مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۳، شماره۲، تابستان ۱۳۹۱، ۱۲۵-۱۲۱

مقایسه فنوتیپی لنفوسیت‌ها در گروه‌های خونی ABO

مجتبی شرف خواه. MD. Student[1]، دکتر قاسم مسیبی .Ph.D [2*]

۱- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اراک
۲- گروه میکروب شناسی و ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: ghasemmosayebi@arakmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱/۲۲

چکیده

هدف: محققان تلاش‌های زیادی جهت مشخص نمودن ارتباط بین آنتی ژن‌های گروه خونی ABO و استعداد ابتلا به بیماری‌های مختلف مانند سرطان و عفونت‌ها انجام داده‌اند. افراد دارای گروه خونی O ریسک بالاتری برای ابتلا به کلرا نسبت به سایر گروه‌های خونی دارند. همچنان ارتباط بین گروه‌های خونی ABO و استعداد ابتلا به بیماری‌ها ناشناخته باقی مانده است. هدف از این مطالعه مشخص نمودن درصد فنوتیپ لنفوسیت‌ها در گروه‌های خونی ABO می باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های خون محیطی از ۴۰ مرد سالم با گروه‌های خونی متفاوت ABO (هر گروه ۱۰ نفر) جمع آوری شد. همه افراد مورد مطالعه در محدوده سنی ۱۸ تا ۲۵ سال بوده و زمینه‌ی ژنتیکی تقریبا مشابه داشتند. نمونه‌ها با روش فلوسیتومتری FACSort برای تعیین فنوتیپ لنفوسیت‌های CD_3^+T و زیر مجموعه‌های آن CD_4 و CD_8 و سلول‌های T تنظیمی ($CD_4^+/ CD_{25}^+ / FOXP3^+$) ، لنفوسیت‌های $CD_{19}^+ B$ و زیر مجموعه‌های آن، سلول‌های $CD_5^+ B$ و CD_5^- مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: تفاوت معناداری در فراوانی لنفوسیت‌ها (CD_8^+ و لنفوسیت‌های T تنظیمی و زیر مجموعه‌های لنفوسیت‌های B) بین گروه‌های خونی ABO وجود نداشت. اما، درصد لنفوسیت‌های CD_4^+T در گروه خونی B بالاتر از گروه‌های خونی دیگر بود (p=۰/۰۵)

نتیجه گیری: فراوانی بالاتر لنفوسیت‌های CD_4^+T در گروه خونی B ممکن است احتمال ابتلا به بعضی بیماری‌ها عفونی و انگلی را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: گروه خونی ABO، لنفوسیت‌ها، فنوتیپ، فلوسیتومتری.

مقدمه

پیشرفت دانش در مورد مهاجرت انسان‌های نخستین از آفریقا به دیگر نقاط جهان از طریق بررسی کروموزوم y و مارکرهای mtDNA ، اطلاعات زیادی در اختیار ما قرار داده است. این اطلاعات جدید باعث افزایش اهمیت بحث ارتباط گروه خونی با عفونت‌ها شده است. مثال‌های شفافی در مورد مقاوم بودن بدن به بعضی از عفونت‌ها مانند عفونت با هلیکوباکترپیلوری (H.pilori) از طریق به ارث رسیدن پلی‌مورفیسم ژنی که آنتی‌ژن‌های ABO ، Rh و لوئیس را بیان می‌کنند، وجود دارد. هم چنین شواهد موجود بیان می‌کند که مقاومت در مقابل مالاریا با آنتی ژن‌های گروه خونی در ارتباط می‌باشد. برخی مطالعات نشان می‌دهد که شیوع بیماری‌های همولیتیکی جنینی و نوزادی در اروپا و آسیای مرکزی با فنوتیپ D ارتباط دارد (۱).

آنتی‌ژن‌های ABO اصلی‌ترین سیستم گروه خونی می‌باشند و علاوه بر سطح گلبول‌های قرمز، در سطح سایر سلول‌ها نیز حضور داشته و حتی به صورت محلول در ۸۰ درصد افراد جامعه یافت می شوند. از آن جا که جنس این آنتی‌ژن‌ها از پلی‌ساکارید و مشابه با ساختمان پلی‌ساکاریدهای برخی باکتری‌ها می‌باشند این آنتی‌ژن‌ها ممکن است عملکرد سیستم ایمنی را مستقیم و یا غیر مستقیم تحت الشعاع قرارداده و باعث تضعیف و یا تقویت پاسخ ایمنی شوند. فاکتور ژنتیک نقش بسزایی بر سیستم ایمنی افراد مختلف داشته و از این جنبه پاسخ ایمنی افراد نسبت به عوامل محرک (پاتوژن) با هم متفاوت است و مولکول‌های سازگار نسجی نیز در این میان از اهمیت خاصی برخوردارند. برخی مطالعات به تفاوت شیوع بیماری‌ها در گروه‌های خونی ABO اشاره دارند. برای مثال، در مطالعه‌ی مشخص شده است که بروز درماتوفیتوزیس در گروه خونی O و A نسبت به گروه های خونی دیگر بروز بالاتری دارد (۲). همچنین در مطالعه‌ی غلظت ایمونوگلوبولین‌های ضد هپاتیت سی در افراد مبتلا به هپاتیت سی با گروه خونی O نسبت به سایر گروه‌های خونی بیشترین مقدار و در افراد با گروه خونی AB کم‌ترین مقدار را به خود اختصاص داده است (۳). در مطالعه‌ی دیگر نیز مشخص شده است که درصد زیادی از افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر دارای گروه خونی O می‌باشند (۴). هم چنین افراد دارای گروه خونی O و AB بیشترین فراوانی را در افراد مبتلا به مالاریا دارا هستند (۵). از طرفی مطالعات زیادی نیز به تفاوت معنادار و قابل توجه بین نوع گروه خونی ABO در افراد و افزایش و یا کاهش بروز بیماری‌ها اشاره نکرده‌اند. برای مثال در مطالعات جداگانه‌ای ارتباط معناداری بین گروه خونی ABO و میزان بروز سرطان پستان (۶)، ابتلا به عفونت با ویروس Chilcunganya (۷) ، یا غلظت ایمونوگلوبولین ضد نور و ویروس (GIII.2) و گروه خونی ABO یافت نشد (۸).

با توجه به مطالب ذکر شده هر چند مطالعات زیادی در خصوص شیوع برخی سرطان‌ها و یا بیماری‌ها در گروه خونی انجام شده است ولی تا کنون مقایسه‌ای در خصوص تغییرات پارامترهای ایمونوبوژیک مانند سطح لنفوسیت‌های B و T در گروه‌های خونی مختلف ABO صورت نگرفته یا حداقل در دسترس نمی‌باشد که در مطالعه حاضر به بررسی این مهم پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه توصیفی – تحلیلی است. در این مطالعه از افراد واجد گروه‌های خونی ABO که همگی Rh مثبت و از یک جنس‌اند (مذکر) با محدوده ی سنی ۱۸ تا ۲۵ سال بودند استفاده شد. پس از گزینش غیر انتخابی افراد و بررسی آن‌ها به وسیله پرسش نامه‌های از پیش تهیه شده، افراد دارای سابقه بیماری و یا مصرف داروی خاص و هر گونه عامل مداخله کننده در نتایج بررسی، از مطالعه حذف و در نهایت افراد بدون سابقه بیماری خاص و یا در حال حاضر از لحاظ جسمانی سالم برای مرحله بعد بررسی گزینش شدند. انجام تحقیق مورد تصویب کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک با کد ۴-۱۰۸-۹۰ قرار گرفت.

تعیین گروه خونی: از افراد تعیین شده ۵ تا ۱۰ سی‌سی خون محیطی و هپارینه شده گرفته شد و به وسیله دو روش Cell type و Back type گروه خونی آن‌ها مشخص گردید. جهت روش Cell type یک قطره خون فرد با یک قطره آنتی سرم مربوطه بر روی صفحه صاف مخلوط و در صورت آگلوتینه شدن نتیجه مثبت گزارش گردید. در روش Back type سرم فرد با گلبول‌های قرمز شسته شده دارای گروه خونی مشخص مخلوط و در صورت مثبت بودن به صورت غیر مستقیم گروه خونی فرد تعیین شد. بعد از حصول نتیجه گروه‌های خونی از هر کدام از آن‌ها (گروه‌های خونی A، B، AB و O) ۱۰ نمونه برای بررسی به روش فلوسیتومتری انتخاب شدند.

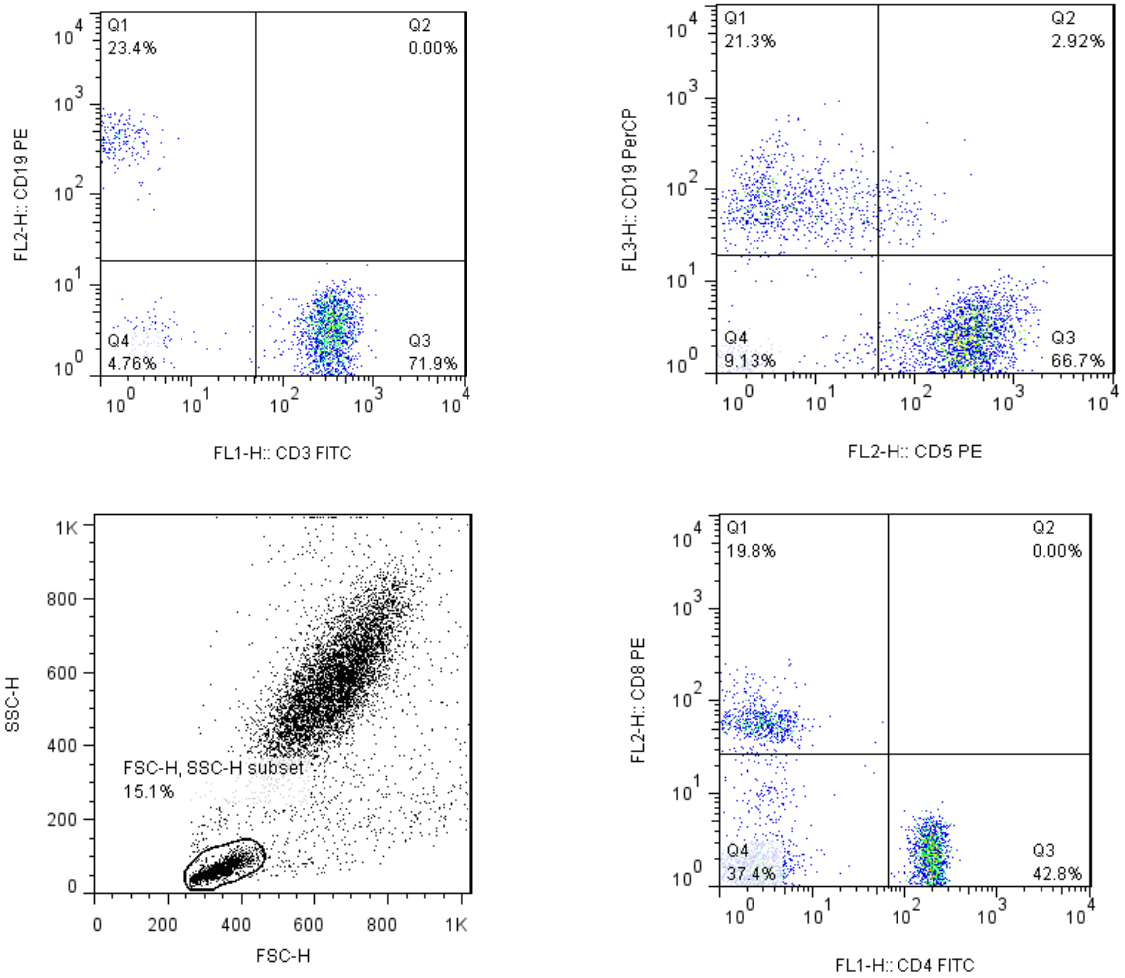
فلوسیتومتری: در این مطالعه جهت تعیین درصد لنفوسیتی و زیر دسته‌های آنها از روش فلوسیتومتری مستقیم استفاده شد. آنتی بادی‌های مورد استفاده عبارت بودند از: CD3-FITC, CD4-FITC, CD8-PE, CD3-PerCP/Cy5.5, CD19-PerCP, CD5-PE, CD25-PE , FoxP3-PerCP که از شرکت اروپایی- eBioscience خریداری شدند. بعد از مشخص نمودن مقادیر مناسب آنتی بادی‌های نشان دار شده، ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر خون محیطی با ۲ تا ۵ میکرولیتر از آنتی بادی‌های مربوطه در لوله مخلوط و به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در دمای یخچال و دور از نور انکوبه شد. سپس ۲ میلی لیتر محلول لیز کننده گلبول قرمز (۰/۱ مولار کلرور آمونیاک و ۸ میلی مولار بی کربنات سدیم) به لوله اضافه و پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون سلول‌ها دوبار با سانتریفیوژ دور ۱۵۰۰ در دقیقه به مدت پنج دقیقه به منظور حذف گلبول‌های لیزه شده شستشو داده شدند. جهت بررسی مارکرهای سطح سلول از دستگاه فلوسیتومتری ۳ رنگ BD FACSCalibur™ - آمریکا استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: از روش غیر پارامتریک من- ویتنی، و با استفاده از آزمون T-test میانگین لنفوسیتی در بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. از نرم افزار SPSS ver 11.5 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

بررسی نمونه‌ها به روش فلوسایتومتری در خون محیطی نشان دادکه زیر دسته ی سلولی بخوبی از یکدیگر تفکیک شده و تداخلی در رنگ آمیزی و روش وجود نداشت (شکل۱). میانگین و انحراف معیار درصد لنفوسیت‌هایT و B و زیر گروه‌های آن‌ها گروه‌های خونی ABO در جدول ۱ آمده است.

با توجه به داده‌ها و نتایج بدست آمده مشخص شد که درصد لنفوسیت‌های CD_4^+ T بطور معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) در گروه خونی B بالاتر از گروه‌های خونی دیگر بود. علاوه بر این، رابطه و یا تفاوت معناداری، در دیگر مارکرهای مورد هدف در هر کدام از گروه‌های خونی ABO مشاهده نشد.



شکل۱: نمودارهای نقطه ای درصد لنفوسیتی و زیر گروه‌های مربوطه در خون محیطی افراد سالم به روش فلوسیتومتری

جدول۱: درصد لنفوسیتی و زیر دسته های آنها در گروه خونی ABO

مارکر / گروه خونی	CD_3	CD_4 / CD_3	CD_8 / CD_3	CD_{19}	CD5/CD19	CD4/CD25/FoxP3
A	۶۷/۴۵ ± ۵/۲۳	۴۱/۲۷ ± ۴/۰۴	۲۵/۹۴ ± ۴/۸۸	۱۳/۴۷ ± ۳/۱	۳ ±۰/۵	۱/۲±۰/۲
AB	۶۷/۸۸ ± ۵/۲۵	۴۱/۱۶ ± ۵/۰۱	۲۵/۶۸ ± ۴/۱۲	۱۴/۷ ± ۲/۷۷	۲±۱	۱/۵±۰/۳
B	۷۰/۵۰ ± ۴/۸۵	۴۶/۴ ± ۶/۲۹	۲۴/۲ ± ۵/۶۵	۱۴ /۴ ± ۴/۰۳	۳±۱	۱±۰/۲
O	۶۶/۵۸ ± ۷/۶۴	۴۲/۲۵ ± ۵/۷۳	۲۴/۶۷ ± ۴/۶۷	۱۳/ ۸۳ ± ۳/۴	۴±۰/۲	۱/۷±۰/۵
P. value	N.S	p=0.05	N.S	N.S	N.S	N.S

بحث

با توجه به مطالعات گسترده‌ای که در زمینه تفاوت افراد بر اساس نوع گروه خونی آن‌ها در سیستم گروه بندی ABO انجام گرفته همواره نتایج ضد و نقیضی از تاثیر آنتی‌ژن‌های گروه خونی در ابتلای افراد به انواع بیماری‌ها به دست آمده است. زند و همکاران (۹) نشان دادند که میزان بروز انواع سرطان خون در گروه خونی A و O نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر است. در مطالعه دیگری نشان داده شد که سطح آنتی‌بادی ضد هپاتیت سی در مبتلایان با گروه خونی O در مقایسه با سایر گروه‌های خونی بیشتر است (۳).

با توجه به مطالب بالا هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی تاثیر یا عدم تاثیر آنتی ژن‌های گروه خونی ABO در ارتباط با اختلالات بیماری‌زا از منظر دیگر بوده است. به این صورت که به جای بررسی فراوانی یا میزان بروز بیماری‌ها در هر گروه خونی، سطح ایمنی پایه و به خصوص ایمنی سلولار بدن در افراد یا گروه خونی متفاوت مورد بررسی قرار گرفت تا نتیجه آن بتواند پاسخی قانع کننده‌تر به ارتباط‌ها یا عدم ارتباط‌های بروز بیماری‌ها و نوع گروه خونی باشد که همچنان مجهول باقی مانده است.

در این مطالعه با بررسی ۴۰ نمونه از افراد با گروه‌های خونی ABO به غیر از تفاوتی معنادار در میزان لنفوسیت‌های CD_4^+ T در گروه خونی B نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت معنادار دیگری بین مارکرهای مورد مطالعه و هر کدام از گروه‌های خونی یافت نشد. البته به طور کل شاید بتوان عدم بارزتر بودن بیماری‌های مختلف بر اساس مطالعات انجام شده را در گروه خونی B به نتیجه به دست آمده از این بررسی تعمیم داد، اما بارزتر بودن کلی بیماری‌ها در گروه خونی O را نمی‌توان به رابطه‌ی غیر قابل توجه مارکرهای مورد مطالعه در این بررسی با گروه خونی O نسبت داد. به طور کلی پاسخ به این سوال که آیا گروه‌های خونی و آنتی ژن‌های آن‌ها رابطه‌ی معنادار و یا غیر معنادار در ابتلا به بیماری‌ها دارند به رغم مطالعات فراوان هنوز در هاله‌ای از ابهام می‌باشد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که رابطه‌ی معنا داری میان لنفوسیت‌هایT +CD4 و گروه خونی B وجود دارد که آن هم به صورت بالاتر بودن میزان لنفوسیت T در گروه خونی B نسبت به سایر گروه‌های خونی می‌باشد. این امر ممکن است باعث کاهش احتمال ابتلا به بعضی بیماری‌های عفونی و انگلی در افراد واجد این نوع گروه خونی شود. در هر صورت جهت ارتباط نوع گروه‌های خونی با ابتلا به بیماری، نیاز است مطالعات با حجم نمونه بیشتری صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب کمیته تحقیقات دانشجویی و شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک است که نویسندگان مقاله از همکاری شورای پژوهشی، کمیته تحقیقات دانشجویی و به ویژه داوطلبین شرکت کننده در مطالعه صمیمانه تقدیر به عمل می‌آورد.

منابع

1. Anstee DJ. The relationship between blood groups and disease. Blood. 2010; 115(23): 4635-43.

2. Balajee SA, Menon T, Ranganathan S. ABO blood groups in relation to the infection rate of dermatophytosis. Mycoses. 1996; 39(11-12): 475–8.

3. Behal R, Jain R, Behal KK, Dhole TN. Variation in the host ABO blood group may be associated with susceptibility to hepatitis C virus infection. Epidemiol Infect. 2010; 138(8): 1096-9.

4. Biswas J, Islam MA, Rudra S, Haque MA, et al. Relationship between blood groups and coronary artery disease. Mymensingh Med J. 2008; 17(2 Suppl): S22-27.

5. Jeremiah ZA, Jeremiah TA, Emelike FO. Frequencies of some human genetic markers and their association with plasmodium falciparum malaria in the Niger Delta, Nigeria. J Vector Borne Dis. 2010; 47(1):11-6.

6. Munzarová M, Kovarík J, Hlávková J. ABO blood groups and the course of breast cancer disease. Czech Med. 1986; 9(1): 44-50.

7. Kumar NC, Nadimpalli M, Vardhan VR, Gopal SD. Association of ABO blood groups with Chikungunya virus. Virology Journal. 2010; 7:140.

8. Vildevall M, Grahn A, Oliver SL, Bridger JC, et al. Human antibody responses to bovine (Newbury-2) norovirus (GIII.2) and association to histo-blood group antigens. J Med Virol. 2010 ; 82(7): 1241-6.

9. Zand AM, Imani S, Sa,adati M, borna H, et al. Effect of age , gender and blood group on blood cancer types. Kowsar Medical journal. 2010; 15(2). 111-114.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2012; 3(2): 121-125

Research Article

Comparison of Phenotype of Lymphocytes in ABO Blood Groups

Sharafkhah M. MD. Student[1], Mosayebi G. Ph.D.[2*]

1. Medical student, School of Medicine, Student Research Committee, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
2. Department of Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

* Email corresponding author: ghasemmosayebi@arakmu.ac.ir

Received: 24 Feb. 2012 Accepted: 10 Apr. 2012

Abstract

Aim: Researchers have made considerable efforts to determine the significance of particular ABO antigens to diseases susceptibility such as cancer and infections. O blood group people have a higher risk than other blood groups for catching cholera. Thus relationship between ABO blood groups and catching disease is unknown remained. The aim of this study is to determine the lymphocyte phenotypic profile in ABO blood groups.

Material and Methods: Peripheral blood samples collected from forty health male people with different ABO blood groups (each group=10). All of studied people were in 18-25 years old ranges and had a closely similar genetic background. The samples were studied using a FACSort flow cytometr for determination of CD3+T-lymphocytes phenotype and their subsets CD4+, CD8+ and Treg cells (CD4+/CD25+/Foxp3+), CD19+ B-lymphocytes and their subsets CD5+ and CD5⁻ B cells.

Results: There were no significant differences in the frequency of examined lymphocyte subpopulations (CD8+ and Treg lymphocytes, and B- lymphocyte subsets) between the ABO blood groups. But, the CD4+ T lymphocytes percentage in B blood group was higher than other groups (P=0.05).

Conclusion: High frequency of CD4+T lymphocytes in B blood group may be reduced catching some disease such as bacterial and parasitic infections.

Key words: ABO blood group, Lymphocytes, Phenotype, Flow cytometry