Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 35, No. 4, Wintwr 2026 ORIGINAL ARTICLE

Investigation of the impact of drug-sensitive and drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strains on inflammatory pathways and cell death in A549 lung epithelial cells

Rouhollah Abdolhamidi[1], Setareh Haghighat[1], Arfa Moshiri[2], Abolfazl Fateh[2], Seyed Davar Siadat[2]
[1]Department of Microbiology, TeMS.C.,Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran; Microbiology Research Center (MRC), Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Abstract

Background: Tuberculosis has long been a significant challenge to global healthcare. The host-pathogen interaction with *Mycobacterium tuberculosis* plays a critical role in the progression of the infection, influencing immune responses and regulating cell death processes such as apoptosis and necrosis. However, the relationship between these processes and inflammation remains unclear. This study examines the expression levels of genes related to apoptosis, necrosis, and inflammation in A549 lung epithelial cells infected with drug-sensitive and drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains.
Materials and methods: Strains of *Mycobacterium tuberculosis* with varying antibiotic resistance (sensitive, rifampin-resistant, multidrug-resistant, and extensively drug-resistant) were obtained from the Pasteur Institute of Iran. A549 cells were cultured and infected. Genes linked to the studied pathways were selected using bioinformatics, and their expression levels were assessed using RT-PCR.
Results: All strains showed increased expression of anti-apoptotic genes (*BCL2*, *RB1*), chemokines (*IL8*, *MCP1*), and pro-inflammatory cytokines (*TNF-α*, *IFN-γ*), alongside reduced expression of anti-inflammatory genes (*IL10*) and pro-apoptotic genes (*BAD*, *BAX*) post-infection. The Beijing genotype (sensitive strain) induced higher inflammatory and apoptotic gene expression than the New-1 genotype (resistant strains). No significant changes were observed in necrosis-related genes (*FADD*, *RIPK1*).
Conclusion: Variations in apoptosis and inflammation-related gene expression appear to stem more from genotypic differences than drug resistance. This underscores the pivotal role of the *Mycobacterium tuberculosis* genotype in modulating host immune responses during infection.
Keywords: *Mycobacterium tuberculosis, Drug resistance, Inflammation, Apoptosis, Necrosis.*

Cited as: Abdolhamidi R, Haghighat S, Moshiri A, Fateh A, Siadat SD. Investigation of the impact of drug-sensitive and drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains on inflammatory pathways and cell death in A549 lung epithelial cells. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2025; 35(4): **436-449.**

Correspondence to: Seyed Davar Siadat
Tel: *+98 9121442137*
E-mail: d.siadat@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-6892-5603
Received: 16 Nov 2024; **Accepted:** 31 Dec 2024

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۴، صفحات ۴۳۶ تا ۴۴۹

Original Article

بررسی تاثیر سویه‌های حساس و مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بر مسیرهای التهابی و مرگ سلولی در رده سلولی A549 اپیتلیال ریه

روح اله عبدالحمیـدی[۱]، ستاره حقیقت[۱]، ارفع مشیری[۲]، ابوالفضل فاتح[۲]، سید داور سیادت[۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه تحقیقات سل و ریوی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران؛ مرکز تحقیقات میکروبیولوژی (MRC)، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *سل یکی از چالش‌های مهم سیستم بهداشتی است و تعامل میزبان با باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در پیشرفت عفونت نقش کلیدی دارد. این عفونت از طریق تأثیر بر فرایندهای آپوپتوز، نکروز و التهاب، به رشد درون‌سلولی باکتری کمک می‌کند. اما ارتباط دقیق میان این مسیرها به‌طور کامل شناخته نشده است.*

روش بررسی: *سویه‌های حساس و مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از انستیتو پاستور ایران جمع‌آوری شده و رده سلولی A549 آلوده شدند. بیان ژن‌های دخیل در مسیرهای آپوپتوز، نکروز و التهاب با استفاده از RT-PCR بررسی شد.*

یافته‌ها: *در سویه‌های حساس و مقاوم، افزایش بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی (BCL2، RB1)، کموکاین‌ها (IL8، MCP1) و سیتوکین‌های پیش‌التهابی (TNF-α، IFN-γ) مشاهده شد، درحالی‌که بیان ژن‌های ضدالتهابی (IL10) و پیش‌آپوپتوزی (BAD، BAX) کاهش یافت. همچنین، ژنوتیپ Beijing (سویه حساس) نسبت به ژنوتیپ New-1 (سویه‌های مقاوم) بیان بیشتری در ژن‌های التهابی و آپوپتوزی داشت. هیچ تغییر معناداری در بیان ژن‌های نکروز (FADD و RIPK1) در هیچ‌کدام از سویه‌ها مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری: *تفاوت در بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز و التهاب بیشتر به ژنوتیپ‌ها وابسته بود تا مقاومت دارویی. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ژنوتیپ باکتری نقش مهمی در شدت پاسخ التهابی و آپوپتوز در عفونت سل ایفا می‌کند.*

واژگان کلیدی: *مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، مقاومت دارویی، التهاب، آپوپتوز، نکروز.*

مقدمه

بیمـاری مهلـک سـل از دیربـاز بـه عنـوان یکـی از مخرب‌تـرین بیماری‌ها در تاریخ بشر شناخته شـده اسـت (۱). طبـق گـزارش سازمان بهداشـت جهـانی در سـال ۲۰۲۴، تعـداد کـل مـوارد در سال ۲۰۲۳ برابـر بـا ۱۰/۸ میلیـون (دامنـه عـدم قطعیـت ۹۵٪: ۱۰/۱–۱۱/۷ میلیون) بود، کـه انـدکی افـزایش نسـبت بـه ۱۰/۷ میلیون در سال ۲۰۲۲ دارد، هرچند هنوز بالاتر از ۱۰/۴ میلیـون در سـال ۲۰۲۱ و ۱۰/۱ میلیـون در سـال ۲۰۲۰ اسـت (۲). بـا وجـود تلاش‌هـای فـراوان بـرای کنتـرل بیمـاری سـل، اکنـون سویه‌های مقاوم به دارو به تهدیدی جهانی بـرای سـلامت انسـان تبـدیل شـده‌اند (۳). در سـطح جهـانی در سـال ۲۰۲۳، تعـداد ۱۷۵،۹۲۳ نفر به سل مقاوم به چند دارو یـا مقـاوم بـه ریفـامپین (MDR/RR-TB) تشـخیص داده شـده و تحـت درمـان قـرار گرفتند؛ این تعداد معادل ۴۴٪ از ۴۰۰،۰۰۰ نفـری (دامنـه عـدم قطعیت ۹۵٪: ۳۶۰،۰۰۰–۴۴۰،۰۰۰) اسـت کـه بـرآورد می‌شـود در سـال ۲۰۲۳ بـه MDR/RR-TB مبـتلا شـده‌اند (۲). ژنوتیپ‌های Beijing و Haarlem در ایزوله‌های MDR-TB (سـل مقاوم به چند دارو) در خاورمیانه شایع هستند کـه ممکـن اسـت به مشکلات بهداشتی، افزایش هزینـه‌ها و نـرخ بـالاتر مرگ‌ومیـر منجر شود (۴).

آدرس نویسـنده مسـئول: تهـران، انسـتیتو پاسـتور ایـران، مرکـز تحقیقـات میکروبیولـوژی (MRC)، گـروه تحقیقات سل و ریوی، سید داور سیادت (email: d.siadat@gmail.com)
ORCID ID: 0000-0002-6892-5603
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۸/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۱۱

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

کنترل عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس همچنان به‌طور کامل قابل توضیح نیست و مکانیسم‌های پیشرفت بیماری نیز به‌خوبی روشن نشده‌اند. از این رو، شناسایی راهکارهای نوین برای بهبود روش‌های کنترل سل ضروری است. در حقیقت، دستیابی به اطلاعات جامع درباره سل، به‌ویژه در زمینه تعاملات بین میزبان و پاتوژن، برای کنترل این بیماری و تحقق اهداف برنامه جهانی «پایان سل» اهمیت حیاتی دارد (۵). این بیماری هم‌چنان به عنوان یکی از بزرگ‌ترین مشکلات سیستم بهداشت و درمان بسیاری از کشورها بخصوص کشورهای در حال توسعه مثل ایران محسوب می‌شود (۶). تعداد کمی از پاتوژن‌ها توانایی تطبیق و بقا در محیط درون‌سلولی میزبان را دارند و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس یکی از آن‌هاست (۷). شیوع سل در ایران تقریبا ۱۱ (۱۴-۸/۵) مورد از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است (۲). میزان بروز سل در استان‌های مختلف ایران متفاوت است و بر اساس گزارش وزارت بهداشت و درمان، بالاترین میزان بروز سل در ایران مربوط به استان گلستان با شیوع ۳۵/۸ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر از جمعیت است. پس از آن، به ترتیب استان‌های سیستان و بلوچستان (۳۴/۱۳ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر)، گیلان (۱۷/۹۸ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر)، خوزستان (۱۷/۷۹ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر) و خراسان رضوی (۱۵/۷ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر) در رده‌های بعدی از نظر میزان بروز سل قراردارند (۸).

عفونت سل از طریق مسیرهای سیگنالینگ درون‌سلولی و با تغییر در پاسخ‌های سیستم ایمنی و کنترل مسیرهای مرگ سلولی، به‌ویژه مرگ برنامه‌ریزی‌شده یا آپوپتوز و مرگ برنامه ریزی نشده یا نکروز، رشد درون‌سلولی خود را تسهیل می‌کند (۹, ۱۰). اکثر فرآیندهای فیزیولوژیکی سیستم ایمنی میزبان، تحت تأثیر مسیرهای مرگ سلولی قرار دارند (۱۱). در سیستم ایمنی، آپوپتوز نقش اساسی در حفظ هموستازی سلولی ایفا می‌کند (۱۲). در آپوپتوز، سلول از لحاظ زمانی اسکلت سلولی خود را فرو می‌ریزد، پوشش هسته را از هم می‌پاشد، DNA را تکه تکه می‌کند و بقایای سلولی را بدون دستکاری محتوای سلولی در "وزیکول‌های آپوپتوتیک" کوچک قرار می‌دهد (۱۳). دو مسیر اصلی آپوپتوز شامل مسیر ذاتی Bcl-2 و مسیر وابسته به کاسپاز ۸ و ۱۰ است (۱۴, ۱۵). اکنون مشخص شده که نکروز نیز که زمانی مرگ سلولی منفعل و بدون تنظیم تلقی می‌شد، می‌تواند مانند آپوپتوز توسط فرایندی ژنتیکی و کنترل‌شده رخ دهد و با از دست رفتن یکپارچگی غشا و تورم سلول و اندامک‌ها همراه باشد (۱۶-۱۸).

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در فضای آلوئولی ریه به دلیل برهمکنش با سلول‌های اپیتلیالی، فنوتیپ تکثیری و تهاجمی بالایی پیدا می‌کند و به عنوان بخشی از راهبرد بقای خود در میزبان، مسیرهای مختلف مرگ های سلولی و التهابی را تحریک می‌کند (۱۹). گاهی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به جای ایجاد التهاب حاد، وارد مرحله نهفتگی می‌شود تا از نابودی توسط سیستم ایمنی جلوگیری کند. در این مرحله، با استفاده از پروتئین‌های اثربخش، محیطی پایدار ایجاد کرده و پاسخ‌های ایمنی میزبان را تعدیل می‌کند. این باکتری می‌تواند برای دهه‌ها در حالت نهفتگی باقی بماند، بدون تشدید علائم، اما در عین حال باعث اختلالات متابولیکی و عدم تعادل در سیستم ایمنی فرد مبتلا می‌شود (۷). همه سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به طور یکسان مسیرهای آپوپتوز و التهابی را القا نمی‌کنند. شواهد نشان می‌دهند که سویه های تضعیف‌شده مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (مانند H37Ra) سطح بالاتری از آپوپتوز را نسبت به عفونت‌های سویه‌های بیماری‌زا (مانند H37Rv) القا می‌کنند. به نظر می‌رسد سویه‌های بیماری‌زا از این راهبرد برای بقا درون‌سلولی و سرکوب سیستم ایمنی استفاده می‌کنند (۲۰). سویه‌های تضعیف‌شده مایکوباکتریوم توبرکلوزیس معمولاً نسبت به سویه‌های بیماری‌زا، فاکتورهای التهابی بیشتری ترشح می‌کنند و باعث آپوپتوز بالاتری می‌شوند (۲۱, ۲۲). در واقع، تغییر در مسیر آپوپتوز و عوامل التهابی برای دفاع در برابر عفونت ناشی از سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ضروری است و در سویه‌های با بیماری‌زایی کمتر، بیان این عوامل بیشتر است. با این حال، این پرسش که آیا سویه‌های مقاوم‌تر مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارای بیماری‌زایی بیشتری هستند یا نه، همچنان بدون پاسخ باقی مانده است (۲۳, ۲۴). در بسیاری از باکتری‌ها با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بیماری‌زایی نیز افزایش می‌یابد، اما این موضوع در مورد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس صدق نمی‌کند (۲۳, ۲۵). سویه‌های مختلف مقاوم به داروی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با تنظیم بیان ژن‌های پرو آپوپتوتیک، ضدآپوپتوزی، نکروز، سایتوکاین ها و کموکاین ها، باعث افزایش شدت عفونت می‌شوند. این تنظیمات منجر به افزایش بیماری‌زایی و تضعیف پاسخ های سیستم ایمنی میزبان شده و به باکتری در ایجاد عفونت پایدار کمک می‌کند (۲۶).

برای پیشگیری، درمان و کنترل کارآمدتر عفونت سل، بررسی ارتباطات میان ژن‌های مسیرهای مرگ سلولی و التهابی در برهمکنش بین میزبان و سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ضروری است. با این حال، همچنان رابطه دقیق بین آپوپتوز،

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

نکروز و التهاب در عفونت سل مبهم است. در این مطالعه، رده سلولی A549 که با سویه‌های مختلف مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (شامل H37Rv، حساس، مقاوم به ریفامپین، MDR و XDR) آلوده شده بودند، برای ارزیابی سطح بیان ژن‌های آپوپتوز، نکروز، سایتوکاین ها و کموکاین ها مورد بررسی قرار گرفتند. این داده‌ها می‌توانند به درک بهتر شدت عفونت سل و میزان حساسیت میزبان کمک کنند.

مواد و روشها

کشت، فعال سازی و تست حساسیت آنتی بیوتیکی

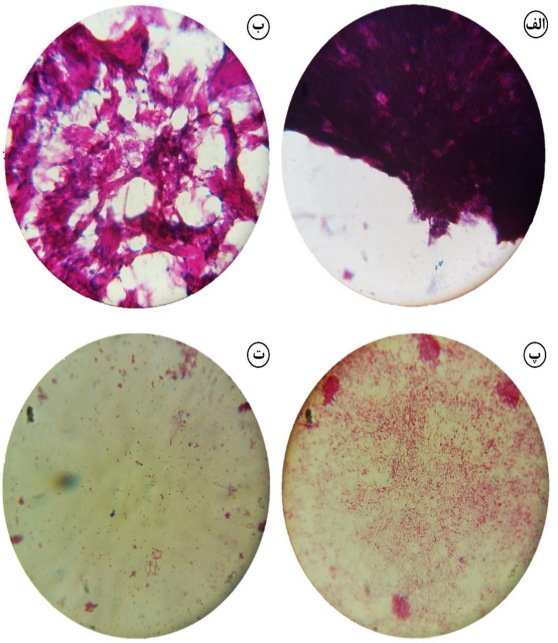
در این پژوهش، از سویه‌های حساس با ژنوتایپ Beijing و سویه‌های مقاوم (MDR-TB و XDR-TB و RR-TB) با ژنوتایپ New-1 استفاده شد. سویه H37Rv (ATCC 27249) به عنوان مرجع انتخاب گردید. تمامی سویه ها از بانک بخش سل و تحقیقات ریوی انستیتو پاستور ایران تأمین شدند. از هر یک از سویه‌ها اسمیر تهیه شد و با رنگ‌آمیزی زیل نلسون و مشاهده نمای طنابی شکل از لحاظ میکروسکوپی تایید شدند.

تست حساسیت دارویی با استفاده از روش تناسبی بر روی محیط Löwenstein-Jensen (LJ) انجام شد تا الگوی مقاومت سویه‌ها تایید شود (۲۷). تست حساسیت دارویی با استفاده از مقادیر استاندارد برای تأیید فنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک های خط اول و دوم به این ترتیب انجام شد: ریفامپیسین (۴۰ µg/mL)، ایزونیازید (۰/۲ µg/mL)، استرپتومایسین (۴ µg/mL)، اتامبوتول (۲ µg/mL)، کانامایسین (۴۰ µg/mL)، آمیکاسین (۳۰ µg/mL)، افلوکساسین (۴ µg/mL) و کاپریومایسین (۴۰ µg/mL) (۲۸). آزمایش‌ها مطابق با دستورالعمل‌های مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC) ایالات متحده آمریکا انجام شدند (۲۹).

ژنوتیپ تمامی سویه‌ها پیش‌تر از طریق توالی‌یابی کل ژنوم مورد بررسی و تایید قرار گرفته بود (۳۰). سویه حساس از ژنوتایپ Beijing و سویه های مقاوم از ژنوتایپ New-1 انتخاب گردید. برای فعال سازی هر یک از سویه ها و انجام ادامه تست‌ها، کشت هر یک از سویه‌های تایید شده از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی در محیط کشت مایع میدل بروک 7H9 (Sigma Aldrich ، سنت لوئیس، میزوری) حاوی ۰/۰۵٪ توئین ۸۰، ۱۰٪ (v/v) اسید اولئیک، آلبومین، دکستروز و کاتالاز (Becton Dickinson، آکسفورد، بریتانیا) انجام گرفت تا هر یک از سویه‌ها در فاز لگاریتمی برای انجام تست‌ها مورد استفاده قرار گیرند. تمامی محیط‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ تا ۲۱ روز انکوبه شدند تا باکتری‌ها به فاز لگاریتمی رشد برسند (۳۱). تایید فاز لگاریتمی با خواندن غلظت در OD با طول موج ۲۶۰ با استفاده از نانودراپ (Thermo scientific, USA) صورت گرفت و تایید عدم آلودگی محیط‌ها هم به صورت ماکروسکوپی با بررسی شفافیت محیط و به صورت میکروسکوپی با رنگ‌آمیزی زیل نلسون که پیشتر توضیح داده شد، انجام گرفت.

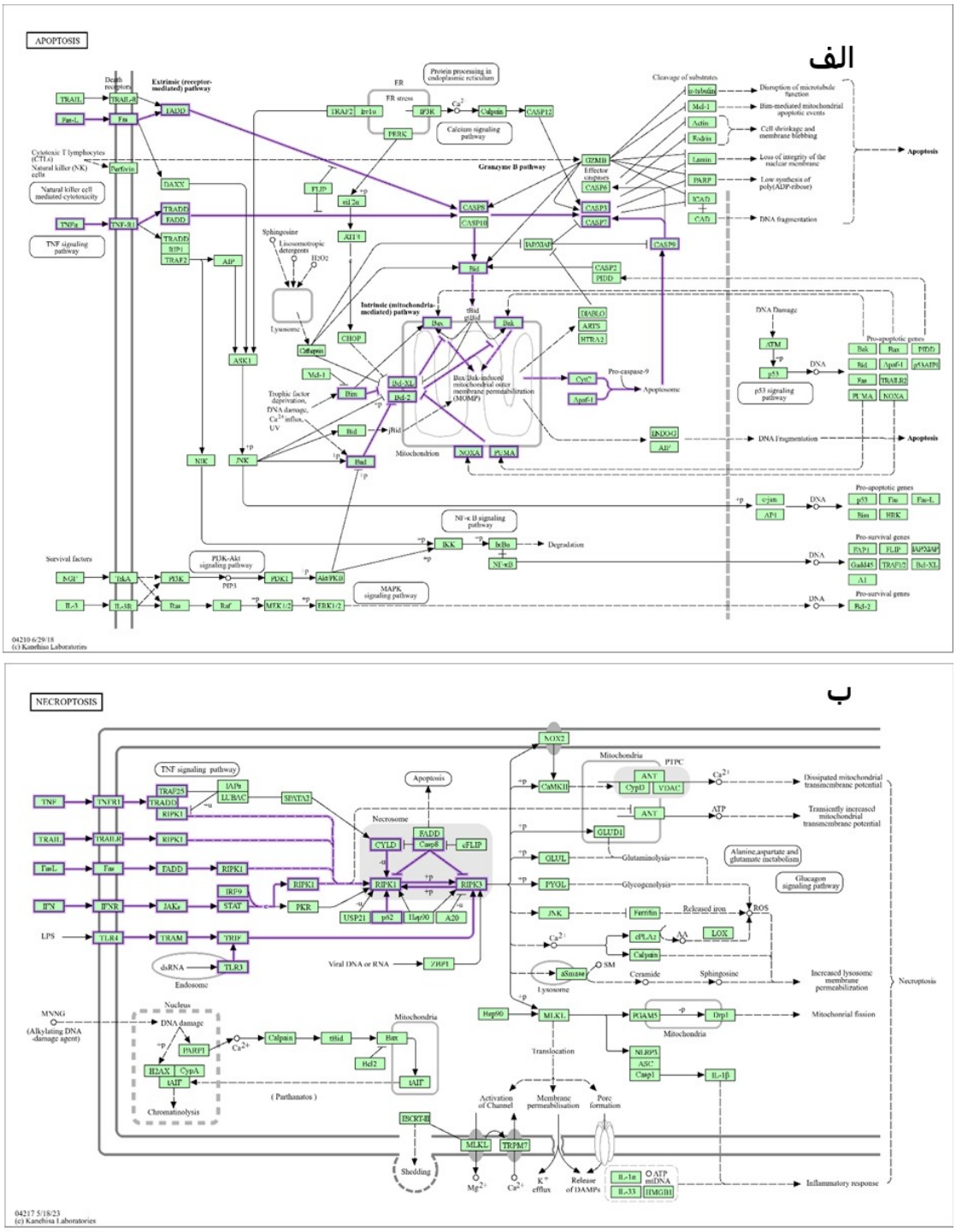
آماده سازی سویه‌ها برای عفونی کردن رده سلولی A549

با توجه به تمایل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس برای تجمع و تشکیل کلامپ، برای عفونی کردن سلول‌ها بر اساس Multiplicity of infection (MOI) لازم است، این ارگانیسم‌ها تا حد ممکن به صورت تک سلولی درآورده شدند. بدین منظور، با استفاده از توین ۸۰ و شستوشو با بافر فسفات سالین (PBS) کلامپ‌های هر یک از سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به حداقل رسیدند. سپس، رقت برابر نیم مک فارلند با استفاده از PBS برای سویه‌های حساس و مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تهیه شد. با رنگ‌آمیزی زیل نلسون کاهش کلامپ‌های سویه‌های مورد مطالعه تایید شد تا عفونی کردن رده سلولی A549 توسط هر یک از سویه‌ها انجام گیرد (شکل ۱).



شکل ۱. نمای میکروسکوپی از روند کاهش کلامپ در سویه‌های مورد مطالعه با استفاده از توین ۸۰؛ الف) نمای میکروسکوپی سلول‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بدون استفاده از توین ۸۰، ب) نمای میکروسکوپی سلول‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از افزودن توین ۸۰ و قبل از تکان دادن شدید با شیکر، پ) نمای میکروسکوپی سلول‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از افزودن توین ۸۰ و پس از تکان دادن شدید، ت) نمای میکروسکوپی سلول‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از افزودن توین ۸۰ و تهیه غلظت نیم مک‌فارلند.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]



شکل ۲. الف) شبکه مسیر مرگ سلولی آپوپتوز و ژن‌های دخیل در این مکانیسم. ب) شبکه مسیر مرگ سلولی نکروپتوزیس و ژن‌های دخیل در این مکانیسم

کشت رده سلولی A549 و عفونی کردن با سویه‌های حساس و مقاوم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*

برای انجام کشت سلولی از استوک رده سلولی اپیتلیال ریه A549 (ATCC CCL-185) اهدایی انستیتو پاستور ایران استفاده شد. این رده سلولی در محیط کشت Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) که با استرپتومایسین، پنی‌سیلین و ۱۰ ٪ سرم جنین گاوی (FBS؛ Gibco، پیزلی، انگلستان) غنی شده بود، در پلیت‌های شش‌خانه‌ای (Sorfa، ژجیانگ، چین) کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵٪ CO2

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

انکوبه گردید. پیش از استفاده در آزمایش‌ها، سلول‌ها با محیط تازه شسته شده، در پلیت‌های شش‌خانه‌ای ریخته شدند و اجازه داده شد تا به ۷۰-۶۰ درصد تراکم برسند. پس از آلوده‌سازی با هر یک از سویه‌های مورد مطالعه (حساس، RR، MDR، XDR و H37Rv) با نسبت باکتری به سلول 1:1 (MOI) در سه تکرار، سلول‌های A549 به مدت دو ساعت انکوبه شدند (۳۲). سلول‌های A549 که به عفونت آلوده نشده بودند، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. پس از این مدت، برای حذف باکتری‌های خارج سلولی، سلول‌های آلوده به‌طور کامل با محیط DMEM شست‌وشو داده شدند. سپس، برای نگهداری سلول های A549 عفونی شده، DMEM حاوی ۱٪ FBS در شرایط ۵٪ CO2 به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت استفاده شد. برای ارزیابی زنده بودن سلول‌های اپیتلیالی آلوده به سویه‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، از تست رنگ‌آمیزی تریپان بلو (Sigma Aldrich، آلمان) بر اساس دستورالعمل‌های سازنده استفاده شد (۳۳). در نهایت، برای تأیید ورود باکتری به داخل سلول‌ها، از روش رنگ‌آمیزی اورامین استفاده شد.

تحلیل بیوانفورماتیک برای انتخاب ژن های مسیرهای مرگ سلولی و التهابی در سلول‌های اپیتلیال آلوده به *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*

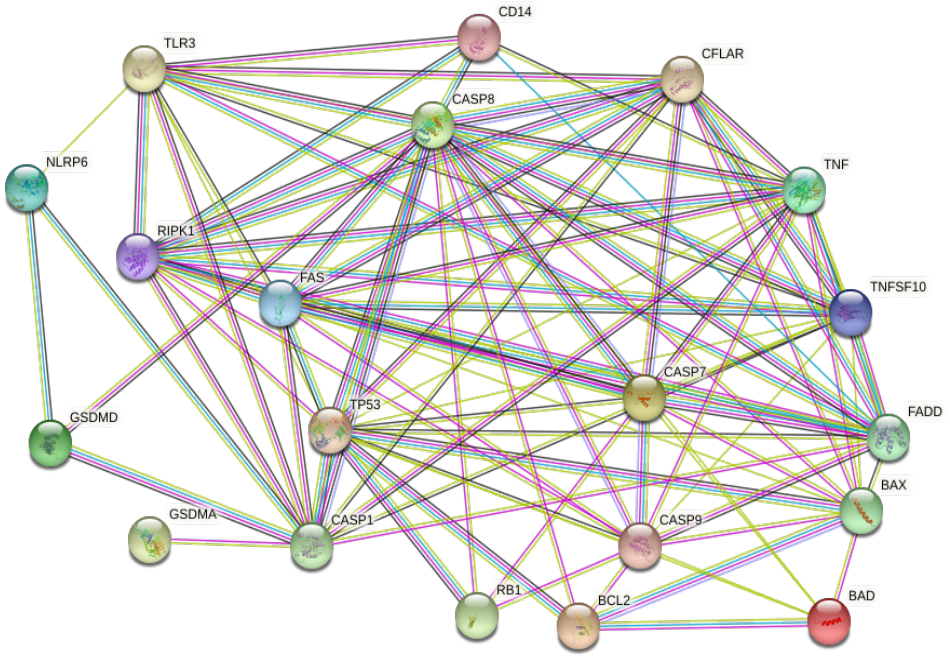
برای انتخاب ژن‌های کلیدی در مسیرهای مرگ سلولی و التهابی، ابتدا مسیرهای موردنظر و عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در انسان از دیتابیس KEGG استخراج شده و با استفاده از پلاگین KeggParser در نرم‌افزار Cytoscape وارد شد. سپس، با اپلیکیشن Centiscape2.2 شاخص‌های مهم شبکه ژنی، نظیر degree، betweenness و closeness تحلیل گردید تا ژن‌های کلیدی هر مسیر مشخص شوند. ژن‌های کلیدی در پایگاه داده String وارد شده و شبکه‌ها ترسیم و تحلیل شدند. در ادامه، با استفاده از Reactome، مسیرهای سلولی مربوطه بررسی شده و ژن‌های منتخب تایید شدند. در نهایت، تمام شبکه‌ها در String رسم و ارتباطات بین ژن‌ها ارزیابی شدند تا ژن‌های اختصاصی و مشترک به دست آیند (شکل‌های ۲ و ۳).

استخراج RNA و سنتز cDNA:

استخراج RNA از سلول‌های عفونی شده با سویه‌های فعال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مورد مطالعه، مطابق پروتکل روش استخراج RNA با ترایزول (شرکت Invitrogen، گرند آیلند، نیویورک، آمریکا) انجام شد. برای تعیین غلظت و کیفیت RNA از اسپکتروفوتومتر نانودراپ (ND-1000؛ Nanodrop Technologies) استفاده گردید. سنتز cDNA نیز با استفاده از کیت پارس طوس (Easy cDNA Synthesis kit, Parstous) انجام گرفت.

بررسی میزان بیان ژن ها با روش qRT-PCR:

برای بررسی میزان بیان ژن‌های نکروز (*FADD* و *RIPK1*)، پیش‌آپوپتوزی (*BAD* و *BAX*)، ضدآپوپتوزی (*BCL2* و *RB1*)،



شکل ۳. شبکه و هاب‌های مهم استخراج شده دخیل در مسیرهای مرگ سلولی

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

سیتوکین‌های پیش‌التهابی (*TNF-α* و *IFN-γ*)، ضد التهابی (*IL10*) و کموکاین‌ها (*IL8* و *MCP1*) با روش qRT-PCR و با استفاده از کیت مسترمیکس سایبرگرین (شرکت زیست فناوری پیشگام، ایران) و دستگاه Roche LightCycler 2.0 انجام شد. برای بررسی معنی‌داری بیان ژن‌های نکروز، آپوپتوز و مسیر التهابی در سلول‌های A549، میزان تغییر بیان هر ژن در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون سلول‌ها بررسی شد. برای هر نمونه، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس سایبرگرین، ۱ میکرولیتر پرایمرهای Forward و Reverse و ۷ میکرولیتر آب استریل استفاده شد. پس از افزودن ۱ میکرولیتر cDNA، حجم نهایی هر نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسید و هر نمونه در سه تکرار آزمایش شد. از ژن *GAPDH* به عنوان ژن خانه دار استفاده شد. برنامه دمایی شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه و سپس ۴۰ چرخه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ مشخص شده است.

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مسیر مرگ سلولی و التهابی مورد بررسی در فاز سلولی

پرایمر	توالی پرایمر	دما (°C)	طول محصول (bp)
BCL2-F	GGTGGGGTCATGTGTGTGG	۵۹	۸۹
BCL- R	CGGTTCAGGTACTCAGTCATCC		
BAD-F	CCCAGAGTTTGAGCCGAGTG	۵۸	۲۴۹
BAD-R	CCCATCCCTTCGTCGTCCT		
BAX-F	CCCGAGAGGTCTTTTTCCGAG	۵۸	۱۵۵
BAX-R	CCAGCCCATGATGGTTCTGAT		
RB1-F	CTCTCGTCAGGCTTGAGTTTG	۵۸	۲۱۴
RB1-R	GACATCTCATCTAGGTCAACTGC		
RIPK1-F	GGGAAGGTGTCTCTGTGTTTC	۵۹	۹۱
RIPK1-R	CCTCGTTGTGCTCAATGCAG		
FADD-F	GTGGCTGACCTGGTACAAGAG	۵۸	۹۶
FADD-R	GGTAGATGCGTCTGAGTTCCAT		
TNFα-F	AGCCCATGTTGTAGCAAACC	۵۵	۱۳۴
TNFα-R	TGAGGTACAGGCCCTCTGAT		
IL-8-F	TGCCAAGGAGTGCTAAAG	۵۸	۱۹۷
IL-8-R	CTCCACAACCCTCTGCAC		
IL-10-F	GCTGTCATCGATTTCTTCCC	۵۵	۱۰۳
IL-10-R	CTCATGGCTTTGTAGATGCCT		
IFNG-F	TCGGTAACTGACTTGAATGTCCA	۵۸	۹۳
IFNG-R	TCGCTTCCCTGTTTTAGCTGC		
MCP1-F	CAGCCAGATGCAATCAATGCC	۵۸	۱۹۰
MCP1-R	TGGAATCCTGAACCCACTTCT		
GAPDH F	GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	۵۸	۱۹۷
GAPDH R	GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG		

بررسی‌های آماری

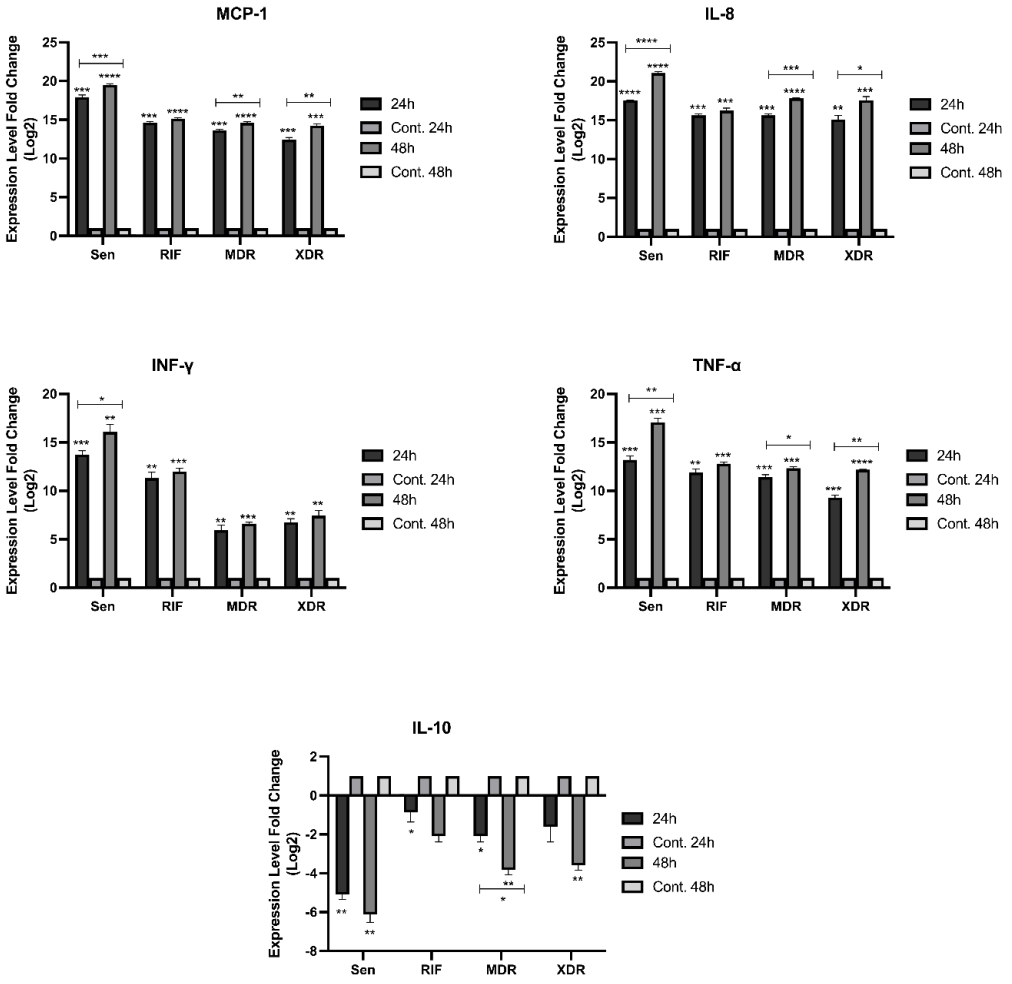
بررسی نسبت تغییر بیان ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام گرفت و داده‌های حاصل با نرم افزار GraphPad Prism 10 آنالیز شدند. نسبت تغییر بیان ژن با مقایسه بیان نسبی ژن مورد نظر بین گروه کنترل و گروه تست محاسبه شد (۳۴). از لحاظ آماری، داده‌ها با تست ناپارامتری من‌ویتنی بررسی شد و معنی‌داری داده‌های آماری با $p<0/05$ مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه آماری برای تعیین تفاوت بین گروه‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس ناپارامتری Kruskal-Wallis تعیین شدند.

یافته‌ها

تغییر بیان ژن‌های مسیر التهابی القا شده توسط توسط سویه های حساس و مقاوم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*

مسیرهای التهابی نقش مهمی در کنترل یا شدت بیماری سل دارند. به همین دلیل، ژن‌های مختلفی از کموکاین‌ها و سایتوکاین‌ها در تنظیم این مسیرهای التهابی نقش دارند؛ در این مطالعه، ژن‌هایی مانند IL8، MCP1، IFN-γ، TNF-α و IL10 مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۴). در پاسخ به تمامی سویه‌های حساس و مقاوم، افزایش معنی‌داری در بیان IL8 (حساس [p<0.0001; p<0.0001]، مقاوم به ریفامپین [p=0.0001; p=0.0004]، MDR [p=0.0001; p<0.0001]، XDR [p=0.001; p=0.0007])، MCP1 (حساس [p=0.0002; p<0.0001]، مقاوم به ریفامپین [p=0.0001; p<0.0001]، MDR [p=0.0002; p<0.0001]، XDR [p=0.0005; p=0.0003])، IFN-γ (حساس [p=0.0008; p=0.002]، مقاوم به ریفامپین [p=0.002; p=0.0008]، MDR [p=0.008; p=0.0005]، XDR [p=0.002; p=0.005])، TNF-α (حساس [p=0.0008; p=0.0006]، مقاوم به ریفامپین [p=0.001; p=0.0001]، MDR [p=0.0005; p=0.0001]، XDR [p=0.0007; p<0.0001])، به‌ترتیب پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از عفونت سلول‌های A549 مشاهده شد. در مقابل، بیان IL10 در پاسخ به عفونت سلول‌های A549 توسط سویه‌های حساس [p=0.002; p=0.004]، مقاوم به ریفامپین [p=0.2; p=0.01]، MDR [p=0.01; p=0.004] و XDR [p=0.1; p=0.004] با سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از عفونت به‌طور معناداری کاهش یافت. بیان این ژن‌های کموکاین و سایتوکاین در پاسخ به ژنوتیپ‌ها نیز قابل توجه بود. ژنوتیپ Beijing (ایزوله حساس) پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از عفونت، به‌طور معناداری باعث افزایش و کاهش بیان این ژن‌ها شد، در حالی که سویه‌های دارای ژنوتیپ New-1 (شامل مقاوم به ریفامپین، MDR و XDR) تأثیر کمتری داشتند.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]



شکل ۴. تغییر بیـان ژن‌هـای کمـوکین (MCP1 و IL8) و سـیتوکین (TNF-α، IFN-γ و IL10) مـورد مطالعـه در سـلول‌های A549 عفونی شده با سویه‌های حساس و مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت

از طرفی، مقایسه تفاوت بیان ژن‌های مسیر التهابی در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی (شکل ۴)، تفاوت معنی‌داری در بیان ژن کموکاین *IL8* را در پاسخ به سویه‌های حساس MDR (rank of difference: -3.5; p= 0.00004)، XDR (rank of difference: -2.2; p= 0.0002) و در رده سلولی اپیتلیال A549 (difference: -2.4; p= 0.02) آلوده نشان داد. تغییر بیان در پاسخ به سویه RR (rank of difference: -0.61; p= 0.1) با مقایسه زمان‌های انکوباسیون مشاهده شد که معنادار نبود. تفاوت بیان معنادار در ژن *MCP1* در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعته انکوباسیون سلول های A549 عفونی شده در پاسخ به تمام سویه‌های حساس (rank of difference: -1.55; p= 0.008) و مقاوم (rank of difference: -0.97; p= 0.01) MDR و XDR (rank of difference: -1.8; p= 0.008) بجز RR مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مشاهده شد. تفاوت بیان معنی-داری در بیان ژن ضدالتهابی *IL10* و ژن‌های پیش التهابی *IFN-γ* و *TNF-α* در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعته انکوباسیون در پاسخ به بیشتر سویه‌های حساس و مقاوم مورد ارزیابی مشاهده شد. به عبارتی، در پاسخ به سویه حساس تفاوت بیان معنی‌داری در ژن‌های *IFN-γ* (rank of difference: -2.33; p= 0.05) و *TNF-α* (rank of difference: -3.86; p= 0.002) در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون مشاهده شد. علاوه بر این، تفاوت بیان معنادار بین زمان های انکوباسیون در بیان ژن *TNF-α* در سویه‌های مقاوم

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

XDR و MDR (rank of difference: -0.91; p= 0.03) (rank of difference: -2.88; p= 0.0002) مورد توجه قرار گرفت. پاسخ به سایر سویه‌های مقاوم مثل RR (rank of difference: -0.66; p= 0.3)، MDR (rank of difference: -0.66; p= 0.2) و XDR (rank of difference: -0.66; p= 0.3) نشان دهنده تغییر بیان ژن *IFN-γ* بین زمان های انکوباسیون بود. در مورد ژن *TNF-α* هم تغییر بیان در پاسخ به سایر سویه‌های مورد مطالعه از جمله RR (rank of difference: -0.91; p= 0.09) در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون مشاهده شد. مقایسه زمان های انکوباسیون در بیان ژن سایتوکاین ضدالتهابی *IL10* نشان داد که تغییر بیان معنی‌داری در پاسخ به سویه MDR (rank of difference: 1.72; p= 0.01) وجود دارد. در حالی که، در پاسخ به سایر سویه‌های حساس (rank of difference: 1.02; p= 0.09)، RR (rank of difference: 1.22; p= 0.1) و XDR (rank of difference: 1.98; p= 0.07) به صورت معنی‌دار تغییر بیان بین زمان‌های مختلف انکوباسیون گزارش نشد.

تغییر بیان ژن‌های مسیر مرگ سلولی القا شده توسط سویه های حساس و مقاوم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*

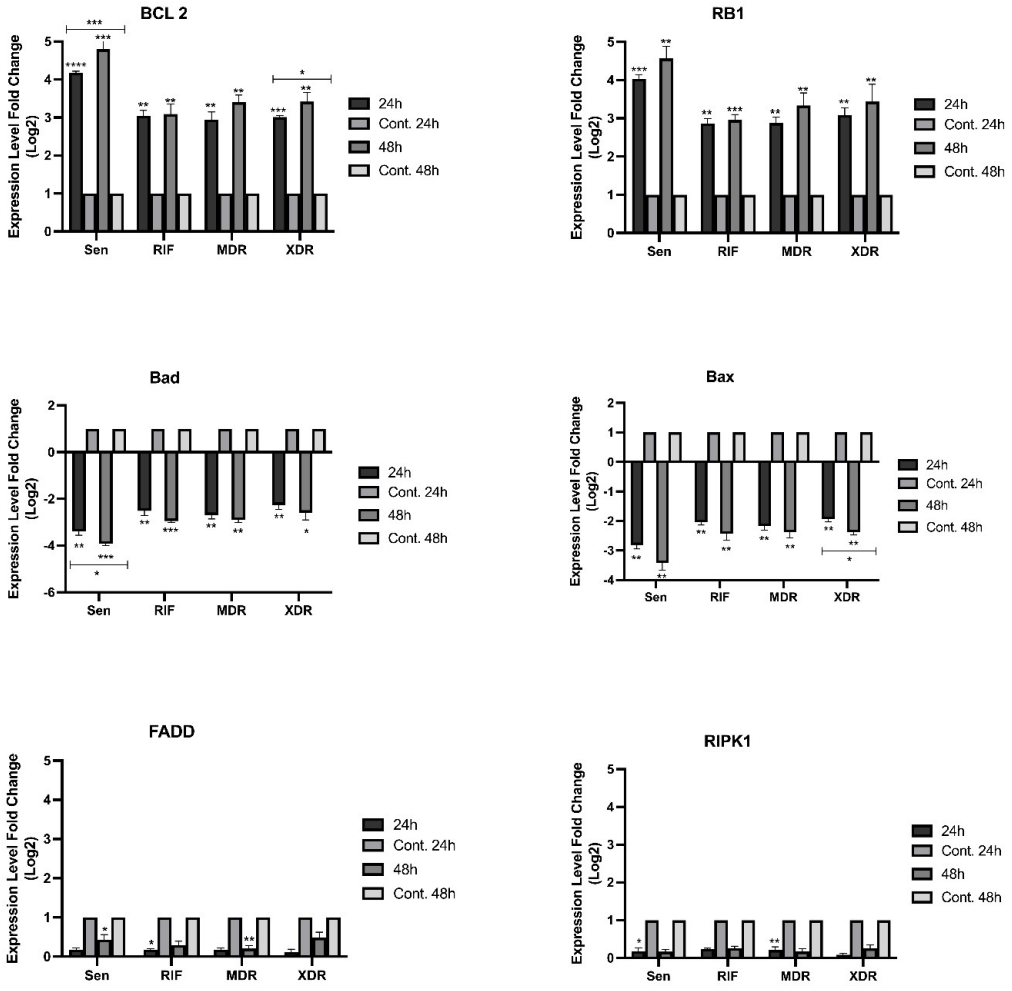
پس از عفونت توسط تمامی سویه‌های حساس و مقاوم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، بیان ژن‌های *BCL2* و *RB1* به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در حالی که بیان ژن‌های *BAD* و *BAX* به‌طور معنی‌داری پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از عفونت کاهش نشان داد، همچنین در ژن‌های مرتبط با نکروز (*FADD* و *RIPK1*) تغییر بیان معنی‌داری دیده نشد (شکل ۵). علاوه بر این، ژنوتیپ‌ها نیز بر رونویسی ژن‌های پرو آپوپتوتیک و ضد آپوپتوتیک تأثیر داشتند. در مقایسه با سویه‌های دارای ژنوتیپ New-1 (شامل مقاوم به ریفامپین، MDR و XDR)، ژنوتیپ Beijing (ایزوله حساس) باعث افزایش و کاهش قابل‌توجه در بیان ژن‌های ضد آپوپتوتیک (*BCL2* و *RB1*) و پرو آپوپتوتیک (*BAD* و *BAX*) پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از عفونت شد. به طور جزئی‌تر، افزایش بیان *BCL2* (حساس [p<0.0001; p=0.0007]؛ مقاوم به ریفامپین [p=0.002; p=0.002]؛ MDR [p=0.004; p=0.001]؛ XDR [p=0.0001; p=0.001]) و *RB1* (حساس [p=0.0006; p=0.001]؛ مقاوم به ریفامپین [p=0.001; p=0.0007]؛ MDR [p=0.002; p=0.003]؛ XDR [p=0.003; p=0.005]) در سلول‌های A549 عفونی‌شده با تمامی ایزوله‌های حساس و مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت عفونت، به‌ترتیب، مشاهده شد. از سوی دیگر، کاهش بیان *BAD* (حساس [p=0.002; p=0.0005]؛ مقاوم به ریفامپین [p=0.006; p=0.0005]؛ MDR [p=0.003; p=0.001]؛ XDR [p=0.0075; p=0.01]) و *BAX* (حساس [p=0.002; p=0.004]؛ مقاوم به ریفامپین [p=0.002; p=0.008]؛ MDR [p=0.004; p=0.006]؛ XDR [p=0.002; p=0.002]) در پاسخ به تمامی سویه‌های حساس و مقاوم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، به‌ترتیب پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از عفونت مشاهده شد. همچنین، در ژن های نکروز *FADD* (حساس [p=0.1; p=0.01]؛ مقاوم به ریفامپین [p=0.1; p=0.02]؛ MDR [p=0.1; p=0.2]؛ XDR [p=0.2; p=0.008]) و *RIPK1* (حساس [p=0.1; p=0.01]؛ مقاوم به ریفامپین [p=0.1; p=0.2]؛ MDR [p=0.2; p=0.002]؛ XDR [p=0.2; p=0.1]) افزایش یا کاهش بیان معنی‌داری دیده نشد.

مقایسه تفاوت بیان ژن‌های مسیر آپوپتوز در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی(شکل ۵)، تفاوت معنی‌داری در بیان *BCL2* را در سویه‌های حساس (rank of difference: - 0.62; p= 0.009) و XDR (rank of difference: - 0.4; p= 0.04) در رده سلولی اپیتلیال A549 آلوده نشان داد. همچنین، تفاوت معنی‌داری در بیان *BCL2* در پاسخ به عفونی شدن رده سلولی A549 با سویه MDR (rank of difference: -0.46; p= 0.1) در ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون مشاهده نشد. بیان ژن *RB1* در پاسخ به سویه حساس (rank of difference: -0.53; p= 0.06)، RR (rank of difference: -0.09; p= 0.5)، MDR (rank of difference: -0.45; p= 0.1) و XDR (difference: -0.35; p= 0.3) در ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون دیده شد که معنی‌دار نبود. علاوه براین، سلول‌های A549 عفونی شده با سویه حساس کاهش بیان معناداری در ژن *BAD* (rank of difference: 0.53; p= 0.04) در مقایسه زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از انکوباسیون را نشان داد. به طور مشابه، کاهش معنی‌دار بیان ژن *BAX* (rank of difference: 0.44; p= 0.04) در پاسخ به سویه XDR پس از زمان‌های انکوباسیون مشاهده شد. بیان ژن *BAD* در پاسخ به سایر سویه‌های مورد مطالعه از جمله RR (rank of difference: 0.43; p= 0.1)، MDR (rank of difference: 0.21; p= 0.3)

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]



شکل ۵. تغییر بیان ژن‌های پرو آپوپتوتیک (BAD و BAX) و آنتـی آپوپتوتیـک (BCL2 و RB1) و نکـروز (FADD و RIPK1) مـورد مطالعه در سلول‌های A549 عفونی شده با سویه‌های حساس و مقاوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت

و XDR (rank of difference: 0.33; p= 0.3) هم گزارش گردیدکه معنی‌دار نبودند. به طور مشابه، تفاوت بیان ژن معنی‌دار *BAX* در پاسخ به سویه حساس (rank of difference: 0.61; p= 0.08)، RR (rank of difference: 0.39; p= 0.1) و MDR (rank of difference: 0.2; p= 0.4) پس از ۲۴ و ۴۸ ساعته انکوباسیون مشاهده نشد.

بحث

یک راهکار مهم برای کنترل عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، مطالعه برهمکنش‌های میزبان-باکتری برای شناسایی شاخصه‌های مولکولی میزبان است. با دستکاری مسیرهای مرگ سلولی و التهابی، سلول‌های اپیتلیال ریه نقش مهمی در شروع تعاملات میزبان با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارند. مشخص نیست که چگونه این دو مسیر در طول عفونت سل با سویه های مختلف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به دارو تعامل دارند. در مسیر آپوپتوز، پروتئین های Bcl-2 نقش مهمی را به عنوان یک نقطه کنترلی درون سلولی ایفا می کنند (۳۵). این مسیر شامل اعضایی است که پروآپوپتوتیک و ضد آپوپتوز هستند و در پاسخ های التهابی نقش دارند. زمانی که ژن های پروآپوپتوتیک و ضد آپوپتوز بیان می شوند، چندین محرک مرگ سلولی، از جمله ترشح سیتوکین ها، بر سطح التهابی پاسخ های سیستم ایمنی تأثیر می گذارند (۳۶). با توجه به یافته های مربوط به عفونت سل، عوامل باکتریایی با فعال کردن اجزای خاص مسیرهای آپوپتوز، تعدیل کشتن

مایکوباکتری‌های داخل سلولی و تحریک ایمنی تطبیقی، آپوپتوز سلول میزبان را القا می‌کنند (۳۷). با این حال، بسته به ژنوتیپ یا مقاومت سویه درگیر، ممکن است وضعیت‌های مختلفی وجود داشته باشد (۳۸, ۳۹). اکنون این موضوع پذیرفته شده است که برخی زیرگروه‌ها یا حتی رده‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به دلیل ساختار جمعیتی سل، از اهمیت بالینی بیشتری نسبت به سایرین برخوردارند (۴). به منظور درک پاتوژنز سل و کنترل موثر سل، ممکن است درک تعاملات میزبان با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مفید باشد (۴۰). این مطالعه با هدف تعیین سطح بیان ژن های پرو آپوپتوتیک، ضد آپوپتوز، نکروز، سیتوکین و کموکاین در سلول های اپیتلیال آلوئولی (A549) آلوده به سویه های مقاوم و حساس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (H37Rv، حساس، مقاوم به ریفامپین، MDR و XDR) انجام شد.

نتایج نشان داد که عفونت توسط همه سویه های حساس و مقاوم در ارتباط با افزایش قابل توجهی در بیان ژن های ضد آپوپتوز (*BCL2* و *RB1*)، کموکاین ها (*IL8* و *MCP1*) و سایتوکاین های پیش التهابی (*IFN-γ* و *TNF-α*) است. در حالی که، کاهش قابل توجهی در ژن‌های پیش آپوپتوز (*BAD* و *BAX*) و ژن ضد التهابی (*IL10*) پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از عفونت مشاهده شد. علاوه بر مقاومت سویه‌های مورد بررسی، ژنوتیپ‌های سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس نیز بر بیان ژن‌های فوق‌الذکر تأثیر گذاشتند. در مقایسه با سویه‌های دارای ژنوتیپ New-1 (سویه های مقاوم به ریفامپین، MDR و XDR)، ژنوتیپ Beijing (سویه حساس) تغییر بیان ژن‌های التهابی و آپوپتوز ذکر شده را با شدت بیشتری القا کرند. بر اساس برخی شواهد، سویه‌های با ژنوتیپ Beijing با قابلیت حدت قوی‌تر و پاسخ پیش التهابی مرتبط هستند (۴۱). سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با توانایی کم در ایجاد بیماری، سلول‌های میزبان را تحریک می‌کنند تا تحت تاثیر آپوپتوز قرار گیرند و در نتیجه یک پوشش غیرقابل نفوذ ایجاد می‌شود که از گسترش باکتری‌ها جلوگیری می‌کند (۴۲). این فرآیند منجر به مهار و کشتن باکتری ها و همچنین فعال سازی سریع سلول های سیستم ایمنی می شود. برخلاف این، سویه‌های مایکوباکتری‌های با حدت بیشتر، مانند ژنوتیپ Beijing، قادر به القای سریع آپوپتوز نیستند و سلول‌های میزبان را غالبا با نکروز از بین می‌برند و در نتیجه یک غشای سلولی نفوذپذیر ایجاد می‌کنند که باکتری‌ها را قادر می‌سازد تا فرار کرده و گسترش یابند (۲۲, ۴۲, ۴۳). بنابراین، یکی از عوامل اصلی که به کشنده بودن و حدت بیشتر این پاتوژن کمک می کند، توانایی آن در دستکاری محیط داخلی سلول ها، به ویژه سلول های اپیتلیال آلوئولی است. این سلول ها به عنوان یک جایگاه مطلوب برای بقا و رشد درون سلولی این باکتری های مهاجم عمل می کنند (۴۲). اعتقاد بر این است که سلول های اپیتلیال مهم ترین سلول های تولید کننده کموکاین ها و سیتوکین ها در طول عفونت سل هستند، که پاسخ های التهابی موضعی را القا می کنند و همچنین بر مسیرهای آپوپتوز تأثیر می گذارند (۴۴, ۴۵). در طول عفونت سل، IL-8 بسیار ترشح شده که با بیان بیش از حد ژن‌های *BAD* و *BAX* در سلول‌های میزبان باعث التهاب می‌شود (۴۶). آپوپتوز همچنین توسط MCP-1 از طریق گیرنده های سنجش کننده CaSR و پروتئین MCPIP1 تنظیم می شود (۴۷). از طرفی، TNF-α فعالیت کاسپازها را افزایش داده و ژن های پرو آپوپتوز *BAD* و *BAX* را القا می کند (۴۸).

نشان داده شده است که سلول‌های A549 ژن‌های پروآپوپتوز (*BAD*، *BAX* و *FAS*) را بیان می‌کنند و در حضور IFN-γ و فعال شدن مسیرهای آپوپتوز، تحت آپوپتوز قرار می‌گیرند (۴۹). از طریق مکانیسم وابسته به STAT3، IL-10 همچنین به القای آپوپتوز در سلول ها کمک می کند (۵۰). در مجموع، ژن های سیتوکین و کموکاین برای دفاع اولیه در برابر عفونت ناشی از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ضروری هستند. نشان داده شده است که افزایش بیان ژن سیتوکین ها و کموکاین ها معمولاً در سویه هایی دیده می شود که بیماری زایی کمتری دارند (۲۱). البته باید توجه داشت که این موضوع که آیا سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم‌تر بیماری‌زا هستند یا نه، هنوز در مورد این پاتوژن مورد بحث است (۲۳). شکی نیست که ژنوتیپ‌های خاصی از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، به ویژه ژنوتیپ Beijing، به‌طور بالقوه بیماری‌زایی بالاتری نسبت به سایر سویه ها نشان می‌دهند (۵۱).

علاوه بر مسیر آپوپتوز، مسیر نکروز نیز ممکن است در مراحل عفونت توسط مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دخیل باشد. با این حال، در مطالعه حاضر تغییر بیان معناداری در ژن‌های مرتبط با نکروز (*FADD* و *RIPK1*) مشاهده نشد که ممکن است نشان‌دهنده عدم فعال‌سازی این مسیر در مراحل اولیه عفونت باشد. این یافته‌ها با مطالعاتی که نشان داده‌اند سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از نکروز برای گسترش عفونت و فرار از پاسخ‌های ایمنی استفاده می‌کنند، مطابقت دارد (۱۹). نتایج ما نشان می‌دهد این مسیر ممکن است در مراحل اولیه عفونت سل کمتر فعال شود. بر اساس شواهد، به نظر می‌رسد سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به جای نکروز، آپوپتوز را

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

به عنوان یک مکانیسم مرگ سلولی در مراحل اولیه تحریک می‌کنند (۲۲).

علیرغم این واقعیت که عوامل مختلف به تعادل بین بقای مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در داخل سلول، تولید مثل و انتقال آن کمک می کنند، هنوز درک بسیار کمی از نحوه عملکرد مکانیسم های بیماری زا وجود دارد. به طور کلی، توانایی سویه های مختلف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس برای حفظ این تعادل در سلول (بقا، تولید مثل درون سلولی و انتقال) برای تعیین پتانسیل بیماری زایی آن ها استفاده می شود (۲۳). همچنین تصور می شود که القای این حالت تعادل در ارتباط بین توانایی بیماری زایی سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با مقاومت آنتی بیوتیکی است. عملکرد آنتی بیوتیک ها ارتباط نزدیکی با هدف قرار دادن نقاط کلیدی بقای ارگانیسم دارد. این موارد شامل سنتز دیواره های سلولی، تنظیم تکثیر ژنوم، رونویسی و ترجمه پروتئین ها است (۵۲). با توجه به این واقعیت که بیشتر مکانیسم های پشت سر مقاومت آنتی بیوتیکی به کاهش رشد و تکثیر مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و همچنین افزایش زمان تقسیم مربوطه می شود، این احتمال وجود دارد که برخی از سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک ها توانایی حفظ این وضعیت را نداشته باشند (۵۳). اساساً، سویه‌های مختلف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ممکن است سرعت رشد و ویژگی‌های بیماری‌زایی متفاوتی داشته باشند، صرف نظر از اینکه آیا الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارند یا خیر (۲۳). با وجود این، مهم است که توجه شود که در برخی از سویه‌های مقاوم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، جهش‌های اضافی ممکن است به این معنی باشد که آنها قادر به جبران جهش‌های رخ داده و حفظ این تعادل هستند، در نتیجه بیماری‌زایی خود را افزایش می‌دهند (۵۳).

نتیجه گیری

در نتیجه، تفاوت در نحوه بیان ژن ها در رابطه با مسیرهای مرگ سلولی و التهابی مورد بررسی در مطالعه حاضر، احتمالاً به دلیل ژنوتیپ این سویه ها است تا وضعیت مقاومت آنها، زیرا در مورد بیشتر ژن ها، بیان این ژن ها در سویه‌های مقاوم (مقاوم به ریفامپین، MDR و XDR) متعلق به ژنوتیپ New-1 در مقایسه با سویه‌های حساس (متعلق به ژنوتیپ Beijing) کمتر بود. از سوی دیگر، عدم مشاهده افزایش یا کاهش بیان معنا دار ژن های مرگ سلولی نکروز میتواند نشانگر عدم فعالسازی این مسیر در مراخل اولیه عفونت به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس باشد. با توجه به این موضوع، مطالعات بیشتری برای درک دیدگاه‌های عمیقتر از ارتباط بین آپوپتوز، نکروز و مسیرهای التهابی و مکانیسم‌های درگیر که هنوز در رابطه با نقش آنها در عفونت سل و همچنین مکانیسم‌های احتمالی درگیر شناسایی نشده‌اند، ضروری است. در درازمدت، چنین مطالعاتی به توسعه درمان‌های کارآمدتر و مؤثرتر برای عفونت سل کمک می‌کند و در نتیجه بار جهانی این بیماری را کاهش می‌دهد. بنابراین، برای به دست آوردن درک عمیق تر از بیماری سل و نحوه انتقال آن، ارزیابی تعاملات میزبان و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تحت شرایط مختلف عفونت سل می تواند از اهمیت قابل توجهی برخوردار باشد.

REFERENCES

1. Natarajan A, Beena P, Devnikar AV, Mali S. A systemic review on tuberculosis. Indian J Tuberc 2020;67:295-311.

2.World Health Organization. Global tuberculosis report 2024. Geneva: WHO; 2025. [Available from: https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024]

3.Park M, Satta G, Kon OM. An update on multidrug-resistant tuberculosis. Clin Med 2019;19:135-9.

4.Ferdosnejad K, Sholeh M, Abdolhamidi R, Soroush E, Siadat SD, Tarashi S. The occurrence rate of Haarlem and Beijing genotypes among Middle Eastern isolates of multi drug resistant Mycobacterium tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. Respir Investig 2024;62:296-304.

5.Bialvaei AZ, Asgharzadeh M, Aghazadeh M, Nourazarian M, Kafil HS. Challenges of tuberculosis in Iran. Jundishapur J Microbiol 2017;10:e37866.

6.Torkaman MRA, Nasiri MJ, FaRnia P, Shahhosseiny MH, Mozafari M, Velayati AA. Estimation of recent transmission of Mycobacterium tuberculosis strains among Iranian and Afghan immigrants: A cluster-based study. J Clin Diagn Res 2014;8:DC05-8.

7.Ferdosnejad K, Zamani MS, Soroush E, Fateh A, Siadat SD, Tarashi S. Tuberculosis and lung cancer: metabolic pathways play a key role. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2024:1-20.

8.Iran MoHo. Ministry of Health of Iran. National Center for Tuberculosis and Leprosy Control web site 2017. Available from: http://tb-lep.behdasht.gov.ir/TB_HIV_Situation_in_Iran.aspx.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

9.Kim JK, Silwal P, Jo E-K. Host-pathogen dialogues in autophagy, apoptosis, and necrosis during mycobacterial infection. Immune Netw 2020;20:e37.

10.Tarashi S, Omrani MD, Moshiri A, Fateh A, Siadat SD, Fuso A. The correlation of microbiota and host epigenome in tuberculosis. In: Rezaei N, ed. Tuberculosis. Integrated Studies for a Complex Disease. SpringerLink; 2023. p. 977-1002.

11.Ekert PG, Vaux DL. Apoptosis and the immune system. Br Med Bull 1997;53:591-603.

12.Opferman JT, Korsmeyer SJ. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. Nat Immunol 2003;4:410-5.

13.Walker N, Harmon B, Gobe G, Kerr J. Patterns of cell death. Methods Achiev Exp Pathol 1988;13:18-54.

14.Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. Oncogene 2003;22:8590-607.

15.MacFarlane M, Williams AC. Apoptosis and disease: a life or death decision. EMBO Rep 2004;5:674-8.

16.Berghe TV, Linkermann A, Jouan-Lanhouet S, Walczak H, Vandenabeele P. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. Nat Rev Mol Cell Biol 2014;15:135-47.

17.Rello S, Stockert J, Moreno V, Gamez A, Pacheco M, Juarranz A, et al. Morphological criteria to distinguish cell death induced by apoptotic and necrotic treatments. Apoptosis 2005;10:201-8.

18.Flores-Romero H, Ros U, Garcia-Saez AJ. Pore formation in regulated cell death. EMBO J 2020;39:e105753.

19.Danelishvili L, McGarvey J, Li Yj, Bermudez LE. Mycobacterium tuberculosis infection causes different levels of apoptosis and necrosis in human macrophages and alveolar epithelial cells. Cell Microbiol 2003;5:649-60.

20.Keane J, Balcewicz-Sablinska MK, Remold HG, Chupp GL, Meek BB, Fenton MJ, et al. Infection by Mycobacterium tuberculosis promotes human alveolar macrophage apoptosis. Infect Immun 1997;65:298-304.

21.Mvubu NE, Pillay B, McKinnon LR, Pillay M. Mycobacterium tuberculosis strains induce strain-specific cytokine and chemokine response in pulmonary epithelial cells. Cytokine 2018;104:53-64.

22.Keane J, Remold HG, Kornfeld H. Virulent Mycobacterium tuberculosis strains evade apoptosis of infected alveolar macrophages. J Immunol 2000;164:2016-20.

23.Zhan L, Wang J, Wang L, Qin C. The correlation of drug resistance and virulence in Mycobacterium tuberculosis. Biosafety and Health 2020;2:18-24.

24.Rezaei N, Hosseini N-S, Saghazadeh A, Fateh A, Duse A, Ahmad A, et al. Tuberculosis: integrated studies for a complex disease 2050. SpringerLink; 2023. P.1063-98.

25.Schroeder M, Brooks BD, Brooks AE. The complex relationship between virulence and antibiotic resistance. Genes 2017;8:39.

26.Lam A, Prabhu R, Gross CM, Riesenberg LA, Singh V, Aggarwal S. Role of apoptosis and autophagy in tuberculosis. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2017;313:L218-L29.

27.van Klingeren B, Dessens-Kroon M, van der Laan T, Kremer K, van Soolingen D. Drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex by use of a high-throughput, reproducible, absolute concentration method. J Clin Microbiol 2007;45:2662-8.

28.Woods GL, Brown-Elliott BA, Conville PS, Desmond EP, Hall GS, Lin G, et al. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes [Internet]. 2nd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011 Mar. Report No.: M24-A2.

29.Association NT. Diagnostic standards and classification of tuberculosis. New York: National tuberculosis association; 1940.

30.Vaziri F, Kohl TA, Ghajavand H, Kargarpour Kamakoli M, Merker M, Hadifar S, et al. Genetic diversity of multi- and extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in the capital of Iran, revealed by whole-genome sequencing. J Clin Microbiol 2019;57: e01477-18.

31.Caceres N, Vilaplana C, Prats C, Marzo E, Llopis I, Valls J, et al. Evolution and role of corded cell aggregation in Mycobacterium tuberculosis cultures. Tuberculosis 2013;93:690-8.

32.Sequeira PC, Senaratne RH, Riley LW. Inhibition of toll-like receptor 2 (TLR-2)-mediated response in human alveolar epithelial cells by mycolic acids and Mycobacterium tuberculosis mce1 operon mutant. Pathog Dis 2014;70:132-40.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]

[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]

33.Louis KS, Siegel AC. Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods. Methods Mol Biol 2011;740:7-12.

34.Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2−ΔΔCT method. Methods 2001;25:402-8.

35.Danial NN. BCL-2 family proteins: critical checkpoints of apoptotic cell death. Clin Cancer Res 2007;13:7254-63.

36.Schmidt E, Tuder R. Role of apoptosis in amplifying inflammatory responses in lung diseases. J Cell Death 2010;3:41-53.

37.Srinivasan L, Ahlbrand S, Briken V. Interaction of Mycobacterium tuberculosis with host cell death pathways. Cold Spring Harb Perspect Med 2014;4:a022459.

38.Abdalla AE, Ejaz H, Mahjoob MO, Alameen AAM, Abosalif KOA, Elamir MYM, Mousa MA. Intelligent mechanisms of macrophage apoptosis subversion by mycobacterium. Pathogens 2020;9:218.

39.Tarashi S, Fateh A, Mirsaeidi M, Siadat SD, Vaziri F. Mixed infections in tuberculosis: the missing part in a puzzle. Tuberculosis 2017;107:168-74.

40.Tarashi S, Badi SA, Moshiri A, Nasehi M, Fateh A, Vaziri F, et al. The human microbiota in pulmonary tuberculosis: Not so innocent bystanders. Tuberculosis 2018;113:215-21.

41.Tong J, Meng L, Bei C, Liu Q, Wang M, Yang T, et al. Modern Beijing sublineage of Mycobacterium tuberculosis shift macrophage into a hyperinflammatory status. Emerg Microbes Infect 2022;11:715-24.

42.Porcelli SA, Jacobs Jr WR. Tuberculosis: unsealing the apoptotic envelope. Nat Immunol 2008;9:1101-2.

43.Behar SM, Divangahi M, Remold HG. Evasion of innate immunity by Mycobacterium tuberculosis: is death an exit strategy? Nat Rev Microbiol 2010;8:668-74.

44.Lin Y, Zhang M, Barnes PF. Chemokine production by a human alveolar epithelial cell line in response to Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun 1998;66:1121-6.

45.Guiedem E, Pefura-Yone EW, Ikomey GM, Nkenfou CN, Mesembe M, Yivala MM, et al. Cytokine profile in the sputum of subjects with post-tuberculosis airflow obstruction and in those with tobacco related chronic obstructive pulmonary disease. BMC Immunol 2020;21:1-11.

46.Alemán M, Garcia A, Saab MA, De La Barrera SS, Finiasz M, Abbate E, et al. Mycobacterium tuberculosis–induced activation accelerates apoptosis in peripheral blood neutrophils from patients with active tuberculosis. Am J Respir Cell Mol Biol 2002;27:583-92.

47.Zhang W, Zhu T, Chen L, Luo W, Chao J. MCP-1 mediates ischemia-reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis via MCPIP1 and CaSR. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2020;318:H59-H71.

48.Ooppachai C, Limtrakul P, Yodkeeree S. Dicentrine potentiates TNF-α-induced apoptosis and suppresses invasion of A549 lung adenocarcinoma cells via modulation of NF-κB and AP-1 activation. Molecules 2019;24:4100.

49.Wen L-P, Madani K, Fahrni JA, Duncan SR, Rosen GD. Dexamethasone inhibits lung epithelial cell apoptosis induced by IFN-γ and Fas. Am J Physiol 1997;273:L921-L9.

50.Bailey DP, Kashyap M, Bouton LA, Murray PJ, Ryan JJ. Interleukin-10 induces apoptosis in developing mast cells and macrophages. J Leukoc Biol 2006;80:581-9.

51.San LL, Aye KS, Oo NAT, Shwe MM, Fukushima Y, Gordon SV, et al. Insight into multidrug-resistant Beijing genotype Mycobacterium tuberculosis isolates in Myanmar. Int J Infect Dis 2018;76:109-19.

52.Nguyen L. Antibiotic resistance mechanisms in M. tuberculosis: an update. Arch Toxicol 2016;90:1585-604.

53.Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? Nat Rev Microbiol 2010;8:260-71.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.6.8]

[DOI: 10.61882/iau.35.4.436]