

## رابطه آنتی‌ژن‌های لکوسیتی انسان با آسم آلرژیک

ابراهیم علیجانی<sup>۱</sup>، دکتر مهدی شکرآبی<sup>۲</sup>، ملیحه کم‌گویان<sup>۳</sup>، دکتر صبا عرشی<sup>۴</sup>، محمدجعفری‌مدرک<sup>۵</sup>

### چکیده

سیستم اصلی سازگاری بافتی (MHC) به دلیل نقش زیست‌شناختی وسیع و گسترده آن در سیستم ایمنی بسیار مورد توجه بوده است. آنتی‌ژن‌های این مجموعه ژنی که در انسان تحت عنوان آنتی‌ژن‌های لکوسیتی انسانی (HLA) خوانده می‌شوند، در پاسخ‌های ایمنی نقش مهم و در خور توجهی دارند، و ژنوم مربوط به این مجموعه به عنوان ژن‌های کنترل‌کننده پاسخ‌های ایمنی مطرحند. از طرف دیگر رابطه قوی و مستحکم بین پاره‌ای از بیماری‌های با واسطه ایمنی (نظیر بیماری‌های خودایمنی) و سیستم MHC تأیید شده است. رابطه بیماری‌های آلرژیک و آنتی‌ژن‌های HLA نیز از جمله مواردی است که مورد توجه بوده است. این پژوهش به منظور بررسی رابطه آسم آلرژیک و آنتی‌ژن‌های سیستم HLA در ۳۰ فرد بیمار (گروه آزمایشی) و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انجام پذیرفته است. آزمایش HLA-Typing به روش استاندارد N.I.H (میکروولنفوسیتوتوکسیسیته) برای تعیین آنتی‌ژن‌های کلاس یک افراد انجام و سپس به منظور بررسی‌های آماری با محاسبه فراوانی آنتی‌ژنی و فراوانی ژنی در دو گروه مورد مطالعه، اختلافات مشاهده شده با آزمون کای‌دو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان دادند آنتی‌ژن‌های AW19، A2 و A11 از گروه آنتی‌ژن‌های HLA-A و آنتی‌ژن B51 از آنتی‌ژن‌های HLA-B در دو گروه مورد بررسی به طور معنادار با یکدیگر اختلاف دارند ( $P < 0/05$ ). با توجه به نتایج حاضر مشخص گردید که بین بیماری آسم آلرژیک و برخی از آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک، رابطه معنی‌دار وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: HLA، MHC، آسم، اتوپیک، آلرژیک، HLA Typing

۱- کارشناس ارشد، نشانی: زاهدان، میدان مشاهیر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی‌شناسی و فون‌شناسی

تلفن: ۰۵۴۱-۲۳۱۵۰۸۱

۲- گروه ایمنی‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران

۳- کارشناس ارشد، بخش پیوند سازمان انتقال خون ایران، تهران

۴- بخش ایمنی‌شناسی و آلرژی، بیمارستان امیرالمؤمنین (ع)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران

۵- کارشناس ارشد، گروه آنکال‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی زاهدان

## مقدمه

آسم یکی از بیماری‌های مزمن ریوی است که هر از چند گاهی به علت حملات برونکواسپاسم و تنگ شدن مجاری تنفسی، منجر به ایجاد اشکال در تنفس بیمار می‌گردد. این بیماری همچنین به عنوان شایع‌ترین بیماری مزمن دوران کودکی شناخته شده و در دهه‌های اخیر میزان مرگ و میر ناشی از آن افزایش یافته است (۱). نکته مهم و قابل توجه در رابطه با این بیماری نقش انکارناپذیر مکانیسم‌های ایمنی‌شناختی در علت‌شناسی این بیماری می‌باشد. در بسیاری از بیماران مبتلا به آسم زمینه‌های ازدیاد حساسیت نوع یک به صورت‌های مختلف مشاهده می‌شود و در آسب‌زایی بیماری نیز واکنش‌های حساسیتی (آلرژی) نقش عمده‌ای دارند (۲ و ۳). آسم به ویژه در کودکان (بیش از ۹۰ درصد) و در بالغین (بیش از ۵۰ درصد) با آلرژی همراه است. در این حالت بیماران پس از تماس با عامل حساسیتی (آلرژنی) که به آن حساسند، دچار حملات آسم می‌گردند (۴).

مطالعات انجام شده نشان‌دهنده همراهی سیستم اصلی سازگاری بافتی<sup>۱</sup> (MHC) با پاره‌ای از بیماری‌ها به ویژه بیماری‌های خودایمنی<sup>۲</sup> (۶ و ۵) و همچنین بیماری‌های آلرژیک نظیر آسم می‌باشد (۷ و ۸). در حالی که در پاره‌ای از مطالعات انجام شده رابطه‌ای بین آسم آلرژیک و آنتی‌ژن‌های لکوسیتی انسان<sup>۳</sup> (HLA) گزارش نگردیده است (۹ و ۱۰). در بررسی‌های دیگر رابطه این بیماری با آنتی‌ژن‌های MHC نشان داده شده است، به طوری که در برخی گزارش‌های منتشر شده رابطه آسم آلرژیک با آنتی‌ژن‌های MHC کلاس یک (۱۱) و در پژوهش‌های دیگر رابطه آن با مولکول‌های کلاس دو بیان گردیده است (۴).

ثرستون (۱۲) و موریس (۱۳) در انگلستان، لی-پی کی در چین (۱۴) و موفات در استرالیا (۱۵) عدم رابطه سیستم HLA با بیماری آسم را گزارش کرده‌اند، در حالی که در مطالعاتی که از سوی آپوستولاکیس در یونان (۱۱)، گریاس - دلیما در برزیل (۱۶)، هانگ (۱۷)، گاؤ (۱۸ و ۱۹)، گاؤ در چین (۲۰)، آگویلار - آنجلس در مکزیک (۲۱)، ینگ - چو در تایوان (۲۲) و دیگر کشورها صورت گرفته است، رابطه بین آنتی‌ژن‌های HLA با بیماری آسم نشان داده شده است.

مجموعاً با توجه به گزارش‌های متعدد که در بعضی از موارد با یکدیگر متناقض نیز می‌باشند و نظر به این نکته که بررسی‌هایی از این دست در ایران گزارش نشده بود، برای انجام پژوهش حاضر اقدام شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه مورد - شاهدهی است که گروه مورد، متشکل از ۳۰ فرد بیمار (۱۷ زن و ۱۳ مرد) مبتلا به بیماری آسم آلرژیک بود که بنا به تایید متخصصین بیمارستان امیرالمؤمنین (ع) تهران به بیماری‌های مرتبط با سیستم HLA نظیر بیماری‌های خودایمنی، بیماری‌های عفونی، بیماری‌های تنفسی، غددی، روماتیسمی، روان‌پریشی و غیره مبتلا نبوده‌اند. گروه شاهد نیز از ۱۰۰ فرد کاملاً سالم، متشکل از ۵۰ زن و ۵۰ مرد تشکیل شده بود.

از هر یک از افراد فوق ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی در شرایط استریل گرفته، پس از هپارینه کردن آن با ۰/۱۵ میلی‌لیتر هپارین ۵۰۰۰ واحد، سوسپانسیون لئوسیتی با استفاده از فایکول‌هایپایک جدا شده سپس با استفاده از روش میکرولفوسیتوتوکسیسیته به روش استاندارد N.I.H، آنتی‌ژن‌های HLA در سطح لئوسیت‌ها مشخص شدند (۲۳-۲۵). پس از مشخص شدن نوع آنتی‌ژن‌های HLA در سطح لئوسیت‌های هر فرد، فراوانی آنتی‌ژنی و فراوانی ژنی

<sup>۱</sup> Major Histocompatibility Complex (MHC)

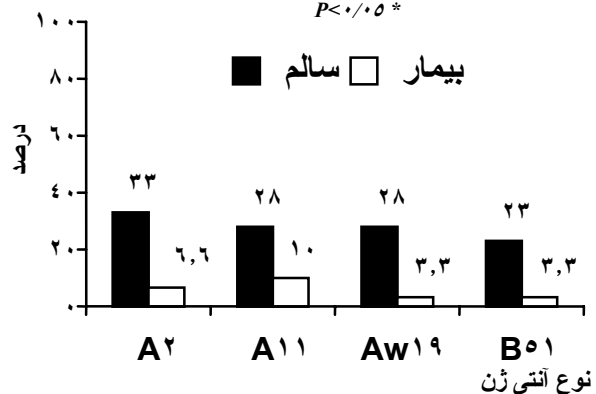
<sup>۲</sup> Autoimmune

<sup>۳</sup> Human Leucocyte Antigen (HLA)

جدول ۱: درصد فراوانی آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک در بیماران آسمی آلرژیک و افراد سالم

بیمار	سالم	آنتی‌ژن HLA	بیمار	سالم	آنتی‌ژن HLA
۲۶	۳۲	B۵	۱۳/۳	۲۳	A۱
۶/۶	۵	B۷	* ۶/۶	۳۳	A۲
۱۳/۳	۶	B۸	۲۶	۱۸	A۳
۱۰	۸	B۱۳	۲۰	۲۴	A۹
۶/۶	۹	B۱۴	۲۰	۱۵	A۱۰
۶/۶	۳	B۱۷	* ۱۰	۲۸	A۱۱
۳/۳	۱۰	B۱۸	* ۳/۳	۲۸	Aw۱۹
۲۳	۱۲	B۲۱	۶	۱	A۲۳
۲۰	۷	B۲۲	۲۶	۲۲	A۲۴
۶/۶	۱۱	B۲۷	۳/۳	۱	A۲۵
۳۰	۳۳	B۳۵	۲۳	۱۵	A۲۶
۱۶	۱۰	B۴۴	۳۰	۱۲	A۲۸
۳/۳	۵	B۴۹	۱۳/۳	۵	A۲۹
۰	۷	B۵۰	۳/۳	۷	A۳۲
* ۳/۳	۲۳	B۵۱	۳/۳	۱۰	Cw۲
۶۶	۶۶	Bw۴	۲۳	۹	Cw۳
۹۰	۷۴	Bw۶	۳۶/۶	۳۹	Cw۴
			۶/۶	۲	Cw۵

$P < 0.05^*$



نمودار ۱: درصد فراوانی آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک در بیماران آسمی و افراد سالم

### بحث

مطابق این بررسی مشخص شد که بین بیماری آسم آلرژیک و آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک A۱۱، A۲، Aw۱۹ و B۵۱ رابطه معنی‌دار وجود دارد. نتایج نشان دادند که احتمالاً وجود این آنتی‌ژن‌ها می‌تواند نقش بازدارنده‌ای در ابتلا به بیماری آسم آلرژیک داشته باشد. از میان این آنتی‌ژن‌ها احتمال است که آنتی‌ژن A۲ (PF=۰/۲۶)<sup>۱</sup> بیشترین

بیماران و افراد شاهد محاسبه شد. با استفاده از آزمون آماری کای‌دو و آزمون دقیق فیشر اختلافات فراوانی‌های مشاهده شده بررسی شد.

### یافته‌ها

نتایج بررسی توزیع فراوانی آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک و افراد شاهد در جدول یک آمده است.

در این مطالعه مشخص شد که فراوانی آنتی‌ژن‌های A۲ با  $P < 0.005$ ، A۱۱ با  $P < 0.05$  و Aw۱۹ با  $P < 0.005$  در گروه آنتی‌ژن‌های HLA-A و آنتی‌ژن B۵۱ با  $P < 0.025$  از گروه آنتی‌ژن‌های HLA-B در افراد بیمار در مقایسه با افراد شاهد دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. یافته‌های بدست آمده نشان دادند که میزان بروز آنتی‌ژن‌های فوق در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم کاهش نشان می‌دهد (نمودار ۱).

<sup>۱</sup> protective factor (PF)

نقش بازدارندگی را در ابتلا به این بیماری ایفاء می‌کند. مطالعه حاضر برای نخستین بار در ایران صورت گرفته است. پژوهش‌هایی مشابه که در سایر کشورها انجام شده‌اند، اغلب نتایج ضد و نقیضی را در این زمینه منتشر ساخته‌اند. یک بررسی صورت گرفته در میان بیماران نروژی و دانمارکی، شیوع هاپلو تیپ‌های A1 و B8 را مشخص ساخت (۲۶ و ۲۷) در حالی که مطالعه انجام شده روی سفیدپوستان آمریکایی افزایش A2 و کاهش B8 را مطرح نموده است (۲۸).

نتایج بدست آمده در تحقیقات مشابهی که از سوی افراد مختلف در چین صورت گرفته است همخوانی چندانی با یکدیگر نداشته‌اند. وانگ و همکارانش افزایش فراوانی آنتی‌ژن‌های A9، A10، Bw61 و Bw62 و کاهش فراوانی آنتی‌ژن A3 را در بیماران چینی گزارش کردند که تنها افزایش فراوانی آنتی‌ژن Bw61 در کار آنها دارای ارزش آماری بود (۲۹). در بررسی‌هایی که از سوی سیه (۳۰)، گاؤ و (۱۹ و ۱۸) و گئو (۲۰) در چین انجام گرفت رابطه این بیماری با آنتی‌ژن‌های HLA-D در کودکان مبتلا به آسم گزارش شد. در یونان نیز بررسی وجود این رابطه، کاهش آنتی‌ژن‌های B5 و B35 را در بیماران مورد مطالعه نشان داده است (۱۱). در حالی که چنین تحقیقاتی رابطه مثبت یا منفی بین بیماری آسم آلرژیک و آنتی‌ژن‌های سیستم HLA را مطرح نموده‌اند، پژوهش‌های دیگری بر عدم هرگونه رابطه بین بیماری فوق و آنتی‌ژن‌های این سیستم صحه گذاشته‌اند (۱۴ و ۱۵).

بهرحال آنچه از مطالعه پژوهش‌های فوق مشخص می‌شود وجود شواهدی از همراهی آنتی‌ژن‌های HLA با بیماری آسم

می‌باشد. هرچند در این مطالعات و من جمله مطالعه حاضر نتایج تاحدودی همخوانی ندارند، نباید فراموش کرد که این مطالعات در کشورهای مختلف و مناطق جداگانه‌ای صورت گرفته‌اند که هم از نظر ژنتیکی و شرایط محیطی و نیز از نظر عوامل آلرژی‌زا که در این مناطق شایع هستند با یکدیگر اختلاف دارند.

با توجه به این که عوامل ایمونوژنتیکی مداخله کننده در آسیب‌زایی بیماری آسم بسیار ناهمگن هستند، در جستجوی نقش HLA در بیماری، همگنی افرادی که مورد بررسی قرار می‌گیرند باید تاحد ممکن حفظ شود. این همگنی عواملی چون جنس، سن، نژاد، ژنتیک، ارتباط فامیلی، نوع جمعیت مورد مطالعه و عوامل دیگری را که به عنوان عوامل مداخله کننده می‌شناسیم دربر می‌گیرد. از این رو لازم است که در انتخاب بیماران و نیز تعداد آنها نهایت دقت و توجه مبذول گردد.

تعیین HLA با روش سرولوژی با استفاده از مجموعه‌ای از آنتی‌بادی‌هایی که آلل‌های مختلف را مشخص می‌کنند، ممکن است باعث تعیین مولکول‌های واقعی که با بیماری رابطه دارند نشود. زیرا آلل تعیین شده به روش سرولوژیک ممکن است خانواده‌ای از آلل‌های مختلف HLA مشابه هم باشند که اختلاف جزئی با یکدیگر در بنیان‌های پلی مورف داشته باشند. چنین اختلافاتی را می‌توان با روش‌های مولکولی دقیق‌تر نظیر تعیین توالی نوکلئوتیدها (واکنش زنجیره پولی مری<sup>۱</sup> یا PCR) مشخص کرد.

<sup>۱</sup> Polymerase Chain Reaction (PCR)

منابع

- 1) E.R. Mc Fadden, Jr. Braunwald E, eds. Harrison's Principles of Internal Medicine. Vol 2. 15th edition. New York: Mc Graw Hill. 2001; pp: 1456-1462.
- 2) Patterson R, Grammer LC, Greenberger PA. Allergic Diseases diagnosis and Management. 5th edition. New York: Lippincott – Raven. 1997; pp: 467-535.
- 3) Howell WM, Standring P, Warner JA, Warner JO. HLA class II genotype, HLA-DR B cell surface expression allergen specific IgE production in atopic and non-atopic members of asthmatic family pedigrees. Clin Exp Allergy. 1999; 29(4): 35-38.
- 4) Woszczek G, Kowalski ML, Borowiec M. Association of asthma and total IgE level with human leukocyte antigen –DR in patients with grass allergy. Eur Respir J. 2002; 20(1): 79-785.
- 5) Kolostova K, Cerna M, Andel M. Association of HLA molecules with auto-immune disease. Cas Lek Cesk. 2002; 141(24): 755-762.
- 6) Ebringer A, Wilson C. HLA molecules, bacteria and autoimmunity. J Med Microbiol. 2000; 49(4): 305-311.
- 7) Jeal H, Draper A, Jones M, Harris J, Welsh K, Taylor AN, Cullinan P. HLA association with occupational sensitization to rat lipocalin allergen: A model for other animal allergies? J Allergy Clin Immunol. 2003; 111(4): 795-799.
- 8) Gurgenidze GV, Gamkrelidze AG, Gotua MA. Study of the HLA and IgE system in healthy persons and patients with allergies of the respiratory tract. Ter Arkh. 1988; 60(1): 54-56.
- 9) Brady RE, Glovsky MM, Opelz G, Terasaki P, Malish DM. The association of an HLA asthma-associated haplotype immediate hypersensitivity in familial asthma. J Immunogenet. 1981; 8(6): 509-517.
- 10) Caraballo LR, Hernandez M. HLA haplotype segregation in families with allergic asthma. Tissue Antigens. 1990; 35(4): 182-186.
- 11) Apostolakis J, Toumbis M, Konstantopoulos K, Kamaroulias D, Anagnostakis J, Georgoulis V, Fessas P, Zervas J. HLA antigen and asthma in Greeks. Respir Med. 1996; 90(4): 201-204.
- 12) Turton CW, Morris L, Buckingham JA, Lawler SD, Turner-Warwick M. Histocompatibility antigen in asthma: population and family studies. Thorax. 1979; 34(5): 670-676.
- 13) Morris MJ, Faux JA, Ting A, Morris PJ, Lane DJ. HLA-A, B and C and HLA-DR antigens in intrinsic and allergic asthma. Clin Allergy. 1980; 10(2): 173-179.
- 14) Li-PK, Lai CK, Poon AS, Ho AS, Chan CH, Lai KN. Lack of association between HLA-DQ and –DR genotypes and asthma in southern Chinese patients. Clin Exp Allergy. 1995; 25(4): 323-231.
- 15) Moffatt MF, Schou C, Faux JA, Abecasis GR, James A, Musk AW, Cookson WO. Association between quantitative traits underlying asthma and the HLA-DRB1 locus in a family-based population sample. Europ. J Hum Genet. 2001; 9(5): 341-346.
- 16) Gerbase-DeLima M, Gallo CA, Daher S, Sole D, Naspitz CK. HLA antigens in asthmatic children. Pediatric Allergy Immunol. 1997; 8(3): 150-152.
- 17) Huang LS, Hsieh KH, Liu SY. HLA and childhood asthma (author's transl). Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi. 1981; 14(2): 102-106.
- 18) Gao J, Lin Y, Qiu C. HLA-DRB alleles polymorphism in susceptibility to asthma Beijing Chinese. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 1998; 78(8): 591-594.
- 19) Gao J, Lin Y, Qiu C, Liu Y, Ma Y, Gao J, Liu J. Relationship between HLA-DQA1, -DQB1-genes polymorphism and susceptibility to bronchial asthma among Northern Hans. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2002; 82(6): 379-383.
- 20) Guo X, Ni P, Li L. Association between asthma and the polymorphism of HLA-DQ genes. Zhonghua Jie He Hu Xi Za Zhi. 2001; 24(3): 139-141 [abstract].
- 21) Aguilar-Angeles D, Delgado-Ochoa D. HLA and bronchial asthma. Neumol Cir Torax. 2001; 60(2): 28-30.
- 22) Lin YC, Lu CC, Su HJ, Shen CY, Lei HY, Guo YL. The association between tumor necrosis factor,

HLA-DR alleles, and IgE-mediated asthma in Taiwanese adolescents. *Allergy*. 2002; 57(9): 831-834.

23) Terasaki P, Park MS. Micro Droplet Testing for A-B-C and D-antigens. *Am J Clin Pathol*. 1976; 62: 103-120.

۲۴) کم‌گویان، ملیحه. سیستم HLA و روش تشخیص آنتی‌ژن‌های آن. چاپ اول. تهران. سازمان انتقال خون ایران. ۱۳۷۲. صفحه ۵۷.

25) Thomas M. Williams Human Leukocyte Antigen Gene Polymorphism and the Histocompatibility Laboratory. *JMD*. 2001; No:3.

26) Thorsby E, Lie SD. Relationship between HLA system and susceptibility to disease. *Transplant Proc*. 1971; 3(2): 1305-1308.

27) Ostergaard PA, Eriksen J. Association between HLA-A1, B8 in children with extrinsic asthma and IgA deficiency. *Eur J Pediatr*. 1979; 131(4): 263-270.

28) Rachelefsky G, Park MS, Siegel S, Terasaki PI, Katz R, Saito S. Strong association between B-Lymphocytes group 2 specificity and asthma. *Lancet*. 1976; 13(2): 1042-1044.

29) Wang WX, Yang SZ, Chui XW, Zhang HL. Association of HLA – Bw61 with -asthma in the Chinese. *Tissue Antigens*. 1988; 32(4): 215-217.

30) Hsieh KH. Association of HLA – DQw2 with Chinese childhood asthma. *Tissue Antigens*. 1991; 38: 181-182.