

Research Paper

Investigating the Frequency of Delta 32 ($\Delta 32$) Mutation Related to *CCR5* Chemokine Receptor in Patients at Gonabad Health Centers, Iran



Faeze Tehranian¹ , Hossein Nezami² , Mohammad Hossein Jafarzadeh Maivan¹ , Javad Akbarzadeh Sani³ , *Jafar Hajavi⁴

1. Infectious Diseases Research Center, Student Research Committee, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.
2. Department of Epidemiology and Biostatistics, Student Research Committee, Faculty of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
3. Allameh Bahloul Gonabadi Hospital, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.
4. Department of Microbiology, Infectious Diseases Research Center, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Science, Gonabad, Iran.



Citation Tehranian F, Nezami H, Jafarzadeh Maivan MH, Akbarzadeh Sani J, Hajavi J. [Investigating the Frequency of Delta 32 ($\Delta 32$) Mutation Related to *CCR5* Chemokine Receptor in Patients at Gonabad Health Centers, Iran (Persian)]. *Internal Medicine Today*. 2022; 28(4):422-433. <https://doi.org/10.32598/hms.28.4.571.4>

<https://doi.org/10.32598/hms.28.4.571.4>



Received: 15 Jun 2022

Accepted: 25 Jul 2022

Available Online: 01 Oct 2022

Key words:

AIDS, Chemokine receptor type 5 (*CCR5*), Delta 32 ($\Delta 32$), Gonabad, HIV

ABSTRACT

Aims Chemokine receptor type 5 is recognized as the main co-receptor in HIV infection. Many studies have shown that the deletion of 32-base pairs (bp) of both alleles of *CCR5* leads to the reduction or elimination of the expression of this gene in immune cells and the natural resistance to HIV infection. This study aims to determine the frequency of delta 32 mutations in healthy people, referring to the health center of Gonabad City, Iran, to focus on finding new treatment methods for the treatment of HIV.

Methods & Materials In this descriptive cross-sectional study, after obtaining ethical approval and informed consent, blood samples were collected from 293 healthy people along with ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulant. Genomic DNA extraction was carried out by the kit, and the investigation of delta 32 ($\Delta 32$) mutation of the *CCR5* gene was investigated via the polymerase chain reaction method.

Findings Our results showed that out of 293 people who referred to the health center, 269 people (91.8%) had a healthy gene without mutation (188 bp), 15 people (5.1%) had heterozygous mutations (188 bp and 156 bp), and 9 people (3.07%) had a homozygous mutation on both alleles of *CCR5* (156 bp).

Conclusion Based on the results, the homozygous mutation rate of Gonabad Region, Iran, in the studied community is higher compared to similar studies, and more epidemiological and molecular studies are needed for better conclusions.

* Corresponding Author:

Jafar Hajavi, Associate Professor.

Address: Department of Microbiology, Infectious Diseases Research Center, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Science, Gonabad, Iran.

Tel: +98 (515) 7225027

E-mail: hajavi.jaf@gmail.com

English Version

Introduction

Chemokines play an important role in the development and homeostasis of the immune system because of their ability to stimulate the migration of cells, especially leukocytes. Meanwhile, they are involved in all protective or destructive immune and inflammatory reactions. However, chemokine-driven white blood cell migration also contributes to diseases with immune or inflammatory components, including autoimmunity, allergies, chronic inflammatory diseases, cancer, and many others [1].

Chemokine receptor type 5 (*CCR5*) is a heptameric chemoreceptor of the G-coupled protein family. This receptor is created in inflammatory conditions and plays an important role in attracting leukocytes involved in the body's defense system [2].

HIV infection as an important social problem endangers the health of society. Despite the extensive efforts and plans of the [World Health Organization \(WHO\)](#), the high spread of the human immunodeficiency virus (HIV) disease has always caused economic, social, and health losses [3].

HIV uses different chemical receptors to enter the cell, including *CCR5* and *CXCR4* [3]. *CCR5* is the most important common receptor in the early stages of infection, and most people infected with this virus have been infected only in this way [4, 5]. Also, the transmission of this virus from one person to another is almost exclusively limited to this receptor [3].

Genetic studies demonstrate that this gene contains 4 exons on chromosome number 3 [6], but only exon 4 can be expressed. Some individuals have a genetic mutation of 32 base pairs (bp) ($\Delta 32$) in the gene exon of this receptor [3]. People with the $\Delta 32$ mutations do not express the *CCR5* molecule on the surface of their cells, or they express this molecule's non-functional and incomplete form. Accordingly, considering the importance of the *CCR5* receptor in creating appropriate chemotaxis of immune cells and also its role in the infection of T lymphocytes and macrophages with HIV, $\Delta 32$ mutations in the gene of this molecule can change the function in immune cells and also relative resistance to HIV [7]. The frequency of this mutation is different in various geographical regions and ethnicities [6]; therefore, it is important to study this molecule from an epidemiological point of view. The role

of *CCR5* in the disease is different depending on specific factors, such as the pattern of the disease, the geography of the samples, and the studied blood group [8].

According to the conducted research, the lack of *CCR5* in people is not felt because of the compensation by other chemical receptors and their ligands, and people can grow normally [9]. When a person is homozygous for the *CCR5*- $\Delta 32$ mutation, as no receptor is expressed on the surface of the cells, it is resistant to HIV, and when a person is heterozygous, a small number of receptors are expressed on the surface of the cell, which reduces the progression of the disease [10] or causes a delay in contracting HIV [11].

Successful applications of ligand-based models and recent insights into HIV mechanisms have initiated a new strategy aimed at preventing viral adhesion and spread. A promising approach is based on the use of agents that can stop the interaction of viral proteins with the host cell membrane receptor *CD4*, *CCR5*, and *CXCR4* receptors. The *CCR5* receptor may also be effective in the development of many other diseases, including cancers, hepatitis, influenza, and autoimmune diseases, such as multiple sclerosis and rheumatoid arthritis [3, 8, 12-14].

Considering the importance of $\Delta 32$ mutations in creating resistance to various diseases, especially HIV infection, this study aims to investigate the prevalence of this mutation in people referring to Gonabad Health Center in Iran, given the existing conditions.

Materials and Methods

In this descriptive cross-sectional research, the study population was healthy individuals from Gonabad City, Iran, who passed the following inclusion criteria: being over 18 years old and not suffering from diseases, such as diabetes, hepatitis, autoimmune diseases, and so on. Using the purposive sampling method, 293 people were included in the study. Sampling is done with the coordination of the Health Vice-Chancellor of [Gonabad University of Medical Sciences](#) from the visitors to the health center after fully explaining the plan and the importance of the issue and obtaining written consent after entering the study along with after performing a rapid test (ABON kit) based on immunochromatography technology. An amount of 5 mL of venous blood in ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulant samples was taken from individuals and the samples were transferred to the immunology laboratory of paramedical faculty in cold conditions. DNA extraction was done via the column method (Carmania Parsgene Company kit) and was sterile. Subsequently, the mutation with the molecular

Polymerase chain reaction (PRC) method was investigated using the kit by Carmania Parsgene Company. The results were analyzed after running the PCR product of the samples on a 3% agarose gel and observing the presence or absence of the band related to DNA.

Data analysis

The collected data were entered into the SPSS software, version 22, and after ensuring the correctness of the data entry, qualitative variables were described with frequency distribution tables (frequency and frequency percentage) while quantitative data were expressed with Mean±SD.

The chi-square test was used to compare the frequency of observations in the levels of qualitative variables. In this study, we considered the significant level of 0.05.

Results

The present study was conducted to investigate the frequency of $\Delta 32$ mutations related to the CCR5 chemokine receptor in patients of Gonabad Health Center (Iran) and its relationship with demographic characteristics and some diseases from 2017 to 2018. In this study, the data of 293 people were analyzed. The mean age of the subjects was 53.22 ± 10.84 years. A total of 65(23.2%) women and 225(76.8%) men participated in the study.

As shown, among 293 people who were referred to the Gene Health Center, 269(91.8%) were 3 healthy states 188 bp), 15(1.5%) heterozygous (188 bp and 156 bp), and 9(1.3%) were homozygous (156 bp), respectively (Table 1).

According to Table 2, the chi-square test results showed no significant relationship between the gene variable and demographic variables (smoking, alcohol consumption, gender, and diseases (diabetes, cancer, and hepatitis).

Discussion

According to the statistics of WHO at the end of 2018, about 37.9 million people worldwide were infected with HIV. Iranians are considered a mixed Caucasian population with several reasons for their wide genetic diversity [12]. On the other hand, according to previous studies in Iran, considering the geographical conditions and different ethnicities, $\Delta 32$ mutation has a different prevalence.

Considering the importance of this receptor in the treatment and prevention of HIV, the present study was conducted to investigate the frequency of mutations related to the CCR5 chemokine receptor in the patients of Gonabad Health Center in 2017 and 2018.

The results showed that out of 293 people who referred to the health center, 269 people (91.8%) had a healthy gene without mutation (188 bp), 15 people (5.1%) had heterozygous mutations (188 bp and 156 bp), and 9 people (1.3%) had a homozygous mutation on both alleles of CCR5 (156 bp).

In contrast to our research, the study conducted by Esmailzadeh et al. on 200 healthy people in Zanjan City, Iran showed that only 1 person (0.5%) was homozygous for this mutation [13]. In our study, heterozygous subjects were 1.5%, while in the study conducted by Omrani et al. on 190 healthy individuals in Urmia City, Iran, the frequency of $\Delta 32$ heterozygous mutations was 2.1% [14].

Contrary to our study, the $\Delta 32$ heterozygous mutation in Northern Europe is related to the Caucasian population with 16% heterozygous and 1% homozygous, and it is 15% to 16% in Finland, Sweden, Iceland, and Northern Russia [15, 16]. This frequency decreases from 10% in central and western European countries to 4% to 6% in Southern Europe (Greece and Portugal) [15, 17]. Heterozygous mutation in Southern Europe is almost similar to our study (1.5%).

Table 1. Examination of gene expression status in Gonabad health centers

Gene Status	No. (%)
Three 3 healthy states (188 basis pairs)	269(91.8)
Heterozygous (188 basis pairs and 156 basis pairs)	15(5.1)
Homozygous (156 basis pairs)	9(3.1)
Total	293(100)

Table 2. Examining the relationship between demographic variables and gene status

Variables		No. (%)				P*
		Three Healthy States (188 bp)	Heterozygous (188 bp and 156 bp)	Homozygous (156 bp)	Total	
Smoker	Yes	40(15.2)	3(20)	2(22.2)	45(15.70)	0.761
	No	223(84.8)	12(80)	7(78.8)	224(84.3)	
Alcoholic drinks	Yes	3(1.1)	1.00(6.7)	0(0)	4(1.4)	0.194
	No	260(98.9)	14(93.3)	9(100)	283(98.6)	
Gender	Man	206(75.9)	11(73.3)	7(78.8)	224(76.7)	0.949
	Woman	62(23.1)	4(26.7)	2(22.2)	68(23.3)	
Diseases (diabetes, cancer, and hepatitis)	Yes	15(100)	0(0)	0(0)	15(5.1)	0.509
	No	254(94.4)	14(100)	9(100)	277(94.9)	

Bp: Basis pairs. *Chi-square test.

The study conducted in Russia on 300 healthy people showed that in terms of $\Delta 32$ mutations, 79 people (18.33%) were heterozygous and 7 people (67.1%) were homozygous [18]. The heterozygous mutation was 3 times compared to our study, but the homozygous mutation was less than our study.

The study conducted by Gharagozloo et al. on 395 healthy individuals in Fars Province, Iran showed that 97.2% of the individuals were healthy, 2.8% were heterozygous, and no homozygous individuals were identified with $\Delta 32$ mutations [12].

The study of Govorovskaya et al. aimed to investigate the frequency of $CCR5-\Delta 32$ mutation in Russian, Tatar, and Bashkir populations of Chelyabinsk Province, Russia, 7 homozygous and 79 heterozygous individuals were identified [18]. In a cross-sectional study by Badie et al., among 200 people with HIV who were referred to Imam Khomeini Hospital in Tehran City, Iran, and their disease was confirmed, 194 patients were randomly included in the study, of which only 8 were heterozygous for $CCR5-\Delta 32$ and no homozygotes were detected [19]. Unlike the present study, a cross-sectional study in the UAE and Tunisia conducted by Al-Jaberi et al. showed that this mutation was rare, so no homozygous was found in the studied population, and among the Emirati people, only 1 person and among Tunisian merely 4 heterozygotes were identified [6]. A meta-analysis study published in Denmark by Prahalad et al. acknowledged that these results strongly suggest that the $CCR5-\Delta 32$ allele protects Europeans against the disease, and individuals homozygous for this mutation have a greater protective effect

compared to the heterozygous [20]. As shown in the above studies, the prevalence of this mutation can be different in different geographical areas and ethnicities.

In contrast to our study, Ruiz-mateos et al. confirmed and extended the role of $CCR5-\Delta 32$ as a predictive factor for survival in HIV infection as well as prolongation of survival in people who received a combination of antiretroviral therapy; however, no homozygous mutation was found in this study [21].

The results of a cross-sectional study conducted by Heydarifard et al. show that the $\Delta 32$ mutation in heterozygous individuals does not affect their susceptibility to HIV infection [22].

In a review study, Zare Bidaki et al. showed that based on the available data, it is possible that the $CCR5-\Delta 32$ mutation is not common in the normal population of Iranians [23].

According to the results of the above-mentioned studies, the effectiveness of the $CCR5-\Delta 32$ mutation against various diseases, especially HIV, is not aligned with the present study, and it can probably be due to different geographical regions or different ethnicities, or even the difference in the number of study samples.

The results obtained from the present study do not show any significant relationship between the gene variable and the demographic variables (smoking, alcohol consumption, gender, and diseases such as diabetes, cancer, and hepatitis).

Internal Medicine Today

Also, there is no relationship between the gene variable and the variables of age, height, and weight and these results are in line with some of the studies mentioned above.

Conclusion

The results of the study show that the rate of homozygous mutation in the Gonabad Region, Iran, in the studied population is higher than in similar studies, and more epidemiological and molecular studies are needed for better conclusions. According to the results of the present study, the importance of this mutation in the *CCR5* receptor in blood donors who are homozygous in this regard, and these people can be candidates for participating in stem cell-based experiments to create a therapeutic window or even as a method to prevent people from contracting HIV.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee in Biomedical Research of [Gonabad University of Medical Sciences](#) (Code: IR.GMU.REC.1398.119). Ethical considerations for conducting this research have been observed throughout all stages of conducting the research.

Funding

This study was carried out with the financial support of the Deputy of Research and Technology (Code: 1-1845-10/A) of [Gonabad University of Medical Sciences](#).

Authors' contributions

The main idea and specialized experiments: Jafar Hajovi; Data analysis: Hossein Nizami; Study design and data collection: All authors; Critical review of the manuscript and final review: Jafar Hajovi, Hossein Nizami, and Faezeh Tehranian.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors and presenters of the project would like to express their gratitude to all the people who helped us with their cooperation and kindness in carrying out this project. Also, the authors are grateful to the Vice-Chancellor of Research and Technology of [Gonabad University of Medical Sciences](#) for their financial and spiritual support in carrying out this project.



مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی جهش دلتا ۳۲ (Δ۳۲) مربوط به گیرنده کموکائینی CCR5 در مراجعین به مراکز بهداشت گناباد

فائزه طهرانیان^۱، حسین نظامی^۲، محمدحسین جعفرزاده مایوان^۱، جواد اکبرزاده ثانی^۳، *جعفر حاجوی^۴

۱. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.
۲. گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. بیمارستان علامه بهلول گنابادی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.
۴. گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.

Use your device to scan and read the article online



Citation Tehranian F, Nezami H, Jafarzadeh Maivan MH, Akbarzadeh Sani J, Hajavi J. [Investigating the Frequency of Delta 32 (Δ32) Mutation Related to CCR5 Chemokine Receptor in Patients at Gonabad Health Centers, Iran (Persian)]. *Internal Medicine Today*. 2022; 28(4):422-433. <https://doi.org/10.32598/hms.28.4.571.4>

<https://doi.org/10.32598/hms.28.4.571.4>

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۵ خرداد ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۰۳ مرداد ۱۴۰۱

تاریخ انتشار: ۰۹ مهر ۱۴۰۱

اهداف: گیرنده کموکائین نوع ۵ به‌عنوان کمک‌گیرنده اصلی در عفونت HIV شناخته شده است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند حذف‌شدگی ۳۲ bp هر دو آلل CCR5، منجر به کاهش یا حذف بیان این ژن در سلول‌های ایمنی و مقاومت طبیعی به عفونت HIV می‌شود. هدف از انجام این مطالعه تعیین فراوانی جهش دلتا ۳۲ در افراد سالم مراجعه‌کننده به مرکز بهداشت شهرستان گناباد، به منظور تمرکز برای یافتن روش‌های درمانی جدید در درمان HIV می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی مقطعی، پس از کسب مجوز اخلاق و رضایت‌نامه آگاهانه، نمونه‌های خون از ۲۹۳ فرد سالم همراه با ضدانقباض EDTA، جمع‌آوری شدند. استخراج DNA ژنومی توسط کیت، انجام و بررسی جهش دلتا ۳۲ (۳۲Δ) ژن CCR5 با روش PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد از ۲۹۳ افراد مراجعه‌کننده به مرکز بهداشت، به‌ترتیب ۲۶۹ نفر (۹۱/۸ درصد) ژن سالم و بدون جهش (۱۸۸bp)، ۱۵ نفر (۵/۱ درصد) جهش هتروزیگوت (۱۸۸bp و ۱۵۶bp) و ۹ نفر (۳/۱ درصد) جهش هموزیگوت بر روی هر دو آلل CCR5 (۱۵۶bp) را دارا بودند.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصله، میزان جهش هموزیگوت منطقه گناباد در جامعه مورد مطالعه بالاتر از مطالعات مشابه می‌باشد و انجام مطالعات همه‌گیرشناسی و مولکولی بیشتر، برای نتیجه‌گیری بهتر مورد نیاز است.

کلیدواژه‌ها:

ایدنز، گیرنده کموکائین نوع ۵، دلتا ۳۲ (۳۲Δ)، گناباد، HIV

* نویسنده مسئول:

جعفر حاجوی

نشانی: گناباد، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، گروه میکروبیولوژی.

تلفن: ۰۲۷ ۲۲۲۵۰۲۷ (۵۱۵) ۹۸+

پست الکترونیکی: hajavi.jaf@gmail.com

مقدمه

باتوجه به تحقیقات انجام شده کمبود CCR5 در افراد به علت جبران توسط سایر گیرنده‌های شیمیایی و لیگاندهای آن‌ها احساس نمی‌شود و افراد می‌توانند به‌طور نرمال رشد کنند [۹]. زمانی که فردی در جهش CCR5-Δ32 هموزیگوس باشد، به‌علت اینکه هیچ رسپتوری در سطح سلول‌ها بیان نمی‌شود، نسبت به HIV مقاوم و زمانی که هتروزیگوس باشد، تعداد کمی رسپتور در سطح سلول بیان می‌شود که سبب کاهش پیشرفت بیماری [۱۰] یا حتی تأخیر در ابتلا فرد به HIV می‌شود [۱۱].

برنامه‌های کاربردی موفق از مدل‌های مبتنی بر لیگاند و بینش‌های اخیر در مورد مکانیسم HIV یک استراتژی جدید را با هدف جلوگیری از چسبندگی و گسترش ویروسی آغاز کرده است. یک رویکرد امیدوارکننده، مبتنی بر به‌کارگیری عواملی است که قادر به متوقف کردن تعامل پروتئین‌های ویروسی با گیرنده غشای سلولی میزبان CD4⁺ و گیرنده‌های CCR5 و CXCR4 هستند. همچنین گیرنده CCR5 ممکن است در زمینه توسعه بسیاری از بیماری‌های دیگر چون سرطان‌ها و هیپاتیت و آنفولانزا و بیماری‌های خودایمنی مانند مالیتیل اسکروزیس و آرتریت روماتوئید مؤثر باشد [۳، ۸، ۱۲-۱۴].

باتوجه به اهمیت جهش دلتا ۳۲ در ایجاد مقاومت نسبت به بیماری‌های مختلف به‌ویژه عفونت ویروس HIV، ما نیز بر آن شدید تا در این پژوهش به بررسی میزان شیوع این جهش در افراد مراجعه‌کننده به مرکز بهداشت گناباد باتوجه به شرایط موجود بپردازیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی مقطعی، جامعه مورد مطالعه افراد سالم شهر گناباد بودند که با دارا بودن معیارهای ورود شامل سن بالای ۱۸ سال و عدم ابتلا به بیماری‌هایی همانند دیابت، هیپاتیت، بیماری‌های خود ایمنی و غیره طبق اظهار نظر فرد، وارد مطالعه شدند. با استفاده از روش نمونه‌گیری مبتنی بر هدف، ۲۹۳ نفر وارد مطالعه شدند. نمونه‌گیری با هماهنگی معاونت بهداشت دانشگاه از مراجعین به مرکز بهداشت بعد از توضیح کامل طرح و اهمیت موضوع و دریافت رضایت‌نامه کتبی و پس از ورود به مطالعه انجام می‌شود و پس از انجام تست سریع (کیت ABON)، براساس تکنولوژی ایمونوکروماتوگرافی عمل می‌کند، مقدار ۵ سی‌سی خون وریدی در نمونه‌های حاوی ضد انعقاد EDTA از افراد گرفته شد و نمونه‌ها در شرایط سرد به آزمایشگاه ایمونولوژی دانشکده پیرایشکی منتقل و استخراج DNA با روش ستونی (کیت شرکت کارمانیا پارس ژن) و استریل انجام شد. سپس جهش با روش مولکولی PCR با استفاده از کیت شرکت کارمانیا پارس ژن، بررسی شد و نتایج پس از ران کردن محصول PCR مربوط به نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۳ درصد و مشاهده وجود یا عدم وجود باند مربوطه به DNA تحلیل شد.

کموکاین‌ها در توسعه و هموستاز سیستم ایمنی بدن به‌دلیل توانایی خود در تحریک مهاجرت سلول‌ها به‌ویژه لکوسیت‌ها، نقش مهمی ایفا می‌کنند و در همه واکنش‌های محافظتی یا مخرب ایمنی و التهابی نقش دارند. باین‌حال، مهاجرت گلبول‌های سفید تحت هدایت کموکاین همچنین به بیماری‌هایی که دارای اجزای ایمنی یا التهابی هستند مانند خودایمنی، آلرژی، بیماری‌های التهابی مزمن، سرطان و بسیاری دیگر کمک می‌کنند [۱].

گیرنده CCR5¹ یک گیرنده شیمیایی هپتامر از خانواده G-coupled پروتئین‌ها است. این گیرنده در شرایط التهابی ایجاد می‌شود و نقش مهمی در جذب لکوسیت‌های دخالت‌کننده در سیستم دفاعی بدن دارد [۲].

آلودگی به ویروس HIV به‌عنوان یک معضل اجتماعی مهم، سلامت جامعه را به خطر می‌اندازد. با وجود تلاش‌ها و برنامه‌ریزی‌های گسترده سازمان بهداشت جهانی^۲، انتشار بالای بیماری HIV همواره سبب ایجاد زیان‌های اقتصادی، اجتماعی و بهداشتی شده است [۳].

ویروس HIV^۳ برای ورود به سلول از گیرنده‌های شیمیایی مختلفی از جمله CCR5 و CXCR4^۴ استفاده می‌کند [۳]. CCR5 مهم‌ترین گیرنده مشترک در مراحل اولیه عفونت است و بیشتر افراد آلوده به این ویروس تنها از این طریق مبتلا شده‌اند [۴، ۵]. همچنین انتقال این ویروس از فردی به فرد دیگر تقریباً به‌صورت انحصاری به این گیرنده محدود می‌شود [۳].

مطالعات ژنتیکی نشان می‌دهد این ژن حاوی ۴ آگزون بر روی کروموزوم شماره ۳ است [۶]، اما فقط آگزون ۴ قابلیت بیان شدن دارد. برخی افراد به‌طور ارثی دارای یک جهش ۳۲ جفت بازی (Δ۳۲) در آگزون ژن این گیرنده می‌باشند [۳]. افراد دارای جهش Δ۳۲، مولکول CCR5 را بر سطح سلول‌های خود بیان نمی‌کنند و یا فرم غیر عملکردی و ناقص این مولکول را بیان می‌کنند، بنابراین باتوجه به اهمیت گیرنده CCR5 در ایجاد کموتاکسی مناسب سلول‌های ایمنی و همچنین نقش آن در آلودگی لنفوسیت‌های T و ماکروفاژها به HIV، جهش Δ۳۲ در ژن این مولکول می‌تواند با تغییر عملکرد در سلول‌های ایمنی و همچنین مقاومت نسبی به HIV همراه باشد [۷]. فراوانی این جهش در مناطق جغرافیایی و قومیت‌های مختلف متفاوت است [۶]. از این‌رو بررسی این مولکول از نظر همه‌گیرشناسی نیز حائز اهمیت است. بسته به عوامل خاص مانند الگوی بیماری، جغرافیای نمونه‌ها و گروه خونی مورد مطالعه نقش CCR5 در بیماری، متفاوت است [۸].

1. Chemokine receptor type 5
2. World Health Organization (WHO)
3. Human immunodeficiency virus (HIV)
4. C-X-C Motif Chemokine Receptor 4

5. Cluster of differentiation 4

روش تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های گردآوری شده وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ شدند و پس از اطمینان از صحت ورود داده‌ها، داده‌های متغیرهای کیفی با جداول توزیع فراوانی (تعداد و درصد) و داده‌های کمی با میانگین و انحراف معیار توصیف شدند. برای مقایسه فراوانی مشاهدات در سطوح متغیرهای کیفی از آزمون کای اسکور استفاده شد. در این مطالعه سطح معنادار ۰/۰۵ استفاده شده است.

یافته‌ها

مطالعه حاضر به جهت بررسی فراوانی جهش دلتا ۳۲ (Δ۳۲) مربوط به گیرنده کموکاینی CCR5 در مراجعین به مرکز بهداشت شهرستان گناباد و ارتباط آن با خصوصیات جمعیت‌شناختی و برخی از بیماری‌ها در سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ انجام شده است. در این مطالعه داده‌های ۲۹۳ فرد تجزیه و تحلیل شد. میانگین سنی افراد تحت مطالعه ۵۳/۲۲±۱۰/۸۴ سال بود. ۶۵ نفر زن (۲۳/۲ درصد) و ۲۲۵ نفر مرد (۸ درصد) بودند. ۲۹۳ افراد مراجعه‌کننده به مرکز بهداشت زن به ترتیب ۲۶۹ نفر (۹۱/۸ درصد) ۳ حالت سالم (۱۸۸bp)، ۱۵ نفر (۵/۱ درصد) هتروزیگوت (۱۸۸bp و ۱۵۶bp) و ۹ نفر (۳/۱ درصد) هموزیگوت (۱۵۶bp) بودند (جدول شماره ۱).

باتوجه به جدول شماره ۲، نتایج آزمون کای اسکور نشان داد هیچ ارتباط معناداری بین متغیر ژن با متغیرهای جمعیت‌شناختی (سیگاری بودن، مصرف مشروبات الکلی، جنسیت و بیماری‌ها (دیابت، سرطان و هپاتیت) وجود ندارد.

بحث

طبق آمارهای سازمان بهداشت جهانی در پایان سال ۲۰۱۸ حدود ۹/۳۷ میلیون نفر مبتلا به ویروس HIV در کل جهان گزارش شده است. در واقع، ایرانیان به‌عنوان یک جمعیت قفقازی بسیار مختلط در نظر گرفته می‌شوند که دلایل متعددی ممکن است دلیل تنوع ژنتیکی گسترده آن‌ها باشد [۱۲]. از طرف دیگر باتوجه به مطالعات قبلی در ایران، شرایط جغرافیایی و قومیت‌های

6. Chi-Square

جدول ۱. بررسی وضعیت بیان ژن در مراجعه‌کنندگان به مراکز بهداشت شهرستان گناباد

وضعیت ژنی	تعداد (درصد)
سه حالت سالم (۱۸۸bp)	۲۶۹ (۸۹/۱)
هتروزیگوت (۱۸۸bp و ۱۵۶bp)	۱۵ (۱/۵)
هموزیگوت (۱۵۶bp)	۹ (۱/۳)
کل	۲۹۳ (۱۰۰)

مختلف، جهش دلتا ۳۲ از شیوع متفاوتی برخوردار می‌باشد.

باتوجه به اهمیت این گیرنده در درمان و پیشگیری HIV، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی جهش دلتا ۳۲ (Δ۳۲) مربوط به گیرنده کموکاینی CCR5 در مراجعین به مرکز بهداشت شهرستان گناباد در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ انجام شد.

نتایج نشان داد از ۲۹۳ افراد مراجعه‌کننده به مرکز بهداشت، به ترتیب ۲۶۹ نفر (۹۱/۸ درصد) زن سالم و بدون جهش (۱۸۸bp)، ۱۵ نفر (۵/۱ درصد) جهش هتروزیگوت (۱۸۸bp و ۱۵۶bp) و ۹ نفر (۳/۱ درصد) جهش هموزیگوت بر روی هر دو آلل CCR5 (۱۵۶bp) را دارا بودند.

برخلاف مطالعه حاضر، مطالعه فرش‌باف و همکاران در ۲۰۰ فرد سالم در زنجان نشان داد فقط ۱ نفر (۰/۵ درصد)، از نظر این جهش هموزیگوت می‌باشند [۱۲]. در مطالعه حاضر افراد هتروزیگوت ۵/۱ درصد بودند، در حالی که در مطالعه عمرانی در ۱۹۰ فرد سالم در ارومیه نشان داد که فراوانی جهش دلتا ۳۲ هتروزیگوت ۲/۱ درصد می‌باشد [۱۴].

برخلاف این مطالعه جهش هتروزیگوت دلتا ۳۲ در شمال اروپا مربوط به جمعیت قفقازی با ۱۶ درصد (هتروزیگوت) و ۱ درصد (هموزیگوت) می‌باشد و در کشورهای فنلاند، سوئد، ایسلند و شمال روسیه ۱۵ تا ۱۶ درصد می‌باشد [۱۵، ۱۶]. این فراوانی در کشورهای مرکز و غرب اروپا به ۱۰ درصد و در جنوب اروپا (یونان و پرتغال) به ۴ تا ۶ درصد، کاهش می‌یابد [۱۵، ۱۷]. جهش هتروزیگوت در جنوب اروپا تقریباً مشابه با مطالعه حاضر (۵/۱ درصد) می‌باشد.

مطالعه انجام‌شده در روسیه در ۳۰۰ فرد سالم نشان داد که از نظر جهش دلتا ۳۲، ۷۹ نفر (۱۸/۳۳ درصد) هتروزیگوت و ۷ نفر (۱/۶۷ درصد) هموزیگوت بودند [۱۸] که جهش هتروزیگوت نسبت به مطالعه حاضر ۳ برابر بود، اما مطالعه هموزیگوت کمتر از مطالعه ما بود.

مطالعه قره‌گوزلو و همکاران در ۳۹۵ فرد سالم در استان فارس نشان داد که افراد از نظر جهش دلتا ۳۲، ۹۷/۲ درصد سالم، ۲/۸ درصد هتروزیگوت می‌باشند و هیچ فرد هموزیگوت شناسایی نشد [۱۲].

جدول ۲. بررسی ارتباط متغیرهای جمعیت‌شناختی و وضعیت ژن

P*	تعداد (درصد)				متغیر
	کل	جهش‌دار (۱۵۶bp)	هتروزیگوت (۱۵۶bp و ۱۸۸bp)	سه حالت سالم (۱۸۸bp)	
۰/۷۶۱	۴۵/۰۰(۱۵/۷۰)	۲/۰۰(۲۲/۲)	۳/۰۰(۲۰/۰۰)	۴۰/۰۰(۱۵/۲۰)	بله
	۲۲۴/۰۰(۸۴/۳۰)	۷/۰۰(۷۸/۸)	۱۲/۰۰(۸۰/۰۰)	۲۲۳/۰۰(۸۴/۸۰)	خیر
۰/۱۹۴	۴/۰۰(۱/۴)	۰/۰۰(۰/۰)	۱/۰۰(۶/۷۰)	۳/۰۰(۱/۱۰)	بله
	۲۸۳/۰۰(۹۸/۶۰)	۹/۰۰(۱۰۰/۰)	۱۴/۰۰(۹۳/۳)	۲۶۰/۰۰(۹۸/۹)	خیر
۰/۹۴۹	۲۲۴/۰۰(۷۶/۷۰)	۷/۰۰(۷/۸۰)	۱۱/۰۰(۳۳/۳۰)	۲۰۶/۰۰(۷۵/۹۰)	مرد
	۶۸/۰۰(۲۳/۳۰)	۲/۰۰(۲۲/۲)	۴/۰۰(۲۶/۷۰)	۶۲/۰۰(۲۳/۱۰)	زن
۰/۵۰۹	۱۵/۰۰(۵/۱۰)	۰/۰۰(۰/۰۰)	۰/۰۰(۰/۰۰)	۱۵/۰۰(۱۰۰/۰)	بله
	۲۷۷/۰۰(۹۴/۹۰)	۹/۰۰(۱۰۰/۰)	۱۴/۰۰(۱۰۰/۰۰)	۲۵۴/۰۰(۹۴/۴)	خیر

طب داخلی روز

* آزمون کای اسکوتر

نتایج مطالعه مقطعی که حیدری فرد و همکاران انجام دادند، نشان می‌دهد جهش دلتا ۳۲ در افراد هتروزیگوت حساسیت آن‌ها به عفونت HIV را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد [۲۲].

در مطالعه مروری زارع‌بیدکی و همکاران نشان داده شد براساس داده‌های موجود احتمال دارد جهش CCR5-Δ32 در جمعیت عادی ایرانی‌ها شایع نباشد [۲۳].

باتوجه به نتایج مطالعات یادشده و مطالعه حاضر، از جهت مؤثر بودن جهش CCR5-Δ32 در برابر بیماری‌های مختلف به‌ویژه HIV هم‌راستا نبوده است و احتمالاً می‌تواند به علت متفاوت بودن مناطق جغرافیایی و یا قومیت مختلف آن‌ها و یا حتی تفاوت در تعداد نمونه مطالعات باشد.

نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر هیچ ارتباط معناداری بین متغیر ژن با متغیرهای جمعیت‌شناختی (سیگاری بودن، مصرف مشروبات الکلی، جنسیت و بیماری‌ها (دیابت، سرطان و هیپاتیت) را نشان نمی‌دهد. همچنین بین متغیر ژن و متغیرهای سن، قد و وزن نیز همبستگی وجود ندارد که این نتایج هم‌راستا با برخی از مطالعات یادشده نیز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه انجام‌شده میزان جهش هموزیگوت منطقه گناباد در جامعه مورد مطالعه را بالاتر از مطالعات مشابه نشان می‌دهد و انجام مطالعات همه‌گیرشناسی و مولکولی بیشتر، برای نتیجه‌گیری بهتر مورد نیاز است. باتوجه به نتایج مطالعه حاضر اهمیت این جهش در گیرنده CCR5 در اهداکنندگانی

در مطالعه گواروسکایا و همکاران با هدف بررسی فراوانی جهش CCR5-Δ32 در جمعیت روس، تاتار و باشکیرهای استان چلبابینسک، ۷ نفر هموزیگوس و ۷۹ نفر هتروزیگوس شناسایی شدند [۱۸]. بادی و همکاران در مطالعه مقطعی از بین ۲۰۰ نفر مبتلا به HIV که به بیمارستان امام خمینی تهران مراجعه کرده بودند و بیماری آن‌ها تأیید شده بود، به‌طور تصادفی ۱۹۴ بیمار وارد مطالعه شدند که از این تعداد فقط ۸ نفر از نظر CCR5-Δ32 هتروزیگوت بودند و هیچ هموزیگوت شناسایی نشد [۱۹]. برخلاف مطالعه حاضر در مطالعه مقطعی در امارات و تونس که الجابری و همکاران انجام دادند، نشان داده شد این جهش بسیار نادر بوده است، به‌طوری‌که هیچ هموزیگوت در جمعیت مورد مطالعه یافت نشد و در بین افراد اماراتی تنها ۱ نفر و در تونس‌های نیز ۴ هتروزیگوت بوده‌اند [۶]. مطالعه فراتحلیلی که در دانمارک پراهالاد منتشر کرده است، اذعان کرد که این نتایج به‌شدت نشان‌دهنده این است که آلل CCR5-Δ32 سبب حفاظت افرادی با نژاد اروپایی در مقابل این بیماری می‌شود و افراد هموزیگوت در این جهش تأثیر محافظتی بیشتری را نسبت به هتروزیگوت نشان می‌دهند [۲۰]. همان‌طور که در مطالعات پیش‌گفت‌نشان می‌دهد شیوع این جهش در مناطق جغرافیایی و قومیت‌های مختلف می‌تواند متفاوت باشد.

برخلاف مطالعه حاضر، رویز-ماتئوس و همکاران در مطالعه خود به تأیید و گسترش نقش CCR5-Δ32 به‌عنوان عامل پیش‌بینی‌کننده برای بقا در عفونت HIV و همچنین افزایش طول مدت بقا در افرادی که درمان ترکیبی ضد‌رترو ویروسی را دریافت کرده‌اند، می‌پردازد، اما در این مطالعه هیچ جهش هموزیگوت یافت نشد [۲۱].

خونی است که از این نظر هموزیگوت بودند و این افراد می‌توانند به‌عنوان نامزدهای شرکت در آزمایش‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی برای ایجاد یک پنجره درمانی یا حتی به‌عنوان یک روش برای جلوگیری از ابتلا افراد به HIV باشند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گناباد است و با کد IR.GMU. REC.1398.119 ثبت شده است.

حامی مالی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری (با کد طرح: 1-1845-10 / A) دانشگاه علوم پزشکی گناباد انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

ایده اصلی، طراحی مطالعه، گردآوری اطلاعات و انجام آزمایشات تخصصی: جعفر حاجوی؛ مرور نقادانه دست‌نویس و مرور نهایی: جعفر حاجوی، حسین نظامی و فائزه طهرانیان؛ تحلیل داده: حسین نظامی؛ جمع‌آوری داده: محمدحسین جعفرزاده میوان، جواد اکبرزاده ثانی و فائزه طهرانیان؛ گردآوری اطلاعات و طراحی مطالعه: همه نویسندگان.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان و مجریان طرح از تمام عزیزانی که در انجام این طرح، همکاری‌های و مهربونی خود را از ما دریغ نکردند، تشکر می‌کنند. همچنین از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گناباد به موجب حمایت مالی و معنوی در انجام این طرح تقدیر و تشکر می‌شود.

References

- [1] Hughes CE, Nibbs RJB. A guide to chemokines and their receptors. *The FEBS Journal*. 2018; 285(16): 2944-71. [DOI: 10. 1111/febs. 14466] [PMID] [PMCID]
- [2] Upadhyaya C, Jiao X, Ashton A, Patel K, Kossenkov AV, Pestell RG. The G protein coupled receptor CCR5 in cancer. *Advances in Cancer Research*. 2020; 145: 29-47. [DOI: 10. 1016/bs. acr. 2019. 11. 001] [PMID] [PMCID]
- [3] Vangelista L, Vento S. The expanding therapeutic perspective of CCR5 blockade. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 1981. [DOI: 10. 3389/fimmu. 2017. 01981] [PMID] [PMCID]
- [4] Venuti A, Pastori C, Lopalco L. The role of natural antibodies to CC chemokine receptor 5 in HIV infection. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 1358. [DOI: 10. 3389/fimmu. 2017. 01358] [PMID] [PMCID]
- [5] Zhang Y, Chen HF. Allosteric mechanism of an oximino-piperidino-piperidine antagonist for the CCR5 chemokine receptor. *Chemical Biology & Drug Design*. 2020; 95(1): 113-23. [DOI: 10. 1111/cbdd. 13627] [PMID]
- [6] Al-Jaberi SA, Ben-Salem S, Messedi M, Ayadi F, Al-Gazali L, Ali BR. Determination of the CCR5Δ32 frequency in Emiratis and Tunisians and the screening of the CCR5 gene for novel alleles in Emiratis. *Gene*. 2013; 529(1): 113-8. [DOI: 10. 1016/j. gene. 2013. 07. 062] [PMID]
- [7] Youssef AI, Hassan AA, Mohammed SA, Ahmed HA. Distribution of the chemokine receptor-5 gene in Egyptian breast cancer patients. *Benha Medical Journal*. 2018; 35(1): 49. [Link]
- [8] Rautenbach A, Williams AA. Metabolomics as an approach to characterise the contrasting roles of CCR5 in the presence and absence of disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(4): 1472. [DOI: 10. 3390/ijms21041472] [PMID] [PMCID]
- [9] Scurci I, Martins E, Hartley O. CCR5: Established paradigms and new frontiers for a 'celebrity' chemokine receptor. *Cytokine*. 2018; 109: 81-93. [DOI: 10. 1016/j. cyto. 2018. 02. 018] [PMID]
- [10] Atzeni F, Boiardi L, Casali B, Farnetti E, Nicoli D, Sarzi-Puttini P, et al. CC chemokine receptor 5 polymorphism in Italian patients with Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2012; 51(12): 2141-5. [DOI: 10. 1093/rheumatology/kes238] [PMID]
- [11] Juhász E, Béres J, Kanizsai S, Nagy K. The consequence of a founder effect: CCR5-32, CCR2-64I and SDF1-3'A polymorphism in vlach gypsy population in Hungary. *Pathology Oncology Research: POR*. 2012; 18(2): 177-82. [DOI: 10. 1007/s12253-011-9425-4] [PMID]
- [12] Gharagozloo M, Doroudchi M, Farjadian S, Pezeshki AM, Ghaderi A. The frequency of CCR5Δ32 and CCR2-64I in southern Iranian normal population. *Immunology Letters*. 2005; 96(2): 277-81. [DOI: 10. 1016/j. imlet. 2004. 09. 007] [PMID]
- [13] Farshbaf A, Biglari A, Faghihzadeh S, Esmaeilzadeh A. [Frequency of CCR5Δ32 allelic mutation in healthy individuals in Zanjan province (Persian)]. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*. 2017; 25(108): 129-36. [Link]
- [14] Omrani D. Frequency of CCR5Δ 32 variant in north-west of Iran. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*. 2009; 20(2): 105-10. [Link]
- [15] Martinson JJ, Chapman NH, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. *Nature Genetics*. 1997; 16(1): 100-3. [DOI: 10. 1038/ng0597-100] [PMID]
- [16] Libert F, Cochaux P, Beckman G, Samson M, Aksenova M, Cao A, et al. The deltaCCR5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. *Human Molecular Genetics*. 1998; 7(3): 399-406. [DOI: 10. 1093/hmg/7. 3. 399] [PMID]
- [17] Papa A, Papadimitriou E, Adwan G, Clewley JP, Malissiovas N, Ntoutsos I, et al. HIV-1 co-receptor CCR5 and CCR2 mutations among Greeks. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2000; 28(1): 87-9. [DOI: 10. 1111/j. 1574-695X. 2000. tb01461. x] [PMID]
- [18] Govorovskaya I, Khromova E, Suslova T, Alexeev L, Kofiadi I. The Frequency of CCR5del32 mutation in populations of Russians, Tatars and Bashkirs of Chelyabinsk Region, Russia. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2016; 64(Suppl 1): 109-12. [DOI: 10. 1007/s00005-016-0429-3] [PMID]
- [19] Badie BM, Najmabadi H, Djavid GE, Kheirandish P, Payvar F, Akhlaghkhah M, et al. Frequency of CCR5 delta 32 polymorphism and its relation to disease progression in Iranian HIV-1 positive individuals: P1200. *Clinical Microbiology & Infection*. 2010; 16. [DOI:10.15406/jhvr.2015.02.00059]
- [20] Prahalad S. Negative association between the chemokine receptor CCR5-Delta32 polymorphism and rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Genes and Immunity*. 2006; 7(3): 264-8. [DOI:10. 1038/sj. gene. 6364298] [PMID] [PMCID]
- [21] Ruiz-Mateos E, Tarancon-Diez L, Alvarez-Rios AI, Dominguez-Molina B, Genebat M, Pulido I, et al. Association of heterozygous CCR5Δ32 deletion with survival in HIV-infection: A cohort study. *Antiviral Research*. 2018; 150: 15-9. [DOI: 10. 1016/j. antiviral. 2017. 12. 002] [PMID]
- [22] Heydarifard Z, Tabarraei A, Moradi A. Polymorphisms in CCR5Δ32 and Risk of HIV-1 Infection in the Southeast of Caspian Sea, Iran. *Disease Markers*. 2017; 2017: 4190107. [DOI: 10. 1155/2017/4190107] [PMID] [PMCID]
- [23] Zare-Bidaki M, Karimi-Gogheri M, Hassanshahi G, Zainodini N, Arababadi MK. The frequency of CCR5 promoter polymorphisms and CCR5 Δ 32 mutation in Iranian populations. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2015; 18(4): 312-6. [PMID]

This Page Intentionally Left Blank