

ROMATİZMAL KALP KAPAKLARINDA İMMÜNGLOBÜLİN VE KOMPLEMAN DEPOLANMALARININ İMMÜNFLORESAN METODLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Güner Tokgöz*

Ümit Ölmez**

Gülay Kınıklı***

Murat Duman*

Nurşen Düzgün*

Hakkı Akalın****

Romatizmal kalp kapaklarında, immünolojinin yeri ve değeri uzun zamandan beri araştırılmış, hastalığın oluşmasında patolojik bir immün cevabın varlığı saptanmıştır. Üzerinde pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, romatizmal kalp hastalığındaki doku hasarının temel immünolojik mekanizması henüz çok açık olarak bilinmemekte, ancak antikora bağımlı hücrel sitotoksosite ve hücrel immünitenin oluşturabileceği immünopatolojinin sorumlu olabileceği düşünülmektedir (1,2,6,8).

Bu çalışmada romatizmal kalp hastalığı nedeni ile tek veya çift kapak replasmanı yapılan 30 hastanın kalp kapaklarında fiks immünglobulinlerin varlığını araştırdık. Kompleman ve immünglobulin depolanmalarının doku hasarının oluşumundaki katkılarını açıklayabilmek amacı ile doku çalışması yaptık.

MATERYAL VE METOD

Mart 1987 - Kasım 1988 tarihleri arasında, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyovasküler Cerrahi Bilim Dalına müracaat eden romatizmal kalp hastalığı olan, klinik ve laboratuvar olarak romatizmal aktivasyon göstermeyen 30 hastayı çalışma programına aldık. Hastalara, durumlarının gerektirdiği üzere aort, mitral veya çift kapak rep-

* A.Ü.T.F. İmmünoloji Bilim Dalı Profesörü.

** A.Ü.T.F. İmmünoloji Bilim Dalı Yardımcı Doçenti.

*** A.Ü.T.F. İmmünoloji Bilim Dalı Doçenti.

**** A.Ü.T.F. Kardiyovasküler Cerrahi Anabilim Dalı Profesörü.

lasmanı yapıldı. Kapakların makroskopik olarak en çok deforme edilen bölgelerinde, miyokarda bağlanan kenarlarından kesitler alıp, özel tesbit solüsyonu içinde -70°C de sakladık.

İmmünfloresan mikroskopik inceleme için, her biyopsi materyalinden iki mikron kalınlığında dörder kesit hazırladık. Behring-Werke firmasından temin ettiğimiz floressein ile işaretlenemiş IgG, IgA, IgM ve kompleman (C_3c) için hazırlanmış antiserumları 1/20 oranında sulandırdık. Kesitlerin bu antiserumlarla 30 dakika enkübasyonundan sonra, özel tampon solüsyon ile magnetik karıştırıcıda 3 kez yıkayıp kuruttuk. Tampon ile sulandırılmış gliserin solüsyonunu üzerlerine koyarak, Leitz marka immünfloresan mikroskopta değerlendirdik.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların 19/30'u (% 63,3) erkek, 11/30'u (% 36,6) kadındı. 17/30'una (% 56,6) mitral kapak, 6/30'una (% 20) aort kapağı, 7/30 una (% 23,3) çift kapak replasmanı yapıldı.

Mitral kapak replasmanı yapılan 1 hastanın, çift kapak replasmanı yapılan 2 hastanın mitral kapak kesitlerinde Aschoff nodülüne uyan mikroskopik görünüm saptandı.

Tablo - 1'de görüldüğü gibi, mitral kapak replasmanı yapılan hastaların 12/17'sinde (% 70,5) immünglobülin ve 6/17'sinde (% 35), kompleman (C_3c) depolanması olduğu görüldü. İmmünglobülin birikimi olan mitral kapakların 10/12'sinde (% 83) IgG, 7/12'sinde (% 58) IgA 3/12'sinde (% 30) IgM'in değişik şiddetlerde depolandığı saptandı.

Mitral kapaklarda IgG, IgA, IgM ve C_3c 'ün birlikte depolandığı 1 olgu, kompleman katılmadan IgG, IgA ve IgM'in birlikte depolandığı 1 olgu, IgA, IgG C_3c 'nin birlikte depolandığı 3 olgu, IgM, IgA ve C_3c 'nin birlikte depolandığı 1 olgu, IgG ve C_3c 'nin birlikte depolandığı 1 olgu, sadece IgG'nin bulunduğu 4 olgu, sadece IgA'nın bulunduğu 1 olgu saptandı.

İmmünglobülinler ve kompleman (C_3c) miyofibrillerde, elastik liflerde, damar duvarı etrafında yerleşim gösteriyorlardı.

Çift kapak replasmanı yapılan ve mitral kapaklarında immünglobülin, kompleman birikimi olan 3 hastanın aort kapaklarında depolanma gösterilemedi. Sadece aort kapak replasmanı yapılanların da aort kapaklarında immünglobülin ve kompleman birikimi yoktu.

Tablo 1 - : Kalp Kapaklarında İmmünglobülin ve Kompleman Depolanmalarının Gösterilmesi

| Kapak Replasmanı Tipi | Hasta | | | | |
|-----------------------|---------------------------------------|------|------|------|-----------------|
| | Sayısı | Ig A | Ig G | Ig M | C _{3c} |
| Mitral Kapak | 1 | + | + | + | + |
| | 1 | + | + | + | |
| | 3 | + | + | | + |
| | 1 | + | | + | + |
| | 1 | | + | | + |
| | 4 | | + | | |
| | 1 | + | | | |
| Aort Kapağı | 5 | — | — | — | — |
| | 6 | — | — | — | — |
| | (Hiç Bir Kapakta Depolanma Görülmedi) | | | | |
| Çift Kapak | 7 | | | | |
| | Aort | 7 | — | — | — |
| Mitral | (Hiç Bir Kapakta Depolanma Görülmedi) | | | | |
| | 1 | + | + | | + |
| | 1 | + | + | + | |
| | 1 | | + | | |
| | 4 | — | — | — | — |

TARTIŞMA

Kalp hastalıkları ile immünolojik reaksiyonların ilişkisini gösteren kanıtlar gittikçe artmaktadır. Perikardiektomiden sonra, bakteriel endokarditte romatizmal ateşte ve primer miyokard hastalığında kalp otoantikörlerinin bulunduğu gösterilmiştir (1,2,3,4,5).

Hastaların pek çoğunda, romatizmal ateş tablosunun ortaya çıkmasından bir süre önce A grubu streptokokların neden olduğu bir üst solunum yolu enfeksiyonunun bulunduğu saptamak mümkündür (6,7). Akut romatizmal ateşte, streptokok antijenleri ile miyokardial membran antijenleri arasında çapraz reaksiyon olduğu gösterilmiştir (2). Streptokokların miyofibrillerde hücrel immünitenin oluşturduğu hasarı uyardığı, invitro olarak kanıtlanmıştır.

Akut romatizmal ateşin histolojik bulgularından birisi, Aschoff nodülüdür (9,15). Akut ataktan 20 - 30 yıl sonra çıkartılan kalp kapaklarının % 25'inde fokal lenfositik infiltrasyon ve Aschoff nodülünün varlığı gösterilmiştir (11,12). Klinik aktivasyonları olmadığı halde 3 olgumuzda biz de Aschoff nodülüne uyan lezyonun bulunduğunu gördük.

Romatizmal karditteki lezyonlarda monosit-makrofaj sistemi hücreleri yoğun olarak bulunur ve bu hücreler antijen sunan hücreler olarak görev yaparlar (13). Kalp dokusu ile çapraz reaksiyon veren A grubu streptokokların makrofajları uyarması, patolojiyi başlatan neden olabilir. Akut romatizmal ateşe eğilimi olan kişilerin, A grubu streptokoklarla kalp dokusuna çapraz reaksiyon gösterebilen makrofajlara sahip olmaları muhtemeldir. İmmün cevap genleri ile antijen sunan hücreler arasında bir ilişkinin olduğu düşünülebilir. Böylece selfe reaksiyon gösteren T lenfositlerinin duyarlanması sağlanabilir (4).

Dos Reis ve arkadaşları, akut romatizmal karditli hastalarda, kalp hasarının oluşmasında antijen sunan hücrelerin önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir (13,14).

Fowles ve arkadaşları, romatizmal karditte immünoregülatör fonksiyon bozukluğu olduğundan söz etmişlerdir (15). Buna karşın Jeffrey ve arkadaşları, baskılayıcı T lenfosit fonksiyonunda bir bozukluk saptayamamışlardır (16).

Williams ve çalışma grubu, romatizmal kalp kapak dokusunda IgM ve IgG nin Fc parçası ve C₃b için reseptörlerin bulunup bulunmadığını araştırmışlardır. IgG, IgM ve C₃b ile hassaslaştırılmış koyun eritrositlerini kullanarak, reseptörlerin varlığını gösterememişlerdir (17).

Pek çok normal dokuda immünkomplekslerin komponentlerine ait reseptörler gösterilebilir. C₃b reseptörleri glomerul epitel hücrelerinde, C₃b ve IgG Fc reseptörleri, insan, maymun ve tavşan koroid pleksusunda bulunur (18,19).

Gelfand ve arkadaşları, insan kalp dokusunda özellikle mitral ve aort kapağında IgG Fc reseptörlerinin bulunduğunu gösterdiler (20). Pek çok araştırmacı, insan kalp dokusunda IgG Fc reseptörlerinin varlığını kanıtladılar (21).

Biz, romatizmal kalp hastalığı nedeni ile tek veya çift kapak replasmanı yapılan hastaların kalp kapaklarında, immünglobülin ve kompleman depolanmalarını araştırdık. Sadece mitral kapak replasmanı yapılan hastaların 12/17'sinde (% 70.5) immünglobülin ve 6/17'sinde (% 35) kompleman (C_{3c}) depolanması olduğunu gördük. İmmünglobülin depolanan mitral kapakların 1/12'sinde IgG, 7/12'sinde IgA, 3/12 sinde IgM değişik şiddetlerde birikmişti. Böylece romatizmal kalp hastalığı nedeni ile replasman yapılan mitral kapaklarda fiks immünkomplekslerin varlığını göstermiş olduk. Depolandığını gösterdiğimiz immünglobülinlerin normal kalp kapağında da bulunan Fc reseptörlerine bağlanmış olan immünglobülinler olması olasılığı da vardır. Ancak çalışmamızda, dokudaki Fc reseptörlerini ve depolanan immünkomplekslerdeki antijeni göstermeye yönelik bir metod kullanmadık. Bu nedenle iki olasılığı birbirinden ayırabilme olanağına sahip değiliz. Kalp kapaklarında depolandığını gösterdiğimiz immünkomplekslerdeki antijenik yapı, A grubu streptokoklara ait bir antijen ya da miyokardial membran antijenleri olabilir. Antijeni tayin edememiş olmamız, etyopatogeneze daha çok yaklaşmamızı engellemektedir. Belki de depolandığını saptadığımız bu antikorlar, doku hasarına karşı sekonder immün reaksiyon olarak karşımıza çıkıyor olabilir. İmmünkomplekslerin her orguda gösterilememesi de bunu destekliyor olabilir.

İmmünglobülinler ve kompleman, miyofibrillerde, elastik liflerde ve damar duvarı etrafında yerleşim gösteriyorlardı.

Tek veya çift kapak replasmanı sonucunda üzerinde çalışma yaptığımız aort kapaklarının hiç birisinde immünkomplekslerin varlığını gösteremedik. Bu nedenle, aort kapak hasarında humoral immüniteden çok, hücrel immünitenin ağır bastığı düşüncesi doğdu.

Tüm bu bulgularımız, romatizmal kalp hasarında, immünkompleks depolanmalarının kısmen rolü olabileceğini düşündürüyor. Ancak

dokuda saptadığımız fiks immünkomplekslerdeki antijeni tayin edebilme olanağımız olsa idi, immünopatogeneze biraz daha yaklaşmak mümkün olurdu.

ÖZET

Romatizmal kalp hastalığı nedeni ile tek veya çift kapak replasmanı yapılan 30 hastanın kalp kapaklarındaki immünglobülin ve kompleman depolanmalarını araştırdık.

Aort kapaklarında hiç fiks immünkompleksler görmediğimiz halde, mitral kapaklarda değişik şiddet ve oranlarda immünglobülin depolanması olduğunu gördük.

Ancak bu immünkomplekslerdeki antijenin türünü saptayabilseydik, immünopatogeneze katkısını daha iyi değerlendirebilirdik.

SUMMARY

Evaluation Of Fixed Immunocomplex Deposition On Rheumatic Heart Valves Immunofluorescence Method

We examined 30 patients with rheumatic heart disease that had one or two valve replacement and searched for the immunoglobulin and complement deposition on those valves.

There was no fixed immunecomplex deposition on aortic valves but immunoglobulin and complement deposition of various densities was observed on mitral valves.

If we could find out the nature of the antigen taking part in these immunecoplexes, we would have understood the immunopathogenesis better.

KAYNAKLAR

1. Lessof M : Immunological reactions in heart disease. Br. Heart J. 40 : 211-4, 1978.
2. Zabriskie JB Hsu KC Seagel BC : Heart reactive antibody associated with rheumatic fever characterisation and diagnostic significance. Clin. Exp. Immunol. 7 : 147-59, 1970.
3. Das SK Cassidy JT : Importance of heart antibody in infective endocarditis. Arch. Intern. Med. 137 : 1591-3, 1977.

4. Das SK Callen JP Dodson VN Cassidy JT : Immunnoglobulin binding in cardiomyopathic hearts. *Circulation*, 44 : 612-6, 1971.
5. Bolte HD Grothe K : Cardiopathies related to immunological processes. Riecher G, Weber A, Goodwin J, eds. *Myocardial Failure*. Berlin : Splinger Verlag, 266-74, 1977.
6. Stollerman GH Lewis AJ Schultz I Taranta A : Relationship of immune response to group A streptococci in the course of acute, chronic and recurrent rheumatic fever. *Am. J. Med.* 20 : 163-6, 1956.
7. Stollerman GH : The epidemiology of primary and secondary rheumatic fever the *Streptococcus*, rheumatic fever and glomerulonephritis. Edited by J.W. Uhr, Baltimore, Williams and Wilkins. pp : 311-329, 1964.
8. Yana LC Soprey PR Writner MK Fox EN : Streptococcal induced cell mediated immune destruction of cardiac myofibers in vitro. *J. Exp. Med.* 146 : 344-60, 1977.
9. Aschoff L : Zur myocarditisfrage. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 8 : 46-53, 1904.
10. Becker CG Murhy GE : Demonstration of contractile protein in endothelium and cells of the heart valves, endocardium, intima, arteriosclerotic plaque and Aschoff bodies of rheumatic heart disease. *Am. J. Pathol.* 55 : 1-37, 1969.
11. Husbu G Arora R Williams R Khaw B Haber E Butler C : Immunfluorescence studies of florid Rheumatic Aschoff Lesions : *Art. Rheum.* 2 : 207-211, 1986.
12. Rovizada V Williams RC Jr Chopra P Gopinath N Prakash K Sharma KB Cherian KM Pandey S Arora R Nigam M Zabriskie JB Husby G : Tissue distribution of lymphocytes in rheumatic heart valves as defined by monoclonal anti-cell antibodies. *Am. J. Med.* 74 : 90-96, 1983.
13. Dos Reis GA Barcinski MA : The role of macrophage dependent selection in the induction phase of streptococcal carditis. *Lancet* 2 : 777-779, 1980.
14. Dos Reis GA Gaspar MIC Barcinski MA : Immune recognition in the streptococcal carditis of mice : the role of macrophages in the generation of heart reactive lymphocytes. *J. Immunol.* 128 : 1514-21, 1982.
15. Fowles RE Bieber CP Stinson EB : Defective in vitro supressor cell junction in idiopathic congestive cardiomyopathy. *Circulation.* 59 : 484-491, 1979.
16. Anderson JL Greenwood JH Kawawashi H : Evaluation of supressor immune regulatory function in idiopathic congestive cardiomyopathy an rheumatic heart disease. *Br. Heart J.* 46 : 410-414, 1981.
17. Williams RC Husby G Raizade V Zabriskie JB : Lack of adherence of IgG, IgM and C₃b sensitized erythrocytes to human heart valves. *Clin. Imm. and Immunopathol.* 30 : 156-158, 1984.

18. Burkholder PM Oberlay TD Barber TA et al : Immune adherence in renal glomeruli complement receptor sites on glomerular capillary epithelial cells. *Am. J. Pathol.* 86 : 635, 1977.
19. Van der Meulen JA Mc Nabb TC Haeffner-Cavaillon N et al : The Fc receptor on human placental plasma membrane : the binding of homologous and heterologous immunoglobulin G. *J. Immunol.* 124 : 500, 1980.
20. Gelfan MC Shin ML Nagle RB et al : The glomerular complement receptor in immunologically mediated renal glomerular injury. *N. Engl. J. Med.* 295 : 10, 1976.
21. Hopf U Meyer zum Buschenfelde KH Dierich MP : Demonstration of binding sites for IgG Fc and the third complement component on isolated hepatocytes. *J. Immunol.* 117 : 639, 1976.