳/۳)، ابرو (۲۶/۷) و مژه (۲۰) داراست (جدول ۲).

با بررسی *P value* ها بین بیماران و افراد کنترل، در معرض آفتاب قرار گرفتن، معنی دار است. بنابراین در معرض آفتاب شدید قرار گرفتن می تواند به عنوان یکی از فاکتورهای خطر این بیماری مطرح باشد.

نتایج بررسی PCR-SSP نشان می دهد که ۵۶/۷ درصد از بیماران HLA-DQB2 مثبت و ۴۳/۳ درصد، HLA-DQB2 منفی هستند. ۲۶/۷ درصد از افراد کنترل HLA-

² Logistic Regression

³ Odd Ratio

⁴ 95% confidence interval

¹ Polymerase chain reaction-sequence specific primer

¹ Kolmogorov-Smirnov

HLA-DQ یک گیرنده سطح سلولی پروتئینی است که بر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن^۱ (APC) یافت می‌شود. HLA نماد پاسخ ایمنی است که استعداد ژنتیکی فرد در ابتلا و پیشرفت بیماری را نشان می‌دهد. نوع HLA موجود در یک فرد یا نژاد، فرد مبتلا را نسبت به پیشرفت بیماری مستعدتر یا مقاوم‌تر می‌سازد. تعیین HLA در گروه های عظیمی از بیماران مبتلا به بیماری خودایمنی نشان داده که برخی از آلل‌های HLA با فراوانی بیشتری در این بیماران نسبت به جمعیت طبیعی یافت می‌شود. بسیاری از بیماری‌ها به‌خصوص آن‌هایی که خودایمنی هستند با HLA در تعامل‌اند. پایه مولکولی برای این تعامل ژنتیکی با بیماری، اتصال HLA و عرضه پپتیدهای مشتق شده از آنتی‌ژن‌های بیگانه و خودی به سیستم ایمنی برای تشخیص و فعال کردن پاسخ ایمنی است (۵).

ژن HLA-DQB2 باعث ساخت یک پروتئین که نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن ایفا می‌کند می‌شود. این پروتئین به قطعات پروتئین در خارج از سلول متصل می‌شود و در واقع باعث شناسایی و عرضه آنتی‌ژن‌های بیگانه می‌گردد. هنگامی که تحمل به پروتئین‌های خودی از دست برود، DQ می‌تواند در ابتلا به بیماری‌های خودایمنی درگیر شود (۷).

HLA یکی از قوی‌ترین فاکتورهای ژنتیکی در مورد بیماری آلوپسیا آره‌اتا است. ارتباط آلل‌های کلاس HLA-DQ با بیماری‌های خودایمنی مثل آلوپسیا آره‌اتا به‌طور عمده به‌خاطر این است که مولکول HLA کلاس II در انتخاب و فعال شدن سلول‌های T^{CD4+} نقش دارند و سلول‌های T^{CD4+} هر دو نوع پاسخ‌های ایمنی همورال و سلولی را بر علیه آنتی ژن‌های پروتئینی تنظیم می‌کنند (۱۶، ۶).

نقش مولکول HLA-DQ در بیماری‌های خودایمنی با نقش آن‌ها در ارائه آنتی‌ژن به سلول‌های T مرتبط است یعنی باعث ارائه یک پپتید خودی تغییر یافته به سلول‌های T شده و می‌تواند یک بیماری خودایمنی ایجاد کند (۸). با توجه به سلول‌های HLA و توزیع آن براساس محدوده

DQB2 مثبت و ۷۳/۳ درصد، HLA-DQB2 منفی هستند. بنابراین HLA-DQB2 در بیماران AA در مقایسه با افراد کنترل افزایش یافته است (جدول ۳) (P : ۰/۰۶۴). در جدول ۳ بیماران و افراد کنترل دارا و فاقد این آلل را به همراه اطلاعات آماری نشان داده شده است.

فراوانی ژن HLA-DQB2 در نمونه‌های بیمار مبتلا به AA و کنترل به شکل نمودار ستونی در شکل ۲ نشان داده شده است.

با بررسی ارتباط بین فاکتورهای دموگرافیک و وجود آلل HLA-DQB2 در بیماران مشخص شد که فاکتور در معرض آفتاب بودن ارتباط معنی‌داری با وجود این آلل دارد (جدول ۴). این به این معناست که بیماران دارای این آلل با در معرض آفتاب شدید قرار گرفتن، احتمال بروز این بیماری را افزایش می‌دهند.

بحث

مو، بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی مهم را ایفا می‌کند. فولیکول‌های مو از لحاظ اندازه و شکل بسته به موقعیت شان متفاوت هستند، اما همه آن‌ها ساختارهای پایه مشابهی دارند. هر گونه نقص و اختلال در چرخه عملکرد مو سبب تولید بیماری‌هایی مثل ریزش مو می‌شود (۲۱).

آلوپسیا یک نوع بیماری خود ایمنی است که افراد در آن قسمتی از موی خود را از دست می‌دهند. آلوپسیا آره‌اتا یکی از انواع شایع آلوپسیا است که به معنی کاهش موی سر یا هر قسمتی از بدن به هر علتی است (۲۰، ۲). عوامل مختلفی مثل وراثت و سابقه خانوادگی، نژاد، ارتباط با HLA، اتوآنتی‌بادی و استرس سبب ایجاد این بیماری می‌شوند (۱۱، ۲۲).

در بین ژن‌هایی که با خودایمنی در ارتباط هستند قوی‌ترین ارتباط با ژن‌های MHC (HLA) وجود دارد که به شدت پلی‌مرف هستند (۱۵).

¹ Antigen presenting cell

جغرافیایی و ژنتیک لازم است بررسی های بیش تری در هر کشور و نژاد صورت گیرد که آلل های محافظ و آلل های مستعد کننده در هر نژاد بررسی شوند و بدین گونه با پی بردن به انواع آلل های HLA در افراد مبتلا به آلوپسیا آره آتا و افراد نرمال در یک نژاد می توان افراد واجد HLA مستعد کننده را شناسایی کرد و اقدامات پیش گیری دارویی یا درمانی را زودتر آغاز نمود (۲۴،۱۶).

مطالعه های گوناگونی اشاره به افزایش فراوانی آلل HLA-DQB1*03 در بیماران AA دارند (۲۵،۳، ۱۵).

در یک مطالعه که توسط Ahmet و همکاران صورت گرفته است افزایش معنی دار بین فراوانی آنتی ژن HLA-DQB1*03 و بیماری اثبات شده است (۳). مطالعه دیگر توسط Aliagaoglu و همکاران آلل HLA-DQB1*03 را به عنوان یک مارکر مستعد بودن به بیماری AA در جمعیت ترکیه گزارش کرده اند (۴). اما مطالعه های این پژوهش نتوانست ارتباط معنی داری بین این آنتی ژن و بیماری AA یافت کند ($P \text{ value} = 0/8$).

مطالعه های مختلف شیوع درگیری ناخن در افراد مبتلا به آلوپسیا آره آتا را مورد بررسی قرار داده اند. میزان این درگیری گستره بسیار وسیعی داشته و از ۷ تا ۶۶٪ برآورد شده است (۱۲). شیوع درگیری ناخن در بیماران در مطالعه ما ۳۰٪ بود که هم از نظر شیوع کلی در گستره برآورد شده سایر مطالعه ها قرار دارد. شیوع درگیری خانوادگی در مبتلایان به آلوپسیا آره آتا در مطالعه های مختلف از ۴ تا ۲۸٪ گزارش شده است و برخی معتقدند که حتی می توان گفت آلوپسیا آره آتا ممکن است به ارث برسد (۹). شیوع درگیری خانوادگی در مطالعه حاضر ۲۰٪ به دست آمد که در محدوده گستره سایر مطالعه ها قرار می گیرد.

یکی دیگر از فاکتورهایی که ارتباطش با این بیماری در مطالعه های مختلف بررسی شده است، دارا بودن استرس است (۹). در مطالعه حاضر شیوع استرس در بیماران ۶/۷۶٪ است و این مقدار بین بیماران و افراد کنترل معنی دار است ($p=0.01$). بنابراین استرس طبق یافته های ما می تواند در ایجاد این بیماری مؤثر باشد.

در بررسی آماری ارتباط بین فاکتورهای دموگرافیک با HLA-DQB2، بودن در معرض آفتاب از میان فاکتورهای دموگرافیک، رابطه معنی داری با این آلل دارد که نشان می دهد که وجود این آلل در بیماران در فاکتورهای دموگرافیک بررسی شده تأثیر دارد.

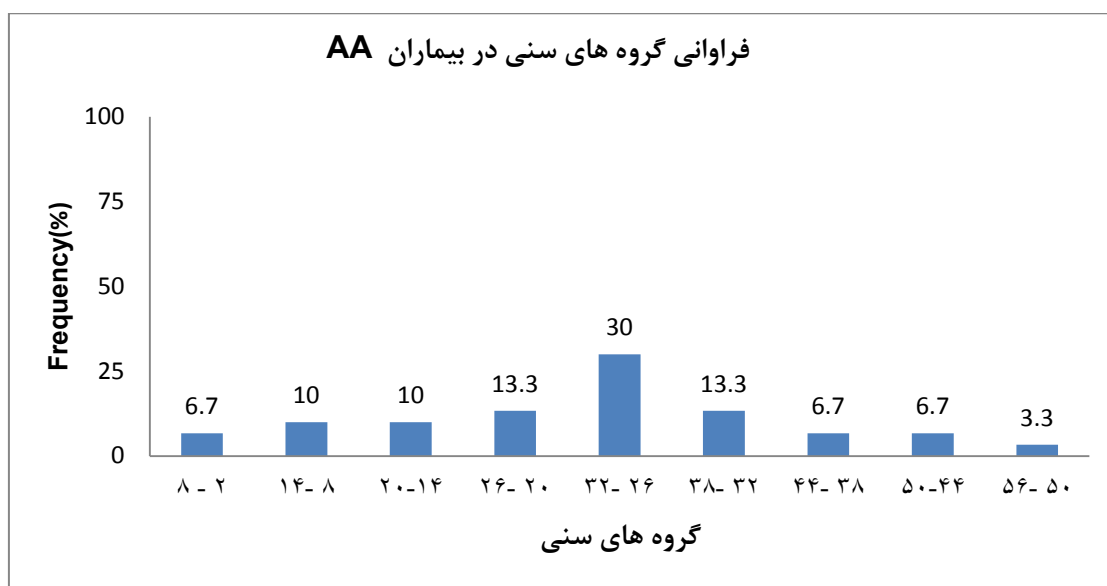
از مشکلات و محدودیت های کار، می توان به جمع آوری نمونه اشاره کرد. این بیماری با این که بیماری نادری نیست اما مراجعه کننده زیادی به مراکز درمانی ندارد. این مسأله به این دلیل است که این ریزش مو از سوی بیماران نه به عنوان یک بیماری بلکه به عنوان یک ریزش موی طبیعی محسوب می شود.

نتیجه گیری

در مجموع، یافته های پژوهش حاضر نشان می دهد که وجود آلل HLA-DQB2 با ایجاد بیماری آلوپسیا آره آتا رابطه ای نداشته اما وجود این آلل بر فاکتورهای دموگرافیک در این بیماران همانند در معرض نور آفتاب بودن مؤثر است. هم چنین وجود استرس در ایجاد این بیماری در جمعیت مورد بررسی دخیل است.

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی، غلظت، طول، Tm و اندازه محصول پرایمرهای مورد استفاده در PCR-SSP

اندازه محصول	طول	Tm	توالی نوکلئوتیدی	نوع پرایمر	غلظت پرایمر	ژن
۱۵۰bp	۲۰bp	۵۳/۶°C	5'GGTAAGAGGGAAAGCCCAGT3'	Forward	۱۰pmol/μl	HLA-DQB2
	۲۰bp	۵۳/۴°C	5'CTGTCTCCGAGATTCCCAAG3'	Reverse	۱۰pmol/μl	



شکل ۱- گروه های سنی در افراد بیمار مبتلا به آلوپسیا آره آتا

جدول ۲- اطلاعات دموگرافیک افراد بیمار و کنترل مبتلا به AA

P value	گروه کنترل	گروه بیمار	خصوصیت	
			جنس (%)	زن
-	۵ (۳۳/۳)	۱۳ (۴۳/۳)		مرد
-	۱۰ (۶۶/۷)	۱۷ (۵۶/۷)		
-	۳۰ ± ۵/۸۸	۲۶/۳ ± ۱۲/۵	سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)	
-	-	۵/۲ ± ۴/۷	مدت زمان ابتلا (سال)	
-	-	۲۶/۶ ± ۳۱/۹	سن شروع ابتلا (سال)	
۰/۲	۱ (۶/۷)	۶ (۲۰)	وجود سابقه خانوادگی (n/%)	
۰/۰۱*	۶ (۴۰)	۱ (۳/۳)	سابقه ابتلا به عفونت موضعی (n/%)	
۰/۱	۱ (۶/۷)	۹ (۳۰)	وجود مشکلات ناخن (n/%)	
۰/۰۱*	۶ (۴۰)	۲۳ (۶۷/۷)	دارا بودن استرس (n/%)	
۰/۲	۱ (۶/۷)	۶ (۲۰)	ابتلا به افسردگی مزمن (n/%)	
۰/۲	۲ (۱۳/۳)	۹ (۳۰)	ابتلا کم خونی (n/%)	
-	۰	۴ (۱۳/۳)	ابتلا به کم کاری تیروئید (n/%)	
-	۰	۷ (۲۳/۳)	ابتلا به بیماری های کبدی (n/%)	
۰/۰۵	۲ (۱۳/۳)	۱۳ (۴۳/۳)	سابقه جراحی (n/%)	

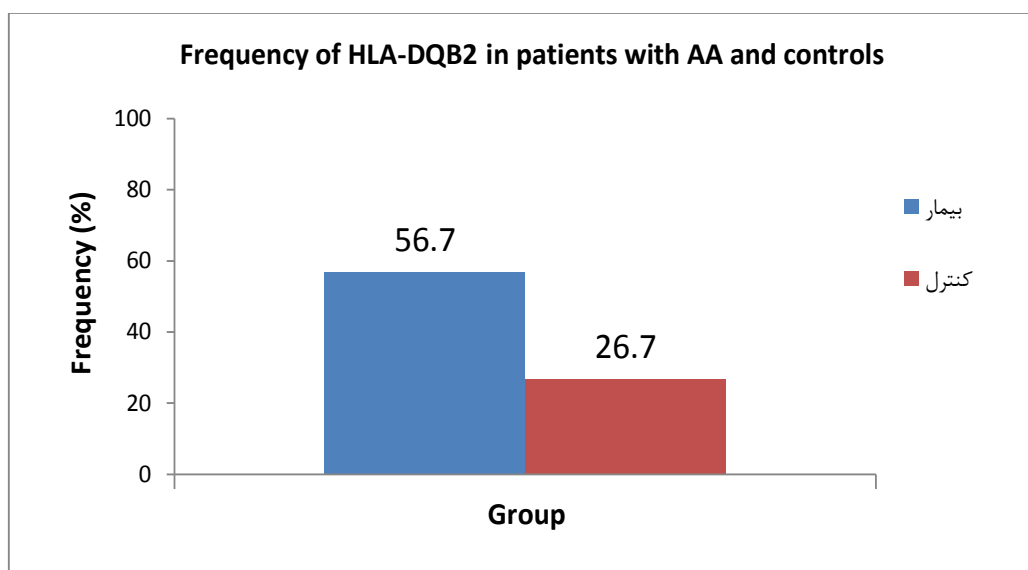
۰/۵	۱ (۶/۷)	۴ (۱۳/۳)	سابقه آگزمای پوستی (n/)
۰/۴	۲ (۱۳/۳)	۲ (۶/۷)	کاهش شدید وزن (n/)
-	۰	۲ (۶/۷)	افزایش شدید وزن (n/)
۰/۳	۳ (۲۰)	۱۰ (۳۳/۳)	در معرض آفتاب شدید بودن (n/)
۰/۷	۱ (۶/۷)	۳ (۱۰)	سابقه تغییرات هورمونی (n/)
۰/۶	۶ (۴۰)	۱۴ (۴۶/۷)	تجربه ترس شدید (n/)
-	-	۱۵ (۵۰)	کمتر از ۵۰ درصد
	-	۱۵ (۵۰)	بیشتر از ۵۰ درصد
-	-	۲۶ (۸۶/۷)	سر
	-	۱۰ (۳۳/۳)	ریش و سبیل
	-	۸ (۲۶/۷)	ابرو
	-	۶ (۲۰)	مژه

*:significant

جدول ۳- فراوانی HLA-DQB2 در بیماران مبتلا به AA در مقایسه با افراد سالم

P value	95%CI	OR	X ²	افراد کنترل		بیماران		HLA-DQB2
				%	N	%	N	
۰/۰۶۴	۰/۹۲-۱۳/۹	۳/۵۹	۳/۶۱	۲۶/۷	۴	۵۶/۷	۱۷	مثبت
				۷۳/۳	۱۱	۴۳/۳	۱۳	منفی

HLA, Human leukocyte antigen; OR, odd ratio; 95% CI, 95% confidence interval; N, Number; X², Chi square, p< 0.05 : significant



شکل ۲- فراوانی ژن HLA-DQB2 در نمونه های بیمار مبتلا به AA و کنترل

جدول ۴- ارتباط بین فاکتور های دموگرافیک با HLA-DQB2

فاکتور	%۹۵ CI	OR	P value
سابقه خانوادگی	۰/۰۶- ۲/۳۲	۰/۴	۰/۳
استرس	۰/۲۸- ۶/۴۸	۱/۳۶	۰/۶
سابقه جراحی با بیهوشی	۰/۱۷- ۳/۹۶	۰/۸۳	۰/۸
سابقه بیماری عفونی	۰/۰۴- ۲/۹۴	۰/۳۶	۰/۳
افسردگی	۰/۱۷- ۶/۷۱	۱/۰۹	۰/۹
آنمی	۰/۱۴- ۳/۶۷	۰/۷۱	۰/۶
کم کاری تیروئید	۰/۱۳- ۱۸/۶۷	۱/۵۹	۰/۷
ترس	۰/۳۸- ۶/۴	۱/۵۷	۰/۵
در معرض آفتاب قرار گرفتن	۰/۹۵- ۲۰/۸۳	۴/۴۶	*۰/۰۵
سن شروع بیماری	۰/۹۴- ۱/۰۲	۰/۹۸	۰/۴
مدت زمان ابتلا	۰/۸۸- ۱/۳۱	۱/۰۸	۱/۴

*: significant

1. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2014.
2. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, & Shapiro, J. Alopecia areata update: part I. Clinical picture, histopathology, and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2010; 62(2):177-188.
3. Ahmet AK, ORKUNOGLU E, SENGUL A, OZATA M, GUR AR. HLA class II alleles in patients with alopecia areata. *Eu J of Derm*. 2002;12(3):236-9.
4. Aliagaoglu C, Pirim İ, Atasoy M, Egerci N, Aktas A. Association between alopecia areata and HLA Class I and II in Turkey. *The J of derm*. 2005;32(9):711-4.
5. Gough S. and Simmonds M. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr Genomics*. 2007; 8(7): 453–465.
6. Jabbari A¹, Petukhova L, Cabral RM, Clynes R, Christiano AM. Genetic basis of alopecia areata: a roadmap for translational research. *Dermatol Clin*. 2013;31(1):109-17.
7. Dorman JS, Bunker CH. HLA-DQ locus of the human leukocyte antigen complex and type 1 diabetes mellitus: A Huge review. *Epidemiologic reviews*. 2000; 22(2): 218-227.
8. Entz P, Blaumeiser B, Betz RC, Lambert J, Seymons K, Eigelshoven S ,et al. Investigation of the HLA-DRB1 locus in alopecia areata. *European J. of Derm*. 2006;16(4):363-7
9. Gilhar A, Etzioni A, Paus R. Alopecia areata. *New England J of Med*. 2012;366(16):1515-25.
10. Gordon KA, Tosti A. Alopecia: evaluation and treatment. *Clin, cos and investigation dermatology*. 2011;4:101.
11. Brajac I, Tkalčić M, Dragojević DM, Gruber F.. Roles of Stress, Stress Perception and Trait-Anxiety in the Onset and Course of Alopecia Areata. *Int J of derm*. 2003;30(12):871-878.
12. Islam N, Leung PS, Huntley AC, Gershwin ME. The autoimmune basis of alopecia areata: A comprehensive review. *Autoimmunity reviews*. 2015;14(2):81-9.
13. Kasumagic-Halilovic E, & Prohic A. Nail changes in alopecia areata: frequency and clinical presentation. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23:240-241.
14. Kaur H, Kumar S, Kaur G, Kaur M, Rathore M. Alopecia: Factor contributing, diagnosis and treatment. *Int J Pharm Chem Biol Sci (IJPCBS)*. 2013;(4).
15. Kavak A, Baykal C, Özarmağan G ,Akar U. HLA in alopecia areata. *Int J of derm*. 2000;39(8):589-92.
16. Kyriakis KP, Paltatzidou K, Kosma E, Sofouri E, Tadros A, Rachioti E. Alopecia areata prevalence by gender and age. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(5):572-573.
17. Hordinsky MK. Overview of Alopecia Areata. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2013;61:530–532.
18. Nielsen M, Lundegaard C, Worning P, Hvid CS, Lamberth K, Buus S, et al. Improved prediction of MHC class I and class II epitopes using a novel Gibbs sampling approach. *Bioinformatics*. 2004;20(9):1388-1397.
19. Indovina P, Megiorni F, Fontemaggi G, Coni P, Mora B, Mazzilli MC. Absence of in vivo DNA-protein interactions in the DQA2 and DQB2 promoter regions. *Hum Immunol*. 2001; 62(5):504-508.

20. Indovina P, Megiorni F, Fontemaggi G, Coni P, Mora B, Mazzilli MC. Absence of in vivo DNA-Protein interactions in the DQA2 promoter regions. 2002; 352–358.
21. Vogt A, McElwee K, Blume-Peytavi U. The biology of hair follicles. *Hair Growth and Disorders*; 2008; 1-22.
22. Singh G, Lavanya M. Topical immunotherapy in alopecia areata. *Int j of trichology*. 2010;2(1):36.
23. Vejbaesya S, Chierakul N, Luangtrakool K, Srinak D, Stephens HA. Associations of HLA class II alleles with pulmonary tuberculosis in Thais. *Eur J Immunogenet*. 2002; 29(5):431–434.
24. Thorsby E, & Lie BA. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms. *J Transpl Immunol*. 2005;14(3-4):175-182.
25. Welsh EA, Clark HH, Epstein SZ, Reveille JD, & Duvic M. Human leukocyte antigen-DQB1* 03 alleles are associated with alopecia areata. *J of Inves Derm*. 1994;103(6):758-63.

