

Стоматолошки факултет – Скопје
Клиника за болести на устата

КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ АНТИГЕНИТЕ НА HLA – СИСТЕМОТ И АФТОЗНАТА БОЛЕСТ (ПРЕЛИМИНАРНО СООПШТЕНИЕ)

Лазаревска Благородна, В. Димитровски, Мирјана Поповска

HLA – системот е главен комплекс на гени на хистокompatibilност. Во него се сместени гените кои ја одредуваат антигенската структура во мембраната на речиси сите соматски клетки, како и гените кои го регулираат квантитетот на имунолошкиот одговор инициран од различна кауза. Денес е веќе познато дека генетскиот код има определен придонес во создавањето на предиспозицијата кон определено заболување. Во таа смисла е и целта на нашето испитување, насочена кон можното влијание на антигените од HLA – системот врз појавата на stomatitis aphthosa chronica recidivans.

Кај 36 болни од афтозната болест одредувани се антигените на HLA системот од локусите A,B и C. За типизација е користен микроцитотоксичниот тест по методот на Terasaki, модифициран од Dausse повеќе со употреба на комерцијални серуми. Како контролна група е земена готовата табела на фреквентноста на алоантигените кај 1300 здрави лица, изработена од Републичкиот завод за трансфузиологија.

Добиените резултати укажаа најчесто на алоантигените од сублокусите A2 (55%), AX (56%), B5 (44,44%) BY (63,88%), потоа на A1 (16,66%) и B35 (16,66%).

Сигнификантноста на разликите помеѓу испитуваната и контролната група е присутна само за сублокусите AX и BY. За жал поради отсуство на потребните серуми не можеше да се изврши дополнителна типизација на алоантигените прикажани како AX и BY.

Сумарната анализа на нашите испитувања не дозволува да се извлече одреден заклучок за можната асоцијација помеѓу одредени антигени од HLA-системот и афтозната болест, па оттаму овој труд го презентираме само како прелиминарно соопштение.

Речиси сите клетки на човечкиот организам на својата мембрана имаат одредени антигенски структури кои се мошне важни за интегралното функционирање на одредени органи и системи. Благодарение на нив овозможена е асоцијација и заемна толеранција на одделните клетки, а нивната интеракција е значаен фактор во одржувањето на хомеостатичките механизми на организмот и одбележувањето на неговиот интегритет.

Антигенската структура е генетски одредена. Одговорните гени за ткивната идентичност се сместени во главниот комплекс на гени на хистокompatibil-

билност, наречен уште HLA – систем, лоциран во кусиот крак на шестиот хромозом (Lechner и сор. 1979). Во него се наоѓаат и локусите на некои компоненти на комплементарниот систем (C₂, C₃, C₄, проактиваторот на C₃), а исто така и локусите на гени коишто го регулираат имунолошкиот одговор (таканаречени гени на имунолошка реакција – Ig – гени) инициран од антигените (Божов и сор. 1987).

Современата генетика дојде до сознание дека HLA – системот е изграден од повеќе локуси и многу сублокуси (Колевски, 1984), од кои повеќе или помалку досега се проучени локусите A, B, C, D и DR.

Според листата за алоантигени од IX Workshop од 1984 год. (цит. по Колевски, 1987 год.), досега се откриени вкупно 122 антигени, и тоа: од локусот A-23 антигени, од локусот B-47 антигени, од локусот C-8 антигени, од локусот D-19 антигени и од локусот DR-25 антигени.

Гените како основни наследни единки и фактори на конституционалните белези на организмот имаат суштествена улога во квантитетот и квалитетот на имунолошкиот одговор инициран од различната кауза на заболувањата. Оттаму и напорите да се стекнат што попречени сознанија за генетската шифра и влијанието на гените во создавањето на предиспозиција кон определено заболување (Svejgaard 1979).

Денес е веќе потврдена асоцијацијата помеѓу ткивните (лимфоцитните) антигени и некои заболувања од хуманата патологија. Констатирана е сигнификантна корелација помеѓу антигенот HLA-B8 и болеста на Адисон, јуvenilниот дијабет и хроничниот агресивен хепатит (Божов и сор. 1987) Позната е поврзаноста помеѓу мултиплната склероза и антигенот HLA-B7, Бехтеровата болест и антигенот HLA-DR4, Синдромот на Бехчет и антигенот HLA-B12 и B5, (Колевски 1984). Испитувањата во таа насока катадневно се прошируваат, а листата на антигенската структура која го зголемува релативниот ризик од некое заболување постојано се проширува.

Мотивирани од сознанијата за евидентната генетска предиспозиција кон некои заболувања, ние си поставивме за цел да ја проследиме можната корелација помеѓу рецидивниот афтозен стоматит и некои алоантигени на HLA-системот, како и влијанието на алоантигените врз рецидивноста и клиничкиот ток на заболувањето.

Материјал и метод на работа

На Клиниката за болести на устата издвоени се 36 болни со дијагноза Stomatitis aphthosa chronica recidivans и според интензитетот на рецидивноста и тежината на клиничкиот ток поделени се на 4 групи:

I група – болни кај кои афтозните морфи, малку на број, се јавуваат еднаш до два пати годишно;

II група – болни кај кои рекурентните афти се јавуваат неколку пати годишно и беа повеќе на број;

III група – болни кои се наоѓаа во состојба на Status aphthosus u

IV група – болни кои во повеќе наврати имале Sutton – ови афти.

Кај сите болни одредувани се HLA – антигените од локусите AB и C во Републичкиот завод за трансфузиологија. За типизација е користен микроцитотоксичен тест по методот Terasaki (1964), модифициран од Dausset 1977 год. За таа цел од секој пациент земено е 10 ml периферна хепаринизирана крв (10 единици хепарин на 1 ml крв), а определувањето на антигените вршено е со користење на повеќе комерцијални серуми и некои серуми од сопствено производство на Заводот за трансфузиологија. Типизација е вршена за 9 антигени од локусот A, 13 антигени од локусот B и 6 антигени од локусот C.

Бидејќи Заводот за трансфузиологија не располагаше со серуми за другите HLA антигени од локусите A, B и C, како и за антигените од локусите D и DR, тие не беа одредувани.

Како контролна група беше земена готовата табела на фреквентноста на алоантигените кај 1300 здрави лица, изработена од Републичкиот завод за трансфузиологија која претставува стандард за населението во СР Македонија.

Добиените резултати беа статистички обработени преку пресметувањето на антигенската фреквенција изразена во проценти, X^2 тестот за сигнификантност на разликите и факторот на релативен ризик F_{rr} за можната асоцијација на одредени HLA-антигени со рецидивниот афтозен стоматит по формулата $F_{rr} = \frac{F_b(1-F_z)}{F_z(1-F_b)}$. Исто така правена е корелација помеѓу одделните групи болни и типизирани антигени.

Резултати

На табелата 1 е дадена категоризацијата на болните направена според објективната процена на клиничката манифестација на болеста.

ТАБЕЛА 1

ГРУПАЦИЈА НА БОЛНИТЕ ОД STOMATITIS APHTHOSA CHRONICA RECIDIVANS СПОРЕД РЕЦИДИВНОСТА И КЛИНИЧКИОТ ТОК

РЕЦИДИВНОСТ И КЛИНИЧКИ ТОК							
I ГРУПА		II ГРУПА		III ГРУПА		IV ГРУПА	
ОД 1-2 АФТН ГОДИШНО		ПОВЕКЕ ПАТН ГОДИШНО		STATUS APHTOSUS		PERIADEUITIS	
n	%	n	%	n	%	n	%
19	55,55	10	27,77	3	8,33	4	11,11

Од неа се гледа дека во I-та група се проследени 19 болни, во II-та група 10 болни, во III-та група 3 болни и во IV-та група 4 болни, што укажува дека најголем број од пациентите (55,55%) во моментот на испитувањата биле со лесен клинички ток и ретка рецидивност на афтозниот стоматит.

На табелата 2 се прикажани типизирани HLA-антигени кај испитуваната група.

Од презентирани резултати може да се види дека од локусот A најчесто се присутни алоантигените од сублокусот A2 (55%) и AX (56%) а потоа од сублокусот A9 (33,33%). Од локусот B доминираа алоантигените B5 и BУ, додека сублокусите B8, B12, B13, B17 и B30 се најдени кај по еден болен. Од локусот C, одредуван кај 11 пациенти, типизиран е сублокусот C_{W2} а тие од сублокусот C_{W2} , C_{W3} , C_{W5} и C_{W6} кај два, односно кај еден болен.

На табелата 3 се дадени HLA антигените од испитуваната и контролната група.

Антигенската фреквенција на сублокусите A2, A9 и B5 е речиси еднаква и не постои сигнификантност на разликите, а факторот на релативен ризик е ирелевантен.

Евидентна е разликата во антигенската фреквенција на AX и BУ меѓу болните од афтозен стоматит и контролната група, која е статистички сигнификан-

ТАБЕЛА 2 HLA БОЛНИ n = 36

HLA АНТИГЕНИ	n	АНТИГЕНСКА СРЕКВЕИЛА %
A LOKUS		
A 1	6	16,66
A 2	20	55,55
A 3	2	5,55
A 9	12	33,33
A 10	3	8,33
A 11	3	8,33
A 28	3	8,33
A 32	1	2,77
A 33	1	2,77
A X	20	55,55
B LOKUS		
B 4	2	5,55
B 5	16	44,44
B 7	2	5,55
B 8	1	2,77
B 12	1	2,77
B 13	1	2,77
B 16	2	5,55
B 17	1	2,77
B 18	4	11,11
B 21	2	5,55
B 27	2	5,55
B 35	6	16,66
B 38	1	2,77
B Y	23	63,88
C LOKUS		
CW 2	2	5,55
CW 3	1	2,77
CW 4	6	16,66
CW 5	1	2,77
CW 6	1	2,77

ТАБЕЛА 3

ТИПИЗАЦИЈА НА HLA - АНТИГЕНИ КАЈ БОЛНИ ОД STOMATITIS APHTOSA CHRONICA RECIDIVANS / ИСПИТУВАНА ГРУПА / И КАЈ ЗДРАВНИ ЛИЦА / КОНТРОЛНА ГРУПА /

ИСПИТУВАНА ГРУПА			КОНТРОЛНА ГРУПА			P	FRR	
HLA АНТИГЕНИ	n	АНТИГЕНСКА СРЕК ВО %	HLA АНТИГЕНИ	n	АНТИГЕНСКА СРЕК ВО %			
A LOKUS			A LOKUS					
A 1	6	16,66	A 1	377	26,23	2,512	< 0,2	0,49
A 2	20	55,55	A 2	677	52,07	0,164	< 0,7	1,15
A 3	2	5,55	A 3	187	14,38	2,176	< 0,2	0,35
A 9	12	33,33	A 9	358	27,53	0,596	< 0,5	1,33
A 10	3	8,33	A 10	197	15,15	1,242	< 0,3	0,51
A 11	3	8,33	A 11	111	8,53	0,002	< 0,9	0,97
A 28	3	8,33	A 28	126	9,59	0,070	< 0,85	0,85
A 32	1	2,77	A 32	26	2,00	0,104	< 0,7	1,40
A 33	1	2,77	A 33	4	0,30	1,036	< 0,4	0,47
A X	20	55,55	A X	382	29,38	11,083	< 0,001	3,70
B LOKUS			B LOKUS					
B 4	2	5,55	B 4	0	0	—	—	—
B 5	16	44,44	B 5	443	34,07	1,623	< 0,2	1,55
B 7	2	5,55	B 7	163	12,53	1,525	< 0,2	0,41
B 8	1	2,77	B 8	170	13,07	2,199	< 0,05	0,19
B 12	1	2,77	B 12	227	17,46	5,170	< 0,02	0,14
B 13	1	2,77	B 13	83	6,36	0,739	< 0,5	0,42
B 16	2	5,55	B 16	34	2,61	1,101	< 0,3	2,19
B 17	1	2,77	B 17	95	7,30	1,639	< 0,4	0,36
B 18	4	11,11	B 18	91	7,00	0,866	< 0,4	1,66
B 21	2	5,55	B 21	73	5,61	0,0007	< 0,98	—
B 27	2	5,55	B 27	105	8,07	0,290	< 0,7	0,67
B 35	6	16,66	B 35	347	26,69	1,744	< 0,2	0,55
B 38	1	2,77	B 38	18	1,38	0,464	< 0,5	2,03
B Y	23	63,88	B Y	376	28,92	2,511	< 0,001	4,48
C LOKUS			C LOKUS					
C W 2	2	18,18						
C W 3	1	0,99						
C W 4	6	54,54						
C W 5	1	0,99						
C W 6	1	0,99						

ТАБЕЛА 4 КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕГУ ТИПИЗИРАНИТЕ АЛОАНТИГЕНИ И ГРУПИТЕ НА STOMATITIS APHTOSA CHRONICA RECIDIVANS

ГРУПИ	НАЈЧЕСТО ТИПИЗИРАНИ АЛОАНТИГЕНИ																			
	A 1		A 2		A 9		A 10		A X		B 5		B 18		B 35		B Y		B 12	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I ГРУПА	4	21,05	9	47,36	5	26,31			11	57,89	10	52,63			3	15,78	15	78,94	1	
II ГРУПА			8	80	4	40			4	40	4	40	2	20	2	20	5	50		
III ГРУПА			3	100					2	66,66	2	66,66					2	66,66		
IV ГРУПА					2	50	2	50							2	50				

тна, а факторот на релативен ризик за антигените AX изнесува 3,00 и за BY 4,48. Меѓутоа, во лабораторијата на Заводот за трансфузиологија не беа во можност да извршат типизација на алоантигените ставени во AX и BY поради немање соодветни серуми.

Табелата 4 ја прикажува корелацијата меѓу фреквентноста и клиничкиот ток на заболувањето со присутност на определените HLA антигени.

Во I-та група болни најчесто се типизирани A2 (47,36%), AX (57,89%), B5 (52,63%) и BY (78,94%).
во II-та група A2 (47,36%), A9 (26,31%), AX (57,89%), B5 (52,63) и BY (78,94);
во III-та група A2(100%, AX (66,66%), B5 (66,66%) и BY (66,66%);
во IV-та група се забележува извесно отстапување бидејќи таму е типизиран A9 (50%), A10 (50%) и B35 (50%).

Дискусија

Имунологијата како мошне значајна дисциплина во последниве години излезе од тесните рамки на инфекциозната патологија и решително зачекори во речиси сите области на медицината.

Користејќи ги сознанијата на фундаменталната имунологија, клиничката имунологија дава непроценлива помош на широк спектар медицински подрачја и има решавачка улога при дијагнозата и прогнозата на алергичните, автоимуните и редица други заболувања, следени со имуни компоненти во нивната патогенеза.

Современите информации за главниот комплекс на гени на хистокompatibilност, наречен HLA систем, и од него зависните алоантигени, укажаа на присутна асоцијација на бројни заболувања со некои HLA-антигени, како последица на претходни алтерации на локусите во HLA системот. Оттаму е и разбирливо дека одредени индивидуи кај кои дошло до нарушување на генетскиот код во овој систем ќе бидат изложени на поголем ризик од некое заболување, заради придружна дисрегулација во биосинтезата на комплементарниот систем и адекватната имунолошка слабост на организмот.

Непознатата етиологија на рецидивниот афтозен стоматит и скромните сознанија за можната алергична, односно автоимуна генеза на неговата кауза беше предизвик за повеќе автори да ја испитаат корелацијата помеѓу одредени HLA антигени и ова заболување.

Арифхоџиќ и сор. (1983), испитувајќи ги HLA зависните антигени кај 30 болни од афтозен стоматит, нашле негова сигнификантна поврзаност со антигенот HLA-B12. Пресметаниот фактор на релативен ризик покажал дека лицата чија карактеристика е алоантигенот B12 се шест пати повеќе изложени на рецидивен афтозен стоматит. Слични се резултатите и на Challacombe и сор. (1977).

Џокогило и сор. (1987), проследувајќи го клиничкиот ток на заболувањето и степенот на објективните промени со типизираните антигени од локусите A и B, нашле евидентна корелација помеѓу антигенот HLA-B12 и афтозната болест, вклучувајќи го и Morbus Behçet, а Lehner (1979), како група со релативен ризик кон Бехчетовата болест ги наведува индивидуите со антиген HLA-B5 (окуларен тип), HLA-B27 (артритичен тип) и HLA-B12 (мукокутан тип).

Нашите наоди покажаа најчеста типизација на антигените HLA -A2 (55,55%), AX (55,55%), B5 (44,44%) и BY (63,88%). Меѓутоа, за HLA-A2 и HLA-B5 не постои сигнификатна разлика ($p < 0,7$ односно $p < 0,2$), а кај недифинираните антигени, ставени во HLA-AX, и HLA-AY, изразена е висока значајност на разликите ($p < 0,001$) со фактор на релативен ризик 3 помеѓу испитуваната и контролната група. Меѓутоа, во овој момент на нашите испитувања, HLA-AX и HLA-BY не можеме да ги сметаме како фактори на предиспозиција кон афтозната болест, од причина што немаме сознанија за кои антигени се работи и колку антигени се во прашање.

Спротивно на констатациите на Arifhodžić (1983), Challacombe (1977) и Џокогило (1987), кои одат во прилог на констатацијата дека антигенот HLA-B12 е фактор на релативен ризик за хроничен афтозен рецидивен стоматит, во нашите резултати антигенот HLA-B12 беше присутен само кај еден пациент, но разликата е сигнификантна ($p < 0,02$). Меѓутоа, Frr е 0,14.

Од друга страна, антигенот HLA-B5, типизиран во испитуваната група кај 16 болни (44,44%), е соодветен на наодите на Lechner (1979) при HLA типизацијата на Morbus Behçet (окуларен тип), но ние не утврдивме сигнификантност во разликите ($p < 0,2$), а факторот на релативен ризик изнесува 1,55. Антигените од локусот C не можеме да ги коментираме, бидејќи не се одредувани во контролната, ниту, пак, имаме литературни податоци за нивна партиципација во рецидивниот афтозен стоматит.

Сумарната анализа на нашите испитувања не дозволува да се извлече одреден заклучок за можната асоцијација помеѓу одредени антигени од HLA системот и афтозната болест, со нејзините клинички форми. Како можна причина за расчекорот помеѓу нашите наоди со резултатите на горесцитираните автори го сметаме малиот број испитаници и недостигот на одредени серуми со кои ќе се типизираат антигените кои засега ги ставивме во сублокусите AX и BY. Оттаму и овој труд го презентираме само како прелиминарно соопштение кое наедно ја наметнува потребата за понатамошни студии на овој проблем.

Заклучок

1. Кај 36 болни со дијагноза Stomatitis aphthosa chr. recidivans одредувани се HLA-антигените од локусите A, B и C и компарирани со контролната група – 1300 здрави лица, подготвена од Републичкиот завод за трансфузиологија.
2. Најчесто типизирани беа HLA-A2 (55,55%), HLA-B5 (44,40%) и неодредени антигени (поради немање серуми), прикажани како HLA-AX (55,55%) и HLA-BY (63,88%).
3. Статистичката анализа со примена на антигенската фреквенција, X тестот и факторот на релативен ризик не покажаа значајност во разликите.
4. Прикажаните резултати треба да се сфатат како прелиминарно соопштение кое ги обврзува авторите на понатамошни проучувања на оваа проблематика.

CORRELATION BETWEEN HLA SYSTEM ANTIGENES AND APHTOUS DISEASE (PRELIMINARY REPORT)

Summary

HLA system is the major gene complex of tissue compatibility. Genes that determine the antigenic structure of the membrane of almost all somatic cells, as well as, genes regulating the immune response quantity initiated by different causes, are located in it. It is well known today that the genetic code plays an important role in susceptibility to certain diseases. In respect to the above, the aim of our study was oriented to the possible influence of HLA antigens onto stomatitis aphthosa chronica recidivans.

In 36 patients with aphtous disease we determined HLA sistem antigens from loci A, B and C. For typisation we used microtoxicity test by Terasaki's method, modified by Dausse, using commercial sera. The tabelary values for aloantigenes frequency in 1300 healthy persons worked out at the Republic Institution for Transfusiology, served as control values.

Our results pointed out to aloantigenes from the subloci A2 (55%), AX (56%), B5 (44,44%), BY (63,88%), then to A1 (16,66%) and B35 (16,66%), most frequently.

Significant difference between the study and control group was found only for subloci AX and BY. We regret for lack of necessary sera, further typisation of aloantigenes shown as AX and BY, was not possible.

Our investigation summary analysis does not support any definit conclusion of the possible association between certain HLA system antigens and aphtous disease, therefore, this study is presented to be a preliminary report only.

Литература

1. Arifhodžić F., Čokorilo N., Topić B., Rezultati istraživanja sistema HLA kod Stomatitis aphthosa chronica recidivans. Apstrakti I kongresa specijalista za bolesti na usta, zuba i parodontu Jugoslavije Ohrid, 1983.
2. Божов Б., Кудумчиев Т и сор., Лабораторнаја дијагностика на имуните заболуванја. Медицина и физикултура, Софија 1987 г.
3. Challacombe S.J. et al.. HLA – antigens in current oral ulceration. Arch. Dermat 113 1717, 1977
4. Dausset J.. Za physiologie et la pathologie du complex HLA. Ann Immund. 1286, 363, 1977
5. Колевски П., ХЛА аламунигација монографија, Научни видици медицина Скопје 1984
6. Колевски П и сор., ХЛА и болести, Научен проект Републички завод за трансфузиологија, Скопје 1987
7. Lehner T. Bathcolor J.R. Classification and immunogenetic basis of Behçet's syndrome. In.. Behçet's sundrom. Zehner T., Barnes S. G eds. London, Academic press, 1979
8. Lehner T., Tathcelor I.R. Classificacion and immunogenetic basis of Bechcet's sindrome abs. London, academic press, 1979 p.p. 13
9. Svejgard A., HLA and autoimmune of Disease, Allergu, 34: 275281, 1979
10. Terasaki P.J., Mac Clelland J.D. Microdroplt assuof human serum cutotoxins. Nature 204, 998 1964.
11. Čokorilo N., Arifhodžić F., Malić M.. Sistemski poremećaji i HLA kod rekurentnih aftoznih ulceracija (usmen o saopštenje) 1987 g.