

گزارش وضعیت آنتی‌ژنهای HLA در ۱۴ بیمار ایرانی مبتلا به لیکن پلان

• دکتر پریچهر غلیانی

چکیده

در این مطالعه جهت بررسی نقش ژنتیک در اتیولوژی بیماری لیکن پلان تعداد ۱۴ بیمار مبتلا به لیکن پلان شامل دو گروه (گروه اول ۶ بیمار مربوط به دو خانواده با سابقه ابتلای خانوادگی و گروه دوم شامل ۸ بیمار بدون نسبت خانوادگی) را مورد بررسی از نظر آنتی‌ژنهای HLA - Class II (DR, DQ), Class I (A,B,C) با استفاده از روشهای توصیه شده بوسیله NIH (Lymphocytotoxicity NIH Two Stage) قرار دادیم. محدوده سنی بیماران از ۲۴-۶۶ سال می‌باشد.

در این مطالعه اگرچه تعداد بیماران نمی‌تواند نمایانگر وضعیت آنتی‌ژنهای HLA در جامعه ایرانی باشد و نمی‌توان راجع به شیوع آنتی‌ژن خاصی در بیماران اظهار نظر نمود با این وجود در یک نگاه افزایش نسبی آنتی‌ژن HLAB₅ یا Cluster B₅ مشاهده گردید.

مقدمه

لیکن پلان بیماری پوستی مخاطی است که دارای تظاهرات دهانی شایعی می‌باشد. در مواجهه با اینگونه بیماران همیشه پرسش در مورد علت بیماری از طرف بیماران مطرح می‌گردد و از آنجایی که علت بیماری همچنان مبهم است ما را بر آن داشت تا بلکه با مطالعه‌ای در زمینه ژنتیک بیماری این سوال را پاسخگو باشیم یعنی ببینیم آیا می‌توان ارتباطی بین این بیماری و سیستم ژنتیک برقرار ساخت یا نه.

تعریف

لیکن پلان بیماری نسبتاً شایع پوستی مخاطی است که می‌تواند پوست یا مخاط دهان و یا هر دو را مبتلا نماید. علاوه بر پوست ضمامن آن از جمله مو و ناخن را نیز مبتلا می‌نماید.^[۱] تظاهرات پوستی بیماری بصورت پاپولهای چند ضلعی و مجزا از هم بخصوص بر روی سطوح تا شونده، تنه

مجها، و سطوح داخلی رانها ایجاد می‌شود پاپولها نافدار بوده و با استفاده از ذره‌بین می‌توان خطوطی مایل به خاکستری را به صورت شبکه‌ای در سطح پاپولها مشاهده نمود که به آن خطوط و یکپام گفته می‌شود.^[۱] اشکال بالینی ضایعات پوستی بصورت هیپرتروفیک - فولیکولر - خطی - لیکن پلان پمفیگوئید - آکتینیک - حلقوی - آتروفیک - گوته - و لکین پلان کف دست و پا می‌باشد.^[۹] و اشکال بالینی ضایعات دهانی بصورت رتیکولر - پلاک - پاپولر - آتروفیک - اروزیو و بولوس می‌باشد.^[۱۱] این بیماری بیشتر در سنین ۳۰-۷۰ سالگی ایجاد می‌شود و طبق گزارشات Banoczy، ۸۶/۵٪ بیماران بیش از ۴۰ سال سن داشته‌اند.^[۱۲]

فرضیات موجود در مورد پاتوژنز بیماری مبنی بر تغییرات اولیه در اپیدرم بوده و معتقدند انفیلتراسیون سلولی در درم

• متخصص بیماریهای دهان - استادیار گروه بخش بیماریهای دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

نسبت به تغییرات ایدرم ثانویه است.^[۹] Lacy و همکارانش معتقدند که بیماری لیکن پلان بیشتر یک استعداد ژنتیکی است آنها معتقدند که گرچه بیماری لیکن پلان دارای پایه ایمنونولوژیک می باشد با این وجود بعضی افراد نسبت به ابتلاء به این بیماری مستعد بوده و این استعداد آنها را نسبت به محرکهای خارجی حساس تر می سازد و بنابراین فنوتیپهای ویژه HLA زمینه ساز ابتلا به بیماری می باشد. اما Vein و همکارانش نتوانستند رابطه مهمی را بین آنتی ژنهای HLA و لیکن پلان بیابند.^[۱۷]

بهرحال در مورد پاتوژنز بیماری توافق عموم مبنی بر دخالت سیستم ایمنی سلولی می باشد. بطوریکه در نمونه های بافتی بیوپسی شده آنفیلتراسیون سلولهای تک هسته ای لنفوسیت در طبقه فوقانی لامینا پروپریا مشاهده شده است و زودرستین تغییرات پیدایش سلولهای لانگرهانس بعنوان Antigen Processing Cell و پس از آن تـوکسیسیته لنفوسیت های T موجب تغییر در لایه بازال و پیدایش دژنراسیون هیدروپیک می شود.^[۱۸]

نکته جالب توجه در لیکن پلان نقش استرسهای روحی است و به نظر می رسد بین استرس و پاسخهای ایمنی رابطه ای وجود داشته باشد. بطور Invitro نشان داده شده است که هورمونهای هیپوفیزی B-Endorphin قادر به تحریک لنفوسیتها جهت تکثیر می باشند. بنابراین اول یک زمینه ژنتیکی مثبت لازمست وجود داشته باشد و پس از آن استرس است که موجب آزاد شدن بتاندروفین می شود. بعبارت دیگر بتاندروفین یا دیگر هورمونهای نورواندوکرین می تواند سبب تشدید واکنشهای ایمنی بطور مستقیم بر علیه یک عامل عفونت زا شود.^[۲۱] سلولهای ماکروفاژ/منوسیت، سلولهای لانگرهانس و کراتینوسیتها نقش مهمی را در حضور آنتی ژن ایفا می نمایند.^[۱۸،۴]

آنتی ژنهای HLA در لیکن پلان

آنتی ژنهای HLA سه دسته هستند: ۱- کلاس یک شامل -

مواد و روشها

جمعیت مورد مطالعه و حجم نمونه: کلیه بیماران مراجعه کننده به بخش بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۶۷-۶۸ مورد معاینه دقیق کلینیکی قرار گرفته و تعداد ۳۴ بیمار مبتلا به لیکن پلان از جهت ایمنونوگلوبولینها و آنتی بادی ضد هسته پس از بیوپسی و تأیید هیستوپاتولوژی شدند بررسی در مطالعه حاضر جهت بررسی آنتی ژنهای HLA چون مطالعه با فاصله ۸ ماه از مطالعه قبلی (یعنی بررسی ایمنونوگلوبولینها و آنتی بادی ضد هسته) صورت می گرفت و امکان دسترسی مجدد به کلیه بیماران نبود با ارسال دعوتنامه به منازل بیماران ۱۴ بیمار مجدداً مراجعه و از نظر آنتی ژنهای HLA بررسی شدند این ۱۴ بیمار خود شامل دو گروه بودند، گروه اول شامل ۶ بیمار مربوط به دو گروه خانوادگی می باشند که شامل یک خانواده متشکل از دو برادر که هر دو از یک پدر و یک مادر بوده اند. گروه دوم چهار عضو یک خانواده شامل یک برادر و سه خواهر که دو خواهر از یک مادر و برادر و خواهر دیگر از مادر دیگری بودند ولی همه متعلق به یک پدر بودند. جمعاً این شش نفر گروه بیماران مبتلا به لیکن پلان با سابقه فامیلی را تشکیل می دادند. گروه دوم بیماران مورد بررسی شامل ۸ نفر

موجود بر روی پلتهای مخصوص انجام آزمایش قراردادده و ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار می‌دهیم و سپس با ۵ میکرولیتر کمپلمان خرگوش به مدت ۶۰-۹۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه می‌نمائیم برای تعیین آنتی‌ژنهای کلاس II, DR, DP, DQ روش انجام کار مانند مرحله تعیین آنتی‌ژنهای کلاس I می‌باشد فقط در این مرحله نیاز به لئوسیت‌های B می‌باشد و نیز مدت زمان انکوباسیون لئوسیت‌ها با آنتی سرم ۱ ساعت و زمان انکوباسیون با کمپلمان خرگوش ۲ ساعت می‌باشد. پس از مرحله انکوباسیون با کمپلمان خرگوش با انجام روش‌های ثابت‌نمودن و رنگ‌آمیزی پلیت‌ها آماده خواندن در زیر میکروسکوپ واژگون می‌باشد در حفراتی که لئوسیت‌ها با آنتی‌سرم مربوطه واکنش نشان داده باشد لئوسیت‌ها بصورت متورم و کدر در می‌آیند و کاملاً قابل تشخیص با لئوسیت‌های منفی که کوچک و شفاف هستند می‌باشد. [۱۲، ۹، ۲]

نتیجه

اطلاعات آنتی‌ژنهای HLA دریافت شده از ۱۴ بیمار مبتلا به لیکن پلان (۶ بیمار متشکل از دو گروه خانوادگی مبتلا به لیکن پلان و ۸ بیمار بدون وابستگی فامیلی و بدون سابقه ابتلای خانوادگی) در جداول ۱ و ۲ منعکس شده است. با وجودی که تعداد افراد مورد مطالعه کم می‌باشد و به هیچ‌وجه نمی‌تواند نمایانگر وضعیت آنتی‌ژنهای HLA در جامعه ایرانی باشد با این وجود یک مطالعه مقدماتی و اولیه در زمینه آنتی‌ژنهای HLA در بیماری لیکن پلان می‌باشد. در این مطالعه بعثت تعداد کم بیماران و امکان پذیر نبودن محاسبات آماری نمی‌توان در مورد شیوع آنتی‌ژن HLA خاصی در بیماران اظهار نظر نمود با این وجود با یک نگاه در نتایج بدست‌آمده افزایش فراوانی نسبی آنتی‌ژن HLAB₅ یا B₅ Cluster^۱ مشاهده گردید.

۱- منظور آنتی‌ژنهای HLA که از نظر خصوصیات ساختمانی بسیار شبیه HLAB₅ می‌باشند و شامل B₅ - B₅₁ - B₃₅ هستند.

بدون وابستگی فامیلی و سابقه ابتلای خانوادگی بیماری می‌باشند. علت کم بودن حجم نمونه بدلیل گران بودن و نبودن امکانات مطالعه و عدم همکاری بیماران می‌باشد، بنابراین ما فقط موفق شدیم تعداد ۱۴ بیمار را مورد بررسی قرار دهیم. محدوده سنی بیماران مورد مطالعه از ۲۴ تا ۶۶ سال می‌باشد. در این مطالعه ۱۴ بیمار را از جهت آنتی‌ژنهای HLA Class I یعنی A, B, C مطالعه نمودیم و ۱۰ بیمار را از جهت آنتی‌ژنهای HLA Class II، DQ و DR مورد مطالعه قراردادیم.

آنتی‌ژنهای HLA در لیکن پلان

روش اجرا

از ۱۴ بیمار مورد مطالعه قبلاً (۸ ماه پیش) بیوپسی انجام شده بود و بیماری از لحاظ هیستوپاتولوژی کاملاً اثبات گردیده بود لذا نیاز به انجام بیوپسی مجدد از آنها نبود. اما برای انجام HLA Typing خونگیری مجدد انجام شد چون جهت این آزمایش به ۲۰CC خون نیاز بود. بنابراین از کلیه ۱۴ بیمار مورد آزمایش ۲۰CC خون وریدی گرفته شد برای تعیین آنتی‌ژنهای کلاس I و کلاس II نیاز به لئوسیت‌های T و B می‌باشد لذا برای جداساختن این سلول‌ها از ارلنی که حاوی چند گلوله شیشه‌ای است استفاده می‌شود در این حالت خون را در داخل این ظرف ریخته و به آرامی با حرکات چرخشی تکان می‌دهیم تا خون دفیبرینه شود. سپس خون را با محلول هم حجم خود از محلول Hanks رقیق نموده و سپس خون رقیق شده را در چند لوله محتوی فایکول ریخته بطوریکه خون در بالای فایکول قرار بگیرد و سپس لوله‌ها را ساترینفوژ می‌نماییم تا لئوسیت‌ها بالای فایکول قرار بگیرد.

تعیین آنتی‌ژنهای

HLA Class II (DR, DQ) , HLA Class I (A,B,C)

با سرنگ هاملتون ۱ میکرولیتر از لئوسیت‌های T شمارش‌شده را در مجاورت یک میکرولیتر آنتی‌سرم در حفره

جدول ۱- آنتی ژنهای HLA (کلاس I و کلاس II) بدست آمده از ۸ بیمار مبتلا به لیکن پلان بدون نسبت فامیلی

HLA Class II	HLA Class I			نوع ضایعه	سن	جنس	نام	شماره
	DR	A	B					
DR ₄ -DR ₃ -DR ₅₂ -DQ ₁	A ₁₀ -A ₁₁	B ₅	-	پلاک	۲۴	مونث	ر-ق	۱
DR ₂ -DR ₅₂ -DQ ₁	A ₃ -A ₃₀	B ₃₅ -B _{W6}	-	بولوس	۴۱	مونث	ح-ا	۲
-	A ₂₈ -A ₃	B ₅ -B ₅₁ -B _{W6}	CW ₄	اروزیو	۳۶	مونث	ص-ص	۳*
-	A ₉	B ₅ -B ₂₁ -B _{W6}	CW ₄	رتیکولر	۳۹	مونث	ن-ص	۴*
-	A ₂ -A ₁₁	B ₃₅ -B ₂₁	-	اروزیو	۵۳	مذکر	ا-م	۵*
-	A ₃	B ₃₅ -B _{W6}	CW ₄	پلاک	۲۹	مذکر	ع-ع	۶*
DR ₂ -DR ₃ -DR ₅₂ -DQ ₁ -DQ ₂	A ₁ -A ₂₃	B ₅ -B ₂₁ -B ₆	CW ₅	اروزیو	۲۴	مذکر	م-ج	۷*
DR ₃ -DR ₈ -DR ₅₂ -DQ ₁ -DQ ₃	A ₁ -A ₃₀	B ₁₃ -B ₄₁	CW ₂	رتیکولر	۶۶	مذکر	ا-غ	۸*

* چهار بیمار فوق از نظر آنتی ژن DR بررسی نشدند

جدول ۲- آنتی ژنهای HLA (کلاس I و کلاس II) بدست آمده از ۶ بیمار شامل دو گروه خانوادگی مبتلا به لیکن پلان

HLA Class II	HLA Class I			نوع ضایعه	سن	جنس	نام	شماره
	DR	A	B					
DR ₄ -DR ₇ -DR ₅₂ -DR ₅₃ -DQ ₂ -DQ ₃	A ₂ -A ₃₀	B ₅₁	CW ₄	آتروفیک	۴۰	مذکر	ن-ق	۱
DR ₂ -DR ₇ -DR ₅₂ -DQ ₁ -DQ ₂	A ₂ -A ₉	B ₅₁ -B ₂₁	CW ₅	رتیکولر	۴۴	مونث	ف-ق	۲
DR ₃ -DR ₇ -DR ₅₂ -DR ₅₃ -DQ ₂ -DQ ₃	A ₉ -A ₃₀	B ₅₁ -B ₂₁	CW ₄ -CW ₅	پلاک	۳۷	مونث	ص-ق	۳
DR ₂ -DR ₇ -DR ₅₂ -DQ ₁ -DQ ₃	A ₃ -A ₉	B ₅₁ -B ₇	CW ₅	پلاک	۳۴	مونث	ز-ق	۴
DR ₁ -DR ₃ -DQ ₁ -DQ ₃	A ₂ -A ₁₀	B ₁₄ -B ₃₉	-	پلاک	۵۸	مذکر	م-ب	۵
DR ₁ -DR ₃ -DQ ₁ -DQ ₃	A ₂ -A ₁₀	B ₁₄ -B ₃₉	-	بولوس	۵۴	مذکر	غ-ب	۶

بحث

با مشاهده موارد خانوادگی بیماری لیکن پلان این فرض شکل گرفت که ممکن است بیماری لیکن پلان دارای پایه‌ای ژنتیکی باشد. اولین بار فرم خانوادگی بیماری در خانواده‌ای ۴ نفری شامل مادر و سه فرزندش مشاهده شد و پس از آن موارد دیگری از این بیماری در خانواده‌ها گزارش شد. و نیز

این بیماری در دو قلوها هم گزارش شده است.^[۱۷] در سال ۱۹۸۲، Boyle و Scully وجود B₂ میکروگلوبولین را در بیماران مبتلا به لیکن پلان مورد بررسی قرار دادند این آنتی ژن جزئی از مولکول آنتی ژنهای HLA بوده و پروتئینی با وزن مولکولی کم می‌باشد. این آنتی ژن بوسیله لئوسیت‌ها بخصوص در زمان فعالیت آزاد می‌شود. افزایش B₂M، د

لیکن پلان هر سه دارای علائم هیستولوژیک مشابه بوده و در همراهی با HLA-DR₃ متفاوت هستند. بنابر نظر آنان افزایش فراوانی HLA-DR₃ در لیکن پلان مسئله اتوایمون را در پاتوژنز بیماری مطرح می‌نماید.^[۵]

Hedberg و همکارانش در سال ۱۹۸۷ چنین نتیجه گرفتند که وجود آنتی‌ژنهای HLA-DR مارکر اختصاصی لیکن پلان نبوده بلکه ناشی از فعالیت اپیتلیوم دهان می‌باشد زیرا بطور مشابه می‌توان این آنتی‌ژن را در پریدونتیت نیز پیدا نمود این آنتی‌ژن بر روی کراتینوسیت‌های لته در ژنژیویت مزمن وجود دارد.^[۵۳]

نتیجه حاصل از این مطالعه مشاهده افزایش نسبی آنتی‌ژن Cluster B₅ می‌باشد و اعتقاد بر این است که سیستم HLA و عبارتی سیستم ژنتیک می‌تواند نقشی زمینه‌ساز در بیماری لیکن پلان داشته باشد به عبارت دیگر افرادی که به این بیماری مبتلا می‌شوند دارای یک استعداد ژنتیکی مساعد بوده و در برخورد با عوامل آنتی‌ژنتیک ناشناخته داخلی و یا خارجی تظاهرات بیماری در آنها نمایان می‌شود.

اختلالاتی چند بویژه بیماریهای با درگیری سیستم ایمنی مشاهده شده است آنها تفاوتی در میزان B₂M در بیماران مبتلا به لیکن پلان در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نمودند.^[۱۰]

Lacy و همکاران در سال ۱۹۸۳ در مطالعه خود بر روی ۱۰۸ بیمار به این نتیجه رسیدند که بیماران مبتلا به لیکن پلان دارای استعداد ژنتیکی مساعدی جهت ابتلا به بیماری می‌باشند بنحوی که این استعداد آنان را نسبت به عوامل محرک خارجی حساس‌تر می‌نماید. آنها معتقدند که فنوتیپهای ویژه HLA این زمینه را فراهم می‌سازد. با این حال Vein و همکارانش رابطه مهمی را بین انواع آنتی‌ژنهای HLA و بیماری لیکن پلان نیافتند. Helevy و Colleagues فراوانی آنتی‌ژن HLA-A₂₈ را در بیماران مبتلا به لیکن پلان و دیابت مشاهده نمودند.^[۷]

مطالعات مختلف نشان داده است که آنتی‌ژنهای A₃ و B₁₆ در لیکن پلان و A₂₈ در بیماران مبتلا به لیکن پلان بدون ابتلا به بیماری دیابت، B₂ در لیکن پلان خانوادگی و B₈ در لیکن پلان دهانی افزایش داشته است. Beeker در سال ۱۹۸۵ آنتی‌ژنهای DR را در ۲۱ بیمار آلمانی بررسی نمود وی نتوانست رابطه‌ای مهمی بین این آنتی‌ژن و بیماری بیابد.

Watanabe و همکارانش در سال ۱۹۸۶ آنتی‌ژنهای HLA را در ۴۲ بیمار ژاپنی بررسی نمودند. آنها کاهش نسبی آنتی‌ژن B₅₂ و افزایش B_{W61} و C_{W61} و افزایش قابل توجه DR_{w9} را مشاهده نمودند.^[۱۳]

افزایش فراوانی آنتی‌ژنهای B_{W35}, HLA_{A3,35}, B₁₆, B₈، در لیکن پلان پوستی و افزایش HLA_{A8} در لیکن پلان دهانی از مشاهدات تحقیقات قبلی در این زمینه بوده است.^[۶]

Jontell و همکارانش در سال ۱۹۸۷ ارتباطی قابل توجه را بین HLA-DR₃ و لیکن پلان دهانی مشاهده نموده‌اند. آنها معتقدند که لیکن پلان دهانی و پوستی و واکنش‌های شبه

Summery

Analysis of HLA Antigens Class I, ClassII were performed by Lymphocy toxicity NIH two stage in 14 Iranian patients that they were in 2 group (6 patients with familiar background, 8 patients without familiar background) The subject Age ranged in 24-66.

HLA_{B5} or cluster B₅ Antigens have high frequency in patients with oral Licken planus.

This investigation suggest that there is a genetic Background in the patients with oral Licken planus.

REFERENCES

1. Domonkos, Arnold; Odom, Andrew, S.(1982): *diseases of the skin clinical dermtology*. 7th ed: 260-274.
2. Gabriel, S.A.; Jenson, A.B; Hatmann, D. (1985): Licken planus : Possible mechanisms of pathogenesis. *J. of oral med.* Apr - Jun; 40(2): 56-59.
3. Hedberg, N.M; Hunter, N. (1987): The expression of HLA- DR on Keratinocytes in oral Lichenplanus. *J of oral pathol.* Jan.; 16(1): 31-35.
4. Ishii, T.(1987): Immunohistochemical demonstration of T cell subsets and accessory cells in oral Licken planus. *J of oral pathol.*; 16(7): 356-361.
5. Jontell. M; Scheynius, A; Ohman, S.C. (1986): Expression of class II Transplantation Antigen in oral candidiosis, oral licken planus and gingivitis. *J of oral pathol.* oct; 15(9): 484-488.
6. Jontell, M; Stahlblad, P.A; Rosdahi (1987): HLA - DR₃ Antigens in erosive oral licken planus, cutaneous licken planus, and lickenoid reactions. *Acta odontal scand.*; 45(5): 309-312.
7. Lacy, M.F; Reade, P.C; Hay, K.D. (1983): Lichen planus: A theory of pathogenesis. *oral surg. oral med. oral pathol.* Nov; 56(5): 521-525.
8. Regesi, J.A.; Stewart, J.C.B; Lioyd, R.V. (1985): Immunohistchemical Staining of Langerhans cells and macrophages in oral Licken planus. *oral pathol.* oct.; 60(4): 396-402.
9. Rook, A; Wilkinson, D.S; Ebling, F.J.G. (1982): *Textbook of dermatology*. 3rd ed (2): 1483-1501.
10. Scully, C; Boyle, P.(1982): B2 Microglobulin in Licken planus. *J. Dent Res.* Jan.; 61(6): 758-760.
11. Scully, C.; EL- Kom, M.(1985): Licken planus: review and update on pathogenesis *J. of oral pathology.* July; 14(6) 431-458.
12. Terasaki, P.I; Mcclelland, J.O. (1964): *Nature*; 206:998-1001.
13. Watanabe, T; ohidhi, M; Tanaka , K. (1986): Analysis of HLA Antigens in Japanese with oral licken planus. *J of oral pathol*; 15(5): 309-312.
14. Wood & Goaz. (1985): *Differential diagnosis of oral Lesions* 3rd ed. st. Louis, Mosby: 84-89, 681-682.