

Lens Antijenlerinin Neden Olduğu Heteroimmünizasyonda İmmünosüpresyonun Etkisi

THE EFFECT OF IMMUNOSUPPRESSION IN THE HETEROIMMUNIZATION CAUSED BY THE LENS ANTIGENS

Hamdı ER*, İsmail TEMEL**, M.Kaya ÖZER***

* Yrd.Doç.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD,

** Yrd.Doç.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

*** Araş.Gör.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, MALATYA

Özet

Bu ön çalışmadaki amaç deneysel olarak lens antijenleri ile oluşturulan heteroimmünizasyona karşı radardaki immünolojik cevabı araştırmaktır. Çalışmada 10 Wistar tipi dişi ratda belirlenen programa göre inkomplet Freund's adjuvanında 0.2 ml (1.5 mg/ml) sığır lens antijenleri (a ve β Kristalin/er) 10 gün ara ile 5 defa sistematik olarak uygulandı. İmmünozotrotoların yarısı (Grup 2) 0.1 ml prednisolon (10 mg/kg) ile tedavi edildi. İmmünizasyon sonrası 10, 20, 40 ve 50. günlerde yapılan immünooglobulin ve protein incelemelerinde iki grup arasında tüm zamanlarda İstatistik olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p > 0.05$). İmmünosüpresyonun uzun dönem etkisinin tespiti amacıyla bu yöndeki çalışmamız devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel katarakt, Kristalin, İmmünosüpresyon

T Klin Oftalmoloji 1998, 7:188-190

Dünyada körlüğe yol açan nedenlerin başında katarakt meydana gelmektedir. Kataraktın şu ana kadar cerrahi olarak çıkarılması dışında oluşumunu geciktirici veya tedavi edici bilinen bir yöntemi mevcut değildir. Katarakt oluşumundan yaş, farklı dejeneratif ve metabolik hastalıklar, travma, radyasyon gibi multifaktörler sorumlu tutulmaktadır (1). Lenste meydana gelen bu olaydan primer olarak direkt immün komplekslerin mi, yoksa lens membran dejenerasyonunun mu sorumlu olduğu konulan hala tartışmalıdır.

Otoimmün fenomenin bir çok göz hastalığının başlangıç ve gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak katarakt patogenezinde immü-

Geliş Tarihi: 10.05.1997

Yazışma Adresi: Dr.Hamdı ER
Valikonağı Cad. Zafer Malı. 5. Sok.
Doğan Ap No: 13 B/Blok 44020
MALATYA

Summary

The objective of this preliminary study is to investigate the immunogenical response to heteroimmunization formed by lens antigens in rats. Ten female Wistar rats received 0.2 ml (1.5 mg/ml) bovine lens antigen (a and β crystallin) in incomplete Freund's adjuvant 5 times with 10 days among systematically according to a schedule. Half of the immunized rats were treated with 0.1 ml prednisolone (10 mg/kg). No statistically significant difference was found in the immunoglobulin and protein values 10, 20, 40 and 50 days after immunization at any time ($p > 0.05$). Our study to evaluate the long-term effects of immunosuppression is ongoing.

Key Words: Crystallin, Experimental cataract, Immunosuppression

T Klin J Ophthalmol 1998, 7:188-190

nitenin kesin rolünü gösterir deliller henüz hem az sayıda ve hem de ilişkileri gösterir sonuçlar birbirlerinden farklıdır (2-5).

Bu çalışmanın amacı lenste immün fenomenin rolünü aydınlatmak ve kortizon ile bu immün fenomenin baskılanma derecesini deneysel olarak araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlıkları 150-200 g arasında değişen Wistar tipi 10 tane dişi rat kullanıldı. Ratlar tedavi protokolüne göre 2 gruba ayrıldı. Grup 1'deki 5 ratta inkomplet Freund's adjuvanında (Sigma, F-5500) 0.2 ml α kristalin (Sigma, C-4163) ve β kristalin (Sigma, C-4288) derin subkutan olarak 1.5 mg/kg olacak şekilde 10 gün ara ile 5 defa uygulandı. Grup 2'deki ratlara ise yukarıdaki aynı immünizasyon protokolü ile beraber 0.1 ml intraperitoneal prednisolon (10 mg/ml) yapıldı (2). Kan örnekleri ise immünizasyon öncesinde ve immünizasyon sonrası 10, 20, 40, 50. günlerde genel anestezi altında

hayvanların kuyruk venalarından aseptik şartlarda sağlandı. Genel anestezi intramüsküler xylazine (5-10 mg/kg, Rompun, Eczacıbaşı) and intramüsküler ketamine hydrochloride (30-40 mg/kg, Ketalar, Eczacıbaşı) ile gerçekleştirildi.

Albumin, total protein, IgG ve IgM analizleri sırasıyla BCG, biuret ve immüno-türbidometrik yöntemler kullanılarak Ciba-Corning otoanalizöründe çalışıldı. Albümin ve total protein için Sigma reaktifleri, IgG ve IgM analizleri için ise Incstar SPQ reaktifleri (İncstar Corporation, Stillwater, MN) kullanıldı.

Rat IgG ve IgM değerleri insandaki normal değerlere göre daha az olması sebebiyle, orijinal analiz yöntemindeki dilüsyon oranları IgG için 13, IgM için 2 kat azaltılarak çalışıldı. Daha sonra bulunan sonuçlar kullanılan dilüsyon oranlarına uygun faktörlerle tekrar düzeltildi. Albümin ve total protein analizleri için rat

serum protein miktarları, insan serum protein değerlerine yakın olduğu için böyle bir işleme gerek duyulmadı.

Gruplar arası değerlerin istatistiki karşılaştırılmasında Wilcoxon Rank Sum W testi kullanıldı.

Sonuçlar

IgG ve IgM değerleri Tablo 1, albümin ve total protein değerleri ise Tablo 2'de izlenmektedir. Buna göre Grup 1'deki pre-immünizasyon ortalama IgG değeri 112.6 mg/dl, IgM değeri 39.36 mg/dl, post-immünizasyon 50. gündeki ortalama IgG 132 mg/dl, IgM ise 42.7 mg/dl idi. Grup 2'de bu değerler pre-immünizasyon IgG 108.2 mg/dl, IgM 48.4 mg/dl iken, post-immünizasyon 50. günde IgG 120 mg/dl, IgM 48.08 mg/dl olarak tespit edildi.

Total protein ve albümin değerleri ise Tablo 2'de izlenmektedir. Buna göre Grup 1'deki ortalama protein

Tablo 1. Grup 1* ve Grup 2**'deki IgG ve IgM değerleri

| Rat No | Pre-immünizasyon | IgG (mg/dl) | | | | IgM (mg/dl) | | | | |
|--------|------------------|-------------|---------|---------|---------|------------------|---------|---------|---------|---------|
| | | 10. Gün | 20. Gün | 40. Gün | 50. Gün | Pre-immünizasyon | 10. Gün | 20. Gün | 40. Gün | 50. Gün |
| 1 | 109 | 101 | 106 | 127 | 123 | 37.4 | 45.6 | 32.5 | 29.6 | 45.2 |
| 2 | 110 | 103 | 117 | 106 | 110 | 46.0 | 41.5 | 39.4 | 31.6 | 37.6 |
| 3 | 103 | 100 | 119 | 111 | 125 | 38.2 | 43.0 | 34.9 | 34.4 | 52.0 |
| 4 | 113 | 117 | 127 | 145 | 132 | 30.2 | 43.6 | 36.0 | 36.4 | 41.7 |
| 5 | 128 | 123 | 120 | 125 | 134 | 45.0 | 47.4 | 35.0 | 36.0 | 37.0 |
| 6 | 92 | 97 | 105 | 133 | 109 | 54.6 | 59.5 | 55.1 | 33.9 | 46.9 |
| 7 | 122 | 129 | 153 | 121 | 139 | 40.3 | 41.3 | 68.7 | 37.9 | 57.0 |
| 8 | 95 | 107 | 108 | 109 | 112 | 63.1 | 46.2 | 46.0 | 45.3 | 49.5 |
| 9 | 117 | 115 | 108 | 124 | 120 | 41.0 | 43.0 | 46.7 | 44.1 | 45.0 |
| 10 | 115 | 131 | 125 | 128 | 120 | 43.0 | 44.8 | 39.4 | 43.0 | 42.0 |

* Grup 1 (1-5)

**Grup 2(6-10)

Tablo 2. Grup 1* ve Grup 2**'deki albümin, total protein değerleri

| Rat No | Pre-immünizasyon | Albümin (g/dl) | | | | Total Protein (g/dl) | | | | |
|--------|------------------|----------------|---------|---------|---------|----------------------|---------|---------|---------|---------|
| | | 10. Gün | 20. Gün | 40. Gün | 50. Gün | Pre-immünizasyon | 10. Gün | 20. Gün | 40. Gün | 50. Gün |
| 1 | 4.2 | 3.9 | 3.8 | 4.0 | 3.8 | 6.6 | 6.8 | 7.0 | 7.2 | 7.1 |
| 2 | 4.0 | 3.9 | 4.0 | 3.8 | 3.7 | 7.2 | 7.3 | 7.4 | 7.4 | 7.5 |
| 3 | 4.3 | 4.2 | 4.5 | 4.3 | 4.1 | 7.1 | 7.1 | 7.2 | 7.1 | 7.3 |
| 4 | 3.6 | 3.5 | 3.8 | 3.6 | 3.6 | 6.4 | 6.6 | 7.0 | 6.8 | 6.9 |
| 5 | 4.5 | 4.4 | 4.3 | 4.3 | 4.4 | 7.2 | 7.4 | 7.3 | 7.3 | 7.3 |
| 6 | 4.2 | 4.2 | 4.4 | 4.0 | 4.1 | 7.2 | 7.4 | 7.6 | 7.4 | 7.5 |
| 7 | 4.4 | 4.0 | 3.8 | 3.9 | 3.8 | 7.4 | 7.2 | 7.5 | 7.4 | 7.2 |
| 8 | 3.8 | 4.0 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 6.8 | 7.2 | 7.0 | 7.1 | 7.0 |
| 9 | 4.3 | 4.2 | 4.4 | 4.2 | 4.1 | 7.5 | 7.4 | 7.6 | 7.5 | 7.7 |
| 10 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.1 | 7.1 | 7.2 | 7.4 | 7.5 | 7.6 |

* Grup 1 (1-5)

**Grup 2(6-10)

değen pre-immünizasyon 6.9 mg/dl, albümin değeri 4.12 mg/dl, 50. gün post-immünizasyonda ise sırasıyla 7.2 mg/dl ve 3.92 mg/dl'dir. Grup 2'de bu değerler pre-immünizasyon için sırasıyla 7.2 mg/dl ve 4.14 mg/dl, 50. gün post-immünizasyon için 7.4 mg/dl ve 3.9 mg/dl olarak bulundu. İler iki grup arasında tüm zamanlarda istatistik olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Tartışma

Katarakt gelişiminde immünolojinin rolü üzerinde tartışmalı sonuçlar bildirilmiştir. Angunavvela (2) 10 tavşan üzerinde yaptığı çalışmada, hayvanları insan lens proteinleri ile immünize etmiş ve immünize ettiği hayvanların yarısında kortizon ile supresyon uygulamıştır. Post-immünizasyon sonrası 16-32 haftalarda lenste küçük kortikal opasiteler tespit etmiştir. Angunavvela yine bir başka çalışmasında (3) katarakt gelişiminde otoimmünitenin olası majör rolünden bahsetmiştir. Bu çalışmada sağlıklı insan serumunda tespit ettiği anti-lens antikor oranı %44.4 iken, senil kataraktlı olgularda bu oran %82 olarak bulunmuştur. Hackett ve ark (4) ile Little ve ark (5) ise konuyla ilgili ayrı ayrı çalışmalarında gene sağlıklı erişkinlerde lens proteinlerine karşı antikor varlığını göstermişlerdir.

Buna karşın Mehta ve ark (6) tavşanlarda kullandıkları homolog immünizasyon sonrası lens antikorları tespit etmelerine karşın, lenste herhangi bir kataraktöz. değişim gözlemlenmemişlerdir. Bizde 50.gün takip süresi sonunda lenste herhangi bir kataraktöz, değişim tespit etmedik. Ancak uzun dönem sonuçlarını görmek için bu konudaki izlemlerimiz devam etmektedir.

(x. β , γ kristalinler arasında immünolojik açıdan majör lens antijeninin α kristalin olduğu gösterilmiştir (7).

α kristalin oc-A ve α -B olmak üzere iki polipeptid zincirinden meydana gelir ve bunlar başta (3 ve γ lens proteinleri olmak üzere diğer bazı polipeptidlerin ısıya bağlı denatürasyonu ile agregasyonunu önler. Lens proteinlerinin fazla denatürasyon ve agregasyondan korunması, bu polipeptidlerin α kristalin kompleksinin santraline bağlanması ile gerçekleşir (8). Biz de çalışmamızda immünizasyon için etkiyi arttırmak amacıyla inkomplet Freund's adjuvamnda α ve (3 kristalinleri birlikte, sistemik olarak kullandık. Her iki grup arasında total serum değerleri açısından istatistiki fark tespit etmedik.

Özet olarak, katarakt gelişiminde immünizasyonun rolü hala tartışmalıdır. Biz bu ön çalışmamızda bu yönde pozitif bir bulgu henüz tespit etmemiş olmakla beraber, immünizasyonun uzun dönem sonuçlarını değerlendirmenin gerekliliği doğrultusunda bu yöndeki çalışmalarımızı devam ettirmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Chylack LT. Mechanism of senile cataract formation. *Ophthalmology* 19X4; 91:596-602.
2. Angunavvela II. The effects of immunosuppression on the development of (experimental) cataract. *Immunology* 19X8; 64:69-72.
3. Angunavvela II. The role of autoimmune phenomena in the pathogenesis of cataract. *Immunology* 1987; 61:363-8.
4. Hackett E, Thompson A. Antilens antibody in human sera. *Lancet* 1964; ii:663.
5. Little J, Langmann J. Lens antigens in the intraocular tissues of the human eye. *Arch Ophthalmol* 1964;72:820.
6. Mehta PD, Cooper SN, Rao SS. Identification of species specific and organ specific antigens in lens proteins. *Exp Eye Res* 1964; 3:192.
7. Manski W, Halbert SP, Javier P. Comparison of rabbit antilens antibodies induced by iso and hetero immunization. *Ann NY Acad Sci* 1965; 124:532.
8. Boyle D, Takemoto L. Characterization of the α -Yand α -[5 complex: Evidence for an in vivo functional role of α -Crystallin as a molecular chaperone. *Exp Eye Res* 1994; 58:9-16.