

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

دکتر مینو ادیب*
رسول ابوالحسنی†
دینا آبکار شاه‌نظر†

چکیده

تعداد ۵۰۰ نفر از مردم اصفهان که از سلامتی کامل برخوردار بودند، از نظر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA شامل HLA-A، HLA-B و HLA-C مورد آزمایش قرار گرفتند. روش آزمایش به این شکل بود که در هر نمونه لئوسیت‌ها از ۵ میلی‌لیتر خون وریدی جدا می‌شدند و با استفاده از روش استاندارد دو مرحله‌ای میکرو لئوسیتو توکسیسیته 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-A₁، A₂، A₃، A₉، B₅، B₃₅ و B₄₈ در جمعیت 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

منظومه HLA (HLA system) که بیش از صدها آلل مختلف در افراد بشر دارد، پُریخت‌ترین (Polymorphic) منظومه‌های شناخته شده است^(۱). محصولات این ژنها در سطح سلولهای بدن به نام آنتی‌ژنهای گروه یک و گروه دو HLA موسوم است و نقش بسیار مهمی در پیوند اعضا دارد.

منظومه 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 بنمایند.

تاکنون ارتباط بسیاری از بیماریها با آنتی‌ژنهای منظومه HLA به اثبات رسیده است.

شیوع آنتی‌ژنهای HLA در نژادهای مختلف بشری متفاوت

است. به همین دلیل، ممکن است اختلافهایی از نظر ارتباط ژنهای خاص HLA با بیماریها در نژادهای مختلف مشاهده شود. بنابراین لازم است در هر منطقه جغرافیایی 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 آمده است.

برای مثال در مورد آنتی‌ژنهای گروه یک HLA، آنتی‌ژنهای A₁، A₃ و B₈ در نژاد قفقازی به وفور موجود است. همچنین

آنتی‌ژنهای A₂₃، A₃₀، B₁₇ و B₄₂ در سیاه‌پوستان و آنتی‌ژنهای B₅₄، B₅₉ و B₄₈ در نژاد معمولی بیشترین شیوع

را دارد^(۲). برخی از آنتی‌ژنهای نظیر A₂، A₉، A₁₀، B₃₅، B₁₆ و B₁₅ در کلیه نژادهای بشری با شیوع زیاد مشاهده می‌شود^(۳).

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 اعضا بیمارستان حضرت علی‌اصغر، اصفهان

مردم سالم اصفهان و اطراف آن مورد آزمایش قرار گرفت.

می‌شد.

روش بررسی

از بین کلیه افراد سالمی که طی سالهای ۱۳۷۰ الی ۱۳۷۶ جهت تشخیص آنتی‌ژنهای HLA به آزمایشگاه پیوند اعضا در بیمارستان حضرت علی (ع) اصفهان مراجعه کرده بودند، ۵۰۰ نفر به روش تصادفی ساده انتخاب شدند. اکثر این افراد جهت رد ابوت یا به عنوان دهنده کلیه و مغز استخون به آزمایشگاه پیوند مراجعه کرده بودند و کلیه آزمایشهای بالینی و آزمایشگاهی سلامتی کامل آنان را تضمین نموده بود. در ضمن این افراد سابقه هیچگونه بیماری شخصی یا ژنتیکی را در خویشاوندان خود ذکر نمی‌کردند. هیچیک از افراد مورد مطالعه با یکدیگر نسبت خویشاوندی نداشتند. کلیه 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 میکروسیتوتوکسیسیتهی NIH^(۷) استفاده شد. از هر بیمار مقدار ۵ میلی‌لیتر خون بی‌فیبرین (Defibrinated) تهیه گردید و با استفاده از محلول فایکول‌هایپاک^(۱) لئوسیت‌های آن جدا شد. لئوسیت‌های بدست آمده، پس از دو بار 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 شده بود، 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. نتیجه آزمایش با مشاهده سلول‌ها در زیر میکروسکوپ فاز کنتراست و اینورت مشخص

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

یافته‌ها

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

بسامد (Frequency) ژنی از فرمول زیر محاسبه شده است^(۵):

$$\text{Gene frequency} = 1 - (1 - \text{Antigen frequency})$$

بحث

با توجه به نتایج جدولهای ۱، ۲ و ۳، شیوع آنتی‌ژنهای A₁ A₂ A₃ A₉ B₅ B₃₅ و CW₄ بیش از سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در افراد مورد مطالعه بوده است.

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 A₂₃ A₃₀ A₃₃ B₃₇ و B₄₅ کمتر از ۰.۴٪ 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 آمده است، می‌توان گفت شیوع سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در مقایسه با شیوع آن در سایر شهرهای ایران اختلاف قابل ملاحظه‌ای ندارد.

جدول ۱- چگونگی توزیع آنتی ژنهای HLA-A در اصفهان*

نام آنتی ژن	تعداد نمونه مثبت	شیوع آنتی ژن	بسامد ژنی
A1	۸۷	۰/۱۷۴	۰/۰۹۱۱۵
A2	۱۴۳	۰/۲۸۶	۰/۱۵۵۰۱
A3	۱۲۱	۰/۲۴۲	۰/۱۲۹۳۶
A9	۱۵۸	۰/۳۱۶	۰/۱۷۲۹۵
A23	۱۲	۰/۰۲۴	۰/۰۱۲۰۷
A24	۱۱۸	۰/۲۳۶	۰/۱۲۵۹۲
A10	۹۰	۰/۱۸	۰/۰۹۴۴۶
A28	۵۵	۰/۱۱	۰/۰۵۶۶۰
A19	۸۲	۰/۱۶۴	۰/۰۸۵۶۶
A29	۲۱	۰/۰۴۲	۰/۰۲۱۲۲
A30	۱۲	۰/۰۲۴	۰/۰۱۲۰۷
A31	۱۱	۰/۰۲۲	۰/۰۱۱۰۶
A32	۲۱	۰/۰۴۲	۰/۰۲۱۲۲
A33	۸	۰/۰۱۶	۰/۰۰۸۰۳

* تعداد نمونه انتخاب شده، پانصد نفر

جدول ۲- چگونگی توزیع آنتی ژنهای HLA-B در اصفهان*

نام آنتی ژن	تعداد نمونه مثبت	شیوع آنتی ژن	بسامد ژنی
B5	۱۹۵	۰/۳۹	۰/۲۱۸۹۷
B7	۳۸	۰/۰۷۶	۰/۰۳۸۷۵
B8	۳۳	۰/۰۶۶	۰/۰۳۳۵۶
B12	۵۱	۰/۱۰۲	۰/۰۵۲۳۷
B44	۴۴	۰/۰۸۸	۰/۰۴۵۰۱
B45	۵	۰/۰۱۶	۰/۰۰۸۰۳
B13	۳۸	۰/۰۷۶	۰/۰۳۸۷۵
B14	۳۷	۰/۰۷۴	۰/۰۳۷۷۱
B16	۵۰	۰/۱	۰/۰۵۱۳۱
B18	۲۸	۰/۰۵۶	۰/۰۲۸۴۰
B21	۶۱	۰/۱۲۲	۰/۰۶۲۹۸
B22	۳۸	۰/۰۷۶	۰/۰۳۸۷۵
B35	۱۵۲	۰/۳۰۴	۰/۱۶۵۳۷
B37	۷	۰/۰۱۴	۰/۰۰۷۰۱
B47	۲۵	۰/۰۵	۰/۰۲۵۳۰

* تعداد نمونه انتخاب شده، پانصد نفر

جدول ۳- چگونگی توزیع آنتی ژنهای HLA-C در اصفهان*

نام آنتی ژن	تعداد نمونه مثبت	شیوع آنتی ژن	بسامد ژنی
CW1	۱۶	۰/۱۶	۰/۰۸۳۴۰
CW2	۶	۰/۰۶	۰/۰۳۰۴۶
CW3	۱۱	۰/۱۱	۰/۰۵۶۶۰
CW4	۲۸	۰/۲۸	۰/۱۵۱۴۷
CW5	۱۲	٪۱۲	۰/۰۶۲۹۸

* تعداد نمونه 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 AOHWG*; 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.

**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-A₁, A₂, A₃, A₉; HLA-B₅, B₃₅ and HLA-CW₄ antigens is higher than other HLA antigens. It has been concluded that the distribution 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