

Türk Toplumunda Multipl Skleroz Hastalarında HL-A Antijenleri

Gülten TUNALI
Korkut ÖZERKAN

HL-A ANTIGENS IN TURKISH POPULATION WITH
MULTIPLE SCLEROSIS

Ondokuz Mayıs Univ. Tıp Fak. Nöroloji ABD, SAMSUN ve
Hacettepe Tıp Fak. Hematoloji ABD, ANKARA

Geliş Tarihi: 9 Mayıs 1989
Kabul Tarihi: 12 Ekim 1989

ÖZET

Bu çalışma multipl skleroz tanısı almış 40 hastada HL-A antijenlerinin frekansları rapor etmektedir. Hasta grubunda HL-A antijenlerinin frekansları 100 normal insandan oluşan kontrol grubundan elde edilen değerlerle kıyaslandı. Hasta grubunda CW4 antijeninin frekansında azalma, B7, BW22 ve A3 antijenlerinin frekanslarında artma saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Multipl Skleroz, HL-A antijenleri

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi CM, S.4,1990,309-313

SUMMARY

This study reports the frequencies of HL-A antigens in 40 patients with multiple sclerosis. The frequencies of HL-A antigens were compared to the findings of control group which consisted of 100 normal subjects. The frequency of CW4 decreased whereas the frequencies of B7, BW22 and a3 increased in the patient group.

Keywords: Multiple Sclerosis, HL-A antigens.

T J Research Med Sci V.8, N.4,1990,309-313

GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS) hastalığı çeşitli faktörlerin kombinasyonu ile ortaya çıkan bir hastalık olup bu faktörleri genetik ve çevresel faktörler olarak ikiye ayırmak mümkündür. Hastalık insidansı Japon asıllı Amerikalılarda düşüktür (1). Birinci dereceden akrabalar arasında genel popülasyona, tek yumurta ikizlerinde ise çift yumurta ikizlerine kıyasla hastalığın görülme sıklığı daha yüksektir (2,3). Bu araştırma bulguları hastalığın etiolojisinde genetik yatkınlığın önemini ortaya koymaktadır.

Bugüne kadar MS hastalığı ile HLA (Human Leucocyte Antigens) arasındaki ilişki çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralyada yapılan çalışmalar hasta gruplarında A3, B7 ve DR2 antijenlerinin frekanslarında artma olduğunu göstermiştir (4,5). Ancak, Akdeniz ülkeleri ile Japonyada bu antijenlere ait frekans artışı saptanamamıştır (6,7). Bu çalışma Türk toplumunda MS hastalığı ile HLA arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Karadeniz Bölgesi'nde (Samsun ve çevre illerde yaşayan kliniğimizde izlenmekte olan ve Rose (8) tarafından tanımlanan kriterlere göre kesin ve muhtemel MS tanısı koyduğumuz 40 hastada yapılmıştır. Olası grupta bulunan hastalar çalışma kapsamına alınmamıştır. Kliniğimize yatırılarak yeniden değerlendirilen hastaların hemen hepsine bilgisayarlı kranial tomografi ile kord lezyonunu telkin eden bulguları olanlara myelografi yapılarak MS hastalığımlı taklit edebilecek hastalıklar ekarte edilmiştir.

Biyokimyasal çalışmalar: Hastalarımızdan simültane olarak alınan Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) ve serum örnekleri biyokimyasal analizleri yapılmaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Biyokimyasal analizler Ankara'da Düzen Biyokimya ve Radyobioloji laboratuvarında yapılmıştır. Serum ve BOS örneklerinde albumin ve immunglobulin G (IgG) düzeyleri immunoturbidimetri yöntemi ile tayin edildi (9). Analizden önce serum numuneleri IgG için 50 defa, albumin

için 100 defa dilüe edildi. İmmunoturbidimetrik ölçüm COBAS B10 Centrifugal mAnalyzer (Roche) ile yapıldı, immunglobulin G indeksi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplandı (10).

$$\text{IgG indeksi} = \frac{\text{IgG (BOS)} \quad \text{IgG (serum)}}{\text{alb (BOS)} \quad \text{alb (serum)}}$$

Ayrıca BOS örnekleri 40 defa konsantre edilerek immunofiksasyon yöntemi ile elektroforez uygulandı (11). Bu amaçla Paragon (Beckman) agoroz jel plakları ve sistemi kullanıldı. Elektroforez sonrasında boyanan plaklarda oligoklonal bantların (OKB) varlığı araştırıldı.

HLA tayini: 40 hastadan alınan heparinli kan örneklerinde HLA tayini Hacettepe Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Doku Tiplendirme laboratuvarında yapılmıştır. HLA tayininde lenfositoksi testi kullanıldı (12). Heparinli kan örneklerinden önce lenfosit süspansiyonu elde edildi ve daha sonra mm³ de 2000 lenfosit olacak şekilde doze edildi. Bu lenfosit süspansiyonundan özel plaklardaki antilenfositör antikorlar üzerine 1 lamda kondu ve oda ısısında yarım saat bırakıldı. Daha sonra antijen-antikor reaksiyonun hızlandırmak için 5 lamda tavşan komplemanı ilave edildi. 1 saat sonra eosin boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi.

BULGULAR

Rose tarafından tanımlanan kriterlere göre çalışma kapsamına aldığımız hastalarımızdan 31 tanesi kesin, 9 tanesi muhtemel MS grubundadır. Hastalarımızdan 14 tanesi kadın, 26 tanesi erkek olup yaşları 15 ile 50 yaş arasında, hastalık süresi ise 6 ay ile 15 yıl arasında değişmektedir (Tablo 1).

Hastalarımızdan 7 tanesinde biyokimyasal değerlendirme çeşitli nedenlerle yapılamamıştır. Geri kalan 33 vakadan 18 tanesinde IgG indeksi artma ve/veya OKB varlığı saptanmıştır (Tablo 1).

Hastalarımızda HLA antijenlerinin frekansları kontrol grubundaki frekans değerleri ile kıyaslanmıştır. Kontrol grubu, Türk toplumunda doku antijenlerinin frekansını araştırmak amacıyla aynı laboratuvar tarafından doku antijenleri tayin edilen 100 sağlıklı kişiden oluşmuştur. Frekanslar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olup olmadığı X² testi (Khi square with Yates correction) kullanılarak araştırılmıştır (Tablo 2). Bazı araştırmacılar hastalık ile antijen arasındaki ilişkiyi değerlendirirken normal istatistiksel analizlerin kullanılması halinde yanlış sonuçlar elde edilebileceğini belirtmektedirler. Bu yanlışlığı önlemek için p değerinin mukayesesi yapılan antijen sayısı ile çarpılarak düzeltilmesini önermek-

Tablo 1. Hastalarımıza Ait BOS Örneklerinde Kantitatif (IgG İndeksi) ve Kalitatif (OKB) IgG Değerleri

Vaka	Tam	İndeks	OKB	Vaka	Tam	İndeks	OKB		
1	MK	muhtemel	0.33	—	21	ŞA	Muhtemel	0.45	—
2	FG	kesin	2.50	+	22	TS	kesin		
3	ÖÖ	kesin	0.62	+	23	sş	kesin	0.53	+
4	SA	kesin	0.37	—	24	İK	kesin	0.28	
5	SG	muhtemel	0.47	+	25	HT	kesin	1.62	
6	EU	kesin	0.59	+	26	AA	kesin	0.73	•
7	FA	muhtemel	0.37	+	27	SO	kesin	0.73	+
8	EA	kesin	3.04	+	28	NN	kesin		
9	SA	kesin	0.31	+	29	MA	kesin	0.30	+
10	UY	kesin	0.14	—	30	RA	kesin	0.43	
11	ŞD	kesin	0.23		31	ŞG	kesin	1.67	
12	SY	kesin	0.31	+	32	AM	kesin		
13	OÇ	kesin	0.92	+	33	HY	kesin	0.34	
14	AGE	muhtemel	0.35	+	34	TB	kesin	3.03	•
15	AA	kesin	—	+	35	KB	kesin	1.12	+
16	İT	kesin	0.38	—	36	YK	muhtemel		
17	RP	kesin	0.31	—	37	DY	muhtemel		
18	SÖ	muhtemel	0.58		38	YS	kesin	0.60	
19	SÇ	kesin	1.42	+	39	NK	kesin	OM	—
20	FŞ	muhtemel	0.30		40	MD	kesin	bakılmadı	—

Tablo 2. Hasta ve Kontrol Gruplarında HL-A Antijenlerine Ait Frekans Değerlerinin İstatistiksel Olarak Kıyaslanması

Antijen	Hasta grubu		Kontrol grubu n = 100	X2	p
	n =40	%			
A1	5	12.5	19	0.45	—
A2	8	20.0	31	1.21	—
A3	19	47.5	26	17.37	<0.001
A9	10	25.0	6	0.01	—
A11	7	17.5	0	3.22	—
A25	3	7.5	3	4.50	<0.05
A26	6	15.0	3	4.99	<0.05
A28	3	7.5	3	0.32	—
A32	1	2.5	0	0.22	—
AW32	4	10.0	0	7.00	<0.01
B5	10	25.0	10	4.10	<0.05
B7	12	30.0	6	12.62	< 0.001
B8	1	2.5	5	3.91	—
B12	1	2.5	4	0.05	—
B14	1	2.5	0	0.23	—
B17	2	5.0	1	1.27	—
B27	4	10.0	3	0.69	—
B40	1	2.5	0	1.65	—
Bw4	6	15.0	11	0.21	—
Bw5	1	2.5	0	0.14	—
BW6	3	7.5	19	2.05	—
BW21	1	2.5	1	1.27	—
BW22	8	20.0	1	14.13	< 0.001
BW35	5	12.5	17	0.16	—
BW44	3	7.5	4	0.18	—
BW73	1	2.5	0	0.22	—
CW2	5	12.5	18	0.28	—
CW3	5	12.5	23	1.37	—
CW4	5	12.5	58	22.10	<0.001
DRW1	7	17.5	19	1.18	—
DRW2	15	37.5	26	1.31	—
DRW3	16	40.0	17	7.16	<0.01
DRW4	5	12.5	15	1.31	—
DRW5	7	17.5	13	0.17	—
DRW6	3	7.5	7	0.07	—
DRW7	2	5.0	3	0.05	—

tedirler (13). Biz de bu uyarının ışığı altında X2 testinden elde edilen p değerlerini test edilen antijen sayısını dikkate alarak düzelttik.

Hasta grubunda A25, A26, Aw32, B5 ve DRw3 antijenlere ait frekanslarda istatistiksel olarak önemli artışlar saptadık (p değerleri 0.05 ve 0.01 den daha küçüktü). Ancak p değerlerini, test edilen antijen sayısına göre düzelttiğimiz zaman 0.05'den büyük değerler bulduğumuz için bu antijenlere ait frekans artışlarını dikkate almadık.

p değerleri 0.001'den küçük bulunan frekans farkları, test edilen antijen sayısına göre düzeltil-

diğinde istatistiksel yönden önemliliklerini korumuşlardır. Buna göre Cw4 antijen frekansının hasta grubunda (%12.5), kontrol grubuna kıyasla (%58) azaldığını gözledik. Bw22 antijeni için bulduğumuz frekans değerleri hasta grubunda %20, kontrol grubunda %1, B7 antijeni için bulduğumuz frekans değerleri ise hasta grubunda %30, kontrol grubunda %6'dır. Bw22 antijeni ile B7 antijeni arasında çapraz reaksiyon vardır. Çünkü Bw22 antijeni anti B7 antikoru ile de aglütine olur. Bu bulgu bu antijenlerin molekül yapısı balonundan büyük benzerlik gösterdiklerini düşündürmektedir. Ayrıca A3 antijenini hasta grubunda (%47.5)

kontrol grubuna kıyasla (%13) artmış olarak bulduk.

TARTIŞMA

Üzerinde yapılan çok sayıda araştırmaya rağmen MS hastalığının etiyolojisi bilinmemektedir. Hastalığın çok sayıda faktörün etkisi ile ortaya çıktığı kabul edilmektedir. MS etiyolojisinde rol oynayan faktörleri, çevresel ve genetik faktörler olmak üzere iki grupta toplamak mümkündür (3).

Hastalığın coğrafi dağılımı, göçlerin prevalans üzerine olan etkisi, hastalığa bazı bölgelerde sık olarak rastlanması çevresel faktörlerin rolünü göstermektedir (3). Genetik faktörlerin önemini gösteren bulgular şunlardır: 1) Aynı enlem derecesinde yaşayan Japonlarda batılılara kıyasla hastalık insidansı çok düşüktür. 43 kuzey enlem derecesinde bulunan Sapporo'da insidans 100.000'de 2 iken, 42 kuzey enlem derecesinde bulunan Boston'da 100.000'de 41 dir (3). 2) Bir prevalans çalışması, hastalığın ABD'de doğmuş Japon asıllı Amerikalılarda, ABD kendi halkına kıyasla daha seyrek görüldüğünü göstermiştir (1). 3) Hastalığın %22'ye kadar çıkabilen ailevi insidans gösterdiği ve kardeşler arasında diğer akrabalardan daha sık görüldüğü birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (3). 4) İkiizler üzerinde yapılan çalışmalarda, hastalığın monozigot ikizlerde dizigot ikizlerden çok daha sık olarak ortaya çıktığı saptanmıştır (2).

Bugüne kadar HLA sistemi ile MS arasındaki ilişki bütün ırklarda olmasa bile çoğunda gösterilmiştir. Bilindiği gibi kuman leucocyte-locus A kelimelerinin kısaltılması ile meydana gelmiş olan HLA, lökositlerde bulunan antijenleri ifade etmektedir. Fakat bu antijenler dokularda da bulunmaktadır, kuzey Avrupa orijinli hastalarda yapılan ilk çalışmalar HLA-A3 ve B7 ile hastalık arasında zayıf ilişkiyi (association) ortaya koymuştur (4). Daha sonraları yapılan çalışmalar hastalık ile D veya DR (D related) lokusu arasında daha güçlü bir ilişkinin olduğunu göstermiştir. Özellikle DW2 ve DR2 ile hastalık arasındaki assosiasyon belirgin olup Kuzey Avrupa, İskandinavya, Kuzey Amerika ve Yeni Zelanda da bu assosiasyon belirgindir (4,5). Bu assosiasyon güneye doğru inildikçe azalmaktadır. Bu genel kuralın istisnası Orkney ve Shetland adaları olup buralarda hastalık ile

D/DR assosiasyonu saptanamamıştır (14). Hem İskandinavya ve hem de Britanya da hastalık ile DR2 antijeni arasında güçlü bir assosiasyon bulunmasına karşılık ırk yönünden heriki toplumla yakın bağları olan Orkney ve Shetland adalarında bu ilişkinin gösterilmemiş olması ilginçtir. Compston (15) Orkney ve Shetland adalarında yaşayan MS hastalarında B7, DW2 ve DR2 frekanslarının Kuzey Avrupada yaşayan MS hastalarına yalan olduğunu bildirmiş, MS hastalarında kontrol grubuna kıyasla önemli fark bulunmamasını bu antijenlere ait frekans değerlerinin normal insanlarda da yüksek olması ile açıklamıştır. Diğer bir deyişle, DW2 ve DR2 antijenlerinin sık rastlandığı bu toplumda hastalık insidansı yüksektir. İskoçyada hastalık prevalansının yüksek olduğu Grampian bölgesinde yapılan bir araştırmada da HLA-B7 ve DR2 sıklığının diğer Kuzey Avrupa ülkelerinden rapor edilen frekanslara yalan olduğu fakat normal kişilerde de yüksek olduğu bu nedenle hasta ve kontrol grupları arasında bu antijenlerin frekansları açısından önemli fark olmadığı bildirilmektedir. Fakat yakın tarihlerde tanımlanan Klass 11 HLA antijenlerinden DQW1 normal insanlarla kıyaslandığında MS hastalarında daha sıktır (16). Kuzey Amerikalı sağlıklı zencilerde son derece nadir olan DW2 antijeni MS hastalığı olan zencilerde artmıştır (6). Araplar da DR2 antijeni ile değil fakat DR4 antijeni ile hastalık arasında assosiasyon bulunmuştur (17). Daha sonra Kuveytte yapılan bir çalışmada Akdeniz bölgesindeki MS hastalarında DR2 ve DQW1 antijenlerinin, körfez çevresinde yaşayan hastalarda ise DRW53 antijenlerinin arttığı saptanmıştır (17). Japonlarla İsraililerde ise hastalık ile HLA antijenleri arasında assosiasyon gösterilememiştir (6).

Bu birbirleriyle çelişkili olan bulgulardan çıkarılacak ilk önemli sonuç, HLA sistemi ile MS arasındaki ilişkinin önemli olduğudur. İkinci önemli sonuç ise Dw2 ve DR2 antijenlerinin hastalığın ortaya çıkışında ne gerekli ve ne de yeterli olmadığıdır. DR2 antijen frekansının yüksek olduğu Macak Çingenelerinde hastalığın nadir olması bu görüşü desteklemektedir (6).

Son zamanlarda hastalığın etiyolojisinde birden fazla genetik faktörün rol oynayabileceği görüşü ileri sürülmüştür, ö.kromozomda HLA bölgesinde kompleman yollarındaki (complement pathways) polimorfizm kontrolü ile ilgili 2 lokus bulunmak-

tadır. Avustralya ve İngilterede yapılan çalışmalar hastalık ile Bf lokusu arasında, bir aile üzerinde yapılan diğer bir çalışma ise hastalık ile C4 lokusu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (6). 14. kromozomda bulunan ve ağır zincir immünglobulinlerin kodlanmasından sorumlu olan lokus ile hastalık arasındaki asosiyasyon iki çalışma ile gösterilmiştir (6). Fakat bu bulgular MS hastalığında diğer genetik faktörlerin rolünü gösterme açısından yeterli görülmemektedir. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Türk popülasyonunda MS hastalığı ile HLA antijenleri arasındaki ilişki ilk kez bu çalışmada

araştırılmıştır. Bu çalışmada Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da yapılan çalışmalarda olduğu gibi A3 ve B7 antijen frekanslarında artma saptanmıştır. Ancak biz onlardan farklı olarak D/DR antijen frekanslarında artma saptanamadık. DRw3 antijen frekansında önemli gibi görünen artış p değeri mukayesesi yapılan antijen sayışma göre düzeltildiğinde önemliliğini koruyamamıştır. Bu bulgularımız yukarıda söz edilen görüşü destekler niteliktedir: 1) Hastalık ile HLA arasında asosiyasyon vardır. 2) Hastalığın ortaya çıkışında D/DR antijen frekansında artma görülmesi gerekli değildir.

1. Detels R, Vischer BR, Malmgren RM et al: Evidence for lower susceptibility to multiple sclerosis in Japanese-Americans. *Am J Epidemiol*, 105:303-310,1977.
2. Williams A, Eldridge R, McFarlanda H et al: Multiple sclerosis in twins. *Neurology* 30:1139-1147,1980.
3. McDonald WI: Multiple sclerosis: The present position. *ACTA Neurol Scand* 68:65-76,1983.
4. Batchelor JR, Compston DAS, McDonald WI: The significance of the association between HLA and multiple sclerosis. *Br Med Bull* 34:279-284,1978.
5. Miller DH, Hornobrook RW, Dagger J, Fong R: Ethnic and HLA patterns related to multiple sclerosis in Wellington. *New Zealand J Neurol Neurosurg Psychiatr* 49:4346,1986.
6. McDonald WI: The mystery of the origin of multiple sclerosis *J neurol Neurosurg Psychiatr* 49:113-123,1986.
7. Kurdi A, Ayesh I, Abdallat A et al: Different B lymphocyte alloantigen associated with multiple sclerosis in Arabs and North Europeans. *Lancet* 1:1123-1125,1977.
8. Rose AS, Ellison GW, Myers LW, Tourtellotte WW: Criteria for the clinical diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology* 26 (Suppl): 20-22,1976.
9. Ritche RF: A simple, direct and sensitive technique for measurement of specific proteins in dilute solution *J Lab Clin Med* 70:512-517,1967.
10. Matteson EL, Flagler DG, Mesara BW: IgG synthesis rate in evaluation of multiple sclerosis in a community hospital. *Neurology* 37:847-849,1987.
11. Link H, Laurenzi MA: Immunoglobulin class and light chain type of oligoclonal bands in CSF in multiple sclerosis determined by agarose gel electrophoresis and immunofixation. *Ann Neurol* 6,6:107-110,1979.
12. Bodner WF, Batchelor JR, Bodner JG, Gesthenstein E, Morris PJ: Histocompatibility testing 1977. Report of the 7th International Histocompatibility Workshop and Conference. Copenhagen: Munksgaard 1978.
13. Grumet FC, Cougell A, Bodner JG, Bodner WF and Mc pevitti HO: Histocompatibility (HL-A) antigens associated with systemic lupus erythematosus. *New Eng J Med* 285 (4): 193-196,1971.
14. Poskanzer DC, Terasaki PI, Prenney LB, Sheridan JL, Park MS: Multiple sclerosis in the Orkney and Shetland Islands. Histocompatibility determinants. *J Epidemiol Community Health* 34:253-257,1980.
15. Compston DAS: Multiple sclerosis in the Orkneys. *Lancet* 2:98-100,1982.
16. Francis DA, Batchelor JR, McDonald WI et al: Multiple sclerosis in North-East Scotland. An association with HLA-DQW1. *Brain* 110:181-186,1987.
17. Al-Din ASN, Al-Saffar M, Siboo R, Behbahani K: Association between HLA-D region epitopes and multiple sclerosis in Arabs. *Tissue Antigens* 27:196-200:1986.