

بسمه تعالی

پروپوزال طرح پژوهشی

(RES-02)



الف) چکیده

مجری اصلی
دکتر لیلا نوروزی باروق، دکتر رویا شرکت
همکاران طرح
دکتر بهرام باقرپور، دکتر کیانا شیرانی، دکتر سمیه حقیقی پور، دکتر الهه نصری، دکتر مریم نصیریان، نیوشا مولوی، دکتر سمیرا بهرامی، دکتر ویدا همایونی، سمیه نجفی
عنوان طرح
بررسی واریانت های پاتوژن مستعد کننده ابتلا به کووید ۱۹ در اگزون های شماره ۲ و ۸ ژن IRF7 در افراد مبتلا به severe COVID-19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن
Evaluation of pathogen variants predisposing to SARS-CoV 2 in exons 2 and 8 of the IRF7 gene in patients with severe and critical COVID-19 after full COVID-19 vaccination
چکیده
پاندمی COVID-19 ناشی از عفونت با ویروس SARS-CoV-2 تاکنون موجب ابتلای میلیون ها انسان و مرگ حدوداً پنج میلیون نفر در سرتاسر دنیا گشته است. SARS-CoV-2 عضوی از خانواده کروناویروس ها است که در سال ۲۰۱۹ به عنوان یک پاتوژن جدید انسانی و عامل سندروم تنفسی حاد در جهان گزارش شد. شدت علائم بالینی متعاقب عفونت با SARS-CoV-2 از موارد فاقد علامت تا تهدیدکننده زندگی متغیر است. افرادی که به فرم شدید بیماری (severe COVID-19 و critical COVID-19) مبتلا می شوند علائمی چون اختلال در تعادل پاسخ های ایمنی، التهاب و طوفان سایتوکاینی و در نهایت سندروم حاد تنفسی بروز می دهند که در برخی از این افراد منجر به مرگ می شود. اکثر افرادی که به فرم شدید بیماری دچار می شوند دارای بیماریهای زمینه ای و یا اختلالاتی شناخته شده در سیستم ایمنی خود هستند که قادر به مهار ویروس در بدو ورود به بدن خود نیستند و در نتیجه ویروس تکثیر کرده و در نهایت منجر به پیشرفت بیماری و حتی مرگ می شود. علاوه بر این، گروهی از بیماران که حامل واریانت های ژنتیکی نادر در مسیرهای سیگنالینگ سیستم ایمنی خود هستند ممکن است در مقایسه با جمعیت عادی مستعد ابتلا به فرم شدید عفونت های ویروسی از جمله SARS-CoV2 باشند. بنابراین شناسایی این واریانت های نادر می تواند به درک بهتر پاتوژن ویروس و نیز انتخاب درمان های هدفمند و شخص محور در افراد حامل این جهش ها یا پلی مورفیسم های پاتوژن و همچنین تولید داروهای جدید کمک نماید. IRF7 یک فاکتور نسخه برداری مهم در مسیر تولید و ترشح

اینترفرون‌های نوع I است و اختلال در آن موجب استعداد ابتلا به عفونتهای ویروسی می‌گردد. به همین دلیل در این مطالعه ما با بررسی موتاسیونهای احتمالی در اگزون‌های شماره ۲ و ۸ این ژن و ارتباط آنها با استعداد ابتلا به فرم شدید بیماری کووید ۱۹ در میان افرادی که با وجود دریافت دوز دوم واکسن مبتلا شده‌اند، خواهیم پرداخت.

روش اجرا

در ابتدا افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده‌اند، انتخاب و به مطالعه وارد می‌شوند. معیارهای خروج از مطالعه افراد واجد سن بالای ۶۰ سال و بیماری‌های زمینه‌ای مانند دیابت، بیماری‌های قلبی و عروقی، خودایمنی، بیماری‌های کلیوی و کبدی مزمن، نقص ایمنی اولیه و ثانویه شناخته شده، سوتغذیه و اسپلنکتومی می‌باشد. همچنین افرادی که در فاصله زمانی کمتر از ۳ هفته از تزریق دوز دوم واکسن مبتلا شده باشند از مطالعه خارج می‌شوند. بعد از رعایت معیارهای خروج، ۳۰ نفر وارد مطالعه می‌شوند و پس از تکمیل رضایت نامه کتبی توسط این افراد، به میزان ۶ میلی لیتر نمونه خون از آنها جمع‌آوری و استخراج DNA با کیت مورد نظر انجام می‌شود. پس از کنترل کیفیت و کمیت نمونه DNA جمع‌آوری شده با استفاده از نانودراپ و اطمینان از عدم وجود آلودگی پروتئینی و فنلی، واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده برای تکثیر اگزون‌های شماره ۲ و ۸ ژن IRF7 انجام می‌شود. کیفیت انجام PCR نیز با استفاده از تکنیک ژل الکتروفورز بررسی شده و در صورت مشاهده ی قطعه مورد نظر بر روی ژل و اطمینان از درستی انجام واکنش PCR نمونه‌ها آماده ارسال برای توالی‌یابی سنگر می‌گردند. پس از دریافت نتایج در صورت تایید جهش مشاهده شده با تکنیک سنگر، آنالیزهای آماری انجام می‌شود.

کلیدواژه‌ها

COVID-19, SARS-CoV2, Interferon Type I, IRF7

بودجه درخواستی از دانشگاه (ریال)	۱۰۰,۰۰۰,۰۰۰	مدت زمان اجرا (ماه)	۲۴ ماه
----------------------------------	-------------	---------------------	--------

اهداف اختصاصی

هدف کلی

بررسی واریانت های پاتوژن مستعدکننده ابتلا به کووید ۱۹ در اگزون های شماره ۲ و ۸ ژن IRF7 در افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند.

اهداف اختصاصی

- تعیین فراوانی موتاسیونها در اگزون ۲ ژن IRF7 در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن
- تعیین نوع موتاسیون ها در اگزون ۲ ژن IRF7 در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن
- تعیین فراوانی موتاسیونها در اگزون ۸ ژن IRF7 در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن
- تعیین نوع موتاسیونها در اگزون ۸ ژن IRF7 در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن
- مقایسه علائم بالینی در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن دارای موتاسیون در اگزون ۲ ژن IRF7 با افراد فاقد موتاسیون
- مقایسه علائم بالینی در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 بعد از تزریق دوز دوم واکسن دارای موتاسیون در اگزون ۸ ژن IRF7 با افراد فاقد موتاسیون
- مقایسه علائم بالینی در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 که واکسن های متفاوتی دریافت کرده اند.

هدف کاربردی

استفاده از نتایج حاصل از این مطالعه در راستای ارائه و بهبود راهکارهای پیشگیری، تشخیصی و درمان های شخص محور برای بیماری COVID-19

فرضیات/ سوالات پژوهشی

- فراوانی موتاسیون ها در اگزون ۲ ژن IRF7 در افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند، چگونه است؟
- نوع موتاسیون ها در اگزون ۲ ژن IRF7 در افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند، چگونه است؟
- فراوانی موتاسیون ها در اگزون ۸ ژن IRF7 در افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند، چگونه است؟

- نوع موتاسیون ها در اگزون ۸ ژن IRF7 در افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند، چگونه است؟
- علائم بالینی در افراد واجد موتاسیون در اگزون ۲ ژن IRF7 که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند با افراد فاقد موتاسیون چه تفاوتی دارد؟
- علائم بالینی در افراد واجد موتاسیون در اگزون ۸ ژن IRF7 که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده اند با افراد فاقد موتاسیون چه تفاوتی دارد؟
- علائم بالینی در جمعیت severe COVID19 و critical COVID-19 که واکسن های متفاوتی دریافت کرده اند، چه تفاوتی با یکدیگر دارد؟

بیان مساله و ضرورت اجرای مطالعه

پاندمی COVID-19 ناشی از عفونت با ویروس SARS-CoV-2 تاکنون (پانزدهم اکتبر ۲۰۲۱) منجر به ابتلای بیش از ۲۳۹ میلیون نفر و مرگ بیش از ۴ میلیون و هشتصد هزار نفر در سرتاسر دنیا گشته است (1). SARS-CoV-2 عموماً باعث ایجاد بیماری تنفسی و گوارشی در انسان و حیوان می گردد (2). مشابه با سایر عفونت های ویروسی گرمسیری در انسان، شدت علائم بالینی متعاقب عفونت با SARS-CoV-2 از موارد فاقد علامت تا تهدیدکننده زندگی متغیر است و تاکنون اشکال بالینی متفاوتی از بیماری COVID19 گزارش شده است (3). اینترفرون های نوع I (IFN I همراه با نوع III خط اول سیستم دفاعی علیه عفونت های ویروسی را تشکیل می دهند. به دنبال شناسایی اجزاء ویروسی توسط پذیرنده های شناسایی کننده الگو (PRR) به ویژه گیرنده های شبه تول (TLR)، RIG-1، و MDA5، سیگنالی جهت فعال شدن پروتئین پیام رسان ضدویروسی میتوکندریایی (MAVS) راه اندازی می شود که به نوبه خود باعث فعال شدن کیناز TBK1 و متعاقباً فسفوریلاسیون و فعال سازی فاکتورهای نسخه برداری ۳ و ۷ (IRF3 و IRF7) از مسیر تنظیمی اینترفرون می گردد. سپس IRF ها به درون هسته انتقال یافته و تولید IFN I را القاء می کنند (4). تولید و ترشح اینترفرون های آلفا و بتا به درون بافت منجر به اتصال آنها به یک گیرنده تراغشایی هتروداایمر متشکل از زیرواحدهای IFNAR1 و IFNAR2 می گردد. برهمکنش اینترفرون ها با گیرنده IFNAR باعث فعال شدن کینازهای JAK1 و TYK2 می شود. JAK1 و TYK2 نیز به نوبه خود باعث فسفوریلاسیون و فعال سازی مولکول های STAT1 و STAT2 موجود در سیتوزول، دایمریزه شدن آنها و انتقال به هسته و سپس اتصال آنها به IRF9 به منظور تشکیل کمپلکس ISGF3 می گردند. بدنبال اتصال کمپلکس ISGF3 به عناصر پاسخ القاء شونده با

اینترفرون (ISREs) در بالادست ژن های ISG، صدها ژن ISG نسخه برداری شده و فعالیت آنها منجر به مهار تکثیر ویروس، تقویت پاسخ ایمنی ذاتی ضدویروسی و تحریک پاسخ ایمنی اکتسابی می گردد (5). گزارشات حاکی از آنست که IFN I نقش مهمی در دفاع علیه عفونت با SARS-CoV-2 و پیشگیری از ابتلا به فرم شدید بیماری COVID-19 ایفا می کند (6). از آنجایی که تولید به موقع و میزان کافی IFN I نقش مهمی در کنترل ویروس و القای سیستم ایمنی آدپتیو دارد، نقص در هر کدام از اجزای مسیر تولید، ترشح، پیام رسانی و فاکتورهای رونویسی این گروه از اینترفرون ها می تواند سبب فرار ویروس از پاسخ های ایمنی و در نتیجه افزایش بار ویروسی و پیشرفت بیماری گردد (7,8). در یک مطالعه ژنتیکی بر روی بیماران مبتلا به COVID-19، افزایش جهش ها در ژن های مسیر IFN I در بیماران همراه با علائم تهدیدکننده حیات در مقایسه با بیماران همراه با علائم خفیف و یا فاقد علائم، مشاهده گردید. به طوریکه، ۳/۵ درصد بیماران با علائم شدید حامل واریانت های ژنتیکی مضر در ژن های TLR3، UNC93B1، IFNAR1، IFNAR2 و IFNAR2 بودند. این جهش ها با از دست رفتن بیان ژن یا عملکرد همراه هستند، به طوریکه در خون بیماران حامل این جهش ها هیچ سطحی از IFN I یافت نشد و یا اینکه تنها مقادیر بسیار پایینی تشخیص داده شد (9). همچنین اهمیت ایمنی با واسطه IFN I در بیماران مبتلا به COVID-19 در مطالعه ای که به بررسی سطوح اتوآنتی بادی ها علیه IFN I پرداخت، اثبات گردید. به طور قابل توجه ای، بیش از ۱۰٪ بیماران با علائم تهدیدکننده حیات دارای اتوآنتی بادی هایی علیه اینترفرون های آلفا یا امگا (تیپ I) یا هر دو بودند. در مقابل، این اتوآنتی بادی ها در هیچ یک از بیماران فاقد علائم و یا همراه با فرم خفیف بیماری، یافت نشد و تنها در ۳۳٪ درصد افراد در جمعیت عمومی مشاهده گردید (10). این اتوآنتی بادی ها قادر بودند غلظت های بالای IFN I را خنثی کرده و توانایی اینترفرون ها را جهت جلوگیری از عفونت با SARS-CoV2 در شرایط آزمایشگاهی از بین بردند. این یافته ها حاکی از آنست که اینترفرون های نوع I نقش بسیار مهمی در جلوگیری و مهار عفونت SARS-CoV2 بازی می کنند (11). به طور کلی، نقص در تولید IFN I نمادی از عفونت شدید COVID-19 است که با طوفان سایتوکاینی و التهاب حاد و پاکسازی ویروسی ضعیف همراه است (12,13).

نقایص ایمنی اولیه (IEIs) دخیل در افزایش حساسیت به عفونت با ویروس SARS-CoV2 پرداخته اند. بنابراین بررسی این اختلالات و ارتباط آنها با پیشروی ویروس می تواند در کنترل بیماری COVID-19 موثر باشد. علاوه بر این، مطالعات بیشتر می توانند منجر به شناسایی مسیرهای سیگنالینگ همراه با افزایش خطر عفونت شدید گردد که از نتایج حاصل از آن می توان به منظور طراحی استراتژی های درمانی جدید و حفاظت در برابر SARS-CoV2 بهره جست (14,15).

همانطور که در قسمت پیشین ذکر شد، در مطالعه ای که توسط Zhang و همکاران انجام شد، نقایص ژنتیکی مسیر سیگنالینگ IFN I مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج حاصل از توالی یابی کل اگزوم نشان داد که در حدود ۳/۵٪ بیماران مبتلا به عفونت شدید COVID-19 حامل جهش های اتوزومال مغلوب یا غالب در ژن های مسیر تولید IFN I بودند.

IRF7 یکی از فاکتورهای رونویسی مرتبط با IFN I است که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت و نقش آن در بیماریزایی آنفلوانزا نیز به خوبی مشخص شده است. از آنجایی که این فاکتور رونویسی نقش کلیدی در مسیر تولید اینترفرون و در نتیجه دفاع ضدویروسی بازی می کند، کاهش و یا از دست رفتن عملکرد آن به واسطه واریانت های بیماریزا در این ژن سبب عفونت های ویروسی مکرر و شدید و ابتلا به فرم شدید آنفلوانزا می گردد (16,17). Zhang و همکاران گزارش کردند که بیماران مبتلا به کرونا با نقص اتوزومال غالب (AD) و مغلوب (AR) در ژن IRF7 سطوح پایینی از بیان IRF7 داشتند. به طوری که سلول های دندریتیک پلاسماسیتوئید (pDC) استخراج شده از بیماران با نقص IRF7 AR قادر به تولید اینترفرون های نوع I و III در پاسخ به SARS-CoV2 نبودند. علاوه بر این، این افراد به عفونت با سایر ویروس های رایج از جمله آنفلوانزا نوع A و B نیز حساس هستند (9).

با توجه به اهمیت ایمنی زایی اینترفرون نوع یک وابسته به مسیر IRF7، بررسی واریانت های بیماریزا در ژن های این مسیر از جمله IRF7 در جمعیت های بومی مختلف و همچنین تحت شرایط متفاوت بیماری به درک بهتر و عمیق تر ارتباط این واریانت ها در افزایش حساسیت به SARS-CoV2 کمک خواهد نمود. همچنین شناسایی افراد حامل این موتاسیون ها می تواند به تصمیم گیری های درمانی به موقع در این افراد در اوایل شروع بیماری کمک نموده و منجر به جلوگیری از ابتلا به فرم شدید بیماری و حفظ حیات بیمار گردد. از اینرو در این مطالعه ما به بررسی جهش های احتمالی در اگزون های شماره ۲ و ۸ ژن IRF7 که در جمعیت های کشورهای همسایه از جمله ترکیه، عربستان و پاکستان گزارش شده اند، خواهیم پرداخت (9,18).

نوع و جهت مطالعه

توصیفی

مراحل اجرای مطالعه

- در ابتدا افرادی که با وجود دریافت دوز دوم واکسن به severe COVID-19 (بیماران با اکسیژن خون زیر ۹۴ درصد، یا نسبت pao2 به fio2 کمتر از ۳۰۰ یا تعداد تنفس در دقیقه بالای ۳۰ یا درگیری ریوی بیش از ۵۰ درصد) و یا critical COVID-19 (افرادی که دچار نارسایی تنفسی، شوک سپتیک، و یا نارسایی چندین ارگان هستند) مبتلا و در بخش ICU بستری شده اند انتخاب و به مطالعه وارد می شوند.
- معیارهای خروج برای بیمارانی که به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا هستند سن بالای ۶۰ سال و داشتن بیماری های زمینه ای مانند دیابت، بیماریهای قلبی و عروقی، خودایمنی، بیماریهای کلیوی و کبدی مزمن، نقص ایمنی اولیه و ثانویه شناخته شده، سوتغذیه و اسپلنکتومی می باشد. همچنین افرادی که در فاصله زمانی کمتر از ۳ هفته از تزریق دوز دوم مبتلا شده باشند از مطالعه خارج می شوند.
- بعد از رعایت معیارهای خروج و با توجه به بررسی های میدانی انجام شده و نظر کارشناسی و همچنین بدلیل اینکه مطالعه ای در مورد شیوع افرادی که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به اشکال شدید و حاد کووید ۱۹ مبتلا شده اند یافت نشد، حجم نمونه ۳۰ نفر در نظر گرفته شد.
- استفاده از روش محاسبه حجم نمونه ۳۰ نفر وارد مطالعه می شوند.
- پس از تکمیل رضایت نامه کتبی ورود به مطالعه و فرم پرسش نامه اطلاعات فردی، از افراد شرکت کننده در مطالعه به میزان ۶ میلی لیتر نمونه خون وریدی در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری می شود.
- بعد از جمع آوری خون و انتقال به آزمایشگاه، در همان روز استخراج DNA از نمونه بافی کوت با کیت مورد نظر انجام می شود.

- سپس غلظت و خلوص DNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ تعیین می گردد و پس از اطمینان از عدم وجود آلودگی پروتئینی و فنلی غلظت مناسبی از DNA برداشته شده و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای تکثیر اگزون های شماره ۲ و ۸ ژن IRF7 واکنش PCR انجام می گیرد.
- سپس برای بررسی کیفی و کمی محصول PCR نمونه ها روی ژل آگارز ۱,۵ درصد الکتروفورز می شوند و در صورت مشاهده باند مورد نظر بر روی ژل و اطمینان از کیفیت و درستی انجام واکنش PCR نمونه ها برای بررسی حضور و نوع جهش در ژن IRF7 آماده ارسال برای توالی یابی سنگر می گردند.
- پس از دریافت نتایج در صورت تایید جهش مشاهده شده با تکنیک سنگر، آنالیزهای آماری با نرم افزار U-gene انجام می شود.

متغیرهای مطالعه

نام متغیر	نقش (مستقل یا وابسته)	نوع (کیفی اسمی، کیفی رتبه ای، کمی)	واحد اندازه گیری
نوع موتاسیون	مستقل	کیفی اسمی	
فراوانی موتاسیون	مستقل	کمی	
علائم بالینی	وابسته	کیفی رتبه ای	

دستاوردهای مورد انتظار

تعیین این موتاسیون ها می تواند به شناسایی افراد حامل واریانت های ژنتیکی نادر در ژن های مسیر تولید و ترشح اینترفرون های نوع یک که خط دفاعی اول در مقابل عفونت های ویروسی محسوب می شوند، و بررسی ارتباط این واریانت ها و ابتلا به فرم شدید COVID-19 کمک نماید. در صورتی که ارتباط بین این واریانت ها و شدت بیماریزایی SARS-CoV2 تایید شد، می توان از مزایای اقدامات پیشگیری و انتخاب درمان های هدفمند و شخص محور جهت کنترل بیماری در افراد مستعد به Severe COVID-19 و critical COVID-19 بهره جست.

محدودیت ها

محدودیت بودجه های طرح های پژوهشی، محدودیت امکانات و مواد آزمایشگاهی، عدم رضایت و همکاری و خروج بعضی از بیماران از مطالعه به دلایل مختلف.

منافع تجاری احتمالی

نتایج حاصل از این مطالعه و انجام آن در جمعیت های دیگر می تواند علاوه بر کمک به تکمیل پازل دلایل ابتلا به فرم شدید COVID-19 در افراد فاقد بیماری های زمینه ای و متعاقباً مرگ های ناشی از آن، به ارائه مسیرهای درمانی جایگزین و ساخت داروهای جدید کمک نماید.

منابع

References:

1. COVID-19.WHO.int.
2. Pal M, , Gemechu Berhanu , Chaltu Desalegn VK. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2): An Update. Cureus. 2020;12(3):e7423.
3. Shen-Ying Zhang, Qian Zhang, Jean-Laurent Casanova HCS and TCT. Severe COVID-19 in the young and healthy: monogenic inborn errors of immunity? Nat Rev Immunol. 2020;20:455–6.
4. Palermo E, , Daniele Di Carlo MS and JH. Type I Interferons in COVID-19 Pathogenesis. Biology (Basel). 2021;10:829.
5. McNab F, Mayer-barber K, Sher A, Wack A, Garra AO. Type I interferons in infectious disease. Nat Rev Immunol. 2015;15(2):87–103.
6. You-Me Kim E-CS. Type I and III interferon responses in SARS-CoV-2 infection. Exp Mol Med. 2021;53:750–60.
7. Jamilloux Y, Henry T, Belot A, Viel S, Fauter M, El T, et al. Should we suppress or stimulate immune responses for covid-19. Autoimmun Rev 19. 2020;19:102567.
8. Susanna Felsenstein, Jenny A. Herbert, Paul S. McNamara CMH. COVID-19: Immunology and treatment options. Clin Immunol. 2020;215:108448.
9. Al Z et. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. Science (80-). 2020;370:eabd4570.
10. Al PB et. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. Science (80-). 2020;370:eabd4585.
11. Kumari G. Lokugamage, Adam Hage, Maren de Vries, Ana M. Valero-Jimenez, Craig Schindewolf, Meike Dittmann, Ricardo Rajsbaum VDM. Type I interferon susceptibility distinguishes SARS-CoV-2 from SARS-CoV. J Virol. 2020;94(23):e01410-20.
12. Zhenling Wang HP and BJ. Type I IFN deficiency: an immunological characteristic of severe COVID-19 patients. Signal Transduct Target Ther. 2020;5:198.
13. Dhiraj Acharya GL and MUG. Dysregulation of type I interferon responses in COVID-19. Nat Rev Immunol. 2020;20:397.
14. Al. JSL et. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19. Sci Immunol. 2020;5(49):eabd1554.

15. Al IM et. Coronavirus disease 2019 in patients with inborn errors of immunity: An international study. J ALLERGY CLIN IMMUNOL. 2020;147(2):520–31.
16. Al. MJC et. Life-threatening influenza and impaired interferon amplification in human IRF7 deficiency. Science (80-). 2015;348(6233):448–53.
17. Michelle M. Thomsen, Sofie E. Jørgensen, Hans Henrik Gad, Merete Storgaard, Jakob Gjedsted, Mette Christiansen, Rune Hartmann THM. Defective interferon priming and impaired antiviral responses in a patient with an IRF7 variant and severe influenza. Med Microbiol Immunol. 2019;208:869–876.
18. Takaki Asano et al. X-linked recessive TLR7 deficiency in ~1% of men under 60 years old with life-threatening COVID-19. Sci Immunol. 2021;6:eabl4348.

ج) ملاحظات اخلاقی

مطالعات حیوانی
نیاز به مدل حیوانی ندارد.
بافت‌ها یا نمونه‌های انسانی
حدود ۵۰ نفر که با وجود تزریق دوز دوم واکسن به severe COVID-19 و critical COVID-19 مبتلا شده‌اند وارد مطالعه می‌شوند و پس از تکمیل رضایت نامه کتبی، به میزان ۶ میلی لیتر نمونه خون از آنها جمع‌آوری می‌شود.
آزمودنی‌های انسانی
در این مطالعه هیچ نوع مداخله‌ای بر روی انسان‌ها انجام نمی‌شود. در این مطالعه قبل از انجام خون‌گیری فرم رضایت نامه کتبی از بیماران یا همراه آنها دریافت می‌شود و در صورت تمایل بیماران از آنها خون‌گیری انجام می‌گیرد.
ارسال نمونه‌های زیستی
تمامی آزمایشات و آنالیزهای این پژوهش در داخل کشور انجام می‌شود.

(د) جدول زمان بندی

مدت زمان اجرا (ماه)																												عنوان فعالیت
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸	
																												جمع آوری نمونه ها و استخراج DNA
																												انجام PCR
																												تعیین توالی نمونه ها با تکنیک سَنگر
																												آنالیز آماری
																												گزارش نهایی و مقاله

تاریخ تقریبی شروع مطالعه: ۱۴۰۰/۹/۱

کل زمان اجرای مطالعه (ماه): ۲۴ ماه

(هـ) پیش بینی بودجه

کل بودجه طرح (ریال):	۱۰۰,۰۰۰,۰۰۰ ریال
----------------------	------------------

اگر برای تمام یا بخشی از این طرح از سازمان دیگری تامین اعتبار شده است، مبلغ و سازمان را ذکر فرمایید.

مبلغ (ریال)	سرفصل هزینه ها برای بودجه درخواستی از دانشگاه
۵,۰۰۰,۰۰۰	سنتز پرایمر
۵,۰۰۰,۰۰۰	مسترمیکس PCR
۹۰,۰۰۰,۰۰۰	دستگاه ها و تجهیزات غیر مصرفی (توالی یابی سَنگر)
۱۰۰,۰۰۰,۰۰۰ ریال	جمع بودجه درخواستی از دانشگاه

* جزئیات جدول هزینه ها در سامانه پژوهشیار به صورت کامل و منطبق بر سرجمع های بالا تکمیل گردد.

مجری اصلی		
در موارد خاصی که طرح بیش از یک مجری اصلی دارد به صورتی که هر یک از مجریان هدایت بخشی از پروژه را بر عهده دارد، برای هر فرد این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. لازم به ذکر است در هر حال در صورت تصویب طرح مجری اصلی اول طرف قرارداد خواهد بود. در طرح‌های تحقیقاتی که دانشجو مجری اصلی است، تکمیل این جدول لازم نیست.		
نام و نام خانوادگی: لیلا نوروزی باروق		رشته و مدرک تحصیلی: دکتری تخصصی پزشکی مولکولی
شغل فعلی: کارشناس امور پژوهشی		محل خدمت: مرکز تحقیقات نقص ایمنی، بیمارستان الزهرا (س)
لاین تحقیقاتی: تشخیص و درمان بیماری های نقص ایمنی اولیه		
نقشه پژوهشی و سوابق تحقیقاتی مرتبط با این طرح: از آنجا که اهداف مرکز تحقیقات نقص ایمنی اولیه از ابتدا پژوهش و آموزش در جهت تشخیص و درمان بیماری های نقص ایمنی اولیه و ثانویه بوده است و تشخیص در این بیماران نیازمند پژوهش های بنیادی و پایه می باشد و تشخیص به موقع در درمان موثر و کاهش میزان مرگ و میر تاثیر به سزایی دارد، این گونه پژوهش ها با همکاری مراکز معتبر در بیماران نقص ایمنی پایه گذاری شده است. با توجه به اینکه بیماران نقص ایمنی بدلیل وجود نقایص ژنتیکی در سیستم ایمنی بیشتر در معرض خطر ابتلا به severe COVID-19 و critical COVID-19 هستند، این پروپوزال طراحی گردید.		
ISI Impact factor	مقالات قبلی مجری مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر ده مورد و به ترتیب اهمیت و ارتباط با موضوع این تحقیق)	
7.85	<u>Leyla Norouzi-Barough</u> , Ardeshir Bayat. Validation strategies for identifying drug targets in dermal fibrotic disorders. Drug Discovery Today. 2021	۱
7.46	Fatemeh Yaghoobi, Zahra Al-Sadat Davoudi, Reza Karimi Shervedani, Mostafa Torabi, <u>Leyla Norouzi-Barough</u> . Highly sensitive mixed molecular nanostructures of glutamine and doxorubicin on gold for targeted recognition of A2780 cancer cells using impedance spectroscopy and quartz crystal microbalance. Sensors and Actuators B: Chemical. 2021	۲
6.38	<u>Leyla Norouzi-Barough</u> , Mohammad Reza Sarookhani, Mohammadreza Sharifi, Sahar Moghbelinejad, Saranaz Jangjoo, Rasoul Salehi Molecular mechanisms of drug resistance in ovarian cancer. Journal of cellular physiology. 2018	۳
4.17	<u>Leyla Norouzi-Barough</u> , Amir Asgar Khosro Shahi, Farnoosh Mohebzadeh, Ladan Masoumi, Mohammad Reza Haddadi, Sadegh Shirian. Early diagnosis of breast and ovarian cancers by body fluids circulating tumor-derived exosomes. cancer cell international. 2020	۴

2.79	Leyla Norouzi-Barough, Sadegh Shirian, Ali Gorji, Mohammadreza Sadeghi. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes as a cell-free therapy approach for the treatment of skin, bone, and cartilage defects. Connective Tissue Research. 2021	۵
------	--	---

مجری اصلی		
در موارد خاصی که طرح بیش از یک مجری اصلی دارد به صورتی که هر یک از مجریان هدایت بخشی از پروژه را بر عهده دارد، برای هر فرد این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. لازم به ذکر است در هر حال در صورت تصویب طرح مجری اصلی اول طرف قرارداد خواهد بود. در طرح‌های تحقیقاتی که دانشجو مجری اصلی است، تکمیل این جدول لازم نیست.		
نام و نام خانوادگی: رویا شرکت	رشته و مدرک تحصیلی: فوق تخصص ایمونولوژی بالینی و آلرژی	
شغل فعلی: رئیس مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی	محل خدمت: مرکز تحقیقات نقص ایمنی، بیمارستان الزهرا (س)	
لاین تحقیقاتی: تشخیص و درمان در بیماری‌های نقص ایمنی اولیه		
نقشه پژوهشی و سوابق تحقیقاتی مرتبط با این طرح: از آنجا که اهداف مرکز تحقیقات نقص ایمنی اولیه از ابتدا پژوهش و آموزش در جهت تشخیص و درمان بیماری‌های نقص ایمنی اولیه و ثانویه بوده است و تشخیص در این بیماران نیازمند پژوهش‌های بنیادی و پایه می‌باشد و تشخیص به موقع در درمان موثر و کاهش میزان مرگ و میر تاثیر به سزایی دارد، این گونه پژوهش‌ها با همکاری مراکز معتبر در بیماران نقص ایمنی پایه گذاری شده است. با توجه به اینکه بیماران نقص ایمنی بدلیل وجود نقایص ژنتیکی در سیستم ایمنی بیشتر در معرض خطر ابتلا به severe COVID-19 و critical COVID-19 هستند، این پروپوزال طراحی گردید.		
ISI Impact factor	مقالات قبلی مجری مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر ده مورد و به ترتیب اهمیت و ارتباط با موضوع این تحقیق)	
Conference	Roya Sherkat, Paria Bolourinejad, Negin Salemi, Farhoodeh Rahmati, Hamid Aria, Mahdieh Azizi, Mahbubeh Jafari, Somayeh Najafi. The clinical course and outcome of SARS-COVID 19 in patients with inborn error of immunity, does it relate to the type of the immune defects. JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY. 2021	۱

41.5	Vivien Béziat, Franck Rapaport, Jiafen Hu, Matthias Titeux, Mathilde Bonnet des Claustres, Mathieu Bourgey, Heather Griffin, Élise Bandet, Cindy S Ma, <u>Roya Sherkat</u> , et al. Humans with inherited T cell CD28 deficiency are susceptible to skin papillomaviruses but are otherwise healthy. Cell. 2021	۲
38	Boztug K, Järvinen PM, Salzer E, Racek T, Mönch S, Garncarz W, Gertz EM, Schäffer AA, Antonopoulos A, Haslam SM, Schieck L, Puchałka J, Diestelhorst J, Appaswamy G, Lescoeur B, Giambruno R, Bigenzahn JW, Elling U, Pfeifer D, Conde CD, Albert MH, Welte K, Brandes G, <u>Sherkat R</u> , van der Werff Ten Bosch J, Rezaei N, Etzioni A, Bellanné-Chantelot C, Superti-Furga G, Penninger JM, Bennett KL, von Blume J, Dell A, Donadieu J, Klein C.: 1JAGN1 deficiency causes aberrant myeloid cell homeostasis and congenital neutropenia. Nat Genet. 2014	۳
22	Abdollahpour H, Appaswamy G, Kotlarz D, Diestelhorst J, Beier R, Schäffer AA, Gertz EM, Schambach A, Kreipe HH, Pfeifer D, Engelhardt KR, Rezaei N, Grimbacher B, Lohrmann S, <u>Sherkat R</u> , Klein C. The phenotype of human STK4 deficiency . Blood. 2012	۴
8.3	Bahrami E, Witzel M, Racek T, Puchałka J, Hollizeck S, Greif-Kohistani N, <u>Sherkat R</u> , et al. Myb-like, SWIRM, and MPN domains 1 (MYSM1) deficiency: Genotoxic stress-associated bone marrow failure and developmental aberrations. J Allergy Clin Immunol. 2017	۵

همکار طرح	
برای هریک از همکاران این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. تکمیل این جدول برای دانشجویان ضروری نیست.	
نام و نام خانوادگی: بهرام باقرپور	رشته و مدرک تحصیلی: دکتری تخصصی پزشکی مولکولی
شغل فعلی: کارشناس آزمایشگاه	محل خدمت: مرکز تحقیقات نقص ایمنی
نوع همکاری در این طرح	
☒ همکار طرح ☐ استاد راهنمای دوم ☐ استاد مشاور	
لاین تحقیقاتی: بیماری های نقص ایمنی	
نحوه مشارکت در این طرح و توانمندی های مرتبط انجام آزمایشات عملی، کمک به تهیه ی مقاله و گزارش نهایی.	
ISI Impact factor	مقالات قبلی همکار مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر پنج مورد و به ترتیب اهمیت و ارتباط با موضوع این تحقیق)
4.12	Nioosha Nekooie-Marnany, Caroline Deswarte, Vajiheh Ostadi, Bahram Bagherpour, et al. Impaired IL-12- and IL-23-Mediated Immunity Due to IL-

	12Rβ1 Deficiency in Iranian Patients with Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease. Journal of Clinical Immunology . 2018	
2.45	Marjan Gharagozloo, Shirin Jafari, Nafiseh Esmaeil, Elahe N. Javid, Bahram Bagherpour, Abbas Rezaei. Immunosuppressive Effect of Silymarin on Mitogen-Activated Protein Kinase Signalling Pathway: the Impact on T Cell Proliferation and Cytokine Production. <i>basic & clinical pharmacology & toxicology</i> . 2013	۲
4.56	Hadi Bagheri, Meysam Mosallaei, Bahram Bagherpour , Sharifeh Khosravi, Ahmad Reza Salehi, Rasoul Salehi. <i>TFPI2</i> and <i>NDRG4</i> gene promoter methylation analysis in peripheral blood mononuclear cells are novel epigenetic noninvasive biomarkers for colorectal cancer diagnosis. <i>The journal of gene medicine</i> . 2020	۳
1.54	R Jafari, B Sanei, A Baradaran, M Kolahdouzan, B Bagherpour , H Yousofi Darani Immunohistochemical observation of local inflammatory cell infiltration in the host-tissue reaction site of human hydatid cysts. <i>Journal of helminthology</i> . 2019.	۴
-	Roya Sherkat , Soodabeh Rostami , Majid Yaran , Mohammad Hassan Emami , Hosein Saneian , et al. Establishment and Development of the First Biobank of Inflammatory Bowel Disease, Suspected to Primary Immunodeficiency Diseases in Iran. <i>Advanced Biomedical Research</i> . 2018	۵

همکار طرح	
برای هریک از همکاران این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. تکمیل این جدول برای دانشجویان ضروری نیست.	
نام و نام خانوادگی: کیانا شیرانی	رشته و مدرک تحصیلی: متخصص عفونی
شغل فعلی: هیات علمی	سازمان متبوع: دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نوع همکاری در این طرح	
☒ همکار طرح ☐ استاد راهنمای دوم ☐ استاد مشاور	
لاین تحقیقاتی: بیماری های عفونی	
نحوه مشارکت در این طرح و توانمندی های مرتبط اطلاعات بیمار، بررسی پروپوزال و مقاله	
ISI Impact factor	مقالات قبلی همکار مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر پنج مورد و به ترتیب اهمیت)

-	K Shirani, E Sheikhabahaei, Z Torkpour, MG Nejad, BK Moghadas, ... A narrative review of COVID-19: the new pandemic disease. Iranian Journal of Medical Sciences. 2020	۱
-	Chaharsoughi, Maryam Ansari; Ataei, Behrooz; Khorvash, Farzin; Shirani, Kiana; Pourahmad, Morteza. Molecular Evaluation of Human Enterovirus-Related Aseptic Meningitis in Isfahan. Jundishapur Journal of Microbiology, 2020.	۲
1.746	K Shirani, E Seydayi, KS Boroujeni, Prevalence and antibiotic resistance pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in clinical specimens, Journal of Research in Medical Sciences 24 (1), 103	۳
1.746	Kiana Shirani, Arash Toghyani, COVID-19 pneumonia with scant respiratory symptoms, J Res Med Sci 2020.	۴

همکار طرح	
برای هریک از همکاران این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. تکمیل این جدول برای دانشجویان ضروری نیست.	
نام و نام خانوادگی: سمیرا بهرامی	رشته و مدرک تحصیلی: دکتری تخصصی پزشکی مولکولی
شغل فعلی: کارشناس پژوهش	محل خدمت: مرکز تحقیقات نقص ایمنی
نوع همکاری در این طرح	
☒ همکار طرح ☐ استاد راهنمای دوم ☐ استاد مشاور	
لاین تحقیقاتی: تشخیص در بیماری های نقص ایمنی اولیه	
نحوه مشارکت در این طرح و توانمندی های مرتبط:	
امور آزمایشگاهی طرح	
ISI Impact factor	مقالات قبلی همکار مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر پنج مورد و به ترتیب اهمیت و ارتباط با موضوع این تحقیق)
4.93	Kiana Shahzamani, Fatemeh Mahmoudian, Shahrzad Ahangarzadeh, Mohammad Mehdi Ranjbar, Leila Beikmohammadi, Samira Bahrami, Elmira Mohammadi, Sahar Esfandiyari, Abbas Alibakhshi, Shaghayegh Haghjooy Javanmard. Vaccine design and delivery approaches for COVID-19. International Immunopharmacology. 2021
5	Recent developments in antibody derivatives against colorectal cancer; A review. Life sciences. 2020
2.22	Samira Bahrami, Bahram Kazemi, Hakimeh Zali, Peter C Black, Abbas Basiri, Mojgan Bandehpour, Mehdi Hedayati, Amirhossein Sahebkar. Discovering therapeutic protein targets for bladder cancer using proteomic data analysis. Current molecular pharmacology. 2020.

1.8	Samira Bahrami, Ali Gheysarzadeh, Mehdi Sotoudeh, Mojgan Bandehpour, Hakimeh Zali, Mehdi Hedayati, Abbas Basiri .The Association Between Gelsolin-like Actin-capping Protein (CapG) Overexpression and Bladder Cancer Prognosis. Urology journal. 2020.	۴
-	Morteza Gholami, Bagher Larijani, Zhila Zahedi, Fatemeh Mahmoudian, Samira Bahrami, Sima Parvizi Omran, Zahra Saadatian, Shirin Hasani-Ranjbar, Reza Taslimi, Milad Bastami, Mahsa M Amoli. Inflammation related miRNAs as an important player between obesity and cancers. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2019	۵

همکار طرح		
برای هریک از همکاران این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. تکمیل این جدول برای دانشجویان ضروری نیست.		
نام و نام خانوادگی: ویدا همایونی	رشته و مدرک تحصیلی: دکترای تخصصی ایمنولوژی	
شغل فعلی: کارشناس پژوهشی	سازمان متبوع: مرکز تحقیقات نقص ایمنی	
نوع همکاری در این طرح		
☒ همکار طرح ☐ استاد راهنمای دوم ☐ استاد مشاور		
لاین تحقیقاتی: مولکولار ایمنولوژی		
نحوه مشارکت در این طرح و توانمندی‌های مرتبط امور آزمایشگاهی طرح		
ISI Impact factor	مقالات قبلی همکار مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر پنج مورد و به ترتیب اهمیت)	
1.74	Mazdak Ganjalikhani Hakemi, Reza Yazdani, Roya Sherkat, Vida Homayouni, Mohsen Masjedi. Evaluation of the T helper 17 cell specific genes and the innate lymphoid cells counts in the peripheral blood of patients	۱

	with the common variable immunodeficiency. Journal of Research in Medical Sciences.2014.	
	Reza Yazdani, Mazdak Ganjalikhani Hakemi, Roya Sherkat, Vida Homayouni, Rahim Farahani Genetic defects and the role of helper T-cells in the pathogenesis of common variable immunodeficiency. Advanced Biomedical Research. 2014	۲
1.24	Roya Sherkat, Reza Yazdani, Mazdak Ganjalikhani Hakemi, Vida Homayouni, Rahim Farahani, Mohsen Hosseini, and Abbas Rezaei. Innate lymphoid cells and cytokines of the novel subtypes of helper T cells in asthma. Asia Pacific Allergy. September 10, 2014	۳
0.78	Mahbubeh Ansari, Reza Yazdani, Roya Sherkat, Vida Homayouni, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi and Abbas Rezaei. Decreased Expression of B cell Maturation Antigen in Patients with Common Variable Immunodeficiency. Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology.2017	۴

همکار طرح		
برای هریک از همکاران این جدول کپی و به صورت جداگانه تکمیل شود. تکمیل این جدول برای دانشجویان ضروری نیست.		
نام و نام خانوادگی: سمیه نجفی	رشته و مدرک تحصیلی: بیوتکنولوژی - کارشناسی ارشد	
شغل فعلی: کارشناس پژوهش	محل خدمت: مرکز تحقیقات نقص ایمنی	
نوع همکاری در این طرح ☐ همکار طرح ☐ استاد راهنمای دوم ☐ استاد مشاور		
لاین تحقیقاتی: تشخیص ایمونوزنتیک در بیماری های نقص ایمنی		
نحوه مشارکت در این طرح و توانمندی های مرتبط در امور ویرایش و کارشناسی پروپوزال، ارسال طرح به مرکز تحقیقات، همکاری در امور برقراری ارتباط با افراد شرکت کننده و همکاری در نگارش و ویرایش مقاله حاصله، امور مربوط به بستن طرح		
ISI Impact factor	مقالات قبلی همکار مرتبط با موضوع پروژه (حداکثر پنج مورد و به ترتیب اهمیت و ارتباط با موضوع این تحقیق)	
2.66	Sheikhbahaei S, Sherkat R, Roos D, Yaran M, Najafi S, Emami A, Gene mutations responsible for primary immunodeficiency disorders: A report from the first primary immunodeficiency biobank in Iran, Allergy Asthma Clin Immunol. 2016;12: 62.	۱
0.2	Sherkat, R., Yaran, M., Nekooei, N., (...), Najafi S, Farid, F., Rahmanian, N., Exons analysis of interferon-gamma receptor 1 gene in patients with	۲

	Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases (MSMD) in the central region of Iran, 2019, Journal of Isfahan Medical School, 36(503),1349-1354.	
14.11	Sherkat R., Khoshnevisan R., Bahreini A., Irvani O., Shahrooe M., Nekooie N., Ostadi V., Najafi S., Enigmas of Primary immunodeficiency disorders genetic diagnosis in our region, Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2020., 145 (2).	۳
1.1	Sheikhabaei, S., Mohammadi, A., Sherkat, R., (...), Yaran, M., Najafi, S., Invasive fungal infection in febrile patients with hematologic malignancies undergoing chemotherapy in iran, , Endocrine, Metabolic and Immune Disorders, Drug Targets, 2019, 19(3), 302-307.	۴
	Sherkat R, Rostami S, Yaran M, Emami M.H, Saneian H, (...),Najafi S., Establishment and Development of the First Biobank of Inflammatory Bowel Disease, Suspected to Primary Immunodeficiency Diseases in Iran, Adv Biomed Res, 2018;7:45.	۵