

بررسی فراوانی موتاسیون آلی CCR5Δ32 در افراد سالم استان زنجان

عالیه فرششاف^۱، دکتر علیرضا بیگلری^۲، دکتر سقراط فقیه زاده^۳، دکتر عبدالرضا اسماعیل زاده^۴

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

دریافت: ۹۴/۱۰/۱۵ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: CCR5 به عنوان کورسپتور اصلی در عفونت HIV شناخته شده است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند حذف شدگی 32bp در هر دو آلل CCR5 سبب مقاومت طبیعی به عفونت 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 آلی و شایستگی با تعادل هاردی واینبرگ محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج مانشاند داد ۱ نفر در جمعیت سالم دارای جهش هموزیگوت CCR5 Δ32/Δ32 می‌باشد و فراوانی آلی 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 آلی 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

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

ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) نوعی لنتی ویروس است که با آلودگی سلول‌های ماکروفاژ، دندریتیک و لنفوسیت TCD 4⁺ سبب ضعف پیشرونده‌ی سیستم ایمنی، عفونت‌های فرصت طلب، بدخیمی و در نهایت ابتلا به ایدز (AIDS)

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 ایمنولوژی بالینی، استادیار گروه ایمنولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان

۵- دکترای تخصصی ایمنولوژی بالینی، استادیار گروه ایمنولوژی، مرکز تحقیقات ژن درمانی سرطان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان

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 (۳ و ۲). به همین علت CCR5 را کورسپتور اصلی در ابتلا به عفونت HIV دانسته‌اند (۵ و ۴). نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده‌اند حذف شدگی ۳۲bp به صورت هموزیگوت ($CCR5 \Delta 32/\Delta 32$) در هر دو آلل فرد، سبب بروز مقاومت به عفونت HIV می‌شود (۳ و ۲). در حالی که در افراد هتروزیگوت ($CCR5 wt/\Delta 32$) 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 هماتوپوئیتیک از فرد دارای ژنوتیپ $CCR5 \Delta 32/\Delta 32$ به فرد مبتلا به HIV و فاقد آلل $\Delta 32$ به صورت آلورژنیک انتقال یافت و پس از مدتی حذف ژنوم ویروس از بدن وی مشاهده شد (۸ و ۹). مشابه با این رویکرد، بیمار بوستون تحت پیوند با سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک به صورت آلورژنیک 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 به صورت 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 (۱۳ و ۱۲). همچنین پیشنهاداتی توسط نویسندگان این مقاله در زمینه ارتقای راهکار درمانی ارائه شده است

(۱۵ و ۱۴). یکی از مهم‌ترین اقدامات در جهت پیاده سازی رویکردهای اخیر ژن درمانی و سلول درمانی، یافتن کاندید مناسب جهت اهدای ژنوتیپ $\Delta 32$ می‌باشد. به دلیل آن که تاکنون پروژه‌ای جهت بررسی فراوانی $CCR5 \Delta 32$ و یافتن کاندید با ژنوتیپ مذکور در استان زنجان ارائه نشده است، مطالعه‌ی حاضر طراحی و انجام 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 به صورت 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.

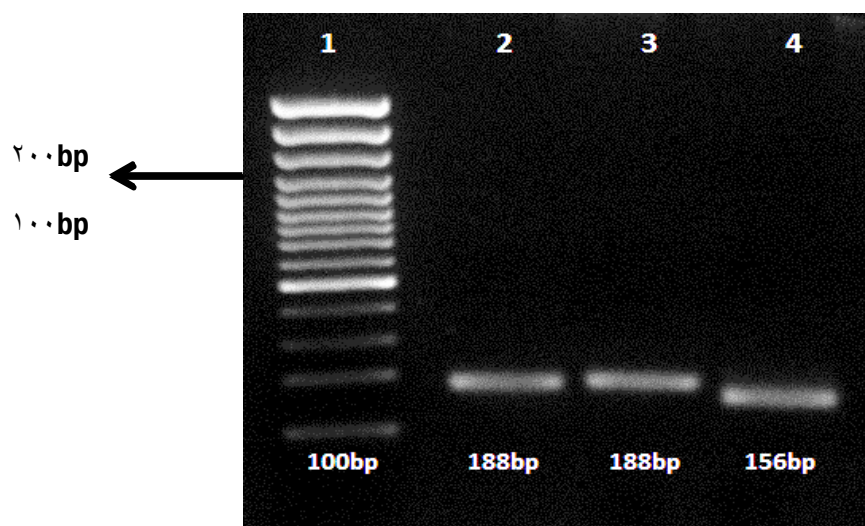
واکنش GAP-PCR: پس از اجرای چند روش قبلی که معمولاً در سری سوم و چهارم محصول GAP-PCR قابل تشخیص بود، بهینه‌سازی پروتکل طبق مراحل زیر انجام شد. واکنش در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل موارد ذیل بود: ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix تهیه شده از شرکت تجاری سینا کلون، ایران (Cat.NO:PR8251C)، ۱ میکرولیتر از 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

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 ۱۴۶ نفر 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* ۴۳۲/۴۳۲ هموزیگوت را نشان داد (شکل ۱). هیچ یک از شرکت کنندگان فرم هتروزیگوت را نشان ندادند. فراوانی آللی *CCR5* ۴۳۲ ۰/۵ درصد محاسبه شد که در تعادل با هاردی واینبرگ نبود.

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 $R:5'-CCTGTGCCTCTTCTTCTCATTTTCG-3'$ بودند که طبق سفارش به شرکت سینا کلون ایران ساخته شدند (۱۶). جهت انجام واکنش توسط دستگاه ترموسایکلر گرادینانت (Analytikjena) ابتدا یک سیکل به ترتیب ذکر شده انجام شد: ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۷/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 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، ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد 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) به همراه DNA Ladder 100bp (Cat.No: SM0243 Fermentase)



شکل ۱: ستون ۱: *ladder* 100bp ستون ۲ و ۳: قطعه ۱۸۸bp آلل وحشی (*CCR5* wt/wt)، ستون ۴: قطعه ۱۵۶bp آلل هموزیگوت موتانت (*CCR5* ۴۳۲/۴۳۲).

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 Δ32 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 Δ32 در شمال اروپا مربوط به جمعیت قفقازی ۱۶ درصد (هتروزیگوت) و ۱ درصد (هموزیگوت موتانت) می‌باشد و در کشورهای فنلاند، سوئد، ایسلند و شمال روسیه ۱۵ تا ۱۶ درصد می‌باشد (۱۷ و ۱۸). 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 (۱۷ و ۱۹). تفاوت در پراکندگی Δ32 را می‌توان ناشی از حوادث و رخداد های 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 زننده تعادل هاردی-واینبرگ هستند. به نظر می‌رسد جمعیت بنیان گذار برای گسترش Δ32 در شمال اروپا حضور داشته‌اند و با مهاجرت اقوام مختلف، فراوانی Δ32 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 فراوانی Δ32 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 Δ32 کمک کرده است (۲۱). همچنین گسترش تعدادی از عفونت‌ها همانند آبله مرغان، توبرکلوزیس و

آنفلانزا در قرن چهاردهم در بین جمعیت اروپایی سبب نوعی انتخاب طبیعی مثبت در حفظ Δ32 به عنوان فاکتور حفظ 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 Δ32 در بین اروپاییان نسبت به ایران و جمعیت خاورمیانه دانسته‌اند (۲۰). شرایط آب و هوایی و جغرافیایی مختلف عامل دیگری در گسترش فراوانی Δ32 معرفی شده است (۲۳).

فراوانی آللی Δ32 در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۸۵ از شیراز توسط دکتر غاراگوزلو و همکارانش آغاز شد. در بین ۳۹۵ فرد سالم، فرکانس آللی Δ32 را ۱/۴ درصد اعلام کردند. در این مطالعه فراوانی هتروزیگوتی Δ32، ۲/۸ درصد گزارش شد، در حالی که هیچ نمونه‌ی هموزیگوت موتانت یافت نشد. در این مطالعه پیش‌بینی شد که فراوانی Δ32 در استان‌های شمالی کشور بیشتر می‌باشد (۲۴). در سال ۱۳۸۹ دکتر عمرانی و همکارش در بین ۱۹۰ فرد سالم در ارومیه فرکانس آللی Δ32 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 Δ32 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 Δ32 را ۱/۱ درصد و هموزیگوتی Δ32 را ۰/۱۹ درصد منتشر کردند (۲۶) (جدول ۱).

با توجه به مطالعات فوق، فراوانی Δ32 در استان زنجان تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته بود. طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه در بین ۲۰۰ فرد سالم، ۱ نفر ژنوتیپ هموزیگوت Δ32 را نشان داد و هیچ مورد هتروزیگوت یافت نشد و فرکانس آللی Δ32 ۰/۵ درصد به دست آمد.

جدول ۱: فراوانی آللی $\Delta 32$ در مناطق مختلف ایران

استان	تعداد نمونه‌ها	فرکانس آللی $WT/\Delta 32$	فرکانس آللی $\Delta 32/\Delta 32$	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 $\Delta 32$ در بین مناطق مختلف ایران تفاوت آشکاری وجود ندارد، اما یافتن هموزیگوت‌های موتانت $\Delta 32$ با وجود تعداد محدود می‌تواند 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 $\Delta 32$ در بین جمعیت اعراب کشورهای همسایه نیز کاهش فرکانس آللی $\Delta 32$ 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 صعب‌العلاج 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

یا سلول درمانی بیماران خویشاوند و یا غیره استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد ژنتیک پزشکی مصوب شورای گروه و شورای پژوهشی معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی زنجان

به شماره ۲-۳۳-۱۲-A می‌باشد که بدین وسیله تقدیر و تشکر می‌گردد. همچنین از جناب آقای دکتر صائینی، معاونت محترم بهداشت و جناب آقای شادی مسئول بخش مبارزه با بیماری‌ها و جناب آقای کارگر کارشناس آزمایشگاه ایدز در دانشگاه علوم پزشکی زنجان کمال تشکر 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

- 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- Esmaeilzadeh A, 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- Δ 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 Δ CCR5 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-receptor CCR5 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 CCR5 Δ 32 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.

Frequency of CCR5Δ32 Allelic Mutation in Healthy Individuals in Zanjan Province

Farshbaf A¹, Biglari AR¹, Faghihzadeh S², Esmailzadeh AR^{3,4}

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

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

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

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

Corresponding Author: Esmailzadeh 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