

ANTI-İNTERMEDİATE FİLAMENT YAPISINDAKİ DÜZ KAS ANTİKORU

Dr. Akın YILDIZ x

Dr. Nimet YAVİLİOĞLU xx

Dr. Sabri GÜNGÖR xxx

ÖZET:

Düz kas antikoru, kriostat ile kesilmiş doku kesitlerini kullanarak immüno-flöresan mikroskopla saptanır. İnsan düz kas antikoları aynı zamanda sitoplazmik filamentlerle de reaksiyon verirler. Bu filamentlerden biri olan intermediate filamentle reaksiyon veren antikor su çiçeği, kızamık, kabakulak gibi çocukluk hastalıkları ve infeksiyöz hepatit'te görülmektedir.

İN THE STRUCTURE OF ANTI-İNTERMEDİATE FİLAMENT SMOOTH MUSCLE ANTİBODİES

SUMMARY

Smooth muscle antibodies are determined by immunofluorescent microscopy using cryostat tissue sections. Human smooth muscle autoantibodies are reactive with cytoplasmic filaments. Antibodies to intermediate filaments are seen in children with various viral infections, including chickenpox, measles, mumps and infectious hepatitis.

GİRİŞ

Düz Kas Antikoru, (Smooth Muscle Antibody) fare veya tavşanın mide, böbrek, karaciğer gibi doku kesitleri kullanarak immünofloresan teknikle saptanır. (1,2,3). Otoantikor ilk kez 1965'te Kronik Aktif Hepatit'li hastaların serumunda gösterilmiştir. (4). Daha sonra Düz Kas Antikoru (D.K.A.) Primer Bilyer Siroz (5), Kriptojenik Siroz (6), İnfeksiyöz Hepatit (7) gibi diğer karaciğer olaylarında

(x) Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi F.T.R. Bilim Dalı Asis.

(xx) Atatürk Üni. Tıp Fakültesi Üroloji Bilim Dalı Uzmanı,

(xx) GATA Mikrobiyoloji Bilim Dalı Doçenti

da gösterilmiş ve antikorun karaciğer otoimmünitesine özgül olduğu sanılmıştır. Ancak, 1970'ten sonra D.K.A. viral hastalıklar, diğer infeksiyonlar (8,9), bazı kanserlerde (10-14) görülmesi bu kanıyı değiştirmiştir.

Gabbiani D.K.A. oluşumuna sebep olan antijenin Actin olduğunu öne sürülmüştür (15). Nitekim, Kronik Aktif Hepatit'li hastalarda görülen D.K.A. reaksiyonu Actin'le absorbe edildiğinde kaybolmaktadır. Daha sonra Kronik Aktif Hepatit'teki D.K.A.'nın anti-actin özgüllüğü diğer araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (16-19).

Dondurulmuş fare böbreğinden alınan kesitte D.K.A. 3 tür boyanma örneği gösterir (16).

- 1) D.K.A.-T (Tübül boyanması)
- 2) D.K.A.-G (Glomerül boyanması)
- 3) D.K.A.-V (Damar kesiti boyanması)

D.K.A.-T ve D.K.A.-G'nin reaktiviteleri Actin'le nötralize olur, D.K.A.-V'nin ise olmaz. Böylece D.K.A. özgüllüğüne göre iki gruba ayrılır:

- 1) Actin tipi D.K.A.
- 2) Non-actin tipi D.K.A.

Non-actin tip D.K.A.'nın hücrenin iskeletini (Cytoskeleton) oluşturan üç filamentöz sistemden biri-olan İntermediate Filamentle olan ilişkisi ilk kez fibroblast kültür hücrelerinde Kurki tarafından gösterilmiştir (20).

Anti-intermediate filament yapısındaki D.K.A. İnfeksiyöz Hepatit, Su Çiçeği, Kızamık ve kabakulak gibi vital infeksiyonlarda görülmektedir (21).

GEREÇ VE YÖNTEM

Test için uygun doku kültürü hücreleri, örneğin fare fötüsünün akciğer fibroblastları, immünoflöresan boyama için hazırlanır (22). Hücreler cam lameller üzerine 1-3 subkültürden sonra yayılır (23). Subkültürler için ortam olarak Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamı kullanılır. Bu ortama % 5 fetal dana serumu eklenir. Hücreler 37 C'de % 5 CO₂, % 95 hava içeren etüvde inkübe edilirler.

Bu şekilde hazırlanan hücreler -20 C'de soğutulmuş saf asetonda 3 dakika tutularak tespit edilir ve kurutulur. Lamel üzerine 1:8 veya 1:10 oranından başlayarak istenilen ölçüde seyreltilmiş otoantikör aranması istenen serum damlatılır. Preparat 30 Dakika sonra P.B.S. (Phosphate Buffer Saline) ile yıkanır. Daha sonra F.T.I.C. (Fluorescein Isothiocyanate) ile kaplanmış anti-insan immünoglobulini eklenir. 30 dakika sonra P.B.S. ile tekrar yıkanır. Lamel 1:1 P.B.S.-Gliserol solüsyonuyla lama yapıştırıldıktan sonra üstten aydınlatmalı (Epi-illumination) immünoflöresan mikroskopla incelenir.

BULGULAR VE SONUÇ

Bu şekilde hazırlanan bir preparatta boyanma hücrenin skeletal sistemini (Cytoskeleton) oluşturan 3 tür filamentini kapsar:

- 1) Mikrofilament Boyu: 6 n.m.
- 2) Mikrotübül Boyu: 25 n.m.
- 3) İntermediate Filament Boyu: 10 n.m.

Hücrelere testten önce Vinblastin konursa mikrotübüller bağlanır, mikrofilamentler ve intermediate filamentler sağlam kalır. Bu ikisinin görünümü arasında kararsızlığa düşülmesi halinde hücrelerin bulunduğu ortama mikrofilamentleri bozan Cytochalasin-B eklenir. Böylece yalnız kalan intermediate filamentler hücre çekirdeği etrafında kıvrımlar halinde görülür. Elde edilen boyanma, intermediate filamentin subunit proteini olan Skeletin'le yapılan immüno-absorbsiyon deneyi sonucu nötrale olursa otoantikörün intermediate filamentle ilgisi kanıtlanmış olur. (24).

KAYNAKÇA

- 1) Ironside, P.N., De Boer, W.G.R.M., Nairn, R.C. Lancet, i, 1260, 1966
- 2) Whittingham, S., Mackay, I.R., Irwin, j. Lancet, 1333,1966
- 3) Doniach, D., Roitt, I.M., Walker, j.G., Sherlock, S. Clin. Exp. Immunol., I, 237, 1966
- 4) Johnson, G.D., Holborow, E.j., Glynn, L.F. Lancet, i, 878, 1965
- 5) Mackay, I.R. Bull. Rheum. Dis 18, 813, 1968
- 6) Doniach, D., Walker, J.G. Lancet, i, 813, 1969
- 7) Walker, J.G., Doniach, D., Willette, M., Cameron, S., Dane, D.S. Gut. 11, 369, 1970
- 8) Holborow, E.j., He sted, E.H., Meat, S.V. Brit. Med. j., 3. 323, 1973
- 9) Annerson, P., Anderson, H.K. Clin. Exp. Immunol. 22,22,1975
- 10) Whitehouse, J.M.A., Holborow, E.J. Brit. Med.J. 4, 511, 1971
- 11) Wasserman, J., Glas, V., Blomgren, H. Clin. Exp. İmmunol. 19, 417, 1975
- 12) Hodsens, M.E., Turner, M. Thorax 30, 367, 1975
- 13) Nelson, D.S. Transplan. Rev. 19, 226, 1974
- 14) Tanenberg, A.E.G., Muller, H.K., Cauchi, M.W., Nairn, R.C. Clin. Exp. Immunol. 15, 153, 1973.

- 15) Gabbiani, G., Ryan, G.B., Lamelin, J.P., Vassalli, P., Majuo, G.,
Bouvier, G.A., Crush, A., Luchier, E.F. *Amer. J. Pathol*, 72, 473, 1973
- 16) Botazzo, G.F., Florin, C.A., Fairfax, A., Swana, G., Duiach, D.,
Göschel-Stewart, U., *J. Clin. Pathol* 29, 403, 1976.
- 17) Lidman, K., Biberfeld, G., G., Fagraeus, A. *Clin. Exp. Immunol.* 24, 266, 1976
- 18) Anderson, P., Small, J.V., Sobieszek, A. *Clin. Exp. Immunol.* 22, 22, 1976
- 19) Toh, B.H., Clarke, F.M., Credig, R. *Clin. Immunol. Immunopathol* 9, 28, 1978
- 20) Kurki, P. XXVI th Coll. Protides of the Biological Fluids, 26.
- 21) Toh, B.H., Yıldız, A., Sotelo, J., Osung, O., Holborow, E.J., Kanakouidi,
F. *Clin. Exp. Immunol.* 37, 76, 1979
- 22) Toh, B.H., Hard, G.C. *Nature*, 269, 695, 1977
- 23) Toh, B.H., Yıldız, A., Sotelo, J., Osung, O., Holborow, E.J. *Clin. Im-
munol. Immunopathol.* 14, 11, 1976
- 24) Yıldız, A., Toh, B.H., Sotelo, J., Osung, O., Holborow, E.J. Small, J.V.
Clin. Immunol. Immunopathol. 16, 279, 1980