

# خون

فصلنامه علمی پژوهشی

دوره ۱۲ شماره ۳ پاییز ۹۴ (۲۴۳-۲۲۳)

مقاله پژوهشی

## ارتباط آلل‌های HLA-A,-B,-DRB1 در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد (AML) در استان کرمان

محسن احسان<sup>۱</sup>، سعید آبرون<sup>۲</sup>، احمد انجم شعاع<sup>۳</sup>، محسن رضاپور<sup>۲</sup>، زهرا رضابی<sup>۱</sup>

### چکیده سابقه و هدف

سیستم HLA نقش کلیدی در فرار سلول‌های سرطانی از سیستم ایمنی ایفا می‌کند. AML سرطان رده میلوئیدی سلول‌های خونی است که با رشد سریع سلول‌های سفید غیر طبیعی در مغز استخوان شناخته می‌شود. مطالعه‌های متعدد در سراسر جهان ارتباط AML با آلل‌های HLA را بررسی نموده‌اند. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین آلل‌های HLA-A,-B,-DRB1 و بیماری AML در استان کرمان انجام شد.

### مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مورد - شاهدی، آلل‌های HLA-A,B,-DRB1 با استفاده از روش مولکولی PCR-SSP در ۳۳ بیمار AML و ۲۷۰ فرد گروه شاهد سالم غیر مرتبط با بیماران در استان کرمان ایران بررسی گردید. یافته‌ها توسط آزمون <sup>۳</sup>٪ و نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

در این بررسی فراوانی آلل HLA-A\*11 در بیماران مبتلا به AML، ۱۹ مورد (۲۸/۸٪) و در گروه کنترل سالم ۹۲ مورد (۱۷٪) بود که با  $p=0.02$ ،  $OR=1/97$  و  $CI=1/10-3/51$  نشان‌دهنده وجود ارتباط مثبت معنادار بین حضور این آلل و بیماری AML بود.

### نتیجه‌گیری

وجود HLA-A\*11 در بیماران AML ممکن است فاکتور مستعد کننده‌ای برای ابتلا به این بیماری باشد.

**کلمات کلیدی:** لوسمی میلوئیدی حاد، HLA-A، HLA DRB1، فراوانی آلل

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۳/۳

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی و بانک خون - دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران و دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان - کرمان - ایران
- ۲- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی و بانک خون - دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۳۳۱
- ۳- PhD ژنتیک پزشکی - استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان - کرمان - ایران
- ۴- PhD آمار - استادیار دانشکده ریاضی و کامپیوتر دانشگاه شهید باهنر کرمان - کرمان - ایران
- ۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی - دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان - کرمان - ایران

در نقاط مختلف دنیا شده است. بدخیمی سلول‌های سرطانی تا حدود زیادی توسط فعالیت تکثیری کترول نشده، مقاومت به آپوپتوز و توانایی سلول‌های سرطانی در تهاجم به بافت‌های میزبان و متاستاز به مناطق دور دست تعیین می‌گردد(۵).

وجود این احتمال که سرطان می‌تواند به وسیله پاسخ‌های ایمنی کترول شود، سبب شده است تا تحقیقات وسیعی در زمینه ایمونولوژی سرطان انجام پذیرد. نظریه مراقبت ایمنی که به وسیله برنت در دهه ۱۹۵۰ مطرح شد، تأکید می‌کند که وظیفه فیزیولوژیک سیستم ایمنی آن است که کلون‌های سلولی تغییر شکل یافته را پیش از آن که رشد مضاعف نمایند و به صورت توده سرطانی درآیند، شناسایی و منهدم نمایند و در صورتی که نتواند آن‌ها را نابود کند، فعالیت آن‌ها را تا حد ممکن محدود سازد(۶).

لوسمی میلوئید حاد (AML) یک بیماری بدخیم کلونال خون است که با تجمع سلول‌های میلوئید نابالغ و اختلال در خونسازی طبیعی همراه است(۷). تقریباً به ازای هر ۱۰۰۰۰ کودک، ۲ تا ۳ نفر از آن‌ها به لوسمی میلوئید حاد مبتلا می‌شوند که با افزایش سن میزان ابتلا به ۱۵ نفر در هر ۱۰۰۰۰ فرد بزرگسال می‌رسد. علت اصلی لوسمی میلوئید حاد هنوز کاملاً مشخص نیست ولی مطالعه‌های گوناگون صورت گرفته در این مبحث، از تاثیر عوامل محیطی و ژنتیکی در استعداد ابتلا به این بیماری حکایت می‌کنند. مقادیر بسیار بالای اشده‌های یونیزیان، تماس مداوم با بتن، استنشاق مزمن دود تباکو، مصرف الکل و از همه مهم‌تر بیماران دارای لغفوم یا سرطان‌های غیر خونی که در معرض شیمی درمانی شدید قرار می‌گیرند، به خصوص در مواردی که درمان بیمار با عوامل آکلیله کننده یا مهارکننده‌های توپوازی و مراز II صورت گرفته است، از جمله مهم‌ترین عوامل مستعد کننده محیطی هستند که موجب ابتلا به لوسمی میلوئید حاد (AML) می‌شوند(۸).

تریزومی ۲۱ (سندرم داون)، آنمی فانکونی، سندرم شواخمن - دیاموند، مونوزومی ۷ خانوادگی و بسیاری از بیماری‌های مادرزادی دیگر از جمله بیماری‌های ژنتیکی مستعد کننده ابتلا به AML می‌باشند(۹-۱۲). علاوه بر بیماری‌ها و سندرم‌های ژنتیکی مذکور که استعداد ابتلا به

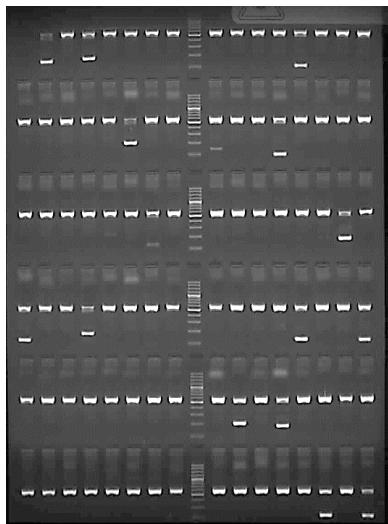
لوكوس‌های ژنتیکی که در پس زدن بافت‌های بیگانه دخالت دارند، کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC = Major Histocompatibility Complex) نامیده می‌شوند. عملکرد اصلی این کمپلکس در واقع ارایه آنتی‌ژن‌های عرضه شده توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن به لنفوцит‌های T می‌باشد. جایگاه ژنی MHC حاوی بیشترین اطلاعات برای عرضه مناسب آنتی‌ژن‌ها بوده و به سه ناحیه ژنی مشخص کلاس I، II و III تقسیم می‌شود. در کلاس I جایگاه‌های ژن‌های A، B و C و در کلاس II جایگاه‌های ژن‌های DR، DQ و DR وجود دارند که در نهایت موجب تولید پروتئین‌هایی بدین نام‌ها می‌شوند. هر یک از پروتئین‌های کلاس II دارای زنجیره‌های  $\alpha$  و  $\beta$  هستند که تحت عنوان DRA1 و DRB1 و یا DPB1 و... نام‌گذاری می‌شوند. در ناحیه کلاس III نیز جایگاه‌های ژن‌های مهمی وجود دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به ژن‌های برخی از پروتئین‌های کمپلمان (C2، C4A، C4B) یا از سایتوکاین‌ها (TNF- $\beta$ ، LTA و LTB) و نیز پروتئین‌های شوک حرارتی اشاره کرد.

مطالعه آل‌ها و هاپلوتیپ‌های HLA به چند جهت دارای اهمیت هستند: ۱- پیوند بافت و اعضا، ۲- مطالعه‌های مردم شناسی، مهاجرت و آمیختگی‌های جوامع مختلف، ۳- تایید یا رد اصالت والدین و تشخیص هویت در پژوهشکی قانونی، ۴- مطالعه ارتباط آل‌ها و هاپلوتیپ‌های HLA با خطر ابتلا و یا مقاومت به یک سری از بیماری‌ها که اهمیت بالینی نیز دارد(۴).

به جهت نقش اصلی مولکول‌های HLA در تنظیم پاسخ ایمنی و پلی‌مورفیسم بسیار زیاد این سیستم، تحقیقات نشان‌دهنده این نکته بوده که برخی از آل‌های HLA، با یک سری از بیماری‌ها مرتبط می‌باشند. از جمله مهم‌ترین بیماری‌هایی که ارتباطشان با تعدادی از آل‌های HLA بررسی شده است: بیماری‌های اتوایمیون، بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها هستند.

سرطان یکی از مشکلات اصلی سلامت در سراسر جهان است. این بیماری از جمله بیماری‌هایی است که تا کنون موجب مرگ و میر بسیاری از کودکان و بزرگسالان

سپس الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز توسط بافر TBE1x انجام شد. پس از اتمام مرحله الکتروفورز، با استفاده از دستگاه ژل داک از ژل تصویربرداری انجام شد و تصاویر به دست آمده توسط (Morgan<sup>TM</sup> SSPal HLA Typing Analysis TBG نرمافزار Software نسخه ۲/۳ آنالیز شدند(شکل ۱). بدین طریق آل های HLA-A,-B,-DRB1 گروه‌های هدف تعیین گشت. پس از اتمام مراحل آزمایشگاهی به منظور بررسی تفاوت فراوانی هر یک از آل‌های HLA-A,-B,-DRB1، در میان گروه بیماران AML و گروه کنترل سالم از آزمون مربع کای استفاده شد. در بررسی وجود رابطه بین آل‌های HLA-A,-B,-DRB1، گروه بیمار با گروه کنترل سالم، نسبت شانس ابتلا(OR) و فاصله اطمینان آن ۹۵٪(CI) بوده و  $p = 0/05$  یا کمتر از آن معنادار در نظر گرفته شد. تمامی این محاسبات با استفاده از نرمافزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.



شکل ۱: تصویری به دست آمده از الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

لوسمی را افزایش می‌دهند، برخی از آل‌های HLA نیز به عنوان عوامل ایمنوژنتیک مؤثر، می‌توانند در استعداد ابتلا و یا ایجاد مقاومت به لوسمی نقش داشته باشند(۱۳-۱۸).

بنابراین مطالعه آل‌های HLA در بیماران AML می‌تواند از دو جهت حائز اهمیت باشد: به عنوان مکملی در کنار سایر آزمایش‌های تشخیصی، می‌تواند به تعیین پیش‌آگهی، چگونگی روند درمان و یا حتی احتمال عود مجدد بیماری کمک کند و این که استفاده از اطلاعات به دست آمده از ایمنوژنتیک مبتلایان می‌تواند به عنوان فاکتور خطر مستعد کننده به ابتلا و یا عامل مقاومت‌دهنده به بیماری در جوامع مختلف بررسی شود (۱۹-۲۱). در این مطالعه گروه مردم کرمان برای بررسی موارد فوق انتخاب شد.

## مواد و روش‌ها

نوع مطالعه اپیدمیولوژیک در نظر گرفته شده برای این تحقیق، مورد- شاهدی بود، از همین رو ۳۳ بیمار مبتلا به AML ۱۴ زن با میانگین سنی  $36/5 \pm 11/6$  سال و مرد با میانگین سنی  $33/2 \pm 15/3$  سال) که بر اساس تشخیص پزشک معالجشان در بخش انکولوژی بیمارستان باهنر کرمان بستری بودند و ۲۷۰ نفر از گروه کنترل سالم (۱۳۰ زن با میانگین سنی  $29/9 \pm 15/8$  سال و ۱۴۰ مرد با میانگین سنی  $29/6 \pm 16/8$  سال) که هیچ نسبت فامیلی با بیماران نداشتند، مورد بررسی قرار گرفتند. از افراد مذکور به میزان ۲/۵ میلی لیتر نمونه خون محیطی در ویال حاوی ضد انعقاد DETA-K2(2H<sub>2</sub>O) ۵٪ جمع‌آوری گردید. با استفاده از روش ستونی، DNA ژنومی نمونه‌ها استخراج شد.

از کیت ABDR-PCR-SSP محصول کمپانی TBG به منظور انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و تکثیر آل‌های HLA-A,-B,-DRB1 استفاده شد. این کیت دارای یک مجموعه ۹۶ چاهکی است که چاهک اول کنترل منفی تست می‌باشد، چاهک‌های ۲ تا ۲۴ مربوط به بررسی HLA-B، چاهک‌های ۲۵ تا ۷۲ مربوط به بررسی HLA-A و چاهک‌های ۷۳ تا ۹۶ مربوط به بررسی HLA-DRB1 هستند. بر طبق دستورالعمل کیت، روند تکثیر آل‌های HLA-A,-B,-DRB1 طی شد.

## یافته‌ها

### لوكوس HLA-A:

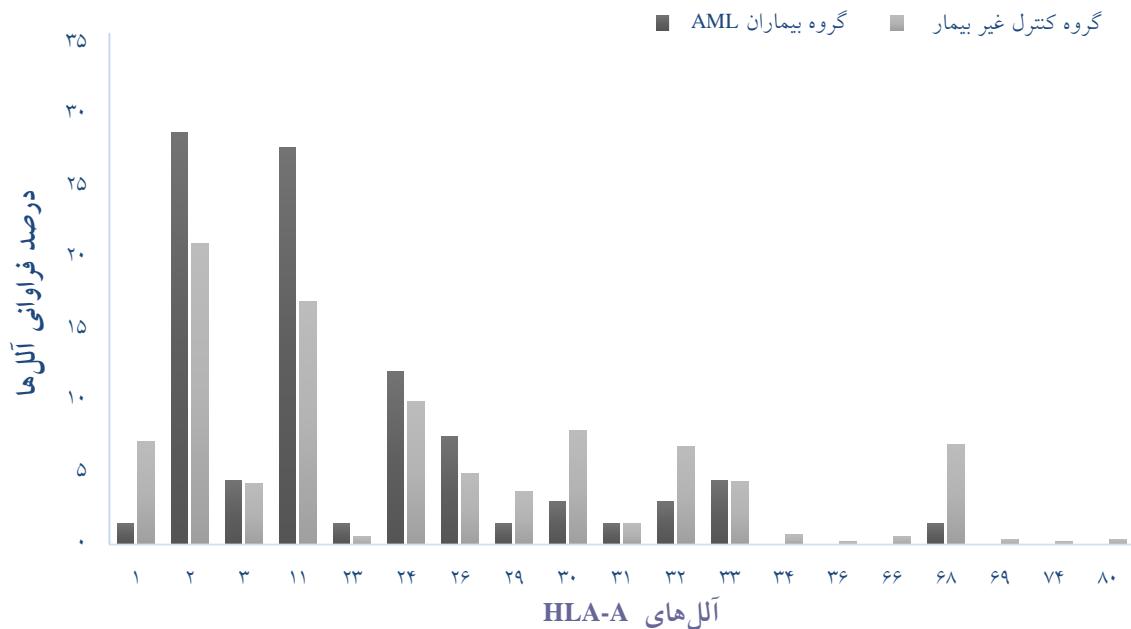
در مطالعه لوكوس HLA-A به منظور بررسی آل‌های مستعد کننده برای بیماری AML، آل HLA-A\*11 با فراوانی ۱۹ مورد(٪۲۸/۸) در بیماران و ۹۲ مورد(٪۱۷) در

با  $p=0.08$ ،  $OR = 0.19$  و  $CI = 0.03-1.46$  هم چنین آلل HLA-A\*68 با فراوانی ۱ مورد در بیماران  $(0.1/5)$  و ۳۸ مورد  $(0.7/2)$  در گروه کنترل سالم با  $0.08$  در برابر گروه کنترل سالم با  $0.02$ ،  $OR = 1.97$  و  $CI = 1.10-3.51$  به عنوان آلل مستعدکننده معنادار در ابتلا به بیماری AML، شناخته شد.

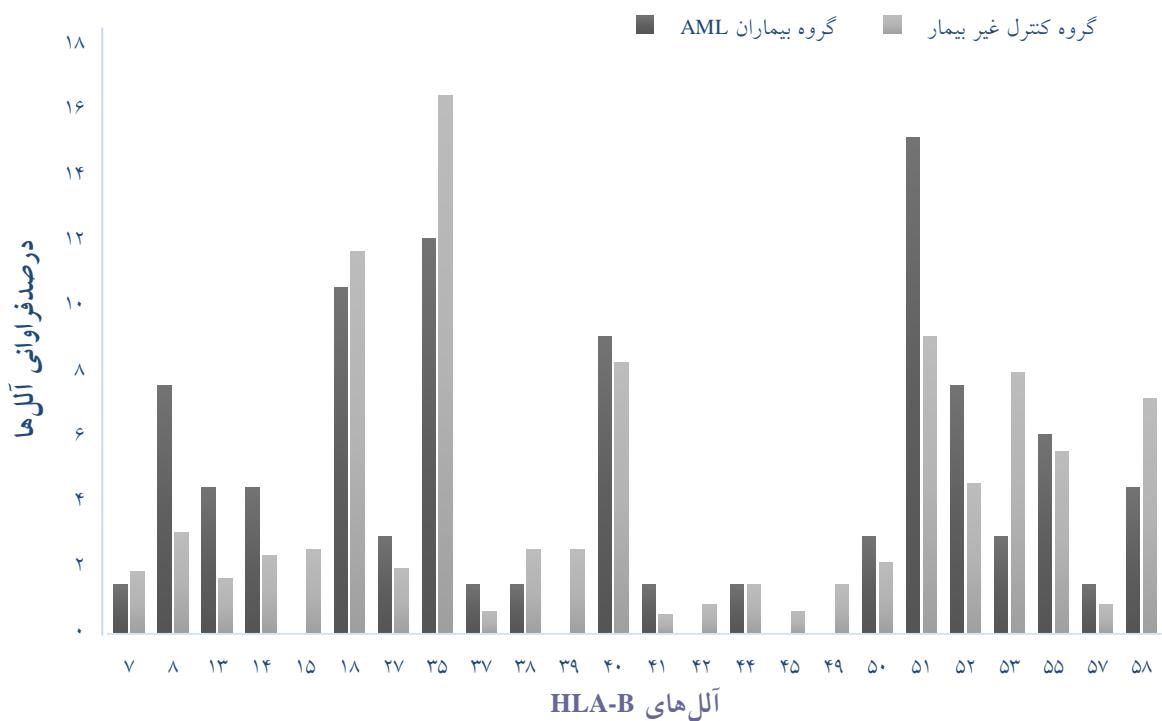
در بررسی آلل‌های محافظت‌کننده در برابر بیماری AML، آلل محافظت‌کننده معناداری در برابر بیماری یافت نشد. در این لوکوس آلل HLA-A\*01 با فراوانی ۱ مورد در بیماران دارند ولی این تفاوت‌ها معنادار نبودند(جدول ۱) و نمودار (۱).

جدول ۱: بررسی آلل‌های لوکوس HLA-A گروه بیمار و گروه کنترل سالم

p value	فاصله اطمینان ٪۹۵		شанс ابتلا	گروه کنترل سالم (۲۷۰ نفر)		بیماران (۳۳ نفر)		HLA-A
	P*	CI		OR	درصد	آلل (۵۴۰)	درصد	
0.08	0.03-1.46	-	-	0.19	7/20	۳۹	1/5	۰۱
-	-	-	-	-	۲۱/۱۰	۱۱۴	۲۸/۸	۰۲
-	-	-	-	-	۴/۳۰	۲۳	۴/۵	۰۳
0.02	1.10-3.51	-	-	1.97	۱۷	۹۲	۲۸/۸	۱۱
-	-	-	-	-	۰/۶۰	۳	1/۵	۲۳
-	-	-	-	-	۱۰	۵۴	۱۲/۱۰	۲۴
-	-	-	-	-	۵	۲۷	۷/۶۰	۲۶
-	-	-	-	-	۳/۷۰	۲۰	۱/۵	۲۹
-	-	-	-	-	۸	۴۳	۳	۳۰
-	-	-	-	-	1/۵۰	۸	1/۵	۳۱
-	-	-	-	-	6/۹	۳۷	۳	۳۲
-	-	-	-	-	4/۴۰	۲۴	۴/۵	۳۳
-	-	-	-	-	0/۷۰	۴	۰	۳۴
-	-	-	-	-	0/۲۰	۱	۰	۳۶
-	-	-	-	-	0/۶۰	۳	۰	۶۶
0.08	0.03-1.51	-	-	0.20	۷	۳۸	1/5	۶۸
-	-	-	-	-	0/۴۰	۲	۰	۶۹
-	-	-	-	-	0/۲۰	۱	۰	۷۴
-	-	-	-	-	0/۴۰	۲	۰	۸۰



نمودار ۱: مقایسه آلل‌های لوکوس HLA-A گروه بیمار با گروه کنترل سالم



نمودار ۲: مقایسه آلل‌های لوکوس HLA-B گروه بیمار با گروه کنترل سالم

جدول ۲: بررسی آلل‌های لوکوس HLA-B گروه بیمار و گروه کنترل سالم

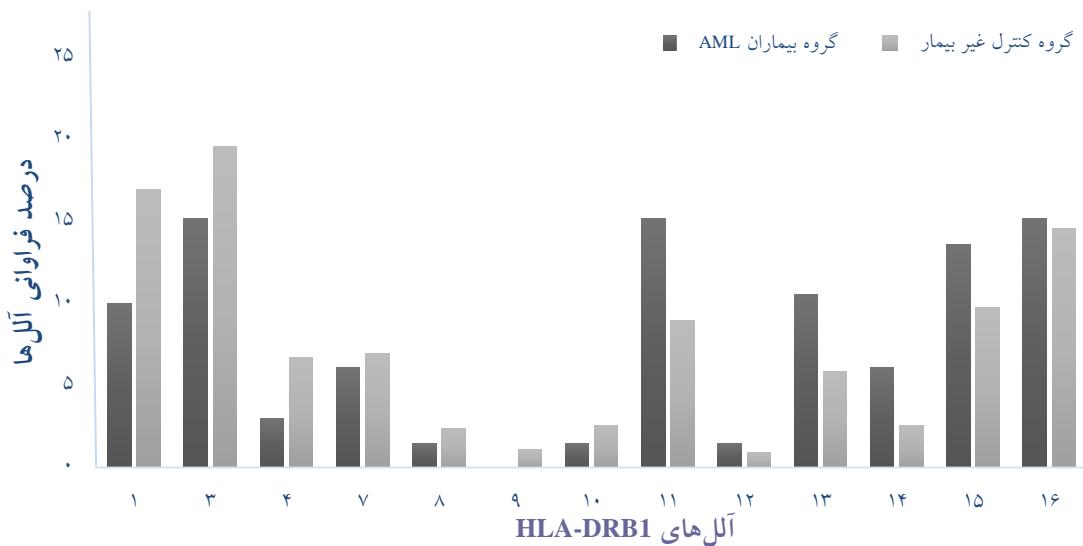
p value	فاصله اطمینان ٪۹۵		شانس ابتلا	گروه کنترل سالم (۲۷۰ نفر)		بیماران (۳۳ نفر)		HLA-B
	P*	CI		OR	درصد	آلل (۵۴۰)	درصد	
-	-	-	1/۹۰	۱۰	۱/۵	۱	۰۷	
۰/۰۷	۰/۸۹-۷/۰۸	۲/۸۱	۳/۱۰	۱۷	۷/۶۰	۵	۰۸	
-	-	-	۱/۷۰	۹	۴/۵	۳	۱۳	
-	-	-	۲/۴۰	۱۳	۴/۵	۳	۱۴	
-	-	-	۱۱/۷	۱۴	۰	۰	۱۵	
-	-	-	۲	۶۳	۱۰/۶	۷	۱۸	
-	-	-	۱۶/۵	۱۱	۳	۲	۲۷	
-	-	-	۰/۷۰	۸۹	۱۲/۱۰	۸	۳۵	
-	-	-	۲/۶۰	۴	۱/۵	۱	۳۷	
-	-	-	۲/۶۰	۱۴	۱/۵	۱	۳۸	
-	-	-	۸/۳۰	۴۵	۰	۰	۳۹	
-	-	-	۰/۶۰	۳	۹/۱	۶	۴۰	
-	-	-	۰/۹۰	۵	۱/۵	۱	۴۱	
-	-	-	۱/۵۰	۸	۰	۰	۴۲	
-	-	-	۰/۷۰	۴	۱/۵	۱	۴۴	
-	-	-	۸	۰	۰	۰	۴۵	
-	-	-	۱/۵۰	۸	۰	۰	۴۹	
-	-	-	۲/۲۰	۱۲	۳	۲	۵۰	
۰/۱۲	۰/۸۶-۳/۷۳	۱/۷۹	۹/۱۰	۴۹	۱۵/۲	۱۰	۵۱	
-	-	-	۴/۶۰	۲۵	۷/۶۰	۵	۵۲	
۰/۱۵	۰/۸۵-۱/۰۲	۰/۳۶	۸	۴۳	۳	۲	۵۳	
-	-	-	۵/۶۰	۳۰	۶/۱	۴	۵۵	
-	-	-	۰/۹۰	۵	۱/۵	۱	۵۷	
-	-	-	۷/۲۰	۳۹	۴/۵	۳	۵۸	

سالم با  $p=0/12$ ،  $OR=1/79$  و  $CI=0/86-3/73$  به  $HLA-B$  لوکوس می‌رسند که افزایش فراوانی محسوسی نسبت به سایر آلل‌ها در بیماران دارند ولی این تفاوت‌ها معنادار نبودند. در بررسی آلل‌های محافظت کننده در برابر بیماری AML در لوکوس HLA-B، آلل معناداری یافت نشد. هر چند که آلل HLA-B\*53 با فراوانی ۲ مورد در بیماران (٪۰/۳) و ۴۹ مورد (٪۰/۹۱) در گروه کنترل سالم با  $p=0/15$  و  $OR=0/36$  و  $CI=0/85-1/02$  به نظر می‌رسد که در مطالعه لوکوس HLA-B به منظور بررسی آلل‌های مستعدکننده برای بیماری AML، آلل مستعد کننده معناداری یافت نشد. در این لوکوس آلل HLA-B\*08 با فراوانی ۵ مورد در بیماران (٪۰/۷/۶) و ۱۷ مورد (٪۰/۳/۱) در گروه کنترل سالم با  $p=0/07$  و  $OR=2/81$  و  $CI=0/89-7/08$  و هم چنین آلل HLA-B\*51 با فراوانی ۱۰ مورد در بیماران (٪۰/۱۵/۲) و ۴۹ مورد (٪۰/۹/۱) در گروه کنترل

در مطالعه لوکوس HLA-B به منظور بررسی آلل‌های مستعدکننده برای بیماری AML، آلل مستعد کننده HLA-B\*08 یافت نشد. در این لوکوس آلل HLA-B\*08 با فراوانی ۵ مورد در بیماران (٪۰/۷/۶) و ۱۷ مورد (٪۰/۳/۱) در گروه کنترل سالم با  $p=0/07$  و  $OR=2/81$  و  $CI=0/89-7/08$  و هم چنین آلل HLA-B\*51 با فراوانی ۱۰ مورد در بیماران (٪۰/۱۵/۲) و ۴۹ مورد (٪۰/۹/۱) در گروه کنترل

جدول ۳: بررسی آلل‌های لوکوس HLA-DRB1 گروه بیمار و گروه کنترل سالم

p value	فاصله اطمینان(٪۹۵)	شانس ابتلا	گروه کنترل سالم (۲۷۰ نفر)			بیماران (۳۳ نفر)		HLA-DRB1
			P*	CI	OR	درصد	آلل (۵۴۰)	
0/۱۸	۰/۲۶-۱/۳۱	۰/۵۸	۱۷	۹۲	۱۰	۷	۰۱	
-	-	-	۱۹/۶۰	۱۰۶	۱۵/۲	۱۰	۰۳	
-	-	-	۶/۷۰	۳۶	۳	۲	۰۴	
-	-	-	۷	۳۸	۶/۱	۴	۰۷	
-	-	-	۲/۴۰	۱۳	۱/۵	۱	۰۸	
-	-	-	۱/۱۰	۶	۰	۰	۰۹	
-	-	-	۲/۶۰	۱۴	۱/۵	۱	۱۰	
0/۱۰	۰/۸۸-۳/۸۲	۱/۸۳	۹	۴۸	۱۵/۲	۱۰	۱۱	
-	-	-	۰/۹۰	۵	۱/۵	۱	۱۲	
-	-	-	۵/۹۰	۳۲	۱۰/۶	۷	۱۳	
-	-	-	۲/۶۰	۱۴	۶/۱	۴	۱۴	
-	-	-	۹/۸۰	۵۳	۱۳/۶۰	۹	۱۵	
-	-	-	۱۴/۶۰	۷۹	۱۵/۲	۱۰	۱۶	
-	-	-	۱/۵۰	۸	۰	۰	۴۹	
-	-	-	۲/۲۰	۱۲	۳	۲	۵۰	
0/۱۲	۰/۸۶-۳/۷۳	۱/۷۹	۹/۱۰	۴۹	۱۵/۲	۱۰	۵۱	
-	-	-	۴/۶۰	۲۵	۷/۶۰	۵	۵۲	
0/۱۵	۰/۸۵-۱/۵۲	۰/۳۶	۸	۴۳	۳	۲	۵۳	
-	-	-	۵/۶۰	۳۰	۶/۱	۴	۵۵	
-	-	-	۰/۹۰	۵	۱/۵	۱	۵۷	
-	-	-	۷/۲۰	۳۹	۴/۵	۳	۵۸	



نمودار ۳: مقایسه آلل‌های لوکوس HLA-DRB1 گروه بیمار با گروه کنترل سالم

تحقیقات با یکدیگر در این بخش سعی شده به بررسی مطالعه‌هایی که به روش مولکولار انجام شده‌اند پرداخته شود.

در سال ۲۰۰۲ گوانس و همکارانش در بررسی آل‌های HLA کلاس I و II ۱۵۰ بیمار AML در انگلستان، ارتباط معنادار میان بیماری و آل‌های HLA نیافتند(۲۵). با توجه به نتایج بررسی حاضر، به دست آمدن چنین نتایجی دور از ذهن نیست چرا که از بین آل‌های HLA کلاس I و II مطالعه اخیر نیز تنها آل HLA-A\*11 معنادار بود.

در سال ۲۰۰۶ صراف نژاد و همکارانش به بررسی آل‌های HLA کلاس II بیماران AML در ایران پرداختند و آل HLA-DRB1\*11 را به عنوان عامل مستعد کننده در بیماران معرفی نمودند(۲۶). در نتایجی هم که در این مطالعه به دست آمده، HLA- DRB1\*11 در گروه بیماران افزایش فراوانی داشت ولی در مقایسه با گروه کنترل معنادار نبود، ممکن است تعداد کم بیماران مطالعه شده در این ارزیابی، علت این امر باشد.

در سال ۲۰۱۳ فرنانداز - تورز و همکارانش در مطالعه آل‌های HLA کلاس I بیماران AML در مکزیک، آل HLA-B\*27 را به عنوان فاکتور ژنتیکی مستعد کننده و آل‌های ۱۵ HLA-B\*15 و HLA-B\*40 را به عنوان فاکتورهای ژنتیکی مقاومت دهنده در برابر AML معرفی کردند(۲۷). نکته جالب مقایسه پژوهش فوق با مطالعه انجام شده این است که از آل HLA-B\*15 حتی یک مورد هم در بیماران کرمانی دیده نشد، شاید بتوان آن را به عنوان عامل مقاومت دهنده بررسی کرد هر چند که به علت فراوانی کم HLA-B\*15 در گروه کنترل سالم، این ارتباط معنادار نبود.

مقایسه مطالعه‌هایی که پیش از این انجام شده با مطالعه اخیر بیانگر یک سری تفاوت در نتایج می‌باشد که اشاره به ۲ نکته مهم در این بین می‌تواند راه‌گشا باشد: اول این که با توجه به گستردگی آل‌های HLA کلاس I و II به علت پلی‌مورفیسم فراوان آنها و تنوع ژنتیکی متفاوت گسترش آل‌های HLA در میان اقوام و نژادهای مختلف جهان رسیدن به نتایج یکسان دشوار است، دوم این که فاکتورهای متعدد محیطی و ژنتیکی در ایجاد بیماری AML نقش دارند و نمی‌توان یک عامل را صرفاً به عنوان دلیل

کاهش فراوانی محسوسی نسبت به سایر آل‌ها در بیماران دارد ولی این تفاوت معنادار نبود(نمودار ۲ و جدول ۲).

#### لوكوس HLA-DRB1

در مطالعه لوكوس HLA-DRB1 به منظور بررسی آل‌های مستعد کننده برای بیمار AML ، آل مستعد کننده معناداری یافت نشد. در این لوكوس آل HLA- DRB1\*11 با فراوانی ۱۰ مورد در بیماران (٪۱۵/۲) و ۴۸ مورد (٪۸/۹) در گروه کنترل سالم با  $p=0/10$  ،  $OR=1/82$  و  $-3/82$  به نظر می‌رسد که افزایش فراوانی محسوسی نسبت به سایر آل‌ها در بیماران دارد ولی معنادار نشود.

در بررسی آل‌های محافظت کننده در برابر بیماری AML در لوكوس HLA-DRB1 ، آل معناداری دیده نشد. این در حالی است که آل HLA- DRB1\*01 با فراوانی ۷ مورد در بیماران (٪۱۰/۶) و ۴۹ مورد (٪۱۷) در گروه کنترل سالم با  $p=0/18$  ،  $OR=0/58$  و  $0/26-1/31$  به نظر می‌رسد که کاهش فراوانی محسوسی نسبت به سایر آل‌ها در بیماران دارد ولی این تفاوت معنادار نبود(جدول ۳ و نمودار ۳).

#### بحث

اولین مطالعه پیرامون ارتباط بین اختلالات هماتولوژی و MHC در سال ۱۹۶۴ توسط لیلی و همکارانش بر روی گونه‌های مختلف موش مبتلا به لنفوما انجام شد(۲۲). پس از آن نیز مطالعه‌ها بر روی گونه‌های موشی توسط تنانت و همکارانش ادامه یافت و لوكوس H-2 به عنوان فاکتور مستعد کننده به بدخیمی‌های هماتولوژیک در موش معرفی شد(۲۳). در سال ۱۹۶۷ اولین مطالعه ارتباط بین بدخیمی‌های هماتولوژیک انسان و HLA توسط آمیل و همکارانش انجام شد که به بررسی ایمنوزنیک بیماران HLA-A\*02 مبتلا به ALL پرداختند. در این مطالعه فراوانی ۵۰ در بیماران بیشتر از سایر آل‌ها بود(۲۴). در طی این سال مطالعه‌های مختلفی پیرامون ارتباط آل‌های کلاس‌های HLA با بیماری AML در جریان بوده ولی در بسیاری از آن‌ها از روش سرولوژی برای تعیین آنتی‌ژنهای HLA استفاده شده است. به دلیل هم خوانی بیشتر

باقی بماند که خود عاملی در استعداد ابتلا به بدخيمی های هماتولوژیک محسوب می شود.

لازم به ذکر است که EBV، یکی از عوامل مهم در ایجاد لنفوم بورکیت، سرطان بینی و گلو، لنفوم پس از پیوند کلیه، برخی سرطان های لغفاوی و بیماری هوچکین می باشد (۳۰). درمان هریک از بیماران مذکور با داروهای شیمی درمانی شدید به خصوص در مواردی که درمان بیمار با عوامل آلکیله کننده یا مهارکننده های توپوازی و مراز II صورت گرفته است، از جمله مهم ترین عوامل ایجاد بیماری AML به شمار می رود. علاوه بر این، EBV به عنوان یک ویروس DNA دار سرطان زا می تواند به شکل غیر مستقیم موجب بیماری AML گردد (۳۱).

#### نتیجه گیری

در مطالعه اخیر آلل HLA-A\*11 در بیماران AML دارای فراوانی معنادار بیشتر نسبت به گروه کنترل سالم بود از این رو ممکن است وجود HLA-A\*11 در بیماران AML فاکتور مستعد کننده ژنتیکی برای ابتلا به این بیماری باشد.

#### تشکر و قدردانی

از مدیریت و پرسنل آزمایشگاه ایمنوژنتیک کلینیک تخصصی و فوق تخصصی جوادالانمه (ع) و پزشکان محترم بخش انکولوژی بیمارستان باهنر دانشگاه علوم پزشکی کرمان که به ما در جهت پیشبرد این مطالعه یاری رساندند کمال تشکر را داریم.

بیماری در نظر گرفت.

با توجه به شرایط فوق نکته قابل تأمل دیگر این است که در تمام مطالعه های انجام شده تا کنون هیچ یک از محققان پس از اعلام نتیجه نهایی و عنوان کردن آلل های مستعد کننده و یا مقاومت دهنده به بیماری AML در مطالعه خود، اشاره ای به چگونگی و مکانیسم اثر آن آلل در استعداد ابتلا و یا مقاومت به دست آمده نداشته اند. به هر حال ارتباط بین بیماری های سرطانی و آلل های HLA ارتباط ضعیفی است ولی ارتباط آلل های HLA با عوامل سرطان زای دیگر مثل بیماری های عفونی، ارتباط به مراتب قوی تری می باشد. یکی از این عوامل عفونی که می تواند موجب بدخيمی های هماتولوژیک شود، ویروس اپشتاین بار (EBV) می باشد. بررسی های ایمنوژنتیک در مورد این ویروس نشان می دهد که آنتی زن های پروتئینی ویروس توسط سلول های عرضه کننده آنتی زن (APC) شناسایی شده و به منظور عرضه در سطح سلول در اختیار سیستم HLA قرار می گیرند. در این میان زمانی که فرد مبتلا دارای HLA-A\*11 باشد، ویروس اپشتاین بار منجر به خاموش شدن این آلل و عدم عرضه مناسب آن به سطح سلول شده در نتیجه لفوسیت T سایتوکسیک قادر به شناسایی EBV نیست و به علت همین نقص در این میان سلولی، واکنش مناسبی بر علیه ویروس دیده نمی شود (۲۸، ۲۹). این توانایی در خاموش کردن سیستم ایمنی بدن موجب می شود که ویروس در بدن افراد دارای HLA-A\*11 فعال

#### References :

- Middleton D. History of DNA typing for the human MHC. Rev Immunogenet 1998; 1(2): 135-56.
- Johnson A, Katovich Hurley C, Hartzman R. Human leukocyte antigen (HLA): the major histocompatibility complex of human and transplantation Immunology. In: McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 19<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 1996. p. 969.
- Abbas AK, Litchman AH, Pillai AL. Cellular and Molecular Immunology. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders; 2014. p. 107-11.
- Abbas AK, Litchman AH, Pillai AL. Cellular and Molecular Immunology. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders; 2014. p. 107-37.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer : the next generation. Cell 2011; 144(5): 646-74.
- Burnet F. The concept of immunological surveillance. Prog Exp Tumor Res 1970; 13: 1-27.
- Abdel-Wahab O, Levine RL. Mutations in epigenetic modifiers in the pathogenesis and therapy of acute myeloid leukemia. Blood 2013; 121(18): 3563-72.
- Kaushansky K, Lichtman M, Beutler E, Kipps Th, Prchal J, Seligsohn U. Williams Hematology. 8<sup>th</sup> ed. China: McGraw-Hill Education; 2010. p. 3563-72.
- Xavier AC, Ge Y, Taub JW. Down syndrome and malignancies: a unique clinical relationship: a paper from the 2008 william beaumont hospital symposium on molecular pathology. J Mol Diagn 2009; 11(5): 371-80.
- Deeg H, Socie G, Schoch G, Henry-Amar M, Witherspoon R, Devergie A, et al. Malignancies after marrow transplantation for aplastic anemia and Fanconi anemia: a joint Seattle and Paris analysis of results in 700 patients. Blood 1996; 87(1): 386-92.

- 11- Dror Y, Freedman MH. Shwachman-diamond syndrome. *Br J Haematol* 2002; 118(3): 701-13.
- 12- Chitambar CR, Robinson WA, Glode LM. Familial leukemia and aplastic anemia associated with monosomy 7. *Am J Med* 1983; 75(5): 756-62.
- 13- Dorak M, Owen G, Galbraith I, Henderson N, Webb D, Mills K, et al. Nature of HLA-associated predisposition to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1995; 9(5): 875-8.
- 14- Posthuma E, Falkenburg J, Apperley J, Gratwohl A, Roosnek E, Hertenstein B, et al. HLA-B8 and HLA-A3 coexpressed with HLA-B8 are associated with a reduced risk of the development of chronic myeloid leukemia. *Blood* 1999; 93(11): 3863-5.
- 15- Dorak MT, Lawson T, Machulla HK, Darke C, Mills KI, Burnett AK. Unravelling an HLA-DR association in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999; 94(2): 694-700.
- 16- Khamaganova E, Aleschenko S, Murashova L, Zaretskaya Y. Immunogenetic Factors of Predisposition to Blood Malignancies in Russian Population. *Russ J Immunol* 2001; 6(3): 265-70.
- 17- Posthuma E, Falkenburg J, Apperley J, Gratwohl A, Hertenstein B, Schipper R, +. HLA-DR4 is associated with a diminished risk of the development of chronic myeloid leukemia (CML). Chronic Leukemia Working Party of the European Blood and Marrow Transplant Registry. *Leukemia* 2000; 14(5): 859-62.
- 18- Pawelec G, Wagner W. Is HLA-DR4 or the HLA-DRB1\*0402 allele associated with decreased risk for CML? *Leukemia* 2001; 15(1): 192-3.
- 19- Nourizadeh M, Masoumi F, Memarian A, Alimoghaddam K, Moazzeni SM, Yaghmaie M, et al. *In vitro* induction of potent tumor-specific cytotoxic T lymphocytes using TLR agonist-activated AML-DC. *Target Oncol* 2014; 9(3): 225-37.
- 20- Oliver R, Pillai A, Klouda P, Lawler SD. HLA linked resistance factors and survival in acute myelogenous leukemia. *Cancer* 1977; 39(6): 2337-41.
- 21- Von Friedner VE, Merica H, Jeannet M, Barras C, Feldges A, Imbach P, et al. Evidence for HLA-linked susceptibility factors in childhood leukemia. *Hum Immunol* 1983; 8(3): 183-93.
- 22- Lilly F, Boyse E, Old LJ. Genetic basis of susceptibility to viral leukaemogenesis. *Lancet* 1964; 284(7371): 1207-9.
- 23- Tennant JR. Susceptibility and resistance to viral leukemogenesis in the mouse. II. Response to the virus relative to histocompatibility factors carried by the prospective host. *J Natl Cancer Inst* 1965; 34(5): 633-41.
- 24- Amiel JL, Curtoni ES, Mattiuz PL, Tosi MR. Histocompatibility testing. Munksgaard: Copenhagen; 1967. p. 79-81.
- 25- Gowans D, O'Sullivan A, Rollinson S, Roddam P, Groves M, Fegan C, et al. Allele and haplotype frequency at human leucocyte antigen class I/II and immunomodulatory cytokine loci in patients with myelodysplasia and acute myeloid leukaemia: in search of an autoimmune aetiology. *Br J Haematol* 2002; 117(3): 541-5.
- 26- Sarafnejad A, Khosravi F, Alimoghadam K, Dianat S, Ansaripour B, Moradi B, et al. HLA class II allele and haplotype frequencies in Iranian patients with acute myelogenous leukemia and control group. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2006; 5(3): 115-20.
- 27- Fernández-Torres J, Flores-Jiménez D, Arroyo-Pérez A, Granados J, López-Reyes A. HLA-B\* 40 allele plays a role in the development of acute leukemia in Mexican population: a case-control study. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 705862.
- 28- Loh J, Popkin DL, Droit L, Braaten DC, Zhao G, Zhang X, et al. Specific mutation of a gammaherpesvirus-expressed antigen in response to CD8 T cell selection *in vivo*. *J Virol* 2012; 86(5): 2887-93.
- 29- Midgley R, Bell A, Yao Q, Croom-Carter D, Hislop A, Whitney B, et al. HLA-A11-restricted epitope polymorphisms among Epstein-Barr virus strains in the highly HLA-A11-positive Chinese population: incidence and immunogenicity of variant epitope sequences. *J Virol* 2003; 77(21): 11507-16.
- 30- Dolcetti R, Frisan T, Sjöberg J, De Campos-Lima PO, Pisa P, De Re V, et al. Identification and characterization of an Epstein-Barr virus-specific T-cell response in the pathologic tissue of a patient with Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1995; 55(16): 3675-81.
- 31- Gerhartz HH, Bartram CR, Raghavachar A, Schmetzer H, Clemm C, Wilmanns W, et al. Spontaneous Epstein-Barr virus transformed B-cell line sharing the identical immunoglobulin gene rearrangement with acute myeloid leukemia. *Blood* 1989; 73(3): 684-7.

*Original Article*

## **Association of alleles and haplotypes of HLA-A,-B,-DRB1 patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) in Kerman province**

**Ehsan M.<sup>1,2</sup>, Abroun S.<sup>1</sup>, Anjomshoaa A.<sup>2</sup>, Rezapour M.<sup>3</sup>, Rezaei Z.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Faculty of Medical Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

<sup>3</sup>Faculty of Math & Computer of Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

HLA system plays a key role in the cancer cells' escape from the immune surveillance. AML is a cancer of the myeloid lines of blood cells, characterized by the rapid growth of abnormal white blood cells in the bone marrow. Several studies worldwide have investigated the association of AML with alleles of HLA. This study was performed to assess the association between alleles of HLA-A, -B, -DRB1 with AML patients in Kerman province of Iran.

#### **Materials and Methods**

In the present case control study, alleles of HLA-A, -B, -DRB1 were molecularly typed using PCR-SSP technique in 33 AML patients and 270 healthy individuals unrelated with patients in province of Kerman, Iran. Finally, the data analysis was performed using  $\chi^2$  and SPSS 19.

#### **Results**

In this study, allelic frequency rates of HLA-A\*11 in patient and control groups were 28.8% (19 cases) and 17% (92 cases), respectively; it indicates a significantly positive association between the presence of this allele and AML illness ( $p = 0.02$ , OR = 1.97 and CI (95%) = 1.10-3.51).

#### **Conclusions**

The presence of HLA-A\* 11 in AML patients may be a predisposing factor for this disease to develop.

**Key words:** Acute Myeloid Leukemia, HLA-A, HLA DRB1, Allele Frequency

*Received: 1 Feb 2015*

*Accepted: 24 May 2015*

*Correspondence:* Abroun S., PhD of Hematology. Associate Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.  
P.O.Box: 14155-331, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82883860; Fax : (+9821) 82884507  
E-mail: abroun@modares.ac.ir