تحديد مستضدات التطابق النسيجي الصنف الاول (HLA Class I Antigens) لبعض المرضى العراقيين المصابين بالارتيكاريا الحادة والمزمنة

ميادة حسين علي الموسوي
معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية ، جامعة بغداد، بغداد، العراق

الخلاصة

تضمن البحث عينات مؤلفة من (60) مريضاً مصابين بالارتيكاريا, (30) منهم مرضى يعانون من الارتيكاريا الحادة و (30) مريضاً يعانون من الارتيكاريا المزمنة أضافة الى (30) شخصا من الاصحاء اختيروا كمجموعة سيطرة. تم أضافة الخلايا اللمفاوية(Lymphocytes)المعزولة من المرضى والاصحاء الى أطباق تيرزاكي (Terasaki Plates) الحاوية على الاضداد النوعية الخاصة بمستضدات (HLA) من الصنف الأول (HLA-Class I Antigen) لتحديد اليلات هذه المستضدات . أظهر الاليل (HLA- A2) زيادة في تكراراته لدى مرضى الارتيكاريا الحادة وارتفع معنويا عند المقارنة مع مرضى الارتيكاريا المزمنة ومجموعة السيطرة والتي تصاحب خطرا نسبيا (RR) الى (4.12 و13.50) على التوالي ورفع قيمة العامل المسبب (EF) الى (0.45 و0.55) على التوالي, وكذلك ارتفاعا معنويا عند مقارنة مرضى الحادة والمزمنة مع مجموعة السيطرة مصاحبة لخطر نسبي (6.88) وعامل مسبب (0.37) ليوضح وجود مصاحبة ايجابية (Positive Association) مابين المرض والاليل (HLA- A2) والذي يعطي استعداد وراثيا للاصابة بالارتيكاريا الجلدية الاعتيادية.

Determination of HLA Class I Antigens in some Iraqi patients with Acute and Chronic Urticaria

Mayida H. AL-Mousawi
Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Postgraduate Studies, Baghdad University, Baghdad, Iraq

Abstract

This research was included (60) patients diagnosed as having Urticaria, (30) patients with acute Urticaria and (30) patients with chronic Urticaria in addition to (30) healthy people were chosen as a control. lymphoid cells (Lymphocytes) isolated from patients and healthy controls and added to Terasaki Plates which containing specific antibodies to the(HLA -Class I Antigen) to identify alleles of these antigens. The result showed (HLA-A2) allele increased in its recurrences in patients with acute Urticaria and significantly higher when compared with chronic Urticaria patients and control group, which have Relative Risk (RR) (4.12 , 13.50), respectively, and raise the value of the Etiological Fraction (EF) to (0.45 , 0.55), respectively, also significantly higher when compared acute and chronic Urticaria patients with the control group associated with the Relative Risk (6.88) and the Etiological Fraction (0.37) to explain the presence of Positive Association between

*Email: Maidahussein84@yahoo.com

the disease and (HLA-A2) allele, which gives genetically predisposed to infection of Urticaria .

Keywords: Acute Urticaria, Chronic Urticaria, HLA-Class I Antigen.

المقدمة

تعد الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية واحدة من المشاكل الجلدية الشائعة والمنتشرة عالميا , اذ تؤثر في 15% الى 25% من الاشخاص خلال حياتهم [1] , وهي تفاعل وعائي(Vascular Reaction) في الجلد او الغشاء المخاطي ذات تورمات حمراء زائلة متمثلة بمساحات موضعية من الخزب (Edema) نتيجة ارتشاح للسائل الغني بالبروتين من الاوعية الدموية المتوسعة ويطلق عليها الانتبارات(Wheals), والتي يمكن ان تختفي خلال ساعات قليلة مع ارتشاف للسائل المتسرب ومن الممكن ان تكون في اي جزء من الجسم وتاخذ اشكالا مختلفة [2].

تصنف الارتيكاريا اعتمادا على طول مدة المرض الى الارتيكاريا الحادة (Acute Urticaria)(اقل من 6 أسابيع) والارتيكاريا المزمنة (Chronic Urticaria)(أكثر من 6 أسابيع) [3] . وان تفاعلات فرط الحساسية النوع الاول (Type I – Hypersensitivity Reaction) هي المسؤولة عن حالات الارتيكاريا الحادة [4]. والعوامل المسببة للارتيكاريا اما عوامل مناعية او غير مناعية , والعوامل المناعية تحدث بتفاعل او تداخل الضد (IgE) Antibody)المسبب للارتيكاريا مع عدد من المستضدات(Antigenes) والتي تعرف بالمحسسات (Allergen)[5] , وان اتحاد الضد IgE مع مستلماته الخاصة (Fc epsilon RI) Receptors)على سطح الخلايا البدينة (Mast Cell) يحفزها على افراز الهيستامين الوسيط الرئيس للاظهار اعراض المرض [6] ومن هذه المحسسات الاطعمة والعقاقير والاخماج [7], اما العوامل غير المناعية تتمثل بعقاقير او اطعمة تحتوي على مركبات فعالة تنتج الهستامين[8] او تؤثر مباشرة على الخلايا البدينه لافراز الهيستامين [9] . وان الاضداد الذاتية (Autoantibodies IgG) تتداخل مع مستلمات Fc epsilon RI) IgE) على سطح الخلايا البدينة يحفزها على افراز الهيستامين وظهور الارتيكاريا الذاتية المزمنة(Chronic Idiopathic Urticaria)[10].

مستضدات التطابق النسيجي HLA هو مختصر(Human Leukocyte Antigens) وهي بروتينات موجوده على سطح معظم الخلايا الجسمية ولها اهمية في مساعدة الجهاز المناعي لتمييز بين الجزيئات الشخصية(Self Molecules)من الجزئيات غير الشخصية(Non self Molecules) [11] , وهذه المستضدات تشفر بواسطة جينات واقعة على الذراع القصير للكروموسوم السادس , وتصنف الى ثلاث اصناف (HLA – Class I,II,III) وان هذه الجينات تمتلك تعدد اشكال وراثي هائل (Polymorphism) والتي تعني اليلات(Alleles)لكل جين وهذا التنوع مهم للمحافظة على الجهاز المناعي [12] .

مستضدات الصنف الاول(HLA Class -I Antigens) هي بروتينات سكرية غشائية(Membrane Glucoprotein) توجد على اسطح كل الخلايا الحاوية على نواة وفي الانسان توجد ثلاث انواع من جينات الصنف الاول هي (A , B, C) وان تعبير Expression هذه الجينات هي سيادة غير تامة(Codominant) والتي تعني ان جزيئة الصنف الاول تعكس ست نواتج جينيه ثلاث نواتج من الكروموسوم السادس الامي(Maternal Chromosome) وثلاث نواتج من الكروموسوم السادس الابوي(Paternal Chromosome) [13] .وأن الهدف من البحث هوتحديد المصاحبة الايجابية (Positive Association) بين اليلات نظام HLA والارتيكاريا الحادة والمزمنة للمرضى العراقيين .

المواد وطرائق العمل

أعتمدت هذه الدارسة على عينات تم تشخيصها من الملاك الطبي في الاستشارية الجلدية لمستشفى بغداد التعليمي(دائرة مدينة الطب)عددها (60) مريضا مصابين باالارتيكاريا وتم تقسيمها كما يأتي:

1- (30) مريضا يعانون من الارتيكاريا الحادة.

2- (30) مريضا يعانون من الارتيكاريا المزمنة.

أضافة الى (30) شخصا من الاصحاء اختيروا كمجموعة سيطرة.

فحص مستضدات التطابق النسيجي HLA-Typing (Kit from Biologische, BAG)

يسمى هذا الفحص Microlymphocytotoxicity Test وقد وضع من قبل (McClell and Terasaki) في عام 1964. ويتم بعزل الخلايا اللمفاوية (Lymphocytes) باستخدام طريقة النبذ المتدرج الكثافة (Density Gradient Centrifugation).باضافة حجم من الدم الحاوي على الهيبارين مع حجم مماثل من دارى الفوسفات الفسلجي (PBS) على محلول عزل الخلايا (Lympho prep) في انبوبة الاختبار الزجاجية وتنبذ في جهاز الطرد المركزي لسحب المنطقة الضبابية (الخلايا اللمفاوية) وتمثل الطبقة الثانية بعد البلازما وتغسل الى الخلايا اللمفاوية مرتين بنفس (PBS) لتخلص من الصفيحات الدموية(Platelets) وتعلق الخلايا في وسط RPMI-1640 لغرض عدها وتحديد العيوشيه بامتزاجها مع صبغة التريبان الزرقاء لمدة ثلاث دقائق وتحسب الخلايا اللمفاوية باستخدام شريحة العد(Hemocytometer) [14]. ولحساب العيوشية استخدمت المعادلة الاتية:

$$\text{العيوشية (\%)} = \frac{\text{عدد الخلايا الحية(غير المصبوغة)}}{\text{العدد الكلي للخلايا}} \times 100$$

واستخدمت في هذا الفحص اطباق تيرزاكي (Terasaki Plates)الحاوية على 60 حفرة ,كل طبق يحتوي على عدد من الاضداد النوعية الخاصة بمستضدات (HLA- A,B and C Antigens) بالاضافة الى اضداد سيطرة موجبة واضداد سيطرة سالبة , ولاجراء الفحص يضاف حجم من عالق الخلايا اللمفاوية لكل حفرة في الطبق وتركت نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم اضيف اليها حجم من متمم الارنب (Rabbit Complement) لتنشيط المسلك التقليدي للمتمم والذي يعمل على موت الخلايا وحصول التفاعل وتصبغ بصبغة الايوسين وبعد دقائق يضاف الفورمالديهايد (Formaldehyde) , وتفحص الاطباق باستخدام المجهر المقلوب المتباين الطور(phase contrast Microscope) لحساب النسبة المئوية للخلايا الميتة وأعطيت لكل حفرة علامه للعد (Score) كما يلي:

80-100% Score 8 (strong positive)
40-79% Score 6 (positive)
20-39 % Score 4 (weak positive)
10-19 % Score 2 (doubtful negative)
0-9 % Score 1 (negative)

ومن خلال ملاحظة انماط هذه التفاعلات يمكن التعرف على النمط المظهري للفرد (HLA Phenotype)

التحليل الاحصائي (Statistical Analysis)

ان العلاقة بين المرض والمستضدات تعرف بالخطر النسبي (Relative Risk;RR) وتمثل بالمعادلة

$$RR = \frac{axd}{bxc}$$

a : عدد المرضى الحاملين للمستضد

b : عدد المرضى غير الحاملين للمستضد

c : عدد افراد السيطرة الحاملين للمستضد

d : عدد افراد السيطرة غير الحاملين للمستضد

تتراوح قيمة (RR) مابين(اقل من 1) والتي تعني مصاحبة سلبية (Negative Association) الى (اكثر من 1) والتي تعني مصاحبة ايجابية (Positive Association) . وعند المصاحبة الايجابية يحسب العامل المسبب (Etiological Fraction ; EF) حسب المعادلة

$$EF = \left(\frac{RR-1}{RR}\right)\left(\frac{a}{a+b}\right)$$

تتراوح قيمة(EF) مابين صفر (لاتوجد مصاحبة No Association) والواحد (مصاحبة قصوى Maximum Association).

ولتقدير الفروقات المعنوية للعلاقات المذكورة استخدمت احتمالية (P)(Fisher's Exact Probability)[14] , كما صححت هذه الاحتمالية (PC) من خلال المعادلة

(الاحتمالية المصححة (PC))= احتمالية P X عدد المستضدات لكل موقع.

النتائج Results

مستضدات التطابق النسيجي من الصنف الاول HLA –Class I Antigens

مستضدات (HLA-A)

وجد من خلال (الجدول 1) بان المستضد (HLA-A2) أعلى المستضدات تكرارا في مرضى الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية , حيث أظهرت (18) مريض من مرضى الارتيكياريا الحادة هذا المستضد وبنسبة (60%) و (8)من مرضى الارتيكاريا المزمنة هذا المستضد وبنسبة (26.6%), ومجموعة السيطرة(3) تكرارت لهذا المستضد وبنسبة (10%). وكان الاختلاف معنويا بين مرضى االارتيكاريا الحادة والمزمنة اذ بلغت الاحتمالية (4.7×10^{-5}, 0.009) على التوالي وهذا الاختلاف تسبب في زيادة الخطر النسبي (Relative Risk) الى(4.12 و 13.50) على التوالي لهذا المستضد وسبب في رفع قيمة العامل المسبب (Etiological Fraction) الى (0.45 و 0.55) على التوالي عند مستوى احتمالية ($P>0.05$) مما ادى الى خفض قيمة الخطر النسبي الى (3.27) وكذلك العامل المسبب الى (0.19) (جدول 2) .

اما بقية المستضدات (HLA-A) فقد اظهرت تكرارات متماثلة في جميع المرضى ومجموعة السيطرة بحيث لم تشكل فروقا معنوية ومستوى احتمالية ($P>0.05$).

جدول1 - الاعداد والنسب المئوية لمستضدات التطابق النسيجي من الصنف الاول(HLA-Class I) للموقع(A) في مرضى الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية الحادة والمزمنة ومجموعة السيطرة

مستضدات HLA	الارتيكاريا الحادة No:30		الارتيكاريا المزمنة No:30		مجموعة السيطرة No:30	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%
A1	5	16.6	8	26.6	11	36.6
A2	18	60	8	26.6	3	10
A3	4	13.3	7	23.3	4	13.3
A11	3	10	3	10	5	16.6
A23	3	10	4	13.3	3	10
A24	7	23.3	8	26.6	10	33.3
A25	3	10	6	20	4	13.3
A26	7	23.3	7	23.3	9	30
A28	4	13.3	5	16.6	2	6.6
A29	3	10	3	10	6	20
A30	2	6.6	2	6.6	1	3.3
A32	11	36.6	13	43.3	10	33.3
A33	8	26.6	7	23.3	7	23.3
A34	6	20	6	20	4	13.3

جدول 2– مستضد التطابق النسيجي من الصنف الاول (HLA-Class I Antigen) والذي أظهر فرقا معنويا عند المقارنة مابين مرضى الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية الحادة والمزمنة ومجموعة السيطرة

المقارنة	المستضد	P	RR	EP
مرضى الارتيكاريا الحادة مع مرضى الارتيكاريا المزمنة	HLA-A2	0.009	4.12	0.45
مرضى الارتيكاريا الحادة مع مجموعة السيطرة	HLA-A2	$4.7x\ 10^{-5}$	13.50	0.45
مرضى الارتيكاريا المزمنة مع مجموعة السيطرة	HLA-A2	Not significant	3.27	0.19
مرضى الارتيكاريا مع مجموعة السيطرة	HLA-A2	0.001	6.88	0.37
P: الاحتمالية				

مستضدات (HLA-B) و مستضدات (HLA-Cw)

يتضح من جدول 3 و 4 بان تكرارات المستضدات كانت متقاربة مع بعضها البعض مابين مرضى الارتيكاريا الحادة والمزمنة ومجموعة السيطرة بحيث لم تظهر فروقا معنوية وعند مستوى احتمالية (P>0.05).

جدول3- الاعداد والنسب المئوية لمستضدات التطابق النسيجي من الصنف الاول(HLA-Class I) للموقع(B) في مرضى الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية الحادة والمزمنة ومجموعة السيطرة

مستضدات HLA	الارتيكاريا الحادة No:30		الارتيكاريا المزمنة No:30		مجموعة السيطرة No:30	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%
B5	10	33.3	10	33.3	11	36.6
B7	4	13.3	3	10	5	16.6
B8	3	10	5	16.6	4	13.3
B12	9	30	10	33.3	8	26.6
B13	5	16.6	5	16.6	6	20
B14	6	20	3	10	4	13.3
B15	3	10	4	13.3	5	16.6
B17	2	6.6	3	10	3	10
B18	6	20	5	16.6	3	10
B21	2	6.6	2	6.6	4	13.3
B22	4	13.3	4	13.3	3	10
B27	10	33.3	11	36.6	8	26.6
B37	4	13.3	3	10	3	10
B38	3	10	3	10	5	16.6
B39	5	16.6	6	20	4	13.3
B40	2	6.6	2	6.6	1	3.3
B41	4	13.3	7	23.3	8	26.6

جدول4- الاعداد والنسب المئوية لمستضدات التطابق النسيجي من الصنف الاول(HLA-Class I) للموقع(Cw) في مرضى الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية الحادة والمزمنة ومجموعة السيطرة

مستضدات HLA	الارتيكاريا الحادة No:30		الارتيكاريا المزمنة No:30		مجموعة السيطرة No:30	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%
Cw1	7	23.3	7	23.3	8	26.6
Cw2	6	20	5	16.6	4	13.3
Cw3	8	26.6	7	23.3	6	20
Cw4	13	43.3	11	36.6	9	30
Cw5	8	26.6	8	26.6	5	16.6
Cw6	5	16.6	7	23.3	8	26.6
Cw7	10	33.3	10	33.3	12	40
Cw8	9	30	11	36.6	13	43.3

المناقشة Discussion

قد يكون لمستضدات التطابق النسيجي من الصنف الاول (HLA-Class I Antigen) الاثر في أظهار الاستعداد الوراثي للاصابة بالارتيكاريا الجلدية الاعتيادية , اذا الاليل (HLA- A2) زيادة واضحة في تكراراته في مرضى الارتيكاريا الحادة وقد أعطى فرقا معنويا عند اجراء التحليل الاحصائي عند المقارنة مع مرضى الارتيكاريا المزمنة ومجموعة السيطرة والتي تصاحب خطرا نسبيا (RR) الى (4.12 و13.50) على التوالي ورفع قيمة العامل المسبب (EF) الى (0.45 و0.55) على التوالي. ان عينات

الدراسة كانت 60 مريضا من مرضى الارتيكاريا الجلدية الاعتيادية الحادة والمزمنة والتي كانت متوفرة خلال اجراء الدراسة وقد أظهر التحليل الاحصائي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة فروقا معنوية مصاحبة لخطر نسبي(6.88) وعامل مسبب (0.37) وهذا يدل على مصاحبة ايجابية (Positive Association) مابين المرض والاليل (HLA- A2) والذي قد يعطي استعداد وراثيا للاصابة بالارتيكاريا والتي تعتمد على الاصل المتغايرالوراثي للمرضى والميكانيكيات القادحة للامراضية هل هي مناعية [15] أو غير مناعية مثل العوامل البيئية [16].

وقدجاءت هذه النتائج متناقضة مع نتائج دراسات اخرى اجريت في تركيا والتي تناولت موضوع مستضدات (HLA-Class I Antigen) مع الارتيكاريا المزمنة بعضها يشير الى ان الاليل (HLA- B44) هو المسبب للامراضية [17] او الاليل (HLA- B4) [18] , ام البعض الاخر تشير الى مصاحبة ايجابية مع اليلات الصنف الثاني (HLA- DR4 ,DQ8) [19] ان التفسير الاساس لهذه التناقضات هو ان الجينات التي تشفر جزئيات HLA لها تعدد اشكال وراثي هائل بين الجماعات المختلفة ذات الاختلافات الاقليمية للمنطقة الجغرافية والتنوع السكاني وتعدد الاجناس تؤدي الى وجود تنوع في اليلات HLA [20] [21].كذلك ان المرض نفسه يمتلك ارتباطات مختلفة من اليلات HLA الشخصية والتي قد تتعارض (بشكل وقائي او ضار) اعتمادا على المجموعات العرقيه او الجغرافية [22]. ان بعض المستضدات البيئية مثل(البكتريا او الفيروسات)التي تكون غير ثابتة تعمل على تقليد المستضدات الشخصية(Self-Antigens)من خلال المحاكاة الجزيئة(Molecular Mimicry) والتي تربك الجهاز المناعي بصعوبة التمييز بين المستضدات الشخصية من غير الشخصية وان تنوع أليلات HLA تصعب من تقديم هذه المستضدات الي الخلايا اللمفاوية وبالتالي احداث الأرتيكاريا المناعة الذاتية المزمنة Autoimmune Chronic Urticaria ، اضافة الى العوامل البيئية المختلفة لكل منطقة [24,23] .

References المصادر

1. Kanwar, A.J.and Greaves, M.W. **1996**.Approach to the patient with chronicurticaria. Hostpract (off Ed).;3:175-89.
2. Sehgal,V.N.andJain,S. **1994**.*Urticaria.In:Text book of Clinical Dermatology*.2th(Ed). Jaypee Brothers Medical Publidshers,India. PP:162-69.
3. Zuberbier, T.and Maurer,M. **2007**.Urticaria : current opinions about etiology, diagrosis and therapy . *Acta Derm venereal*. ;87:196-205.
4. Habif,T.P. **2004**.Urticaria and *Angioedema.In:clinical Dermatology: Acolorguide to diagnosis and therapy*.4th (Ed).Mosby Company , Philadelphia . pp:196-61.
5. Joint, T. **2000**.The diagnosis and management of urticaria: a practice parameter. Ann Allergy *Asthma Immunol*.;85: 44-52.
6. Hennino,A.;Berard ,F.; Guillot.I.; Saad, N.;Rozieres, A.andNicolas, J.F. **2006**.Pathophysiology of Urticaria.*Clin Rev Allergy Immunol*.; 30:3-11.
7. Wedi, B.andKapp,A. **2006**.Current Position of the role of allergic and non_ allergic Food hypersensitivity in urticariq. *Hautarzt* .;57:101-7.
8. Gratten,E.H.andKobza,A. **2004**.*Urticaria and Mastoryrosis*.In: Tony, B.; Stephen, B. and Neil.C.Rook'S *Textbook of Dermatology*.7th (Ed). Black well publishing company, Italy. vol.3.pp:1-37.
9. Bressler ,R.B. **1995**.Pathophysiology of Urticaria. *Immunol Allergy ClinNAm*.;15.659-77.
10. Sabroe,R.A.;Fiebiger,E.and Frahcis,D.M. **2002**.Classification of anti-Fc cpsilon RI and anti – IgE autoantibodies in chronic Idiopathic urticaria and correlation with diseases Severity . *J A llargy clin Immunol*. ;110: 496-499.
11. Kuby,T. **1994**.*Immunology*.2th(Ed).W.H.Freeman and Company, Newyork.
12. Robinson,J.;Bodmer,JG.;Malik,A.; and Marsh, SGE. **1998**.Development of the international immunogenetics HLA database . *Hum. Immunol*.;59: 17-20.
13. Erlich,HA; Opelz,G;Hansen,J. **2001**. HLA DNA typing and transplantation. *Immunity* .; 14:347-356.
14. Ad'hiah,A.H. **1990**.Immunogentic Studies in Selected Human Diseases. University of New Castle upon Tyne,U.K.

15. Soundararjan,S;Kikuchi,Y;Joseph,K;andKaplan,AP.**2005**. Functional assessment of pathogenic IgG subclasses in chronic autoimmune urticaria . *J Allergy Clin Immunol*.; 115:815-821.

16. Calamita,Z;Pela,AB;Gamberini,M;Junior,WB.; filho,OM.; Ruiz, MO.;Arevalo D; andJunior, AF. **2012**. HLA among Brazilian patients with spontaneous chronic urticaria and positive autologous serum skin test.An.Bras. *Dermatol*.; 87(4):578-583.

17. Coban, M; Erdem, T.;Ozdemir, S;Pirim , I.; Atasoy, M.and IKbal, M. **2008**.HLA Class I and Class II Genotyping in patients with Chronic Urticaria . *Int Arch Allergy Immunol*.; 2:135-139.

18. Avdoqan, K.; Karadogan, S.K.; AKdoq , I.and Tunali, S. **2009**.HLA Class I and II Antigens in Turkish Patients with Chronic Ordinary Urticaria .*ClinExp Dermatol*.;3:424-429.

19. AL-Itaby,A.H. **2007**. Chronic Urticaria Clinical-Aepidemlogical Study in Iraqi Patients. Board Thesis, Collage of Medicine , University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

20. Donadi, EA; Mauricio da Silva ,L; Paula Santos ,CM; Silveira, RD; Deghaide,NHS,; Ferraz ,AS, **2000**. Frequency of Histocompatibity Antigens in the Normal Population of the Northeast Region of the State of Sao Paulo Brazil . *Medicina* (Ribeirao Preto), 33:19-26.

21. Rosales ,T; Guilherme ,L; Chiarella , J ; Marin, ML; Rosales ,C;and Melo , CP. **1992**. Human Leukocyte A and B antigen, gene and haplotype feequencies in the population of the city of Sao Paulo in Brazil. Braz *J Med Biol Res*,25:39,.47.

22. Wang, JH;Zheng ,X; Ke, X; Dorak ,MT; Shen, J; Boodram ,B. **2009**. Ethnic and geographical differences in HLA associations with the outcome of hepatitis C virus infection. *Virol J*.; 6:46.

23. Behar. SM; Porcelli ..SA. **1995**. Mechanisms of autoimmune disease induction: the role of immune response to microbial pathogens. *Arthritis Rheum*.; 38:458-476.

24. O'Donnell. BF;O'Neill .CM; Francis.DM; Niimi .N; Barr .RM; Barlow. RJ, . **1999**. Human leucocyte antigen class II associations in chronic urticaria. *Br J Dermatol*.; 140:853-858.