

Frequency of Major Histocompatibility Antigens Class I in Mazandaran Province

Fatemeh Toghani Hulari¹,
Mozhgan Esmaili¹,
Mohammad Akbari²,
Fatemeh Khajenabi¹,
Saeid Abediankenari³

¹MSc in Immunology, Immunogenetics Research Center, Sari, Iran

²BSc in Medical Laboratory, Immunogenetics Research Center, Sari, Iran

³Professor, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received March 2, 2022 ; Accepted April 11, 2022)

Abstract

Background and purpose: Major histocompatibility antigens are the most polymorphic components of the immune system. The purpose of this study was to determine the frequency of human leukocyte antigens (HLA) in a population in Mazandaran province, Iran.

Materials and methods: In a cross sectional study, peripheral blood samples were obtained from 550 people in Immunogenetics Research Center affiliated with Mazandaran University of Medical Sciences, 2016-2021. The types of HLA class 1 antigens (A-B-C) were studied using SSP-PCR.

Results: HLA-A * 24, HLA-B * 35 and HLA-C * 04 were found to be the most common alleles in the population studied.

Conclusion: HLA diversity plays a major role in developing some diseases. So, it should be investigated in anthropological studies and finding a suitable donor in bone marrow transplantation. In fact, more extensive studies are required to draw a new horizon in the association between HLA and diseases in different ethnicities.

Keywords: frequency, major histocompatibility antigens

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (208): 135-140 (Persian).

* **Corresponding Author:** Saeid abediankenari - Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk)

بررسی فراوانی آنتی ژن های سازگاری بافتی اصلی کلاس (I) در جمعیت مازندران

فاطمه طغانی هولاری¹مژگان اسمعیلی¹محمد اکبری²فاطمه خواجه نبی¹سعید عابدیان کناری³

چکیده

سابقه و هدف: آنتی ژن های سازگاری بافتی از پلی مورف ترین آنتی ژن های سیستم ایمنی محسوب می شوند. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی آنتی ژن های سازگاری بافتی افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه HLA در مازندران انجام پذیرفت. **مواد و روش ها:** در این مطالعه توصیفی، از 550 نفر، مراجعه کننده به آزمایشگاه HLA استان مازندران، نمونه خون محیطی تهیه و انواع آنتی ژن های HLA کلاس یک (A-B-C) به روش SSP-PCR تعیین شد. **یافته ها:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد آلل های HLA-A*24، HLA-B*35 و HLA-C*04 دارای بیشترین فراوانی در جمعیت مورد بررسی بوده است.

استنتاج: تعیین فراوانی آنتی ژن های HLA در قومیت های مختلف نقش به سزایی را در ارتباط با بیماری های مختلف، مطالعات مردم شناسی و یافتن دهنده ی مناسب در پیوند مغز استخوان ایفا می کند. لذا انجام مطالعات گسترده تر در این حوزه حائز اهمیت می باشد تا بتوان افق جدیدی را در ارتباط HLA با بیماری ها در قومیت های مختلف ترسیم نمود.

واژه های کلیدی: فراوانی، آنتی ژن های سازگاری بافتی

مقدمه

کلاس I، شامل، HLA-A، HLA-B، HLA-C و HLA کلاس II شامل، HLA-DQ، HLA-DR و HLA-DP شناخته شده ترین آن ها هستند (2). لذا با توجه به اهمیت و جایگاه این مولکول ها در پیوند، بیماری های اتوایمیون، سرطان و ...، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی انواع مختلف کلاس یک HLA، در جمعیت مازندران انجام گرفت.

آنتی ژن های گلبول های سفید انسانی (human leukocyte antigen-HLA) از پلی مورف ترین مولکول های سیستم ایمنی هستند. ژن آن ها بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 6 قرار گرفته و بیش از 130 پروتئین سطحی را شامل می شود که نقش مهمی در شناسایی پاتوژن ها و عرضه آنتی ژن به سلول های T ایفا می کنند (1). این مولکول ها شامل سه گروه می باشند که HLA

مؤلف مسئول: سعید عابدیان کناری - ساری: کیلومتر 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی
E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk

1. کارشناسی ارشد ایمنی شناسی پزشکی، آزمایشگاه HLA، مرکز تحقیقات ایمونوزنتیک، ساری، ایران

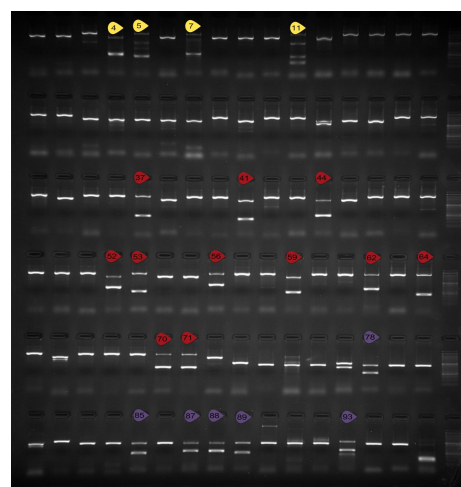
2. کارشناسی علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه HLA، مرکز تحقیقات ایمونوزنتیک، ساری، ایران

3. استاد، مرکز تحقیقات ایمونوزنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: 1400/12/11 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/1/21 تاریخ تصویب: 1400/1/22

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی، از 550 نفر، داوطلب اهدا کننده سلول‌های بنیادی مغز استخوان در مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی استان مازندران طی سال‌های 1395-1400، دو میلی‌لیتر نمونه خون محیطی در ویال‌های حاوی ضد انعقاد (EDTA) تهیه شد. استخراج DNA، به روش ستونی و با استفاده از کیت استخراج DNA (Favorgen Biotech-FABGK001) طبق روش شرکت سازنده انجام شد. غلظت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانو دراپ در طول موج 260 نانومتر و درصد خلوص DNA استخراج شده نسبت به پروتئین از طریق اندازه‌گیری نسبت طول موج 260 به 280 نانومتر ارزیابی شد. تعیین آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک افراد مراجعه‌کننده، به شیوه مولکولی SSP-PCR (sequence-specific priming-PCR) (OLERUP HLA typing kit) طبق روش استاندارد شرکت سازنده انجام شد. در نهایت محصول حاصل از PCR بر روی ژل آگارز 2 درصد الکتروفورز و وجود باند اختصاصی سنجیده شد (تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: نمونه ای از الکتروفورز حاصل از SSP PCR

تعیین انواع آلل‌های HLA کلاس یک، علاوه بر تفسیر به روش دستی مبتنی بر پرورش‌های همراه با کیت،

در نهایت با استفاده از نرم‌افزار SCORE™ شرکت OLERUP انجام شد. جهت تعیین توزیع فراوانی آنتی‌ژن‌های ذکر شده از روش آمار توصیفی از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

یافته ها و بحث

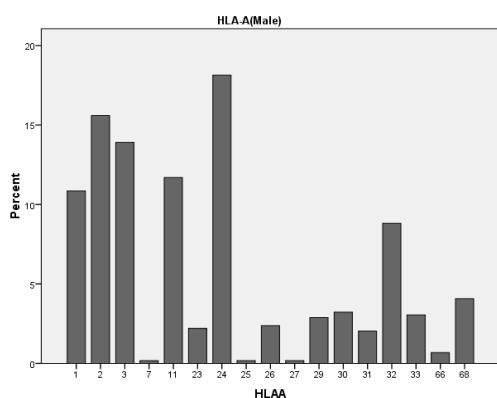
در این مطالعه 550 نفر، مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد 295 نفر (53/6 درصد) مرد و 255 نفر (46/4 درصد) خانم بوده‌اند (جدول شماره 1). در این مطالعه انواع آلل‌های HLA به روش مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفته است در حالی که برخی از مطالعات انجام شده به روش سرولوژی می‌باشد. در مجموع تعداد 18 آلل A، 26 آلل B، و 17 آلل C در جمعیت مورد مطالعه یافت شد. در مطالعه حاضر بیش‌ترین وفور آنتی ژنی HLA-A در جمعیت مازندران، به ترتیب فراوانی شامل A*24، A*02، و A*03 بوده است (جدول شماره 2). در حالی که در مطالعه‌ای که بر روی جمعیت ایران و همچنین در استان‌های خوزستان، خراسان، سیستان و جمعیت گیلک انجام شد بیش‌ترین فراوانی HLA-A به آلل A*02 اختصاص داشته است (8-11، 4).

جدول شماره 1: برنامه دمایی PCR

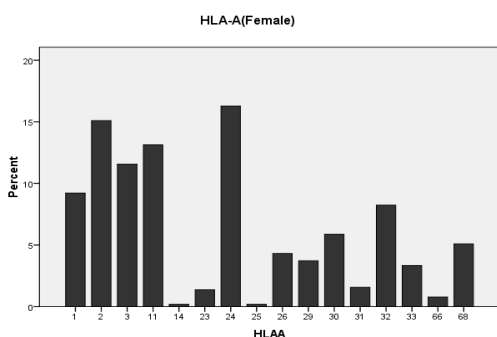
مرحله	زمان	دما	تعداد سیکل
داتوراسیون	2 دقیقه	94 C°	1
داتوراسیون	30 ثانیه	94 C°	10
اتصال و گسترش	60 ثانیه	65 C°	
داتوراسیون	10 ثانیه	94 C°	20
اتصال	50 ثانیه	61 C°	
گسترش	30 ثانیه	72 C°	

در HLA-B، بیش‌ترین وفور آنتی ژنی مربوط به آلل‌های B*35، B*51، و B*52 می‌باشد (جدول شماره 2). آلل B*35 به عنوان فراوان‌ترین آلل در خوزستان، مشهد و سیستان نیز گزارش شده است، در حالی که بیش‌ترین فراوانی HLA-B در جمعیت خرم‌آباد مربوط به آلل‌های B5 و B7 می‌باشد (4، 8، 10، 12). فراوان‌ترین آلل‌های یافت شده در HLA-C آلل‌های C*04، C*12، و C*07 بوده‌اند

تفکیک جنسیت نیز مورد بررسی قرار گرفت. فراوان ترین آلل های HLA-A در آقایان شامل آلل های A*24، A*02، A*03 بوده است، اما در خانم ها فراوان ترین آلل ها به ترتیب شامل، A*24، A*11 و A*02 می باشد. کم ترین وفور آنتی ژنی در خانم ها، آلل های A*14 و A*25 و در آقایان آلل های A*07 و A*25 بوده است (نمودار شماره 1 و 2).



نمودار شماره 1: درصد توزیع فراوانی HLA-A در جمعیت آقایان مورد مطالعه (n: 295)



نمودار شماره 2: درصد توزیع فراوانی HLA-A در جمعیت خانم های مورد مطالعه (n: 255)

در HLA-B جمعیت خانم ها و آقایان الگوی یکسانی در فراوان ترین آلل ها داشته اند که شامل آلل های B*35، B*51 و B*52 می باشد، اما کم ترین فراوانی ها، در خانم ها آلل های B*12 و B*48 و در آقایان آلل های B*59، B*48 بوده است (نمودار شماره 3 و 4).

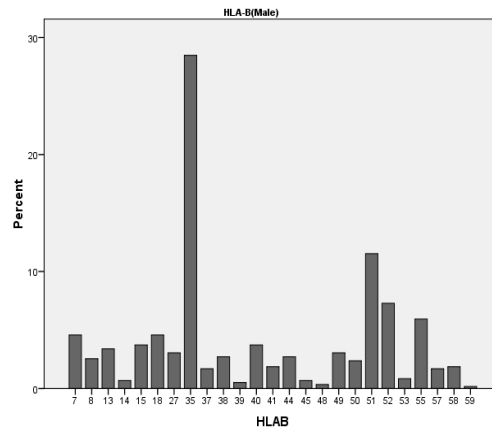
(جدول شماره 2). در مطالعه ای که در سیستان انجام پذیرفت، C*12 بیش ترین فراوانی را در بین آلل های HLA-C نشان داده است (8). کم ترین فراوانی HLA کلاس یک در مطالعه حاضر شامل آلل های HLA-A*07، HLA-B*59 و HLA-C*18 بوده است و این در حالی است که مطالعات انجام شده در جمعیت خوزستان و گیلک A*33 و در مشهد A*69 را با کم ترین وفور آنتی ژنی گزارش کرده اند (جدول شماره 2) (10,9,4). در HLA-B نیز کم ترین فراوانی مربوط به HLA-B*59 می باشد و در جمعیت های خوزستان، گیلک و مشهد به ترتیب به آلل های B*49، B*44 و B*46 اختصاص داشته است که با نتایج حاصل از جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش همراستا نمی باشند (10,9,4).

جدول شماره 2: فراوانی HLA-A,B,C در جمعیت مازندران (n: 550)

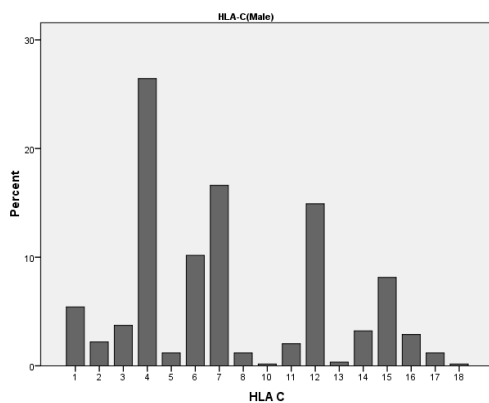
HLA-A	تعداد (درصد)	HLA-B	تعداد (درصد)	HLA-C	تعداد (درصد)
1	111 (10/1)	7	42 (4/2)	1	61 (5/5)
2	169 (15/4)	8	28 (2/5)	2	22 (2)
3	141 (12/8)	12	1 (0/1)	3	42 (3/8)
7	1 (0/1)	13	54 (4/9)	4	265 (24/1)
11	136 (12/4)	14	11 (1)	5	16 (1/5)
14	1 (0/1)	15	34 (3/1)	6	121 (11)
23	20 (1/8)	18	52 (4/7)	7	173 (15/7)
24	190 (17/3)	27	32 (2/9)	8	17 (1/5)
25	2 (0/2)	35	298 (27/1)	10	5 (0/5)
26	36 (0/3)	37	18 (1/6)	11	19 (1/7)
27	1 (0/1)	38	36 (3/3)	12	174 (15/8)
29	36 (3/3)	39	11 (1)	13	5 (0/5)
30	49 (4/5)	40	38 (3/5)	14	42 (7/8)
31	20 (1/8)	41	22 (2)	15	86 (7/8)
32	94 (8/5)	44	31 (2/8)	16	36 (3/3)
33	35 (3/2)	45	7 (0/6)	17	13 (1/2)
66	8 (0/7)	48	3 (0/3)	18	3 (0/3)
68	50 (4/5)	49	32 (2/9)	Total	1100 (100)
Total	1100 (100)	50	31 (2/8)		
		51	121 (11)		
		52	80 (7/3)		
		53	10 (0/9)		
		55	66 (6)		
		57	17 (1/5)		
		58	20 (1/8)		
		59	1 (0/1)		
		Total	1100 (100)		

از آنجایی که برخی از بیماری ها از قبیل بیماری های خود ایمنی شامل لوپوس، آرتریت روماتوئید و مولتیپل اسکلروزیس در خانم ها شیوع بیش تری دارند، لذا در این مطالعه درصد فراوانی آلل های HLA براساس

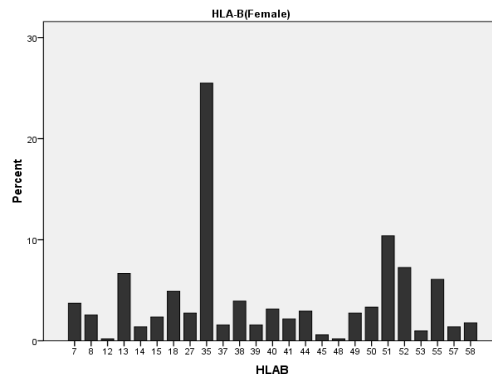
جمعیت مازندران شباهت‌ها و تفاوت‌هایی با دیگر قومیت‌های ایران نشان داده است. علاوه بر این، وفور آلل‌های HLA براساس تفکیک جنسیت می‌تواند بستر با ارزشی، جهت انجام مطالعات بعدی با آلل‌های شایع فراهم نماید. دانستن فراوانی آللی HLA می‌تواند در مطالعاتی گسترده‌تر جهت تعیین ارتباط با برخی از بیماری‌های شایع در این منطقه از کشور مورد استفاده قرار گیرد. لذا پیشنهاد می‌شود مطالعات گسترده‌تر در جمعیت شمال ایران و سایر مناطق مبتنی بر ارتباط این مولکول‌ها، با انواع سرطان‌ها و بیماری‌های خود ایمنی تعریف نمود تا بتوان افقی جدید در ارتباط HLA با انواع بیماری‌ها ترسیم کرد.



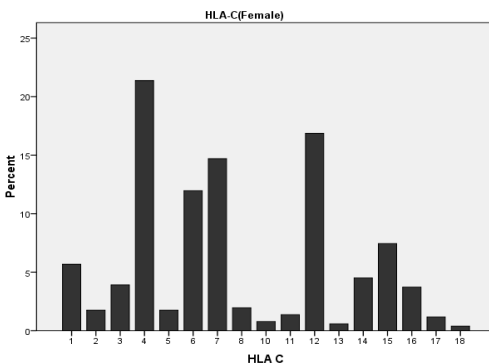
نمودار شماره 3: درصد توزیع فراوانی HLA-B در جمعیت آقایان مورد مطالعه (n: 295)



نمودار شماره 5: درصد توزیع فراوانی HLA-C در جمعیت آقایان مورد مطالعه (n: 295)



نمودار شماره 4: درصد توزیع فراوانی HLA-B در جمعیت خانم‌های مورد مطالعه (n: 255)



نمودار شماره 6: درصد توزیع فراوانی HLA-C در جمعیت خانم‌های مورد مطالعه (n: 255)

در رابطه با HLA-C نیز آقایان مشابه هم و مشابه جمعیت کل در آلل‌های C*04، C*12 و C*07 و بیش‌ترین فراوانی را داشته‌اند، با این تفاوت که در آقایان آلل C*07 نسبت به C*12 وفور بیشتری داشته است. همچنین آلل‌های C*18، C*13 و C*10 دارای کم‌ترین وفور آنتی ژنی در هر دو جمعیت بوده‌اند (نمودار شماره 5 و 6).

نکته جالب توجه در این بررسی‌ها این است که در خانم‌ها آلل‌های A*27، A*07 و B*59 و در آقایان آلل‌های A*14 و B*12 مشاهده نشده است. نتایج مطالعه حاضر در بررسی فراوانی آلل‌های HLA در

References

1. Farahani RH, Esmaeilzadeh E, Asl AN, Heidari MF, Hazrati E. Frequency of HLA Alleles in a Group of Severe COVID-19 Iranian Patients. *Iran J Public Health* 2021; 50(9): 1882-1886.
2. Shaiegan M, Abolghasemi H, Yari F, Paridar M, Maghsudlu M, Amini Kafiabad S, et al. Comparison of Human Leukocyte Antigen Frequency in Iranian unrelated Stem cell donors during 2011-2012. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2013; 10(3): 267-281.
3. Amini R, Pourfathollah A, Kamgooyan M, Samiee SJSJoIBTO. HLA-Class I and II frequencies in ethnic Hamedani people, and the comparison of serological and molecular (PCR) methods for HLA-Class II. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2005; 2(3): 43-52.
4. Asarehzadegan M, Emam S. HLA Class I antigens frequencies among organ donors of different ethnic groups in Khuzestan Province. *Jundishapur J Health Sci* 2008; 6(4): 487-491.
5. Fiorillo MT, Paladini F, Tedeschi V, Sorrentino R. HLA Class I or Class II and Disease Association: Catch the Difference If You Can. *Front Immunol* 2017; 8: 1475.
6. Abediankenari S, Eslami MB, Sarrafnejad A, Mohseni M, Larijani B. Dendritic cells bearing HLA-G inhibit T-Cell activation in type 1 diabetes. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2007; 6(1): 1-7.
7. Abediankenari S, Ghasemi M, Kim YJ. Human leukocyte antigen-G expression on dendritic cells induced by transforming growth factor-beta1 and CD4+ T cells proliferation. *Iran Biomed J* 2011; 15(1-2): 1-5.
8. Aminikhah M, Yekaninejad MS, Nicknam MH, Khosravi F, Naroeinejad M, Ansari-pour B, et al. HLA Class I and Class II Genes Distribution of the Iranian Sistans. *Iran J Immunol* 2018; 15(2): 97-111.
9. Arab M, Pourpak Z, Mohammadian S, Zare A, Shakiba Y, Shokouhi Shoormasti R, et al. The Frequency of Human Leukocyte Antigen Class I and II Alleles and the Relationship Between Haplotypes in Gilaks Population of Iran. *ImmunoRegulation* 2019; 2(1): 57-66.
10. Esmaeili A, Rabe SZT, Mahmoudi M, Rastin M. Frequencies of HLA-A, B and DRB1 alleles in a large normal population living in the city of Mashhad, Northeastern Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2017; 20(8): 940-943.
11. Ghashghaie A, Alimoghaddam K, Ostadali MR, Khansari L, Sadraee M, Mirrasekhian E, et al. Allele frequencies of HLA class-I loci in the normal Iranian population. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research (IJHOSCR)* 2009; 3(2): 18-20.
12. Zehtab T, Khosravi F, Mohammad V, A, Arman Far S, Adeleke OA. Frequency Of Class I And Ii Hla Antigens In Khoramabad Population. *Yafteh* 2002; 3(11): 5-12.