

ИМУНОГЕНЕТСКИ ИСТРАЖУВАЊА КАЈ ПАЦИЕНТИ СО ЕПИЛЕПСИЈА

Л. Илиевска, И. Петров, А. Арсовска, Е. Илиевска
Клиника за Неврологија, Медицински Факултет-Скопје,
Македонија

Вовед

Последните десет години Клиниката за Неврологија во соработка со Институтот за Трансфузиологија, Институтот за Клиничка Биохемија како и Институтот за Биологија при Академијата за Наука спроведоа имуногенетски истражувања кај пациенти со епилепсија. Студијата побуди голем интерес, бидејќи во нашата рутинска пракса бевме сведоци на фреквентни примери каде во една фамилија имаше еден или повеќе членови со епилепсија, со што проблемот на херeditет беше присутен. Досега сознанијата за овој проблем беа оскудно, па затоа се тренд на истражување на повеќе интернационални генетски студии. Интересот е поголем со фактот на високата преваленца која изнесува еден случај на 200 лица генерално во популацијата. Според литературата, се повеќе се говори за автозомно доминантно присуство на абнормални промени на ЕЕГ со возрастна зависност и различна застапеност на епилепсијата како заболување, каде ЕЕГ наодите се користат како генетски маркер. Се повеќе се прават студии на истражувања на HLA-антигени кај пациенти со епилепсија и нивната фамилија, при тоа преку HLA-продукти сугерираат на автозомно-доминантното наследување, во некои семејства. Овие истражувања се повеќе се применуваат во генетски студии при тоа со ДНА мапинг се добиени цврсти резултати.

Цел

Целта на оваа студија е да се продолжи со досега направени пилот студии со голема бројка на случаи со генетска епилепсија, каде со клиничка студија на нивните педигреа, со ЕЕГ екзаминација на сите членови на семејствата, вклучително не само HLA-A и B антигени кои предходно беа тестирани, туку и исто така HLA-DR/DQ (серолошки тестови) како и генетски студии со ДНА мапинг, во колаборација со Интернационалниот проект со што би дошле до некои фундаментални и практични сознанија и би ги аплицирале во полето на имуногенетиката на епилепсиите.

Материјал и методи

Во студијата применивме методи според методологијата и процедуралниот протокол на Интернационалната мултицентрична генетска студија (Италија-Германија) со кои бевме во активна соработка, при што истражувавме 50 фамилии со вкупно 158 членови, од кои 132 пациенти со епилепсија; 68 беа мажи и 64 жени, на возраст од 5-68 години. Во оваа група на 50 фамилии, имаше семејства кои имаа од 2-10 членови со епилепсија (околу 4%). На секој член од семејствата беше применето ЕЕГ и тоа на еден од три генерации. Во имуногенетската студија на епилепсија најпрво направивме анализи на HLA антигени на A и B локусот на 49 пациенти со епилепсија, а подоцна ги

анализиравме DR/DQ антигените. Во сите испитувани случаи направивме изолација на DNA и анализите со не специфични маркери покажаа полиморфизам на неспецифичен полиморфни рестриktivни локуси за епилепсија. Ова сугерираше на поврзаност помеѓу денираниот полиморфизам и клинички различно манифестираните напади. Оваа хипотеза бара поголема елаборација на молекуларни генетички студии со специфични маркери за епилепсии, што би било цел за идни истражувања и потреба за продолжување на ова истражување. Геномската DNA од нашите случаи беше дигестирана и идентифицирана со хибридизација со IVS 2 с DNA проба.

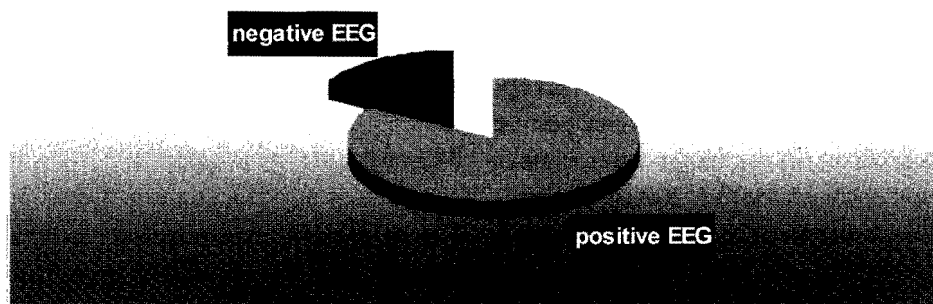
Резултати

Резултатите се презентирани по следниот редослед:

1. EEG наоди кај сите случаи (N=158)- табела 1 и графикон 1
 2. Клиничка експресија на нападите- графикон 2
 3. Анализа на HLA- A, B антигени- Табела 2;
 4. Резултати од DNA mapping-графикон 3;
1. EEG абнормалности беа детектирани кај 132 членови, од кои кај 24 (15.18%) од случаите беа детектирани клинички асимптоматски EEG абнормалности. Резултатите се презентирани во табела 1 и графикон 1.

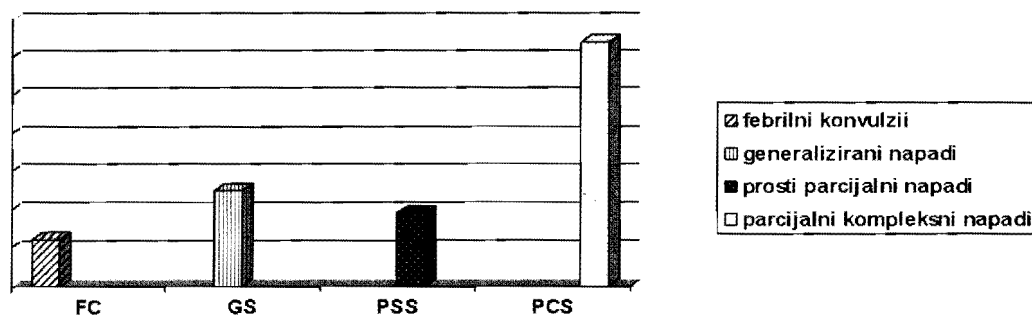
Табела 1. EEG наоди кај сите случаи вклучени во студијата (N=158)

EEG наод	Број на пац. (%)
Позитивен EEG наод	132 (83.54%)
Негативен EEG наод	26 (16.45%)



2. Клиничката експресија на нападите кај пациентите со епилепсија вклучени во студијата се презентирани во графикон 2.

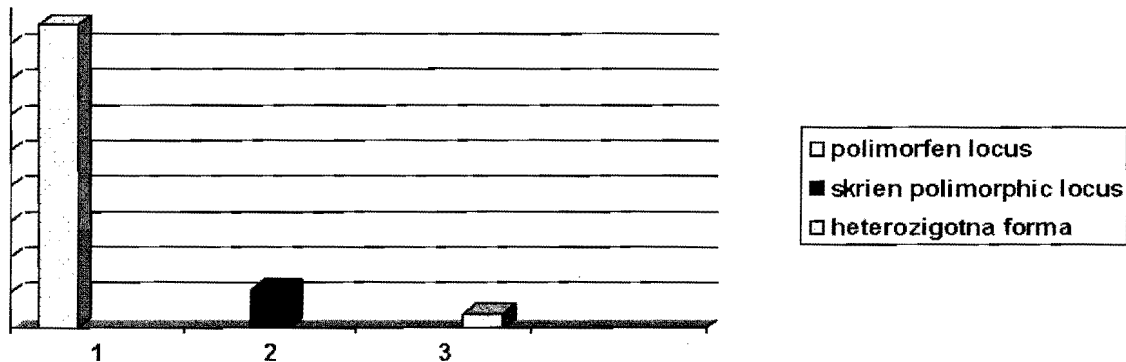
Графикон 2. Клиничка експресија на нападите



3. Анализата на HLA- A и B антигени се презентирани на Табела 2.

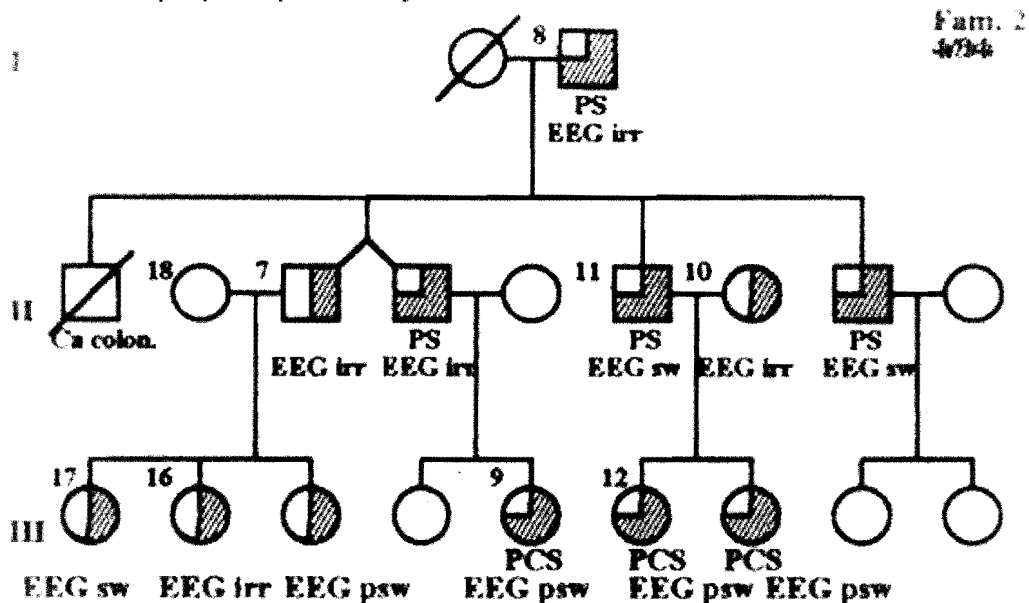
HLA	Пациенти со позитивен наод (%)	Контролна група (%)
Antigen A (HLA 30+31)	25%	4.53%
Antigen B (HLA B39)	8.33%	0.92%

4. Резултатите од DNA mapping детектираа полиморфен локус кај 85.5% од пациентите, кај само 10.7% овој пофиморфен локус беше скриен, и кај 3.85% беше во хетерозиготна форма.



Приказ на педиген на случаи со фамилијарна епилепсија

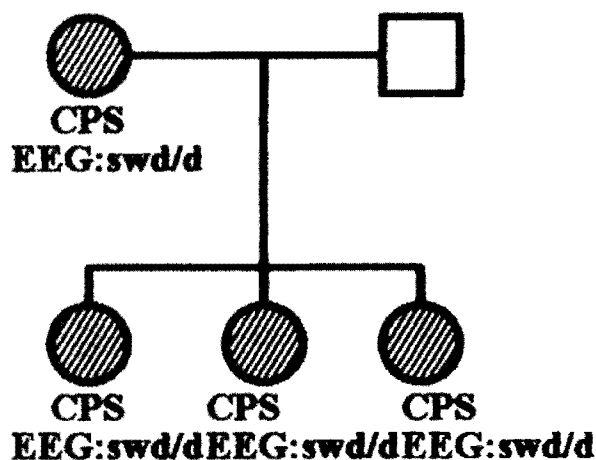
Фам. 2. В.Д. од Пробиштип. Во три генерации се прикажува дека таткото има парцијални моторни напади, со тресење на лева рака, а во втората генерација се јавуваат кај 4 сина исти напади, од кои двајца се близнаци, еден син умира од Ca на колон. ЕЕГ има исти карактеристики., од иритативни промени на десна страна. Во третата генерација се раѓаат само женски деца и се јавува промена на фенотипската манифестација на нападите во вид на парцијални комплексни напади кај 3 ќерки, додека кај други 3 ќерки од едниот близнак се манифестираат само патолошки ЕЕГ наоди од спори бранови и пароксизмални избивања, без манифестни напади во времето на испитувањето, каде ЕЕГ се јавува како генетски маркер на трансмисијата на болеста.



ДНА мапирањето кај близнаците покажува полиморфизам на рестрикциониот ензим *Ava*, кој е хомозиготен (++) за близнаците и таткото, а хетерозиготен полиморфизам има за мајката (+ -), додека кај вториот рестрикционен ензим *Vam II* не е најдено полиморфизам.

Фам. 9. Ова фамилија е карактеристична што мајката ја трансмитира болеста на трите ќерки, кои имаат исти парцијани комплексни напади со исти деснострани епилептогени фокуси на ЕЕГ. Истовремено епилепсијата овде е асоцирана со коагулопатија.

Fam. 9
4/95



За одбележување е да кај повеќето случаи на фамилијарна епилепсија во истите фамилии беа присутни и случаи со екстракранијални тумори, што упатува на асоцијација на генските дефекти на епилепсија и тумори, заради што беа испитувани и туморските маркери.

Кај 49 случаи (од 20 фамилии) беше направена КТМ со цел да се исклучат церебрален тумор или метастази, што би претставувало етиолошки фактор за епилепсијата. Во нашата студија, 11 членови (22.4%) имаа тумори (детектирани со КТМ или тумор маркери).

Дискусија: ЕЕГ абнормалности беа детектирани кај 132 членови. Кај 24 (15.18%) од случаите беа детектирани клинички асимптоматски ЕЕГ абнормалности, што е од особено значење за превентивен третман.

ЕЕГ абнормалности во една иста фамилија покажа повеќе или помалку слични наоди што го евоцираше прашањето за генетски маркер. Клиничката фенотипска експресија на нападите беше следната: фебрилни конвулзии во рано детство што подоцна манифестираше различни типови на напади беше детектирана кај 16 (12.12%) случаи, генерализирани напади имаа 33 (25%), прости парцијални напади имаа 19 (14.4%) и комплексни парцијални напади имаа 64 (48.48%). Овој клинички материјал е мошне интересен, бидејќи повеќето пациенти имаа парцијални напади (прости или комплексни), а кај нив генетските фактори се мошне значајни и се сеуште неиспитани со генетски студии.

Анализите на HLA-A и B антигените покажаа пораст на појавата на HLA 30+31 за 25% во групата пациенти со позитивен хе-

редитет на локус А споредено со контролната група (4.53%) ($p < 0.001$) и на локус Б покажа пораст на појавата на HLA B39 за 8.33% (контролна група-0.92%) за $p < 0.02$. Анализите на DR/DQ антигени покажаа сигнификантен пораст на DR3, DR5 и DRW6 ($p < 0.01$), што е особено специфично за фамилии со епилепсија.

Со ДНА мапинг се детектираше полиморфен локус кај 85.5% од пациентите, И кај само 10.7% овој полиморфен локус беше скриен, а кај 3.85% со хетерозиготна форма.

Асоцираноста меѓу епилепсијата и туморите беше анализирана кај 20 фамилии со 49 членови, каде еден или повеќе членови имаа екстра или интракранијален тумор, па кај нив се применија испитувања со тумор маркери (NSE, CEA, CYRIL 21-1). Кај овие случаи, беше направена и КТМ со цел да се исклучи церебрален тумор или метастази, што е можен етиолошки фактор за епилепсија. Во нашата студија 11 членови имаа тумори (детектирани со КТМ или тумор маркери).

Заклучок

Анализите на фамилијарни педигрее може да помогнат во дефинирање на херeditарните компоненти на епилепсијата. За комплетно потврдување потребни се повеќе генетски истражувања во иднина.

Литература

1. Bianchi A : Studio multicentrico Italiano sulle epilepsie genetiche. Boll. Lega It.epil 1999 66/67 : 17-21
2. Dichter MA : Cellular mechanism of epilepsy and potential new treatment strategies. Epilepsia 1990 : 30: S3-S12
3. Janz D : juvenile Myoclonic Epilepsy. In Dam M, Gram L, eds. Comprehensive Epileptology. New York: Raven Press, 1990: 171-185