



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET  
DOKTORSKE STUDIJE

**ZNAČAJ TESTA INHIBICIJE  
HEMAGLUTINACIJE PLJUVAČKE I LEWIS  
FENOTIPA U ISPITIVANJU UDRUŽENOSTI  
SEKRETORNOG STATUSA I SERONEGATIVNIH  
SPONDILOARTROPAZIJA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof. dr Svetlana Vojvodić

Kandidat: Ivan Busarčević

Novi Sad, 2016. godine

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Ivan Busarčević
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Svetlana Vojvodić, vanredni profesor
Naslov rada: NR	Značaj testa inhibicije hemaglutinacije pljuvačke i Lewis fenotipa u ispitivanju udruženosti sekretornog statusa i seronegativnih spondiloartropatija
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2016
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Medicinski fakultet Hajduk Veljkova 3 Novi Sad, Srbija

Fizički opis rada: FO	(11 poglavlja / 139 stranica / 11 slika/ 12 grafikona /23 tabele/ 372 reference)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Interna medicina
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Spondiloartropatije; testovi inhibicije hemaglutinacije; Lewis sistem krvnih grupa; ABO sistem krvnih grupa; HLA-B27 antigen; pljuvačka; genetska predispozicija prema bolesti; biomarkeri
UDK	(UC) 616.72-002.77-074:577.1 612.118+612.313
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	
<p>Izvod IZ:</p> <p><b>Uvod:</b> Pojam "sekretor" ili „nesekretor" se odnosi na sposobnost pojedinca da luči antigene krvnih grupa ABO sistema u telesnim tečnostima. Određivanje ABO krvne grupe i sekretornog statusa, testom inhibicije hemaglutinacije pljuvačke i Lewis fenotipa na eritrocitima su važni u kliničkoj i forenzičkoj medicini, u odnosu na etiopatogenezu mnogih bolesti. Nesekretorstvo ABO krvnogrupne supstance je udruženo sa češćom pojavom autoimunih inflamatornih oboljenja među kojima su i seronegativne spondiloartropatije. Veća učestalost seronegativnih spondiloartropatija među osobama koje imaju HLA-B27 antigen predstavlja polaznu osnovu stanovišta da genetski faktori u kombinaciji sa faktorima sredine utiču na pojavu seronegativnih spondiloartropatija u genetski predisponiranih individua. Teza istražuje značaj testa inhibicije hemaglutinacije pljuvačke i određivanja ABO i Lewis fenotipa na eritrocitima u dijagnostici seronegativnih spondiloartropatija.</p> <p><b>Ciljevi i hipoteze:</b></p> <p>Cilj istraživanja je bio da se utvrdi učestalost nesekretora i sekretora ABO krvnogrupne supstance i Lewis fenotipa u grupi obolelih od seronegativnih spondiloartropatija i izvršiti poređenje rezultata u odnosu na grupu zdravih ispitanika. Pretpostavljeno je da postoji značajno veći broj nesekretora ABO</p>	

krvnogrupne supstance u obolelih od seronegativnih spondiloartropatija u odnosu na zdrave ispitanike. Pretpostavljeno je i da postoji značajno veća učestalost neseekretora ABO krvnogrupne supstance u obolelih od seronegativnih spondiloartropatija sa negativnim HLA-B27 antigenom. Pretpostavljeno je da kod osoba obolelih od seronegativnih spondiloartropatija dolazi do promene Lewis fenotipa na eritrocitima u odnosu na sekretorni status u pljuvački.

**Metode:**

Sprovedena je longitudinalna prospektivna studija. Ispitanici stariji od šest godina oba pola podeljeni su u dve randomizovane grupe. Eksperimentalnu grupu sačinjavalo je 110 ispitanika sa dijagnozom oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Kontrolnu grupu sačinjavalo je 103 dobrovoljna davaoca krvi, bez dijagnoze oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Ispitanicima kontrolne i eksperimentalne grupe određena je pripadnosti ABO krvnogrupnom sistemu, sekretorni status i Lewis fenotip, dok je osobama eksperimentalne grupe određen i fenotip HLA-B27. Uključujući kriterijumi osim navedenog bili su da ispitivane osobe ženskog pola nisu trudinice i da ispitanici obe grupe nisu primali transfuziju krvi tri meseca pre uključivanja u istraživanje.

**Rezultati:**

Rezultati istraživanja ukazuju da nesekretori ABO krvnogrupne supstance imaju 1,63 puta veći rizik (veću učestalost), oboljevanja od seronegativnih spondiloartropatija u odnosu na zdravu populaciju ispitanika, kao i da smanjena ekspresija Lewis (b) antigena predstavlja doprinoseći faktor razvoja seronegativnih spondiloartropatija. Ustanovljeno je da pod uticajem seronegativnih spondiloartropatija dolazi do izmene Lewis fenotipa na eritrocitima obolelih. Verovatnoća dokazivanja oboljenja iz grupe seronegativnih spondilartropatija među obolelima veća je za 11% kod neseekretora fenotipa HLA-B27 u odnosu na obolele nesekretore fenotipa HLA-B27<sup>+</sup>.

**Zaključak:**

Sekretorni status i Lewis fenotip predstavljaju zasebne dijagnostičke biohemijske markere nezavisne od HLA-B27 antigena koji doprinose ranijem otkrivanju osoba koje imaju predispoziciju razvoja oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija.

Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	10. Oktobar 2014. godine
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	

University of Novi Sad  
Faculty  
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Ivan Busarčević
Mentor: MN	Assoc. Prof. dr Svetlana Vojvodić
Title: TI	The significance of the hemagglutination inhibition test of saliva and Lewis phenotype in the study of association between secretor status and seronegative spondyloarthropathies.
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	english. / serbian.
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2016
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Medical faculty, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Serbia

Physical description: PD	(11 chapters / 139 pages / 11 pictures/ 12 graphicons / 23 tables / 372 references)
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Internal medicine
Subject, Key words SKW	Spondylarthropathies; Hemagglutination Inhibition Tests; Lewis Blood Group System; ABO Blood Group-System; HLA-B27 Antigen; Saliva; Genetic Predisposition to Disease; Biomarkers.
UC	(UC) 616.72-002.77-074:577.1 612.118+612.313
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	
<p>Abstract AB:</p> <p><b>Introduction:</b> The term secretory state refers to ability of individual to secrete ABO blood group antigens in body fluids. Determination of the ABO blood group antigens and secretory status by hemagglutination inhibition test using saliva as well as Lewis phenotype on erythrocytes are important in clinical and forensic medicine, in relation to the etiopathogenesis of many diseases. Non secretory status of ABO blood group antigens is related with higher incidence of autoimmune inflammatory disease which include seronegative spondyloarthropathies. Increased frequency of seronegative spondyloarthropathies among people who have the HLA-B27 antigen is starting point of the view that genetic factors in combination with environmental factors influence the occurrence of seronegative spondyloarthropathies in genetically predisposed individuals. The thesis explores the significance of the hemagglutination inhibition test of saliva and determination of ABO and Lewis antigens in diagnostics of seronegative spondyloarthropathies.</p> <p><b>Goals and hypothesis:</b> The aim of this study was to determine the frequency of non secretors and secretors of ABO blood group antigens and Lewis phenotype in a group of patient with seronegative spondyloarthropathies and make comparison to the</p>	

healthy examined group. It was assumed that there is a significantly higher number of non secretors of ABO blood group antigens among the patients with seronegative spondyloarthropathies compared to healthy examined persons. It was assumed that there is a significantly higher number of non secretors of ABO blood group antigens among the patients with seronegative spondyloarthropathies who do not have HLA-B27 antigen. It was assumed that in patients with seronegative spondyloarthropathies Lewis phenotype on erythrocytes can be changed in relation to the secretory status in the saliva.

**Methods:**

We performed a prospective longitudinal study. Respondants older than six years of both gender were divided into two randomized groups. Experimental group is consisted of 110 patients diagnosed with seronegative spondyloarthropathy. The control group consisted of 103 blood donors who did not have diagnosed disease from the group of seronegative spondyloarthropathies. To the subjects of the control and experimental groups was determined ABO blood group antigens, secretory status and Lewis phenotype, while to the subjects of experimental group also was designated HLA-B27 phenotype. Including criteria other than the above were that among female respondants were not pregnant, and that both groups of respondants did not receive a blood transfusion three months before joining the study.

**Results:**

The results of the study showed that non secretors of ABO blood group antigens have a 1,63 times higher rise (higher incidence) of developing disease from the group of seronegative spondyloarthropathies compared to a healthy population of subjects, as well as that decreased expression of Lewis antigens (b) represents a contributing factor for development of seronegativespondyloarthropathies. It was found that under the influence of seronegative spondyloarthropathies there are changes in Lewis phenotype on erythrocytes of patients. It was found that under the influence of seronegative spondyloarthropathies there are changes in Lewis phenotype on erythrocytes of patients. Probability for confirmation seronegative spondyloarthropathies is higher for 11% among non secretors who have HLA-B27 negative phenotype in comparison to non secretors who have HLA-B27 positive phenotype.



**Conclusion:**

Secretory status and Lewis phenotype are separate diagnostic biochemical markers independent of HLA-B27 antigen that contribute to the early detection of people who have a predisposition of the disease from the group of seronegative spondyloarthropathies.

Accepted on Senate on:  
AS

10<sup>th</sup> October 2014.

Defended:  
DE

Thesis Defend Board:  
DB

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1 O KRVNIM GRUPAMA .....	1
1.1.1 POJAM KRVNIH GRUPA .....	1
1.1.2 ISTORIJAT I OTKRIĆE KRVNIH GRUPA .....	2
1.1.3. SINTEZA ANTIGENA SISTEMA ABO(H) .....	4
1.1.4. SEKRETORSTVO .....	7
1.1.5. LEWIS KRVNO GRUPNI SISTEM .....	9
1.1.5.1 BIOSINTEZA LEWIS ANTIGENA .....	9
1.2. ABO(H), LEWIS KRVNE GRUPE, SEKRETORSTVO I UDRUŽENOST SA BOLESTIMA .....	12
1.2.1. Fiziološke manifestacije.....	12
1.2.1.1. Aktivnost intestinalne alkaline fosfataze .....	12
1.2.1.2. Bakterijska flora.....	13
1.2.1.3. Sastav mleka .....	14
1.2.1.4. Zgrušavanje krvi .....	14
1.2.1.5. Dentalne šupljine .....	15
1.2.1.6. Dijabetes .....	15
1.2.1.7. Bolesti srca.....	15
1.2.1.8. Efekat na metabolizam alkohola.....	16
1.2.1.9. Metabolički sindrom .....	16
1.2.2. Imunološke posledice, osnovne funkcije .....	17
1.2.2.1. Helicobacter pylori.....	18
1.2.2.2. Bakterijske infekcije urinarnog trakta.....	19
1.2.2.3 Neisseria species .....	20
1.2.2.4. Candida species.....	20
1.2.2.5. Autoimune bolesti.....	21
1.2.2.6. Celijačna bolest.....	21
1.2.2.7. Pulmološka oboljenja.....	21
1.2.2.8. Malignitet.....	22
1.2.2.9 Preneoplastične promene i karcinom .....	22
2. HLA SISTEM .....	23
2.1. NASLEĐIVANJE, ULOGA U IMUNOM ODOGOVORU .....	23
2.1.1 GLAVNI HISTOKOMPATIBILNI KOMPLEKS .....	23
2.2. UDRUŽENOST HLA SA BOLESTIMA.....	26
2.3. HUMANI LEUKOCITNI ANTIGEN B-27 I UDRUŽENOST SA BOLESTIMA .....	27
2.3.1. Molekularna mimikrija .....	29
2.3.2. HLA-B27 imitira molekulu MHC klase II.....	31
2.3.3. MHC klase II prezentuje peptide dobijene iz HLA-B27 .....	32
3. SERONEGATIVNE SPONDILOARTROPATIJE .....	34
3.1. Spondiloartropatije .....	34
3.2. PROCENA SERONEGATIVNIH ARTRITISA .....	34
3.3. Karakteristike spondiloartropatija.....	35
3.4 Dijagnostički testovi .....	35
3.4.1. Spondiloartropatije, dijagnostički aspekt:.....	36

4. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	37
U okviru istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji će se istražiti i definisati: .....	37
5. HIPOTEZE .....	38
6. MATERIJAL I METODE .....	39
6.1. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje.....	39
6.2. UTVRĐIVANJE SEKRETORNOG STATUSA.....	41
TEST INHIBICIJE HEMAGLUTINACIJE IZ PLJUVAČKE.....	41
PRINCIP .....	41
6.2.1. TUMAČENJE I INTERPRETACIJA REZULTATA .....	43
6.3. ODREĐIVANJE LEWIS FENOTIPA NA ERITROCITIMA .....	43
6.4. ODREĐIVANJE FENOTIPA ABO KRVNOGRUPNOG SISTEMA NA ERITROCITIMA.....	45
6.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA .....	47
7. REZULTATI.....	49
7.1 REZULTATI ZDRAVE POPULACIJE ISPITANIKA .....	49
7.1.1. OPŠTE KARAKTERISTIKE KONTROLNE GRUPE ZDRAVIH ISPITANIKA ...	49
7.1.1.1 Polna struktura zdrave populacije ispitanika .....	49
7.1.1.2 Starosna struktura zdrave populacije ispitanika.....	50
7.1.1.3 Učestalost i distribucija krvnih grupa sistema ABO.....	50
7.1.1.4. Distribucija Lewis fenotipa.....	52
7.1.1.5. Distribucija sekretornog statusa.....	53
7.1.2. ZASTUPLJENOST LEWIS FENOTIPA U POPULACIJAMA SVETA I ISPITANIKA ZDRAVE POPULACIJE VOJVODINE .....	55
7.2. REZULTATI POPULACIJE OBOLELIH ISPITANIKA.....	58
7.2.1 OPŠTE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA BOLESNE POPULACIJE.....	58
7.2.1.1 POLNA STRUKTURA ISPITANIKA.....	58
7.2.1.2 STAROSNA STRUKTURA ISPITANIKA.....	58
7.2.1.3 Učestalost i distribucija krvnih grupa sistema ABO.....	59
7.2.1.4. Distribucija Lewis fenotipa.....	61
7.2.1.5. Distribucija sekretornog statusa.....	62
7.2.1.6. Distribucija HLA-B27 fenotipa .....	63
7.3 POREĐENJE BOLESNE U ODNOSU NA ZDRAVU POPULACIJU ISPITANIKA.....	66
7.3.1. POREĐENJE BOLESNE POPULACIJE NESEKRETORA I SMANJENE EKSPRESIJE Le(a-b+) U ODNOSU NA ZDRAVU POPULACIJU ISPITANIKA .....	68
7.3.2 IZMENA EKSPRESIJE LEWIS FENOTIPA POD UTICAJEM BOLESTI.....	69
8. DISKUSIJA .....	71
9. ZAKLJUČAK.....	94
10. LITERATURA .....	95
11. LISTA SKRAĆENICA.....	138

# 1. UVOD

## 1.1 O KRVNIM GRUPAMA

### 1.1.1 POJAM KRVNIH GRUPA

Svaka varijacija ili polimorfizam u krvi može da se označi kao krvna grupa. Najopštija definicija podrazumeva da su krvne grupe nasledne biološke karakteristike koje su kod zdravih ljudi nepromenljive tokom života. Izraz krvne grupe odnosi se na antigene crvenih krvnih zrnaca (eritrocita), belih krvnih zrnaca (leukocita), limfocita, krvnih pločica (trombocita), belančivine seruma i neke enzime u ćeliji. U praktičnom smislu izraz krvna grupa odnosi se na antigene eritrocita (1). Polimorfizam proteina na površini eritrocita može se otkriti različitim metodama, ali se naziva krvnom grupom tek kada je antigen definisan pripadajućim antitelom. Većina antigena krvnih grupa sintetisana je od strane eritrocita ali antigeni sistema Lewis i Chido/Rodgers apsorbuju se na površinu eritrocita iz plazme. Antigeni nekih krvnih grupa mogu biti prisutni samo na površini eritrocita, ali se antigeni određenih krvnih grupa mogu naći u mnogim tkivima (2). Osim ljudi jedino čovekoliki majmun, orangutani i gorile imaju antigene krvne grupe ABO na površini eritrocita, što ukazuje da su eritociti poslednje ćelije koje su tokom evolucije poprimile ABO krvnogrupsne antigene (3).

Antigeni krvnih grupa mogu biti direktni produkti gena (proteini) ili indirektni genski produkti, glikoproteini i glikolipidi, kada je produkt gena enzim glikozil transferaza i kontroliše ekspresiju antigena. Eritrocitni antigeni se prema strukturi i ulozi koju imaju u funkciji eritrocita dele na: membranske transportere, receptore i adhezione molekule, enzime, strukturne komponente i glikoproteine koji regulišu funkciju komplementa (1).

Krvne grupe mogu da se podele prema:

- a) Kliničkom značaju.
- b) Prema načinu izazivanja imunog odgovora u organizmu
- c) Na osnovu sličnosti u biohemijskoj strukturi.

Zbog potrebe da se nomenklatura krvnih grupa eritrocita standardizuje i prilagodi, prema radnoj grupi internacionalnog društva za transfuziju krvi, International Society of Blood Trasfusion (ISBT) svi dokazani krvnogrupni antigeni podeljeni su u: sisteme, kolekcije, serije. Antigeni krvnih grupa razvrstavaju se u sisteme ili kolekcije pošto se definišu morfološki genetski i biohemijski.

Krvnogrupni sistem je grupa antigena kodirana alelima sa jednog genskog lokusa ili genskih lokusa koji su tako blisko povezani da se *crossing over* nikad ne dešava, ili se događa izuzetno retko.

Kolekcije antigena sastoje se od serološki, biohemijski ili genetski povezane grupe antigena koji još uvek ne ispunjavaju uslov da dobiju status sistema.

Serije su eritrocitni antigeni koji ne ispunjavaju uslov da se klasifikuju ni u sistem niti u kolekciju. Postoje dve serije. Jedna je sa antigenima velike učestalosti, označena brojem 901, čija je učestalost >90% u većini ispitivanih populacija. Druga serija je sa antigenima male učestalosti, označena brojem 700, a sadrži antigene čija je učestalost manja od 1% u većini ispitivanih populacija. Kriterijumi za terminologiju eritrocitnih antigena, tabele sa sistemima, antigenima i fenotipovima kao i druge informacije dostupne su na sajtu ISBT-a [http:// www.blood.co.uk.ibgrl](http://www.blood.co.uk.ibgrl) (1).

### **1.1.2 ISTORIJAT I OTKRIĆE KRVNIH GRUPA**

William Harwey napravio je revoluciju u nauci i medicini kada je objavio svoj rad pod nazivom „*On the Motion of the Heart and Blood*“ 1628. godine i utvrdio da je srce pumpa koja omogućava kretanje krvi u organizmu (4). Prva transfuzija krvi urađena je u Engleskoj 1667. godine, kada je čoveku transfundovna krv jagnjeta (5). Prve transfuzije krvi sprovedene su korišćenjem krvi jagnjeta, kod ljudi sa poremećajem raspoloženja, pod pretpostavkom da krv mirne životinje može smekšati njihov buran temperament (6,7). Međutim, nakon niza transfuzija koje su dovele do smrtnog ishoda, primena transfuzije u terapiji psihijatrijskih bolesnika prestaje da se koristi u većini evropskih zemalja (7). Britanski ginekolog James Blundell 1817. godine prvi put je sproveo transfuziju korišćenjem ljudske krvi. Nemački fiziolog Leonard Landois je 1875. godine eksperimentalno potvrdio nemogućnost transfuzije krvi između različitih vrsta pokazavši da se u krvi domaćina razaraju ćelije donora (5). Krajem devetnaestog veka lekari su

reakciju aglutinacije koja je pratila transfuziju krvi pripisivali bolesti krvi donora, ali 1900. godine Karl Landsteiner počine da razmatra alternativno objašnjenje. Karl Landštajner je prvi otkrio 1901. godine ABO krvnogrupni sistem. Smatrajući da transfuzija krvi i između zdravih osoba može dovesti do zgrušavanja krvi, prepostavio je da ljudi mogu pripadati različitim krvnim grupama, koje su determinisane određenim antigenima i odgovarajućim antitelima koja reaguju protiv drugih krvnih grupa.



**Slika 1.** Karl Landsteiner

Kako bi testirao ovu mogućnost, pripremio je 36 parova uzoraka krvi i seruma, svojih kolega i sopstveni uzorak krvi. Mešajući odabrane parove uzoraka i analizirajući reakcije parova uzoraka koji su međusobno aglutinirali i one koji nisu, zaključio je da kod ljudi postoje bar tri krvne grupe (8), nazvane A, B, C ( C krvna grupa kasnije je preimenovana u O od nemačke reči „Ohne“ što znači bez). Četvrta, manje učestala krvna grupa otkrivena je godinu dana kasnije (9). Njeno otkriće dobija klinički značaj kada su Ottenberg i Epstein pokazali da ispitivanje pripadnosti ABO krvnogrupnom sistemu donora i recipijenta pre transfuzije eliminiše njene negativne posledice.(10).

Plasma der Versuchsperson	Rote Blutzellen der Versuchsperson					
	1 Dr. Störck	2 Dr. Pletschnik	3 Dr. Sturli	4 Dr. Erdheim	5 Zaritsch	6 Dr. Landsteiner
1 Dr. Störck						
2 Dr. Pletschnik						
3 Dr. Sturli						
4 Dr. Erdheim						
5 Zaritsch						
6 Dr. Landsteiner						

**Slika 2.** Landsteinerovo otkriće krvnih grupa

Istraživačkim radom 1906. godine Landsteiner otkriva “haptene”, organske molekule koje mogu biti kombinovane sa proteinima i tako stvoriti antigene. Publikacija u kojoj je zabeležena većina njegovih otkrića, objavljena je u Engleskoj 1936. godine (11) i postala je “biblija” za imunologe (12). Landsteiner je svojim radom unapredio imunologiju i postavio temelje imunohemije (13). Za svoj rad, 1930. godine Landsteiner je dobio Nobelovu nagradu za fiziologiju i medicinu (9). 1926 i 1930 godine Yamakai, Lehres i Putkonen utvrdili su prisustvo krvnogrupne supstance u telesnim tečnostima i uveli pojam sekretor i nesekretor (14).

### 1.1.3. SINTEZA ANTIGENA SISTEMA ABO(H)

Za stvaranje antigena ABO neophodno je postojanje antigena H, koji se nasleđuje nezavisno od njih. Stvaranje antigena H kontrolisano je genom *H* smeštenog na hromozomu 19. Nasleđivanje i stvaranje antigena sistema ABO zahteva postojanje dve alele, *H* i *h*. Alela *H* je dominantna u odnosu na alelu *h*. Gen *H* tesno je povezan sa genom *Se* (gen za sekretorstvo), koji se nalazi na istom hromozomu, odnosno na hromozomu 19. Geni odgovorni za nastanak antigena ABO nalaze se na hromozomu 9, pa stoga, na nastanak i pojavu ABO antigena utiču tri genski nezavisna lokusa: *ABO*, *H* i *Se* (1, 15-22).

Osnovu građe A i B antigena čini *oligosaharidni lanac*, koji je povezan sa lipidnim ili proteinskim nosačem na površini eritrocitne membrane. U najvećem broju slučajeva, aktivnost ABO krvnih grupa nose N-vezujući oligosaharidi na glikoproteinima eritrocitne membrane. Oligosaharidni lalci sačinjeni su od monosaharidnih šećera (heksoza), koji su povezani linearno, ili su kompleksnije strukture, sa velikim broje grana. Heksoze koje ulaze u sastav oligosaharidnih lanaca su sledeće:

- D-glukoza (Glc);
- D-galaktoza (Gal);
- D-manoza (Man);
- N-acetil-D glukozamin (GlcNAc);
- N-acetil-D galaktozamin (GalNAc);
- L-fukoza (Fuc).

Dva terminalna šećera, *D-galaktoza* i *N-acetilglukozamin*, povezani su međusobno stvarajući dve različite konfiguracije. Kad je ugljenik 1 D-galaktoze vezan sa ugljenikom 3 N-acetilglukozamina, stvara se **tip 1** oligosaharidnog lanca. On se primarno nalazi u telesnim tečnostima. Kada je ugljenik 1 D- galaktoze vezan sa ugljenikom 4 N-acetilglukozamina, stvara se **tip 2** oligosaharidnog lanca. Tip 2 oligosaharidnog lanca vezan je za glikolipide i glikoproteine membrane eritrocita. Neki tipovi 2 glikoproteinske strukture dokazani su u telesnim tečnostima i sekretima.(1,15,17-26).

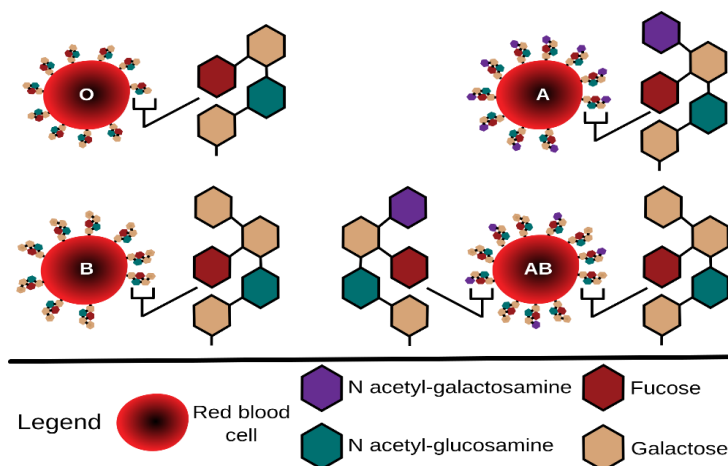
Produkt gena *H* je enzim transveraza, **L-fukozil transveraza**. U nastanku antigena H učestvuje enzim **fukoziltransveraza**, koja prenosi šećer **L fukozu** na tip 1 ili tip 2 oligosaharidnog lanca. **L-fukoza** je imunomodulatorni šećer za H antigen jer je odgovorna za njegovu specifičnost. Ovaj enzim omogućava prenos šećera fukoze na ostatak galaktoze na oligosaharidnom lancu. **Fukoziltransferaza** odgovorna za sitezu antigena H na **eritrocitima** je produkt gena **FUT1**. Ona je aktivna u tkivima endodermalnog i mezodermalnog porekla i odgovorna je za sintezu H antigena na eritrocitima. Drugi gen, **FUT2** dovodi do stvaranja fukozil transferaze aktivne u tkivima ektodermalnog porekla i odgovorna je za stvaranje antigena H u telesnim tečnostima.



*FUT 1* gen ima veći afinitet za Tip 2 akceptorne supstance, nego za Tip 1, nasuprot *FUT 2* koja ima veći afinitet za Tip 1 akceptorne supstance (27-30). *FUT 1* gen sadrži četiri exon a *FUT 2* gen, dva exon, ali u oba gena samo jedan exon (exon 4 u *FUT 1* i exon 2 u *FUT 2*) kodiraju nastanak produkta, odgovarajućih transferaza (31, 32). *FUT 1* i *FUT 2* geni imaju oko 70% strukturne sličnosti i nalaze se na hromozomu 19 (33, 34).

Gen *H* (*FUT 1*) tesno je povezan sa genom *FUT 2 -Se* (gen za sekretorstvo). On se nalazi na hromozomu 19, kao i gen za *H*. Nastanak solubilnih antigena sistema ABO u direktnoj je vezi sa nasleđivanjem gena *Se*. Gen *Se* dominantan je u odnosu na gen *se* i odgovoran je za stvaranje antigena ABO u pljuvački, mleku, plazmi, suzama, znoju, urinu, i drugim telesnim tečnostima. Osobe koje nemaju sekretorni gen *Se* su nesekretori i oni su homozigoti za inaktivni gen *se* (*se/se*) (1, 17, 20, 35-45).

Produkt gena *A* je enzim **N-acetilgalaktozamin transveraza**. **N-acetilgalaktozamin transveraza** prenosi šećer **N-acetilgalaktozamin** na oligosaharidni lanac, koji je prethodno formiran u H antigen. **N-acetilgalaktozamin** je imunomodulatorni šećer za **A** specifičnost. Produkt gena *B* je enzim **D-galaktozil transveraza**. **D-galaktozil transveraza** prenosi šećer **D-galaktozu** na oligosaharidni lanac, prethodno formiran u H antigen. **D galaktoza** je imunomodulatorni šećer za **B** specifičnost. Produkt gena *O* je **O-transveraza**, koja je ili veoma kratka zbog delecije ili značajno mutirana, pa nije u stanju da glikozilira supstancu H na šećerima. Kao rezultat mutacije u genu ABO, u osoba krvne grupe O ne stvaraju se ni A niti B antigeni (1, 15-22, 35).



Slika 3. Sinteza antigena ABO(H) sistema

H antigen bilo sintetisan delovanjem *FUT1* ili *FUT2* gena je akceptorni supstrat za A i B gen specifične glikoziltransferaze (GTA i GTB). Ukoiko H antigen nije prisutan usled nedostatka H-transferaze, A i B antigeni ne mogu biti sintetisani, uprkos prisustvu glukoziltransferaze (GTA i GTB). GTA dobijena iz gastrične mukoze i drugih izvora pretvara O ili B eritrocite u A ili AB eritrocite u prisustvu N-acetilgalaktozamin transferaze. Isto GTB dobijena iz istih izvora, pretvara O eritrocite u B ćelije u prisustvu D-galaktozil transferaze.

Godine 1952., Bhende i saradnici (46), opisali su abnormalnu krvnu grupu kod tri muškarca iz Bombaja čiji su eritrociti bili krvne grupe O, ali H-negativni. Svi su imali anti-H antitela u svom serumu. Ovaj redak fenotip kasnije je postao poznat pod imenom Bombaj ili  $O_h$  fenotip (47-50). H transferaze nisu otkrivene u serumu ili membrani eritrocita osoba fenotipa  $O_h$  (51, 52, 53). Ćelije fenotipa Bomby, kojima nedostaje H antigen ne mogu biti konvertovane u B ćelije u prisustvu GTB niti u A ćelije u prisustvi GTA(48).

$O_h$  serum i eritrociti sadrže glukoziltransferazu A i B kada su prisutni geni A i B (51, 54). Ovi enzimi nisu u mogućnosti da budu aktivni u slučaju nedostatka akceptorne supstance (H antigena), u kom slučaju ne dolazi do stvaranja ni A ni B antigena.  $O_h$  eritrociti koji su u *in vitro* uslovima u prisustvu H transferaze dobili H antigen mogu dalje biti prevedeni u A i B aktivne ćelije putem GTA ili GTB (glukoziltransferaze) (55). U osoba heterozigota *H/h*, serum ima polovinu aktivnosti H-transferaze u odnosu na osobe koji su homozigoti *H/H* (56).

#### **1.1.4. SEKRETORSTVO**

Do 1926. godine dokazano je da A i B krvnogrupni antigeni nisu ograničeni na eritrocite, već su prisutni u solubilnoj formi u semenoj tečnosti i salivi (57). Genski lokus koji kontroliše sekretorstvo ABO(H) krvnogrupne supstance u telesnim tečnostima nazvan je sekretorni (*Se* i kasnije *FUT2*). Sposobnost sekretovanja ABO(H) krvnogrupne supstance u telesnim tečnostima dominantna je u odnosu na ne-sekretorstvo. Mada su i neki drugi krvnogrupni antigeni prisutni u sekretima, termin “sekretor” i “ne-sekretor” odnosi se samo na sekreciju ABH supstance.

U sekretima osoba odgovarajuće ABO grupe, ABH antigeni su detektovani u sekretima peherastih ćelija i mukoznih žlezda gastrointestinalnog trakta (pljuvačke, želudačnog soka, žuči, mekonijumu), genitourinarnog trakta (semenoju tečnosti, vaginalnom sekretu, tečnosti ovarijalnih

cista, urinu) i respiratornog trakta, kao i u mleku, znoju, suzama, i plodovoj vodi (42,58). Izlučeni ABH antigeni prenose se na glikoproteinima visoke molarne mase nazvanim mucini, ali su takođe prisutni i kao slobodni oligosaharidi u mleku i urinu (43,44,45). Sekretovani ABH antigeni izraženi su na oligosaharidnim lancima tipa 1, tipa 2 i tipa 3 (43,59,60,61). *Se* i *se* su alele endodermalne 1,2- fukosiltransferaze, produkta gena *FUT2*. *Se* i *se* alele određuju prisustvo ili odsustvo H supstance u sekretima. A- i B-transferaze nisu pod kontrolom sekretornog gena i nisu u stanju da katalizuju proizvodnju A i B krvnogrupnih supstanci u telesnim tečnostima osoba nesekretora zbog nedostatka H antigena, njihovog akceptornog supstrata.

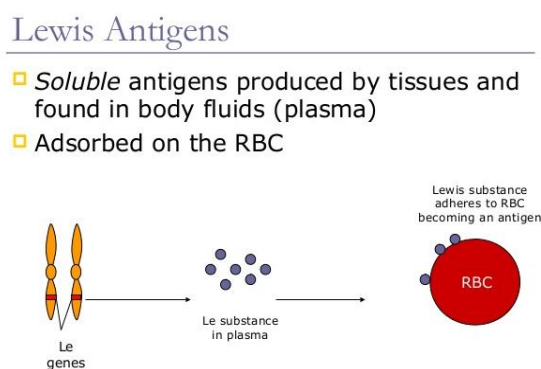
Tkivo pljuvačne žlezde humanog fetusa počinje da luči sekret koji sadrži ABH antigen od devete gestacijske nedelje (66) a ABH antigeni su detektabilni u salivi novorođenčeta (62,63). Mala količina H, A ili B supstance može biti otkrivena i u salivi većine nesekretora (64-66). Pendu i saradnici (67), pokazali su da plazma ABH sekretora sadrži tip 1H i tip 2H lanca, dok plazma nesekretora sadrži samo lanac tipa 2H. Oni su pokazali da celokupna količina lanca tipa 1H i oko jedne trećine lanca tipa 2H prisutne u plazmi, predstavlja supstrat gena *FUT2*, dok većina lanca tipa 2H nije pod kontrolom sekretornog gena i verovatno je hematopoeznog porekla. ABH supstanca u plazmi vezana je za glikosfingolipide i glikoproteine (68).

Gotovo svi ljudi imaju H antigene na eritrocitima, ali samo oko 80% belaca imaju H antigene u telesnim tečnostima. Ove osobe se nazivaju ABH sekretorima, pošto, ukoliko imaju A i/ili B gen, oni takođe sekretuju A i/ili B antigene. Preostalih 20% populacije naziva se nesekretorima pošto ne sekretuju H, A ili B antigene, bez obzira na ABO genotip. Kod osoba Evropskog i Afričkog porekla, ABH sekretorni status, kontrolisan je parom alela (*Se* i *se*) sekretornog lokusa (*FUT2*).

Različito ustrojstvo tipa 1 i tipa 2 lanaca ukazuje na postojanje dve različite fukozil transferaze, jedne specifične za tip 1 lanca i druge specifične za tip 2 lanca. Utvrđeno je da eritrociti produkuju samo tip 2 H lanca dok ABH sekretori poseduju oba, i tip 1 i tip 2 H lanca. Oriol i saradnici (67,69), pretpostavili su da *H* gen produkuje fukoziltransferazu specifičnu za tip 2 lanca i da je ona prisutna u hematopoeznim tkivima, dok gen *Se* produkuje fukoziltransferazu koja deluje na lanac tip 1 i tip 2 i da je prisutna u sekretornim tkivima (žlezdama). Identifikacija dve fukoziltransferaze sa neznatno različitim svojstvima potvrdila je koncept o postojanju dva gena odgovorna za sintezu fukoziltransferaza (70).

### 1.1.5. LEWIS KRVNO GRUPNI SISTEM

Krvnogrupalni sistem Lewis čine dva osnovna antigena  $Le^a$  i  $Le^b$  i tri fenotipa koji iz njih proizilaze:  $Le(a+b-)$ ,  $Le(a-b+)$  i  $Le(a-b-)$ . Osim na eritrocitima, krvno grupni antigeni sistema Lewis nalaze se na trombocitima, endotelijumu, bubrežima, epitelijumu genitourinarnog trakta i gastrointestinalnog trakta. Antigeni Lewis ne stvaraju se u eritrocitima, već se pasivno apsorbuju na njihovu membranu iz mešavine rastvorljivih glikolipida specifičnosti Lewis, koji se nalaze u plazmi.



Slika 4. Apsorpcija Le supstance na eritocitnu membranu

#### 1.1.5.1 BIOSINTEZA LEWIS ANTIGENA

Produkt Lewis gena (*FUT 3*) je  $\alpha 1$ -4-L- fukoziltransferaza (59,63), koja katalizuje prenos L-fukoze (Fuc) od gvanozin difosfata (GDP-Fuc) na N-Acetilglukozamin (GlcNAc) tipa 1 akceptornog supstrata, pri čemu nastaje antigen  $Le^a$ , odnosno na tip 1H, pri čemu nastaje antigen  $Le^b$ . Aktivnost  $\alpha 1$ ,4- fukoziltransferaze utvrđena je u mnogim tkivima i sekretima: bubrežima, gastričnoj mukozi, submaksilarnoj pljuvačnoj žlezdi, epitelu ovarijalnih cista, pljuvački, mleku (43). Aktivnost  $\alpha 1$ ,4- fukoziltransferaze nije pronađena u serumu, eritrocitima, limfocitima, granulocitima i trombocitima (52,71-73) ukazujući na to da ovaj enzim nema hematopoezno poreklo.

Phenotype	Structure	Minimal determinant structure
H		Fuc- $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 2-Gal- $\beta$ 1-R
Le <sup>a</sup>		Gal- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3 Fuc- $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4 GlcNAc- $\beta$ 1-R
Le <sup>b</sup>		Fuc- $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 2-Gal- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3 Fuc- $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4 GlcNAc- $\beta$ 1-R

**Slika 5.** Sinteza Le<sup>a</sup> i Le<sup>b</sup> antigena

Visok nivo produkta *FUT3* gena prisutan je u kolonu, želucu, tankom crevu, plućima i bubrezima dok je manja količina prisutna u pljuvačnim žlezdama, mokraćnoj bešici, uterusu i jetri (74). Mesto sinteze Lewis antigena je nepoznato. Recipijenti transplantata koštane srži (75,76), bubrega (77) ili jetre (78), zadržavaju svoj sopstveni Lewis fenotip na eritrocitima bez obzira što se u urinu i u žuči recipijenta jetre detektuju Lewis antigeni donora. Zbog izražene intestinalne glikolipidne Le<sup>a</sup> aktivnosti, Hanfland i Graham (79) ukazali su da Lewis antigeni, prisutni u plazmi, mogu voditi poreklo iz intestinalne mukoze. Nesekretori sa celijačnom bolešću, imaju smanjenu količinu Le<sup>a</sup> antigena u urinu (80). Evans i saradnici, pretpostavili su da Le<sup>a</sup> u urinu i plazmi nastaje iz velike Le<sup>a</sup> aktivne molekule u tankom crevu, koja podleže digestiji u manje molekule koje potom bivaju apsorbovane i transportovane u krvotok. Neki od ovih malih molekula potom se izlučuju putem bubrega. U celijačnoj bolesti ove molekule ne mogu biti apsorbovane od strane intestinalne mukoze što rezultuje smanjenom količinom Le<sup>a</sup> supstance u urinu. Regeneracijom mukoze tankog creva dolazi do povećanja količine Le<sup>a</sup> antigena koji se detektuje u urinu. Prema rezultatima studije Ramsey-a i saradnika, svih osam pacijenata sa oštećenom mukozom tankog creva, od kojih je 7 imalo resekciju ileuma i 80% jejunuma, imalo je na eritrocitima Le(a-b-) fenotip, u odnosu na 6%, kolika je inače učestalost tog fenotipa (81). Pored toga, uočeno je da Le(a-b-) eritrociti pacijenata sa oštećenom mukozom tankog creva, postaju Le(a-b+) nakon transplantacije creva (82), što potvrđuje da Lewis glikolipidi u plazmi i posledično na eritrocitima, vode poreklo od intestinalne mukoze. Recipijenti kod kojih je urađena uspešna transplantacija koštane srži, stiču ABO krvnu grupu donora, dok Lewis fenotip recipijenta ostaje nepromenjen (75,76).

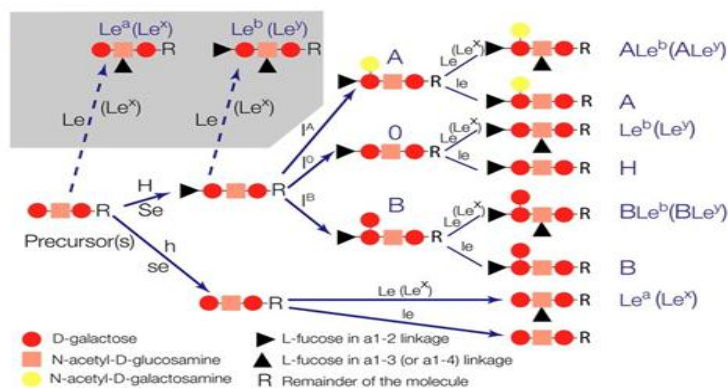
Dve alele na *FUT3* lokusu su: *Le* koja kodira  $\alpha$ 1-4- fukoziltransferazu i *le* alela koja ne pokazuje enzimsku aktivnost. Osobe homozigoti za *le* ne sekretuju ni  $Le^a$  ni  $Le^b$  i imaju fenotip  $Le(a-b-)$  na eritrocitima, bez obzira na njihov ABH i sekretorni fenotip.

Povezanost ABH, Lewis krvnogrupnih sistema i sekretorstva ogleda se u tome što kod ABH nesekretora (*se/se*), nema aktivnosti  $\alpha$ 1-2 fukoziltransferaze u sekretima, kako bi došlo do konverzije tipa 1 prekursornog lanca u tip 1H. Posledično, tip 1 prekursora je dostupan kao akceptorna supstanca za *Le* transferaze, što rezultuje u produkciji monofukoziliranog  $Le^a$  antigena; tako da sekreti sadrže  $Le^a$  antigen a eritrociti su fenotipa  $Le(a+b-)$ . Osobe sa *Se* alelom produkuju tip 1H lance, koji zatim mogu biti konvertovane putem *Le-* transferaze u difukozilirani  $Le^b$  antigen. Ukoliko osobe sa *Se* alelom pored toga imaju i *A* ili *B* gen, većina od lanca tipa 1H biće konvertovana u *A* ili *B* strukture i *Le* transferaze će stvoriti  $ALe^b$  ili  $BLe^b$ . Mada *Le* transferaze mogu koristiti ili tip 1 prekursora ili tip 1H akceptorne supstance kako bi nastali  $Le^a$  odnosno  $Le^b$ ,  $Le^a$  je slab supstrat za aktivnost *Se* gen specifične  $\alpha$ 1-2 fukoziltransferaze. Posledično, postoji kompeticija između ova dva enzima za supstrat (64,83).

Ukoliko je  $Le^a$  nastao od tipa 1 prekursora putem aktivnosti transferaze, ovaj antigen ne može biti dalje konvertovan u  $Le^b$  putem *Se* transferaze, tako da sekreti osobe sa *Le* i *Se* genima sadrže  $Le^a$  i  $Le^b$ , mada vrlo malo  $Le^a$  može biti detektovano u plazmi ili na eritrocitima ovih osoba. Produkt slabog sekretornog gena (*Se<sup>we</sup>*) čestog u Istočnoj Aziji i Pacifičkom regionu, jeste prisustvo veće zastupljenosti  $Le^a$  antigena u sekretima osoba koje su sekretori ABH krvnogrupne supstance. Osobe homozigoti za *Se<sup>we</sup>*, ili heterozigoti *Se<sup>we</sup>/se* imaju  $Le^a$  i  $Le^b$  u plazmi i sekretima i  $Le(a+b+)$  fenotip na eritrocitima (84-88).

Lewis transferaza ima dvostruku katalitičku sposobnost koja se ogleda kroz aktivnost  $\alpha$ 1-3/4-L fukoziltransferazu (89-91), mada je njena aktivnost skoro 100 puta efikasnija na lanac tipa 1H nego na lanac tipa 2H (92). Genetska osnova  $Le(a-b-)$  fenotipa na eritrocitima je heterogena, ali je uvek zasnovana na jednoj ili više misens mutacija unutar *FUT3* gena. Nonsens mutacije za Lewis antigen nisu pronađene. Pozicija inaktivirajućih mutacija na *FUT3* genu ukazuje da katalitički domen Lewis transferaze uključuje region od 68 do 356 aminokiseline u lancu. Ekspresija *FUT3* gena u pogledu enzimске aktivnosti vezana je za domen od 62 do 361 aminokiseline u lancu, dok su kraći domeni inaktivni (93). Eritrociti ne mogu sintetisati ugljenohidratni lanac koji predstavlja osnovu lanca tip 1 i posledično ne mogu sintetisati Lewis antigene. Lipidi plazme postepeno se zamenjuju sa masnim kiselinama i fosfolipidima membrane

eritrocita, sličnim onim prisutnim u plazmi (94). Posledično, plazmatski glikosfingolipidi ulazu Lewis strukture u membranu eritrocita (95).



Slika 6. Sinteza ABO, Hh i Lewis krvnogrupnih antigena

## 1.2. ABO(H), LEWIS KRVNE GRUPE, SEKRETORSTVO I UDRUŽENOST SA BOLESTIMA

### 1.2.1. Fiziološke manifestacije

Determinante ABO krvnogrupnog sistema određuju enzimsku aktivnost u tkivima (trepljasti epitel) digestivnog trakta. Bar šest digestivnih hidrolaza ima ABO antigensku odrednicu koja je u direktnoj vezi sa krvnom grupom. U osnovi intestinalni glikoproteini osoba krvne grupe A i B imaju aktivnost antigena A i B krvne grupe, dok osobe O krvne grupe poseduju H antigen. Ekspresija ovih ABH antigena je pod kontrolom sekretornog gena, tako da hidrolaza nije evidentirana u antigenima nesekretora (96). ABH sekretori imaju veliku količinu slobodnih ABH antigena u svojim intestinalnim sekretima što je od značaja za vezivanje bakterija i lektina za crevne resice (97)

#### 1.2.1.1. Aktivnost intestinalne alkaline fosfataze

Aktivnost intestinalne i serumske alkalne fosfataze u vezi je sa ABH sekretornim statusom. Nezavisno od ABO krvne grupe, nesekretori imaju nižu aktivnost alkalne fosfataze u odnosu na sekretore. Procenjeno je da alkalna fosfataza u serumu nesekretora ima 20% aktivnosti u odnosu na serumsku alkalnu fosfatazu sekretora (98-101). Crevna alkalna fosfataza učestvuje u

razgradnji holesterola i apsorpciji kalcijuma. Razlika u intestinalnoj alkalnoj fosfatazi u vezi je sa razlikom u jednom segmentu enzima (97). Molekularna masa intestinalne alkaline fosfataze sekretora i nesekretora je ista bez obzira na pripadnost ABO krvnogrupnom sistemu. Ipak veća molekulska masa intestinalne alkaline fosfataze zabeležena je samo kod osoba koje su sekretori Le(a-b+) fenotipa (102).

U odnosu na ABH sekretorni status, ABO polimorfizam je takođe povezan sa nivoom i prisustvom alkaline fosfataze (103). Mnoge studije povezuju krvnu grupu O i povećanu aktivnost alkalne fosfataze a krvnu grupu A sa smanjenom aktivnošću (104). Ova otkrića ukazuju na povezanost O krvne grupe i adaptiranosti osoba sekretora O krvne grupe prema hrani bogatoj mastima, kao što je meso. Nasuprot tome nesekretori A krvne grupe imaju smanjenu aktivnost crevne alkaline fosfataze i posledično smanjenu mogućnost adekvatnog metabolisanja masti. Studija Bayer-a i Hotschek-a je ukazala da krvna grupa A može dodatno da utiče na inaktivaciju alkaline fosfataze normalne molekulske mase (105).

### **1.2.1.2. Bakterijska flora**

Uloga ABO krvne grupe u određivanju normalne bakterijske flore gastrointestinalnog trakta posebno je izražena kod ABH sekretora. Pošto ABH sekretorni status i ABO krvna grupa određuju prisustvo i specifičnost A, B i H antigena u humanom intestinalnom sekretu, to može biti od uticaja na bakterijsku floru koja će naseliti digestivni trakt. Ovo nastaje pošto su određene bakterije digestivnog trakta sposobne da produkuju enzime koji im omogućuju da koriste u ishrani terminalne šećere krvnih grupa. Bakterije sposobne da razgrade antigene B krvne grupe produkuju enzim koji im omogućava da odvoje terminalnu alfa D galaktozu i koriste ovaj šećer u ishrani. Bakterije koje mogu da razgrade antigene A krvne grupe, imaju slično dejstvo na N acetilgalaktozamin.

Sekretori B krvne grupe imaju veću enzimsku aktivnost prema antigenima B krvne grupe u odnosu na antigene A i H, dok sekretori A krvne grupe produkuju više A nego B i H razgrađujućih enzima. Zbog ove sposobnosti bakterije koje koriste ABH antigene u ishrani imaju kompetitivnu prednost i mogu predstavljati većinu u bakterijskoj flori ABH sekretora. Mada mali broj bakterija ima sposobnost produkcije enzima koji razgrađuju krvnogrupne antigene, taj broj je približno oko  $10^8$  bakterija po gramu. Količina ovih bakterija razlikuje se u odnosu na krvne grupe i pokazuje različitu stabilnost. Bakterije sposobne da razgrađuju B antigene imaju oko



50000 gušću populaciju u osoba krvne grupe B koje su sekretori u odnosu na druge. Slična bakterijska specifičnost i enzimaska aktivnost pronađena je i kod ostalih krvnih grupa (106).

### **1.2.1.3. Sastav mleka**

Značajne razlike u sastavu ugljenih hidrata majčinog mleka zabeležene su zavisno od ABO krvnogrupnog sistema, Lewis fenotipa i sekretornog statusa. Tokom prvih nedelja laktacije, sposobnost produkcije neuroaminooligosaharida povezana je sa ABH sekretornom grupom. Sposobnost produkcije oligosaharida  $Le^a$  i  $Le^b$  karakteristika, povezana je sa Lewis sekretornim sistemom. Posledično sekretori će proizvoditi veću količinu N-acetil neuraminske kiseline i niži nivo galatoze u mleku u odnosu na nesekretore. U grupi ABH sekretora krvne grupe A i O, takođe se nalazi veća količina N-acetilglukozamina nego u B i AB sekretora ( $p < 0,001$ ), dok A i B sekretori imaju veći nivo galaktoze. Grupa Lewis sekretora izdvaja se po značajno većoj količini fukoze a ABH sekretori  $Le(a-b-)$  imaju veću količinu laktoze u odnosu na druge (107).

### **1.2.1.4. Zgrušavanje krvi**

Krvnogrupni sistem ABO u značajnoj meri utiče na zgrušavanje krvi. Procenjeno je da je značajna količina (oko 30%) genetski predodređene varijacije u koncentraciji von Willebrand faktora (vWf) direktno povezana sa ABH determinantama. Uočeno je da osobe O krvne grupe imaju manju količinu ovog faktora koagulacije (108). Pored toga, ABH nesekretori imaju kraće vreme krvarenja i tendenciju ka većim količinama faktora VIII i von Willebrandovog faktora. Ovaj odnos predstavlja još jedan primer udruženosti između ABO i sekretornog statusa (fenotipa). Smatra se da postoji interakcija između genetike ABO krvnogrupnog sistema i sekretornog statusa koja utiče i do 60% na varijaciju plazmatske koncentracije vWf, tako što sekretori  $Le(a-b+)$  imaju najnižu koncentraciju vWf (109,110).

Među osobama O krvne grupe (krvna grupa sa najviše problema u vezi sa zgrušavanjem krvi), najniža koncentracija vWf i faktora VIII pronađena je u grupi O sekretora. S druge strane nesekretori O krvne grupe imaju viši nivo antigena vWf i faktora VIII što im obezbeđuje bolje mogućnosti zgrušavanja krvi (18). Osobe A, B i AB krvne grupe fenotipa  $Le(a-b-)$  imaju značajno viši nivo faktora VIII i vWf. Među osobama crne rase krvne grupe A, B ili AB fenotipa

Le(a-b-) sličan trend je pronađen pošto ove osobe imaju visok nivo faktora VIII i vWf. Među osobama ženskog pola krvne grupe A, B ili AB i fenotipa Le (a-b-) postoji povišen nivo faktora VIII (110). Istraživanja su ukazala da osobe Le(a-b-) i krvne grupe A, B, posebno AB, imaju značajnu povezanost sa povišenim vrednostima VIII i von Willebrandovog faktora i time veću sklonost ka pojavi tromboembolijskih i srčanih oboljenja (111).

#### **1.2.1.5. Dentalne šupljine**

Među svim krvnim grupama, karijes se ređe javlja među sekretorima u odnosu na nesekretore i najređi je među osobama O krvne grupe (112).

#### **1.2.1.6. Dijabetes**

Lewis negativne osobe Le(a-b-) fenotipa su pod većim rizikom za oboljevanje od dijabetesa (posebno tipa II) i mogu biti pod većim rizikom za razvoj komplikacija dijabetesa. Istraživanja ukazuju na veću učestalost nesekretora među obolelima od dijabetesa posebno među onima sa tipom I ili insulin zavisnim dijabetesom (113,114). Le(a-b-) fenotip potvrđuje veći rizik za razvoj dijabetesa. Ovaj fenotip tri puta je češći (29%) među obolelima od dijabetesa bez obzira na tip. Smanjena tolerancija na glukozu među osobama koje nisu obolele od dijabetesa prisutna je kod osoba sa Lewis negativnim fenotipom (115). Među osobama sa dijabetesom tipa I, prevalenca retinopatije kao komplikacije dijabetesa ređa je u grupi ABH sekretora u odnosu na nesekretore (116).

#### **1.2.1.7. Bolesti srca**

Podaci ukazuju da osobe ABH nesekretori mogu biti pod većim rizikom razvoja ishemijske bolesti srca dok ABH sekretorni status može biti prediktor genetski predodređene zaštite. Dokazi takođe pokazuju da Lewis negativan fenotip može biti još važniji genetski marker povećanog rizika srčanih oboljenja među muškarcima. Ovi rezultati dobijeni su u studiji na muškarcima u Kopenhagenu (Copenhagen Male study) i potvrđene NHLBI Family Heart Study. Osam posto osoba muškog pola fenotipa Le(a-b-) imalo je pozitivnu istoriju bolesti za infarkt miokarda (među Lewis pozitivnim muškarcima učestalost je bila samo 4%). Još ozbiljniji

rezultati pokazuju da Le(a-b-) muškarci imaju povišen rizik za razvoj infarkta sa smrtnim ishodom u poređenju sa ostalima (117). Rezultati NHLBI Family Heart Study pokazuju povišen rizik razvoja ishemijske bolesti srca među osobama Le(a-b-) fenotipa u odnosu na druge Lewis fenotipe. Nivo triglicerida značajno je viši u plazmi osoba Le(a-b-) fenotipa. Među osobama ženskog pola u studiji NHLBI takođe je potvrđena veća učestalost ishemijske bolesti srca kod fenotipa Le(a-b-) ali u značajno manjem procentu u odnosu na populaciju muškaraca (118). Dodatna ispitivanja takođe su potvrdila ove rezultate koji upućuju na udrženost Le(a-b-) fenotipa i povišenog rizika za razvoj ishemijske bolesti srca. Čak izuzimajući Lewis negativni fenotip, sekretorni fenotip Le(a-b+) pokazao se kao genetski marker otpornosti prema infarktu miokarda, dok je nesekretorni status, faktor rizika za pojavu kardioloških oboljenja (119,120).

#### **1.2.1.8. Efekat na metabolizam alkohola**

Kod muškaraca Le(a-b-) fenotipa sa predispozicijom za razvoj ishemijske bolesti srca, upotreba alkohola ima protektivni uticaj. U studiji iz Kopenhagena, istraživači su pronašli da korišćenje alkohola predstavlja jedini rizikofaktor koji ima uticaj na Lewis negativni fenotip i da alkohol može imati suprotan pozitivan efekat. Postoji obrnut doza-alkohol efekat između upotrebe alkohola i smanjenja rizika (121). Nasuprot uticaju alkohola na kardiovaskularne bolesti, kod Lewis negativnih osoba, nekoliko velikih studija, povezalo je nesekretorni status i negativan Lewis fenotip sa pojavom alkoholizma (122, 123).

#### **1.2.1.9. Metabolički sindrom**

Podaci pojedinih studija ukazuju da osobe muškog pola Le(a-b-) fenotipa pokazuju sklonost prema insulinskoj rezistenciji, odnosno metaboličkom sindromu, uključujući sklonost ka tromboembolizmu, povišenim vrednostima indeksa telesne mase (body mass index- BMI), povišenim vrednostima triglicerida, povišenih vrednostima insulina našte i vrednostima glukoze u plazmi, što kod osoba ženskog pola Le(a-b-) fenotipa nije dokazano. Grupa metaboličkih poremećaja koja uključuje insulinsku rezistenciju, povišene vrednosti glukoze u serumu, poremećeni mehanizam regulacije lipida u serumu (povišeni trigliceridi, povišeni lipoproteini male gustine i snižene vrednosti lipoproteina velike gustine), povišen krvni pritisak, sklonost prema zgrušavanju krvi i gojaznost (posebno centralnog tipa, dobijanje na težini u

abdominalnom delu) sastavni su deo metaboličkog sindroma. Ova grupa metaboličkih poremećaja potpomaže razvoj dijabetesa tipa 2, ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti.

Zbog udruženosti dijabetesa i bolesti srca sa nesekretorstvom, mnogi istraživači su ispitivali udruženost metaboličkog sindroma i Lewis krvnogrupnog sistema i nesekretorstva. Kao i kod dijabetesa i kardioloških oboljenja, osobe Le(a-b-) fenotipa imaju predispoziciju razvoja metaboličkog sindroma. Pretpostavka je da Le(a-b-) fenotip i metabolički sindrom imaju zajedničku genetsku osnovu na hromozomu 19 i da je Le(a-b-) fenotip genetski marker povišene insulinske tolerancije (124). Istraživači su takođe u skopu Kopenhagen studije pronašli dokaze o uticaju Lewis fenotipa na metaboličke poremećaje. U poređenju sa ostalim ljudima Le(a-b-) imali su značajno više vrednosti sistolnog krvnog pritiska. Oni su takođe imali više vrednosti body mass indexa, ukupnog udela masti u telu, povišene vrednosti insulina u serumu, serumskog C peptida i glukoze u plazmi. Dok su ova zapažanja utvrđena u populaciji muškaraca, kod žena ti rezultati nisu potvrđeni (125, 126).

### **1.2.2. Imunološke posledice, osnovne funkcije**

Rezulteti studija Al-Agidi-a i Shinebaum-a ukazuju da ABH nesekretori imaju niži nivo IgG (127,128). Ispitivanje sprovedeno na 202 belca pokazalo je značajno nižu koncentraciju IgA kod nesekretora u odnosu na sekretore (129,130). ABH antigeni mukozne barijere ABH sekretora ponašaju se kao efikasan antiadhezivni mehanizam protiv specifičnih bakterijskih fimbrija. Sa druge strane sposobnost da stvaraju drukčiju koncentraciju komponenti krvnih grupa određene sekretornom/nesekretornom genetikom izgleda ima uticaja na fagocitnu aktivnost leukocita na način da nesekretori imaju prednost. Fagociti nesekretora imaju veću fagocitnu sposobnost u poređenju sa sekretorima. Mada ova sposobnost obuhvata sve nesekretore, leukociti nesekretora krvne grupe O i B imaju najveću prednost i najvišu fagocitnu sposobnost. Verovatno je ovo kompenzatorni mehanizam za njihovu ograničenu antigensku barijeru u njihovim telesnim tečnostima i sekretima (131).

Patološki hladni aglutinati nastaju ili kao odgovor na infekciju ili paraneoplastičnog ili neoplastičnog rasta pojedinačnog imunocitnog klon. U oba slučaja oni suštinski dele iste imunoheimijske karakteristike i polisahardine specifičnosti. Hladni aglutinini javljaju se u sklopu Mycoplasma pneumoniae (primarna atipična pneumonija) gde su oni obično specifični za antigene. Podaci ukazuju da nivo hladnih aglutinina u serumu može biti uslovljen ABO krvnom

grupom donora, sekretornim statusom i polom. Osobe krvne grupe O, B, AB imaju viši nivo antitela, pretpostavlja se da su auto anti- I (hladni hemaglutinini). Nivo ovih antitela čak je i veći među ne-A sekretorima ženskog pola (132). Nesekretori među obolelima od dijabetesa izgleda da imaju niži nivo pojedinih komponenti komplemента u odnosu na sekretore obolele od dijabetesa. Naučnici su pronašli da je koncentracija komponente komplemента C3 značajno niža među nesekretorima u odnosu na sekretore u populaciji obolelih od dijabetesa. Nivo komponente komplemента C4 takođe je značajno niža u populaciji nesekretora u odnosu na sekretore (133).

### **1.2.2.1. Helicobacter pylori**

Genetika ABH sekretor/nesekretor utiče na pojavu ulkusa. U nekoliko studija nađena je značajno veća učestalost želudačnog i duodenalnog ulkusa u populaciji nesekretora (134, 135).

U Kopenhagen studiji, pronađena je prevalenca od 15% za razvoj ulkusne bolesti među nesekretorima (15% nesekretora će tokom života oboleti od ulkusne bolesti), a dodatni rizik predstavlja fenotip Le (a+b-) ili ABH nesekretori krvne grupe O ili A gde je rizik povećan na 37% (136). Oboleli od duodenalnog ulkusa češće su nesekretori što se dovodi u vezu da nesekretori imaju preduslov za razvoj hiperpepsinogenemije tipa I koja povećava rizik od razvoja duodenalnog ulkusa (137,138). Zbog veće učestalosti ulkusne bolesti među nesekretorima, naučnici su pretpostavili da sekretorni status može imati uticaja na gustinu bakterijske flore ili na sposobnost H. pylori da napadne ćelije gastroduodenuma. Nesekretorstvo sveukupno razmatrano je kao nezavisan faktor rizika za pojavu gastroenteroloških oboljenja, osim H pylori. Svakako postoji veza između sekretornog status, Lewis fenotipa i H pylori (137).

Pošto nesekretori nisu u mogućnosti da sekretuju Le (b) antigen u sekret digestivnog trakta, smatralo se da su ove osobe u zaostatku za kompetitivno vezivanje H. pylori za antigen Le (b) u odnosu na sluznicu digestivnog trakta. Smatra se da Le(b) predstavlja mesto vezivanja H. pylori. Stoga nedostatak Le(b) antigena može doprineti kolonizaciji H. pylori (139-141). Drugim rečima, kada se Le(b) antigeni nalaze slobodni u mukusu oni deluju kao barijera za koju se vezuje H. pylori pre nego što ostvari kontakt sa sluznicom. Biti sekretor obezbeđuje svojevrsni biološki pokrivač u gastrointestinalnom traktu koji je specifičan za H.pylori. Takođe, kod ABH nesekretora, imuni odgovor protiv H. pylori čini se manjim i čini se da se H. pylori u tom slučaju vezuje sa više agresivnosti nanoseći veću štetu (142).

Osobe sa Le(a+b-), ABH neseekretori, pokazuju veću stopu H. pylori seronegativnosti, niži nivo IgG (H. pylori IgG antitelo) koje nastaje tokom infekcije ovom bakterijom u odnosu na osobe fenotipa Le(a-b+), sekretore. Među osobama neseekretorima sa duodenalnim ulkusom, iz bioptata je izolovana H. pylori u 100% slučajeva, dok je u slučaju neseekretora sa ulkusom želuca iz bioptata H. pylori izolovan u svega 12,5% slučajeva. Ovo nije uočeno među sekretorima među kojima je prisustvo H. pylori registrovano u istom stepenu i kod duodenalnog i kod želudačnog ulkusa (143).

### **1.2.2.2. Bakterijske infekcije urinarnog trakta**

ABH neseekretori su pod većim rizikom za pojavu rekurentnih urinarnih infekcija i češće imaju oštećenja strukture bubrega. Ova sklonost još više je izražena među Lewis negativnim osobama. Nasuprot tome sekretori imaju 50% ređe pojavu urinarnih infekcija kao i znatno manju verovatnoću pojave strukturnih oštećenja bubrega. Utvrđeno je da neseekretori imaju dodatno veći rizik za ponavljane urinarne infekcije. U studiji sprovedenoj među ženama sa rekurentnim urinarnim infekcijama, 29% činile su žene neseekretori sa Le(a+b-) fenotipom a 26% je imalo fenotip Le(a-b-). Kada su žene neseekretori sa recesivnim fenotipom razmatrane u celini, stopa relativnog rizika bila je 3,4 u odnosu na one sa fenotipom Le(a-b+) (144-147).

Postoji udruženost između sekretornog statusa, urinarne infekcije i smanjene sposobnosti stvaranja izohemaglutinina B. Izgleda da krvna grupa B i AB udružena sa neseekretorstvom povećava sklonost prema infekciji urinarnog trakta među ženama (neseekretorima) (148). Dokazi takođe ukazuju da strukturna oštećenja bubrega kao posledica prethodnih urinarnih infekcija češće nastaju kod osoba koje su neseekretori (149,150). Oko 55-60% neseekretora razvija strukturna oštećenja bubrega kao posledicu urinarnih infekcija uprkos pravilnoj antibiotskoj terapiji, dok iste promene nastaju kod 16% sekretora (151). Ova sklonost prema razvoju ožiljaka izgleda nije rezultat agresivnosti bakterije koliko imunološkog odgovora koji se javlja kao posledica prisustva bakterija kod osoba koje nisu sekretori. Nivo C reaktivnog proteina, brzina sedimentacije i telesna temperature značajno su viši kod neseekretora u odnosu na sekretore sa rekurentnim urinarnim infekcijama. Strukturna oštećenja bubrega kod neseekretora nastaju kao posledica imunološkog odgovora koji se javlja u akutnoj fazi upale (152).

### **1.2.2.3 Neisseria species**

Odsustvo mogućnosti stvaranja solubilnih antigena krvnogrupnog sistema ABO i odsustvo njihovog prisustva u telesnim tečnostima prepoznat je kao faktor rizika za meningitis izazvan Neisseriom. Nesekretori su značajno zastupljeniji među obolelima od meningitisa. Pojava oboljenja još je izraženija među nesekretorima koji su nosioci ovog uzročnika (153). Imunitet vezan za sekretorstvo doprinosi zaštiti sekretora od kolonizacije meningokokom. Nesekretori imaju niži nivo anti meningokoknih IgM antitela u salivi u odnosu na sekrete dok antitela klase IgA i IgM sekretora imaju veći potencijal zaštite protiv meningokoka (154).

### **1.2.2.4. Candida species**

ABH nesekretori češće su nosioci Candide i skloniji komplikacijama koje trajna infekcija ovom gljivicom nosi. Najskloniji su nesekretori O krvne grupe. Jedan od incijalnih vidova zaštite protiv vezivanja ovog mikroorganizma za mukozu jeste prisustvo solubilnih ABH antigena u telesnim tečnostima. Protekcija dobijena sekretornim genom može biti posledica glikozne komponente u telesnim tečnostima da inhibira adhezine na površini gljivice. U studijama koje su koristile prokuvanu salivu sekretora kojoj su naknadno dodate blastospore, značajno je redukovana njihova sposobnost vezivanja za epitelne ćelije. Saliva nesekretora nije smanjivala broj uzročnika koji se vezivao za epitelne ćelije, čak se broj vezanih kolonija povećao (155, 156). U studiji među osobama sa dijabetesom tip 2, 44% ABH nesekretora imali su u usnoj šupljini ovu gljivicu (157). Iako nesekretori čine svega 26% opšte populacije oko 50% nesekretora nosioci su oralne ili vaginalne kandidijaze (155). Nesposobnost sekretovanja krvnogrupnih antigena u salivu predstavlja faktor rizika za trajne hronične kandidijaze. U jednoj studiji od ukupnog broja nesekretora, njih 68% imalo je kandidijazu (158). Kandidom uzrokovan vulvovaginitis češći je među ženama nesekretorima ABH supstance. Kombinujući oba faktora nesekretorstvo i Le(a-b-) fenotip relativni rizik za pojavu vulvovaginitisa uzrokovanog Candidom zavisno od primenjene analitičke metode i kontrolne grupe, kreće se u rasponu od 2,41 do 4,39 (159). Nezavisno od sekretornog statusa broj inficiranih Candidom veći je među osobama O krvne grupe a ovaj broj dodatno se povećava kod nesekretora O krvne grupe (160).

### **1.2.2.5. Autoimune bolesti**

Nesekretori imaju povećanu učestalost različitih autoimunih bolesti uključujući ankilozirajući spondilitis (AS), reaktivni artritis, psorijatični artritis, Sjogrenov sindrom, multiplu sklerozu i Gravesovu bolest. Ova sklonost prema autoimunim bolestima najzastupljenija je kod fenotipa Le(a-b-). Među obolelima od seronegativnih spondiloartropatija od ukupnog broja obolelih nesekretori čine 47%. Među obolelima od AS, 49% su nesekretori. Pošto je u kontrolnoj grupi zabeleženo 27% nesekretora, to ukazuje da su spondiloartropatije a posebno ankilozirajući spondilitis, značajno zastupljeniji među nesekretorima (128, 161), mada ova udruženost nije neosporna (162). Među obolelima od Gravesove bolesti, udeo Lewis fenotipa Le(a-b-) veći je u odnosu na opštu populaciju (163). Nemogućnost sekretovanja solubilnih ABH antigena u telesnim tečnostima znatno je veća među obolelima od Gravesove bolesti ali ne i među obolelima od Hašimotove bolesti i primarnog atrofičnog hipotireoidizma. Među nesekretorima obolelim od Gravesove bolesti zabeležen je značajno viši nivo autoantitela, dok je nivo ostalih antitela bio isti kao kod sekretora (164).

### **1.2.2.6. Celijačna bolest**

Nesekretori su pod povećanim rizikom za razvoj celijačne bolesti. Studija Dickey-a i saradnika, pokazala je da je 48% nesekretora među obolelim od ove bolesti (165). Ovo je posebno izraženo kod negativnog Le(a-b-) fenotipa. Dokazi ukazuju na povećanu učestalost komplikacija vezanih za celijačnu bolest kod nesekretora i Lewis negativnih osoba obolelih od celijačne bolesti (166).

### **1.2.2.7. Pulmološka oboljenja**

ABH sekretori zastupljeniji su među obolelima od infekcije influencom A i B, rinovirusom, respiratornim sincicijalnim virusom i eho virusom. Razlog zašto se ovo dešava nije utvrđen (167). Među kopačima uglja pojava astme češća je među nesekretorima. Među populacijom sa smanjenom respiratornom funkcijom i vizingom češći su nesekretori O krvne grupe (168). Nezavisne studije ukazale su da sekretorstvo može uticati na smanjenje razvoja hronične opstruktivne bolesti pluća. Nesekretori imaju manji forsirani ekspiratorni volumen



tokom prve sekunde u odnosu na procenat forsiranog vitalnog kapaciteta (169). Broj onih koji hrču takođe je blago viši u populaciji neseekretora (170).

### **1.2.2.8. Malignitet**

Verodostojnost pojedinih tumorskih markera sa prognostičkog stanovišta predpostavlja se da je povezana i sa sekretornim statusom i sa Lewis fenotipom. Kao primer može se uzeti razmatranje sekretornog statusa i Lewis fenotipa kako bi se povećala prediktivna vrednost tumorskog markera Ca 19-9 (171). Postoji značajna razlika u nivou ovog tumorskog markera koja je pod kontrolom gena za sekretorstvo i Lewis fenotip. Osobe koje su homozigoti za inaktivni (*se/se*) gen i homozigoti za (*LeLe*) aktivni gen, imaju najveću prediktivnu vrednost markera Ca19-9. Kod svih osoba koje imaju *lele* fenotip, Ca19-9 nema prediktivnu vrednost, nezavisno od *Se* genotipa. S druge strane, prediktivna vrednost *DU-PAN-2* među Lewis negativnim osobama veća je u odnosu na njegovu prediktivnu vrednost kod sekretora. Među obolelima od kolorektalnog karcinoma, *lele* fenotip Ca19-9 ima nemerljive vrednosti (manje od 1,0 jedinica po ml, dok su vrednosti *DU-PAN-2* u korelaciji sa bolešću. Nasuprot navedenom, Lewis pozitivni pacijenti fenotipa *LeLe* imaju pozitivnu prediktivnu vrednost Ca19-9 dok samo nekolicina sekretora ima pozitivnu prediktivnu vrednost za *DU-PAN-2* (172). Posledica je da nivo Ca19-9 nije koristan tumor marker kod Lewis negativnih osoba, dok *DU-PAN-2*, jeste. Lewis negativne osobe nemaju lanac tipa 1 Lewis antigena (Le(a), Le(b) i sekretornog Lewis (a) u gastrointestinalnim sekretima. Stoga nije korisno određivati nivo Ca19-9 kod osoba koje nisu sekretori (173).

### **1.2.2.9 Preneoplastične promene i karcinom**

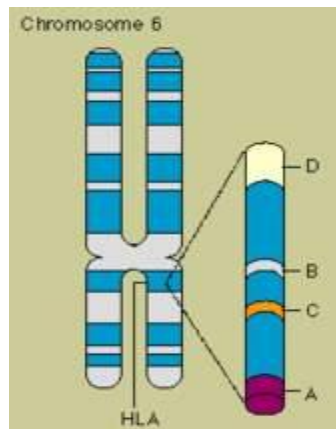
Uočena je veća učestalost oralnih oboljenja među neseekretorima. Stoga nije iznenađujuće da kada je reč o prekanceroznim stanjima usne duplje i jednjaka, kod neseekretora bolesti imaju teži oblik u odnosu na ABH sekretore. Ova sklonost prema oralnim oboljenjima ogleda se u pojavi displazije oralne mukoze koja se gotovo uvek javlja kod neseekretora (174). Baretov ezofagus kao prekancerozno stanje pokazalo je pozitivnu korelaciju sa Le(a+b-) fenotipom neseekretora (175).

## 2. HLA SISTEM

### 2.1. NASLEĐIVANJE, ULOGA U IMUNOM ODOGOVORU

#### 2.1.1 GLAVNI HISTOKOMPATIBILNI KOMPLEKS

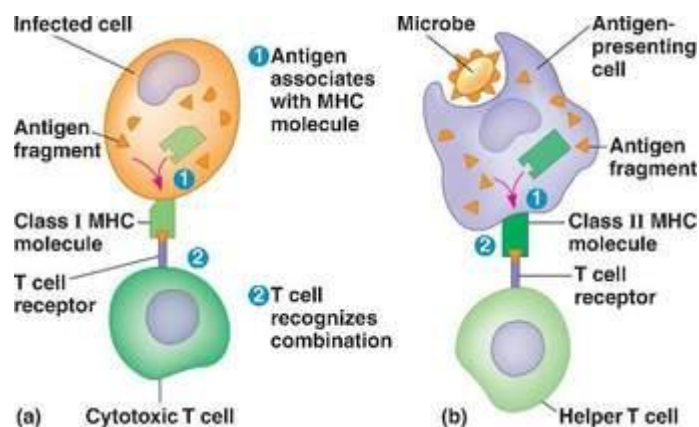
Glavni histokompatibilni kompleks (Major Histocompatibility Complex-MHC) je visoko polimorfan genski kompleks, koji kodira sintezu ćelijskih receptora koji igraju važnu ulogu u imunom odgovoru i kod ljudi se nazivaju humani leukocitni antigeni (HLA). Vezujući i prezentujući peptide poreklom ili iz ćelije ili iz okoline koja ih okružuje, HLA antigeni imaju ključnu ulogu u razlikovanju sopstvenih i stranih ćelija čime su obuhvaćene i ćelije sopstvenog organizma izmenjene pod uticajem bolesti. Geni MHC kompleksa smešteni su na kratkom kraku šestog hromozoma u regionu p21.3. U odnosu na strukturu, geni MHC kompleksa, podeljeni su u tri klase od kojih klasa I i klasa II pripadaju genima koji kodiraju sintezu HLA A, B, C, DRB1, DQB1 i DPB1 lokusa.



**Slika 7.** Geni MHC kompleksa

U odnosu na tkivnu distribuciju, ulogu u imunom odgovoru i biohemijski sastav, postoje dve klase molekula glavnog histokompatibilnog kompleksa, koje antigene predstavljaju dvema klasama T limfocita. Klasa I HLA antigena predstavlja antigene CD 8<sup>+</sup> T limfocitima dok HLA klase II, antigene predstavlja CD4<sup>+</sup> T limfocitima (176,177). Klasa I molekula MHC predstavlja na svojoj površini peptide endogenog porekla i stimuliše aktivnost CD8<sup>+</sup>

citotoksičnih T limfocita, dok klasa II molekula MHC predstavlja na svojoj površini peptide egzogenog porekla i stimuliše CD4<sup>+</sup> T helper limfocite (178). Razlika u prezentaciji antigena od strane molekula klase I i klase II MHC-a rezultat je razlike u načinu i mestu stvaranja peptida unutar ćelije (179, 180).



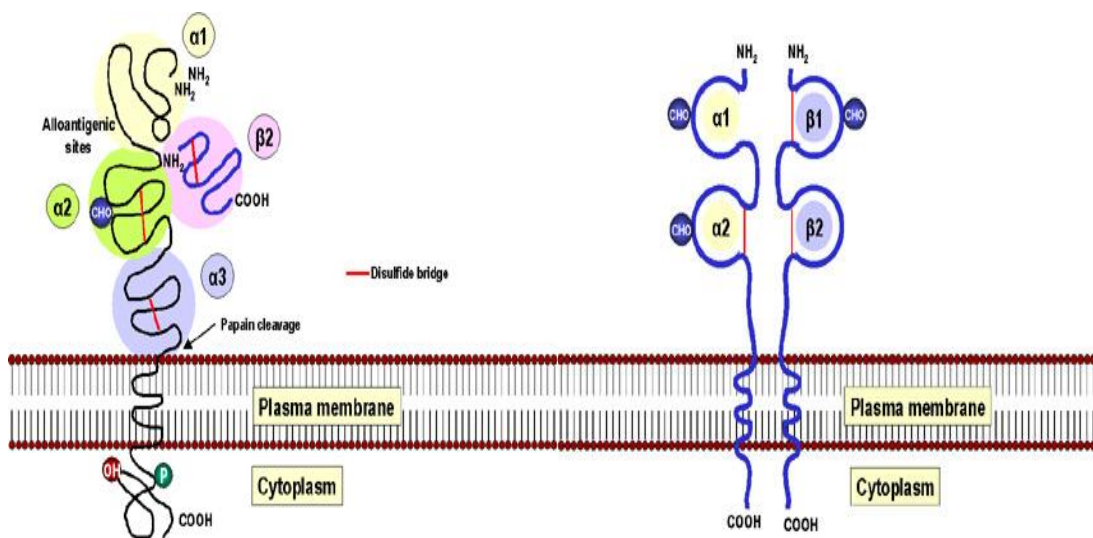
**Slika 8.** Prezentacija antigena molekulama MHC

Kako bi imuni sistem obavljao svoju funkciju on mora razlikovati sopstveno od stranog tkiva. Pošto geni MHC igraju ključnu ulogu u imunom sistemu oni su od značaja za otpornost odnosno sklonost prema infekcijama i razvoju autoimunih oboljenja. Uloga MHC u imunološkom odgovoru nije bila razjašnjena do 70-tih godina prošlog veka kada je utvrđeno da je imunološki odgovor posledica interakcije između MHC molekula i T limfocita što je kasnijim ispitivanjima prošireno i na komponente humoralnog imuniteta. Ćelije koje poseduju jedro na svojoj površini imaju oko 100000 molekula HLA klase I. Njihova uloga je da predstave antigene koji potiču iz ćelije (endogene antigene) citotoksičnim T limfocitima.

Molekuli klase II (MHC klase II) prisutni su na površini antigen prezentujućih ćelija imunog sistema kao što su dendritične ćelije, makrofagi i B limfociti. Njihova uloga je da predstave antigene koji su u ćeliju ušli endocitozom (egzogene antigene) T helper limfocitima. Ukoliko je ćelija inficirana virusom ili nekim drugim intracelularnim parazitom na njenoj površini biće prezentovan strani peptid porekla parazita a ne sopstveni. Citotoksični limfociti na svojoj površini pored T ćelijskog receptora kojim ostvaruju vezu sa MHC molekulama klase I na svojoj površini poseduju i CD8<sup>+</sup> adhezivne molekule koji stabilizuju interakciju između T limfocita i molekula MHC klase I. Uloga molekula klase II MHC je da predstave peptide T

helper limfocitima koji na svojoj površini poseduju  $CD4^+$  molekule koje stabilizuju interakciju između T helper limfocita i MHC klase II molekula. HLA molekul mora biti sposoban za vezivanje velikog broja različitih peptida, kako bi se obezbedio imuni odgovor protiv velikog broja patogena što je omogućeno postojanjem polimorfizma peptido-vezujućeg žleba molekule klase II koji dozvoljava ugradnju širokog spektra različitih peptida.

T limfociti zapravo ne prave razliku između sopstvenog i stranog tkiva. T limfociti koji prepoznaju sopstveno tkivo bivaju eliminisani ili inaktivisani tokom razvoja imunog sistema. Pre rođenja nezreli inaktivni T limfociti nastaju u koštanoj srži i potom migriraju u timus gde sazrevaju i podležu timusnoj selekciji (otuda naziv T limfociti). Unutar timusa dešava se masovna proliferacija T limfocita koji poseduju različite T ćelijske receptore. U timusu se eliminiše oko 95% T limfocita. Sazrevanju i ulasku u cirkulaciju podležu samo T limfociti koji prepoznaju sopstvene peptide MHC kompleksa (pozitivna selekcija), ispod praga aktivnosti. Oni koji se ne vežu iznad praga aktivnosti, bivaju eliminisani (negativna selekcija). Tako kroz timusnu selekciju MHC geni utiču na razvoj T ćelijskih receptora.



**Slika 9.** Struktura HLA molekula

Struktura MHC molekula otkrivena je X zračnom hromatografijom. Molekul klase I sastoji se od dva polipeptidna lanca, teškog  $\alpha$  i lakog  $\beta$ .  $\alpha$  lanac MHC klase I produkt je MHC gena dok  $\beta_2$  mikroglobulinski gen potiče sa 15. hromozoma i utiče na prelazak MHC molekule na površinu ćelije. Klasa II molekula MHC veoma je slične građe kao i klasa MHC I, sastoji se od dva lanca  $\alpha$  i  $\beta$  i oba su produkti MHC gena. Donji deo MHC molekule smešten je u ćelijskoj

membrane dok gornji deo sadrži mali žljeb koji predstavlja mesto vezivanja antigena. U žlebu se nalaze mali peptidi koje prepoznaju T limfociti.

Nastanak MHC molekula klase I dešava se u endoplazmatskom retikulumu (ER). Peptidi smešteni u samom endoplazmatskom retikulumu nisu u potpunosti podesni za aktivnost molekula MHC klase I. Zbog toga se ovi inicijalni peptidi zamenjuju pogodnijim peptidima a u procesu zamene učestvuje peptidni transportni kompleks (PLC- peptide loading complex) u čiji sastav kao jedna od važnijih komponenti ulazi TAP (transporter associated with antigen processing) kao i tapasin. Nedostatak tapasina utiče da neke, ali ne sve alele MHC kompleksa, koje imaju smanjenu aktivnost predstavljenu u vidu manjeg broja MHC molekula klase I na površini ćelije, imaju smanjenu stabilnost i smanjenu sposobnost prezentovanja određenih antigena T citotoksičnim limfocitima (181-184). Tapasin igra ključnu ulogu molekularnog mosta u formiranju PLC (185, 186, 187). Kalnexin ERp57 kao sastavna komponenta PLC učestvuje u oksidativnim procesima koji doprinose sintezi molekula MHC klase I (188). U nedostatku ERp57 na površini ćelije nalazi se manji broj molekula MHC klase I (189).

## **2.2. UDRUŽENOST HLA SA BOLESTIMA**

Pretpostavke o povezanosti HLA antigena i pojedinih bolesti nastale su kao rezultat zapažanja, da se karcinom želuca učestalije javlja u nosilaca krvne grupe A. Pored toga uočena je pojava nekih tipova leukemija u sprezi sa sistemom H-2 u visokosrodnih sojeva miševa (190). Lilly i Friend (191) su 1964. godine dokazali postojanje predispozicije miševa za virus Gross, koja je u zavisnosti od H-2 lokusa. Ispitivanjima u humanoj vrsti, zabeležena su odstupanja u učestalosti pojedinih antigena HLA sistema kod ispitivane bolesti u poređenju sa kontrolnim grupama zdravih osoba. Poslednjih godina brojnim istraživanjima pokazan je različit stepen povezanosti određenih HLA antigena, sa pojavom više od 500 bolesti (192).

Najveća povezanost uočena je kod: B27 i ankilozirajućeg spondilitisa (AS), Reiter-ove bolesti i akutnog prednjeg uveitisa (193,194), insulin zavisni dijabetes melitus i HLA DR4 (195), B35 i subakutnog tireoiditisa, HLA B5 i B18 kod bolesnika sa Hodgkinovom bolešću (196), A9, A11, A32 i B7 kod obolelih od svih vrsta leukemija (197). Kod obolelih od akutne mijeloblastne leukemije A32, B17 i B22 (198), a kod obolelih od akutnih leukemija, uočena je veća učestalost Cw3 i Cw4 (199). Kod autoimunih bolesti nađena je udruženost HLA Cw6 i psorijaze,

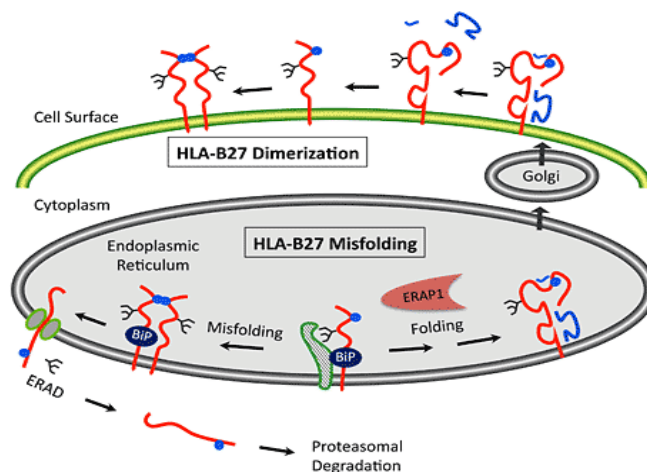
miastenije gravis i DR3, reumatidnog artritisa i DR4, celijakije i DQ2, multiple skleroze i DR2 i DQ6 (194). Ovo ukazuje na značaj HLA antigena u dijagnostici, prognozi i etiopatogenezi nekih bolesti.

### **2.3. HUMANI LEUKOCITNI ANTIGEN B-27 I UDRUŽENOST SA BOLESTIMA**

Inicijalno otkriće iz 1971. godine koje je definitivno potvrđeno tokom proteklih godina o povezanosti ankilozirajućeg spondilitisa (AS) i fenotipa HLA-B27 postala je osnova razmatranja veze između oboljenja i HLA gena (200).

Prepoznavanje HLA-B27 molekula od strane T citotoksičnih limfocita smatralo se centralnim događajem u nastanku ankilozirajućeg spondilitisa. Bitnu prekretnicu predstavljalo je otkriće da neke alele HLA-B27 nazvane B\*27:06 (Jugoistočna Azija) i B\*27:09 (Sardinija) nisu udružene sa Ankilozirajućim spondilitisom (201). Uočeno je da se fenotipovi koji nisu povezani sa AS, razlikuju od najrasprostranjenijeg fenotipa B\*27:05, u samo nekoliko aminokiselina koje ulaze u sastav peptid-vezujućeg žleba. B\*27:09 i B\*27:05 razlikuju se samo u pogledu jedne aminokiseline (asparagin- histidin).

Mada ova supstitucija nije direktno dostupna T ćelijskom receptoru (TCR) kao ni drugim receptora, smatra se da ima višestruki funkcionalni uticaj kao i na odgovor T limfocita (202). Ovo verovatno ima uticaja na konformaciju epitopa što je od značaja u timusnoj selekciji (203). Ova zapažanja preusmerila su istraživanja na svojstva antigenske prezentacije molekula HLA-B27. U endoplazmatskom retikulumu pronađena je endopeptidaza nazvana endopeptidaza 1 (ERAP1). Gen za *ERAP 1* udružen je sa AS samo kod HLA-B27 pozitivnih osoba (204).



**Slika 10.** Interakcija *ERAP1* i HLA B27 molekula

Uloga *ERAP1* je u skraćivanju polipeptida nakon njihove prethodne obrade proteolitičkim enzimima u cilju dobijanja polipeptidnog lanca od 8-9 aminokiselina pre nego što budu integrisani u molekulu MHC klase I. Značajno je da *ERAP1* pokazuje protektivnu funkciju u odnosu na AS u slučaju smanjene aktivnosti na skraćenje peptidnog lanca. Slični rezultati povezuju ERAP 1 sa psorijazom i Bečterevom bolešću (205,206).\_

HLA-B27 ima 12 podtipova koji se razlikuju u nekoliko aminokiselina unutar žleba za vezivanje peptida. B\*27:05 prisutan je gotovo u svim populacijama sveta, ali njegova učestalost varira među populacijama. Ovo ukazuje da bi B\*27:05 mogao biti HLA-B27 pod tip od koga nastaju svi ostali. Deo peptid vezujućeg žleba molekule HLA koji smešta aminokiselinski lanac u žleb naziva se džep B i predstavlja važno mesto vezivanja unutar molekula MHC klase I a posebno HLA-B27. Džep B pokazuje varijacije među različitim molekulima HLA-B27 ali je prisutan kod svih ispitanih subklasa molekula HLA-B27. Džep B molekule HLA-B27 prvenstveno vezuje peptide koji u svom lancu na poziciji dva poseduje arginin, ali to mogu biti i aminokiseline glutamin ili histidin. Polimorfizam HLA-B27 izvan džepa B može uticati na promenu strukture peptida vezanog za različite molekule klase HLA-B27. Ovo ukazuje da je vezivanje peptida u vezi sa pojavom oboljenja. Prihvaćeno je da  $CD8^+$  citotoksični limfociti reaguju sa artritogenim peptidima endogenog ili mikrobnog porekla koji su predstavljeni putem molekula HLA-B27 i na taj način utiču na patogenezu oboljenja. Ukoliko HLA-B27 ima ulogu antigen prezentujuće molekule udružene sa AS, svi podtipovi HLA-B27 za koje se zna da su

povezani sa AS moraju biti u mogućnosti da prezentuju isti peptid/peptide. Moguće je i da su različiti peptidi artritogeni u kontekstu različitih podtipova HLA-B27. Postoji značajna razlika u C terminalnom peptidu različitih podtipova HLA-B27 (207).

Smatra se da artritogeni peptidi koje prezentuju HLA-B27 molekuli povezani sa artropatijama, moraju imati tirozin u svom C terminalnom delu. Međutim zabeleženi su i podtipovi HLA-B27, B\*27:07 gde aminokiselina tirozin nije izolovana iz C terminalnog domena molekula a taj fenotip prisutan je u populaciji obolelih od artropatija u Aziji (208). Ipak to ne isključuje mogućnost da se neki mali peptid koji poseduje tirozin u poziciji 9 ne veže za ovaj podtip HLA-B27. Postoje dokazi da molekuli HLA I klase mogu predstaviti egzogene peptide (209).

### **2.3.1. Molekularna mimikrija**

Ideja da su crevni mikroorganizmi uključeni u etiopatogenezu AS zasnovana je na mogućnosti da crevne bakterije aktiviraju imuni odgovor HLA-B27<sup>+</sup> osoba na drugi način u odnosu na HLA-B27<sup>-</sup> osobe. Teorija molekularne mimikrije nudi najprihvatljivije objašnjenje o povezanosti HLA-B27 i bakterijske infekcije u patogenezi AS. Teorija se zasniva na činjenici da su sličnosti sopstvenih i stranih proteina česte (210). Ove sličnosti mogu biti posledica različitih uzroka koji mogu uticati na očuvanje mesta enzimske aktivnosti ili predstavljati put kojim patogeni mikroorganizmi izbegavaju imuni odgovor. Sličnosti između stranih i sopstvenih antigena mogu voditi do antigenima uslovljene unakrsne reakcije T i B limfocita i posledično autoimune bolesti.

Autoimune bolesti nastaju kada organizam razvije odgovor protiv sopstvenih antigena. Imuna tolerancija na sopstvene antigene razvija se i održava eliminacijom potencijalno autodestruktivnih limfocita tokom razvoja. Tokom procesa koji se naziva klonska delecija, sopstveni antigeni predstavljaju se T limfocitima u timusu. T limfociti koji prepoznaju sopstvene antigene eliminišu se apoptozom. Ipak postoje antigeni koji se nalaze samo u određenim tkivima i stoga T limfociti specifični za ove antigene ne mogu biti podvrgnuti deleciji u timusu. Mada dodatni mehanizmi inaktiviraju ove autoreaktivne T limfocite, određeni T limfociti izbegnu proces inaktivacije. Obično se autoimuni odgovor ne javlja pošto sopstveni peptidi nisu predstavljeni T limfocitima na odgovarajući način. Čak u određenim okolnostima bakterijski antigen koji oponaša sopstveni protein može aktivirati ove T limfocite i može se pojaviti autoimuni odgovor.



Molekularna mimikrija između bakterijskih mikroorganizama i HLA-B27 tradicionalno se razmatra sa aspekta unakrsno reagujućih antitela. Kratke sekvence HLA-B27 prisutne su u artritogenim bakterijama i predstavljaju mesta na koja deluju antitela unakrsne aktivnosti. Postoje i pretpostavke koje u prvi plan stavljaju celularni u odnosu na humorlani imunitet. Neke od ovih teorija pretpostavljaju da bolest izazivaju T citotoksični limfociti usmereni protiv peptida endogenog ili egzogenog porekla predstavljenih putem HLA-B27 a koji se nalaze u zglobovima obolelih. Druga teorija pretpostavlja da bolest nastaje kao posledica prezentacije peptida HLA-B27 CD4<sup>+</sup> T limfocitima koji su prethodno aktivirani bakterijskom infekcijom, a preko molekula MHC klase II (211).

Teorija “artritogenih peptida” zasnovana je na modelu molekularne mimikrije i pretpostavci o postojanju bakterijskih peptida koji pokazuju unakrsnu reakciju sa sopstvenim peptidima nastalim u zglobovima domaćina. Potencijalno artritogeni peptidi mogu biti prezentovani putem HLA-B27 molekulama CD 8<sup>+</sup> T limfocitima koji posreduju u imunološkom odgovoru. Udruženost i odsustvo udruženosti različitih podtipova HLA-B27 sa oboljenjem može biti povezano sa razlikom u vezivanju, a time i različitom tolerancijom prema artritogenim peptidima. Zapravo T citotoksični limfociti ograničeni na HLA-B27, prisutni su u zglobovima obolelih od AS i reaktivnog artritisa (209). T citotoksični limfociti koji deluju na antigene peptide kolagena tipa II, predstavljene preko molekula HLA-B27 izolovani su kod osoba obolelih od reaktivnog artritisa (212).

Ukoliko je ograničeni broj peptida uključen u otpočinjanje oboljenja, tada bi i ograničen broj određenih monoklonalnih T limfocita trebao da bude uključen u ovaj proces. Analiza receptora T citotoksičnih limfocita izolovanih iz sinovijalnog infiltrata, nije potvrdila monoklonalno poreklo prisutnih T limfocita ali je dokazana određena sličnost u strukturi *complementarity-determining region 3-CDR3* regiona receptora ovih T limfocita (213). Ovo ukazuje da se određeni receptori T limfocita mogu vezati samo za određene peptide i da struktura TCR (T ćeliskog receptora), različita od uobičajene, utiče na prepoznavanje samo određenih peptida (211). Genetskim inženjeringom kojim su pacovima prenešene višestruke kopije humanog gena HLA-B27 pokazana je kod ovih životinja pojava sličnih simptoma koji se inače javljaju u humanoj populaciji među obolelima od određenih bolesti koje se dovode u vezu sa molekulom HLA-B27, čime je potvrđeno da HLA-B27 ima ulogu antigen prezentujuće ćelije.

Ovaj model inicijalno su stvorili Taurog i saradnici a njihovi rezultati višestruko su potvrđeni u mnogim studijama (214-218).

Kako bi se ispitala ćelijska osnova bolesti, matične ćelije koštane srži životinja podvrgnutih genetskom inženjeringu, transplantirane su zdravim, prethodno ozračenim pacovima, podeljenim u dve grupe: pacovi podvrgnuti genetskom inženjeringu i oni koji to nisu. Prenos čistih CD 4<sup>+</sup> T limfocita koji potiču od pacova podvrgnutih genetskom inženjeringu, sa preduslovom za razvoj bolesti, pokazao se kao najefikasniji induktor oboljenja kao i u slučaju prenosa CD8<sup>+</sup> T limfocita. Ekspresija HLA-B27 u ćelijama kostne srži pacova recipijenta, ukoliko je izvršen samo prenos molekule HLA-B27, nedovoljan je za razvoj bolesti. Ovaj model takođe potvrđuje značaj bakterijske infekcije u patogenezi spondiloartropatija, pošto pacovi odgajani u sterilnoj sredini nisu imali infekciju gastrointestinalnog trakta kao ni spondiloartropatiju. Genetkim inženjeringom modifikovani pacovi sa mutacijom (zamenom) cistein- serotonin na nivou B džepa molekule B\*27:05, razvijaju teško gastroenterološko oboljenje ali imaju upadljivo manju sklonost za artritis. Ovo ukazuje da različiti molekularni događaji mogu uticati na patogenezu gastrointestinalnih i zglobnih oboljenja kod HLA- B27<sup>+</sup> pacova (218). Jedan od modela artritogenih peptida predpostavlja da auto peptid koji vodi poreklo od  $\alpha_2$  lanca molekule HLA- B27 može biti i sam predstavljen preko molekule HLA-B27 a da je pri tome sličan peptidu artritogene bakterije. Molekula HLA-B27 deli aminokiselinske sekvence sa artritogenim bakterijama češće nego što je to slučaj sa ostalim molekulama B klase. Nanopeptidi dobijeni iz B\*27:05, pokazuju homologiju sa nekim crevnim organizmima i mogu biti i sami predstavljeni putem molekule HLA-B27 pacova (219). Molekul iz HLA-B27, koji je u bliskom odnosu sa ovim nanopeptidom, predstavljen je i preko nekoliko potklasa molekula HLA-B27 koji nisu povezani sa AS, kao što je B\*27:06 (220). Ovo može biti objašnjeno ukoliko B\*27:06 ne predstavlja adekvatno ovaj peptid u slučaju njegove prethodne izmene pod uticajem proteolitičkih enzima. I antitela i citotoksični limfociti imaju uticaj na aktivnost HLA-B27 molekule na površini ćelije određenih tkiva koja mogu biti prepoznata od strane antitela ili TCR.

### **2.3.2. HLA-B27 imitira molekulu MHC klase II**

Zamena mišijeg  $\beta_2m$  lanca humanim, dovodi do razvoja artritisa ukoliko se životinja ukloni iz sterilne sredine. Prema ovom modelu, 10-50% molekula HLA-B27 u prisustvu humanog  $\beta_2m$  pojavljuje se kao slobodan teški lanac, a ne preuzima ulogu koju  $\beta_2m$  inače ima

kod miša. Ovaj model pretpostavlja da slobodan teški lanac HLA-B27 može imati više sličnosti sa molekulom klase II glavnog histokompatibilnog kompleksa nego sa molekulom MHC klase I. Teški lanac molekule HLA-B27 može vezati homodimer koji može imitirati molekulu klase II glavnog histokompatibilnog kompleksa sposobnu da aktivira CD 4<sup>+</sup> T limfocite koji mogu biti uključeni u inicijaciju bolesti (221).

Slobodni molekuli HLA-B27 potom se vezuju malim afinitetom za peptide zglobova što dovodi do aktiviranja samo reagujućih CD4<sup>+</sup> T limfocita. Periferni autoreaktivni T limfociti, mogu prepoznati bakterijske antigene slične proteinima zglobova, i kada su jednom aktivirani ovi T limociti odlaze u zglobove i uzrokuju bolest. Aktivacija CD4<sup>+</sup> T limfocita putem teškog lanca molekule HLA-B27 može objasniti zašto se CD4<sup>+</sup> limfociti specifični za određene bakterijske infekcije mogu naći u zahvaćenim tkivima obolelih od AS, što je potvrđeno u istraživanju Khare-a i saradnika (222).

### **2.3.3. MHC klase II prezentuje peptide dobijene iz HLA-B27**

HLA -B27 i drugi peptidi dobijeni iz klase I MHC molekula, često su predstavljeni putem molekula klase II, čime bi i ovaj fenomen mogao doprineti samoprepoznavanju. Ovo vodi pretpostavci da molekuli MHC klase II, prezentuju peptide koji potiču iz HLA-B27, CD4<sup>+</sup> T limfocitima, koji su prethodno aktivirani bakterijskm antigenom, posledično aktivirajući autoimunitet. Mada su HLA-B27 CD8<sup>+</sup> ograničeni molekuli pronađeni u sinovijalnoj tečnosti obolelih od reaktivnog artritisa i AS, više je dokaza koji ukazuju na dominantnu ulogu CD4<sup>+</sup> u odnosu na CD8<sup>+</sup> T limfocite u nastanku spondiloartropatija. CD4<sup>+</sup> limfociti prisutni su u sinovijalnoj tečnosti obolelih od reaktivnog artritisa i u obolelim zglobovima osoba sa AS. CD4<sup>+</sup> T limfocitima pokrenuta bolest u skladu je sa očekivanim odgovorom na ekstracelularne bakterije. Prezentacija peptida HLA-B27 preko molekula klase II, CD4<sup>+</sup> T limfocitima, može aktivirati T helper limfocite tipa 1 (Th1) koji su uključeni u celularni imuni odgovor i T helper 2 limfocite (Th2) koji posreduju u stvaranju antitela (223). Ovo bi moglo objasniti inflamatornu prirodu bolesti i prisustvo antibakterijskih antitela koja unakrsno reaguju sa HLA-B27. Bitna tačka koju treba razjasniti kod ovog modela je odsustvo oboljenja udruženo sa određenim podtipovima MHC klase II, kao što su (DP,DQ ili DR). Jedno od mogućih objašnjenja je da se peptidi izvedeni iz HLA-B27 u velikom broju vezuju za DR antigene MHC klase II. Ovo je

podržano činjenicom da su peptidi izvedeni iz klase I MHC molekula, jedni od najčeće zastupljenih na molekulama HLA-DR i pokazuju veliku moć vezivanja za različite molekule klase HLA-DR. Ova teorija poznata je pod nazivom teorija promiskuitetnih peptida (224). Hipoteza o predstavljanju peptida izvedenih iz molekula klase I preko molekula MHC klase II, veoma je značajna u razmatranju povezanosti oboljenja i molekule HLA-B27. Tako u određenim slučajevima uvećanja kod životinja, peptidi izolovani iz retine obolele životinje nalaze se i u molekulu B\*27:05 i prezentovani su putem molekula MHC klase II (225). Fagocitoza *Yersinia enterocolitica* može uticati na serološku izmenu epitopa molekule HLAB-27 i samim tim uticati na izmenu ekspresije same molekule HLA-B27 (226). Ovo može narušiti aktivnost T limfocita i eliminaciju artritogenih bakterija. Oksidacija i posledična promena peptid vezujućeg žleba može uticati na promenu vezivanja i prezentaciju peptida putem molekule HLA-B27, nakon čega može uslediti artritogeni odgovor citotoksičnih T limfocita. Dokazi za ovu teoriju peonađeni su u homocisteinom tretiranim ćelijama koje su izrazito lizirane T limfocitima izolovanih od obolelih od AS i reaktivnog artritisa (227). Visoko reaktivna sulfhidrilna grupa homocisteina može se vezati za cistein 67. Kako je homocistein metabolički produkt bakterija, moguće je da tokom bakterijske infekcije dolazi do promene molekule HLA-B27, vodeći autoimunom odgovoru domaćina (211). Artritogene bakterije kao što su *Yersinia enterocolitica* i *Salmonela*, mogu izazvati spajanje molekula HLA-B27 i time produkciju solubilnih formi HLA-B27. Imunoregulatorni efekti prisustva solubilnih formi HLA-B27 još nisu razmatrani ali bi oni mogli imati efekte slične solubilnim formama drugih molekula klase I (228-230).

## **3. SERONEGATIVNE SPONDILOARTROPATIJE**

### **3.1. Spondiloartropatije**

Spondiloartropatije (SpA) predstavljaju inflamatorne bolesti koštano-zglobnog sistema, povezane sa ekstraartikularnim manifestacijama poput dijareje ili urinarne infekcije. Većina obolelih ima HLA-B27 antigen i negativan Reumatoidni faktor (RF). U grupu seronegativnih spondiloartropatija se ubrajaju: Ankilozirajući spondilitis (AS), Reaktivni artritis (RA), Artritis/Spondilitis udružen sa psorijazom (PsA) i Artritis/Spondilitis udružen sa inflamatornim bolestima creva (Inflammatory bowel disease- IBD). Veća učestalost seronegativnih spondiloartropatija među osobama koje imaju HLA-B27 antigen predstavlja polaznu osnovu stanovišta da genetski faktori u kombinaciji sa faktorima sredine utiču na pojavu seronegativnih spondiloartropatija u genetski predisponiranih individua. HLA-B27 antigen je pozitivan u 90% obolelih od Ankilozirajućeg spondilitisa, 80% obolelih od Reaktivnog artritisa, 40% obolelih od Artritisa/Spondilitisa udruženog sa psorijazom i 30% obolelih od Artritisa/Spondilitisa udruženog sa inflamatornim bolestima creva (230, 231).

### **3.2. PROCENA SERONEGATIVNIH ARTRITISA**

Anamneza i fizikalni pregled omogućavaju i razjašnjavaju dijagnozu kod većine pacijenata sa seronegativnim artritisa. Potvrda dijagnoze dobija se na osnovu laboratorijskih analiza i radiološke dijagnostike. Danas postoje novi kriterijumi procene spondiloartropatija (novi ASAS-Assessment of SpondyloArthritis international Society kriterijumi) na osnovu kojih se seronegativne spondiloartropatije dele u “aksijalne” i “periferne” inflamatorne artritise, a koji se u dijagnostici spondiloartropatija ne oslanjaju samo na radiološke promene na kičmenom stubu i sakroilijačnom zglobu (232-235). Studije su pokazale povećanu incidencu spondiloartropatija primenom novih ASAS kriterijuma, pri čemu je samo deo pacijenata imao radiološke znake bolesti (236-238).

### 3.3. Karakteristike spondiloartropatija

-Ankilozirajući spondilitis javlja se kod pacijenata starosti između 20. i 30. godine života, odnos oboljevanja muškog i ženskog pola je 3:1. Pokazuje genetsku predispoziciju i HLA-B27 pozitivnost u 90% obolelih. Klinički se manifestuje asimetričnim artritisom donjih ekstremiteta, simetričnim sakroileitisom diskretnim sindezmoftima u lumbalanom i donjem delu torakalne kičme. Uveitis se javlja povremeno, dok entezitis i daktilitis nisu uobičajeni. Druge ekstraartikularne manifestacije su aortna regurgitacija, poremećaji srčanog provođenja, fibroza gornjih partija pluća, IgA nefropatija.

-Reaktivni artritis javlja se između 20. i 30. godine života, odnos oboljevanja muškaraca i žena je 5:1. Pokazuje genetsku predispoziciju, fenotip HLA-B27 pozitivan je u 80% slučajeva. Klinički se manifestuje asimetričnim artritisom donjih ekstremiteta, asimetričnim sakroileitisom i izraženim sindezmoftima. Uveitis, entezitis i daktilitis su česti. Kožne promene su česte a druge ekstraartikularne manifestacije podrazumevaju aortnu regurgitaciju.

-Psorijatični artritis javlja se kod pacijenata između 35. i 45. godine života, podjednako je zastupljen u oba pola. Pokazuje porodičnu prisutnost a HLA-B27 pozitivnost javlja se u 40% obolelih. Može zahvatiti bilo koji periferni zglobov uz asimetrični sakroileitis. Izraženi sindezmofti obično su prisutni u cervikalnom delu kičme. Uveitis se javlja povremeno, dok su entezitis i daktilitis česti. Dermatološke manifestacije uključuju psorijazu, dok u ostale ekstraartikularne manifestacije spada aortna regurgitacija.

-Enteropatični artritis može se pojaviti u bilo kom životnom dobu, ima podjednaku polnu zastupljenost. Pokazuje porodičnu agregabilnost, fenotip HLA-B27 zastupljen je kod 30% obolelih. Klinički se manifestuje asimetričnim artritisom donjih ekstremiteta simetričnim sakroileitisom, slabo izraženim marginalnim sindezmoftima, entezitis je redak, daktilitis se ne javlja, dok se uveitis javlja retko. Dermatološke manifestacije kao što su Erythema nodosum i Pyoderma gangrenosum, kao i aortna regurgitacija se javljaju.

### 3.4 Dijagnostički testovi

Nespecifični dijagnostički testovi:

-Krvna slika, analiza urina, CRP, sedimentacija eritrocita. RTG snimak srca i pluća može biti od koristi u slučaju sumnje na tuberkulozu ili sarkoidozu.

-Anti CCP antitela (antitela na ciklični citrulisani peptid) mogu biti prisutna kod pacijenata sa simetričnim poliartritisom. Iako su ova antitela visoko specifična za Reumatoidni artritis, mogu biti pozitivna kod artritisa udruženog sa psorijazom i ukazivati na težu prognozu (239, 240).

### **3.4.1. Spondiloartropatije, dijagnostički aspekt:**

-Određivanje fenotipa HLA-B27 samo za sebe nije od koristi jer pokazuje malu prediktivnu vrednost u opštoj populaciji (231). Ipak u kombinaciji sa kliničkim i radiološkim nalazima, pozitivan fenotip HLA B27 povećava verovatnoću spondiloartropatije (241, 242).

-Radiološki nalazi mogu biti od koristi, ali u ranom stadijumu bolesti promene koje se očekuju često nisu detektabilne, što limitira pouzdanost radiološke metode u otkrivanju spondiloartropatije u ranom stadijumu (243,244). Karakteristika spondiloartropatije je zahvaćenost kičmenog stuba. Sindezmozofiti i znaci sakroileitisa mogu se videti. Kod pacijenata sa psorijatičnim artritisom mogu se radiološki videti uzgredne erozije koje se suštinski ne mogu razlikovati od onih koje se javljaju kod reumatoidnog artritisa. Ipak asimetrična zahvaćenost zglobova pre ukazuje na seronegativni artritis nego na reumatoidni artritis (245).

-MRI karlice može otkriti inflamaciju sakroilijačnog zgloba (246, 247)

-Ultrasonografski pregled zglobova je senzitivniji u otkrivanju znakova sinovitisa i entezitisa u odnosu na fizikalni pregled. Može igrati ulogu u ranom otkrivanju inflamacije kod artropatije (243, 248) i može otkriti erozije kao i znake periostitisa (248).

## 4. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U okviru istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji će se istražiti i definisati:

1. Utvrditi učestalost nesekretora i sekretora ABO krvnogrupne supstance, ABO i Lewis fenotipa u grupi obolelih od seronegativnih spondiloartropatija i izvršiti poređenje rezultata u odnosu na grupu zdravih ispitanika
2. Utvrditi distribuciju sekrecije i nesekrecije ABO krvnogrupne supstance, ABO i Lewis fenotipa u odnosu na HLA-B27 antigen kod obolelih od seronegativnih spondiloartropatija;
3. Utvrditi gubitak Le<sup>b</sup> i/ili Le<sup>a</sup> antigena na eritrocitima obolelih od seronegativnih spondiloartropatija (nesekretora i sekretora ABO krvnogrupne supstance) i promenu Lewis fenotipa na eritrocitima u odnosu na sekreciju ABO krvnogrupne supstance u pljuvački.



## 5. HIPOTEZE

U ovoj doktorskoj disertaciji u istraživanjima se pošlo od sledećih hipoteza:

1. Postoji značajno veći broj nesekretora ABO krvnogrupne supstance u obolelih od seronegativnih spondiloartropatija u odnosu na zdrave ispitanke;
2. Postoji značajno veća učestalost nesekretora ABO krvnogrupne supstance u obolelih od seronegativnih spondiloartropatija sa negativnim HLA-B27 antigenom;
3. U obolelih od seronegativnih spondiloartropatija dolazi do gubitka Le<sup>b</sup> i/ili Le<sup>a</sup> antigena i promene Lewis fenotipa na eritrocitima u odnosu na sekretorni status u pljuvački.

## 6. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno u vidu prospektivne longitudinalne studije, u Zavodu za Transfuziju krvi Vojvodine u Novom Sadu. Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 213 ispitanika. Ispitanici su bili podeljeni u dve grupe. Prvu odnosno kontrolnu grupu sačinjavalo je 103 zdrava ispitanika (nasumično odabrani dobrovoljni davaoci krvi) iz Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine, sa odsustvom tegoba karakterističnih za spondiloartropatije. Drugu, odnosno grupu obolelih ispitanika činilo je 110 osoba sa dijagnozom oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija ambulantno upućenih u Zavod za transfuziju krvi Vojvodine radi određivanja HLA-B27 antigena, iz referentnih zdravstvenih ustanova sa teritorije Vojvodine: Specijalna bolnica za Reumatske bolesti Novi Sad, Klinički Centar Vojvodine, Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine.

Od ukupno 110 ispitanika u grupi obolelih 8 ispitanika imalo je postavljenu dijagnozu ankilozirajućeg spondilitisa, 12 ispitanika imalo je dijagnozu reaktivnog artritisa, 5 ispitanika bolesne populacije imalo je artritis udružen sa psorijazom, tri ispitanika bolesne populacije pripadalo je ispitanicima sa dijagnozom artritisa udruženog sa inflamatornim bolestima creva dok je kod čak 82 ispitanika postavljena dijagnoza nediferentovane spondiloartropatije, koja se takođe ubraja u grupu seronegativnih spondiloartropatija (249). Naziv "nediferentovane spondiloartropatije" predložen je za grupu bolesti koje po simptomima i znacima upućuju na spondiloartropatiju (artritis perifernih zglobova - pretežno donjih ekstremiteta, entezitis, sakroiliitis, daktilitis, iritis, ali ne ispunjavaju dijagnostičke kriterijume ni za jednu od njih (250, 251).

### 6.1. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje

Kriterijumi za uključivanje u ispitivanje (zdravi ispitanici):

- 1) Zdravi ispitanici bez dijagnoze oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija
- 2) Starosti šest i više godina, bez gornje starosne granice
- 3) Oba pola
- 4) Da nisu primali transfuziju krvi u poslednja tri meseca
- 5) Da pre uzimanja pljuvačke u poslednjih sat vremena, nisu konzumirali hranu, napitke niti su pušili

Kriterijumi za isključivanje iz ispitivanja (zdravi ispitanici):

- 1) Ispitanici koji ne žele svojevolumno da učestvuju u istraživanju i da daju uzorak pljuvačke i krvi
- 2) Deca starosti do šest godina života
- 3) Osobe koje su primale krv u poslednja tri meseca
- 4) Trudnice

Kriterijumi za uključivanje u ispitivanje (oboleli):

- 1) Pacijenti sa diganozom oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija upućeni da im se izvrši testiranje HLA-B27 antigena
- 2) Starosti šest godina i više, bez gornje starosne granice
- 3) Oba pola
- 4) Da nisu primali transfuziju krvi u poslednja tri meseca
- 5) Da pre uzimanja pljuvačke u poslednjih sat vremena nisu konzumirali hranu, napitke niti su pušili
- 6) Sa nalazom fenotipa HLA-B27

Kriterijumi za isključivanje iz ispitivanja (oboleli):

- 1) osobe kojima nije postavljena dijagnoza seronegativnih spondiloartropatija
- 2) ispitanici koji ne žele svojevolumno da učestvuju u istraživanju i da daju uzorak pljuvačke i krvi
- 3) deca starosti do šest godina života
- 4) osobe koje su primale krv u poslednja tri meseca
- 5) trudnice

U okviru istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji su primenjene sledeće metode:

Ispitivanje u okviru studije je sprovedeno prema sledećem protokolu:

- 1) Uzimanje uzoraka krvi i pljuvačke od ispitanika (zdravi, bolesni)
- 2) Određivanje fenotipa ABO krvnogrupnog sistema na eritrocitima
- 3) Određivanje fenotipa Lewis krvnogrupnog sistema na eritrocitima
- 4) Određivanje sekretornog statusa testom inhibicije hemaglutinacije pljuvačke
- 5) Evaluacija i interpretacija rezultata.

Svim pacijentima i ispitanicima kontrolne grupe zdravih će se iz uzorka pljuvačke i krvi vršiti utvrđivanje sekretornog statusa. Utvrđivanje sekretornog statusa podrazumeva sledeće analize:

- 1) Određivanje fenotipa ABO krvnogrupnog sistema na eritrocitima, određivanje fenotipa Lewis krvnogrupnog sistema na eritrocitima, primenom standardne tehnike aglutinacije
- 2) Test inhibicije hemaglutinacije pljuvačke.

## **6.2. UTVRĐIVANJE SEKRETORNOG STATUSA**

### **TEST INHIBICIJE HEMAGLUTINACIJE IZ PLJUVAČKE**

#### **PRINCIP**

Oko 80% stanovništva ima gen koji determiniše sekretorstvo (Se). Ovi ljudi luče krvno grupne supstance rastvorljive u vodi u njihovoj pljuvački i drugim telesnim tečnostima. Pripadnici krvne grupe A luče A supstance i malu količinu prekursorne supstance H, pripadnici krvne grupe B luče B (i B i H) supstance, pripadnici krvne grupe O luče samo H supstancu i pripadnici krvne grupe AB luče A, B, i male količine H supstanci. Da bi se utvrdilo da li je osoba sekretor, koristi se test inhibicije hemaglutinacije, gde prisustvo aglutinacije znači negativan test, a odsustvo aglutinacije se tumači kao pozitivan rezultat.

Deo I - Neutralizacija antitela :

Pljuvačka u odgovarajućem razređenju (1:10) se pomeša sa komercijalnim antiserumima (anti-A, anti- B ili anti-H) i kratko inkubira. Ako je pacijent/ispitanik sekretor, rastvorljivi antigeni krvnih grupa u pljuvački reaguju sa antitelima u komercijalnim antiserumima i neutrališu ih. Neophodno je da se pljuvačka razblaži i u odgovarajućem odnosu sa komercijalnim antiserumom koji takođe mora biti razređen u odnosu na titar proizvođača kako bi odgovarao nivou antigena u pljuvački. Na primer, ako je titar u serumu 1:128, test serum je potrebno razrediti na nivo 1:10 ili 1:8, ( $128:8=16$ ), tj. 16 puta. Razblaženje 1:16 se pravi uzimanjem jedne kapi antiseruma razređenja 1:128 i 15 kapi fiziološkog rastvora.

Deo II - Inhibicija aglutinacije:

Kada se dodaju eritrociti odgovarajuće krvne grupe u smešu, ne bi trebalo da postoje slobodna

antitela koja bi ih aglutinisala ako je pacijent/ispitanik sekretor, jer su antitela već reagovala u prethodnoj fazi sa antigenima krvnih grupa u pljuvački. Reakcija će biti negativna u smislu aglutinacije, ali se tumači kao pozitivna za sekretor status. Ako je pacijent/ispitanik nesekretor, neće biti krvnogrupne supstance i antigena grupe u pljuvački, antitela u antiserumima neće biti neutralisana i biće slobodna da reaguju kada se dodaju eritrociti. Dakle, prisutna aglutinacija je negativan test za sekretorni status.

Potrebni reagensi, oprema i potrošni materijal

- čista epruveta za uzorak pljuvačke 16 x 100 mm
- nastavci za pipete
- posuda za kuvanje pljuvačke
- epruvete promera 12 x 75 mm
- flomaster za oboležavanje
- antiserumi anti-A, anti-B razređeni da daju jačinu reakcije 2 +
- test eritrociti krvne grupe A1 i B
- labofuga
- svetlosni mikroskop

## PROCEDURA

1. Prikupiti 2 do 3 ml pljuvačke ispitanika u čistu epruvetu promera 16 x 100 mm
  2. Epruvetu sa pljuvačkom staviti u ključalu vodu 10 minuta radi deaktiviranja enzima koji inače uništavaju krvnogrupnu supstancu
  3. Ostavite da se ohladi na kratko, a zatim sadržaj prebaciti u epruvetu promera 12 x 75 mm
  4. Centrifugirati najmanje 5 minuta
  5. Obeležiti četiri epruvete promera 12 x 75 mm brojevima od 1-4 (epruvete 1. i 3. su kontrolne a epruvete 2. i 4. su test
- U epruvetu 1. uliti 1 kap fiziološkog rastvora + jednu kap anti-A razblaženog antiseruma.
  - U epruvetu 2. uliti 1 kap razblažene pljuvačke + jednu kap anti-A razblaženog antiseruma
  - U epruvetu 3. uliti 1 kap fiziološkog rastvora + jednu kap anti-B razblaženog antiseruma

- U epruvetu 4. uliti 1 kap razblažene pljuvačke + jednu kap anti-B razblaženog antiseruma
- 6. Sve epruvete protresemo i ostavimo da stoje 20 minuta na sobnoj temperaturi
- 7. Posle inkubacije od 20 minuta dodajemo 2-5% suspenziju eritrocita i to u epruvete 1. i 2. eritrocite A1 krvne grupe a u 3. i 4. eritrocite B krvne grupe
- 8. Sve epruvete protresemo i centrifugiramo na 1000-1500 obrtaja u minuti.

### 6.2.1. TUMAČENJE I INTERPRETACIJA REZULTATA

K	A	K	B	
1.	2.	3.	4.	
+	+	+	+	osoba je O krvne grupe ili nesekretor
+	∅	+	+	osoba je sekretor A supstance
+	+	+	∅	osoba je sekretor B supstance
+	∅	+	∅	osoba je sekretor i A i B supstance

Pri tumačenju ovih rezultata važno je voditi računa o jačini aglutinacije u kontrolama i testu. Ako je u kontroli aglutinacija ++++ a u testu ++, to ukazuje na postojanje inhibicije hemaglutinacije.

### 6.3. ODREĐIVANJE LEWIS FENOTIPA NA ERITROCITIMA PRINCIP

Antigeni Lewis krvnogrupnog sistema nisu sastavni deo eritrocitne membrane već u ljudi koji imaju Lewis (*Le*) gen proizvode Lewis antigene koje prenose supstance u plazmi i apsorbuju se na eritrocitima. Lewis<sup>a</sup> se inicijalno formira, a ako je osoba nesekretor (nedostaje *Se* gen), Lewis supstanca se apsorbuje na eritrocite u kom slučaju je fenotip osobe Lewis<sup>a</sup>. Ako je osoba sekretor, gen za sekretorstvo *Se* aktivira *H* gen koji izaziva formiranje dodatnog ugljenohidratnog nastavka koji se dodaje na Lewisa supstancu, pretvarajući je u Lewis<sup>b</sup>. I Lewis<sup>a</sup> i Lewis<sup>b</sup> su prisutni u plazmi sekretora, ali se Lewis<sup>b</sup> apsorbuje prvenstveno na eritrocite, pri čemu je fenotip osobe Lewis<sup>b</sup>.

Potrebni reagensi, oprema i potrošni materijal

- epruvete promera 12 x 75 mm i stalak za epruvete
- flomaster za oboležavanje

- fiziološki rastvor
- antiserum anti- Le<sup>a</sup> i anti- Le<sup>b</sup>
- labofuga
- svetlosni mikroskop

#### UZORAK

Eritrociti iz uzorka periferne krvi uzete u epruvetu sa antikoagulanom (EDTA ili heparin) mogu da se koriste za tetstiranje u roku od 2 dana od dana uzorkovanja. Koagulisana puna krv može se testirati do 14 dana od vremena uzimanja uzorka.

#### POSTUPAK

1. Obeležiti epruvete promera 12 x 75 mm imenom pacijenta/ispitanika i dodati 2-3 kapi ispitivanih eritrocita.
2. Oprati eritrocite ispitanika 4 puta u fiziološkom rastvoru.
3. Posle četvrtog pranja, promešati eritrocite do gustine suspenzije od oko 3%.
4. Obeležiti šest epruveta promera 12 x 75 mm imenom pacijenta/ispitanika i oznakama:
  - na 1. pored imena ispitanika i Le<sup>a</sup>
  - na 2. pored imena ispitanika i Le<sup>b</sup>
  - na 3. pored imena ispitanika i Le<sup>a</sup> POZITIVNA KONTROLA
  - na 4. pored imena ispitanika i Le<sup>a</sup> NEGATIVNA KONTROLA
  - na 5. pored imena ispitanika i Le<sup>b</sup> POZITIVNA KONTROLA
  - na 6. pored imena ispitanika i Le<sup>b</sup> NEGATIVNA KONTROLA
5. Ukapati po jednu kap anti-Le<sup>a</sup> antiseruma u sve Le<sup>a</sup> epruvete i po jednu kap anti-Le<sup>b</sup> antiseruma u sve Le<sup>b</sup> epruvete
6. Ukapati po jednu kap 4 puta opranih eritrocita ispitanika u epruvetu označenu za ispitanika
7. Ukapati kontrolne eritrocite:
  - po jednu kap eritrocita pozitivnih za Le<sup>a</sup> u epruvetu označenu sa Le<sup>a</sup> POZITIVNA KONTROLA
  - po jednu kap eritrocita negativnih za Le<sup>a</sup> u epruvetu označenu sa Le<sup>a</sup> NEGATIVNA KONTROLA
  - po jednu kap eritrocita pozitivnih za Le<sup>b</sup> u epruvetu označenu sa Le<sup>b</sup> POZITIVNA KONTROLA
  - po jednu kap eritrocita negativnih za Le<sup>b</sup> u epruvetu označenu sa Le<sup>b</sup> NEGATIVNA

## KONTROLA

Eritrocite za negativne i pozitivne kontrole odgovarajućeg fenotipa obezbediti iz panela eritrocita sa poznatim fenotipom  $Le^a$  i  $Le^b$ .

8. Protresti lagano sve epruvete i inkubirati na sobnoj temperaturi 5-10 minuta
9. Centrifugirati na 1000-1500 obrtaja u epruveti
10. Lagano protresti i ispitivati prisustvo aglutinacije pod svetlosnim mikroskopom
11. Očitati rezultate, označiti prisustvo i jačinu aglutinacije i zabeležiti rezultate na radnoj listi.

### 6.3.1. TUMAČENJE I INTERPRETACIJA REZULTATA

Ukoliko osoba ima gen *Lewis*, on ili ona će imati fenotip ili  $Lewis^a$  pozitivan i  $Lewis^b$  negativan ili  $Lewis^a$  negativan i  $Lewis^b$  pozitivan. Ta osoba neće biti pozitivna za oba antigena. Osobe sa *Lewis* genom i genom za sekretorstvo (*Se*), imaće fenotip  $Lewis^a$  negativan i  $Lewis^b$  pozitivan. Osobe sa *Lewis* genom a bez gena za sekretorstvo (*Se*), imaće fenotip  $Lewis^a$  pozitivan i  $Lewis^b$  negativan. Ukoliko osoba nema *Lewis* gen, on ili ona će imati fenotip  $Lewis^a$  negativan i  $Lewis^b$  negativan, bez obzira na sekretorni status.

## 6.4. ODREĐIVANJE FENOTIPA ABO KRVNOGRUPNOG SISTEMA NA ERITROCITIMA

Radi pravilne interpretacije sekretornog statusa ispitanika, potrebno je poznavanje i njegove krvne grupe u ABO sistemu. Određivanje ABO krvne grupe metodom aglutinacije u epruveti vršiće se ispitanicima koji do sada nemaju određenu krvnu grupu ili je ne znaju a onima koji je znaju i ranije im je određivana, vršiće se provera krvne grupe metodom aglutinacije na pločici.

### PRINCIP

Za ispitivanje krvnih grupa u tečnom mediju upotrebljavaju se suspenzije eritrocita u slanom fiziološkom rastvoru. Radi sigurnosti, treba raditi sa dve različite serije test seruma anti-A, anti-B i najmanje sa jednim serumom krvne grupe O. Serum krvne grupe O služi za kontrolu valjanosti seruma anti-A i anti-B, i u normalnim uslovima aglutiniše eritrocite svih krvnih grupa, osim svoje. Serum osoba krvne grupe A aglutiniše eritrocite osoba krvne grupe B i AB, a ne aglutiniše eritrocite krvne grupe O, niti eritrocite svoje grupe. Serum osobe krvne grupe B aglutiniše



eritrocite osoba iz grupe A i AB, a ne aglutiniše eritrocite grupe O, niti eritrocite svoje grupe. Serum krvne grupe AB ne aglutiniše eritrocite ni jedne od grupa, a ni sopstvene.

Potrebni reagensi, oprema i potrošni materijal

- epruvete promera 12 x 75 mm i stalak za epruvete
- flomaster za oboležavanje
- fiziološki rastvor
- antiserum anti-A, anti-B i anti-AB
- test eritrociti krvne grupe A1 i B
- labofuga
- svetlosni mikroskop

#### UZORAK

Eritrociti iz uzorka periferne krvi uzete u epruvetu sa antikoagulansom (EDTA ili heparin) mogu da se koriste za testiranje u roku od 2 dana od dana uzorkovanja. Koagulisana puna krv može se testirati do 14 dana od vremena uzimanja uzorka.

#### POSTUPAK

##### POČETNO TESTIRANJE (FORWARD GROUPING)

Upotrebom poznatih anti-A i anti-B antiseruma treba da se pokaže prisustvo ili odsustvo A i B antigena na ispitivanim eritrocitima.

##### REVERZNO TESTIRANJE (REVERSE GROUPING)

Upotrebom poznatih test eritrocita A1 i B krvne grupe treba da se pokaže prisustvo ili odsustvo odgovarajućih anti-A i anti-B antitela u serumu pacijenta/ispitanika.

##### POČETNO TESTIRANJE (FORWARD GROUPING)

1. Pripremiti 2 - 5% suspenziju opranih eritrocita ispitivane osobe, koristeći 0,9% fiziološki rastvor kao rastvarač.
2. Označiti 3 epruvete imenom ispitanika/pacijenta i 1. epruvetu sa A, 2. sa B a 3. sa AB.
3. Ukapati 1 kap anti-A antiseruma u 1.(A) epruvetu, 1 kap anti-B antiesruma u 2. (B) epruvetu i

jednu i 1 kap anti-AB antiseruma u 3. (AB) epruvetu.

4. U sve tri epruvete (1.,2.,3.) ukapati po jednu kap 2 - 5% suspenziju opranih eritrocita ispitivane osobe.

5. Nežno protresti svaku epruvetu a zatim centrifugirati epruvete tokom 1 minuta na 1000-1500 obrtaja u minuti. Eritrociti će formirati aglutinate različite jačine ( od + do ++++ - u vidu dugmeta) na dnu svake epruvete.

6. Nežno resuspendovati aglutinate i ispitati jačinu aglutinacije makroskopski. Nekada je potrebno koristiti i mikroskopsko očitavanje.

7. Odmah odrediti jačinu reakcija aglutinacije i zabeležiti rezultate u radnoj listi.

#### REVERZNO TESTIRANJE(REVERSE GROUPING)

1. Označiti 2 epruvete imenom pacijenta/ispitanika i na 1. staviti oznaku A na drugu oznaku B.

2. Ukapati po 2 kapi uzorka seruma ili plazme u svaku od epruveta za reverzno određivanje krvne grupe.

3. Ukapati jednu kap test eritrocita A1 krvne grupe u epruvetu sa oznakom A i jednu kap test eritrocita B krvne grupe u epruvetu sa oznakom B.

4. Nežno protresti svaku epruvetu i promešati sadržaj, a zatim centrifugirati epruvete tokom 1 minuta na 1000-1500 obrtaja u minuti.

5. Ispitati prisustvo hemolize, a zatim nežno resuspendovati eritrocitno dugme, i pročitati reakciju aglutinacije.

6. Odmah odrediti jačinu reakcije aglutinacije i zabeležiti rezultate na odgovarajućem radnom listu (252).

### **6.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA**

Tokom istraživanja napravljena je personalna baza specifičnih parametara i podataka, specijalno za ovo istraživanje u statističkom paketu JMP (9.0), koja je kasnije korišćena za analizu prikupljenih podataka, a korišćen je i program Microsoft Office Excell. Navedena baza podataka korišćena je za kasniju statističku analizu, kada je načinjena univarijantna i bivarijantna analiza prikupljenih podataka ispitanika.

Prikupljeni podaci uneti su u posebno kreiranu bazu podataka putem identifikacionih kodova u presonalni računar. Rezultati će biti prezentovani standardnim statističkim variablama.

Nakon unosa, obrada podataka je obuhvatala:

- Deskriptivnu statistiku prikupljenih parametara putem srednjih vrednosti i standardne devijacije i opsega vrednosti, odnosno distribucije učestalosti, opisanih parametara.
- Komparaciju distribucije ( $\chi^2$ - test)

Statistički značajnim smatraće se nalazi gde je  $P \leq 0,05$

Statistička obrada podataka urađena je statističkim paketom JMP for Windows (version 9.0) Cary North Carolina, U.S. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički u Microsoft Excel, a kompletan rad će biti obrađen u tekst procesoru Microsoft Word for Windows.

## 7. REZULTATI

### 7.1 REZULTATI ZDRAVE POPULACIJE ISPITANIKA

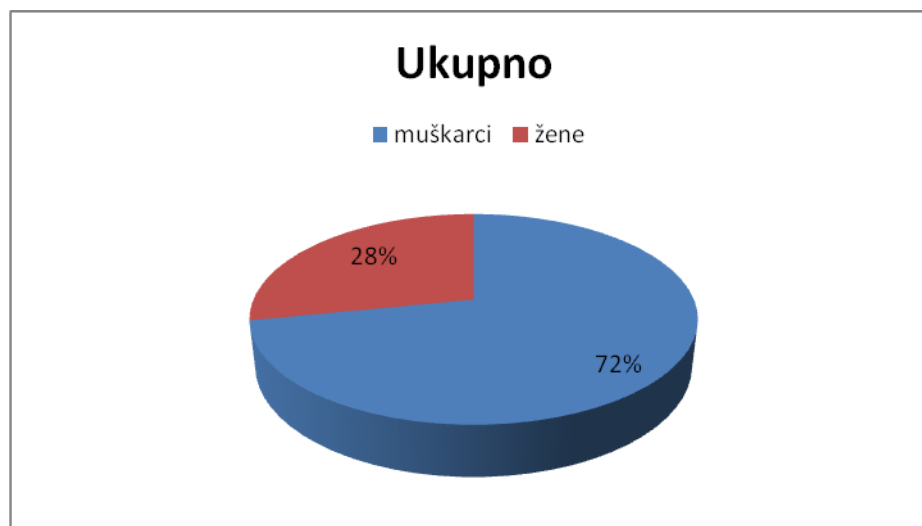
Istraživanje je sprovedeno kao longitudinalna prospektivna studija na ukupno 213 ispitanika od kojih 110 ispitanika čine oboleli od seronegativnih spondiloartropatija koji ispunjavaju kriterijum za uključivanje u istraživanje a kontrolnu grupu zdravih čini 103 ispitanika sa odsustvom tegoba karakterističnih za seronegativne spondiloartropatije.

#### 7.1.1. OPŠTE KARAKTERISTIKE KONTROLNE GRUPE ZDRAVIH ISPITANIKA

##### 7.1.1.1 Polna struktura zdrave populacije ispitanika

Ispitivanjem je obuhvaćeno 103 ispitanika, od toga 29 (28,15%) ženskog 74 (71,84%) muškog pola.

**Grafikon 1.** Polna struktura zdrave populacije ispitanika

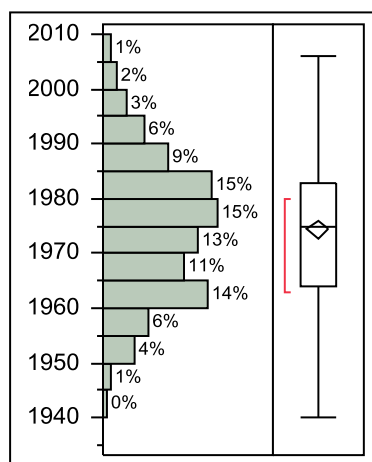


Distribucija zdravih ispitanika u odnosu na pripadnost odgovarajućoj krvnoj grupi sistema ABO prikazana je u Tabeli 1.

### 7.1.1.2 Starosna struktura zdrave populacije ispitanika

Prosečno godište ispitanika zdrave populacije je 1975. godište, medijana 1977 godište. Najmlađi ispitanik bio je 1996 godište, a najstariji 1951 godište. Prikaz na grafikonu 2.

**Grafikon 2. Starosna struktura zdrave populacije**



### 7.1.1.3. Učestalost i distribucija krvnih grupa sistema ABO

Od ukupno 103 zdravih ispitanika, A krvnu grupu ima 39 (37,86%), B krvnu grupu 12 (10,68%), AB krvnu grupu 12 (11,65%) i O krvnu grupu 40 (39,80%) ispitanika.

**Tabela 1.** Učestalost krvnih grupa sistema ABO u populaciji zdravih ispitanika

Krvna grupa	n	%
<b>A</b>	39	37,86
<b>B</b>	12	11,65
<b>AB</b>	12	11,65
<b>O</b>	40	38,83
ukupno	103	100

Razvrstavanjem ispitanika zdrave populacije u odnosu na pol i pripadnost odgovarajućoj krvnoj grupi sistema ABO dobijena je sledeća distribucija krvnih grupa u odnosu na pol (Tabela 2):

Od ukupno 29 ispitanih žena u zdravoj populaciji, A krvnu grupu imalo je 10 (34,48%), B krvnu grupu 7 (24,13%), AB krvnu grupu 4 (13,79%) i O krvnu grupu 8 (27,59%)

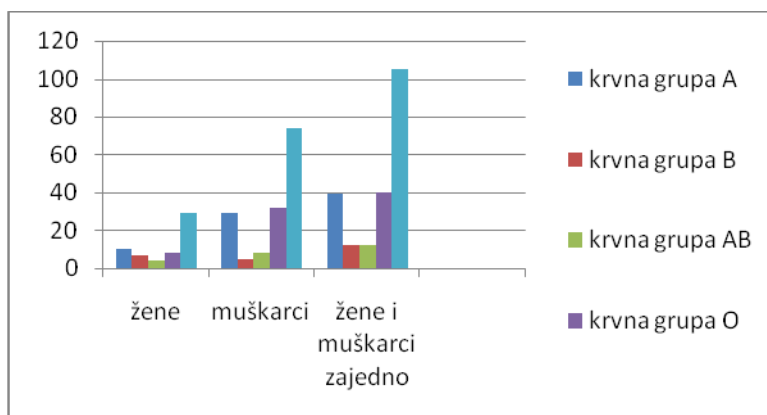
Od ukupno 74 ispitanih muškaraca u zdravoj populaciji, A krvnu grupu imalo je 29 (39,18%), B krvnu grupu 5 (6,76%) AB krvnu grupu 8 (10,81%) i O krvnu grupu 32 (43,24%) ispitanika.

**Tabela 2.** Distribucija krvnih grupa sistema ABO u populaciji zdravih ispitanika

Pol	Krvna grupa A		Krvna grupa B		Krvna grupa AB		Krvna grupa O		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Ženski	10	25,64	7	58,33	4	33,33	8	20	29	28,16
Muški	29	74,36	5	41,67	8	66,67	32	80	74	71,84
Ukupno	39	100	12	100	12	100	40	100	103	100

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvnih grupa sistema ABO u odnosu na pol u populaciji zdravih ispitanika  $\chi^2 = 6.9988$ , (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

**Grafikon 3.** Distirbucija krvnih grupa sistema ABO u zdravoj populaciji ispitanika



U odnosu na ciljeve istraživanja utvrđena je zastupljenost Lewis fenotipa u zdravoj populaciji ispitanika da bi se dobijeni rezultati uporedili sa populacijom obolelih ispitanika obuhvaćenih ispitivanjem kao i distribucijom odgovarajućeg Lewis fenotipa naše populacije sa ostalim populacijama u Evropi i svetu.

Od ukupnog broja ispitanih žena u zdravoj populaciji 24(82,76%) imalo je fenotip Le(a-b+), fenotip Le (a+b-) 3 (10,34%) a kod 2 (6,9%) osobe ženskog pola zabeležen je fenotip Le(a+b+).

U muškoj populaciji zdravih ispitanika Le (a-b+) fenotip pronađen je kod 65 (87,83%) fenotip Le (a+b-) kod 8 (10,81%) a fenotip Le(a+b+) kod 1 (1,35%) osobe.

Ispitanica ženskog pola bilo je 29 (28,15%) a ispitanika muškog pola 74 (71,84%).

Žene su najčešće imale Lewis fenotip Le (a-b+) 24 (82,76%) kao i muškarci 65 (87,83%).

#### 7.1.1.4. Distribucija Lewis fenotipa

**Tabela 3.** Distribucija Lewis fenotipa u odnosu na pol u populaciji zdravih ispitanika

Pol	Lewis fenotip Le (a-b+)			Lewis fenotip Le (a+b-)			Lewis fenotip Le (a+b+)			Ukupno	
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%
Ženski	24	26,97	0.4577	3	27,27	0.0047	2	66,66	2.2656	29	28,15
Muški	65	73,03		8	72,72		1	33,33		74	71,84
Ukupno	89	100		11	100		3	100		103	100

Grupe ispitanika su bile homogene raspodele i ne postoji statistički značajna razlika u polnoj raspodeli Lewis fenotipa među grupama ispitanika.

Za Lewis fenotip Le(a-b+)  $\chi^2 = 0.4577$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1)

Za Lewis fenotip Le(a+b-)  $\chi^2 = 0.0047$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1)

Za Lewis fenotip Le(a+b+)  $\chi^2 = 2.2656$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1)

**Tabela 4.** Distribucija Lewis fenotipa u odnosu na krvnu grupu sistema ABO

Krvna grupa	Lewis fenotip Le (a- b+)			Lewis fenotip Le (a+b-)			Lewis fenotip Le (a+b+)			Ukupno	
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%
A	37	41,57	6.5248	2	18,18	4.048	0	0	3.688	39	37,86
B	8	8,99		3	27,27		1	33,33		12	11,65
AB	10	11,23		1	9,09		1	33,33		12	11,65
O	34	38,20		5	45,45		1	33,33		40	38,83
Ukupno	89	100		11	100		3	100		103	100

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa Le(a-b+) u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u zdravoj populaciji ispitanika ( $\chi^2 = 6.5248$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa Le(a+b-) u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u zdravoj populaciji ispitanika ( $\chi^2= 4.048$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa Le(a+b+) u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u zdravoj populaciji ispitanika ( $\chi^2= 3.688$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

Iz prikazanih rezultata uočava se da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u zdravoj populaciji ispitanika.

### 7.1.1.5. Distribucija sekretornog statusa

**Tabela 5** Distribucija sekretornog statusa u populaciji zdravih ispitanika

Sekretorni status	n	%
Sekretor	92	89,32
Nesekretor	11	10,68
Ukupno	103	100

U populaciji zdravih ispitanika sekretori su zastupljeniji: 89% zdravih ispitanika su sekretori a 11% su nesekretori.

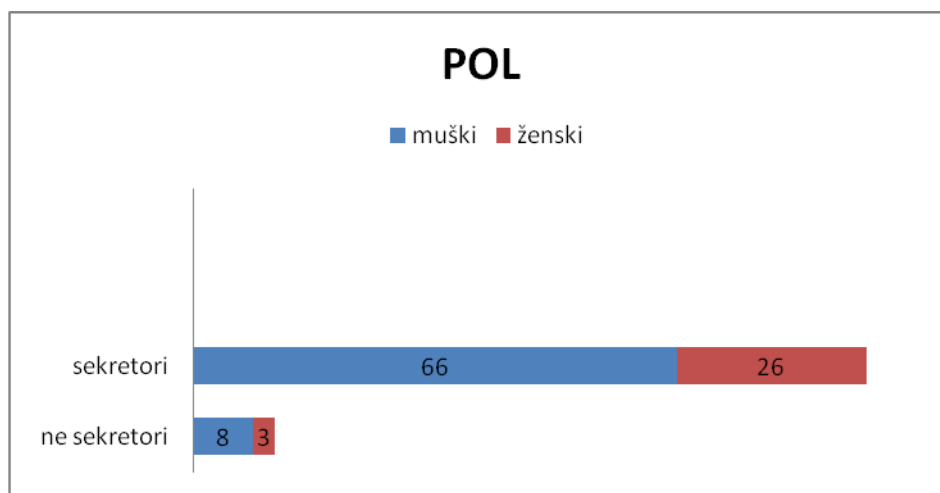
**Tabela 6.** Distribucija sekretornog statusa u odnosu na pol u zdravoj populaciji ispitanika

Pol	Sekretor		Nesekretor		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%
Ženski	26	28,26	3	27,27	29	28,15
Muški	66	71,74	8	72,72	74	71,84
Ukupno	92	100	11	100	103	100

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji sekretornog statusa (sekretora i nesekretora) u odnosu na pol u zdravoj populaciji ispitanika ( $\chi^2= 0.0047$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1 ).



**Grafikon 4.** Distribucija ispitanika prema polu u odnosu na sekretorni status



U populaciji zdravih ispitanika sekretori i nesekretori muškog pola su zastupljeniji: 66 isitanika muškog prema 26 ženskog pola su sekretori a 8 muškog prema 3 ženskog pola, nesekretori.

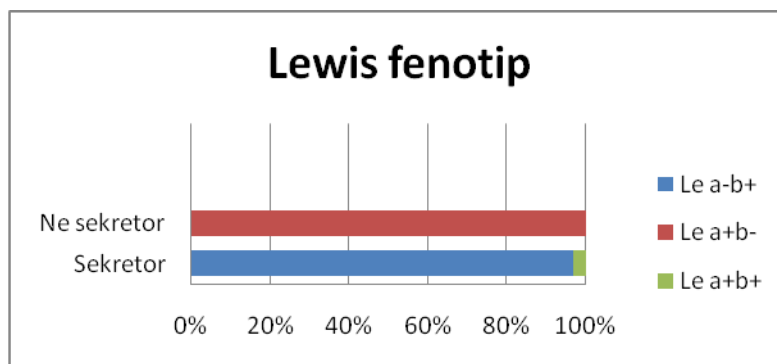
**Tabela 7.** Distribucija sekretornog statusa u odnosu na pripadnost krvnoj grupi sistema ABO među zdravom populacijom

Krvna grupa	Sekretor		Nesekretor		$\chi^2$	Ukupno	
	n	%	n	%		n	%
A	37	40,21	2	18,18	4.048	39	37,86
B	9	9,78	3	27,27		12	11,65
AB	11	11,96	1	9,09		12	11,65
O	35	38,04	5	45,45		40	38,83
Ukupno	92	100	11	100		103	100

Najviše nesekretora (4,85%) bilo je sa O krvnom grupom a najmanje sa AB (0,97%).

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvnih grupa sistema ABO u odnosu na sekretorni status  $\chi^2 = 4.048$  ; (za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

**Grafikon 5.** Distribucija ispitanika u odnosu na Lewis fenotip



U grupi sekretora ispitivane zdrave populacije uočava se prisustvo fenotipa Le (a+b+).

### 7.1.2. ZASTUPLJENOST LEWIS FENOTIPA U POPULACIJAMA SVETA I ISPITANIKA ZDRAVE POPULACIJE VOJVODINE

**Tabela 8.** Zastupljenost Lewis fenotipa u populacijama sveta i ispitanika zdrave populacije Vojvodine

Lewis fenotip	Le(a-b+)			Le(a+b-)			Le(a+b+)			Le(a-b-)			Ukupno
	%	n	$\chi^2$	%	n	$\chi^2$	%	n	$\chi^2$	%	n	$\chi^2$	n
Zapadna Džordžija	46,6	111	45.9537	19	45	3.6586	2,6	6	0.038	31,9	74	41.3153	236
Tajland (Bankok)	65,50	131	14.9425	11	22	2.7088	0	0	5.8835	23,50	47	28.6489	200
Malezija	57,5	115	25.827	13,5	27	0.3767	7	14	2.1448	22	44	26.5096	200
Kinezi u Maleziji	68,5	188	12.1626	6,9	19	1.4337	12	33	7.2265	12,4	34	14.0479	274
Indijci u Maleziji	58,3	70	21.3485	16,7	20	1.6599	0,8	1	1.3603	24,2	29	28.6126	120
Republika Srpska	74	284	7.0207	16	62	1.9044	0	0	11.2538	10	38	11.0553	384
Jugoistočna Evropa Thrace	76	37	2.7809	23	11	3.7155	0	0	1.4559	1	1	2.116	49
Zapadna Makedonija (Grčka)	79	102	2.1196	20	26	3.836	0	0	3.8065	1	1	0.8019	129
Istočna Makedonija (Grčka)	71	229	9.6844	27	87	11.7425	0	0	9.4453	2	6	1.9467	322

Epirus (Grčka)	71	94	7.7529	27	36	9.9559	0	0	3.8944	2	2	1.574	132
Tesalija (Grčka)	83	169	0.5148	16	32	1.4623	0	0	5.9712	1	2	1.0215	203
Centralna Grčka (bez Atine)	77	211	4.0702	22	60	6.163	0	0	8.0446	1	3		274
Atina (Grčka)	75	717	6.6548	23	220	7.6222	0	0	27.9238	2	19	2.0845	956
Peloponeska ostrva (Grčka)	77	238	4.1553	21	65	5.5071	0	0	9.066	2	6	2.0296	309
Krit	74	158	6.0837	24	51	7.7452	0	0	6.2633	2	4	1.9591	213
Egejska ostrva (Grčka)	73	80	5.5465	24	26	6.3792	0	0	3.2203	3	3	2.8756	109
Jonska ostrva (Grčka)	74	28	3.1817	24	9	3.8567	0	0	1.1309	2	1	2.7299	38
Grci rođeni izvan Grčke	71	180	9.5301	27	69	11.4548	0	0	7.4608	2	5	2.0564	254
Irak	68,3	520	14.3709	20,7	158	5.8358	0	0	22.2714	11	84	12.5755	762
Severna Indija	24,81	126	142.5066	16,14	82	1.9799	0	0	14.8691	59,06	300	57.0196	508
Indijanci (Maya)	78,79	858	3.346	0,55	6	68.6685	0	0	31.7985	20,66	225	26.2326	1089
Populacija zdravih ispitanika Vojvodine	86,40	89		10,68	11		2,91	3		0	0		105

U Tabeli 8. koja prikazuje zastupljenost Lewis fenotipa u populacijama sveta i ispitanika zdrave populacije Vojvodine pokazano je da između pojedinih populacija Evrope i sveta u odnosu na populaciju ispitanika Vojvodine postoji statistički značajna razlika u distribuciji pojedinih fenotipa sistema Lewis, kao na primerima populacija Severna Indija, Zapadna Džordžija, Tajland (Bangkok) za Le(a-b+).



**Μαpa 1.** Oblasti Grčke teritorije čije su populacije prikazane u Tabeli 8. obuhvaćene isptivanjem distribucije Lewis fenotipa

## 7.2. REZULTATI POPULACIJE OBOLELIH ISPITANIKA

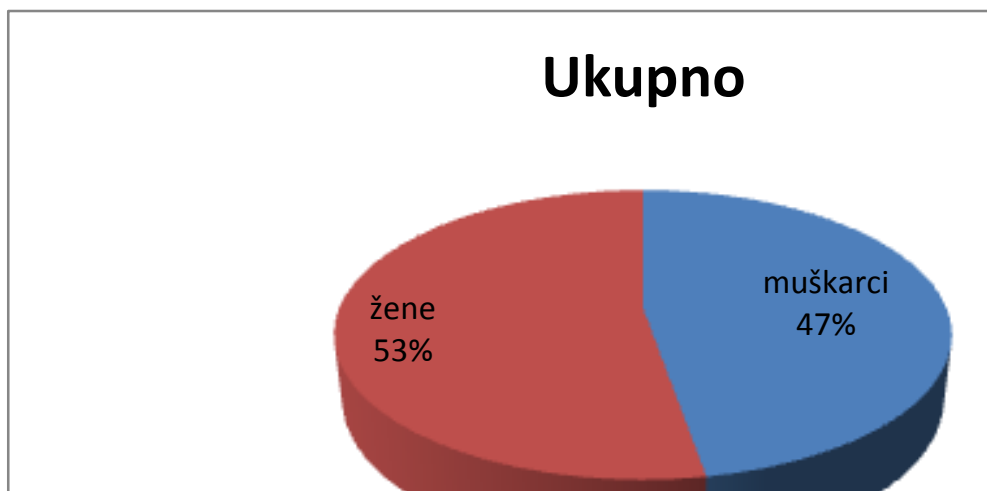
Istraživanje je sprovedeno kao longitudinalna prospektivna studija na 110 ispitanika obolelih od seronegativnih spondiloartropatija koji su ispunili kriterijume za uključivanje u studiju.

### 7.2.1 OPŠTE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA BOLESNE POPULACIJE

#### 7.2.1.1 POLNA STRUKTURA ISPITANIKA

Ispitivanjem je obuhvaćeno 110 ispitanika, od toga 58 (53%) ženskog i 52 (47%) muškog pola. Na grafikonu 5. Prikazana je polna struktura ispitanika bolesne populacije izražena u procentima.

**Grafikon 6.** Polna struktura ispitanika bolesne populacije



#### 7.2.1.2 STAROSNA STRUKTURA ISPITANIKA

Prosečna starost ispitanika ukupno je bila 1974 godište, medijana 1972 godište. Najmlađi ispitanik u bolesnoj populaciji bio je 2006 godište a najstariji 1940 godište.

Distribucija bolesnih ispitanika u odnosu na pripadnost odgovarajućoj krvnoj gupi sistema ABO prikazana je u Tabeli 9.

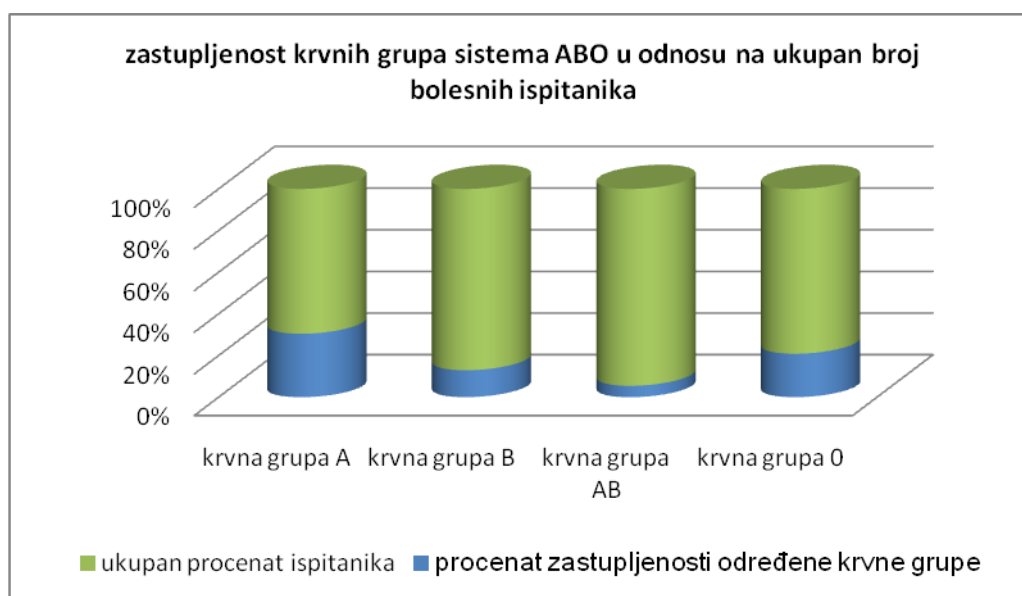
Od ukupno 110 ispitanika A krvnu grupu ima 53 (48,18%), B krvnu grupu 18 (16,36%), AB krvnu grupu 7 (6,36%) i O krvnu grupu 32 (29%) ispitanika.

### 7.2.1.3 Učestalost i distribucija krvnih grupa sistema ABO

**Tabela 9.** Broj ispitanika bolesne populacije u odnosu na krvnogradni sistem ABO

Krvna grupa	n	%
A	53	48,18
B	18	16,36
AB	7	6,36
O	32	29
Ukupno	110	100

**Grafikon 7.** Zastupljenost krvnih grupa sistema ABO u populaciji bolesnih ispitanika

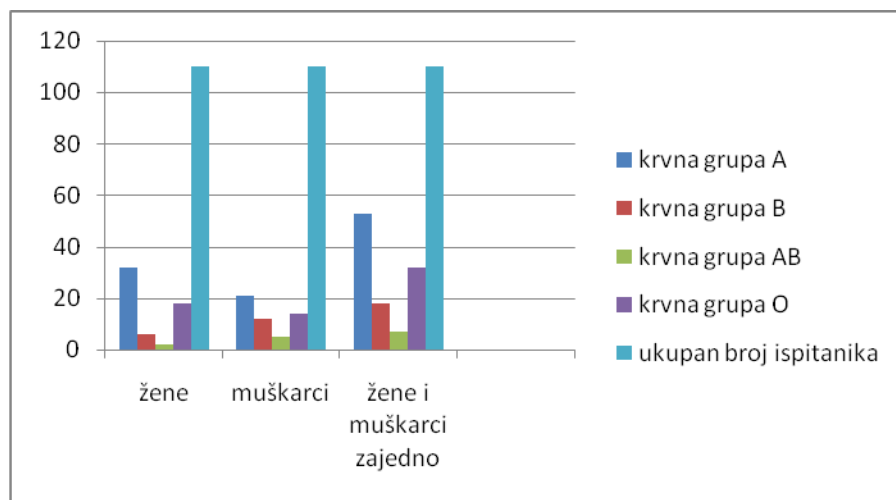


**Tabela 10.** Distribucija krvnih grupa sistema ABO u populaciji bolesnih ispitanika

Pol	Krvna grupa A		Krvna grupa B		Krvna grupa AB		Krvna grupa O		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Žene	32	60,37	6	33,3	2	28,6	18	56,25	58	52,72
Muškarci	21	39,62	12	66,6	5	71,4	14	43,75	52	47,27
Ukupno	53	100	18	100	7	100	32	100	110	100

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvnih grupa sistema ABO u odnosu na pol u populaciji bolesnih ispitanika  $\chi^2 = 5.7586$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

**Grafikon 8.** Distirbucija krvnih grupa sistema ABO u populaciji bolesnih ispitanika



Analizom distribucije krvnih grupa sistema ABO u populaciji bolesnih ispitanika uočava se da najveći broj ispitanih osoba ima A krvnu grupu.

U odnosu na ciljeve istraživanja utvrđena je zastupljenost Lewis fenotipa u populaciji ispitanika obolelih od seronegativnih spondiloartropatija da bi se dobijeni rezultati uporedili sa rezultatima zdravih ispitanika obuhvaćenih ispitivanjem.

Ispitanica ženskog pola bilo je 58 (52,72%) a ispitanika muškog pola 52 (47,27%)

Od ukupnog broja ispitanih žena u bolesnoj populaciji 51 (87,93%) imalo je fenotip Le (a-b+), 7 (12,06%) fenotip Le(a+b-), dok fenotip Le(a+b+) i Le(a-b-) nisu zabeleženi među osobama ženskog pola u posmatranoj populaciji obolelih.

U muškoj populaciji bolesnih ispitanika Le(a-b+) fenotip pronađen je kod 40 (76,92%) ispitanika, fenotip Le(a+b-) imao je 11 (21,15%) ispitanika a fenotip Le (a-b-) zabeležen kod 1 (1,92%) osobe muškog pola.

### 7.2.1.4. Distribucija Lewis fenotipa

**Tabela 11.** Distribucija Lewis fenotipa u odnosu na pol u populaciji bolesnih ispitanika

Pol	Lewis fenotip Le(a-b+)			Lewis fenotip Le(a+b-)			Lewis fenotip Le(a-b-)			Ukupno	
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%
Žene	51	56,04	2.3251	7	38,88	1.6535	0	0	1.1256	58	52,72
Muškarci	40	43,95		11	61,11		1	100		52	47,27
Ukupno	91	100		18	100		1	100		110	100

Grupe ispitanika su bile homogene raspodele i ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa u odnosu na pol u grupi obolelih ispitanika.

Za Lewis fenotip Le(a-b+)  $\chi^2 = 2,3251$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1)

Za Lewis fenotip Le(a+b-)  $\chi^2 = 1,6535$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1)

Za Lewis fenotip Le(a-b-)  $\chi^2 = 1,1256$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1)

**Tabela 12.** Distribucija Lewis fenotipa u odnosu na krvnu grupu sistema ABO

Krvna grupa	Lewis fenotip Le (a- b+)			Lewis fenotip Le (a+b-)			Lewis fenotip Le (a-b-)			Ukupno	
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%
A	45	49,45	0.6987	8	44,44	1.1576	0	0	5.158	53	48,18
B	15	16,48		2	11,11		1	100		18	16,36
AB	6	6,59		1	5,55		0	0		7	6,36
O	25	27,47		7	38,88		0	0		32	29,09
Ukupno	91	100		18	100		1	100		110	100

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa Le(a-b+) u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u bolesnoj populaciji ispitanika ( $\chi^2 = 0.6987$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa Le(a+b-) u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u bolesnoj populaciji ispitanika ( $\chi^2 = 1.1576$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa Le(a+b+) u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u bolesnoj populaciji ispitanika ( $\chi^2 = 5.158$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).



Iz prikazanih rezultata uočava se da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa u odnosu na ABO krvnogrupni sistem u populaciji bolesnih ispitanika.

### 7.2.1.5. Distribucija sekretornog statusa

**Tabela 13.** Distribucija sekretornog statusa u populaciji bolesnih ispitanika

Sekretorni status	n	%
Sekretori	92	83,63
Nesekretori	18	16,36
Ukupno	110	100

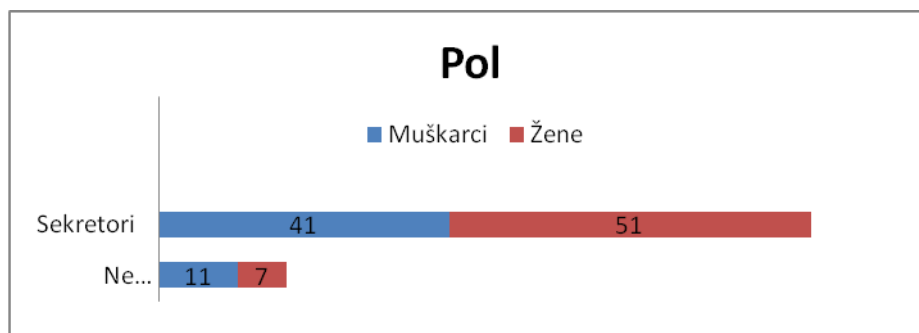
U populaciji bolesnih ispitanika, sekretori su zastupljeni sa 83,63% a nesekretori čine 16,36% ispitanika bolesne populacije.

**Tabela 14.** Distribucija sekretornog statusa u odnosu na pol u populaciji bolesnih ispitanika

Pol	Sekretor		Nesekretori		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%
Žene	51	55,43	7	38,88	58	52,72
Muškarci	41	44,56	11	61,11	52	47,27
Ukupno	92	100	18	100	110	100

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji sekretornog statusa (sekretora i nesekretora) u odnosu na pol u bolesnoj populaciji ispitanika  $\chi^2=1.6535$  (za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1).

**Grafikon 9.** Distribucija ispitanika prema polu u odnosu na sekretorni status



U populaciji bolesnih ispitanika sekretori i nesekretori muškog pola su zastupljeniji: 51 ispitanik muškog vs 41 ženskog pola su sekretori a 11 muškog vs 7 ženskog pola, nesekretori.

**Tabela 15.** Distribucija sekretornog statusa u odnosu na pripadnost krvnoj grupi sistema ABO među bolesnom populacijom

Krvna grupa	Sekretor		Nesekretor		$\chi^2$	Ukupno	
	n	%	n	%		n	%
A	45	48,91	8	44,44	1.1576	53	48,18
B	16	17,39	2	11,11		18	16,36
AB	6	6,52	1	5,55		7	6,36
O	25	27,17	7	38,88		32	29,09
Ukupno	92	100	18	100		110	100

Najviše nesekretora u grupi obolelih bilo je sa A krvnom grupom (8 bolesnika ili 7,27%) a najmanje sa AB (1 bolesnik ili 0,90%)

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvnih grupa sistema ABO u odnosu na sekretorni status  $\chi^2 = 1.1576$ ; (za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 3).

**Tabela 16.** Distribucija Lewis fenotipa i sekretornog statusa u populaciji bolesnih ispitanika

Sekretorni status	Lewis fenotip Le(a-b+)			Lewis fenotip Le(a+b-)			Lewis fenotip Le(a-b-)			Ukupno	
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%
Sekretor	91	100	103.0778	0	0	110	1	100	0.1974	92	83,63
Nesekretor	0	0		18	100		0	0		18	16,36
Ukupno	91	100		18	100		1	100		110	100

U populaciji bolesnika, utvrđeno je da postoji jedan bolesnik sa Le(a-b-) fenotipom na eritrocitima, a testom inhibicije hemaglutinacije je pokazano da je on sekretor ABO krvnogrupne substance.

### 7.2.1.6. Distribucija HLA-B27 fenotipa

**Tabela 17.** Distribucija fenotipa HLA-B27 u odnosu na krvnogrupni sistem ABO

Krvna grupa	HLA-B27 negativni	HLA-B27 pozitivni	Ukupno
A	40	13	53
B	15	3	18
AB	7	0	7
O	28	4	32
Ukupno	90	20	110

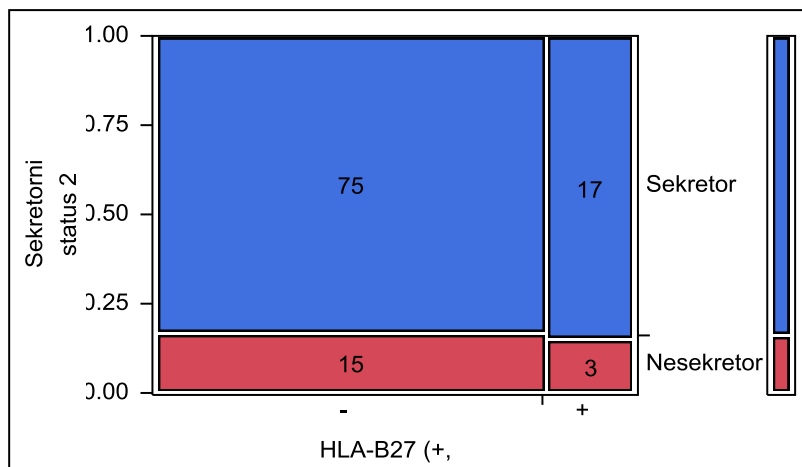
Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa HLA-B27 u odnosu na ABO krvnogrupni sistema u grupi obolelih ispitanika  $\chi^2=3.7128$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 3.

**Tabela 18.** Tabela kontingencije fenotipa HLA-B27 u odnosu na sekretorni status

Count Total % Col % Row %	Nesekretor	Sekretor	
HLA-B27 -	15 13.64 83.33 16.67	75 68.18 81.52 83.33	90 81.82
HLA-B27+	3 2.73 16.67 15.00	17 15.45 18.48 85.00	20 18.18
	18 16.36	92 83.64	110

Analizom distribucije fenotipa HLA-B27 u odnosu na sekretorni status  $\chi^2$  testom dobijena je vrednost  $\chi^2= 0.033$ ; za stepen značajnosti  $p <0,05$  i stepen slobode 1, bez statističke značajnosti ali je analizom relativnog rizika: nesekretori HLA-B27<sup>-</sup> / nesekretore HLA-B27<sup>+</sup>, dobijena vrednost RR od 1,111. Na osnovu navedene vrednosti relativnog rizika može se zaključiti da je verovatnoća pojave oboljenja iz grupe seronegativnih spondilartropatija veća za 11% kod nesekretora fenotipa HLA-B27<sup>-</sup> u odnosu na obolele nesekretore fenotipa HLA-B27<sup>+</sup>.

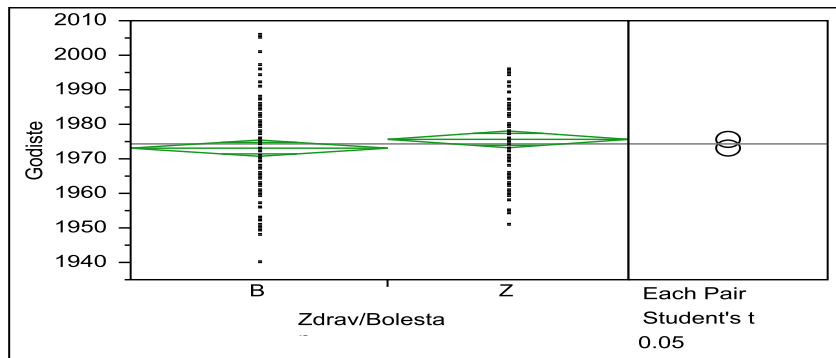
**Grafikon 10** Kontingencijske analize sekretornog statusa u odnosu na fenotip HLA-B27



Analiza distribucije HLA-B27 antigena i sekretornog statusa u odnosu na dijagnozu bolesti u grupi bolesnih ispitanika pokazali su da među osobama sa dijagnozom ankilozirajućeg spondilitisa od ukupno njih 8 HLA-B27 pozitivan fenotip imala je samo jedna osoba a da su dve osobe sa ovom dijagnozom i HLA-B27 negativnim fenotipom bile nesekretori. Među obolelim od reaktivnog artritisa od ukupno 12 osoba sa dijagnozom ove bolesti nesekretori nisu zabeleženi ali je samo tri osobe imalo fenotip HLA-B27 pozitivan, a 9 obolelih bilo je HLA-B27 negativno. Kada je reč o artritisu udruženim sa psorijazom, od 5 obolelih svi su bili HLA-B27 negativni a jedna osoba je bila nesekretor. Među osobama sa dijagnozom artritisa udruženog sa inflamatornim bolestima creva kojih je u našem istraživanju bilo ukupno tri, nijedna osoba nije imala HLA-B27 pozitivan fenotip dok je jedna osoba među obolelima bila nesekretor. U grupi obolelih sa dijagnozom nediferentovane spondiloartropatije od ukupno 82 osobe, bilo je 14 nesekretora od čega tri HLA-B27 pozitivnog fenotipa dok je kod 13 sekretora zabeležen HLA-B27 pozitivan fenotip.

### 7.3 POREĐENJE BOLESNE U ODNOSU NA ZDRAVU POPULACIJU ISPITANIKA

**Grafikon 11.** Starosna dob ispitanika posmatranih populacija



Analizom godišta zdrave (prosečna starost 41 godina) i bolesne populacije (prosečna starost 42 godine) ispitanika, uočava se da su ispitanici obe posmatrane grupe približno iste starosne dobi, (grafikon br 10).

**Tabela 19.** Zastupljenost krvnih grupa sistema ABO između ispitivanih populacija

	Krvna grupa A			Krvna grupa B			Krvna grupa AB			Krvna grupa O			Ukupno
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	
Zdravi	39	42,39	2.3078	12	40	0.9765	12	63,15	1.83	40	55,55	2.257	103
Bolesni	53	57,60		18	60		7	36,84		32	44,44		110
Ukupno	92	100		30	100		19	100		72	100		213

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvne grupe A između grupe zdravih i grupe obolelih ispitanika  $\chi^2=2.3078$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvne grupe B između grupe zdravih i grupe obolelih ispitanika  $\chi^2=0.9765$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvne grupe AB između grupe zdravih i grupe obolelih ispitanika  $\chi^2=1.83$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1

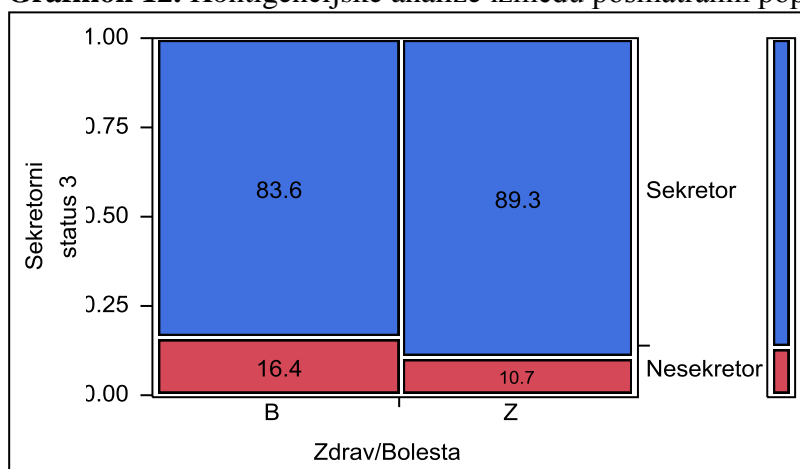
Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvne grupe O između grupe zdravih i grupe obolelih ispitanika  $\chi^2=2.257$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1

**Tabela 20.** Distribucija sekretornog statusa u grupama zdravih i bolesnih ispitanika

Zdrav/Bolestan By Sekretorni status

Count	Nesekretor	Sekretor	
Total %			
Col %			
Row %			
B	18	92	110
	8.45	43.19	51.64
	62.07	50.00	
	16.36	83.64	
Z	11	92	103
	5.16	43.19	48.36
	37.93	50.00	
	10.68	89.32	
	29	184	213
	13.62	86.38	

**Grafikon 12.** Kontingencijske analize između posmatranih populacija



Na osnovu vrednosti  $\chi^2 = 1,461$  za stepen značajnosti  $P < 0,05$  i stepen slobode 1 pokazano je da nema statistički značajne razlike u distribuciji sekretornog statusa između zdrave i bolesne populacije ispitanika, ali obzirom da je vrednost relativnog rizika između nesekretora bolesne u odnosu na nesekretore zdrave populacije veća od 1, a da odds ratio za posmatrane populacije iznosi 1,63 postoji udruženost nesekretornog statusa i bolesti iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Obzirom da odds ratio iznosi 1,63, osobe koje su nesekretori imaju 1,63 puta veći rizik, oboljevanja od seronegativnih spondiloartropatija u odnosu na zdravu populaciju ispitanika. Kako je relativni rizik veći od 1, određen je atributivni rizik, kako bi se utvrdilo u kojoj meri ne sekretorni status utiče na pojavu seronegativnih spondiloartropatija. Izražen u procentima, atributivni rizik iznosi 19,35 što ukazuje da od ukupnog broja ispitanika bolesne populacije, 19,35% ne bi imalo oboljenje iz grupe seronegativnih spondiloartropatija da pripada grupi sekretora.

**Tabela 21. Zastupljenosti Lewis fenotipa u ispitivanim populacijama ispitanika**

Ispitanici	Lewis fenotip Le(a-b+)			Lewis fenotip Le (a+b-)			Lewis fenotip Le(a+b+)			Lewis fenotip Le (a-b-)			Ukupno
	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	n	%	$\chi^2$	
Zdravi	89	49,17	0.32	11	39,28	1.0622	3	100	3.2497	0	0	0.9408.	103
Bolesni	92	50,82		17	60,71		0	0		1	100		110
Ukupno	181	100		28	100		3	100		1	100		113

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b+) u populaciji obolelih u odnosu na populaciju zdravih ispitanika  $\chi^2= 0,32$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1.

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) u populaciji obolelih u odnosu na populaciju zdravih ispitanika  $\chi^2= 1.0622$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1.

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) u populaciji obolelih u odnosu na populaciju zdravih ispitanika  $\chi^2= 1.0622$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1.

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) u populaciji obolelih u odnosu na populaciju zdravih ispitanika  $\chi^2=3.2497$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1.

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) u populaciji obolelih u odnosu na populaciju zdravih ispitanika  $\chi^2= 0.9408$  za stepen značajnosti  $p<0,05$  i stepen slobode 1.

### **7.3.1. POREĐENJE BOLESNE POPULACIJE NESEKRETORA I SMANJENE EKSPRESIJE Le(a-b+) U ODNOSU NA ZDRAVU POPULACIJU ISPITANIKA**

Iako se ABH sekretorni status obično posmatra po principu sve ili ništa, tj. sekretorstvo ili nesekretorstvo krvnogrupne substance, postoje odstupanja od tog pravila. Kod nekih ABH ne sekretora (poznati kao delimični ili slabi sekretori), postoji određena forma A ili B krvnogrupne supstance u salivi. Ipak kvalitet i kvantitet ovih supstanci suštinski je smanjen čime ove osobe

imaju predispoziciju za razvoj sličnih funkcionalnih poremaćaja koji nastaju kod nesekretora krvnogrupne supstance (253, 254).

**Tabela 22.** Bolesni ispitanici nesekretori i osobe sa smanjenom ekspresijom Le (a-b+) u odnosu na populaciju zdravih ispitanika

	Nesekretori i osobe sa smanjenom ekspresijom Le (a-b+)	Sekretori	Ukupno
Bolesni ispitanici	25	85	110
Zdravi ispitanici	11	92	103
Ukupno	36	177	213

Postoji statistički značajna razlika u distribuciji sekretornog statusa između nesekretora i osoba sa smanjenom ekspresijom Lewis b antigena, fenotipa Le (a-b+) bolesne populacije u odnosu na populaciju zdravih ispitanika  $\chi^2 = 5.4972$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 1.

Smanjena ekspresija Lewis b antigena, doprinoseći je faktor razvoja seronegativnih spondiloartropatija, zbog čega smanjenu ekspresiju Le(b) kao i nesekretorstvo treba uzeti kao dijagnostički kriterijum koji doprinosi dijagnostikovanju spondiloartropatija.

### 7.3.2 IZMENA EKSPRESIJE LEWIS FENOTIPA POD UTICAJEM BOLESTI

**Tabela 23.** Prikaz promene Lewis fenotipa u populaciji obolelih u odnosu na kontrolnu populaciju zdravih ispitanika

	Izmenjena ekspresija Lewis fenotipa Le (a-b+)	Ne izmenjena ekspresija Lewis fenotipa Le (a-b+)	Ukupno
Zdravi ispitanici	0	103	103
Bolesni ispitanici	7	103	110
Ukupno	7	206	113



Postoji statistički značajna razlika u promeni Lewis fenotipa (smanjenje ekspresije Le (a-b+)) u grupi obolelih od spondiloartropatija u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika  $\chi^2 = 6.7773$  za stepen značajnosti  $p < 0,05$  i stepen slobode 1.

U grupi zdravih ispitanika od 103 ispitanih ni kod jedne ispitanice nije registrovana smanjena ekspresija Lewis fenotipa Le (a-b+) dok je u grupi ispitanika bolesne populacije, kod sedam ispitanika uočena smanjena ekspresija fenotipa Le (a-b+). Možemo zaključiti da pod uticajem seronegativnih spondiloartropatija dolazi do izmene Lewis fenotipa pošto smanjena ekspresija fenotipa Le(a-b+), odnosno izmena Lewis fenotipa nije evidentirana u grupi zdravih ispitanika.

## 8. DISKUSIJA

Spondiloartropatije predstavljaju grupu imunitetom posredovanih inflamatornih bolesti koje objedinjava preklapanje kliničke slike, genetska predispozicija i patogeneza (255), javljaju se kod 0,5 do 1,5% svetske populacije (256).

Bez obzora što je veliki broj faktora koji utiču na razvoj spondiloartropatija identifikovan, sadašnja procena je da je samo oko 29% naslednih faktora AS određeno. HLA-B27 učestvuje sa oko 25% naslednosti, a dodatnih 42 gena doprinose sa nešto više od 4% (257), pri čemu više od 70% genetskog uticaja tek treba razjasniti. Lander i saradnici su dali tumačenje da veliki uticaj može imati interakcija između gena koju treba identifikovati (258), kao i delovanje alela malog uticaja čija identifikacija zahteva veće studije (> 10.000 bolesnika) (259).

Tačna etiologija spondiloartropatija nije poznata ali uključuje interakciju genetskih i faktora sredine. Postoji značajna povezanost spondiloartropatija i određenih podtipova HLA-B27, što dodatno potvrđuje mišljenje da su spondiloartropatije posledica genetski determinisanog imunološkog odgovora na etiološke uzročnike iz sredine kod osoba koje imaju predispoziciju razvoja oboljenja iz grupe spondiloartropatija (260, 261).

Primarni patološki događaj kod svake spondiloartropatije je entezitis. Upalni proces posredovan je aktivnošću CD4 i CD8 T limfocitima i makrofazima koji oslobađaju citokine, naročito tumor nekrotični faktor  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) i transformišući faktor rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Entezopatije se javljaju na mestima koja su izložena većem fizičkom stresu kao što su kičmeni pršljenovi, ligamenti i stopala. Ostala mesta inflamacije obuhvataju sakroilijačni zglob, aksijalni skelet, zglobove ekstremiteta kao i neke vanzglobne strukture poput creva, kože, očiju i srčanah zalistaka (262).

Smatra se da pored ostalih faktora, neke Gram negativne bakterije mogu imati značajnu ulogu u nastanku spondiloartropatija. Tu spadaju bakterije izolovane iz digestivnog trakta (*Salmonella sp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*) (263).

Smatra se da bi *Helicobacter Pylori* mogao imati ulogu u ovom procesu (264,265). Mikroorganizmi se mogu posle infekcije digestivnog trakta izlučivati još neko vreme, mada njihovi obrađeni antigeni mogu da perzistiraju u dužem vremenskom periodu, a pogotovo u slučaju ukrštene reaktivnosti sa antigenima domaćina usled čega perzistira imuni odgovor koji

omogućava nastanak i održavanje zapaljenja. Stoga, odsustvo živih mikroorganizama koji se mogu povezati sa seronegativnim spondiloartropatijama u bolesničkom materijalu ne isključuje njihovo učešće u patogenezi ovih procesa (266).

Prema dosadašnjim saznanjima postoji klinička povezanost između crevne i zglobne upale kod spondiloartropatija, a gastrointestinalni trakt može igrati značajnu ulogu u patogenezi.

Klinička, genetska, histopatološka i imunološka ispitivanja ukazuju da spondiloartropatije i Kronovu bolest treba posmatrati kao dva različita fenotipa zajedničke imunološki posredovane bolesti, pre nego dve različite bolesti. Subklinička inflamacija creva opisana je kod 2/3 osoba sa spondiloartropatijama SpA (267-271). Endoskopski viđene lezije sluznice digestivnog trakta javljaju se kod 44% obolelih od spondiloartropatija a u 26% slučajeva, endoskopska dijagnoza je Kronova bolest (267).

Istaknuto je da endoskopska kapsula može pružiti važne informacije o patologiji gornjih partija gastrointestinalnog trakta kod pacijenata sa spondiloartropatijama koji imaju zahvaćeno tanko crevo. Eliakim i saradnici (272), poredili su dijagnostički doprinos endoskopske kapsule sa ilekolonoskopijom u pronalasku oštećenja na tankom crevu (eritema, aftoznih ulceracija, erozija) koje su endoskopskom kapsulom evidentirane u 30% slučajeva a ileokolonoskopijom u samo 9% slučajeva kod pacijenata sa spondiloartropatijama.

Sve više dokaza ukazuje da sastav i raznovrsnost mikroorganizama digestivnog trakta ima iznenađujuće značajan uticaj na zdravlje domaćina. Sastav bakterijske flore ima uticaj na promenu imunološkog odgovora, što može uticati na pojavu inflamacije na nivou digestivnog trakta (273).

Genetska predispozicija prema razvoju AS objašnjavana je posredstvom molekula MHC klase I koji bivaju prepoznati od strane citotoksični CD8+ T limfocita. Dugi niz godina smatralo se da molekul HLA-B27 kao molekul klase I MHC-a ima ulogu u razvoju spondiloartropatija na principu predstavljanja sopstvenog artritogenog peptida CD8+ citotoksičnim limfocitima (274). Ipak ispitivanja sprovedena na HLA-B27 transgenim pacovima tokom 90-tih godina prošlog veka ukazala su da na razvoj oboljenja iz grupe spondiloartropatija veći uticaj imaju CD4+ nego CD8+ T limfociti (217, 275, 276). Odsustvo potrebe za prisustvom CD8+ T limfocita u cilju razvoj spondiloartropatija dokazana je inhibicijom ekspresije gena za CD8+ T limfocite, čime nije postignut značajan efekat na spondiloartropatije (277).

Jedan od prvih dokaza da “osovina” IL-23/Th-17 ima uticaj na razvoj spondiloartropatija jeste povišen nivo IL-17 kod osoba obolelih od nediferentovanih spondiloartropatija i artritisa udruženog sa psorijazom (278,279).

Osim toga ispitivanja na pacovima pokazala su da povećana ekspresija HLA-B27 nema uticaja na povećanu aktivnost i akumulaciju CD4+ Th17 limfocita u crevnoj mukozii, limfnim čvorovima i zglobovima (280). O značaju CD4+ limfocita i molekula HLA-B27 govore rezultati na transgenim pacovima koji razvijaju crevnu infekciju ubrzo nakon prestanka sisanja (281), a koja je uslovljena promenom bakterijske flore gastrointestinalnog trakta (215,282), čime se otvara pitanje uticaja crevne bakterijske flore na aktivnost IL-23/IL-17 osovine (283).

Aktivacija IL-23/IL-17 osovine kod HLA-B27 transgenih pacova otvara pitanje o interakciji ova dva naizgled različita faktora. Odgovor na ovo pitanje možda se krije u sklonosti molekule HLA-B27 prema pogrešnom sklapanju i postavljanju disulfidnih dimera na površinu ćelije (284,285).

Greška u sklapanju molekule HLA-B27 dovodi do stresa na nivou endoplazmatskog retikuluma koji aktivira put odmotavanja molekule HLA-B27 u cilju popravljavanja greške i vraćanja narušene homeostaze na nivou endoplazmatskog retikuluma ćelije ili se aktivira put programirane ćelijske smrti- apoptoze (286). Delovi razmotane molekule HLA-B27 aktiviraju citokine poput IL-6 i TNF- $\alpha$  (286). U slučaju da je ovaj proces naglašen, povećana je produkcija IL-23 i TNF- $\beta$  (281, 287-292). Udruženost greške u sklapanju molekule HLA-B27 i povišena aktivnost IL-23 uočena je u antigen prezentujućim ćelijama gastrointestinalnog trakta HLA-B27 transgenih pacova, ukazujući da greška u sklapanju molekule HLA-B27 može uticati na aktivaciju osovine IL-23/IL-27 i crevne inflamacije kod životinja (281).

Dimeri HLA-B27 unapređuju preživljavanje ćelija prirodnih ubica (NK) (292) i CD4+ Th17 T limfocita povećanjem ekspresije KIR3DL2 (killer immunoglobulin receptor, KIR) na površini CD4+ limfocita. CD4+ limfociti koji poseduju KIR3DL2 receptor predstavljaju Th17 ćelije čiji broj je povišen u krvi i sinovijalnoj tečnosti obolelih od ankilozirajućeg spondilitisa (293). Interakcija između dimera HLA-B27 i KIR3DL2 receptora dokazana je korišćenjem ćelija sa naglašenom ekspresijom HLA-B27 dimera i antitela protiv KIR3DL2 ili HLA-B27 čijom upotrebom je prekinuta interakcija (294). KIR3DL2+ CD4+ Th17 T limfociti kada se susretnu sa dimerima HLA-B27 doprinose povećanoj produkciji i preživljavanju IL-17 (293). Receptor KIR3DL2 nije prisutan kod pacova ali njemu homologan receptor kod pacova je PIR (odgovara

humanom KIR receptoru) prepoznaje dimere HLA-B27 i može igrati ulogu u razvoju spondiloartropatija kod pacova (295).

Sve je više dokaza da genetski faktori imaju uticaj na sastav bakterijske flore gastrointestinalnog trakta što je pokazano kroz više studija u kojima je uočena veća sličnost gastrointestinalne flore između jednojajčanih u odnosu na dvojajčane blizance (296, 297). Studija koju su sproveli Urnbaugh i saradnici, pokazala je veću sličnost u sastavu bakterijske flore između blizanaca u odnosu na bakterijsku floru njihovih majki i osoba koje sa njima nisu u srodstvu ali ne i značajnu razliku u bakterijskoj flori jednojajčanih i dvojajčanih blizanaca (298).

Digestivni trakt čoveka naseljen je velikim brojem raznovrsnih mikroorganizama koji učestvuju u održavanju intestinalne homeostaze. Posebno interesentnu grupu sačinjava Bifidobakterija koja predstavlja najzastupljeniju bakterijsku floru intestinalnog trakta kod odojčadi dok u odrasloj populaciji čini do 6% ukupne bakterijske flore gastrointestinalnog trakta (299). Bifidobakterija ima imunomodulatorni efekat inhibicijom patogenih efekata (300). Polimorfizam FUT 2 gena, koji određuje sekretorni status ima uticaja na urođeni imunitet i verovatno je tokom evolucije imao uticaj na “opstanak” u periodima izloženosti patogenima (301,302). Smanjena prisutnost Bifidobakterije povezana je sa intestinalnim poremećajima kao što su inflamatorne bolesti creva (303). Svojstva Bifidobakterije i rezultati ove studije ukazuju da sekretorni status svojim uticajem na zastupljenost i raznovrsnost Bifidobakterija utiče na razvoj oboljenja koja se dovode u vezu sa smanjenim brojem Bifidobakterija (304).

Gustina i raznovrsnost Bifidobakterija u digestivnom traktu veća je kod sekretora u odnosu na ne sekretore pri čemu ove bakterije koriste ugljene hidrate iz digestivnog trakta i humanog mleka.

Udruženost fenotipa HLA-B27 sa ankilozirajućim spondilitisom prvi put je opisana 1973 godine (305). Glavna udruženost prepoznata je između spondiloartropatija i HLA-B27 ali jasno je da ulogu imaju i drugi geni uključujući gene zadužene za produkciju interleukina tipa 1 (306,307).

Među obolelima sa spondiloartritisom u crnoj populaciji Amerike 50% obolelih ima HLA-27 pozitivnost (308).

Postoje podaci da se ankilozirajući spondilitis manifestuje u ranijem životnom dobu kod osoba koje su HLA-B27 pozitivne nego kod osoba koje su HLA-B27 negativnog fenotipa (309).

Drugi geni takođe moraju imati uticaj na ankilozirajući spondilitis. Studijama na genomu izdvojeno je nekoliko mogućih gena kao što su ERAP1, IL-23R, IL1R2, ANTXR2, TNFSF15, TNFR1 and TRADD (310). Mnogi od ovih gena danas su predmet ispitivanja (311-314).

Transgeni HLA-B27 pacovi odgajani u sredini bez mikroba ne razvijaju inflamaciju u digestivnom traktu i zglobovima, dok se artritis javlja nakon što digestivni trakt ovih životinja bude naseljen uobičajenom bakterijskom florom, što potvrđuje stanovište da bakterijska flora digestivnog trakta ima ulogu u nastanku artritisa (215).

Mada povezanost fenotip HLA-B27 i spondiloartropatija predstavljaju jednu od najjačih udruženosti HLA antigena i bolesti u humanojoj populaciji, tačan mehanizam patogeneze nije poznat. Glavna uloga molekula HLA klase I je prezentovanje peptida antigena citotoksičnim T limfocitima. Bez izuzimanja alternativnih mehanizama (315-317), pretpostavka je da antigen prezentujuće svojstvo HLA-B27 ima krucijalnu ulogu u patogenezi spondiloartropatija (318).

Krvnogrupni sistem Lewis izdvaja se kao poseban krvnogrupni sisitem pošto antigeni ovog krvnogrupnog sisitema ne potiču iz eritrocita nego se na membranu eritrocita apsorbuju iz plazme, a sam fenotip Lewis kompletno se formira do šeste godine života, što je predstavljalo razlog da našim ispitivanjem ne budu obuhvaćena deca mlađa od šeste godine života. Krvno grupni sisitemi ABO, H i Lewis, mada genetski nezavisni, opisiuju se zajedno pošto su fenotipski i biohemijski blisko povezani. Obzirom da transfundovani eritrociti apsorbuju Lewis antigene sa eritrocita primaoca i da je vek transfundovanih eritrocita koji mogu imati drugačiji Lewis fenotip u odnosu na primaoca tri meseca, opravdano je da našim ispitivanjem nisu bile obuhvaćene osobe koje su primale krv u poslednja tri meseca. Kompleksna interakcija gena sa nekoliko lokusa kontroliše ekspresiju ABO, H, Lewis i drugih povezanih antigena na eritrocitima i u telesnim tečnostima (1, 319).

Mesto sinteze Lewis antigena je nepoznato. Recipijenti transplantata koštane srži (75, 76), bubrega (77), ili jetre (78), zadržavaju svoj sopstveni Lewis fenotip na eritrocitima bez obzira što se u urinu recipijenta i u žuči recipijenta jetre detektuju Lewis antigeni donora. Zbog izražene intestinalne glikolipidne Le<sup>a</sup> aktivnosti, Hanfland i Graham (79), ukazali su da Lewis antigeni prisutni u plazmi mogu voditi poreklo iz intestinalne mukoze. Nesekretori sa celijačnom bolešću, imaju smanjenu količinu Le<sup>a</sup> antigena u urinu (80). Evans i saradnici (80), pretpostavili su da Le<sup>a</sup> u urinu i plazmi nastaje iz velike Le<sup>a</sup> aktivne molekule u tankom crevu, koja podleže digestiji u manje molekule koje potom bivaju apsorbovane i transportovane u krvotok. Neki od ovih malih molekula potom se izlučuju putem bubrega. U celijačnoj bolesti ove molekule ne mogu biti apsorbovane od strane intestinalne mukoze što rezultuje smanjenom količinom Le<sup>a</sup> supstance u urinu. Regeneracijom mukoze tankog creva dolazi do povećanja količine Le<sup>a</sup> antigena koji se

detektuje u urinu. Svih osam pacijenata sa oštećenom mukozom tankog creva, od kojih je 7 imalo resekciju ileuma i 80% jejunuma imalo je Le(a-b-) eritrocite, u odnosu na 6% koliko se inače očekuje (81). Nadalje Le(a-b-) eritrociti pacijenata sa oštećenom mukozom tankog creva, postaju Le(a-b+) nakon transplantacije creva (82), što dodatno potvrđuje da Lewis glikolipidi u plazmi i posledično na eritrocitima vode poreklo od intestinalne mukoze. Henry i saradnici (320), razmotrili su da i drugi egzokrini organi, kao što su jetra, bubrezi i pankreas, mogu imati uticaj na aktivnost plazmatskih Lewis glikolipida, objašnjavajući razliku u nalazu glikolipida plazme i intestinalne mukoze.

Postoje dve glavne grupe Lewis fenotipa. Lewis pozitivni Le (a+b+), Le (a-b+) i Lewis negativni Le (a-b-) fenotip. Mali procenat (1-8%) osoba zavisno od rase ima Lewis negativan Le (a-b-) fenotip i kod njih određivanje Lewis fenotipa ne može se koristiti u cilju određivanja sekretornog statusa. Kod ovih osoba određivanje preko salive, testom inhibicije hemaglutinacije, neophodno je za određivanje ABH sekretornog statusa.

Uloga ABO krvne grupe u određivanju normalne bakterijske flore gastrointestinalnog trakta posebno je izražena kod ABH sekretora. Pošto ABH sekretorni status i ABO krvna grupa određuju prisustvo i specifičnost A, B i H antigena u humanom intestinalnom sekretu, što može biti od uticaja na bakterijsku floru koja će naseliti digestivni trakt. Ovo nastaje pošto određene bakterije digestivnog trakta imaju sposobnost da produkuju enzime, koji im omogućuju da koriste u ishrani terminalne šećere krvnih grupa (106). Bakterije sposobne da razgrade antigene B krvne grupe produkuju enzim koji im omogućava da odvoje terminalnu alfa D galaktozu i koriste ovaj šećer u ishrani. Bakterije koje mogu da razgrade antigene A krvne grupe imaju slično dejstvo na N acetilgalaktozamin. Sekretori B krvne grupe imaju veću enzimsku aktivnost prema antigenima B krvne grupe u odnosu na antigene A i H, dok sekretori A krvne grupe produkuju više A nego B i H razgrađujućih enzima. Zbog ove sposobnosti bakterije koje koriste ABH antigene u ishrani imaju kompetitivnu prednost i mogu predstavljati većinu među bakterijskom florom ABH sekretora (16). Mada mali broj bakterija ima sposobnost produkcije enzima koji razgrađuju krvnogrupne antigene, približno je to oko  $10^8$  bakterija po gramu. Količina ovih bakterija razlikuje se među krvnim grupama i pokazuje različitu stabilnost. Bakterije sposobne da razgrađuju B antigene imaju gušću populaciju u osoba krvne grupe B koje su sekretori u odnosu na druge. Slična bakterijska specifičnost i enzimsku aktivnost pronađena je i među ostalim krvnim grupama (106, 321).

Povezanost između različitih bolesti i sinteze određenih ugljenohidratnih antigena prethodnih godina bila je predmet istraživanja. Neke od ovih ugljenohidratnih struktura su antigeni krvnih grupa, među njima posebno interesovanje pokazano je za Lewis krvnogrupni system. Pokazano je da u određenim stanjima Lewis fenotip eritrocita može biti ne podudaran sa Lewis fenotipom prisutnim u salivi, telesnim tečnostima (322). Hirano i saradnici ukazali su na značajno veću učestalost fenotipa Le(a-b-) kod obolelih od tumora pankreasa u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika (323). Yazawa i saradnici uočili su nepodudarnost fenotipa Lewis na eritrocitima u odnosu na nalaz Lewis fenotipa određenog ispitivanjem salive kod 11 od ukupno 18 ispitanih pacijenata sa tumorom digestivnog trakta uz povećanu zastupljenost fenotipa Le (a-b-) (324). Osim toga gubitak antigena Lewis sa površine eritrocita uočen je kod žena u trudnoći ali i kod pacijenata sa alkoholnom cirozom jetre i pankreatitisa alkoholne etiologije (325, 326).

Antigeni sistema Lewis na eritrocitima su glikolipidi (327), ne sintetišu se u eritrocitima već se na njih apsorbuju iz plazme u kojoj se prenose putem lipoproteina (328). Činjenica da se Lewis antigen ne sintetiše u eritrocitima već da se na eritrocite apsorbuje iz plazme ukazuje da ovaj fenotip zavisi ne samo od genetskih faktora već i od prenosa antigena ovog krvnogrupnog sistema kroz plazmu kao i od vezivanja antigena za površinu eritrocita (326). Lewis antigeni prisutni u salivi su glikoproteini (325, 329) i verovatno nisu pod uticajem istih faktora koji određuju Lewis fenotip na eritrocitima (326). Pošto se nakon porođaja Lewis fenotip vraća na stanje pre trudnoće, Ammar i saradnici, pretpostavili su da je izmena fenotipa posledica smanjenja mase lipoproteina u plazmi koja može uticati na preuzimanje antigena Lewis iz plazme na površinu eritrocita (325). Obzirom da nakon 24 nedelje gestacije dolazi do pojave prolaznog fenotipa le (a-b-), što je posledica povećanja cirkulišućeg volumena plazme kao i četverostrukog povećanja koncentracije lipoproteina na koje se apsorbuju antigeni Lewis, trudnice nisu bile obuhvaćene našim istraživanjem. Izmjena Lewis fenotipa kod ciroze jetre alkoholne etiologije objašnjena je uticajem upotrebe alkohola na metabolizam lipida. Tokom apstinencijalnog perioda beleže se promene u koncentraciji triglicerida, lipoproteina velike gustine HDL (high density lipoprotein) i holesterola. Koncentracija triglicerida i HDL-a povišena je tokom prvih dana apstinencije dok se u drugoj nedelji apstinencije beleže normalne ili lako snižene vrednosti triglicerida i HDL-a (1, 330-332). Promene lipidnog statusa zabeležene su takođe kod akutnog pankreatitisa (333).



Senfield i saradnici primetili su povećanu učestalost Le(a-b-) i Le(a+b-) fenotipa među ženama sa urinarnom infekcijom (144). Mehanizam izmene Lewis fenotipa kod obolelih od tumora objašnjava se promenom specifičnosti glukoziltransferaza koje usmeravaju svoju enzimsku aktivnost prema novonastalim antigenima tumora i promenom ekvilibrijuma između lipoproteina plazme i mase eritrocita (325, 334-336).

Jedan od problema vezanih za krvno grupne sisteme je nedostatak dovoljno sprovedenih istraživanja na polju ispitivanja funkcije koju imaju antigeni krvno grupnih sistema a time i njihovog uticaja kako na fiziološka tako i patofiziološka zbivanja u organizmu. Trenutno postoje podaci o zastupljenosti Lewis fenotipa među populacijom dobrovoljnih davalaca krvi u pojedinim evropskim zemljama, populacijama pojedinih azijskih zemalja kao i u pojedinim delovima SAD-a. Ispitivanja o zastupljenosti Lewis fenotipa do sada nisu vršena u našoj zemlji a istraživanja distribucije Lewis fenotipa u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi vršena su jedino u Republici Srpskoj.

Brojna istraživanja pokazala su udruženost određene krvne grupe sistema ABO i sklonosti prema određenom oboljenju (337), na šta uticaj ima i sekretorni status (338). Značajne razlike u Lewis fenotipu odnosno sekretornom status uočene su između pripadnika različitih etničkih zajednica (88), pri čemu krvnogrupalni sistem ABO takođe pokazuje razlike u distribuciji kako između različitih zemalja tako i unutar različitih oblasti jedne zemlje (339). Zbog toga smatramo opravdanim da određivanje krvne grupe sistema ABO i Lewis fenotipa, odnosno sekretornog statusa iskoristimo ne samo za poređenje sa rezultatima ispitanika obolelih od seronegativnih artropatija već i sa drugim populacijama u svetu kojima je vršeno određivanje sekretornog statusa odnosno Lewis fenotipa.

Rezultati distribucije Lewis fenotipa u kontrolnoj populaciji zdravih ispitanika, dobrovoljnih davalaca krvi sa teritorije Srbije, Vojvodine, poređeni su sa dostupnim podacima drugih zemalja a sa ciljem ravnomerne zastupljenosti različitih populacija i etničkih grupa iz različitih delova sveta. Poređenjem rezultata zastupljenosti Lewis fenotipa uočava se kako geografska tako i rasna odnosno etnička razlika u distribuciji pojedinih fenotipova Lewis antigena u svetu.

Analizom dostupnih podataka koji se odnose na stanovnike Dhake (glavnog grada Bangladeša) došli smo do rezultata da među populacijom njihovih dobrovoljnih davalaca Lewis fenotip ima sledeću distribuciju Le(a+b-) 19%, Le(a-b+) 53%, Le(a-b-) 26% i Le (a+b+) samo 2% ispitanika, pri čemu je utvrđeno da u ovoj populaciji 60% ispitanika predstavljaju sekretori a 40% ne

sekretori. Zastupljenost krvnih grupa sistema ABO među ispitanicima Dhake bila je sledeća: 36% ispitanika imalo je O krvnu grupu, 33% B krvnu grupu, 24% A dok je AB zabeležena kod 7% ispitanika (340). Drugi autori ispitivanjem distribucije sistema ABO u populaciji Bangladeša dobili su približno slične rezultate: O 33.97%, A 22.44%, B 35.20% i AB 8.39% (341). Rezultati naše kontrolne grupe, dobrovoljnih davalaca krvi pokazuju razliku u zastupljenosti kako sekretornog statusa tako i krvnogrupnog sistema ABO. Tako je u našoj populaciji dobrovoljnih davalaca krvi zabeležen veći procenat sekretora 89,3% dok su nesekretori u našoj populaciji bili zastupljeni sa 10,7%. U populaciji Vojvodine takođe evidentirana je i razlika u distribuciji krvnih grupa. Tako je zabeleženo da je kod ispitivane populacije Vojvodine najzastupljenija O krvna grupa sa 39,8% a sledi krvna grupa A sa 39% dok je B krvna grupa kod naših ispitanika tek na trećem mestu sa 10,67% dok je u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi Dhake B krvna grupa zastupljena sa čak 33%. Analizom distribucije krvnogrupnog sistema ABO između ove dve populacije uočeno je da postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvnogrupnog sistema ABO,  $\chi^2$  test je 11.3395 između posmatranih populacija dobrovoljnih davalaca krvi. Posmatrano u odnosu na distribuciju Lewis fenotipa između populacija ispitanika Vojvodine i dobrovoljnih davalaca krvi Dhake takođe je zabeležena statistički značajna razlika u distribuciji Lewis fenotipa  $\chi^2$  test je 33.1135.

Poređenjem populacije Zapadne Džordžije koju prevashodno sačinjava crnačka populacija (342) i populacije zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le(a-b+), dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 45.9537$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između poređenih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-), dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.6586$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 0.038$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 41.3153$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje na statistički značajnu razliku u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije (250).

Statistički značajno manja zastupljenost fenotipa Le(a-b+) uz veću učestalost fenotipa Le(a-b-) govori u prilog da za razliku od ispitane populacije Vojvodine stanovnici Zapadne Džordžije u nešto više od 31% slučajeva nemaju gen za Lewis antigen.

Poređenjem populacije Tajlanda (Bankok) (343) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le(a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2=14.9425$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između poređenih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2= 2.7088$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2= 5.8835$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2= 28.6489$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje na statistički značajnu razliku u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Malezije (344) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le(a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 25.827$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između poređenih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2= 0.3767$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2= 2.1448$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-), za dve posmatrane populacije dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2= 26.5096$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje na statistički značajnu razliku u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Kineza u Maleziji (344) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le(a-b+) dobijen je sledeći rezultat značajnosti razlike od  $\chi^2 = 12.1626$  za  $p < 0,05$  i

stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između poređenih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.4337$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 7.2265$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 14.0479$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1 koja ukazuje na statistički značajnu razliku u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Indijaca u Maleziji (344) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a+b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 21.3485$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između poređenih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.6599$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.3603$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-), za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 28.6126$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje na statistički značajnu razliku u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Republike Srpske (345) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a+b+), dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 7.0207$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između poređenih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.9044$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1 koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 11.2538$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-), za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 11.0553$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje na statistički značajnu razliku u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije oblasti Thrace (346), teritorija Jugoslovske Evrope koja se prostire na delovima teritorije Grčke, Bugarske i Turske i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le(a-b+), dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.7809$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.7155$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+), dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.4278$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-), za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.116$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije oblasti Zapadna Makedonija u Grčkoj (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le(a-b+), dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.1196$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.836$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+), dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.8065$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-), za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 0.8019$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije oblasti istočna Makedonija u Grčkoj (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 9.6844$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-), dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 11.7425$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 9.4453$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.9467$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije oblasti Epirus (346), severoistočni deo Grčke i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 7.7529$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 9.9559$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.8944$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.574$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije oblasti Tesalija (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 0.5148$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da ne postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.4623$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 5.9712$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.0215$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije centralne Grčke bez Atine (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 4.0702$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 6.163$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 8.0446$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.1368$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Atine (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 6.6548$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1,

na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 7.6222$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 27.9238$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.0845$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Peloponeskih ostrva (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 4.1553$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 5.5071$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 9.066$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.0296$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Krita i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 6.0837$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 7.7452$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.



Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 6.2633$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.9591$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Egejskih ostrva (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 5.5465$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 6.3792$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.2203$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.8756$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Jonskih ostrva (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.1817$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1 na osnovu čega je utvrđeno da ne postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.8567$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.1309$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.7299$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Grka rođenih izvan Grčke (346) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 9.5301$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 11.4548$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 7.4608$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 2.0564$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Iraka (347) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 14.3709$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 5.8358$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 22.2714$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 12.5755$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Severne Indije (348) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 142.5066$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1 na osnovu čega je utvrđeno da postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 1.9799$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 14.8691$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 57.0196$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Poređenjem populacije Indijanaca (Maya) (349) i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Le (a-b+) dobijen je sledeći rezultat testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 3.346$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, na osnovu čega je utvrđeno da ne postoji statistički značajana razlika u distribuciji navedenog fenotipa između ispitivanih populacija.

Poređenjem istih populacija u pogledu fenotipa Le(a+b-) dobijena je vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 68.6685$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b-) između poređenih populacija.

Poređenjem dve navedene populacije u pogledu fenotipa Le(a+b+) dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 31.7985$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a+b+) između dve posmatrane populacije.

U odnosu na fenotip Le(a-b-) za dve posmatrane populacije, dobijena je sledeća vrednost testa značajnosti razlike od  $\chi^2 = 26.2326$  za  $p < 0,05$  i stepen slobode 1, koja ukazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji fenotipa Le(a-b-) između dve posmatrane populacije.

Interesantno je istaći da se analizom distribucije Lewis fenotipa u ispitivanoj populaciji Republike Srpske takođe uočava značajno veća učestalost Le(a-b-) fenotipa u odnosu na ispitanu populaciju Vojvodine, iako se radi o populaciji sa geografski malom udaljenošću u odnosu na populaciju Vojvodine.

Poređenjem rezultata distribucije Lewis fenotipa među populacijama koje naseljavaju geografsku regiju dalekog istoka a obuhvata i teritoriju današnje Malezije i Tajlanda, uočava se da populacije ovih zemalja u odnosu na populaciju ispitanika Vojvodine imaju značajno veću zastupljenost Le(a+b+) fenotipa među svojim stanovništvom. Ipak fenotip Le (a+b+) prisutan je kod oko 3% ispitanika populacije Vojvodine, dok isti fenotip Le(a+b+) nije zabeležen među drugim evropskim populacijama u kojima je sprovedeno određivanje Lewis fenotipa (razmatrane su populacije jugoistočne Evrope, Grčke- Makedonije). Tvrdnja da različiti faktori imaju uticaj na zastupljenost Lewis fenotipa među različitim rasama, etničkim grupama kao i određenim geografskim područjima, ogleda se na primeru Indijanaca u Americi (Maya) među kojima je u ispitivanoj populaciji fenotip Le(a-b+) zabeležen kod 78,79% ispitanika, Le (a+b-) zabeležen je kod svega 0,55% ispitanih, a gen za Lewis fenotip nije imalo oko 20% ispitanih Maya (**Tabela 8**).

Poređenjem populacije oblasti Thrace koja pripada jugoistočnoj Evropi a prostire se na delovima teritorije Grčke, Bugarske i Turske i zdravih ispitanika Vojvodine u pogledu fenotipa Lewis, nije uočena statistički značajna razlika u distribuciji ni jednog od četiri Lewis fenotipa između posmatranih populacija. Ovu pojavu možemo razumeti u kontekstu istorijskih dešavanja i teritorijalne bliskosti što svakako ima uticaj na genetiku analiziranih naroda (350, 351). Treba istaći da analizom populacija koje naseljavaju različite oblasti Grčke (**Mapa 1**) i zdrave populacije Vojvodine, primećujemo da ispitanici pojedinih Grčkih oblasti pokazuju statistički značajnu razliku u distribuciji Lewis fenotipa u odnosu na populaciju naših ispitanika, dok stanovnici drugih Grčkih oblasti nemaju statistički značajnu razliku u distribuciji Lewis fenotipa u odnosu na našu ispitanu populaciju (**Tabela 8**), što samo dodatno potvrđuje mogućnost da na Lewis fenotip pored genetskih faktora uticaj mogu imati i faktori koji potiču iz spoljašnje sredine.

Spondiloartropatije „kao tiha“ epidemija danas zauzimaju značajno mesto u zdravstvenoj zaštiti. Podaci pokazuju da ankilozirajući spondilitis, kao bolest iz grupe seronegativnih spondiloartropatija, iziskuje značajne troškove, kako direktne finansijske koji uključuju lekove, ambulantne tretmane, lečenje u hospitalnim uslovima tako i indirektno kao što su smanjena radna sposobnost i sledstveno odsustvoanje sa posla (352-362).

Postavljanje tačne dijagnoze oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija može predstavljati problem zbog odsustva dovoljno jasnih dijagnostičkih kriterijuma (363).

Razvoj na polju kliničkog rada i naučnog istraživanja spondiloartropatija pokazuje potrebu razvoja nove strategije koja za cilj treba da ima postavljanje rane dijagnoze i utvrđivanje kriterijuma za praćenje toka bolesti u kliničkim studijama. Postoji kašnjenje od 5-6 godina između pojave prvih simptoma spondiloartropatije i postavljanja dijagnoze, posebno kod žena, u mlađem životnom dobu i kod osoba koje su nosioci HLA-B27 negativnog fenotipa (364, 365). Razlog za odlaganje postavljanja dijagnoze može biti odsustvo razmišljanja lekara u pravcu oboljenja iz grupe spondiloartropatija ali isto tako i posledica odsustva nedovoljno jasnih kriterijuma koji bi omogućili da se napravi razlika između bola u zglobovima koji nastaje kao posledica inflamatornog procesa u odnosu na bol mehaničke prirode. Relativno kasno pojavljivanje radioloških znakova oboljenja posledica je „podmukle“ prirode spondiloartropatija (366).

Većina reumatoloških oboljenja nema jedinstvene i specifične dijagnostičke testove, a kriterijumi koji se široko primenjuju za postavljanje dijagnoze preuzeti su iz kliničkih studija koje su za cilj imale formiranje homogene grupe ispitanika.

Ove činjenice navode nas na zaključak da broj obolelih od seronegativnih spondiloartropatija prevazilazi broj onih kojima je dijagnoza postavljena odnosno potvrđena. Svakodnevni rad lekara podrazumeva pravovremenu dijagnozu artropatija, odgovarajući izbor terapije, odluku o započinjanju terapije i praćenje terapijskog odgovora. Danas je poznato da veliki broj faktora spoljašnje sredine zajedno sa genetskom predispozicijom učestvuje u patogenezi spondiloartropatija pri čemu se procenjuje da je do danas identifikovano samo 29% naslednih faktora koji utiču na pojavu ankilozirajućeg spondilitisa. Ako se tome doda podatak da određivanje fenotipa HLA-B27 učestvuje sa oko 25% naslednosti a ostalih 42 gena čine još dodatnih 4% naslednih faktora (257), proizilazi zaključak da genetsku osnovu spondiloartropatija tek treba ispitati.

Smatramo da postoji potreba što ranije identifikacije osoba sa predispozicijom za razvoj oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija kako bi se mogla doneti ispravna odluka o momentu započinjanja i vrsti terapije koja bi se primenila. Istraživanje u okviru ove doktorske teze je vođeno idejom da se na osnovu fenotipa Lewis kao biohemijskog markera, doprinese efikasnijoj identifikaciji osoba koje imaju rizik za razvoj seronegativnih spondiloartropatija. Za potrebe ovog rada u ispitivanje je uključeno ukupno 213 ispitanika oba pola koji su ispunjavali kriterijume za uključivanje u ispitivanje. Analiza rezultata pojedinih parametara praćenih tokom

ispitivanja vršena je između dve različite grupe ispitanika, dok su rezultati određenih parametara analizirani između članova iste grupe ispitanika.

Analizom dobijenih rezultata uočava se da među osobama kontrolne grupe zdravih ispitanika veću zastupljenost imaju osobe muškog pola 74 (71,84%) u odnosu na osobe ženskog pola koje su u ovoj grupi ispitanika zastupljene sa 29 ispitanica odnosno 28,15% (**Grafikon 1**). Objašnjenje za veći broj muškaraca među dobrovoljnim davaocima krvi naše ispitivane populacije verovatno su multifaktorijalna i posledica medicinskih i socijalnih uticaja. Kada se posmatra polna zastupljenost ispitanika obolelih od seronegativnih spondiloartropatija uočava se da je u ukupnom uzorku od 110 ispitanika, njih 47% bilo muškog pola a da je 53% bilo ženskog pola (**Grafikon 5**). U našem istraživanju ispitanici oboleli od seronegativnih spondiloartropatija češće su bili ženskog pola za razliku od polne zastupljenosti u nekim drugim istraživanjima (367).

Osobe krvne grupe B pokazuju povećanu sklonost prema infektivnim agensima koji dovode do reaktivnog artritisa (368). Osim toga uloga ABO krvne grupe u određivanju normalne bakterijske flore gastrointestinalnog trakta posebno je izražena kod ABH sekretora. Pošto ABH sekretorni status i ABO krvna grupa određuju prisustvo i specifičnost A, B i H antigena u humanom intestinalnom sekretu, time utiču i na bakterijsku floru koja će naseliti digestivni trakt. Ovo nastaje pošto su određene bakterije digestivnog trakta sposobne da produkuju enzime koji im omogućuju da terminalne šećere krvnih grupa koriste u ishrani (106).

Krvnu grupu B od ukupnog broja ispitanika koji su sudelovali u ispitivanju imalo je 14,08 %. U grupi ispitanika zdrave populacije B krvnu grupu imalo je 40% ispitanika, dok je u grupi ispitanika bolesne populacije B krvna grupa bila prisutna kod 60% ispitanika (**Tabela 19**). Rezultati našeg ispitivanja pokazali su da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji krvnogrupnog sistema ABO između populacije obolelih i kontrolne populacije ispitanika što je u saglasnosti sa literaturnim navodima (128).

Poređenjem rezultata distribucije sekretornog statusa u grupama zdravih i bolesnih ispitanika rezultati našeg istraživanja pokazali su da 10,68% ispitanika zdrave populacije pripada ne sekretorima a 89,32% sekretorima (**Tabela 5**), što se razlikuje od literaturnih podataka da je nesekretora oko 20% u beloj rasi (369). U grupi ispitanika obolelih od seronegativnih spondiloartropatija 16,36% ispitanika bili su nesekretori a 83,64% sekretori (**Tabela 13**). Pošto smo na osnovu dobijenih rezultata utvrdili da je relativni rizik (RR) veći od 1, utvrdili smo

postojanje udruženosti nesekretornog statusa i bolesti iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Obzirom da odds ratio iznosi 1,63, to nam ukazuje da nesekretori imaju 1,63 puta veći rizik za oboljevanje od seronegativnih spondiloartropatija u odnosu na zdravu populaciju ispitanika. Određivanjem atributivnog rizika došli smo do zaključka da u ispitivanoj populaciji obolelih od seronegativnih spondiloartropatija procenat obolelih bi bio manji za 19,35% da su svi ispitanici bolesne populacije bili sekretori. To sve ukazuje da nesekretorstvo predstavlja rizičini faktor za razvoj seronegativnih spondiloartropatija. Rezultati našeg istraživanja su u skladu sa rezultatima istraživanja koje su sproveli Shinebaum i saradnici a koji su utvrdili značajno veću prevalencu nesekretora među osobama obolelim od seronegativnih spondiloartropatija (161).

Time što smo dokazali udruženost spondiloartropatija i nesekretorstva putem  $RR > 1$ , pokazali smo veću prevalencu nesekretorstva među osobama sa seronegativnim artropatijama.

Kod nekih ABH nesekretora (poznati kao delimični ili slabi sekretori), postoji određena forma A ili B krvnogrupne supstance u salivi. Ipak kvalitet i kvantitet ovih supstanci suštinski je smanjen čime ove osobe imaju predispoziciju za razvoj sličnih funkcionalnih poremaćaja koji nastaju kod nesekretora krvnogrupne supstance (253, 254). Zato nisu neočekivani dobijeni rezultati koji pokazuju da postoji statistički značajna razlika u distribuciji sekretornog statusa između populacije obolelih nesekretora i “slabih” sekretora Le (b) fenotipa u odnosu na populaciju zdravih ispitanika (**Tabela 14**). Smanjena ekspresija Lewis (b) antigena, doprinoseći je faktor razvoja seronegativnih spondiloartropatija, zbog čega smanjenu ekspresiju Lewis (b) antigena kao i nesekretorstvo treba uzeti kao dijagnostički kriterijum koji doprinosi dijagnostikovanju spondiloartropatija.

Zanimljivi su literaturni navodi o promeni Lewis fenotipa pod uticajem bolesti. Između ostalog promena Lewis fenotipa zabeležena je pod uticajem nekoliko epitelnih tumora (370, 371) Yazawa i saradnici uočili su nepodudarnost fenotipa Lewis na eritrocitima u odnosu na nalaz Lewis fenotipa određenog ispitivanjem salive kod 11 od ukupno 18 ispitanih pacijenata sa tumorom digestivnog trakta uz povećanu zastupljenost fenotipa Le (a-b-) (324). Ako se ovome doda podatak da se tanko crevo smatra mestom sinteze antigena sistema Lewis (80, 325) i da postoji klinička povezanost između crevne i zglobne upale kod spondiloartropatija, pri čemu gastrointestinalni trakt može igrati značajnu ulogu u patogenezi seronegativnih spondiloartropatija (271), razumljiva je naša zainteresovanost da utvrdimo da li oboljenja iz

grupe seronegativnih spondiloartropatija utiču na promenu Lewis fenotipa. Analizom naših rezultata, u grupi zdravih ispitanika od 103 ispitanih ni kod jedne ispitanice osobe nije registrovana smanjena ekspresija Lewis (a-b+) fenotipa dok je u grupi ispitanika bolesne populacije, kod sedam ispitanika uočena smanjena ekspresija fenotipa Le (a-b+) (**Tabela 23**). Možemo zaključiti da pod uticajem seronegativnih spondiloartropatija dolazi do izmene Lewis fenotipa pošto smanjena ekspresija fenotipa (a-b+) nije evidentirana u grupi zdravih ispitanika.

Postoje podaci da se ankilozirajući spondilitis manifestuje u ranijem životnom dobu kod osoba koje su HLA-B27 pozitivne u odnosu na osobe koje ne poseduju HLA-B27 fenotip (372). HLA-B27 pokazuje udruženost javljanja sa bolestima iz grupe seronegativnih spondiloartropatija, ali ovaj fenotip nije uvek prisutan kod osoba koje imaju neko od oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Vođeni ovim saznanjem uz pretpostavku o postojanju udruženosti Lewis fenotipa odnosno sekretornog statusa sa seronegativnim spondiloartropatijama, analizirali smo distribuciju sekretornog statusa u odnosu na fenotip HLA-B27 među našim ispitanicima bolesne populacije (**Tabela 18**). Analizom dobijenih rezultata uočeno je da 81% ispitanika bolesne populacije, nema pozitivan HLA-B27 fenotip a da 19% ispitanika sa seronegativnim spondiloartropatijama ima HLA-B27 fenotip.

Ovome treba dodati da vrednost relativnog rizika posmatrana među neseekretorima bolesne populacije pokazuje da je verovatnoća pojave oboljenja iz grupe seronegativnih spondilartropatija veća za 11% kod neseekretora fenotipa HLA-B27<sup>-</sup> u odnosu na obolele neseekretore fenotipa HLA-B27<sup>+</sup>. (**Tabela 18**). Iz prikazanih rezultata proizilazi da bi određivanje Lewis fenotipa i sekretornog statusa (neseekretorstva), bio zaseban dijagnostički parameter koji bi se uz određivanje fenotipa HLA-B27 kao dominantne analize koja se sada primenjuje na polju dijagnostike artropatija, doprinelo otkrivanju većeg procenata osoba koje imaju predispoziciju ili su pod sumnjom za razvoj oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Rezultati ove studije ukazuju da bi ispitivanje neseekretorstva uticalo na raniju dijagnostiku oboljenja iz grupe artropatija.



## 9. ZAKLJUČAK

Na osnovu postavljenih ciljeva ispitivanja značaja Lewis fenotipa i sekretornog statusa, a u skladu sa postavljenim hipotezama može se zaključiti:

- Postoji udruženost nesekretornog statusa i bolesti iz grupe seronegativnih spondiloartropatija. Osobe koje su nesekretori imaju 1,63 puta veći rizik (veću učestalost) oboljevanja od seronegativnih spondiloartropatija u odnosu na zdravu populaciju ispitanika.
- Smanjena ekspresija Lewis antigena (b) doprinoseći je faktor razvoja seronegativnih spondiloartropatija, zbog čega slabo sekretorstvo kao i nesekretorstvo treba uzeti kao dijagnostički kriterij koji doprinosi dijagnostikovanju spondiloartropatija.
- Pod uticajem seronegativnih spondiloartropatija dolazi do izmene Lewis fenotipa.
- Utvrđeno je da je vjerovatnoća pojave oboljenja iz grupe seronegativnih spondiloartropatija među obolelima veća za 11% kod nesekretora fenotipa HLA-B27<sup>-</sup> u odnosu na obolele nesekretore fenotipa HLA-B27<sup>+</sup>.
- Dobijeni rezultati istraživanja ukazuju na mogućnost i potrebu daljeg istraživanja na polju sekretornog statusa odnosno Lewis fenotipa sa ciljem dobijanja novih podataka o uticaju navedenih faktora (sekretorni status, Lewis fenotip) na fiziološke i patofiziološke mehanizme u organizmu.

## 10. LITERATURA

1. Jovanović Srzentić S. Eritrocitne krvne grupe. In: Jovanović Srzentić S, Veljković D. eds. Imunobiološki i klinički značaj krvnih grupa. Beograd: Intra. Net Communication: 2009. p. 89-232.
2. Daniels G. Human blood groups. 3rd ed. New Jersey: Wiley Blackwell; c2013. p.1.
3. Oriol R, Le Pendu J, Mollicone R. Genetics of ABO, H, Lewis, X and related antigens. Vox Sang. 1986;51(3):161-171.
4. De Motu Cordis. 2007 [cited 2013 August 18]; Available from: <http://special.lib.gla.ac.uk/exhibns/month/june2007.html>.
5. Ravdin IS, Glenn E. The Transfusion of Blood with Report of 186 Transfusions. American Journal of the Medical Sciences. 1921;161(5):705-722.
6. Pepys S. Samuel Pepys Diary. [cited 2013 July 18]; Available from: <http://www.pepys.info/1667/1667nov.html>.
7. Lederer SE. Flesh and Blood. New York: Oxford University Press, Inc.; 2008.224 p.
8. Karl Landsteiner, "Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes," Wiener Klinische Wochenschrift 14 (1901): 1132–34. The following year, Alfred von Decastello and Adriano Sturli, Landsteiner's student, identified the fourth blood type, AB. Ray Owen, "Karl Landsteiner and the First Human Marker Locus," Genetics 155, no. 3 (2000): 995–98; Hans Peter Schwarz and Friedrich Dörner, "Karl Landsteiner and His Major Contributions to Haematology," British Journal of Haematology 121, no. 4 (2003): 556–565.
9. Farhud D, Dariush. A History of human blood groups. Iran J Public Health. 2013; 42(1): 1–6.

10. Epstein AA, Ottenberg R. Simple Method of Performing Serum Reactions. Proceedings of the NY Pathology Society. 1908;8:117-123.
11. Landsteiner K. The Specificity of Serological Reactions. Baltimore: C. C. Thomas, 1936.
12. Owen R. "Karl Landsteiner and the First Human Marker Locus," 998; Schwarz and Dorner, "Karl Landsteiner and His Major Contributions to Haematology, British journal of hematology 2003;121(4):556-565.
13. Owen R. "Karl Landsteiner and the First Human Marker Locus". Genetics 2000; 155:995-998.
14. Morgan WT, Watkins WM: Unravelling the biochemical basis of blood group ABO and Lewis antigenic specificity. Glycoconj J. 2000;17(7-9):501-530.
15. Radović M. Imunološki i klinički značaj krvnih grupa. U: Stefanović S. Hematologija II, dopunjeno i prerađeno izdanje. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga , 1989; p.523-556.
16. Watkins WT. The ABO blood group system: Historical background. Trnsfus Med 2001;11(4):243-265.
17. Cooling L. ABO, H and Lewis Blood groups and structurally Related antegens. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hyllier CD.eds. Technical manual. 16<sup>th</sup> ed. AABB, Bethesda, 2008. p.361-383.
18. Howard P. ABO and H. Blood Group Systems and Secretor Status. In: Blaney KD, Howard PR. Basic & Applied Concepts of Imunohematology. St Louis: Mosby, 2000;77-106.

19. Klein HG, Anstee DJ. ABO, Lewis and O groups and Ii antigens. In: Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 11<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. p 115-162
20. Daniels G. ABO, AO, Hh and Lewis system. In; Daniels G. Human Blood Groups. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 7-98.
21. Daniels G, Bromilow I. The ABO blood groups. In: Essential Guide to Blood Groups. Blackwell Publishing Ltd(UK); 2007; p.20-32.
22. Brajović-Vučičević Z. Krvne grupe i njihov klinički značaj. U: Balint B. Transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, 2004; p.69-137.
23. Marionneau S, Cailleau-Thomas A, Rogher J et al. ABH and Lewis histoblood group antigens: A model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a hanging world. *Biochimie* 2001;83(7):565-573.
24. Holgersson J, Breimer ME, Samuelsson BE. Basic Biochemistry of cell surface carbohydrates and aspects of the tissue distribution of histo-blood group ABH and related glycosphingolipids. *APMIS* 1992; 100 (Suppl. 27):18-27.
25. Hosoi E, Hirose M, Hamano S. Expression levels of H-type  $\alpha(1,2)$ -fucosyltransferase gene and histo-blood group ABO gene corresponding to hematopoietic cell differentiation. *Transfusion* 2003;43(1):65-71.
26. Coling L. Carbohydrate blood group antigens and collections. In: Petrides M, Stack G, Cooling L, Maes L. Practical guide to transfusion medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Bethesda: AABB Press, 2007;59-91.
27. Le Pendu J, Cartron JP, Lemieux RU, Oriol R. The presence of at least two different H-blood-group-related b-D-Gal a-2-l-fucosyltransferases in human serum and the genetics of blood group H substances. *Am J Hum Genet* 1985; 37(4): 749-760.

28. Kumazaki T, Yoshida A. Biochemical evidence that secretor gene, Se, is a structural gene encoding a specific fucosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(13): 4193-4197.
29. Betteridge A, Watkins WM. Variant forms of  $\alpha$ -2-l-fucosyltransferase in human submaxillary glands from blood group ABH 'secretor' and 'non-secretor' individuals. *Glycocon J* 1985;2(1):61-78.
30. Henry S, Mollicone R, Fernandez P et al. Molecular basis for erythrocyte Le (a+b+) and salivary ABH partial- secretor phenotypes: expression of a FUT2 secretor allele with an AAT mutation at nucleotide 385 correlates with reduced  $\alpha$ (1,2)fucosyltransferase activity. *Glycocon J* 1996;13(6):985-93.
31. Koda Y, Soejima M, Kimura H. Structure and expression of H-type GDP-L-fucose:b-d-galactoside 2-a-L-fucosyltransferase gene (FUT1). *J Biol Chem* 1997;272(11):7501-5705.
32. Koda Y, Soejima M, Wang B, Kimura H. Structure and expression of the gene encoding 2-a-L-fucosyltransferase (FUT2). *Eur J Biochem* 1997;246(3):750-755.
33. Rouquier S, Lowe JB, Kelly RJ et al. Molecular cloning of a human genomic region containing the H blood group  $\alpha$ (1,2)fucosyltransferase gene and two H locus related DNA restriction fragments: isolation of a candidate gene for the human Secretor blood group locus. *J Biol Chem* 1995;270(9):4632-4639.
34. Kelly RJ, Rouquier S, Giorgi D, Lennon GG, Lowe JB. Sequence and expression of a candidate for the human Secretor blood group  $\alpha$ (1,2)fucosyltransferase gene (FUT2): homozygosity for an enzyme-inactivating nonsense mutation commonly correlates with the nonsecretor phenotype. *J Biol Chem* 1995;270(9):4640-4649.

35. Ikin EW, Prior M, Race RR, Taylor GL. The distribution in the A1, A2, B, O, P blood groups in England. *Ann Eng.* 1939;9(4):409-411.
36. Kunkel HG, Rockey JH.  $\beta$ 2 and other immunoglobulins in isolated anti-A antibodies. *Proc Soc Exp Biol NY.* 1963;113(2):278-281.
37. Filitti-Wurmes S. Natural antibodies and immune antibodies of human ABO group system. *Biochimie* 1976;58(11-12):1345-1353.
38. Boettcher B. ABO blood group agglutinins in saliva. *Acta haematol* 1967; 38(6):351-360.
39. Jakobowicz R, Ehrilch M, Graydon JJ. Crossreacting antibody and saliva agglutinins. *Vox Sang* 1967; 12(5):340-353.
40. Gershowitz H, Behrman SJ, Neel JV. Hemagglutinins in uterine secretions. *Science* 1958; 128(3326):719-720.
41. Pwen RD. Heterogeneity of antibodies to the human blood groups in normal and immune sera. *J immunol* 1954; 73(1):29-39.
42. Morgan WTJ, Van Heyningen R. The occurrence of A, B and O blood group substances in pseudo-mucinous ovarian cystic fluids. *Br J Exp Path* 1944; 25(1): 5–15.
43. Watkins WM. Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis and P blood group system. In: Harris H, Hirschhorn K. eds. *Advances in human genetics*. New York: Plenum Press 1981.p. 1-136.
44. Kobata A. Isolation of oligosaccharides from human milk. *Methods Enzymol* 1972; 28: 262-271.
45. Lundblad A. Oligosaccharides from human urine. *Methods Enzymol* 1978;50:226-235.

46. Bhende YM, Deshpande CK, Bhatia HM et al. A 'new' blood-group character related to the ABO system. *Lancet* 1952 May 3;1(6714):903-904.
47. Shenkel-Brunner, Tuppy H. Enzymes for human gastric mucosa conferring blood group A and B specificities upon erythrocytes. *Eur J Biochem* 1970;17(2):218-222.
48. Race C, Watkins WM. The action of blood group B genespecified  $\alpha$ -galactosyltransferase from human serum and stomach mucosal extracts on group O and „Bombay“  $O_h$  erythrocytes. *Vox Sang* 1972;23(5):385-401.
49. Kogure T, Furukawa K. Enzymtic conversion of human group O red cells in to group B active cells by  $\alpha$ -D- galactosyltransferases of sera and salivas from group B and its variant types. *J Immunogenet* 1976;3(3):147-154.
50. Pacuzska T, Koscielak J. The biosynthesis of blood group B character on human O-erythrocytes by a soluble  $\alpha$ - galactosyltransferase from milk. *Eur J Biochem* 1972;31(3):574-577.
51. Mulet C, Cartron JP, Badet J, Salmon C. Activity of 2-a- L-fucosyltransferase in human sera and red cell membranes. *FEBS Lett* 1977;84(1):74-78.
52. Schenkel-Brunner H, Chester MA, Watkins WM.  $\alpha$ -L fusosyltransferases in human serum from donors of different ABO, secretor and Lewis blood-group phenotypes. *Eur J Biochem* 1972;30(2):269-277.
53. Cartron JP, Mulet C. Etude des activités 2- $\alpha$ -l fucosyltransférasiques des sérums et des membranes érythrocytaires de sujets 'Bombay' et 'Para-Bombay. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21(1):29-46.

54. Race C, Watkins WM. The enzymic products of the human A and B blood group genes in the serum of 'Bombay' Oh donors. *FEBS Lett* 1972;27(1):125–130.
55. Schenkel-Brunner H, Prohaska R, Tuppy H. Action of glycosyl transferases upon 'Bombay' (Oh) erythrocytes. *Eur J Biochem* 1975 Aug 15;56(2):591-594.
56. Le Pendu J, Clamagirand-Mulet C, Cartron J-P et al. H deficient blood groups of Réunion Island. III. a-2-lfucosyltransferase activity in sera of homozygous and heterozygous individuals. *Am J Hum Genet* 1983;35(3):497–507.
57. Yamakami K. The individuality of semen, with reference to its property of inhibiting specifically isohemoagglutination. *J Immunol* 1926;12(3):185–189.
58. Buchanan DJ, Rapoport S. Composition of meconium: serological study of blood-group-specific substances found in individual meconiums. *Proc Soc Exp Biol NY* 1951;77(1):114–117.
59. Clausen H, Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang* 1989;56(1):1-20.
60. Lloyd KO, Kabat EA, Licerio E. Immunochemical studies on blood groups. XXXVIII. Structures and activities of oligosaccharides produced by alkaline degradation of blood-group Lewis substance: proposed structure of the carbohydrate chains of human blood-group A, B, H, Lea, and Leb substances. *Biochemistry* 1968;78(8):2967–2990.
61. Donald ASR. A-active trisaccharides isolated from A1 and A2 blood-group-specific glycoproteins. *Eur J Biochem* 1981 Nov;120(2):243-249.
62. Szulman AE. The ABH antigens in human tissues and secretions during embryonal development. *J Histochem Cytochem* 1965;13(8):752–754.



63. Formaggio TG. Development and secretion of blood group factor O in the newborn. *Proc Soc Exp Biol NY* 1951;76(3):554–556.
64. Le Pendu J, Oriol R, Lambert F, Dalix AM, Lemieux RU. Competition between ABO and Le gene specified enzymes. II. Quantitative analysis of A and B antigens in saliva of ABH non-secretors. *Vox Sang* 1983;45(6):421-425.
65. Fiori A, Giusti GV, Panari G. Gel filtration of ABH blood group substances. II. Individual gel chromatographic patterns of ABH substances in the saliva of secretors and non-secretors. *J Chromatogr A* 1971; 55(2):351–363.
66. Mohn JF, Owens NA, Plunkett RW. The inhibitory properties of group A and B non-secretor saliva. *Immunol Commun* 1981;10(2):101-126.
67. Le Pendu J, Lemieux RU, Lambert F, Dalix A-M, Oriol R. Distribution of H Type 1 and H Type 2 antigenic determinants in human sera and saliva. *Am J Hum Genet* 1982; 34(3): 402–415.
68. Holburn AM, Masters CA. The radioimmunoassay of serum and salivary blood group A and Lea glycoproteins. *Br J Haematol* 1974;28(2):157–167.
69. Oriol R, Danilovs J, Hawkins BR. A new genetic model proposing that the Se gene is a structural gene closely linked to the H gene. *Am J Hum Genet* 1981; 33(3): 421–431.
70. Daniels G. *Human blood groups*. 3rd ed. New Jersey: Wiley Blackwell; c2013.p.19.
71. Clamagirand-Mulet C, Badet J, Cartron JP. Isoelectrofocusing pattern of 2-a-l, 3-a-l and 4-a-lfucosyltransferases from human milk and serum. *FEBS Lett* 1981;126(1):123–126.
72. Cartron JP, Mulet C, Bauvois B, Rahuel C, Salmon C. ABH and Lewis glycosyltransferases in human red cells, lymphocytes and platelets. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23(3):271–282.

73. Greenwell P, Ball MG, Watkins WM. Fucosyltransferase activities in human lymphocytes and granulocytes: blood group H-gene-specified  $\alpha$ -2 L-fucosyltransferase is a discriminatory marker of peripheral blood lymphocytes. *FEBS Lett* 1983;164(2):314-317.
74. Cameron HS, Szczepaniak D, Weston BW. Expression of human chromosome 19p  $\alpha$ (1,3)-fucosyltransferase genes in normal tissues: alternative splicing, polyadenylation, and isoforms. *J Biol Chem* 1995 Aug 25;270(34):20112-20122.
75. Oriol R, Le Pendu J, Sparkes RS et al. Insights into the expression of ABH and Lewis antigens through human bone marrow transplantation. *Am J Hum Genet* 1981 Jul; 33(4): 551–560.
76. Blajchman MA, King DJ, Heddle NM et al. Association of renal failure with Lewis incompatibility after allogeneic bone marrow transplantation. *Am J Med* 1985(1);79:143–146.
77. Oriol R, Cartron JP, Cartron J, Mulet C. Biosynthesis of ABH and Lewis antigens in normal and transplanted kidneys. *Transplantation* 1980;29(3):184-188.
78. Dzik WH, Mondor LA, Maillet SM, Jenkins RL. ABO and Lewis blood group antigens of donor origin in the bile of patients after liver transplantation. *Transfusion* 1987;27(5):384-387.
79. Hanfland P, Graham HA. Immunochemistry of the Lewis-blood-group system: partial characterization of Lea<sup>-</sup>, Leb<sup>-</sup>, and H-Type 1 (L<sup>e</sup>H)-blood-group active glycosphingolipids from human plasma. *Arch Biochem Biophys* 1981;210 (1):383–395.
80. Evans DAP, Donohoe WTA, Hewitt S, Linaker BD. Lea blood group substance degradation in the human alimentary tract and urinary Lea in coeliac disease. *Vox Sang* 1982;43(4):177–187.

81. Ramsey G, Fryer JP, Teruya J, Sherman LA. Lewis (a-b-) red blood cell phenotype in patients undergoing evaluation for small intestinal transplantation. *Transfusion* 2000;40 (Suppl.):114S [Abstract].
82. Ramsey G, Crews L. conversion of RBC phenotype from Le(a-b-) to Le(a-b+) after intestinal transplant. *Transfusion* 2006;46(Suppl.):130A [abstract].
83. Le Pendu J, Lemieux RU, Dalix AM, Lambert F, Oriol R. Competition between ABO and Le gene specified enzymes. I. A Lewis related difference in the amount of A antigen in saliva of A1 and A2 secretors. *Vox Sang* 1983;45(5):349-358.
84. Henry S, Mollicone R, Fernandez P et al. Molecular basis for erythrocyte Le (a+b+) and salivary ABH partial- secretor phenotypes: expression of a FUT2 secretor allele with an AAT mutation at nucleotide 385 correlates with reduced a(1,2)fucosyltransferase activity. *Glycocon J* 1996;13(6):985-993.
85. Yu L-C, Yang Y-H, Broadberry RE, et al. Correlation of a missense mutation in the human Secretor  $\alpha$ 1,2 fucosyltransferase gene with the Lewis(a+b+) phenotype: a potential molecular basis for the weak Secretor allele (Se<sup>w</sup>). *Biochem J* 1995; 312(2): 329-332.
86. Henry S, Mollicone R, Fernandez P et al. Homozygous expression of a missense mutation at nucleotide 385 in the FUT2 gene associates with the Le (a+b+) partialsecretor phenotype in an Indonesian family. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;219(3):675-678.
87. Sturgeon P, Arcilla MB. Studies on the secretion of blood group substances. I. Observations on the red cell phenotype Le (a+b+x+). *Vox Sang* 1970;18(4):301-322.
88. Henry SM, Benny AG, Woodfield DG. Investigation of Lewis phenotypes in Polynesians: evidence of a weak secretor phenotype. *Vox Sang* 1990;58(1):61-66.

89. Prieels J-P, Monnom D, Dolmans M, Beyer TA, Hill RL. Co-purification of the Lewis blood group N-acetylglucosaminide  $\alpha 1 \rightarrow 4$  fucosyltransferase and an N-acetylglucosaminide  $\alpha 1 \rightarrow 3$  fucosyltransferase from human milk. *J Biol Chem* 1981;256(20):10456–10463.
90. Clamagirand-Mulet C, Badet J, Cartron JP. Isoelectrofocusing pattern of 2- $\alpha$ -L, 3- $\alpha$ -L and 4-a-L fucosyltransferases from human milk and serum. *FEBS Lett* 1981;126(1):123–126.
91. Johnson PH, Yates AD, Watkins WM. Human salivary fucosyltransferases: evidence for two distinct a-3-lfucosyltransferase activities one of which is associated with the Lewis blood group Le gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1981;100(4):1611–1618.
92. Costache M, Apoil P-A, Cailleau A et al. Evolution of fucosyltransferase genes in vertebrates. *J Biol Chem* 1997;272(47):29721-29728.
93. Xu Z, Vo L, Macher BA. Structure-function analysis of human  $\alpha 1,3$ -fucosyltransferase: amino acids involved in acceptor substrate specificity. *J Biol Chem* 1996; 271(15):8818–8823.
94. Cooper RA. Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease. *N Engl J Med* 1977;297(7):371-377.
95. Marcus DM, Cass LE. Glycosphingolipids with Lewis blood group activity: uptake by human erythrocytes. *Science* 1969;164(3879):553-555.
96. Triadou N, Audran E, Rousset M, et al. Relationship between the secretor status and the expression of ABH blood group antigenic determinants in human intestinal brush-border membrane hydrolases. *Biochim Biophys Acta* 1983;761(3):231-236.

97. Peter J. D'Adamo, ND, and Gregory S. Kelly, ND. Metabolic and Immunologic Consequences of ABH Secretor and Lewis Subtype Status. *Alternative Medicine Review*. 2001; 6(4): 390-405.
98. Domar U, Hirano K, Stigbrand T. Serum levels of human alkaline phosphatase isozymes in relation to blood groups. *Clin Chim Acta* 1991;203(2-3):305-313.
99. Mehta NJ, Rege DV, Kulkarni MB. Total serum alkaline phosphatase (SAP) and serum cholesterol in relation to secretor status and blood groups in myocardial infarction patients. *Indian Heart J* 1989;41(2):82-85.
100. Tibi L, Collier A, Patrick AW, et al. Plasma alkaline phosphatase isoenzymes in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1988;177(2):147-155.
101. Agbedana EO, Yeldu MH. Serum total, heat and urea stable alkaline phosphatase activities in relation to ABO blood groups and secretor phenotypes. *Afr J Med Med Sci* 1996;25(4):327-329.
102. Matsushita M, Irino T, Stigbrand T, et al. Changes in intestinal alkaline phosphatase isoforms in healthy subjects bearing the blood group secretor and non-secretor. *Clin Chim Acta* 1998;277(1):13-24.
103. Stolbach LL, Krant MJ, Fishman WH. Intestinal alkaline phosphatase in chylous effusion: role of ABO blood group and secretor status. *Enzymologia* 1972;42(6):431-438.
104. Walker BA, Eze LC, Tweedie MC, Evans DA. The influence of ABO blood groups, secretor status and fat ingestion on serum alkaline phosphatase. *Clin Chim Acta* 1971;35(2):433-444.
105. Bayer PM, Hotschek H, Knoth E. Intestinal alkaline phosphatase and the ABO blood group system—a new aspect. *Clin Chim Acta* 1980;108(1):81-87.

106. Hoskins LC, Boulding ET. Degradation of blood group antigens in human colon ecosystems. II. A gene interaction in man that affects the fecal population density of certain enteric bacteria. *J Clin Invest* 1976; 57(1): 74–82.
107. Viverge D, Grimmonprez L, Cassanas G, et al. Discriminant carbohydrate components of human milk according to donor secretor types. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11(3):365-370.
108. Orstavik KH, Kornstad L, Reisner H, Berg K. Possible effect of secretor locus on plasma concentration of factor VIII and von Willebrand factor. *Blood* 1989;73(4):990-993.
109. Wahlberg TB, Blomback M, Magnusson D. Influence of sex, blood group, secretor character, smoking habits, acetylsalicylic acid, oral contraceptives, fasting and general health state on blood coagulation variables in randomly selected young adults. *Haemostasis* 1984;14(4):312-319.
110. Orstavik KH. Genetics of plasma concentration of von Willebrand factor. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1990;117(4):527-531.
111. Green D, Jarrett O, Ruth KJ, et al. Relationship among Lewis phenotype, clotting factors, and other cardiovascular risk factors in young adults. *J Lab Clin Med* 1995;125(3):334-339.
112. Arneberg P, Kornstad L, Nordbo H, Gjermo P. Less dental caries among secretors than among non-secretors of blood group substance. *Scand J Dent Res* 1976;84(6):362-366.
113. Patrick AW, Collier A. An infectious aetiology of insulin-dependent diabetes mellitus? Role of the secretor status. *FEMS Microbiol Immunol* 1989;1(6-7):411-416.

114. Peters WH, Gohler W. ABH-secretion and Lewis red cell groups in diabetic and normal subjects from Ethiopia. *Exp Clin Endocrinol* 1986;88(1):64-70.
115. Melis C, Mercier P, Vague P, Vialettes B. Lewis antigen and diabetes. *Rev Fr Transfus Immunohematol* 1978;21(4):965-971.
116. Eff C, Faber O, Deckert T. Persistent insulin secretion, assessed by plasma C-peptide estimation in long-term juvenile diabetics with a low insulin requirement. *Diabetologia* 1978;15(3):169-172.
117. Hein HO, Sorensen H, Suadicani P, Gyntelberg F. The Lewis blood group—a new genetic marker of ischaemic heart disease. *J Intern Med* 1992;232(6):481-487.
118. Ellison RC, Zhang Y, Myers RH, et al. Lewis blood group phenotype as an independent risk factor for coronary heart disease (the NHLBI Family Heart Study). *Am J Cardiol* 1999;83(3):345-348.
119. Zhiburt BB, Chepel' AI, Serebrianaia NB, et al. The Lewis antigen system as a marker of IHD risk. *Ter Arkh* 1997;69(1):29-31.
120. Slavchev S, Tsoneva M, Zakhariiev Z. The secretory type of persons who have survived a myocardial infarct. *Vutr Boles* 1989;28(2):31-34.
121. Hein HO, Sorensen H, Suadicani P, Gyntelberg F. Alcohol intake, Lewis phenotypes and risk of ischemic heart disease. The Copenhagen Male Study. *Ugeskr Laeger* 1994;156(9):1297- 1302.
122. Cruz-Coke R. Genetics and alcoholism. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1983;5(2):179-180.
123. Kojic T, Dojcinova A, Dojcinov D, et al. Possible genetic predisposition for alcohol addiction. *Adv Exp Med Biol* 1977;85A:7-24.

124. Petit JM, Morvan Y, Viviani V, et al. Insulin resistance syndrome and Lewis phenotype in healthy men and women. *Horm Metab Res* 1997;29(4):193-195.
125. Petit JM, Morvan Y, Mansuy-Collignon S, et al. Hypertriglyceridaemia and Lewis (A-B-) phenotype in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Metab* 1997;23(3):202-204.
126. Clausen JO, Hein HO, Suadicani P, et al. Lewis phenotypes and the insulin resistance syndrome in young healthy white men and women. *Am J Hypertens* 1995;8(11):1060-1066.
127. Al-Agidi SK, Shukri SM. Association between immunoglobulin levels and known genetic markers in an Iraqi population. *Ann Hum Biol* 1982;9(6):565-569.
128. Shinebaum R. ABO blood group and secretor status in the spondyloarthropathies. *FEMS Microbiol Immunol* 1989;1(6-7):389-395.
129. Grundbacher FJ. Immunoglobulins, secretor status, and the incidence of rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Hum Hered* 1972;22(4):399-404.
130. Grundbacher FJ. Genetic aspects of selective immunoglobulin A deficiency. *J Med Genet* 1972;9(3):344-347.
131. Tandon OP, Bhatia S, Tripathi RL, Sharma KN. Phagocytic response of leucocytes in secretors and non-secretors of ABH (O) blood group substances. *Indian J Physiol Pharmacol* 1979;23(4):321-324.
132. Dube VE, Tanaka M, Chmiel J, Anderson B. Effect of ABO group, secretor status and sex on cold hemagglutinins in normal adults. *Vox Sang* 1984;46(2):75-79.



133. Blackwell CC, Weir DM, Patrick AW, et al. Secretor state and complement levels (C3 and C4) in insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1988;9(3):117-119.
134. Odeigah PG. Influence of blood group and secretor genes on susceptibility to duodenal ulcer. *East Afr Med J* 1990;67(7):487-500.
135. Suadicani P, Hein HO, Gyntelberg F. Genetic and life-style determinants of peptic ulcer. A study of 3387 men aged 54 to 74 years: The Copenhagen Male Study. *Scand J Gastroenterol* 1999;34(1):12-17.
136. Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Genetic markers for stomach ulcer. A study of 3,387 men aged 54-74 years from The Copenhagen Male Study. *Ugeskr Laeger* 1998;160(35):5045- 5046.
137. Dickey W, Collins JS, Watson RG, et al. Secretor status and *Helicobacter pylori* infection are independent risk factors for gastroduodenal disease. *Gut* 1993;34(3):351-353.
138. Sumii K, Inbe A, Uemura N, et al. Multiplicative effect of hyperpepsinogenemia I and nonsecretor status on the risk of duodenal ulcer in siblings. *Gastroenterol Jpn* 1990;25(2):157-161.
139. Oberhuber G, Kranz A, Dejaco C, et al. Blood groups Lewis(b) and ABH expression in gastric mucosa: lack of inter-relation with *Helicobacter pylori* colonisation and occurrence of gastric MALT lymphoma. *Gut* 1997;41(1):37-42.
140. Su B, Hellstrom PM, Rubio C, et al. Type I *Helicobacter pylori* shows Lewis(b)-independent adherence to gastric cells requiring de novo protein synthesis in both host and bacteria. *J Infect Dis* 1998;178(5):1379-1390.

141. Alkout AM, Blackwell CC, Weir DM, et al. Isolation of a cell surface component of *Helicobacter pylori* that binds H type 2, Lewis(a), and Lewis(b) antigens. *Gastroenterology* 1997;112(4):1179-1187.
142. Klaamas K, Kurtenkov O, Ellamaa M, Wadstrom T. The *Helicobacter pylori* seroprevalence in blood donors related to Lewis (a,b) histo-blood group phenotype. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9(4):367-370.
143. Mentis A, Blackwell CC, Weir DM, et al. ABO blood group, secretor status and detection of *Helicobacter pylori* among patients with gastric or duodenal ulcers. *Epidemiol Infect* 1991;106(2):221-229.
144. Sheinfeld J, Schaeffer AJ, Cordon-Cardo C, et al. Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in women. *N Engl J Med* 1989;320(12):773- 777.
145. May SJ, Blackwell CC, Brettle RP, et al. Nonsecretion of ABO blood group antigens: a host factor predisposing to recurrent urinary tract infections and renal scarring. *FEMS Microbiol Immunol* 1989;1(6-7):383-387.
146. Stapleton A, Nudelman E, Clausen H, et al. Binding of uropathogenic *Escherichia coli* R45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood group secretor status. *J Clin Invest* 1992;90(3):965-972.
147. Jantusch BA, Criss VR, O'Donnell R, et al. Association of Lewis blood group phenotypes with urinary tract infection in children. *J Pediatr* 1994;124(6):863-868.
148. Kinane DF, Blackwell CC, Brettle RP, et al. ABO blood group, secretor state, and susceptibility to recurrent urinary tract infection in women. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982;285(6334):7-9.

149. Lomberg H, Hellstrom M, Jodal U, Svanborg Eden C. Secretor state and renal scarring in girls with recurrent pyelonephritis. *FEMS Microbiol Immunol* 1989;1(6-7):371-375.
150. Lomberg H, de Man P, Svanborg Eden C. Bacterial and host determinants of renal scarring. *APMIS* 1989;97(3):193-199.
151. Jacobson SH, Lomberg H. Overrepresentation of blood group non-secretors in adults with renal scarring. *Scand J Urol Nephrol* 1990;24(2):145-150.
152. Lomberg H, Jodal U, Leffler H, et al. Blood group non-secretors have an increased inflammatory response to urinary tract infection. *Scand J Infect Dis* 1992;24(1):77-83.
153. Blackwell CC, Weir DM, James VS, et al. Secretor status, smoking and carriage of *Neisseria meningitidis*. *Epidemiol Infect* 1990;104(2):203-209.
154. Zorgani AA, Stewart J, Blackwell CC, et al. Inhibitory effect of saliva from secretors and non-secretors on binding of meningococci to epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994;9(2):135-142.
155. Thom SM, Blackwell CC, Mac Callum CJ, et al. Non-secretion of blood group antigens and susceptibility to infection by *Candida* species. *FEMS Microbiol Immunol* 1989;1(6-7):401-405.
156. Ben-Aryeh H, Blumfield E, Szargel R, et al. Oral *Candida* carriage and blood group antigen secretor status. *Mycoses* 1995;38(9-10):355-358.
157. Blackwell CC, Aly FZ, James VS, et al. Blood group, secretor status and oral carriage of yeasts among patients with diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1989;12 (3):101-104.
158. Lamey PJ, Darwazeh AM, Muirhead J, et al. Chronic hyperplastic candidosis and secretor status. *J Oral Pathol Med* 1991;20(2):64-67.

159. Chaim W, Foxman B, Sobel JD. Association of recurrent vaginal candidiasis and secretory ABO and Lewis phenotype. *J Infect Dis* 1997;176(3):828-830.
160. Burford-Mason AP, Weber JC, Willoughby JM. Oral carriage of *Candida albicans*, ABO blood group and secretor status in healthy subjects. *J Med Vet Mycol* 1988;26(1):49-56.
161. Shinebaum R, Blackwell CC, Forster PJ, et al. Non-secretion of ABO blood group antigens as a host susceptibility factor in the spondyloarthropathies. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;294(6556):208-210.
162. Pal A, Hill M, Wordsworth P, Brown M. Secretor status and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1998;25:318-319.
163. Manthorpe R, Staub Nielsen L, Hagen Petersen S, Prause JU. Lewis blood type frequency in patients with primary Sjogren's syndrome. A prospective study including analyses for A1A2BO, Secretor, MNSs, P, Duffy, Kell, Lutheran and rhesus blood groups. *Scand J Rheumatol* 1985;14(2):159-162.
164. Toft AD, Blackwell CC, Saadi AT, et al. Secretor status and infection in patients with Graves' disease. *Autoimmunity* 1990;7(4):279- 289.
165. Dickey W, Wylie JD, Collins JS, et al. Lewis phenotype, secretor status, and coeliac disease. *Gut* 1994;35(6):769-770.
166. Heneghan MA, Kearns M, Goulding J, et al. Secretor status and human leucocyte antigens in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1996;31(10):973-976.
167. Raza MW, Blackwell CC, Molyneaux P, et al. Association between secretor status and respiratory viral illness. *BMJ* 1991;303(6806):815- 818.

168. Kauffmann F, Frette C, Pham QT, et al. Associations of blood group-related antigens to FEV1, wheezing, and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153(1):76-82.
169. Cohen BH, Bias WB, Chase GA, et al. Is ABH nonsecretor status a risk factor for obstructive lung disease? *Am J Epidemiol* 1980;111(3):285- 291.
170. Jennum P, Hein HO, Suadiciani P, et al. Snoring, family history, and genetic markers in men. The Copenhagen Male Study. *Chest* 1995;107(5):1289-1293.
171. Vestergaard EM, Hein HO, Meyer H, et al. Reference values and biological variation for tumor marker CA 19-9 in serum for different Lewis and secretor genotypes and evaluation of secretor and Lewis genotyping in a Caucasian population. *Clin Chem* 1999;45(1):54-61.
172. Narimatsu H, Iwasaki H, Nakayama F, et al. Lewis and secretor gene dosages affect CA19- 9 and DU-PAN-2 serum levels in normal individuals and colorectal cancer patients. *Cancer Res* 1998;58(3):512-518.
173. Narimatsu H. Molecular biology of Lewis antigens—histo-blood type antigens and sialyl Lewis antigens as tumor associated antigens. *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 1996;97(2):115-122.
174. Vidas I, Delajlija M, Temmer-Vuksan B, et al. Examining the secretor status in the saliva of patients with oral pre-cancerous lesions. *J Oral Rehabil* 1999;26(2):177-182.
175. Torrado J, Ruiz B, Garay J, et al. Blood-group phenotypes, sulfomucins, and *Helicobacter pylori* in Barrett's esophagus. *Am J Surg Pathol* 1997;21(9):1023-1029.
176. Parnes, J. R. Molecular biology and function of CD4 and CD8. *Adv. Lmmunol.* 1989; 44: 265-311.

177. Teh, H. S., Kisielow, P., Scott, B., Kishi, H., Uematsu, Y., et al. 1988. Thymic major histocompatibility complex and the alpha beta T-cell receptor determine the CD4/CD8 phenotype of T cell *Nature* 1988;335(6187):229-235.
178. Unanue, E. R., Allen, P. M. The basis of immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells *Science* 1987; 236(4801):551-557.
179. Germain, R. N. The ins and outs of antigen processing and presentation. *Nature* 1986; 322:687- 689.
180. Bevan MJ. Class discrimination in the world of immunology. *Nature* 1987: 325:192-194.
181. Granda AG 3rd, Androlewicz MJ, Athwal RS, Geraghty DE, Spies T. Dependence of peptide binding by MHC class I molecules on their interaction with TAP. *Science* 1995; 270: (5233):105–108.
182. Greenwood R, Shimizu Y, Sekhon GS, DeMars R. Novel allele-specific, post-translational reduction in HLA class I surface expression in a mutant human B cell line. *J Immunol* 1994;15; 153(12): 5525–5536.
183. Granda AG 3rd, Golovina TN, Hamilton SE et al. Impaired assembly yet normal trafficking of MHC class I molecules in Tapasin mutant mice. *Immunity* 2000; 13(2): 213–222.
184. Garbi N, Tan P, Diehl AD et al. Impaired immune responses and altered peptide repertoire in tapasin-deficient mice. *Nat Immunol* 2000;1(3): 234–238.
185. Sadasivan B, Lehner PJ, Ortmann B, Spies T, Cresswell P. Roles for calreticulin and a novel glycoprotein, tapasin, in the interaction of MHC class I molecules with TAP. *Immunity* 1996; 5(2):103–114.

186. Li S, Sjogren HO, Hellman U, Pettersson RF, Wang P. Cloning and functional characterization of a subunit of the transporter associated with antigen processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(16): 8708–8713.
187. Tan P, Kropshofer H, Mandelboim O, Bulbuc N, Hammerling GJ, Momburg F. Recruitment of MHC class I molecules by tapasin into the transporter associated with antigen processing-associated complex is essential for optimal peptide loading. *J Immunol* 2002; 168 (4): 1950–1960.
188. Zhang Y, Baig E, Williams DB. Functions of ERp57 in the folding and assembly of major histocompatibility complex class I molecules. *J Biol Chem* 2006; 281(21): 14622–14631.
189. Garbi N, Tanaka S, Momburg F, Hammerling GJ. Impaired assembly of the major histocompatibility complex class I peptide-loading complex in mice deficient in the oxidoreductase ERp57. *Nat Immunol* 2006; 7(1): 93–102.
190. Gligorović V, Balint B. *Klinička transfuziologija*. Zavod za izdavanje udžbenika i nastavna sredstva, Beograd, 1998.
191. Vera Jerant-Patić. *Imunologija*. Novi Sad: Budućnost; 2000.
192. Mollison PL. *Blood transfusion in clinical medicine*. 8<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1987:383-393.
193. Zergollern LJ. *Humana genetika*. Četvrto izdanje. Zagreb: Jugoslovenska medicinska naklada, 1991: 199-249.
194. Stites DP, Stobo JD, Wells JV. *Osnovna i klinička imunologija*. Drugo izdanje. Beograd: Savremena administracija, 1989: 50-63.

195. Stolić I, Simonović R, Ćuk G, Paunović D. Primarna udruženost HLA DR4 fenotipa i insulin zavisnog dijabetes melitusa u populaciji Jugoslavije. *Bilt transf* 1996; 42(1): 5-7.
196. Svejgaard A, Ryder LP. HLA and disease. In: Ferrara GB. *HLA system-New aspects*. Amsterdam: Elsevier/North-Holland biomedical Press, 1977: 143-151.
197. Đokić M, Popović K, Pejin D, Stefanović N, Belić A, Uzurov V. Antigeni HLA sistema u akutnim leukozama. *Med Pregl* 1984; (9-10): 379-380.
198. Kolevski P, Zisovski N, Blagojevska M, Muratovska O, Dimitrovski K, Glamočanin S. Antigeni HLA sistema kod akutnih leukoza. *Bilten za hematologiju i transfuziologiju*. 1988; 16(1): 48.
199. Bortin MM, D' Amaro J, Bach HF, Rimm AA, van Rood J. HLA associations with leukemia. *Blood* 1987; 70(1): 233-236.
200. Brewerton, D.A., Hart, F.D., Nicholls, A., Caffrey, M., James, D.C., Sturrock, R.D., .Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973;1(7809) 904-907.
201. D'Amato, M., Fiorillo, M.T., Carcassi, C., Mathieu, A., Zuccarelli, A., Bitti, P.P., Tosi, R., Sorrentino, R. Relevance of residue 116 of HLA-B27 in determining susceptibility to ankylosing spondylitis. *European Journal of Immunology* 1995;25(11):3199-3201.
202. Fiorillo MT., Meadows L, D'Amato M, Shabanowitz J, Hunt DE, Appella E, Sorrentino R. Susceptibility to ankylosing spondylitis correlates with the C-terminal residue of peptides presented by various HLA-B27 subtypes. *European Journal of Immunology* 1997; (2):368-373.
203. Fiorillo, M.T., Sorrentino, R. T cell responses against viral and self-epitopes and HLA-B27 subtypes differently associated with Ankylosing Spondylitis. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2009;649: 255-262.



204. Evans, D.M., Spencer, C.C., Pointon, J.J., Su, Z., Harvey, D., Kochan, G., Oppermann, U., Dilthey, A., Pirinen, M., Stone, M.A., Appleton, L., et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nature Genetics* 2011;43(8):761–767.
205. Strange, A., Capon, F., Spencer, C.C., Knight, J., Weale, M.E., Allen, M.H., Barton, A., Band, G., Bellenguez, C., Bergboer, J.G., et al. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nature Genetics* 2010;42(11):985-990.
206. Kirino, Y., Bertsias, G., Ishigatsubo, Y., Mizuki, N., Tugal-Tutkun, I., Seyahi, E., Ozyaz-gan, Y., Sacli, F.S., Erer, B., Inoko, H., et al. Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B\*51 and ERAP1. *Nature Genetics* 2013;45(2): 202–207.
207. Taurog, J.D. HLA-B27 subtypes, disease susceptibility, and peptide binding specificity, in *The Spondylarthritides* (Calin, A. and Taurog, J.D., eds), Oxford University Press. 1989, p. 267–273.
208. Tieng V, Dulphy N, Boisgerault F, et al. HLA-B2707 peptide motif: Tyr C-terminal anchor is not shared by all disease-associated subtypes. *Immunogenetics* 1997;47(1):103–105.
209. Hermann E, Yu DT, Meyer zum Büschenfelde KH, Fleischer B. HLA-B27-restricted CD8 T cells derived from synovial fluids of patients with reactive arthritis and ankylosing spondylitis. *Lancet* 1993;342(8872):646-650.
210. Uksila J, Gripenberg-Lerche C, Toivanen P. The role of environmental factors and HLA-B27, in *HLA-B27 in The Development of Spondyloarthropathies* (López-Larrea, C., ed.), 1997, pp. 167–181.

211. Carlos Lopes- Larrea, Segundo Gonzalez and Jesus Matinez- Borra. The role of HLA-B27 polymorphism and molecular mimicry in spondylarthropathy. *Molecular medicine today*. 1998; 4 (12):505-549.
212. Gao, X.M., Wordsworth, P. and McMichael, A. Collagen-specific cytotoxic T lymphocyte responses in patients with ankylosing spondylitis and reactive arthritis. *Eur. J. Immunol* 1994;24(7):1665-1670.
213. Hermann E, Meyer zum Büschenfelde KH, Wildner G. HLA-B27 derived peptides as autoantigens for T lymphocytes in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 1997;40(11):2047-2054.
214. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human b2m: An animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell* 1990;63(5):1099-1112.
215. Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, Fernández-Sueiro JL, Balish E, Hammer RE. The germ free state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J. Exp. Med*. 1994;180(6):2359-2364.
216. Breban M, Hammer RE, Richardson JA, Taurog JA. Transfer of the inflammatory disease of HLA-B27 transgenic rats by bone marrow engraftment, *J. Exp. Med*. 1993; 178(5): 1607–1616.
217. Breban M, Fernández-Sueiro JL, Richardson JA, Hadavand RR, Maika SD, Hammer RE, Taurog JD. T cells, but not thymic exposure to HLA-B27, are required for the inflammatory disease of HLA-B27 transgenic rats, *J. Immunol*. 1996;156(2):794-803.
218. Zhou M, Sayad A, Simmons WA, et al. The specificity of peptides bound to human histocompatibility antigen (HLA)-B27 influences the prevalence of arthritis in HLA-B27 transgenic rats. *J. Exp. Med*. 1998; 188(5): 877–886.

- 219.Scofield RH, Kurien B , Gross T , Warren WL , Harley JB. HLA-B27 binding of peptide from its own sequence and similar peptides from bacteria: Implications for spondyloarthropathies. *Lancet* 1995;345(8964):1542-1544.
- 220.García F, Marina A, Albar JP, et al. HLA-B27 presents a peptide from a polymorphic region of its own molecule with homology to proteins from arthritogenic bacteria. *Tissue Antigens* 1997;49(1):23-28.
- 221.Khare SD, Bull MJ, Hanson J, et al. Spontaneous inflammatory disease in HLA-B27 transgenic mice is independent of MHC class II molecules: a direct role for B27 heavy chains and not B27-derived peptides. *J. Immunol.* 1998;160(1):101-106.
- 222.Khare SD, Luthra HS, David CS. Spontaneous inflammatory arthritis in HLA B27 transgenic mice lacking  $\beta$ 2-microglobulin: a model of human spondylarthropathies, *J. Exp. Med.* 1995;182(4):1153-1158.
223. Parham P. Presentation of HLAclass I-derived peptides: potential involvement in allorecognition and HLA-B27-associated arthritis, *Immunol. Rev.* 1996;154:137-154.
- 224.Davenport MP. The promiscuous B27 hypothesis, *Lancet* 1995; 346(8973), 500–501.
- 225.Wildner G, Thureau SR. Cross-reactivity between an HLA-B27- derived peptide and a retinal autoantigen peptide: a clue to major histocompatibility complex association with autoimmune disease, *Eur. J. Immunol.* 1994;24(11):2579-2585.
- 226.Wuorela M, Jalkanen S, Kirveskari J, Laitio P, Granfors K. *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 alters the expression of serologic HLA-B27 epitopes on human monocytes. *Infect. Immun.* 1997;65(6):2060-2066.
227. Gao XM, Wordsworth P, McMichael AJ,et al. Homocysteine modification of HLA antigens and its immunological consequences. *Eur. J. Immunol.* 1996;26(7):1443-1450.
- 228.Huang F, Yamaguchi A, Tsuchiya N, et al. Introduction of alternative splicing of HLA-B27 by bacterial invasion. *Arthritis Rheum.*1997; 40(4): 694–703.

229. Zavazava, N. Soluble HLA class I molecules: biological significance and clinical implications, *Mol. Med. Today* 1998;4(3):116-121.
230. Kataria RK, Brent LH. Spondyloarthropathies. *American Family Physician*. 2004; 69(12):2853-2860.
231. Gladman DD. Clinical Aspects of the spondyloarthropathies. *American Journal of Medical Sciences*. 1998; 316 (4) :234-238.
232. Gisondi P, Tinazzi I, EL Dalati G et al. Lower limb enthesopathy in patient with psoriasis without clinical signs of arthropathy a hospital based-case controlled study. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(1):26-30.
233. Alsetti P, Acciac C., Lenzi L et al. Ultrasound of enthesopathy in rheumatic diseases. *Mod rheumatol*. 2009;19(2):103-113.
234. Wiell C, Stkudlarek M, Hasselques et al. Ultrasonography, Magnetic resonance imaging radiography and clinical assesment of inflamatory and destructive change in fingers and toes of patient with psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther*.2007;9(6):R:119[Erratum in *Arthritis Res Ther* 2008;10(1):402.]
235. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewe R, et al. The development of assesment of SpondyloArthritis international Society classification for axial spondyloarthritis (part II) validation and final selection. *Ann Rheum* 2009;68(6):777-783.
236. Bakland G, Alsing R, Singhk et al. Assesment of SpondyloArthritis international Society classification for axial spondyloarthritis in chronic back pain patient with a high prevalence of HLA B27. *Arthritis Care res (Hoboken)*. 2013;65(3):448-453.
237. Strand V, Rao SA, Schillington CA, et al. Prevalence of axial spondylitis in: United States rheumatology practices: Assesment of SpondyloArthritis international Society criteria versus rheumatology expert criteria diagnosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013;65(8):1299-1306.

238. Bentin J, Van Praet L, Malaisem M et al. Early referral of first line patients suspected of axial spondyloarthritis: the Belgan results of the RADAR [study in France]. *Rev Med Liege*. 2012;67(12):649-654.
239. Healy PJ, Helliwell PS. Classification of the spondyloarthropathies. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17(4):395-399.
240. Bogliolo L, Alpini C, Caporali R et al. Antibodies to cyclic citrullinated peptides in patient with psoriatic arthritis. *J Rheumatol*. 2005;32(3):511-515.
241. Rudwaleit M, van der Heijde D, Khan MA, et al. How to diagnose axial spondyloarthritis early. *Ann Rheum Dis*. 2004;63 (5):535-543.
242. Poddubny D, Vahldijek J, Spiller I, et al. Evaluation of 2 screening criteria for early identification of patients with spondyloarthritis in primary care. *J Rheumatol*. 2011;38(11):2452-2460.
243. Evangelisto A, Wekefield R, Emery P. Imaging in early arthritis. *Best Pract Res. Clin Rheumatol*. 2004;18(6):927-943.
244. Watt I. Basic differential diagnosis of arthritis. *Eur Radiol*. 1997;7(3):344-351.
245. Ory PA, Gladman JJ, Maesi PJ. Psoriatic arthritis and imaging. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(2):ii55-ii57.
246. Boutry N, do Carmo CC, Flipo RM et al. Early rheumatoid arthritis and its differentiation from other joint abnormalities. *Eur J Radiol* 2009;17(2):217-224.
247. Maksymowich WP. MRI in ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheumatol*. 2009;21(4):313-317.
248. Kane D, Grassi W, Sturrock R et al. Musculoskeletal ultrasound- a state of the art review in rheumatology. Part 2: clinical indications for musculoskeletal ultrasound in rheumatology. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43(7):829-838.

249. Van Tubergen A, Weber U. Diagnosis and classification in spondyloarthritis: identifying a chameleon. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(5):253–261.
250. Burns T, Marder A, Becks E et al. Undifferentiated spondylarthritis: a nosological missing link? *Arthritis Rheum* 1982; 25(suppl):142.
251. Zeidler H, Mau W, Khan MA. Undifferentiated spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin N Amer* 1992;18:187-202.
252. Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD. Technical Manual, 17th ed., Bethesda: AABB; 2011.
253. Mohn JF, Owens NA, Plunkett RW. The inhibitory properties of group A and B nonsecretor saliva. *Immunol Commun* 1981;10(2):101-126.
254. Kogure T, Furukawa K. Enzymatic conversion of human group O red cells into Group B active cells by alpha-D-galactosyltransferases of sera and salivas from group B and its variant types. *J Immunogenet* 1976;3(3):147-154.
255. Dougados M, Baeten D. Spondyloarthritis. *Lancet*. 2011; 377(9783):2127–2137.
256. Reveille JD, Witter JP, Weisman MH. Prevalence of axial spondylarthritis in the United States: estimates from a cross-sectional survey. *Arthr Care & Res*. 2012;64(6):905-910.
257. Cortes A, Hadler J, Pointon JP, Robinson PC, Karaderi T, et al. International Genetics of Ankylosing Spondylitis Consortium. Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci. *Nat Genet*. 2013;45(7):730-738.

258. Zuk O, Hechter E, Sunyaev SR, Lander ES. The mystery of missing heritability: Genetic interactions create phantom heritability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(4):1193-1198.
259. Parkes M, Cortes A, van Heel DA, Brown MA. Genetic insights into common pathways and complex relationships among immune-mediated diseases. *Nat Rev Gen*. 2013;14(9):661-673.
260. Khare SD, Luthra HS, David CS. HLA B27 and other predisposing factors in spondyloarthropathies. *Curr opin Rheumatol* 1998;10(4):282-291.
261. Reveille JD, Ball EJ, Khan MA. HLA B27 and genetic predisposing factors in spondyloarthropathies *curr opin rheumatol* 2001;13(4):265-272.
262. Mc Gonagle D, Gibbon W, Emery P. Classification of inflammatory arthritis by enthesitis. *Lancet* 1998;352(9134):1137-1140.
263. Lahemas, R. Skurni M, Granfos K. Mottonen T. Saario R. Toivanen A. Toivanen P. Molecular mimicry in the pathogenesis of spondiloartropathie. A critical appraisal of cross-reactivity between microbial antigens and HLA-B27 *Br J rheumatol*. 1992;31(4):221-229.
264. Melby KK, Kvien TK, Glennas, A. Helicobacter pylori-a trigger of reactive arthritis? *Infection* 1999;27(4-5):252-255.
265. Otašević Lj. Uloga gram negativnih bakterija u etiopatogenezi prednjeg uveitisa i spondiloartropatija. Magistarska teza. Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, 1999.
266. Mekić M., Ristić M., Smiljić Lj. Microbiologically findings et seronegative spondiloartropathies. *Praxis Medica* 2004; 32 (3-4) 53-54.

267. Leirisalo-Repo M, Turunen U, Stenman S, Helenius P, Seppälä K. High frequency of silent inflammatory bowel disease in spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 1994; 37(1): 23-31.
268. De Keyser F, Elewaut D, De Vos M, De Vlam K, Cuvelier C, Mielants H, Veys EM. Bowel inflammation and the spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1998; 24(4): 785-813, ix-x.
269. Mielants H, Veys EM. The gut in the spondyloarthropathies. *J Rheumatol* 1990;17(1):7-10.
270. De Keyser F, Baeten D, Van den Bosch F, De Vos M, Cuvelier C, Mielants H, Veys E. Gut inflammation and spondyloarthropathies. *Curr Rheumatol Rep* 2002;4(6):525-532.
271. Mielants H, De Keyser F, Baeten D, Van den Bosch F. Gut inflammation in the spondyloarthropathies. *Curr Rheumatol Rep* 2005;7(3):188-194.
272. Eliakim R, Karban A, Markovits D, Bardan E, Bar-Meir S, Abramowich D, Scapa E. Comparison of capsule endoscopy with ileocolonoscopy for detecting small-bowel lesions in patients with seronegative spondyloarthropathies. *Endoscopy* 2005;37(12):1165-1169.
273. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9(5):313-323.
274. Benjamin RJ, Parham P. Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today*. 1990;11(4):137-142.



275. Taurog JD, Maika SD, Satumtira N, Dorris ML, McLean IL, Yanagisawa H, et al. Inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *Immunol Rev.* 1999;169:209-223.
276. May E, Dorris ML, Satumtira N, Iqbal I, Rehman MI, Lightfoot E, et al. CD8 alpha beta T cells are not essential to the pathogenesis of arthritis or colitis in HLA-B27 transgenic rats. *J Immunol.* 2003;170(2):1099-1105.
277. Taurog JD, Dorris ML, Satumtira N, Tran TM, Sharma R, Dressel R, et al. Spondylarthritis in HLA-B27/human beta2-microglobulin-transgenic rats is not prevented by lack of CD8. *Arthritis Rheum.* 2009;60(7):1977-1984.
278. Wendling D, Cedoz JP, Racadot E, Dumoulin G. Serum IL-17, BMP-7, and bone turnover markers in patients with ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine.* 2007;74(3):304-305.
279. Singh R, Aggarwal A, Misra R. Th1/Th17 cytokine profiles in patients with reactive arthritis/ undifferentiated spondyloarthropathy. *J Rheumatol.* 2007;34(11):2285-2290.
280. Glatigny S, Fert I, Blaton MA, Lories RJ, Araujo LM, Chiochia G, et al. Proinflammatory Th17 cells are expanded and induced by dendritic cells in spondylarthritis-prone HLA-B27-transgenic rats. *Arthritis Rheum.* 2012 ;64(1):110-120.
281. DeLay ML, Turner MJ, Klenk EI, Smith JA, Sowders DP, Colbert RA. HLA-B27 misfolding and the unfolded protein response augment interleukin-23 production and are associated with Th17 activation in transgenic rats. *Arthritis Rheum.* 2009;60(9):2633-2643.
282. Rath HC, Herfarth HH, Ikeda JS, Grenther WB, Hamm TE, Balish E, et al. Normal luminal bacteria, especially bacteroides species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLAB27/ human b2 microglobulin transgenic rats. *J Clin Invest.* 1996;98(4):945-953.

283. Rosenbaum JT, Davey MP. Time for a gut check: evidence for the hypothesis that HLA-B27 predisposes to ankylosing spondylitis by altering the microbiome. *Arthritis Rheum.* 2011;63(11):3195-3198.
284. Mear JP, Schreiber KL, Munz C, Zhu X, Stevanovic S, Rammensee H-G, et al. Misfolding of HLA-B27 as a result of its B pocket suggests a novel mechanism for its role in susceptibility to spondyloarthropathies. *J Immunol.* 1999;163(12):6665-6670.
285. Allen RL, O'Callaghan CA, McMichael AJ, Bowness P. Cutting edge: HLA-B27 can form a novel beta 2-microglobulin-free heavy chain homodimer structure. *J Immunol.* 1999;162(9):5045-5048.
286. Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13(2):89-102.
287. Colbert RA, DeLay ML, Klenk EI, Layh-Schmitt G. From HLA-B27 to spondyloarthritis: a journey through the ER. *Immunol Rev.* 2010;233(1):181-202.
288. Smith JA, Turner MJ, DeLay ML, Klenk EI, Sowders DP, Colbert RA. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response are linked to synergistic IFN-beta induction via X-box binding protein 1. *Eur J Immunol.* 2008;38(5):1194-1203.
289. Zeng L, Liu YP, Sha H, Chen H, Qi L, Smith JA. XBP-1 couples endoplasmic reticulum stress to augmented IFN-beta induction via a cis-acting enhancer in macrophages. *J Immunol.* 2010;185(4):2324-2330.
290. Goodall JC, Wu C, Zhang Y, McNeill L, Ellis L, Saudek V, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced transcription factor, CHOP, is crucial for dendritic cell IL-23 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(41):17698-17703.

291. Liu YP, Zeng L, Tian A, Bomkamp A, Rivera D, Gutman D, et al. Endoplasmic reticulum stress regulates the innate immunity critical transcription factor IRF3. *J Immunol.* 2012;189(9):4630-4639.
292. Chan AT, Kollnberger SD, Wedderburn LR, Bowness P. Expansion and enhanced survival of natural killer cells expressing the killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL2 in spondylarthritis. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3586-3595.
293. Bowness P, Ridley A, Shaw J, Chan AT, Wong-Baeza I, Fleming M, et al. Th17 cells expressing KIR3DL2+ and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis. *J Immunol.* 2011;186(4):2672-2680.
294. Kollnberger S, Bird LA, Sunm M-Y, Retiere C, Braud VM, McMichael A, et al. Cell surface expression and immune receptor recognition of HLA-B27 homodimers. *Arthritis Rheum.* 2002;46(11):2972-2982.
295. Kollnberger S, Bird LA, Roddis M, Hacquard-Bouder C, Kubagawa H, Bodmer HC, et al. HLAB27 heavy chain homodimers are expressed in HLA-B27 transgenic rodent models of spondyloarthritis and are ligands for paired Ig-like receptors. *J Immunol.* 2004;173(3):1699-1710.
296. Zoetendal EG, Akkermans ADL, Akkermans-van Vliet WM, de Visser, J. Arjan G. M, et al. The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2001;13(3):129-134.
297. Rajilic-Stojanovic M. Diversity of human gastrointestinal microbiota. novel perspectives from high throughput analyses. PhD thesis. Wageningen University and Research Center: Wageningen Neatherlands; 2007.
298. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, et al. (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009;457(7228):480-484.

299. Lay C, Rigottier-Gois L, Holmstrom K, Rajilic M, Vaughan EE, et al. Colonic microbiota signatures across five northern European countries. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(7): 4153–4155.
300. Boesten RJ, de Vos WM (2008) Interactomics in the human intestine: Lactobacilli and bifidobacteria make a difference. *J Clin Gastroenterol* 2008;42(3):163–167.
301. Linden S, Mahdavi J, Semino-Mora C, Olsen C, Carlstedt I, et al. (2008) Role of ABO secretor status in mucosal innate immunity and *H. pylori* infection. *PLoS Pathog* 2008; 4(1):e2.
302. Anstee DJ. The relationship between blood groups and disease. *Blood* 2010;115(23):4635-4643.
303. Macfarlane GT, Blackett KL, Nakayama T, Steed H, Macfarlane S The gut microbiota in inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Des.* 2009;15(13):1528–1536.
304. Wacklin P, Mäkituokko H, Alakulppi N, Nikkila J, Tenkanen H, et al. Secretor Genotype (FUT2 gene) Is Strongly Associated with the Composition of Bifidobacteria in the Human Intestine. *PLoS ONE* 2011;6(5): e20113. doi:10.1371/journal.pone.0020113
305. Brewerton DA, Caffrey M, Hart FD, James DCO, Nichols A, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HL-A27. *Lancet* 1973;1(7809):904-907.
306. Timms AE, Crane AM, Sims AM et al. The interleukin 1 gene cluster contains a major susceptibility locus for ankylosing spondylitis. *Am J Hum Genet* 2004; 75(4): 587–595.
307. Van der Paardt M, Crusius JB, Garcia-Gonzalez MA et al. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Rheumatology* 2002;41(12):1419-1423.

308. Akkoc N, Khan MA. Epidemiology of ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies. In *Ankylosing Spondylitis and the Spondyloarthropathies: A Companion to Rheumatology*. Weisman MH, Reveille JD, van der Heijde D. London: Mosby-Elsevier. 2006, p.117-131.
309. Wu Z, Lin Z, Wei Q, Gu J. Clinical features of ankylosing spondylitis may correlate with HLA-B27 polymorphism. *Rheumatol Int* 2009;29(4):389-392.
310. Atagunduz P, Appel H, Kuon W, Wu P, Thiel A, Kloetzel PM, Sieper J. Australo-Anglo-American Spondyloarthritis consortium (TASC); Reveille, J. D. et al, Genomewide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC susceptibility loci. *Nat. Genet.* 2010;42(2):123-127.
311. Campbell EC, Fettke F, Bhat S, Morley KD, Powis SJ. Expression of MHC class I dimers and ERAP1 in an ankylosing spondylitis patient cohort. *Immunology.* 2011;133(3):379-385.
312. Chen R, Yao L, Meng T, Xu W. The association between seven ERAP1 polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis involving 8,530 cases and 12,449 controls. *Rheumatol Int.* 2012;32(4):909-914.
313. Layh-Schmitt G, Colbert RA. The interleukin-23/interleukin-17 axis in spondyloarthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2008;20(4):392-397.
314. Brown MA. Genetics of ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheum* 2010;22(2):126-132.
315. Allen RL, Bowness P, McMichael A. The role of HLA-B27 in spondyloarthropathies. *Immunogenetics* 1999;50(3-4):220-227.
316. Edwards J C, Bowness P, Archer JR. The transformation of HLA-B27. *Immunol. Today* 2000;21(6):256-260.

- 317.Colbert RA. HLA-B27 misfolding: A solution to the spondyloarthropathy conundrum  
Mol. Med. Today 2000;6(6):224-230.
- 318.Ramos M, Alvarez I, Sesma L, Logean A, Rognan D, Lopez de Castro JA Molecular  
Mimicry of an HLA-B27-derived Ligand of Arthritis- linked Subtypes with Chlamydial  
Proteins. The Journal of biological chemistry.2002;277(40):37573-375781.
- 319.Daniels G. Human blood groups. 3rd ed. New Yersey: Wiley Blackwell; Chapter 2,  
Human blood groups: introduction;2013, p 11.
- 320.Henry S, Oriol R, Samuelsson B. Lewis histo-blood group system and associated  
secretory phenotypes. Vox Sang 1995;69(3):166–182.
- 321.Hoskins LC, Boulding ET. Degradation of blood group antigens in human colon  
ecosystems. I. In vitro production of ABH blood group-degrading enzymes by enteric  
bacteria. J Clin Invest 1976; 57(1): 63–73.
- 322.Langkilde NC, Wolf H, Meldgard P, Orntoft TF. Frequency and mechanism of Lewis  
antigen expression in human urinary bladder and colon carcinoma patients. Br J Cancer.  
1991; 63(4): 583–586.
- 323.Hirano K., Kawa S., Oguchi H, et al. Loss of Lewis antigen expression on erythrocytes in  
some cancer patients with high serum CA19-9 levels. J. Nati Cancer  
Inst.1987;79(6):1261-1268.
- 324.Yazawa S, Asao T, Izawa H, MiyamotoY, Matta KL. The presence of Ca 19-9 in serum  
and saliva from Lewis blood-group negative cancer patients. Jpn. J. Cancer Res.  
1988;79(4):538-543.
- 325.Hammar L, Mansson S, Rohr T, e al. Lewis phenotype of erythrocytes and Leb-active  
glycolipid in serum of pregnant women. Vox Sang, 1981;40(1):27-33.

326. Stigendal L, Olsson R, Rydberg L, Samuelsson BE. Blood group Lewis phenotype on erythrocytes and in saliva in alcoholic pancreatitis and chronic liver disease. *J. Clin. Pathol.* 1984;37(7):778-782.
327. Marcus DM, Cass LE. Glycosphingolipids with Lewis blood group activity. Uptake by human erythrocytes. *Science* 1969;164(3879):553-555.
328. Sneath JS, Sneath PHA. Transformation of the Lewis groups of human red cells. *Nature* 1955;176(4473):172.
329. Watkins WM. Genetics and biochemistry of some human blood groups. *Proceedings of the Royal Society of London.* 1978; 202(1146):31-53.
330. Johansson BG, Medhus A. Increase in plasma alpha-lipoproteins in chronic alcoholics after acute abuse. *Acta Med Scand* 1974;195(4):273-247.
331. Danielsson B, Ekman R, Johansson BG, Kristensson H, Nilsson-Ehle P, Wadstein J. Changes in plasma high density lipoproteins in chronic male alcoholics during and after abuse. *Scand J Clin Lab Invest* 1978;38(2):113-119.
332. Wallerstedt S, Gustafson A, Olsson R. Serum lipids and lipoproteins during abstinence after heavy alcohol consumption in chronic alcoholics. *Scand J Clin Lab Invest* 1977;37(7):599-604.
333. Cameron JL, Capuzzi DM, Zuidema GD, Margolis S. Acute pancreatitis with hyperlipemia. *American Journal of Medicine* 1974;56(4):482-487.
334. Schoentag R, Primus FJ, Kuhns W. ABH and Lewis blood group expression in colorectal carcinomas. *Cancer Res.* 1987;47(6):1695-1700.

335. Izkowitz SH, Yuan M, Ferrell LD, Palekar A, Kim YS. Cancer-associated alterations of blood group antigen expression in human colorectal polyps. *Cancer Res.* 1986;46(11):5976-5984.
336. Yazawa S, Madiyalakan R, Piver R, Matta KL. Elevated activities of blood group Le gene dependent  $\alpha$ (I-3)-L fucosyl transferase in human saliva of Lewis negative patients with epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett.* 1986;32(2):165-169.
337. Jaff MS, O'Briain DS. Excess of blood group B in primary myelofibrosis. *Vox Sang.* 1987;52(3):250-253.
338. D'Adamo PJ, Kelly GS. Metabolic and immunologic consequences of ABH secretor and Lewis subtype status. *Altern Med Rev.* 2001;6(4):390-405.
339. Da Silva RH, Sales-Peres A, de Oliveira RN, de Oliveira FT, Sales-Peres SH. Use of DNA technology in forensic dentistry. *J Appl Oral Sci.* 2007;15(3):156-161.
340. Akhter S, Kibria GM, Akhter NR, Habibullah MM, Islam SSK, Zakariah M. ABO and Lewis Blood Grouping with ABH Secretor and Non-secretor Status: A Cross Sectional Study in Dhaka. *Faridpur Med. Coll. J.* 2011;6(1):38-40.
341. Rahman M. Guide to blood transfusion. Bangladesh, 1978;p.51.
342. Abesadze N, Betaneli M, Bukia T, Kharabadze M. Distribution and impact of erythrocyte Lewis-system antigens on patients with ischemic heart diseases in the west of Georgia. *Georgian Med News.* 2012;(207):26-30.
343. Nathalang O, Kuvanont S, Punyaprasiddhi P, Tasaniyanonda C, Sriphaisal T. A preliminary study of the distribution of blood group systems in Thai blood donors determined by the gel test. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2001;32(1):204-207.



344. Rozi H Musa, Suhair A Ahmed, Hasna Hashim, Yasmin Ayob, Nor H Asidin, Poh Y Choo, Fawwaz S Al-Joudi Red cell phenotyping of blood from donors at the National blood center of Malaysia Asian Journal of Transfusion Science 2012; 6(1): 3-9.
345. Guzijan G, Jukić B, Mitrović S, Čejčić V, Bojanić J, Jojić D. Distribution of Clinically Relevant Erythrocyte Antigens among Blood Donors of the Republic of Srpska. Scripta Medica . 2015r; 46 (1):18-23.
346. Kremastinou J Tzanakaki G, Karafoti PH, Elton RA, Weir DM, Blackwell CC. Distribution of AB0 and Lewis blood groups in Greece. Gene geography 1996;10(3): 201-205.
347. Jaff MS. Higher frequency of secretor phenotype in O blood group – its benefits in prevention and/or treatment of some diseases International Journal of Nanomedicine 2010;5: 901–905.
348. Kahar MA, Patel RD. Phenotype frequencies of blood group systems (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis, and Lutheran) in blood donors of south Gujarat, India Asian J Transfus Sci. 2014;8(1):51–55.
349. Matson GA, Swanson J. Distribution of Hereditary Blood Antigens among American Indians in Middle America: Lacandbn and Other Maya. American Anthropologist **1961**; 63(6):1292-1322.
350. Vojvodic S. HLA Class I Genetic Diversity in the Population of Vojvodina. Int J Hum Genet 2006;6(3): 199-202.
351. Vojvodić S, Ademović'-Sazdanić D. Distribution of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 families of alleles and haplotypes in Vojvodina population. International Journal of Immunogenetics 2012;39(6), 480–485.

352. Ward M. Functional disability predicts total costs in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2002; 46(1):223–231.
353. Boonen A, Brinkhuizen T, Landewé R, van der Heijde D, Severens JL. Impact of ankylosing spondylitis on sick leave, presenteeism and unpaid productivity, and estimation of the societal cost. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(6):1123–1128.
354. Boonen A, van der Heijde D, Landewé R, et al. Direct costs of ankylosing spondylitis and its determinants: an analysis among three European countries. *Ann Rheum Dis*. 2003; 62(8):732–740.
355. Franke LC, Ament AJ, van de Laar MA, Boonen A, Severens JL. Cost-of-illness of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2009; 27(4Suppl55):S118–23.
356. Ara RM, Packham JC, Haywood KL. The direct healthcare costs associated with ankylosing spondylitis patients attending a UK secondary care rheumatology unit. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(1):68–71.
357. Kobelt G, Sobocki P, Mulero J, Gratacos J, Pocovi A, Collantes-Estevez E. The burden of ankylosing spondylitis in Spain. *Value Health*. 2008; 11(3):408–415.
358. Strömbeck B, Englund M, Bremander A, Jacobsson LT, Kedza L, Kobelt G, Petersson IF. Cost of illness from the public payers' perspective in patients with ankylosing spondylitis in rheumatological care. *J Rheumatol* 2010; 37(11):2348–2355.
359. Mould-Quevedo J, Peláez-Ballesteros I, Vázquez-Mellado J, et al. Social costs of the most common inflammatory rheumatic diseases in Mexico from the patient's perspective. *Gac Med Mex*. 2008; 144(3):225–231.
360. Torres TM, Ferraz MB, Ciconelli RM. Resource utilisation and cost of ankylosing spondylitis in Brazil. *Clin Exp Rheumatol*. 2010; 28(4):490–497.

361. Younes M, Jalled A, Aydi Z, Zrour S, Korbaa W, Ben Salah Z, Letaief M, Bejia I, Touzi M, Bergaoui N. Socioeconomic impact of ankylosing spondylitis in Tunisia. *Joint Bone Spine*. 2010; 77(1):41–46.
362. Zhu TY, Tam LS, Lee VW, Hwang WW, Li TK, Lee KK, Li EK. Costs and quality of life of patients with ankylosing spondylitis in Hong Kong. *Rheumatology (Oxford)*. 2008; 47(9):1422– 1425.
363. Braun J, Sieper J. Building consensus on nomenclature and disease classification for ankylosing spondylitis: results and discussion of a questionnaire prepared for the International Workshop on New Treatment Strategies in Ankylosing Spondylitis, Berlin, Germany, 18-19 January 2002. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 Suppl 3: iii61-iii67.
364. Feldtkeller E, Khan MA, van der Heijde D, van der Linden S, Braun J. Age at disease onset and diagnosis delay in HLA-B27 negative vs. positive patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2003;23(2):61-66.
365. Ozgocmen S, Ardicoglu O, Kamanli A, Kaya A, Durmus B, Yildirim K, Baysal O, Gur A, Karatay S, Altay Z, Cevik R, Erdal A, Ersoy Y, Sarac AJ, Tekeoglu I, Ugur M, Nas K, Senel K, Ulusoy H. Pattern of disease onset, diagnostic delay, and clinical features in juvenile onset and adult onset ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2009;36(12):2830-2833.
366. Akgul O, Ozgocmen S. Classification criteria for spondyloarthropathies. *World J Orthop* 2011; 2(12): 107-115.
367. Tournadre A, Pereira B, Lhoste A, Dubost JJ, Ristori JM, Claudepierre P, Dougados M, Soubrier M. Differences Between Women and Men With Recent-Onset Axial Spondyloarthritis: Results From a Prospective Multicenter French Cohort. *Arthritis Care & Research*. 2013; 65(9):1482-1489.

- 368.Hind CRK. Reactive arthritis. *Postgrad Med.* 1982; 58(677): 131-137.
- 369.Race R, Sanger R. *Blood groups in man.* 6th ed. Oxford: Blackwell Publications; 1975.
- 370.Hakamori S-I. Aberrant glycosylation in tumors and tumor-associated carbohydrate antigens. *Adv Cancer Res* 1989;52:257-331.
- 371.Coon JS, Weinstein RS. Blood group-related antigens as markers of malignant potential and heterogeneity in human carcinomas. *Hum Pathol* 1986;17(11):1089-1106.
- 372.Bruges-Armas J. Clinical and Molecular Advances in Ankylosing Spondylitis. In: Wen-Chan Tsai. *HLA-B27 and Ankylosing Spondylitis.* Rijeka: In Tech Europe: 2012. p.73-84.

## 11. LISTA SKRAĆENICA

**ISBT** - (eng. International Society of Blood Trasfusion); Internacionalno društvo za transfuziju krvi

**Se**- sekretorni gen

**Glc** - glukoza

**Gal**- galaktoza

**Man**-manoza

**GlcNAc**- N-acetil-D glukozamin

**GalNAc**- N-acetil-D galaktozamin

**Fuc**- fukoza

**FUT**- ( eng. Fucosytransferase); fukoziltransferaza

**GTA**- glikozil transferaza A

**GTB**- glikozil transferaza B

**GDP**- gvanozin difosfat

**Le**-Lewis antigen

**vWf**- (eng. Von Willebrand factor); fon Vilebrandov faktor

**NHLBI**- (eng. The national Heart, Lung, and Blood Institute); Nacionalni institute za srce, pluća i krv; Bethesda, Meryland, Sjedinjene Američke Države

**BMI**- (eng. Body mass index); indeks telesne mase

**Ig**- imunoglobulin

**H. pylori**- Helicobacter Pylori

**AS**- Ankilozirajući spondilitis

**Ca 19-9**-(eng. Carbohydrate antigen 19-9); ugljenohidratni antigen Ca 19-9

**ml**- mililitru

**MHC**-(eng. Major Histocompatibility Complex); Glavni Histokompatibilni Kompleks

**HLA**-(eng. Human leukocyte antigen); Humani Leukocitni Antigen

**CD**- klaster diferencijacije

**ER**- endoplazmatski reticulum

**PLC**-(eng. Peptide loading complex); peptidni transportni kompleks

**TAP**-(eng. transporter associated with antigen processing); transporter povezan sa obradom antigena

**TCR**- T ćelijski receptor

**ERAP**-(eng. endoplasmic reticulum aminopeptidase); aminopeptidaza endoplazmatskog retikuluma

**CDR**-(eng. *complementarity-determining region*); područje koje određuje komplementarnost

**SpA**- Spondiloartropatije

**RF**- Reumatoidni faktor

**RA**- Reaktivni arthritis

**PsA**- (eng. Psoriasis associated); udružen sa psorijazom

**IBD**-(eng. Inflammatory bowel disease); inflamatorne bolesti creva

**ASAS**-(eng. Assessment of SpondyloArthritis international Society ); kriterijumi procene spondiloartropatija

**CRP**- C reaktivni protein

**CCP**-(eng. Cyclic citrullinated peptide); ciklični citrulisani peptid

**RTG**- rentgenska snimanja

**MRI**-(eng. Magnetic resonance imaging); Magnetna rezonanca

**EDTA**-(eng. Ethylene diamine tetra acetic acid); etilen diamin tetra sirćetna kiselina

**SD**- standardna devijacija

**RR**- relativni rizik

**EF**- etiološka frakcija

**PF**- preventivna frakcija

**TNF-  $\alpha$** - (eng. Tumor necrosis factor); faktor tumorske nekroze alfa

**TGF-  $\beta$** - (eng. Transforming growth factor); transformišući faktor rasta beta

**IL**- interleukin

**Th**- (eng. T- helper cells); T pomažuci limfociti

**NK**- (eng. Natural killer cells); ćelije prirodne ubice

**HDL**- (eng. High density lipoprotein); lipoproteini velike gustine

**SAD**- Sjedinjene Američke Države