Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 6:46 IRDT on Sunday April 21st 2019

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

دکتر مینو ادیب، دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی و مسؤول آزمایشگا پیوند اعضا، بیمارستان حضرت علی‌اصغر (ع)، اصفهان
رسول ابوالحسنی، کارشناس ارشد، آزمایشگاه پیوند اعضا، بیمارستان حضرت علی اصغر (ع) ، اصفهان
ادنا آبکار شاه‌نظر، کارشناس ارشد، آزمایشگاه پیوند اعضا، بیمارستان حضرت علی اصغر (ع)، اصفهان

Study of HLA-A, B, C Alloantigens in a Population of the Isfahan Province

ABSTRACT

A random panel of 500 healthy unrelated subjects from Isfahan province were HLA typed for A, B and C locus antigens.

The lymphocytes were separated from 5 ml of whole peripheral blood and HLA-A,B, C typing were performed on them, using the standard two stage microlymphocytotoxic NIH technique.

The Antigens HLA-A1, A2,A3,A9, HLA-B5,B35, HLA-CW4 had the higher frequency than other HLA antigens among the population studied. The destribution of HLA class I antigens in Isfahan is similar with their distribution in Tehran and Mashhad.

Key words: Allauntigene; HLA; Isfahan

چکیده

مقدمه : تعداد ۵۰۰ نفر از مردم اصفهان که از سلامتی کامل برخوردار بودند، از لحاظ آنتی‌ژنهای گروه یک HLA شامل HLA-A,B,C مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش : لنفوسیتها از ۵ میلی‌لیتر خون وریدی جدا شد و با استفاده از روش استاندارد دو مرحله‌ای میکرولنفوسیتوتوکسیسیتی NIH، از نظر آنتی‌ژنهای HLA-A,B,C بررسی گردید.

نتایج : شیوع آنتی‌ژنهای HLA-A1,A2,A3,A9 ، HLA-B5,B35 ، HLA-CW4 در جمعیت مورد مطالعه بیش از سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA بود.

بحث : شیوع آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در اصفهان، مشابه با شیوع آن در تهران و مشهد است.

واژه‌های کلیدی: *آلوآنتی‌ژن؛ HLA؛ اصفهان*

مقدمه

سیستم HLA که بیش از صدها آلل مختلف در افراد بشر دارد، از پلی‌مرفیک‌ترین سیستم‌های ژنتیکی 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.

همچنین این آنتی‌ژنها در تنظیم و تحریک پاسخهای ایمنی نیز از اهمیت بسیاری برخوردار است، به همین دلیل این ژنها و آنتی‌ژنهای مربوطه می‌توانند عامل مقاومت نسبت به یک بیماری خاص باشند و یا بالعکس، شخص را مستعد ابتلا به بیماریها بنمایند.

تا کنون ارتباط بسیاری از بیماریها با آنتی‌ژنهای سیستم HLA به اثبات رسیده است.

شیوع آنتی‌ژنهای HLA در نژادهای مختلف بشری متفاوت است و 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 بطور جداگانه بررسی گردد.

تنوع آنتی‌ژنهای گروه یک و دو HLA در نژادهای مختلف

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 6:46 IRDT on Sunday April 21st 2019

بررسی شده است و اختلافهای نژادی قابل توجهی به دست آمده است. برای مثال در مورد آنتی‌ژنهای گروه یک HLA، آنتی‌ژنهای A3,A1 و B8 در نژاد قفقازی به وفور موجود است. همچنین آنتی‌ژنهای B42, B17, A23 و A30 در سیاهپوستان و آنتی‌ژنهای B59,B54 و B48 در نژاد مغولی بیشترین شیوع را دارد(۲). برخی از آنتی‌ژنها نظیر B16,B35,A10,A9,A2 و B15 در کلیه نژادهای بشری با شیوع بالا مشاهده می‌شود(۳).

در این تحقیق آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در پانصد نفر از مردم سالم اصفهان و اطراف آن مورد آزمایش قرار گرفت.

نتایج این تحقیق می‌تواند به عنوان جمعیت شاهد، در مورد تحقیقاتی که بر روی ارتباط آنتی‌ژنهای گروه یک HLA با بیماریها در اصفهان انجام می‌شود مورد استفاده قرار گیرد.

روش و مواد

از سال ۱۳۷۰ کلیه افراد سالمی که جهت تشخیص آنتی‌ژنهای HLA به آزمایشگاه پیوند اعضاء در بیمارستان حضرت علی‌اصغر (ع) مراجعه نمودند، افراد مورد مطالعه را تشکیل داده‌اند. این افراد اکثراً جهت رد ابوت و یا بعنوان دهنده کلیه و مغز استخوان به آزمایشگاه پیوند مراجعه نمودند و کلیه آزمایشهای کلینیکی و پاراکلینیکی، سلامتی کامل آنها را تضمین نموده است.

در ضمن سابقه هیچگونه بیماری شخصی و یا سابقه بیماریهای ژنتیکی را در فامیل ذکر نمی‌کردند. هیچیک از افراد مورد مطالعه با یکدیگر نسبت فامیلی نداشته‌اند. کلیه این افراد ساکن مناطق مختلف اصفهان بودند و بدون توجه به سن، جنس و شغل برای تعیین آنتی‌ژنهای گروه یک HLA انتخاب شدند.

روش انجام آزمایش

در این تحقیق برای تشخیص آنتی‌ژنهای گروه یک HLA از روش میکروسیتوتوکسیسیتی NIH (۴) استفاده شد.

از هر بیمار مقدار ۵ میلی‌لیتر خون دفیبرینه تهیه گردید و با استفاده از محلول فایکول هایپاک (۵)، لنفوسیت‌های آن جدا شد. لنفوسیتهای به دست آمده پس از دو بار شستشو با محلول هانکس و تنظیم شمارش به مقدار یک میکرولیتر به هر خانه پلیت HLA که دارای یک نوع آنتی‌سرم اختصاصی HLA بود، اضافه گردید. در این تحقیق از ۷۰ نوع مختلف آنتی‌سرمهای گروه یک HLA که از کارخانه‌های بیوتست، بهرینگ و یا پل فریز تهیه شده بود، استفاده گردید. درهرمورداز دو کنترل مثبت و دو کنترل منفی نیز استفاده شد.

پس از نیم ساعت انکوباسیون مقدار ۵ میکرولیتر کمپلمان خرگوش به هر خانه اضافه گردید و پس از یک ساعت، رنگ اثوزین به میزان دو میکرولیتر به هر خانه اضافه شد.

جهت فیکس نمودن سلولها از فرمالین، به مقدار ۵ میکرولیتر در هر خانه استفاده شد و سپس نتایج با میکروسکوپ فاز کنتراست و اینورت مشاهده گردید.

در طی این مراحل چنانچه لنفوسیت با آنتی‌بادی اختصاصی در خانه یا چاهک مربوطه ترکیب شود، کمپلمان را فعال نموده و نهایتاً سوراخی در سطح لنفوسیت ایجاد می‌شود که منجر به مرگ لنفوسیت و ورود اثوزین به درون آن و در نتیجه پررنگ شدن و متورم شدن لنفوسیت می‌گردد، مرگ سلولی با میکروسکوپ به راحتی قابل تشخیص است.

نتایج

جدول‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب درصد فراوانی هر یک از آنتی‌ژنهای HLA-A، HLA-B و HLA-C را نشان می‌دهد. فرکانس ژنی آنتی‌ژنهای فوق نیز در جدول‌های مربوطه مشاهده می‌شود.

فرکانس ژنی از فرمول زیر محاسبه شده است (۶):

$$\text{Gene frequency} = 1 - \sqrt{1\text{-Antigen frequency}}$$

جدول ۱ـ چگونگی توزیع آنتی‌ژنهای HLA-A در اصفهان

نام آنتی‌ژن	تعداد نمونه مثبت	شیوع آنتی‌ژن	فرکانس ژنی
A1	۸۷	۰/۱۷۴	۰/۰۹۱۱۵
A2	۱۴۳	۰/۲۸۶	۰/۱۵۵۰۱
A3	۱۲۱	۰/۲۴۲	۰/۱۲۹۳۶
A9	۰/۱۵۸	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 ۲ـ چگونگی توزیع آنتی‌ژنهای HLA-B در اصفهان

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

تعداد نمونه انتخاب شده، پانصد نفر

جدول ۳ـ چگونگی توزیع آنتی‌ژنهای HLA-C در اصفهان

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

تعداد نمونه انتخاب شده، صد نفر

بحث

با توجه به نتایج جدول‌های ۲،۱ و ۳، شیوع آنتی‌ژنهای HLA-A1,A2,A3,A9 ، HLA-B5,B35 و HLA-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(۷) ومشهد (۸)، انجام گرفته است مشابه و حاکی از شیوع بالای این آنتی‌ژنها در ایرانیان می‌باشد. شیوع برخی از آنتی‌ژنهای HLA در این مطالعه کمتر از چهاردرصد بوده است، نظیر آنتی‌ژنهای HLA-A23,A30, A33, B45,B37، 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 آنتی‌ژنهای نامبرده در ایرانیان رایج نیست(۸،۷).

شیوع سایر آنتی‌ژنهای گروه یک HLA در مقایسه با شیوع آن در سایر شهرهای ایران اختلاف قابل ملاحظه‌ای ندارد.

از آنجایی که وجود برخی از ژنهای HLA شخص را مستعد ابتلاء به برخی از بیماریها می‌نماید، نتایج این تحقیق می‌تواند به عنوان کنترل طبیعی برای تحقیقاتی که بر روی ارتباط ژنهای HLA با بیماریها انجام می‌شود، مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1- Stites, D.P. Terr A.I. Basic and clinical immunology. Lange medical publication. 1994. p. 230-245.

2- Dausset, J. Colombani. J. Histocompatibility Testing, Munksgaard, Copenhagen. Joint Report. 1980; P. 621-667.

3- Dausset. J. The major histocompatibility complex in man. past, present, and future concepts, Science, 1981. 213, P. 1469-41474.

4- Ray JG. Niaid manual of tissue typing techniques. Bethesda. NIH publication. 1979. No, 80. 454; 39-41.

5- Boyum A. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation and of granuloeytes by combining centrifigation and sedimentation at 1 g. Scand J. Clin. Lab. Invest. 1968: 21 (suppl:7): 77-89.

6- Lalezari P. Spcat TH. Studies on the genetics of leukocyte antigens. Blood . 1989; 478-58.

7- Nikbin. B. et al. Distribution of class I and II HLA antigens in Iran. 1986; proceeding of 3rd A. O.H.W.C.

8- Farid Hosseini R, et al. The distribution of class I HLA antigens in 1000 normal individuals in Khorasan province. Medical Journal of the Islamic Republic of Iran. 1989; 12: 43-44.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 6:46 IRDT on Sunday April 21st 2019