



Evaluation of CXCL12, CD28 and FOS gene expression in HIV-infected patients with discordance in CD4+T-Cell Levels

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors

Kolbadi K.¹MSc

Aliasgari E.¹ PhD

Baesi K.^{2*}PhD

1. Department of biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

kkianakolbadi@gmail.com
e.asgari@gmail.com

2. Hepatitis and AIDS Department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
kbaesi@gmail.com.

*Correspondence

Kazem Baesi, Hepatitis and AIDS Department, Pasteur Institute of Iran, P.O. Box 14115-331, Tehran, I.R. Iran. Tel/ Fax: +98 21 66969291, 09195367725. kbaesi@gmail.com.

Article History

Received: August 28, 2020

Accepted: April 10, 2021

ePublished: May 30, 2021

ABSTRACT

Aims: Anti-Retroviral Therapy (ART) should considerably ameliorate the recovery of the immune system in HIV-infected patients. In some patients, a failure to satisfactorily increase CD4 counts on ART despite successful virological control did occur, named discordant immune response (DIR). The aim of this study is the evaluation of CD28, CXCL12, FOS genes in patients with DIR.

Materials & Methods: In the current study, after PBMC isolation, RNA was extracted for two groups; Control group (immunologic responders) and case group (non-immunologic responders). Real-time relative quantitative PCR was performed in duplicate using One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit and data analyzed by using GraphPad Prism software version 8.0.2.

Findings: The expression levels in the case group compared to the control group were measured for CD28, CXCL12, FOS. The fold change ratio for CD28 and CXCL12 were (0.46), (0.19) respectively and in both of them, a significant decrease was observed. The fold change ratio for FOS was (0.70) and no statistically significant was observed.

Conclusion: we showed a significant decrease in the expression of CD28 and CXCL12 genes in the case the group compared to control group, but we couldn't say, this low expression of these genes are the reason for the low count of CD4 T cells. The more an investigation is necessary for it if the suppression of these genes can impact on the proliferation of CD4 T cells, in-vitro.

Keywords: HIV-1, discordant, TCD4+ cell count

بررسی بیان ژن‌های CD28، CXCL12 و FOS در بیماران مبتلا به HIV با عدم تطابق پاسخ سلول‌های TCD4 در درمان

کیانا کلبادی

کارشناس ارشد، بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه آزاد اسلامی،
واحد تهران شرق، kikianakolbadi@gmail.com

الهه علی عسگری

مربی دکتری، بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد
تهران شرق، e.asgari@gmail.com

کاظم باعنی*

استادیار، بخش هیپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران

kbaesi@gmail.com.

چکیده

هدف مطالعه: انتظار می‌رود درمان ضد رترو ویروسی (ART) در بیماران آلوده به عفونت HIV به شکل قابل ملاحظه‌ای باعث تقویت بازسازی سیستم ایمنی شود. در تعدادی از این بیماران با وجود این که سرکوب بار ویروسی به صورت موفقیت آمیز اتفاق می‌افتد اما افزایش تعداد سلول‌های TCD4 با شکست مواجه می‌شود که به آن پاسخ ایمنی هماهنگی نداشتن ایمونولوژیکی (DIR) گفته می‌شود. هدف این مطالعه ارزیابی بیان ژن‌های CD28, CXCL12, FOS در بیماران با پاسخ عدم تطابق ایمونولوژیک است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه پس از جداسازی سلول‌های PBMC، RNA دو گروه استخراج شد گروه کنترل بیمارانی (پاسخ دهنده ایمونولوژیکی) و گروه هدف (عدم پاسخ ایمونولوژیکی). Real time PCR نسبی کمی به صورت duplicate با استفاده از کیت One Step PrimeScript™ RT-PCR انجام شد. و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad prism ورژن ۸ صورت گرفت.

نتایج: سطح بیان ژن‌های CD28, CXCL12, FOS در گروه هدف در مقایسه با گروه کنترل اندازه‌گیری شد. نسبت چند برابری (fold) برای ژن‌های CD28 و CXCL12 به ترتیب ۰/۱۹ و ۰/۴۶ بوده و در گروه هدف نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری را نشان داد اما نسبت چند برابری، برای ژن FOS ۰/۷۰ بوده و هیچ اختلاف میانگین معناداری از لحاظ آماری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نشان داده شد که ژن‌های CD28 و CXCL12 کاهش معناداری در گروه هدف نسبت به گروه کنترل دارند اما نمی‌توان گفت که این کاهش بیان در ژن‌های مذکور دلیل کاهش تعداد سلول‌های TCD4 است. پژوهش‌های بیشتری نیاز است تا مشخص شود که سرکوب این ژن‌ها می‌تواند بر تکثیر و توسعه سلول‌های TCD4 اثر بگذارد یا خیر.

واژگان کلیدی: HIV-1، عدم تطابق، تعداد سلول TCD4

تاریخ دریافت: ۹۹/۷/۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۲۱

kbaesi@gmail.com

مقدمه

ویروس نقص ایمنی انسانی نوع ۱ (HIV-1) یک لتی ویروس از اعضای خانواده رتروویروس‌ها است [۳] که عامل سندرم نقص ایمنی اکتسابی AIDS (عفونت ایدز) است [۴]. یکی از اهداف اصلی برای عفونت ویروس HIV-1 در افراد آلوده لنفوسیت‌های TCD4 کمکی Thelper هستند [۵]. و تخریب سلول‌های TCD4 توسط ویروس HIV یکی از نشانه‌های پیشرفت به سمت عفونت ایدز است [۶، ۷]. اصلی‌ترین سازوکار حذف سلول‌های TCD4 مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) است، که می‌تواند از طریق چند مسیر توسط HIV القاء شود [۵]

سایتوکاین‌ها عوامل اصلی میزبان در بیماری زایی عفونت HIV-1 هستند [۸، ۹] به این صورت که محرک قوی برای تمایز سلول TCD4 بوده و سلول‌های TCD4 بکر را القاء کرده و آن‌ها را به

از طرفی دیگر مطالعات نشان می‌دهند که این ژن در تکثیر سلول های CD4 نقش دارد.

همچنین با توجه به این که در برخی گزارش‌ها آمده است که سلول های T حاصل از افراد آلوده به HIV-1 در مراحل اولیه عفونت ترجیحا سایتوکاین‌های تیپ Th1 مانند IL-2 و IFN را ترشح می‌کنند در حالیکه سلول‌های آلوده بیماران در اواخر بیماری ترجیحا سایتوکاین‌های تیپ Th2 از جمله IL-4 را ترشح می‌کنند [۱۰]. این یافته‌ها و همچنین چند مطالعه نشان داده اند که در عفونت HIV سوویچ (شیفت) پروفایل سایتوکاین Th1 به Th2 [۱۸، ۱۹] یک گام حیاتی در پیشرفت به سوی ایدز است و نقش اصلی را دارد [6، 20، 21] و بر هم خوردن تعادل تولید سایتوکاین‌ها نقش حیاتی در بر هم خوردن تنظیم ایمنی توسط ویروس HIV دارد [۱۹، ۲۲] اما با وجود این چگونگی این تغییر از Th1 به Th2 همچنان توسط پژوهشگران در حال بررسی است [۲۱]. سازوکار اصلی برای کاهش سلول + TCD4، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپتوز) است که می‌تواند توسط HIV از طریق چندین مسیر ایجاد شود [۵].

در مطالعه‌ای به این اشاره شده که فقدان بیان CD28 در لنفوسیت های T سایتوتوکسیک مرتبط با HIV، باعث پیشرفت بیماری می‌شود [۲۳]

در مطالعاتی نشان داده شده که این ژن‌ها در سیستم ایمنی انسان در پیشرفت HIV به عفونت ایدز نقش دارند و مبنای انتخاب آن‌ها در این مطالعه همین مسئله است. با توجه به موارد گفته شده احتمال اینکه این سه ژن با عدم تطابق پاسخ ایمنولوژیکی ارتباط داشته باشند وجود دارد بنابراین در این مطالعه به مقایسه بیان ژن‌های مذکور در گروه هدف نسبت به گروه کنترل با استفاده از تکنیک Real-time PCR پرداخته شده است.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

در این مطالعه به مقایسه ۱۴ بیمار مبتلا به عفونت HIV گروه A یا کنترل (immunologic responders) و ۱۴ بیمار گروه B یا هدف (immunologic non responders) پرداخته شد که هر ۲۸ بیمار تحت درمان ART (امتریستابین، تنوفویر و افاویرنز) قرار داشتند

ترتیب به Th₂ Thelper1(Th₁) تبدیل می‌کنند [۱۰]. واضح است که سایتوکاین‌ها نقش چند عاملی در آپتوز در حین بیماری زایی HIV ایفا می‌کنند به این صورت که از دست رفتن سایتوکاین‌های ضد آپتوز مانند IL-12 و IFN γ هنگام پیشرفت بیماری و افزایش سایتوکاین‌های تقویت کننده آپتوز مانند IL-4 و IL-10 باعث تقویت نقش آپتوز در از بین رفتن سلول‌های T کمکی است [۵].

درمان ضد رتروویروسی (ART) باعث کاهش مرگ و میر، [۱۱] پیشگیری از پیشرفت بیماری، بهبود کیفیت زندگی و طولانی کردن آن [۱۲] از طریق کاهش کپی بار ویروسی به سطوح غیر قابل تشخیص در مبتلایان به HIV-1 در مراحل مختلف بالینی شده و نیز میزان انتقال ویروس را به دیگران به شدت کاهش می‌دهد. [۱۳] پاسخ مطلوب به درمان به صورت افزایش قابل توجه سطوح TCD4 در خون محیطی از مقادیر پایه و کاهش بار ویروسی پلاسما (P/VL) به سطوح غیر قابل تشخیص در افراد تحت درمان تعریف می‌شود [۱۲، ۱۴]. شکست درمان شامل دو نوع شکست ایمنولوژیکی و شکست ویروسی است، ۷ تا ۴۸ درصد بیماران پاسخ دهندگان ویروسی (-/CD4+ VL) هستند که در این بیماران با وجود مقادیر غیر قابل تشخیص بار ویروسی تعداد سلول‌های TCD4 افزایش قابل توجهی پیدا نمی‌کنند و به اصطلاح عدم تطابق ایمنولوژیکی ایجاد می‌شود (discordant immune response) [۱۵، ۱۶].

پاسخ عدم تطابق ایمنولوژیکی یک چالش مهم در حین درمان برای پزشک متخصص است [۱۳]. در مطالعاتی اشاره شده که ممکن است viroimmunological discordant مرتبط با فاکتورهای ایمنولوژیکی میزبان باشد [۱۷]، از این رو بررسی ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی بدن انسان که با HIV نیز در ارتباط هستند از جمله CD28، FOS، CXCL12 و بررسی تأثیر آن‌ها در پیشرفت یا عدم پیشرفت HIV به مرحله ایدز رویکرد مهمی است که به پزشک در حین درمان کمک بسیاری خواهد کرد. CXCL12 عفونت HIV-1 Ttropic را در مراحل اولیه عفونت و بدون تأثیر بر بقیه life cycle در HIV-1 بلاک می‌کند و در پایان اینکه CXCL12 به طور بالقوه مانع از انباشت HIV DNA Provirial که به viral DNA رونویسی معکوس شده (فرآیند ضروری برای ایجاد عفونت HIV) می‌شود و

جداسازی سلول‌های PBMC و استخراج RNA

برای این کار سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) بیماران با استفاده از روش فایکول و با گرادیان شیب غلظت سلول‌های PBMC از خون رقیق شده جداسازی شد و تقریباً از هر ۱۰ml خون هر بیمار $10^6 \times 10^6$ سلول PBMCs جداسازی شد و 8×10^6 سلول آن‌ها فریز شدند و 2×10^6 را برای استخراج RNA کنار گذاشته شد. قبل از جداسازی، پلاسما خون کامل جدا شده و درون میکروتیوب ۱,۵ ml ریخته شد و سپس برای استخراج RNA ویروسی در فریزر ۲۰- قرار داده شد.

با استفاده از کیت RNeasy® Plus Mini Kit شرکت qiagen (آلمان) و بافرهای آن و طبق پروتکل مربوطه RNA کامل سلول‌های PBMC استخراج شدند همچنین RNA (PVL) طبق پروتکل کیت QIAamp DSP Virus Spin Kit از ویروس استخراج شد. و RNA ها در فریزر ۷۰- استوک شدند.

Real-time PCR

در مرحله بعد آزمایش Real-time PCR به روش کمی (شمارش مطلق) برای تعیین V/L (بار ویروس) پلاسما با کیت artus HI Virus-1 RG RT-PCR و توسط دستگاه (corbett) RotorGene 6000 انجام شد و سپس این آزمایش به روش relative quantitative و به صورت one step با کیت One Step PrimeScript™ RT-PCR برای ژن‌های هدف: CXCL12, FOS, CD28 طبق این برنامه: 42° برای ۱۵ دقیقه، سپس ۹۵ برای ۱۰ ثانیه به دنبال آن 40° سیکل ۹۵ برای ۵ ثانیه و 60° برای ۴۵ ثانیه انجام شد که ژن GAPDH به عنوان house keeping gene (کنترل داخلی) برای این آزمایش انتخاب شده است.

آنالیز آماری

بیان نسبی ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (fold change) محاسبه شد و سپس آنالیز آماری با نرم‌افزار GraphPad Prism 8 انجام شد. ابتدا برای هر ژن نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk test سنجیده شد. به دلیل این که تعداد تکرارها (تعداد sample ها) کمتر از ۵۰ بود در نتیجه این آزمایش انتخاب شد. تمام داده‌ها توزیع

اطلاعات این پژوهش از مطالعه پرونده بیماران مبتلا به ایدز مرکز مشاوره بیماری‌های رفتاری بیمارستان امام خمینی استخراج شده است.

گروه A (immunologic responders) چهارده بیمار تحت درمان ARV با بار ویروسی زیر ۴۰۰ کپی در هر میلی‌لیتر و سلول‌های TCD4 که در یک سال حداقل ۵۰ عدد در هر میکرولیتر افزایش یا در دو سال پس از درمان بالای ۲۰۰ عدد در هر میکرولیتر است.

گروه B (immunologic non responders) چهارده بیمار تحت درمان ARV با بار ویروسی زیر ۴۰۰ کپی در هر میلی‌لیتر و سلول‌های TCD4 که در یک سال حداقل ۵۰ عدد در هر میکرولیتر افزایش نداشته است یا در دو سال پس از درمان زیر ۲۰۰ عدد در هر میکرولیتر است.

معیارهای ورود به مطالعه: از همه بیماران رضایت نامه کتبی گرفته شد، دریافت درمان ART به مدت حداقل یک سال (امتریستابین، تنوفویر و افایرنز)، بار ویروسی زیر ۴۰۰ کپی برای هر دو گروه، افزایش حداقل ۵۰ عدد TCD4 در یک سال برای گروه A و عدم افزایش حداقل ۵۰ عدد TCD4 در یک سال و یا زیر ۲۰۰ پس از دو سال برای گروه B هم چنین HCV منفی، Toxoplasma منفی، HBV منفی و عفونت‌های فرصت طلب از جمله TB منفی برای هر دو گروه بوده است.

قبل از نمونه‌گیری همه بیماران فرم رضایت نامه را امضا کردند و ۱۰ml خون محیطی از هر بیمار گرفته و در لوله‌های استریل و ضد انعقاد حاوی EDTA ریخته شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق تحقیقات زیست پزشکی در انستیتو پاستور ایران تأیید شد (شناسه: IR.PII.REC.1396.49)

طراحی پرایمر

در این مطالعه ۴ جفت پرایمر با نرم افزار oligo 7 براساس reference gene mRNA به صورت دستی طراحی شدند و در بانک اطلاعاتی BLAST ncbi شدند و سپس برای سنتز به شرکت سینا کلون (تهران، ایران) فرستاده شدند توالی ژن‌های استفاده شده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

نرمالی داشتند. برای مقایسه گروه‌ها از تست One-way ANOVA استفاده شد.

بحث

در این مطالعه CXCL12 کاهش معنی‌داری در گروه هدف نسبت به کنترل نشان داد، بررسی مطالعات مختلف نشان داد که CXCL12 باعث سرکوب HIV می‌شود که این عمل با سازوکارهای مختلفی می‌تواند انجام شود. یک اینکه، CXCL12 می‌تواند عفونت HIV را به واسطه جلوگیری از اتصال gp120 به CXCR4 (کورسپتور ضروری ورود HIV) مهار کند. دوم، دومین آمینو ترمینال CXCL12/SDF-1 در CXCL12 هم زمان هم برای فعالسازی CXCR4 و هم مهار گونه‌های HIV T-tropic ضروری است.

با توجه به این که تعداد سلول‌های CD4 در گروه هدف کاهش داشته و کموکاین CXCL12 با سازوکارهای متفاوت می‌تواند عفونت HIV-1 را بلاک کند و در افزایش TCD4 نقش دارد، شاید بتوان گفت دلیل کاهش سلول‌های TCD4 کاهش بیان CXCL12 است.

و در مطالعه‌ای اینگونه بیان شده است که در تعدادی از افراد HIV مثبت در بیش از ۶۵ درصد از سلول‌های TCD8+ آن‌ها کمبود CD28 وجود دارد.

هم چنین در یک مطالعه چنین بیان شده است که بر هم کنش CD28 با خانواده لیگاند‌های B7 موجود در APC منجر به ایجاد و تکثیر mRNA های سایتوکاین‌های مختلف از جمله IL-2, IL-6, IFN γ , TNF α می‌شود [۲۴].

با در نظر گرفتن مفاهیم بالا و توضیح چگونگی عملکرد سایتوکاین های پیش التهابی و تنظیمی همچنین عدم تعادل سایتوکاین‌ها در روند پیشرفت HIV-1 به ایدز و البته (شیفت) Th1 به Th2 و همین طور نقش آپوپتوز در از بین رفتن سلول‌های CD4+ در بیماران HIV مثبت با پاسخ عدم تطابق چون سلول‌های CD4+ روند افزایشی نداشته‌اند بنابراین شاید بتوان این نتیجه‌گیری را کرد که در مورد CD28 نیز مانند CXCL12 دلیل کاهش سلول‌های TCD4 کاهش بیان CD28 باشد.

در مطالعه‌ای تأثیر پروتئین Tat خارج سلولی بر بیان ژن c-FOS endogenous در سلول‌های PBMC اولیه ارزیابی شد. و مشخص شد که پروتئین Tat و ویروس HIV-1 باعث افزایش سطوح c-fos در سلول‌های CD4 انسان می‌شود [۲۵].

نتایج

در این مطالعه به بررسی ۲۸ بیمار HIV مثبت تحت درمان ART از سال ۸۷ تا ۹۷ پرداخته شده مشخصات بیماران به اختصار در جدول ۲ توصیف شده است.

جمعیت مورد مطالعه برای هر یک از گروه‌های کنترل و هدف ۱۴ بیمار در نظر گرفته شد که در گروه هدف ۸۵/۷٪ را مردان و ۱۴/۲٪ را زنان تشکیل می‌دادند. و در گروه کنترل ۵۷/۱٪ را مردان و ۴۲/۸٪ را زنان تشکیل دادند. میانگین سنی شرکت کنندگان در این مطالعه ۴۲ سال بود (۳۳-۵۱ سال). با توجه به موضوع این مطالعه و همان‌گونه که انتظار می‌رفت تعداد سلول‌های CD4 در گروه کنترل نسبت به گروه هدف کمتر بود در حالیکه که بار ویروسی پلاسما HIV-1 در هر دو گروه کمتر از ۴۰۰ copies/ml بود. میانگین تعداد سلول‌های CD4 گروه هدف ۲۱۴ و همچنین برای گروه کنترل این میانگین ۵۱۶/۰۷ بود، ۲۱/۴٪ دگرجنسگرا در گروه کنترل و ۷/۱٪ در گروه هدف دگرجنسگرا بودند. ۱۴/۲٪ در گروه هدف و ۷/۱٪ در گروه کنترل مصرف کننده مواد مخدر تزریقی بودند. بیماران مورد مطالعه یا تحت درمان سه گانه ترکیبی متشکل از دو مهار کننده ریورس ترانسکریپتاز نوکلئوزیدی به علاوه یک مهار کننده پروتئاز یعنی ۲۱/۴٪ در هر گروه و یا یک مهار کننده ریورس ترانسکریپتاز غیر نوکلئوزیدی بودند. ۱۴/۲٪ از بیماران گروه کنترل تحت درمان با رژیم ترکیبی از PI و NNRTI بودند.

در این مطالعه تأثیر سه ژن CXCL12، CD28، FOS در بیماران HIV اندازه‌گیری شد و آنالیز آماری بر اساس روش 2- $\Delta\Delta C_t$ انجام شد. سطوح بیان ژن‌های CXCL12 (۰/۱۹) و CD28 (۰/۴۶) در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی PBMC در گروه هدف کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل داشته است [شکل ۱]. چند برابری بیشتر از ۲ و کمتر از ۰/۵ از لحاظ آماری برای دو گروه معنادار در نظر گرفته شده است. از طرفی دیگر چند برابری ژن FOS (۰/۷۰) بوده که در گروه هدف نسبت به کنترل اختلاف معناداری را نشان نداد. [شکل ۱]

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق است و توسط انستیتوی پاستور ایران و این واحد دانشگاهی تأیید و پشتیبانی شده است.

تاییدیه اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته اخلاق تحقیقات زیست پزشکی در انستیتو پاستور ایران به شماره (شناسه: IR.PII.REC.1396.49) تأیید شد.

جدول ۱. مجموعه پرایمرهای Real-time PCR

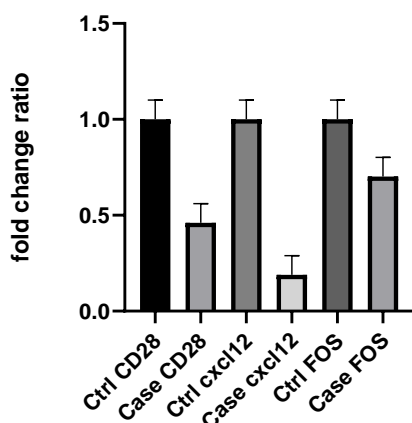
ژن های هدف	پیشرو/معکوس-توالی	محصول (نوکلئوتید) PCR
Cd28	(5'→3')	ACTGCCACCTAAGATG ATGG
Cxcl12		ATGTCAGGGATAGGCAG AGTC
		CCAGAGCCAACGTCAAG CATC
		TTTAGCTTCGGGTCAATG CAC
fos		CAGACCGAGATTGCCAA CCTG
		TCAAGGGAAGCCACAGA CATC
gapdh		TCGTGGAAGGACTCATG ACC
		CCATCACGCCACAGTTTC CC

داده ها \pm SD هستند مگر اینکه خلاف آن مشخص شده باشد. بیماران آلوده به HIV-1 با پاسخ عدم تطابق ایمونولوژیک $n=14$ و گروه کنترل $n=14$ ، بیماران دریافت کننده داروی ضد رتروویروسی بر اساس داشتن بار ویروسی پلاسما copy/ml ۲۰۰ انتخاب شدند. تعداد سلول CD4 گروه بیماران با پاسخ عدم تطابق ایمونولوژیک افزایش پیدا نکرد بیماران گروه کنترل تعداد سلول CD4 نرمالی داشتند. سن، ART، درمان ضد ویروسی؛

HAART، درمان ضد ویروسی بسیار فعال؛ HBV، ویروس هپاتیت B؛ HCV، ویروس هپاتیت C؛ NNRTI، مهار کننده ترانس کریپتاز معکوس غیر نوکلئوزیدی؛ PI، بازدارنده پروتئاز در بیماران گروه DIR و کنترل مشخص شده است.

جدول ۲. مشخصات کلینیکی و بیولوژیکی بیماران گروه هدف و گروه کنترل

مشخصات	گروه هدف	گروه کنترل
زن/مرد	۱۲/۲	۸/۶
سال، سن	۴۲ ± ۹	۳۹
عوامل خطر برای عفونت HIV-1		
دوجنس گرا/هم جنس گرا	۱	۳
تزریق مواد مخدر	۱	۲
ترکیبی	۰	۲
مدت زمان عفونت HIV-1، ماه	۴۳.۷۶	۴۳.۷۶
عفونت هم زمان HBV	۰	۰
عفونت هم زمان HCV	۰	۰
داروهای PI	۳	۳
دارو های NNRTI	۱۴	۱۴
دارو های محتوی PI و NNRTI	۰	۲
بار ویروسی پلاسما HIV-1	<۵۰-۲۰۰	<۵۰-۲۰۰
تعداد سلول های CD4	۲۱۴	۵۱۶.۰۷



شکل ۱. بیان ژن های CD28 و CXCL12 و FOS در گروه هدف در مقایسه با گروه کنترل بر اساس فولد چینج، در هر دو ژن CXCL12 و CD28 کاهش معنی داری مشاهده شد. ژن FOS در گروه هدف در مقایسه با گروه کنترل بر اساس فولد چینج اختلاف معنی داری را نشان نداد.

- therapy: features, outcomes, and associated factors. *AIDS research and human retroviruses* 2009, 25(7):647-655.
- Aiuti F, Mezzaroma I: Failure to reconstitute CD4+ T-cells despite suppression of HIV replication under HAART. *AIDS Rev* 2006, 8(2):88-97.
 - Taiwo B, Li X, Palella F, Jacobson LP, Margolick JB, Detels R, Rinaldo C, Phair J: Higher risk of AIDS or death in patients with lower CD4 cell counts after virally suppressive HAART. *HIV medicine* 2009, 10(10):657-660.
 - Torti C, Quiros-Roldan E, Scudeller L, Lo Caputo S, Tomasoni L, Castelli F, Poggio A, Delle Foglie P, Chirianni A, Sighinolfi L: Characterization of viro-immunological responses in a closely followed cohort of heavily pretreated patients: evidence from the GenPheRex Study. *Hiv Medicine* 2003, 4(3):263-270.
 - Valentin A, Lu W, Rosati M, Schneider R, Albert J, Karlsson A, Pavlakis GN: Dual effect of interleukin 4 on HIV-1 expression: implications for viral phenotypic switch and disease progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998, 95(15):8886-8891.
 - Wang J, Harada A, Matsushita S, Matsumi S, Zhang Y, Shioda T, Nagai Y, Matsushima K: IL-4 and a glucocorticoid up-regulate CXCR4 expression on human CD4+ T lymphocytes and enhance HIV-1 replication. *Journal of Leukocyte Biology* 1998, 64(5):642-649.
 - Maggi E, Mazzetti M, Ravina A, Annunziato F, De Carli M, Piccinni MP, Manetti R, Carbonari M, Pesce AM, Del Prete G: Ability of HIV to promote a TH1 to TH0 shift and to replicate preferentially in TH2 and TH0 cells. *Science* 1994, 265(5169):244-248.
 - Becker Y: The changes in the T helper 1 (Th1) and T helper 2 (Th2) cytokine balance during HIV-1 infection are indicative of an allergic response to viral proteins that may be reversed by Th2 cytokine inhibitors and immune response modifiers—a review and hypothesis. *Virus genes* 2004, 28(1):5-18.
 - Sousa A, Victorino R: Single-cell analysis of lymphokine imbalance in asymptomatic HIV-1 infection: evidence for a major alteration within the CD8+ T cell subset. *Clinical and experimental immunology* 1998, 112(2):294.
 - Gamberg J, Pardoe I, Bowmer MI, Howley C, Grant M: Lack of CD28 expression on HIV-specific cytotoxic T lymphocytes is associated with disease progression. *Immunology and cell biology* 2004, 82(1):38-46.
 - Effros RB: Loss of CD28 expression on T lymphocytes: a marker of replicative senescence. *Developmental & Comparative Immunology* 1997, 21(6):471-478.
 - Gibellini D, Caputo A, Capitani S, La Placa M, Zauli G: Upregulation of c-Fos in activated T lymphoid and monocytic cells by human immunodeficiency virus-1 Tat protein. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 1997, 89(5):1654-1664.
 - Farrokhi M, Gholami M, Mohraz M, McFarland W, Baesi K and Abbasian L (2019) HIV drug resistance among naïve HIV-infected patients in Iran. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 24.
 - Eizadi M, Ravasi AA, Soory R, Baesi K and Choobineh S (2016) The effect of three months of resistance training on TCF7L2 expression in pancreas tissues of type 2 diabetic rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry* 4:12-34014.
 - Farrokhi M, Gholami M, Mohraz M, McFarland W, Baesi K, Abbasian L: HIV drug resistance among naïve HIV-infected patients in Iran. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 2019, 24.
 - Eizadi M, Ravasi AA, Soory R, Baesi K, Choobineh S: The effect of three months of resistance training on TCF7L2 expression in pancreas tissues of type 2 diabetic rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry* 2016, 4(1):12-34014.
 - Habeshaw J, Wilson S, Hounsell E, Oxford J: How HIV-1 lentivirus causes immune deficiency disease. *Medical hypotheses* 1999, 52(1):59-67.
 - Alfano M, Poli G: Cytokine and chemokine based control of HIV infection and replication. *Current pharmaceutical design* 2001, 7(11):993-1013.
 - Alimonti JB, Ball TB, Fowke KR: Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *Journal of general Virology* 2003, 84(7):1649-1661.
 - Galli G, Annunziato F, Mavilia C, Romagnani P, Cosmi L, Manetti R, Pupilli C, Maggi E, Romagnani S: Enhanced HIV expression during Th2-oriented responses explained by the opposite regulatory effect of IL-4 and IFN- γ on fusin/CXCR4. *European journal of immunology* 1998, 28(10):3280-3290.
 - Benjamin R, Banerjee A, Sunder SR, Gaddam S, Valluri VL, Banerjee S: Discordance in CD4+ T-cell levels and viral loads with co-occurrence of elevated peripheral TNF- α and IL-4 in newly diagnosed HIV-TB co-infected cases. *PLoS one* 2013, 8(8):e70250.
 - Alfano M, Crotti A, Vicenzi E, Poli G: New players in cytokine control of HIV infection. *Current HIV/AIDS Reports* 2008, 5(1):27-32.
 - Wang J, Roderiquez G, Oravecz T, Norcross MA: Cytokine regulation of human immunodeficiency virus type 1 entry and replication in human monocytes/macrophages through modulation of CCR5 expression. *Journal of Virology* 1998, 72(9):7642-7647.
 - Suzuki Y, Koyanagi Y, Tanaka Y, Murakami T, Misawa N, Maeda N, Kimura T, Shida H, Hoxie JA, O'Brien WA: Determinant in human immunodeficiency virus type 1 for efficient replication under cytokine-induced CD4+ T-helper 1 (Th1)-and Th2-type conditions. *Journal of virology* 1999, 73(1):316-324.
 - Hogg RS, Yip B, Chan KJ, Wood E, Craib KJ, O'Shaughnessy MV, Montaner JS: Rates of disease progression by baseline CD4 cell count and viral load after initiating triple-drug therapy. *Jama* 2001, 286(20):2568-2577.
 - Moore DM, Hogg RS, Yip B, Wood E, Tyndall M, Braitstein P, Montaner JS: Discordant immunologic and virologic responses to highly active antiretroviral therapy are associated with increased mortality and poor adherence to therapy. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2005, 40(3):288-293.
 - Kumar RS: Immunovirological discordance in HIV. *MEDICINE* 2012, 22.
 - Collazos J, Asensi V, Carton JA: CD4 responses in the setting or suboptimal virological responses to antiretroviral