

مطالعه فیلوژنتیکی ویروس انفلوآنزا A، سبب تایپ H5N1، در همسایگان ایران طی سالهای ۲۰۰۳-۲۰۰۶

علی نجفی^۱، حمید رضا توکلی*^۲، علی مهربابی توانا^۳، مهدی قربانعلی زادگان^۱، رضا رنجبر^۱

۱) مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج).

۲) گروه تغذیه، مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۳) مرکز تحقیقات بهداشت و مدیریت سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

نویسنده رابط: حمید رضا توکلی، گروه تغذیه، مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

همراه: ۰۹۱۲۲۳۹۳۳۱۹ h.tavakoli1344@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۱/۱۷

چکیده:

زمینه و اهداف: سبب تایپ H5N1 ویروس انفلوآنزا، که با قدرت کشندگی بالا می باشد، در سالهای اخیر باعث تلفات زیادی در منطقه آسیا و به ویژه در کشورهای آسیای شرقی و خاور میانه شده است. هدف این مطالعه تعیین فیلوژنتیک ویروس انفلوآنزا A، سبب تایپ H5N1، در همسایگان ایران طی سالهای ۲۰۰۳-۲۰۰۶ بود.

روش بررسی: از الگوریتمهای بیوانفورماتیکی همترای سکانسها استفاده شد. سکانسهای ژنی و پروتئینی ژن همگلوپتینین سبب تایپ H5N1 ویروس انفلوآنزا که در بانکهای ژنی و پروتئینی کشورهای همسایه ایران گزارش شده بود، استخراج شد و مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: بین سالهای ۲۰۰۳-۲۰۰۶، از بروز عفونت انفلوآنزا سبب تایپ H5N1 در کشورهای همسایه ایران ۲۳۷ گزارش به بانک ژنوم (GenBank) گزارش شده بود. پس از بررسی ۶۴ مورد سکانس غیر تکراری استخراج شد. در نهایت ۶۴ سکانس ژن و پروتئین همگلوپتینین با استفاده از الگوریتم بیوانفورماتیکی Clustal و نرم افزارهای MEGA4 و clustalW سکانس ژنومی و اسید آمینه بررسی و تجزیه و تحلیل شد. سرانجام درخت فیلوژنتیکی این ویروسها تعیین گردید. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی ژن همگلوپتینین نشان داد که این ویروس از مرزهای شمالی کشور به ویژه روسیه و کشورهای تازه استقلال یافته آسیای میانه وارد ایران شده است. سپس از منطقه شمالی در داخل کشور گسترش یافته است.

نتیجه گیری: ویروس انفلوآنزای نوع H1N1 از طریق کشورهای همسایه شمالی وارد کشور ایران شده است.

واژگان کلیدی: فیلوژنتیک، انفلوآنزا A، H5N1، ایران

مقدمه :

انفلوآنزا و عوارض آن سالانه باعث مرگ و میر هزاران نفر در جهان می‌شود. وحشتناک‌ترین همه‌گیری جهانی در قرن بیستم، انفلوآنزا اسپانیایی (۱۹۱۸) بود که طی آن حدود ۴۰ میلیون نفر (بیش از تلفات جنگ جهانی اول) کشته شدند. از آن سال تا حدود دو دهه پیش، به‌طور متوسط هر ۱۰ تا ۱۵ سال، یک همه‌گیری جهانی از انفلوآنزا رخ داده است (۱-۳).

گلیکوپروتئین‌های آن ویژگی‌های متنوعی دارند. تغییرات ژنتیکی در ژنوم HA و NA باعث تفاوت در ساختمان پروتئینی آنها و بروز ساب تایپ‌های آنتی‌ژنیک می‌شود. ویروس انفلوآنزا تایپ A، ۱۶ ساب تایپ از هم‌گلوپتینین و ۹ ساب تایپ از نورآمینیداز دارد. ساب تایپ‌ها با یکدیگر تلافی داشته و ویروس‌های جدیدی ایجاد می‌کنند. لذا، یک منبع عظیم از ویروس‌های انفلوآنزا فراهم می‌شود که به‌طور دایم در بین پرندگان در حال انتشار است (۱).

بروز عفونت و حدت آن وابسته به سویه ویروسی و گونه میزبان است. این امر ناشی از فعالیت آنزیمی میزبان در ایجاد واکنش پروتئولیتیک در پروتئین HA به عنوان پیش نیاز اصلی عفونت‌زایی ویروس در میزبان‌های مختلف می‌باشد (۴ و ۵).

از ۱۹۹۶ ویروس انفلوآنزای پرندگان ساب تایپ H5N1 به عنوان بزرگترین خطر پاندمی بعدی مطرح است. طی سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۵ این ویروس بیش از ۱۰۰ نفر با تلفات بیش از ۵۰ درصد، را مبتلا نموده‌است. در حال حاضر، این ویروس شدیداً بیماری‌زا در میان پرندگان آسیای دور تقریباً اندمیک است. بروز اسپورادیک آن در انسان‌ها از مناطق مختلف گزارش شده‌است. یعنی ممکن است ویروس با موتاسیون و یا با امتزاج با عناصر ژنتیکی ویروس انفلوآنزای انسانی یک ویروس جدید ایجاد نماید، که بتواند بالقوه باعث انتقال انسان به انسان هم شود. لذا، سازمان جهانی بهداشت (WHO) روند افزایشی ابتلاء انسان به ویروس H5N1 را یک بحران بهداشت عمومی تلقی نموده‌است. همچنین احتمال وقوع پاندمی انفلوآنزایی با منشاء ویروس انفلوآنزای پرندگان ساب تایپ H5N1 را پیش بینی نموده‌است (۴ و ۵).

هدف از انجام این مطالعه تعیین تغییرات ژنومی و پروتئینی هم‌گلوپتینین HA ویروس H5N1 و در نتیجه تعیین

مسیر انتشار ویروس در منطقه خاور میانه به‌وسیله پرندگان و به تبع آن در انسان‌ها بود.

در این مطالعه تعداد ۲۳۷ گزارش مربوط به بروز عفونت انفلوآنزا ساب تایپ H5N1، که از سال ۲۰۰۳ الی ۲۰۰۶ در کشورهای همسایه ایران به بانک ژنوم (GenBank) گزارش شده بود، جمع‌آوری گردید. این کشورها شامل: افغانستان (۷ مورد)، ایران (۲ مورد)، روسیه (۵۳ مورد)، ترکیه (۱۵۷ مورد)، پاکستان (۳ مورد)، عراق (۱ مورد)، قزاقستان (۴ مورد) و عربستان (۱ مورد) بود.

از مجموع ۲۳۷ مورد گزارش به GenBank، پس از بررسی تعداد ۶۴ مورد سکانس غیر تکراری جهت آنالیز استخراج گردید. در نهایت تعداد ۶۴ سکانس ژن و پروتئین هم‌گلوپتینین با استفاده از الگوریتم بیوانفورماتیکی Clustal و نرم افزارهای clustalW و MEGA4 سکانس ژنومی و اسیدآمینه مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سرانجام درخت فیلوژنتیکی این ویروس‌ها تعیین گردید.

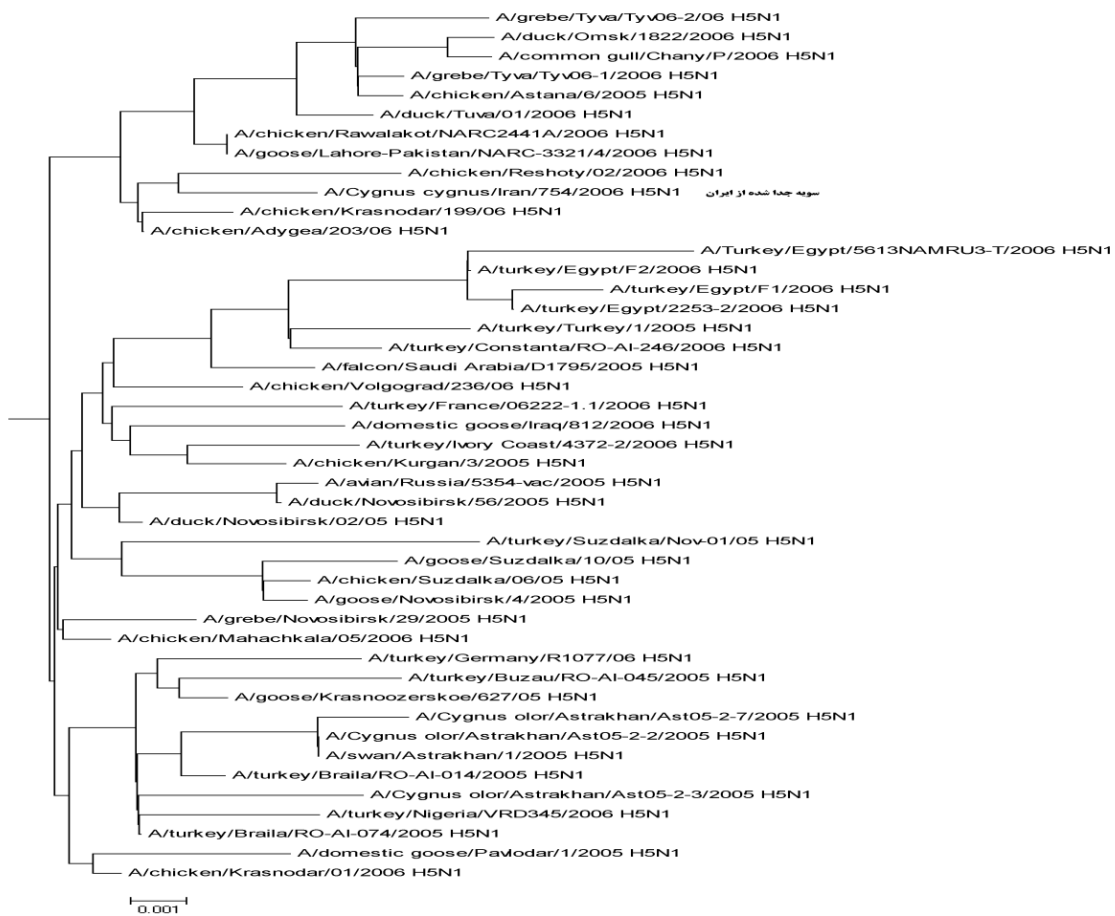
در این مطالعه، مقایسه سکانس‌های ژنومی و پروتئینی ژن هم‌گلوپتینین ساب تایپ H5N1 نشانگر تغییرات جزئی در برخی از مناطق سکانس ژنی و به تبع آن در اسید آمینه-های سکانس پروتئینی آن است. این تغییرات در اثر دریافت‌های ژنتیکی در این ساب تایپ ایجاد شده‌است (۲ و ۳). در مطالعات فیلوژنتیکی هر چه سکانس‌های ژنومی و پروتئینی دارای شباهت بیشتری باشند، به معنی داشتن جد نزدیک تری است. در نتیجه به این معنی است که از یک منشاء مشترک نشأت گرفته‌اند. از طرفی هر چه تفاوت نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای بین سکانس‌ها بیشتر باشد نشان دهنده منشأ دورتری است (۶ و ۷) (شکل ۱). تغییرات آنتی‌ژنی بیشتر در پروتئین‌های نورآمینیداز و هم‌گلوپتینین ویروس انفلوآنزا رخ می‌دهد. در این میان تغییرات هم‌گلوپتینین (HA) به مراتب شایع‌تر از بقیه پروتئین‌های ویروس است.

به‌طور کلی پذیرفته شده‌است که دریافت آنتی‌ژنی در اثر موتاسیون‌های نقطه‌ای است که در قطعه‌های RNA کد کننده هم‌گلوپتینین و نورآمینیداز رخ می‌دهد. این موتاسیون‌ها منجر به تغییر در یک یا چند اسید آمینه در ساختمان پروتئین شده و لذا باعث تغییرات مختصری در خاصیت آنتی‌ژنی ویروس می‌گردد. از این‌رو، با استفاده

با بررسی دقیق سکانس‌های نوکلئوتیدی و پروتینی ژن هم‌گلویتینین معلوم شد ویروس مذکور بیشتر از سمت شرق و شمال منطقه خاور میانه شیوع و گسترش پیدا کرده است. همچنین با استفاده از نتایج این بررسی مناطق آسیب‌پذیر کشور در ارتباط با مراودات بین کشورهای همسایه تجزیه و تحلیل شد. نتایج حاصل از آن با مطالعات اپیدمیولوژیک انجام شده در کشور همخوانی دارد (۱۰). این گونه مطالعات در کشورهای دیگر آسیای شرقی مثل ژاپن، هنگ کنگ و چین نیز صورت گرفته است. نتایج همه مطالعات حاکی از این است که این ساب تایپ از یک منشاء واحد یعنی از کشورهای خاور دور نشأت گرفته است، و سپس به سمت خاور میانه شیوع یافته است (۶ و ۷).

از این موتاسیون‌ها می‌توان منشاء هر ساب تایپ را مشخص نمود. بدیهی است ساب تایپ‌هایی که در ژن هم‌گلویتینین قرابت ژنتیکی بیشتری دارند از یک منشاء و یک محل جغرافیایی نشأت گرفته‌اند (۸ و ۹). با استفاده از نتایج این بررسی می‌توان مناطق آلوده رامشخص نمود، و نوع پرنده‌گانی را هم که بیشتر باعث انتقال ویروس می‌شوند، مشخص کرد.

در این مطالعه مشخص شد سویه انفلوآنزا که در سال ۲۰۰۶ از تالاب بندر انزلی جدا شده با سویه‌ای که در شهر Reshotey روسیه جدا سازی شده است جد مشترک دارند، و از یک منشاء نشأت گرفته‌اند. با بررسی‌های بیشتر روی درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده می‌توان به نتایج زیادی از جمله مسیر انتشار ویروس و منشاء اولیه این سویه از ویروس در منطقه کشورهای همسایه ایران دست یافت.



شکل ۱: درخت فیلوژنتیکی (فیلوگرام) ویروس انفلوآنزا ساب تایپ H5N1

فهرست مراجع:

1. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, *et al.* Characterization of a Novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtype (H16) obtained from Black-Headed Gulls. *J Virol.* 2005;**79**: 2814-22.
2. Smith GJ, Naipospos TS, Nguyen TD, de Jong MD, Vijaykrishna D, Usman TB *et al.* Evolution and adaptation of H5N1 influenza virus in avian and human hosts in Indonesia and Vietnam. *Virology.* 2006; **350**: 258-68.
3. Chen M, La T, Zhao P, Tam J, Rappaport R, Cheng S. Genetic and phylogenetic analysis of multi-continent human influenza A(H1N2) reassortant viruses isolated in 2001 through 2003. *Virus Research.* 2006;**12**: 200-205.
4. Saberfar E, Najafi A, Goodarzi Z, Lashini H. Multiplex RT-PCR Assay for Typing and Subtyping of Influenza A (H7 & H9) Virus in Iran. *I J P H.* 2009; **38**: 29-34.
5. صابر فر ا، فرقانی فرد م، نجفی ع. شناسایی اختصاصی ویروس انفلوآنزا و ساب تایپ H7 با روش مولکولی RT-PCR مجله پزشکی کوثر ۱۳۸۵، دوره ۱۱، شماره ۲، صص ۱۱۹ تا ۱۲۴.
6. Midilli K, Yilmaz G, Ergin S, Aygun G, Istanbulu A, Turkoglu S, *et al.* Phylogenetic analysis of human influenza viruses in three consecutive seasons in Istanbul. *J Clin Virol.* 2006; **36**: 520-521.
7. Masaji M, Kenji T, Tadao I, Kunitoshi I, Nobuhiko T, Kikuyasu N, *et al.* Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan. *Virology.* 2005;**332**: 167-176.
8. W.H.O. Global Influenza Program Surveillance Network. Evaluation of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. *Emerg Infect Dis.* 2005;**11**: 1515-1521.
9. Pattnaik B, A. Pateriya K, Khandia R, Tosh C, Nagarajan S, Gounalan S, *et al.* Phylogenetic analysis revealed genetic similarity of the H5N1 avian influenza viruses isolated from HPAI outbreaks in chickens in Maharashtra, India with those isolated from swan in Italy and Iran in 2006. *Current Science.* 2006;**91**: 77-81.
۱۰. ایزدی م، نجفی ع. رویکرد به انفلوآنزای پرندگان به عنوان یک عامل بالقوه حملات بیولوژیک با نگرشی به وضعیت فعلی آن در ایران و جهان. خلاصه مقالات سومین گنگره طب نظامی. دانشگاه بقیه ا... (عج). تهران، ۱۳۸۴ ص ۵۶.