

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
دوره ۳۰ شماره ۱ بهار ۱۳۸۷ صفحات ۳۲-۲۷

## تعیین فراوانی آنتی ژنهای کلاس ۱ و ۲ سیستم HLA در افراد مبتلا به دیابت نوع یک در شهرستان تبریز

کتایون بهمن صوفیانی: مربی ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: k\_bahman\_s@yahoo.com

دکتر مهدی شکرآبی: دانشیار ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران  
دکتر مجید مبصری: استاد یار داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۵/۱۱/۳، پذیرش: ۸۶/۱۱/۱

### چکیده

**زمینه و اهداف:** دیابت ملیتوس اتوایمیون یا دیابت ملیتوس تایپ ۱ بیماری هتروژنی است که بدنال تخریب سلولهای بتا تولید کننده انسولین تظاهر می یابد. آنتی ژنهای لکوسیتی انسانی (Human leukocyte Antigens, HLA) بویژه آنتی ژنهای کلاس ۲ نقش مهمی را در اتولوژی بیماری بازی می کنند. از آنجائیکه آنتی ژنهای HLA بر اساس نژاد و منطقه جغرافیایی در بین گروههای بیمار از شیوع متفاوتی برخوردارند، لذا دستیابی به نحوه شیوع و گسترش آنتی ژنهای لکوسیتی در نمونه مورد مطالعه و نیز مشخص نمودن آنتی ژن یا آنتی ژنهای درگیر در بیماری را می توان از اهداف این بررسی عنوان کرد.

**روش بررسی:** در این تحقیق با انتخاب ۵۰ بیمار مبتلا به دیابت نوع یک و ۲۵ فرد سالم از افراد بومی منطقه و با تکنیک میکرو لیمفوسایتوتوکسیستی، پانل کامل آنتی ژنهای کلاس ۱ و ۲ این سیستم مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته ها:** آنالیز آماری نشان داد که ارتباط مثبت و معنی داری بین آنتی ژنهای DR3 (P=۰/۰۴۶)، DR4 (P=۰/۰۰۰)، DR3/DQ2 (P=۰/۰۲۸) و همچنین DR3/DR4 (P=۰/۰۴۹)، DR3/DQ2 (P=۰/۰۲۵) با بیماری وجود دارد که این آنتی ژنها در نقش اتولوژیک فاکتور در گروه بیمار عمل می کنند. هم چنین آنتی ژنهای DR15/16(2) (P=۰/۰۲۱)، DQ3 (P=۰/۰۲۲) و DQ7(3) (P=۰/۰۳۷) ارتباط منفی معنی داری را با بیماری نشان دادند. این آنتی ژنها در افراد سالم نسبت به افراد بیمار شایعتر بودند. از بین آنتی ژنهای کلاس ۱ آنتی ژنهای A69(28) (P=۰/۰۴۵) و CW6 (P=۰/۰۴۲) با ارتباط مثبت و آنتی ژن B38(16) (P=۰/۰۳۴) با ارتباط منفی در گروه بیمار مشاهده شدند. آنتی ژنهای BW6 و DQ2 نیز در زنان دیابتی فراواتر از مردان دیابتی بودند (به ترتیب P=۰/۰۴۷ و P=۰/۰۳۴).

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه نشان میدهد که غربالگری آنتی ژنهای لکوسیتی بویژه آنتی ژنهای کلاس ۲ میتواند روش ارزشمندی در شناسایی افراد در معرض خطر، محسوب شود.

**کلیدواژه ها:** دیابت ملیتوس تایپ ۱، آنتی ژنهای سیستم HLA، میکرو لیمفوسایتوتوکسیستی (MLC)

### مقدمه

دیابت ملیتوس تایپ ۱ یا دیابت ملیتوس اتوایمیون بیماری مزمنی است که بدنال تخریب سلولهای بتا تولید کننده انسولین تظاهر می یابد. مطالعه مدل‌های حیوانی و برشهای بافتی افراد دیابتی وجود پروسه اتوایمیونی را که ناشی از هجوم سلولهای Thelper، Tcytotoxic و منوسیتها به سلولهای بتای جزایر لانگرهانس می باشد را مسلم می سازد (۱-۳). حضور اتوآنتی بادیهای ضد آنتی ژنهای جزایر که در سال ۱۹۷۴ توسط Bottazzo و همکاران در سرم بیماران دیابتی معرفی شد دلیلی دیگر بر فعال بودن سیستم ایمنی این افراد می باشد (۴).

دیابت ملیتوس تایپ ۱ یا دیابت ملیتوس اتوایمیون بیماری مزمنی است که بدنال تخریب سلولهای بتا تولید کننده انسولین تظاهر می یابد. مطالعه مدل‌های حیوانی و برشهای بافتی افراد دیابتی وجود پروسه اتوایمیونی را که ناشی از هجوم سلولهای Thelper، Tcytotoxic و منوسیتها به سلولهای بتای جزایر لانگرهانس

وی و نیز استفاده از هر گونه دارو به عدم گزینش فرد مورد نظر منجر می شد.

**HLA typing** با روش استاندارد میکرو لمفوسایتوتوکسیسیتهی وابسته به کمپلمان انجام شد. بدنال رقیق سازی ۲۰ cc خون هپارینه شده با حجم مساوی از محلول هنکس، به نسبت ۲ بر ۱ و به آرامی بر سطح Ficoll hypaque اضافه نموده و بکمک نیروی سانتریفیوژ (۱۰۰۰ g بمدت ۲۰ دقیقه) سلولهای منونوکلتر از خون محیطی جدا شده و بر ۱ میلی لیتر محیط کشت RPMI اضافه گردید تا سوسپانسیون سلولی با غلظت تقریبی  $10^6 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  تهیه گردد، سپس با عبور دادن سوسپانسیون سلولی از ۰/۱۵gr پشم نایلون (nylon wool) گرم و مرطوب و پس از گذشت مدت زمان لازم و با استفاده از خاصیت چسبندگی لمفوسیتهای B و عدم چسبندگی سلولهای T به پشم نایلون سلولهای T از B جدا سازی شدند. پس از تنظیم مجدد سوسپانسیون سلولی T و B به میزان  $2 \times 10^3 \text{ cell}/\mu\text{l}$  به ترتیب و به مقدار یک میکرولیتر بر پلیتهای ترازکی کلاس ۱ و ۲ از شرکت Biotest آلمان (هر چاهک شامل آنتی سرم مربوطه، روغن معدنی و معرف رنگی می باشد) اضافه شده و بمدت لازم (۳۰ و ۶۰ دقیقه به ترتیب برای کلاس ۱ و ۲) در دمای اتاق انکوبه شدند. بدنال افزودن ۵ میکرولیتر کمپلمان خرگوش (از شرکت Biotest آلمان) عمل لیز کمپلکسهای آنتی ژن - آنتی بادی صورت پذیرفت. با اضافه کردن ۳-۴ میکرو لیتر رنگ اتوزین Y پنج درصد (از شرکت Merk آلمان) و به کمک میکروسکوپ Invert سلولهای لیز شده از سلولهای دست نخورده و هم چنین درصد آنها مشخص گردید.

**آنالیز آماری:** توزیع فراوانی آنتی ژنهای کلاس ۱ و ۲ سیستم HLA و نیز درصد فراوانی آنتی ژنهای کلاس ۱ و ۲ سیستم  $\chi^2$  Fisher ، Relative-risk و میزان همبستگی با دو فاکتور Etiologic fraction و Preventive fraction محاسبه گردید. هم چنین در این مطالعه ارتباط متغیر جنس با بروز آنتی ژنهای سیستم HLA و نیز ضریب همبستگی بروز آنتی ژنهای کلاس ۱ با یکدیگر مورد بررسی قرار گرفت. در تمامی محاسبات  $P < 0.05$  دارای ارزش معنی دار می باشد. تمامی آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS با version 14 انجام پذیرفت.

### یافته ها

همچنانکه جدول ۱ نشان میدهد بیشترین درصد فراوانی در بین آنتی ژنهای DR در گروه بیمار در مقایسه با افراد سالم با آنتی ژنهای DR3، DR4، DR52 و DR17/18(3) فقط آنتی ژنهای DR3، DR4 و DR17/18 ارتباط مثبتی را با بیماری داشتند و از آنجائیکه RR هر سه آنتی ژن عدد بیش از یک را نشان می داد بعنوان اتیولوژیک فاکتور در این گروه مطرح می شوند (  $PDR4=0.000$   $RR=NA$  /  $PDR3=0.046$   $RR=2.923/$  )  $(PDR17/18=0.009$   $RR=5.310)$ . این در حالیکه آنتی ژنهای DR2 و یا DR15/16(2) در گروه سالم شایعتر از گروه بیمار بوده

مطالعات اپیدمیولوژی نقش فاکتورهای ژنتیکی و محیطی (از جمله عفونتهای ویروسی) را در استعداد ابتلاء به بیماری تأیید می کنند، بطوریکه از بین ژنهای درگیر در این بیماری ژنهای ناحیه HLA به عنوان مهمترین ژن درگیر در این بیماری شناسایی شده است (۷-۵).

کمپلکس ژنی HLA در سال ۱۹۹۹ بطور کامل تعیین توالی گردیده است. این کمپلکس ژنی بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ قرار داشته و به سه کلاس ۱، ۲ و ۳ تقسیم می شود (۸). اولین ارتباط آنتی ژنهای این سیستم با بیماری دیابت با آنتی ژنهای B8، B15، B18 نشان داده شد، اما بعداً محققین حضور آنتی ژنهای DR3 و DR4 را با درصد بالایی در بیماران دیابتی گزارش نمودند. هم چنین مطالعه بیماران سفید پوست نشان داد که بیماران هتروزیگوت DR3/DR4 دارای آلل خاصی از زنجیره بتا مولکول DQ (HLA-DQB1) هستند (۱۰-۸). بعبارتی HLA-DQB1 شاخص اختصاصی ابتلاء به دیابت در این نژاد محسوب می شود. با وجود این، مطالعات جمعیتی نشان داد که ارتباط آنتی ژنهای HLA با بیماری بر اساس نژاد و منطقه جغرافیایی از شیوع متفاوتی برخوردار است. بطوریکه در بیماران سفید پوست هاپلوتایپهای DR3/DQ2 و DR4/DQ8(3) شایعتر می باشند. این در حالیکه در مطالعه بیماران ژاپنی حضور هیچیک از این هاپلوتایپها مشاهده نمی شود (۹). بنابراین با توجه به پلی مورفیسم شدید و نیز شیوع متفاوت آنتی ژنهای این سیستم در گروههای نژادی متفاوت، در این مطالعه شیوع آنتی ژنهای کلاس ۱ و ۲ سیستم HLA در بیماران مبتلا به دیابت تایپ ۱ با افراد سالم مقایسه گردید تا با تعیین آنتی ژنهای درگیر در بیماری گام موثری را در شناسایی افراد پر خطر بر داریم.

### مواد و روش ها

خون هپارینه از ۵۰ بیمار مبتلا به دیابت نوع یک بستری در بخش غدد بیمارستان کودکان و نیز از بیماران بخش غدد بیمارستان سینا شهرستان تبریز که بیماریشان توسط پزشک متخصص اثبات شده بود و هم چنین از ۲۵ فرد سالم جمع آوری شد. کلیه بیماران از ساکنین شهرستان تبریز و آذری زبان بوده و ۳۰-۵ سال داشتند که از میانگین سنی و انحراف معیار  $21/38 \pm 8/96$  برخوردار بودند. بیماران شامل ۲۹ زن ۳۰-۵ ساله با میانگین سنی و انحراف معیار  $21/48 \pm 9/13$  و ۲۱ مرد با دامنه سنی ۳۰-۷ ساله با میانگین و انحراف معیار  $21/23 \pm 8/95$  بودند. افراد شاهد نیز به تعداد ۲۵ نفر با دامنه سنی ۳۰-۲۰ سال با میانگین و انحراف معیار  $21/47 \pm 2/47$  که ۱۱ زن ۳۰-۲۰ ساله  $(22/27 \pm 3/13)$  و ۱۴ مرد ۲۶-۲۰ ساله  $(21/71 \pm 1/89)$  را شامل می شدند.

افراد شاهد به طور تصادفی از بین دانشجویان علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انتخاب شدند. سابقه هرگونه ابتلاء به بیماری دیابت و یا هرگونه بیماری ارثی در خود فرد و یا در بستگان

اگر چه در ۴۰ درصد بیماران مشاهده شد اما ارزش معنی داری را نشان نداد (P= 0.630).

از آنتی ژنهای کلاس ۱ آنتی ژنهای A69 و CW6 در گروه بیمار شایعتر و از ارزش معنی داری برخوردار بودند

(PA69(28)=0.045, RR=6.769, EF=0.231 / PCW6=0.042, RR=3.778, EF=0.235).

آنتی ژن B38(16) از آنتی ژنهای HLA-B با ارزش معنی داری در گروه سالم شایعتر از افراد بیمار بود (P=0.034) و در نقش فاکتور محافظت کننده (PF=-0.289) از بیماری شناسایی شد.

در ارتباط با جنس آنتی ژن DQ2 در زنان دیابتی (۵۸/۶٪) شایعتر از مردان (۲۸/۶٪) آن گروه بود که ارزش معنی داری را نشان میداد (P=0.034, RR=3.542, EF= 0.298).

حامل آنتی ژن DQ3 در برابر ۲۷/۶ درصد زنان، بدون ارزش معنی دار مشاهده شدند. وفور آنتی ژن BW6 در زنان دیابتی بیش از مردان (به ترتیب ۵۱/۷٪ در برابر ۲۳/۸٪) و با ارزش معنی داری (P= 0.047, RR=3.429, EF= 0.281) مشاهده گردید.

ولی فقط آنتی ژن DR15/16 از ارزش معنی داری برخوردار بود (PDR15/16=0.021, RR=0.224). با توجه به PF=-0.267 آنتی ژن DR15/16 این آنتی ژن به عنوان فاکتور محافظتی عمل می نماید. در مورد آنتی ژنهای DQ فقط آنتی ژن DQ2 ارتباط مثبتی را با بیماری نشان میدهد چرا که این آنتی ژن در گروه بیمار با درصد بالایی مشاهده شده (p=0.028). RR=3.407 و EF=0.253 مؤید عملکرد این آنتی ژن به عنوان فاکتور مستعد کننده می باشد (جدول ۲). آنتی ژنهای DQ3 و DQ7(3) در افراد سالم از درصد بالا و از ارزش معنی داری برخوردار بودند

(PDQ3=0.022, RR=0.316, PF=-0.265/ PDQ7(3)=0.037, RR=0.167, PF=-0.259).

در بررسی همبستگی آنتی ژنهای کلاس ۲ در گروه بیمار (جدول مربوطه قید نگردیده است)، آنتی ژنهای DR3/DR4 و DR3/DQ2 با ارزش معنی دار بعنوان اتیولوژیک فاکتور مطرح شدند (PDR3/DR4=0.049, RR=3.208, EF=0.28) و DR4/DQ3 (PDR3/DQ2=0.025, RR=3.750, EF=0.318)

جدول ۱: توزیع فراوانی آنتی ژنهای HLA-DR در افراد دیابتی نوع ۱ و افراد سالم

HLA-Ag	افراد بیمار (n=50)		افراد سالم (n=25)		محاسبات آماری		
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	P	X <sup>2</sup>	RR
DR1	۱۱	۲۲	۵	۲۰	۰/۸۴۲	۰/۰۴۰	۱/۱۲۸
DR2	۱۰	۲۰	۷	۲۸	۰/۴۳۵	۰/۶۰۹	۰/۶۴۳
DR15	۶	۱۲	۰	۰	۰/۰۷۹	۳/۲۶۱	NA
DR15,16	۴	۸	۷	۲۸	۰/۰۲۱	۵/۳۲۷	۰/۲۲۴
DR3	۲۴	۴۸	۶	۲۴	۰/۰۴۶	۴/۰۰۰	۲/۹۲۳
DR17	۳	۶	۳	۱۲	۰/۳۱۵	۰/۸۱۵	۰/۴۶۸
DR17,18	۲۱	۴۲	۳	۱۲	۰/۰۰۹	۶/۸۹۳	۵/۳۱۰
DR4	۲۰	۴۰	۰	۰	۰/۰۰۰	۱۳/۶۳۶	NA
DR5	۱۷	۳۴	۹	۳۶	۰/۸۶۴	۰/۰۲۹	۰/۹۱۶
DR11	۱۱	۲۲	۸	۳۲	۰/۳۴۸	۰/۸۸۱	۰/۵۹۹
DR12	۵	۱۰	۰	۰	۰/۱۲۳	۲/۶۷۹	NA
DR11,12	۱	۲۰	۱	۴	۰/۵۵۹	۰/۲۵۷	۰/۴۹۰
DR6	۱۷	۳۴	۹	۳۶	۰/۸۶۴	۰/۰۲۹	۰/۹۱۶
DR13	۱۳	۲۶	۴	۱۶	۰/۳۳۰	۰/۹۵۱	۱/۸۴۵
DR14	۳	۶	۴	۱۶	۰/۱۶۲	۱/۹۷۰	۰/۳۳۵
DR13,14	۱	۲۰	۱	۴	۰/۵۵۹	۰/۲۵۷	۰/۴۹۰
DR7	۹	۱۸	۵	۲۰	۰/۸۳۵	۰/۰۴۴	۰/۸۷۸
DR8	۴	۸	۰	۰	۰/۱۸۹	۲/۱۱۳	NA
DR9	۴	۸	۲	۸	۰/۶۵۸	۰/۰۰۰	۱
DR10	۲	۴	۳	۱۲	۰/۲۰۳	۱/۷۱۴	۰/۳۰۶
DR51	۶	۱۲	۰	۰	۰/۰۷۹	۳/۲۶۱	NA
DR52	۲۱	۴۲	۶	۲۴	۰/۱۲۶	۲/۳۴۴	۲/۲۹۳
DR53	۱۹	۳۸	۸	۳۲	۰/۶۱۰	۰/۲۶۰	۱/۳۰۲

X<sup>2</sup>: chi-square , RR:Relative-risk , EF:Etiologic Fraction , PF: Prevention Fraction, NA: not applicable, Ag : Antigen

جدول ۲: توزیع فراوانی آنتی ژنهای HLA-DQ در افراد دیابتی نوع ۱ و افراد سالم

HLA-Ag	افراد بیمار (n=50)		افراد سالم (n=25)		محاسبات آماری		
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	P	X <sup>2</sup>	RR
DQ1	۱۴	۲۸	۹	۳۶	۰/۴۷۹	۰/۵۰۲	۰/۶۸۱
DQ5	۰	۰	۱	۴	۰/۳۳۳	۲/۰۲۷	NA
DQ6	۲	۴	۰	۰	۰/۴۴۱	۱/۰۲۷	NA
DQ5,6	۱۲	۲۴	۸	۳۲	۰/۴۶۰	۰/۵۴۵	۰/۶۷۱
DQ2	۲۳	۴۶	۵	۲۰	۰/۰۲۸	۴/۸۱۶	۳/۴۰۷
DQ3	۱۸	۳۶	۱۶	۶۴	۰/۰۲۲	۵/۲۷۳	۰/۳۱۶
DQ7	۲	۴	۵	۲۰	۰/۰۳۷	۵/۰۴۲	۰/۱۶۷
DQ8	۱	۲	۰	۰	۰/۶۶۷	۰/۵۰۷	NA
DQ9	۵	۱۰	۴	۱۶	۰/۴۵۱	۰/۵۶۸	۰/۵۸۳
DQ7,8	۱	۲	۱	۴	۰/۵۵۹	۰/۲۵۷	۰/۴۹۰
DQ8,9	۵	۱۰	۵	۲۰	۰/۲۳۰	۱/۴۴۲	۰/۴۴۴
DQ7,8,9	۴	۸	۱	۴	۰/۴۵۸	۰/۴۲۹	۲/۰۸۷
DQ4	۲	۴	۲	۸	۰/۴۰۷	۰/۵۲۸	۰/۴۷۹

X<sup>2</sup>: chi-square, RR: Relative-risk, EF: Etiologic Fraction, PF: Prevention Fraction, NA: not applicable, Ag: Antigen

### بحث

حالیست که Ikegami و همکاران نیز شیوع بالایی از آلهای DQB1\*0301 [DQ7(3)] و DQB1\*0303 [DQ9(3)] را در گروه بیماران ژاپنی در مقایسه با افراد سالم گزارش نموده‌اند (۱۳). در تحقیقاتی بر روی بیماران عراقی، ارتباط مثبت با DR4, DR3 و ارتباط منفی با DR2 هم چنین گزارش گردیده است (۱۴). در کشور ترکیه و کویت نیز آنتی ژن DR3 و DR4 در گروه بیمار شایع بوده‌اند (۱۵، ۱۶، ۱۷). در بیماران ترک اگرچه کاهش در DR1 و DR2 وجود داشت اما از لحاظ آماری معنی دار نبوده ولی ارتباط منفی و معنی دار با DR7 گزارش شده است (۱۵). ارتباط مثبت و معنی دار با DR3، ارتباط منفی و معنی دار با DR2 و عدم ارتباط با هیچیک از آلهای DR4، با تکنیک PCR در ۳۸ بیمار هندی مشاهده شده است (۱۸). در آذر بایجان نیز ارتباط مثبتی با آلهای DQB1\*02 (DQ2)، DQA1\*05 و DQA1\*03 (مترادف سرولوژیک ندارند) و DQB1\*0304 [DQ9(3)] و BQB1\*0302 [DQ8(3)] و ارتباط منفی با DQB1\*0602 [DQ6(1)]، DQB1\*0503 [DQ5(1)]، DQB1\*0301 [DQ7(3)] و DQB1\*0601 [DQ6(1)] و با DRB1\*0403 (DR4) مشاهده گردید (۱۹). البته به این نکته بایستی اشاره کرد که در بیماران آذربایجانی عیناً همین مطالعه ارتباط مثبتی با DQ2 و ارتباط منفی با DQ7(3) مشاهده می‌شود.

یافته‌های این مطالعه هم چنین حاکی از آن است که علاوه بر حضور آنتی ژنهای DR3 و DR4 دو هاپلوتایپ دیگر یعنی DR3/DR4 و DR3/DQ2 نه DR4/DQ8(3) در مستعد سازی بیماران در شهرستان تبریز نیز در گیر می‌باشند. DR4/DQ8(3) و DR3/DQ2 علاوه بر DR3/DR4، دو هاپلوتایپ مهمی هستند که در ۹۰ درصد بیماران دیابتی شناسایی شده‌اند (۵، ۷، ۸، ۹). اغلب این افراد کسانی هستند که فاقد آلل محافظت کننده یعنی DR2/DQ6 در لوکوس ژنی این سیستم می‌باشند (۷، ۸، ۱۰).

همانطوریکه نتایج این مطالعه نشان می‌دهد آنتی ژنهای DR3، DR4 و DR17/18 در نقش اتیولوژیک فاکتور در این بیماران مطرح می‌شوند. DR4 تنها آنتی ژنی است که فقط در گروه بیمار مشاهده گردید. از سوی دیگر در بیشتر مطالعات آنتی ژن DR2 به عنوان آنتی ژن محافظت کننده از بیماری شناسایی شده (۶)، اما در مطالعه فوق این ویژگی برای آنتی ژن DR2 مشاهده نگردید. این در حالی است که دو آنتی ژن DR15 و DR16 که از spilt های DR2 قلمداد می‌شوند ارتباط منفی معنی داری را با بیماری نشان می‌دهند. لذا می‌توان چنین اذعان نمود که DR2 و یا Spilt های آن در جلوگیری از بروز بیماری در افراد سالم نقش قابل توجهی را ایفا می‌کنند.

با توجه به اثبات این مورد که ژنهای DR نمی‌توانند به عنوان تنها جایگاه ژنی در ابتلا به بیماری در گیر باشند (۸)، در این مطالعه نیز آنتی ژن DQ2 در نقش اتیولوژیک فاکتور و DQ3 و SPilit آن یعنی DQ7(3) در نقش فاکتور محافظتی اثبات شد. در مقایسه با نتایج سایر تحقیقات بعمل آمده ملاحظه می‌گردد که ارتباط مثبتی نیز بین این بیماری و آنتی ژن DR3 نه DR4 در بیماران دیابتی در اصفهان وجود داشته و در همان مطالعه فقط ارتباط منفی با DQ1 گزارش گردیده است (۱۱). امیر زرگر و همکاران در مطالعه‌ای که با تکنیک PCR-SSP در شهرستان شیراز انجام دادند ارتباط مثبتی بین این بیماری و آلهای DRB1\*0101 (DR1) و DRB1\*0301 [DR17(3)] و از لکوس ژنی DQ با آلهای DQA1\*0101 (مترادف سرولوژیک ندارد)، DQB1\*0201 (DQ2) و DQB1\*0302 [DQ8(3)] و ارتباط منفی را با آلهای DRB1\*1101 (DR11) و DQB1\*0301 [DQ7(3)] مطرح نمودند (۱۲). آنچه جالب توجه است در هر دوی این مطالعات عین همین پروژة ارتباط مثبتی با DR3، DQ2 و ارتباط منفی با DQ7(3) دیده می‌شود. این در

DR3 در زنان و DR4 در مردان ترک اما بدون ارتباط معنی دار در تحقیقات Ozshain دیده می شود (۱۵).

### نتیجه گیری

با توجه به نقش هاپلوتایپهای مهم DR3/DQ2، DR3/DR4 و DR4/DQ8(3) علاوه بر DR3 و DR4 در مستعد سازی افراد سفید پوست به بیماری، در این مطالعه نیز شاهد حضور DR3، DR4، DR3/DR4، DR3/DQ2 و DR4/DQ8(3) بودیم. بنابراین غربالگری آنتی ژنهای لکوسیتی بویژه آنتی ژنهای کلاس ۲ قبل از آنکه آنتی بادیهای ضد آنتی ژنهای جزایر، سلولهای بتا پانکراس را هدف قرار دهند و به انسولینوپنیا منجر شوند روش ارزشمندی در شناسایی افراد در معرض خطر می تواند محسوب گردد. البته بایستی در نظر داشت که با توجه به شیوع مختلف آلهای درگیر در بیماری در بین نژادهای مختلف و نیز وجود پدیده پیوستگی ترجیحی، مطالعات بیشتر دیگری به منظور شناسایی دقیق آلهای آنتی ژنهای درگیر در بیماری لازم است.

### تقدیر و تشکر

از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بویژه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه که در تامین بودجه این پروژه مساعدتهای فراوان را مبذول داشتند و نیز از راهنمایی های ارزنده سرکار خانم فریده خسروی عضو محترم هیئت علمی از بخش ایمونوژنتیک دانشگاه علوم پزشکی تهران، از آقای محمد خالد بهرام از سازمان انتقال خون تبریز، همکاران بخش غدد بیمارستانهای کودکان و سینا شهرستان تبریز و هم چنین از تمامی بیماران و عزیزانی که در انجام این پروژه ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می نمایم.

### References

- Heurtier AH, Boitard C. T cell regulation in human and human autoimmune diabetes: The role of Th1 and Th2 cells. *Diabetes and Metabolism* 1997; **23**: 377-385.
- Yagi N, Yokono K, Amano K, Nagata M., Tsukamoto K, Hasegawa Y, et al. Expression of intracellular adhesion molecule-1 on pancreatic  $\beta$ -cells accelerates  $\beta$ -cells destruction by cytotoxic T cells in murine autoimmune diabetes. *Diabetes* 1995; **44**: 744-752.
- Marria R, Testi R. Fas-FasL interaction: a common pathogenetic mechanism in organ-specific autoimmunity. *Immunology Today* 1998; **19**(3): 121-125.
- Knip M. Natural course of preclinical type 1 diabetes. *Horm Res* 2002; **57**: 6-11.
- Gillespie KM. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ* 2006; **175**(2).
- Paul WE. *Fundamental immunology*. 5<sup>th</sup> ed. Baltimore; Williams & Wikis. 2003; chapter **19**: 571-612
- Pugliese A, Eisenbarth GS. Type-1 diabetes: molecular, cellular, and clinical immunology. Chapter 7: Type 1 diabetes mellitus of man: Genetic susceptibility and resistance. [www.uchsc.edu/misc/diabetes/oxch7](http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/oxch7)
- Undlien DE, Lie BA, Thorsby E. HLA complex genes in type1 diabetes and other autoimmune diseases. Which genes are involved? *Trends in Genetics* 2001; **17**: 93-100
- Kawabata Y, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Shintani M, Nishino M, et al. Asian-specific HLA haplotypes reveal heterogeneity of the contribution of HLA-DR and -DQ haplotype to susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; **51**: 545-551.

اگرچه در مطالعه بیماران ژاپنی وجود هیچیک از این هاپلوتایپها تأیید نگردیده است (۹). محققین الجزایری نیز با روش MLC حضور هاپلوتایپهای DR3/DR4 را در تحقیقات خود بر روی ۳۹ بیمار دیابتی نشان دادند (۲۰). آقای Berkos و همکاران نیز در روش سرو لوژیک مؤید حضور همین هاپلوتایپها در سنت پترزبورگ می باشند (۲۱).

اگرچه در بیماری دیابت نقش آنتی ژنهای کلاس ۱ کم رنگتر گردیده اما عده ای از محققین بر این باورند که آنتی ژنهای سیستم HLA کلاس ۱ علاوه بر کلاس ۲ در مستعد سازی به دیابت نقش داشته و سایر جنبه های کلینیکی مانند سن شروع بیماری و میزان تخریب سلولهای بتا را متاثر می سازند. بعنوان مثال بیشترین ریسک بیماری در سفیدپوستان زمانی مشاهده میشود که آلهای A8 و B15 علاوه بر آلهای مستعد کننده HLA کلاس ۲، در ژنوتیپ این افراد وجود داشته باشند. افزایش استعداد ابتلاء به بیماری با آنتی ژن B54 در بیماران ژاپنی گزارش شده است (۲۰). در این مطالعه از آنتی ژنهای کلاس ۱ فقط آنتی ژنهای A69(28) و CW6 در نقش اتیولوژیک فاکتور و B38(16) از آنتی ژنهای سیستم HLA-B به عنوان یک فاکتور محافظتی در برا بر بیماری شناسایی شدند.

عدم وجود ارتباط جنس با آنتی ژنهای سیستم HLA از سوی بسیاری از محققین عنوان می شود (۱۱) اما در این مطالعه دو آنتی ژن DQ2 و BW6 در زنان بیش از مردان بر سطح لمفوسیتها بارز شده اند که هر دو از ارزش معنی داری برخوردارند. از آنجائیکه DQ2 به عنوان آنتی ژن درگیر در بروز بیماری در همین پروژه شناسایی شده است لذا این آنتی ژن در زنان بیشتر از مردان دیابتی در مستعد سازی به بیماری ایفا نقش میکند. شیوع بالای

10. Nepom GT, Kwok WW. Molecular basis for HLA-DQ associations with IDDM. *Diabetes* 1998; **47**: 1177-1184.
۱۱. ادیب م، ابوالحسنی ر. بررسی شیوع آنتی ژنهای HLA-DR و HLA-DQ در بیماران مبتلاء به دیابت وابسته به انسولین و مقایسه آن با افراد طبیعی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۷۵: ۴۵: صص ۷۹-۷۵.
12. Amirzargar A, Mostafavi H, Farjadian Sh, Ghaderi A. Association of HLA- class II alleles susceptibility to type I diabetes in southern Iranian patients. *Iran J Med Sci* 2000; **25**(3&4): 109-113.
13. Ikegami H, Kawaguchi Y, Yamato E, Kuwata S, Tokunaga K, Noma Y, Shima K, Ogihara T. Analysis by the polymerase chain reaction of histocompatibility leukocyte antigen-DR9 linked susceptibility to insulin- dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Meta.* 1992; **75**: 1381-1385.
14. Jabbar AA, Mezaal TJ, Dawood FH. Association of HLA antigens with diabetes mellitus in an Iraqi population. *Dis Markers.* 1989; **7**(2): 79-85.
15. Ozsahin H, Haktan M, Ozbakir F, Aydin A, Yazici H. The type 1 diabetes and HLA-DR in Turkey. *Diabete Metab.* 1991; **17**(4): 421-423.
16. Richenes ER, Shaltout A, Bahr GM, Abdella N, Jayyab AK, et al. Insulin binding substances, autoimmunity and type I diabetes in Kuwaiti patients and their kindred. *Acta Diabetol Lat.* 1989; **26**(2): 115-122.
17. Direskeneli GS, Aytul Uyar F, Bas F, Gunoz H, Bundak R, Saka N, Darendeliler F. HLA-DR and -DQ associations with Insulin- dependent diabetes mellitus in a population of Turkey. *Human Immunology* 2000; **61**: 296-302.
18. Tandon N, Rajalingam R, Mehra NK. Association of HLA-DRB1 alleles in Asian Indian patients with Insulin dependent diabetes mellitus and graves disease. *Human Immunology* 1996; **47**: 153-156.
19. Ahmedov G, Ahmedova L, Sedlakova P, Cinek O. Genetic association of type 1 diabetes in an Azerbaijanian population: the HLA-DQ, -DRB1\*04, the insulin gene, and CTLA4. *Pediatr Diabetes* 2006; **7**(2): 88-93.
20. Aribi M, Moulessehoul S, Benabadgi A, Kendoucitani M. HLA DR phenotypic frequencies and genetic risk of type 1 diabetes in west region of Algeria, Tlemcen. *BMC Genetics* 2004; **5**(24): 1471-2156.
21. Berkos AS, Bubnova LN, Beliaeva VN, Erochina N, Erochina, LV. The association of HLA-antigens with insulin- dependent diabetes mellitus (IDDM) in Saint-Petersburg (Russia). *Human Immunology* 1996; **47**: 156.