

Zavod za transfuziju krvi, Novi Sad

Originalni naučni rad
Original study
UDK 616.379-008.64-097**ISPITIVANJE UDRUŽENOSTI II KLASSE HLA ANTIGENA I INSULIN-ZAVISNOG
DIJABETES MELITUSA U POPULACIJI VOJVODINE***INVESTIGATING CLASS II HLA ANTIGENS' ASSOCIATION WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES
MELLITUS IN POPULATION OF VOJVODINA***Svetlana VOJVODIĆ**

Sažetak - Kod 28 bolesnika sa insulin-zavisnim dijabetes melitusom (IZDM) i 218 zdravih nesrodnih osoba kontrolne grupe sa teritorije Vojvodine, ispitivani su HLA antigeni II klase. U radu je korišćena modifikovana dvokolorna imuno fluorescentna metoda (serološka tehnika), kojom je određivan fenotip HLA antigena DR i DQ lokusa. Fenotipske frekvencije II klase HLA antigena određivane kod obe grupe ispitanika, poslužile su za izračunavanje relativnog rizika (RR), pri čemu je za antigene čiji je RR veći od 1 računata etiološka frakcija ili populacioni atributivni rizik (EF), a za antigene čiji je RR manji od 1, računata je preventivna frakcija (PF). Ispitivanje postojanja statistički značajnih razlika učestalosti II klase HLA antigena u populaciji bolesnika u odnosu na zdrave osobe vršeno je χ^2 testom. Rezultati ispitivanja ukazuju na vrednosti RR većih od 1 kod HLA DR4 (2,808), DR10 (1,116) i DQ3 (1,386), pri čemu je uočena statistički značajna razlika učestalosti za HLA DR4 (χ^2 test: 4,805) kod obolelih u odnosu na zdrave osobe. Preventivnu ulogu za nastanak IZDM ima HLA DQ1 jer je izračunata najviša vrednost PF od 0,314. Rezultati naših ispitivanja potvrđuju postojanje udruženosti HLA DR4 i IZDM u populaciji Vojvodine. Visoke vrednosti relativnog rizika za obolevanje od IZDM kod nosioca HLA DR4 antigena, ukazuju na stepen rizika obolevanja od ove bolesti koja ima veliki socioekonomski značaj u Vojvodini.

Ključne reči: HLA antigeni II klase; Insulin-zavisni dijabetes melitus; Rizik

Uvod

Insulin-zavisni dijabetes melitus (IZDM) je kompleksno oboljenje koje nastaje kao posledica T-ćelijski posredovane autoimune destrukcije β -ćelija pankreasa [1]. Na moguću ulogu razaranja β -ćelija pankreasa u patogenezi dijabetesa, ukazao je Gepts 1965. god. On je opisao histološke promene na pankreasu kod bolesnika sa juvenilnim dijabetesom u vidu periinsularnih i intrainsularnih mononuklearnih ćelijskih infiltrata. Bottazo i saradnici opisali su limfocite koji infiltriraju Langerhansova ostrvca: pretežno su zastupljeni CD8 supresorski/citotoksični limfociti, ali su prisutne i CD4 pomoćničke/induktorske T-ćelije kao i NK ćelije. Većina ovih ćelija je aktivisana, s obzirom da su na površini tih ćelija iskazani HLA-DR antigeni i receptor za IL-2. Na obodima ostrvaca postoji enormno taloženje IgG i C9 komponente komplementa, a zapažene su i preplazma ćelije koje sintetišu IgG. To govori u prilog učešća kako humoralnog tako i celularnog autoimunитета u patogenezi dijabetesa tipa I (IZDM) [2].

Proces uništavanja β -ćelija pankreasa je hroničan, i kod dece i mladih osoba traje kraće nego kod odraslih. Autoimuna zbivanja koja mogu biti jače ili slabije autoagresivna i razorna za ćelije, pokreću različiti činioci (toksini, hemijski agensi i virusi). Prema nekim teorijama koje se temelje na istraživanjima na eksperimentalnim životinjama, poremećaj je u imunološkom sistemu, dok je prema hipotezi Bottaza i saradnika, poremećaj na nivou β -ćelija, tj. u promeni antigenskih karakteristika β -ćelija pankreasa. Nepoznati činioci indukuju β -ćeli-

je pankreasa da na svojoj površini prikažu autoantigen u sklopu sa molekulom klase II HLA sistema. CD4 T-limfociti prepoznaju kompleks i aktiviraju se prenoseći signale na B-limfocite koji sazrevaju i proizvode autoantitela. Delovanjem izlučenih citokina aktiviraju se i citotoksični T-limfociti, a kao posledica delovanja celularnih i humoralnih imunoloških mehanizama, dolazi do oštećenja β -ćelija koje postaju fagocitovane od strane makrofaga [3,4]. Prema nekim obeležjima patogenetskog mehanizma i vremenu javljanja kod osoba određenog uzrasta (deca ili adolescenti), unutar IZDM razlikuju se podgrupe bolesti: 1a, 1b i intermedijerni tip [3].

IZDM je bolest kompleksne etiologije, sa uticajem većeg broja gena i još nedefinisanih faktora spoljne sredine. Ispitivanja genetske osnove IZDM ukazuju na postojanje 15 nedovoljno istraženih genetskih markera, koji ukazuju na predispoziciju bolesti a ne predstavljaju sigurne markere u presimptomatskoj fazi bolesti [5,6,7]. Genski produkti histokompatibilnog sistema igraju centralnu ulogu u aktivaciji imunološkog sistema u tipu I dijabetesa, gde je gen osetljivosti za bolest u tesnoj vezi sa nekim HLA genom [7]. Smatra se da veća učestalost nekog HLA antigena u populaciji bolesnika označava postojanje gena osetljivosti za tu bolest, dok njegovo smanjenje (RR ispod 1) ukazuje na povezanost sa genom rezistencije. Signal i Blajchman, 1973. god. su prvi izneli podatke o većoj učestalosti HLA B15 u populaciji dece sa IZDM. Nakon toga, otkrivena je pozitivna udruženost HLA B8 i HLA B18, i inverzna sa HLA B7 [8]. Proučavanjem genskih produkata II klase HLA sistema (DR i DQ) uočena je

Skraćenice

IZDM	- insulin-zavisni diabetes melitus
IDDM	- insulin dependent diabetes mellitus
RR	- relativni rizik
EF	- etiološka frakcija
PF	- preventivna frakcija
AR	- apsolutni rizik
DNA	- desoksiribonucleotide acid
MHC	- Major Histocompatibility Complex
WHO	- World Health Organisation

mnogo veća udruženost ovih antigena sa IZDM. HLA DR3 i DR4 su veoma često nađeni kod osoba sa IZDM, posebno subtipovi DRB1*04 alela [6-11]. Relativno nova ispitivanja ukazala su na blisku udruženost i veću značajnost za razvoj bolesti ispitivanje DQ subregiona, naročito DQ-beta lanca i to u poziciji 57 i odsutnost aspartanske kiseline. Daljim proučavanjem faktora osetljivosti za ispoljavanje ili nasleđivanje tipa I dijabetesa otkriven je značaj alfa lanca DQ, gde je prisustvo arginina na poziciji 52 znatno povećavalo rizik za nastanak bolesti [8].

Heterogenost IZDM uočava se i u pogledu udruženosti pojedinih od podtipova IZDM predominantno sa HLA DR 3, koji se javlja pretežno kod bolesnika sa IZDM svih starosnih kategorija i HLA DR4 koji se javlja pretežno kod dece i mlađih bolesnika [3,11]. Zbog postojanja fenomena neravnoteže vezivanja alela u HLA sistemu, utvrđena je češća udruženost haplotipova DR4/DQ3 i DR3(17)/DQ2 sa IZDM. Nasuprot tome, protektivni haplotipovi koji su nađeni u najnižoj frekvenciji kod bolesnika sa IZDM su DR2(15)/DQ1(6) [10-12] i HLA DR7/DQ3(9) [13]. Ispitivanjima udruženosti HLA genotipova sa IZDM, uočena je najveća udruženost kod nosioca genotipa DR4 DQ3(8)/ DR3(17)DQ2 [3,12,14]. Predispozicija za IZDM potvrđena je ispitivanjima na molekularnom nivou, gde je utvrđena udruženost IZDM i haplotipova DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201 i DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302 [13], što odgovara haplotipovima DR3/DQ2 i DR4/DQ3(8) detektovanih serološkim tehnikama. Utvrđeno je da su ti haplotipovi vrlo učestali kod bolesnika sa IZDM i da svega 10% bolesnika, pripadnika bele rase ne poseduje ni jedan ni drugi od navedenih haplotipova. Kod tih bolesnika, pozitivna asocijacija nađena je sa DRB1*09, DQB1*0402, DRB1*08 i DRB1*07 alelima [5].

Upotrebom DNA tehnika, sekvencione specifične oligonukleotidne probe i reverzne dot blot hibridizacije, detektovano je 25 različitih alela koji pripadaju DRB1*04 familiji. Aleli sadržani u HLA DR4 familiji pokazuju različite aminokiselinske sekvence u 2. eksonu kodirajućeg gena [15]. Pojedini aleli, članovi HLA DR4 familije pokazuju različitu učestalost kod obolelih sa IZDM. Među DR4 podtipovima, DRB1*0401 alel je najučestaliji, dok su aleli DRB1*0403 i DRB1*0406 vrlo retko zastupljeni kod obolelih i predstavljaju dominantne protektivne markere obolevanja od IZDM [16,17]. Geni HLA DQ lokusa koji predisponiraju nastanak

IZDM su HLA DQB1*02/*0302 ili *0302/X, pri čemu X *02, *0602 ili *0603 [18].

Markeri značajni za razvoj IZDM unutar MHC (*Major Histocompatibility Complex*) regiona su geni HLA-DMA i -DMB lokusa, koji su smešteni između HLA DQ i HLA DP lokusa. To su geni ograničenog polimorfizma i obuhvataju proksimalni membranski deo 3. exona. Do sada je definisano 4 DMA i 5 DMB alela [6,19]. Ispitivanja udruženosti alela HLA-DMA i HLA-DMB lokusa sa IZDM ukazuju na negativnu asocijaciju alela HLA-DMA*0102 i HLA-DMB*0101 sa tipom I dijabetesa, što ukazuje da ti aleli poseduju zaštitnu ulogu obolevanja od tipa I dijabetesa. Antigeni klase III, tj. sistema komplementa (C2, C4a, C4b i Bf) takođe su udruženi sa dijabetesom [6]. Marker van HLA sistema koji su značajni za razvoj dijabetesa, nalaze se na hromozomima 1,3,4,5,6,7,11 i 14 [7], što još više otežava identifikovanje markera visokog rizika za razvoj IZDM.

Učestalost dijabetes melitusa u svetu je u stalnom porastu, tako da se broj obolelih tokom jedne generacije udvostruči. Procenjuje se da će broj obolelih osoba starijih od 20 godina porasti sa 135 miliona, koliko je registrovano 1995. god., na 300 miliona u 2025. god. [20]. U Vojvodini, prema podacima prof. Mirilova i saradnika, prevalencija dijabetes melitusa iznosi 6,8% [21], a učešće mortaliteta od dijabetes melitusa u ukupnom mortalitetu iznosi 7,1% [22]. Prema podacima za širu teritoriju Novog Sada, prevalencija hiperglikemija našte za muškarce iznosi 30,22%, a za žene 20,86% [23]. Incidencija javljanja IZDM kod dece uzrasta 0-14 godina je u Vojvodini 1997. god. iznosila 6-8/100.000, i pokazuje tendenciju stalnog porasta [24]. Prema podacima Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine u Novom Sadu, incidencija IZDM na teritoriji regiona Južne Bačke, iznosi 10,3/100.000 u uzrastu 0-14 godina (nepublikovani podaci dobijeni ljubaznošću prof. J.Vlaškog). U svetu, najviša incidencija obolevanja od dijabetesa zabeležena je u Finskoj 46/100.000 kod osoba 0-14 godina, a najmanja u Kini, Japanu i Južnoj Americi [25,26]. U Škotskoj je incidencija obolevanja u dečijem uzrastu od 0 do 14 godina 15,3/100.000, od 5 do 9 godina 24,4/100.000 a od 10 do 14 godina 31,9/100.000, što govori o njenom porastu sa starenjem [7,24,27]. Epidemiološki parametri incidencija i prevalencija obolevanja ukazuju na visoku učestalost IZDM u dečijem uzrastu, zbog čega ova bolest ima veliki socioekonomski značaj.

Materijal i metode

Ispitivanjem je obuhvaćeno 28 bolesnika sa IZDM i 218 zdravih nesrodnih osoba koji sačinjavaju kontrolnu grupu, sa teritorije Vojvodine. Grupu bolesnika čine šesnaestoro dece (57,14%) i dvanaestoro adolescenata (42,85%) sa IZDM. Kod obe grupe ispitanika određivani su HLA antigeni DR i DQ lokusa, modifikovanom dvokolornom

imunomagnetnom metodom koja spada u serološke tehnike detekcije HLA antigena, a u čijoj osnovi je mikrolimfocitotoksični test. Za ispitivanje antigena DR lokusa korišćeno je 14 antiseruma različitih specifičnosti i 5 antiseruma za DQ lokus. Za svaki antigen izračunata je fenotipska frekvencija, a pomoću χ^2 testa, sa korekcijom po Yatesu, izračunata je statistička značajnost razlika frekvencija kod obolelih u odnosu na kontrolnu grupu, uz korišćenje tablica 2 x 2 kao osnove za dalja istraživanja, prema sledećoj formuli:

Nalaz	Tablica 2x2 Karakteristika (antigen)		
	+	-	
Pacijent	a	b	a+b
Kontrola	c	d	c+d
		a+c	b+d

gde je:

a= broj obolelih osoba koje poseduju dati HLA antigen; b=broj obolelih osoba koje ne poseduju dati HLA antigen; c= broj zdravih osoba koje poseduju dati HLA antigen; d= broj zdravih osoba koje ne poseduju dati HLA antigen; N=zbir broja obolelih i zdravih osoba [28,29].

$$\chi^2 = \frac{(ad - cb - N/2)^2 \times N}{(a+c)(b+d)(a+b)(c+d)}$$

Kod obolelih od IZDM određivan je fenotip HLA antigena DR i DQ lokusa, a rezultati tog ispitivanja su upoređivani sa odgovarajućim rezultatima kod zdravih osoba.

Za sve HLA antigene izračunavan je relativni rizik (RR) prema sledećoj formuli:

$$RR = \frac{P^+ \times C^-}{C^+ \times P^-}$$

gde je:

P⁺ = broj obolelih osoba koje imaju dati HLA antigen; C⁻ = broj zdravih osoba koje nemaju dati HLA antigen; P⁻ = broj obolelih osoba koje nemaju dati HLA antigen; C⁺ = broj zdravih osoba koje imaju dati HLA antigen [28,30].

Ukoliko je učestalost antigena kod obolelih veća od one koja je nađena u kontrolnoj grupi, RR je veći od 1, što govori o tome koliko puta češće se javlja oboljenje kod osoba sa povećanom učestalošću nekog antigena u odnosu na osobe koje taj antigen nemaju.

Za sve vrednosti RR koje su veće od 1 izračunata je etiološka frakcija ili populacioni atributivni rizik prema sledećoj formuli:

$$EF = \frac{(FAD - FAP)}{(1 - FAP)}$$

gde je:

FAD = frekvencija antigena kod obolelih osoba, FAP = frekvencija antigena u kontrolnoj populaciji [28,30].

Vrednosti EF kreću se od 0 (kada ne postoji veza između antigena i bolesti) i 1 (kada je veza maksimalna). Ako je povišeni RR nađen za više antigena onda je veća povezanost sa oboljenjem onog antigena za koji je nađena veća vrednost EF.

Na sličan način su testirane vrednosti RR koje su manje od 1 tako što je za svaki antigen gde je RR manji od 1 izračunata preventivna frakcija (PF). Preventivna frakcija je parametar koji upotpunjuje RR i informativnije govori o asocijaciji HLA antigena i bolesti. Kod većeg broja antigena za koje su nađene vrednosti RR manje od 1, izračunate više vrednosti PF ukazuju na veću preventivnu ulogu datog antigena od obolevanja:

$$PF = \frac{(1 - RR) \times f}{RR \times (1 - f) + f}$$

gde je:

RR= relativni rizik,

f= frekvencija antigena kod obolelih [28,30,31, 32].

Rezultati

Kod obe grupe ispitanika određivane su fenotipske frekvencije II klase HLA antigena, tj. DR i DQ lokusa, koje su prikazane u Tabeli 1.

Tabela 1. Fenotipske frekvencije II klase HLA antigena kod bolesnika i zdravih osoba populacije Vojvodine

Table 1. Phenotypic frequencies of class II HLA antigens in patients and healthy persons in population of Vojvodina

antigen antigen	Fenotipske frekvencije II klase HLA antigena Phenotype frequencies of class II HLA antigens			
	bolesnici n=28 patients n=28		zdrave osobe n= 218 healthy persons n=218	
	frekvencija frequency	broj osoba number of persons	frekvencija frequency	broj osoba numbers of persons
DR1	0,035	1	0,155	34
DR2	0,321	9	0,348	76
DR3	0,142	4	0,183	40
DR4	0,357	10	0,165	36
DR5	0,214	6	0,233	55
DR6	0,178	5	0,201	44
DR7	0,074	2	0,133	29
DR8	0,035	1	0,050	11
DR9	0	0	0,013	3
DR10	0,035	1	0,032	7
DRX	0,607	17	0,444	97
DQ1	0,571	16	0,706	154
DQ2	0,214	6	0,229	50
DQ3	0,535	15	0,454	99
DQ4	0,035	1	0,041	9
DQX	0,607	17	0,555	121

Rezultati ispitivanja ukazuju da su u grupi bolesnika najviše frekvencije nađene kod antigena DQ3 (0,535), DR4 (0,357) i DR2 (0,321), a da je u kontrolnoj grupi zdravih osoba najučestaliji DQ1 (0,7064) i DR2 (0,348).

U Tabeli 2 prikazane su vrednosti RR za obolevanje od IZDM i statistička značajnost razlike frekvencija.

Tabela 2. Relativni rizici i χ^2 test kod bolesnika sa IZDM
Table 2. Relative risks and χ^2 test in patients with IDDM

Antigen <i>Antigen</i>	Relativni rizik <i>Relative risk</i>	χ^2 test
DR1	0,208	3,831
DR2	0,973	0,074
DR3	0,773	0,514
DR4	2,808*	4,805*
DR5	0,802	0,446
DR6	0,859	0,290
DR7	0,501	1,496
DR8	0,696	0,645
DR9	/	/
DR10	1,116	0,212
DRX	1,927	2,007
DQ1	0,554	2,783
DQ2	0,916	0,173
DQ3	1,386	0,376
DQ4	0,860	0,416
DQX	1,238	0,102

$p < 0,05$ < granična vrednost/border value: 1,97

Rezultati ispitivanja ukazuju da je RR veći od 1 kod HLA DR4(2,8008), HLA DR10(1,116) i HLA DQ3 (1,386) antigena. Statistička značajnost razlika frekvencija nađena je kod HLA DR4 (4,805) na nivou signifikantnosti od $p < 0,05$, uz stepen slobode 1.

Rezultati ispitivanja EF i PF za obolevanje od IZDM prikazani su u Tabeli 3.

Tabela 3. Etiološka i preventivna frakcija za obolevanje od IZDM u populaciji Vojvodine

Table 3. Etiological and preventive fraction of IDDM in population of Vojvodina

Etiološka i preventivna frakcija obolevanja od IZDM u populaciji Vojvodine

Etiological and preventive fraction of IDDM in population of Vojvodina

Antigen <i>Antigen</i>	Etiološka frakcija <i>Etiological fraction</i>	Preventivna frakcija <i>Preventive fraction</i>
DR1	/	0,117
DR2	/	0,008
DR3	/	0,040
DR4	0,298	/
DR5	/	0,050
DR6	/	0,028
DR7	/	0,066
DR8	/	0,015
DR9	/	/
DR10	0,003	/
DRX	0,292	/
DQ1	/	0,314
DQ2	/	0,019
DQ3	0,173	/
DQ4	/	0,005
DQX	0,132	/

Među antigenima čiji je RR veći od 1, najviša EF izračunata je kod HLA DR4 antigena. Među antigenima čiji je RR manji od 1, najviše vrednosti PF izračunate su za DQ1 antigen (0,314).

Diskusija

Uloga genetskih faktora u određivanju prirode humanih autoimunih procesa je poznata. Udruženo između HLA sistema mnogo je jača nego između drugih krvnih grupa i oboljenja. Priroda ove veze je dvojaka: u vezi sa određenim HLA antigenom ili haplotipom postoji povećana prijemчивost za obolevanje ili povećana rezistencija. Neke od bolesti koje su udružene sa HLA antigenima, vezane su za jedan HLA antigen (ankilozirajući spondilitis i HLA B27), dok su druge vezane sa dva ili više antigena, pa zato kažemo da su to bolesti haplotipova (IZDM i haplotip B8, B15, DR3,DR4). Nekada su svi antigeni u haplotipu odgovorni za pojavu oboljenja a nekada samo neki od njih. Geni HLA sistema ili sami ili u sadejstvu sa drugim genima, koji su blisko vezani sa HLA sistemom, na neki način utiču na pojavu određenih oboljenja. Stalna veza nekog gena sa oboljenjem predstavlja pravu primarnu vezu, dok promenljive veze predstavljaju sekundarnu vezu koja je izazvana neravnotežom vezivanja gena ili heterogenošću samog oboljenja [9,18, 28].

Nije objašnjeno kako geni MHC (*Major Histocompatibility Complex*) mogu uticati na podložnost bolesti, ali je moguće njihovo delovanje na veličinu humoralne i celularne imunoreakcije i na imunoregulaciju (pomoćničke, supresorske i citotoksične funkcije T-limfocita), na metabolizam, posebno steroidnih hormona, na prihvatanje antigena od strane fagocitnih ćelija i na antigensku mimikriju. Kod nekih od bolesti povezanih sa MHC može doći i do interakcija dveju ili više gena susceptibilnosti, od kojih bi samo jedan mogao biti MHC gen. Poznato je da antigeni klase II pokazuju značajan genetski polimorfizam povezan sa β -lancem. Upotrebom cDNA probe i restriktivnih endonukleaza analiziran je β -lanac hibridizacijskih modela između DNA zdravih osoba i one kod bolesnika sa IZDM. Među HLA DR4 i HLA DR3/4 osobama, bolesnici sa IZDM pokazuju povećanu učestalost jednog fragmenta od 18 kb. Takođe u kontrolnoj grupi otkriven je fragment od 3,7 kb (30-40%) koji se vrlo retko nalazi kod bolesnika sa IZDM (0-2%) [2].

Ispitivanje udruženosti II klase HLA antigena i IZDM u populaciji Vojvodine, pokazuje da je HLA DR4 antigen najčešće udružen sa ovim autoimunim oboljenjem. Među ispitivanim antigenima sa RR većim od 1 nalazi se DR10 (RR=1,116) i DQ3 (RR=1,386), ali kod tih antigena nije nađena statistički značajna razlika frekvencija kod obolelih u odnosu na zdrave osobe. Antigeni kod kojih je nađena negativna asocijacija sa IZDM su oni gde su vrednosti RR manje od 1. Kod tih antigena računata je PF, pri čemu je nađena najviša vrednost kod DQ1

antigena od 0,314. To ukazuje da ovaj antigen deluje preventivno u smislu razvoja IZDM kod 31% nosioca ovog antigena. Prema literaturnim podacima nađeno je da antigen DR2(15) i haplotipovi DR2(15) DQ1(6) i DR7DQ3(9) [11,12,13], imaju zaštitnu ulogu od obolevanja od IZDM, tako da naši rezultati koji se odnose na preventivnu ulogu HLA antigena, nisu u skladu sa odgovarajućim opisanim u literaturi. Rezultati ispitivanja na našem materijalu u skladu su sa odgovarajućim rezultatima mnogobrojnih studija koje ukazuju na udruženost HLA DR4 i IZDM. Prema studiji Stolić I, i saradnika, ispitivanjem primarne udruženosti HLA DR4 fenotipa i IZDM u populaciji Jugoslavije, izuzimajući teritoriju Vojvodine, nađeno je da u populaciji Jugoslavije postoji udruženost HLA B8, DR3 i DR4 fenotipa sa IZDM. HLA DR4 fenotip pokazuje primarnu, dok HLA B8 i HLA DR3 fenotipovi pokazuju sekundarnu udruženost sa IZDM. Na području Vojvodine, do sada nije vršeno ispitivanje udruženosti I klase HLA antigena i IZDM. Ispitivanjima na našem materijalu ne potvrđuje se postojanje udruženosti HLADR3 i IZDM, dok među ispitivanimima postoji jedan bolesnik sa visokorizičnim genotipom DR3/DR4 (fenotip bolesnika: DR3,4/DQ2,3). S obzirom na češću udruženost HLA DR3 sa podvarijantom dijabetesa koji se javlja pretežno kod adolescenata i u svim starosnim kategorijama, i većom

učestalošću HLA DR4 pretežno kod obolele dece [3], obrazloženje naših rezultata sastoji se u većoj zastupljenosti dece koja čine 57,14%, prema 42,85% adolescenata među ispitivanim bolesnicima. Među svim antigenima kod kojih je izračunat RR veći od 1, nađene su najviše vrednosti EF za DR4 (0,298), što ukazuje na rizik da će 29,8% nosilaca DR4 antigena oboleti od IZDM nakon izlaganja faktorima spoljne sredine. Vrednost χ^2 testa iznad graničnih za stepen slobode 1, na nivou signifikantnosti od $p < 0,05$, nađene su kod HLA DR4 antigena (4,805), što zajedno sa vrednosti RR od 2,808, ukazuje na sigurnu udruženost HLA DR4 i IZDM u populaciji Vojvodine. Vrednost RR od 2,808 ukazuje da HLA DR4 pozitivna osoba ima 2,808 puta veću mogućnost da oboli od IZDM u odnosu na HLA DR4 negativnu osobu.

Zaključak

Našim ispitivanjem utvrđena je udruženost HLA DR4 antigena i IZDM u populaciji Vojvodine. Ovi rezultati potvrđuju značaj HLA tipizacije u dijagnostici i prognozi toka i razvoja IZDM. Rezultati naših ispitivanja ukazuju na stepen rizika obolevanja od IZDM i doprinose sagledavanju socioekonomskog i profilaktičko-medicinskog značaja koji ima IZDM na teritoriji Vojvodine.

Literatura

1. Donner H, Seidi C, Van der Annera B, Braun J, Siegmund T, Herwig J, et al. HLA DRB1*04 and susceptibility to type 1 diabetes mellitus in a German/Belgian family and German case-control study. *Tissue Antigens* 2000;55:271-4.
2. Rose NR, Lorenzi M, Lewis M. Endokrine bolesti. In: Stites DP, Stobo JD, Wellis JV, eds. Osnovna klinička imunologija. 2 izdanje. Beograd: Savremena administracija; 1991. str. 593-6.
3. Škrabalo Z, Kadrnika-Lovrenčić M, Miličević Z, Pavlič-Renar I. Endokrinologija-šećerna bolest. In: Dekaris D, Čulo F, eds. Klinička imunologija u nas. Zagreb: Naprijed; 1990. str. 424-36.
4. Vera Jerant-Patić. Imunologija: autoimunost i autoimune bolesti. Novi Sad: Medicinski fakultet; 2000. str. 430-68.
5. Undlien DE, Kockum I, Roningen KS, Lowe R, Saanejeevi CB, Graham J, et al. HLA associations in type 1 diabetes among patients not carrying high-risk DR3-DQ2 or DR4-DQ8 haplotypes. *Tissue Antigens* 1999;54:534-51.
6. Siegmundt T, Donner H, Braun J, Usadel KH, Badenhop K. HLA-DMA and HLA-DMB alleles in German patients with type 1 diabetes mellitus. *Tissue Antigens* 1999;54:291-4.
7. Vlaški J, Stefan S, Katanić D, Vukadinović I, Babić Lj. Predikcioni značaj imunoloških markera u etiopatogenezi dijabetesa s posebnim osvrtom na insulinska antitela. *Med Pregl* 1998;51 (5-6):221-7.
8. Vlaški J. Etiopatogenetski aspekti insulin-zavisnog dijabetesa. *Acta Med Median* 1993;4:55-9.
9. Stolić I, Simonović R, Čuk G, Paunović D. Primarna udruženost HLA DR4 fenotipa i insulin zavisnog dijabetesa melitusa u populaciji Jugoslavije. *Bilt Transfuz* 1996;42:5-7.
10. Cinek O, Wilkinson E, Paltier L, Saugstad OD, Magnus P, Ronningen KS. Screening for the IDDM high-risk genotype: a rapid microtitre plate method using serum as source of DNA. *Tissue Antigens* 2000;56:344-9.
11. Bodmer W. HLA and disease. *J Exp Med* 1980;152 (2): 351-7.
12. Schipper RF, Koelman BPC, Bruining GJ, Schreuder GMTh, Verdujin W, de Vries RRP, et al. HLA II class associations with type 1 diabetes mellitus: a multivariate approach. *Tissue Antigens* 2001;57:144-50.
13. Marquis E, Le Mounier de Gouville J, Bouvattier C, Robert JJ, Charron D, et al. HLA DRB1 and DQB1 genotypes in patients with insulin-dependent neonatal diabetes mellitus: a study of 13 cases. *Tissue Antigens* 2000;56:217-22.
14. Caillat-Zucman S, Djalali-Saiah J, Timsit J, Bonifacio E, Sepe V, Collins P, et al. Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM): 12th International histocompatibility workshop study. In: Dominique Charon ed. Genetic diversity of HLA functional and medical implication. Paris: Medical and scientific international publisher; 1997. p. 389-98.
15. Stastny P, Carcassi C, Mehra NK, Alcalay D, Chan S, Gonzalez-Escribano M, et al. HLA-DR4,DR53. In: Dominique Charon ed. Genetic diversity of HLA functional and Medical implication. Paris: Medical and scientific international publisher; 1997. p. 100-2.
16. Krokowski M, Bodalski J, Bratek A, Boitard C, Caillat-Zucman S. HLA class II associated predisposition to insulin-dependent diabetes mellitus in a Polish population (abstract). *Hum Immunol* 1998;59(7):451-5.

17. Park YS, Wang CY, Ko KW, Yang SW, Park M, Yang MC, et al. Combinations of HLA DR and DQ molecules determine the susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus in Koreans (abstract). Hum Immunol 1998;59(12):794-801.
18. Knip M. Natural course of preclinical type I diabetes. Horm Res 2002;57(Suppl 1):6-11.
19. Gligorović V, Stolić I, Simonović R. Sistem HLA-Humani glavni kompleks histokompatibilnosti. In: Gligorović V, Balint B. Klinička transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1998. str. 453-80.
20. Worldwide diabetes prevalence to increase sharply by 2025. Diabetes Care 1998;21:1414-31.
21. Mirilov M, Svirčević A, Jakovljević Đ, Trifunović S, Stanulović D, Popović B. Značaj ishrane u sveobuhvatnoj zaštiti od kardiovaskularnih bolesti. Hrana i ishrana 1979;(9-12):241-6.
22. Planojević M. CINDI program: model za ostvarivanje strategijskog cilja "Zdravlje za sve". ECPD, Međunarodni seminar. Knjiga predavanja. Novi Sad: Dom zdravlja; 1996. str. 1-23.
23. Novaković B. Učestalost sindroma X u opštoj populaciji (doktorska disertacija). Novi Sad: Medicinski fakultet; 1997.
24. Gučev Z, Vlaški J. Osnovni principi lečenja insulin zavisne šećerne bolesti (diabetes mellitus I). Vodič za decu, adolescente i njihove roditelje. Novi Sad: Srpsko lekarsko društvo-Društvo lekara Vojvodine; 1997.
25. Silink M. Childhood diabetes: a global perspective. Horm Res 2002;57(Suppl 1):1-5.
26. Schatz D, Krischer J, She J-X. To screen or not to screen for pre-type 1 diabetes? Horm Res 2002;57(Suppl 1):12-7.
27. Rongasami JJ, Greenwood DC, McSporran B, Smail P, Peterson CC, Waugh NR, et al. Rising incidence of type I diabetes in Scottish children, 1984-93. Arch Dis Child 1997;77:210-3.
28. Đokić M. Antigeni HLA sistema i maligne hemopatije (doktorska disertacija). Novi Sad: Medicinski fakultet; 1986.
29. Petz B. Osnovne statističke metode. Zagreb: Medicinski fakultet; 1964.
30. Schwartz BD. Glavni HLA kompleks histokompatibilnosti čoveka. In: Stites DP, Stobo JD, Wellis JV, eds. Osnovna klinička imunologija. 2 izdanje. Beograd: Savremena administracija; 1991. str. 50-64.
31. Bengston BO, Thompson G. Measuring the strength of associations between HLA antigens and disease. Tissue Antigens 1981;18:356-63.
32. Green A. The epidemiological approach to studies of association between HLA and disease: estimation absolute risk, etiologic and preventive fraction. Tissue Antigens 1982;19:259-68.

Summary

Introduction

Class II HLA antigens were investigated in a group of 28 patients with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) and 218 healthy unrelated persons (control group) from Vojvodina.

Material and methods

We used a modified two-colour immunofluorescence method (serologic technique) to determine the phenotype of DR and DQ locus HLA antigens. Phenotype frequencies of class II HLA antigens were determined in both investigated groups and were used for calculating relative risk (RR). If RR was higher than 1, we calculated the population attributable risk (EF), and if RR was lower than 1, we calculated the preventive fraction (PF). Investigation of statistically significant differences in frequencies of class II HLA antigens in patients and control group was performed by using χ^2 test.

Key words: HLA Antigens; Diabetes Mellitus; Insulin-Dependent; Risk

Results

Results of investigation showed that values of RR were higher than 1 for HLA DR4 (2,808), DR10 (1,116) and DQ3 (1,386), while we noticed a statistically significant difference in frequencies of HLA DR4 (χ^2 test : 4,805) in patients regarding control group. HLA DQ1 antigen has a preventive role in development of IDDM due to highest value of PF (0,314).

Conclusion

Results of our investigation confirm that there is an association of HLA DR4 with IDDM in population of Vojvodina. High values of relative risk of IDDM, noticed in persons with HLA-DR4 antigen, point to the degree of risk of IDDM, which is a disease with great socioeconomic importance in Vojvodina.

Rad je primljen 6. VIII 2002.

Prihvaćen za štampu 21. IX 2002.

BIBLID.0025-8105(2003)LVI:1-2:26-31.