بررسی آلوآنتی‌ژنهای HLA-A، HLA-B و HLA-C در جمعیتی از استان اصفهان

دکتر مینو ادیب*
رسول ابوالحسنی†
اِدنا آبکار شاه‌نظر†

چکیده

تعداد ۵۰۰ نفرازمردم اصفهان که از سلامتی‌کامل برخوردار بودند، از نظر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA شامل HLA-A، HLA-B و HLA-C موردآزمایش قرارگرفتند.روش آزمایش‌به‌این شکل بودکه‌در هرنمونه‌لنفوسیت‌ها از ۵ میلی‌لیتر خون‌وریدی جدا می‌شدند و با استفاده از روش استاندارد دومرحله‌ای میکرولنفوسیتوتوکسیسیتی NIH از نظر آنتی‌ژنهای HLA-A، HLA-B و HLA-C تحت بررسی قرار می‌گرفتند. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که شیوع آنتی‌ژنهای $HLA\text{-}A_1$، A_2، A_3 ، A_9 ؛ $HLA\text{-}B_5$، B_{35} و $HLA\text{-}CW_4$ در جمعیّت مورد مطالعه بیش از سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که شیوع آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در اصفهان مشابه با شیوع آن در تهران و مشهد است.

کلید واژه‌ها: ۱- آنتی‌ژنهای HLA ۲- توزیع HLA ۳- عوامل زیستی و ایمنی ۴- توزیع آنتی‌ژنهای گروه یک HLA ۵- اصفهان

مقدمه

منظومهٔ HLA (HLA system) که بیش از صدها آلل مختلف در افراد بشر دارد، پُرریخت‌ترین (Polymorphic) منظومه‌های شناخته‌شده است[۸]. محصولات این ژنها در سطح سلولهای بدن به نام آنتی‌ژنهای گروه یک و گروه دو HLA موسوم است و نقش بسیار مهمی در پیوند اعضاء دارد.

منظومهٔ HLA (System) در تنظیم و تحریک پاسخهای ایمنی نیز از اهمیت بسیاری برخوردار است. به همین دلیل ژنها و آنتی‌ژنهای مربوط به این منظومه می‌توانند عامل مقاومت نسبت به یک بیماری خاص باشند و یا برعکس، شخص را مستعد ابتلا به بیماریها بنماید.

تاکنون ارتباط بسیاری از بیماریها با آنتی‌ژنهای منظومهٔ HLA به اثبات رسیده‌است.

شیوع آنتی‌ژنهای HLA در نژادهای مختلف بشری متفاوت است. به همین دلیل، ممکن است اختلافهایی از نظر ارتباط‌ژنهای خاص HLA با بیماریها درنژادهای مختلف مشاهده شود. بنابراین لازم است در هر منطقهٔ جغرافیائی شیوع آنتی‌ژنهای HLA به طور جداگانه بررسی شود.

تنوع آنتی‌ژنهای گروه یک و دو HLA در نژادهای مختلف بررسی شده، اختلافهای نژادی قابل توجهی به دست آمده‌است. برای مثال در مورد آنتی‌ژنهای گروه یک HLA، آنتی‌ژنهای A_1، A_3 و B_8 در نژاد قفقازی به وفور موجود است. همچنین آنتی‌ژنهای A_{23}، A_{30}، B_{17} و B_{42} در سیاه‌پوستان و آنتی‌ژنهای B_{54}، B_{59} و B_{48} در نژاد معمولی بیشترین شیوع را دارد[۳]. برخی از آنتی‌ژنها نظیر A_2، A_9، A_{10}، B_{35}، B_{16} و B_{15} در کلیهٔ نژادهای بشری با شیوع زیاد مشاهده می‌شود[۲].

در این تحقیق آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در پانصد نفر از

* دانشیار ایمن‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی اصفهان
† کارشناس ارشد آزمایشگاه، آزمایشگاه پیوند اعضاء بیمارستان حضرت علی‌اصغر، اصفهان

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:22 IRDT on Saturday August 4th 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-19]

مردم سالم اصفهان و اطراف آن موردآزمایش قرار گرفت.

روش بررسی

از بین کلیهٔ افراد سالمی که طی سالهای ۱۳۷۰ الی ۱۳۷۶ جهت تشخیص آنتی‌ژنهای HLA به آزمایشگاه پیوند اعضاء در بیمارستان حضرت علی‌اصغر(ع) اصفهان مراجعه کرده‌بودند، ۵۰۰ نفر به روش تصادفی ساده انتخاب شدند. اکثر این افراد جهت رد اُبوت یا به عنوان دهندهٔ کلیه و مغز استخون به آزمایشگاه پیوند مراجعه کرده‌بودند و کلیهٔ آزمایشهای بالینی و آزمایشگاهی سلامتی کامل آنان را تضمین نموده بود. در ضمن این افراد سابقهٔ هیچگونه بیماری شخصی یا ژنتیکی را در خویشاوندان خود ذکر نمی‌کردند. هیچیک از افراد مورد مطالعه با یکدیگر نسبت خویشاوندی نداشتند. کلیهٔ این افراد ساکن مناطق مختلف اصفهان بودند و بدون توجه به سن، جنس و شغل برای تعیین آنتی‌ژنهای گروه یک HLA انتخاب شدند. سن متوسط این افراد ۲۶ سال بود. ۳۸۵ نفر از آنها مرد و ۱۱۵ نفر زن بودند.

در این تحقیق برای تشخیص آنتی‌ژنهای گروه یک HLA از روش میکروسیتوتوکسیسیتی NIH [۷] استفاده شد. از هر بیمار مقدار ۵ میلی‌لیتر خون بی‌فیبرین (Defibrinated) تهیه گردید و با استفاده از محلول فایکول‌هایپاک[۱] لنفوسیت‌های آن جدا شد. لنفوسیت‌های بدست آمده، پس از دوبار شستشو با محلول هانکس و تنظیم شمارش، به مقدار یک میکرولیتر به هر خانه از بشقابک HLA (Plate) که دارای یک نوع ضدسرم اختصاصی HLA بود، اضافه شد. در این تحقیق ۷۰ نوع مختلف از ضدسرمهای گروه یک HLA که توسط کارخانه‌های بیوتست، بهرینگ یا پل‌فریز تهیه شده‌بود، مورد استفاده قرار گرفت. در هر مورد از دو شاهد (Control) مثبت و دو شاهد منفی نیز استفاده شد. پس از نیم ساعت خواباندن (Incubation)، مقدار ۵ میکرولیتر کمپلمان خرگوش به هر خانه اضافه شده، یک ساعت بعد هم دو میکرولیتر رنگ ائوزین افزوده می‌شد. جهت تثبیت (Fixation) سلولها، ۵ میکرولیتر فرمالین به هر خانه اضافه می‌شد. نتیجهٔ آزمایش با مشاهدهٔ سلول‌ها در زیر میکروسکوپ فاز کنتراست و اینورت مشخص می‌شد.

در طی این مراحل، چنانچه لنفوسیت‌با پادتن (Antibody) اختصاصی در خانهٔ مربوط ترکیب شود، کمپلمان را فعال می‌کند. در نهایت سوراخی در سطح لنفوسیت ایجاد می‌شود که منجر به مرگ لنفوسیت و ورود ائوزین به درون آن می‌شود. در نتیجه، لنفوسیت پررنگ و متورم می‌گردد. مرگ سلولی به راحتی با میکروسکوپ قابل تشخیص است.

یافته‌ها

جدولهای شمارهٔ یک، دو و سه به ترتیب درصد فراوانی هر یک از آنتی‌ژنهای HLA-A، HLA-B و HLA-C را نشان می‌دهند. بَسامَد (Frequency) ژنی آنتی‌ژنهای فوق نیز در جدولهای مذکور مشاهده می‌شود.

بَسامَد (Frequency) ژنی از فرمول زیر محاسبه شده‌است[۵]:

$$Gene\ frequencey = 1 - (1 - Antigen\ freqquency)$$

بحث

با توجه به نتایج جدولهای ۱، ۲ و ۳، شیوع آنتی‌ژنهای A_1، A_2، A_3، A_9، B_5، B_{35} و CW_4 بیش از سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در افراد مورد مطالعه بوده‌است.

این نتایج با بررسی‌هایی که در سایر نقاط ایران، نظیر تهران [۶] و مشهد [۴]، انجام گرفته است مشابه و حاکی از شیوع بالای این آنتی‌ژنها در ایرانیان می‌باشد. در این مطالعه شیوع برخی از آنتی‌ژنهای HLA نظیر آنتی‌ژنهای A_{23}، A_{30}، A_{33}، B_{37} و B_{45} کمتر از ۴٪ بود که حاکی از شیوع کم این آنتی‌ژنها در مردم اصفهان است. با توجه به اینکه نظیر این نتایج در شهرهای دیگر ایران هم به دست آمده‌است، می‌توان گفت شیوع سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در مقایسه با شیوع آن در سایر شهرهای ایران اختلاف قابل ملاحظه‌ای ندارد.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:22 IRDT on Saturday August 4th 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-19]

جدول ۱- چگونگی توزیع آنتی‌ژنهای HLA-A در اصفهان*

بسامد ژنی	شیوع آنتی‌ژن	تعداد نمونهٔ مثبت	نام آنتی‌ژن
۰/۰۹۱۱۵	۰/۱۷۴	۸۷	A_1
۰/۱۵۵۰۱	۰/۲۸۶	۱۴۳	A_2
۰/۱۲۹۳۶	۰/۲۴۲	۱۲۱	A_3
۰/۱۷۲۹۵	۰/۳۱۶	۱۵۸	A_9
۰/۰۱۲۰۷	۰/۰۲۴	۱۲	A_{23}
۰/۱۲۵۹۲	۰/۲۳۶	۱۱۸	A_{24}
۰/۰۹۴۴۶	۰/۱۸	۹۰	A_{10}
۰/۰۵۶۶۰	۰/۱۱	۵۵	A_{28}
۰/۰۸۵۶۶	۰/۱۶۴	۸۲	A_{19}
۰/۰۲۱۲۲	۰/۰۴۲	۲۱	A_{29}
۰/۰۱۲۰۷	۰/۰۲۴	۱۲	A_{30}
۰/۰۱۱۰۶	۰/۰۲۲	۱۱	A_{31}
۰/۰۲۱۲۲	۰/۰۴۲	۲۱	A_{32}
۰/۰۰۸۰۳	۰/۰۱۶	۸	A_{33}

* تعداد نمونهٔ انتخاب شده، پانصد نفر

جدول ۲- چگونگی توزیع آنتی‌ژنهای HLA-B در اصفهان *

بسامد ژنی	شیوع آنتی‌ژن	تعداد نمونهٔ مثبت	نام آنتی‌ژن
۰/۲۱۸۹۷	۰/۳۹	۱۹۵	B_5
۰/۰۳۸۷۵	۰/۰۷۶	۳۸	B_7
۰/۰۳۳۵۶	۰/۰۶۶	۳۳	B_8
۰/۰۵۲۳۷	۰/۱۰۲	۵۱	B_{12}
۰/۰۴۵۰۱	۰/۰۸۸	۴۴	B_{44}
۰/۰۰۸۰۳	۰/۰۱۶	۵	B_{45}
۰/۰۳۸۷۵	۰/۰۷۶	۳۸	B_{13}
۰/۰۳۷۷۱	۰/۰۷۴	۳۷	B_{14}
۰/۰۵۱۳۱	۰/۱	۵۰	B_{16}
۰/۰۲۸۴۰	۰/۰۵۶	۲۸	B_{18}
۰/۰۶۲۹۸	۰/۱۲۲	۶۱	B_{21}
۰/۰۳۸۷۵	۰/۰۷۶	۳۸	B_{22}
۰/۱۶۵۳۷	۰/۳۰۴	۱۵۲	B_{35}
۰/۰۰۷۰۱	۰/۰۱۴	۷	B_{37}
۰/۰۲۵۳۰	۰/۰۵	۲۵	B_{47}

* تعداد نمونهٔ انتخاب شده، پانصد نفر

جدول ۳- چگونگی توزیع آنتی‌ژنهای HLA-C در اصفهان *

بسامد ژنی	شیوع آنتی‌ژن	تعداد نمونهٔ مثبت	نام آنتی‌ژن
۰/۰۸۳۴۰	۰/۱۶	۱۶	CW_1
۰/۰۳۰۴۶	۰/۰۶	۶	CW_2
۰/۰۵۶۶۰	۰/۱۱	۱۱	CW_3
۰/۱۵۱۴۷	۰/۲۸	۲۸	CW_4
۰/۰۶۲۹۸	٪۱۲	۱۲	CW_5

* تعداد نمونهٔ انتخاب شده، صد نفر

منابع

1) Boyum A: Isolation of mononuclear cells by one centrifugation and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. Scand J Clin Lab Invest 21(suppl 97): 77-89, 1968.

2) Dausset J: The major histocompatibility complex in man. Past, present and future concepts. Science 213: 1469-1471, 1981.

3) Dausset J, Colombani J: Histocompatibility Testing. Munksgaard, Copenhagen: Joint Report, 1980. pp 621-667.

4) Farid Hosseini R, et al: The distribution of class I HLA antigens in 1000 normal individuals in Khorasan province. MJIRI 12: 43-44, 1989.

5) Lalezari P, Speat TH: Studies on the genetics of leukocyte antigens. Blood : 748-758, 1989.

6) Nikbin B, et al: Distribution of class I and II HLA antigens in Iran. Proceedings of 3rd AOHWC; 1986.

7) Ray JG: Niaid Manual of Tissue Typing Techniques. Bethesda: NIH Publication, 1979. No 80. 545; 39-41.

8) Stites DP, Terr AI: Basic and Clinical Immunology. Norwalk: Lange Medical Publication, 1994. pp 230-245.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:22 IRDT on Saturday August 4th 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-19]

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:22 IRDT on Saturday August 4th 2012

STUDY OF HAL-A, B AND C ALLOANTIGENS IN A POPULATION OF ESFAHAN PROVINCE

M. Adib, MD ✱ *E. Abcar Shahnazar, MS* † *R. Abolhasani, MS*†

ABSTRACT

A random sample of 500 healthy unrelated subjects from Esfahan province were HLA typed for A, B and C locus antigens. The lymphocytes were separated from 5 ml of whole peripheral blood and were typed for HLA - A, B and C by using the standard two stage microlymphocytotoxicity NIH technique. The findings suggest that in the study population, frequency of HLA-A_1, A_2, A_3, A_9; HLA-B_5, B_{35} and HLA-CW_4 antigens is higher than other HLA antigens. It has been concluded that the destribution of HLA class I antigens in Esfahan is similar to their distribution in Tehran and Mashhad.

Key Words: 1) HLA antigens 2) HLA distribution 3) Immunological and biological factors 4) HLA class I distribution 5) Esfahan

✱ *Associate Professor of Immunology, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services*

† *Member of Tissue Transplantation Laboratory, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-19]