

## Renal Amiloidosiste Serum İmmün Kompleksler\*

Osman İLHAN\*\*  
F. Nurhan ÖZDEMİR\*\*\*  
A. İlhan ÖZDEMİR\*\*\*\*

### ÖZET

*Ankara Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalında, tanuları histolojik olarak konulmuş olan 32 renal amiloidozisli hasta ile 20 normal kişide serum immün kompleks değerleri ölçüldü. Serum immün kompleks değerleri amiloidozisli hastalarda normale göre belirgin olarak yüksek bulundu. Ayrıca primer, sekonder, ailevi akdeniz humması ve nedeni kesinlikle saptanamayan hastalar kendi aralarında karşılaştırıldı. Bu gruplar arasında, serum immün kompleks yoğunluğu açısından anlamlı bir farklılık bulunamadı.*

### SUMMARY

#### Serum Immune Complexes in Renal Amyloidosis

*Serum immune complexes were measured in 32 patients with renal amyloidosis diagnosed histologically and 20 control subject in the Section of Nephrology of Ankara Medical School. Serum immune complex concentration in the patients with renal amyloidosis was higher than that normal subjects. There was no diagnostic value of serum immune complexes in the classification of the systemic amyloidosis.*

### GİRİŞ

Amiloidozis, dokularda protein yapısında amorf, eozinofilik ve hyalen bir maddenin toplanması ile karakterize olan bir hastalıktır<sup>1-5</sup>. Etiyolojisi kesinlikle

\* Böbrek Hastalıkları ve Hipertansiyon Vakfının desteği ile yapılmıştır.

\*\* Araş. Gör.; Ankara Tıp Fakültesi Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı.

\*\*\* Araş. Gör.; Ankara Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.

\*\*\*\* Ankara Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Başkanı.

açığa kavuşturulamayan amiloidozisin görülme sıklığı ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. Batılı ülkelerde çok az görülmesine karşın ülkemizde beklenenin üzerinde saptanmıştır. Tanıları histolojik olarak konulan binden fazla böbrek hastası arasında birinci sırayı böbrek amiloidozisi almaktadır<sup>6,7</sup>.

Yaygın araştırmalara rağmen, bugüne dek amiloidozisin etiyojisi kesin olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bazı araştırmacılar amiloidozis ile immünolojik olaylar arasında bir bağlantının bulunup bulunmadığını incelemektedir<sup>5,8-16</sup>. Bu konuda yapılan çalışmalar ile de kesin sonuca henüz gidilememiştir. Çünkü bulunan sonuçlar çelişkilidir<sup>1,2,6,7,8,10-12,15</sup>. Elde edilen bulgular ile önceden mevcut olan herhangi bir immünolojik bozukluğun amiloidozise mi neden olduğu, yoksa ileri sürülen bozuklukların amiloidozisin oluşumu sırasında mı geliştiği açıklığa kavuşturulamamıştır<sup>3,4,8,14,15,17</sup>.

Bu nedenle tanıları histolojik olarak konulmuş olan amiloidozisli hastalarda serum immün kompleks seviyelerini saptamak ve bulunan değerlerin amiloidozis tiplerinde ayrıcalık gösterip göstermediğini belirlemek amacı ile bu çalışmanın yapılmasına karar verildi.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim ve Nefroloji Bilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma tanıları perkütan böbrek iğne biopsisi ile histolojik olarak konulan 32 amiloidozisli hasta üzerinde yapıldı<sup>6</sup>. Kontrol grubu olarak da sağlıklı 20 kişiden alınan serum örnekleri kullanıldı.

Bu hastalarda rutin laboratuvar incelemeleri, serum protein elektroforezi, serum immünkompleks ve immünooglobulin düzeyleri ölçüldü.

**İmmünkompleks ölçümü:** İmmünkompleks ve immünooglobulin düzeyleri için Diegon ve ark.<sup>18</sup>'in tanımladığı Polietilen glikol (PEG) presipitasyon yöntemi kullanıldı. Bu amaç için 0,5 ml hasta serumu, 0,5 ml % 8 PEG 6000 solüsyonu ile karıştırılarak +4°C'de 30 dakika ve PEG solüsyonu eklenerek iki kez soğuk ortamda yıkandı. Yıkamış çökeltinin üzerine 0,5 ml PBS (Fosfat tampon solüsyonu) eklenerek 37°C'de eritildi. Tampon solüsyondaki partikülleri temizlemek için eldeki solüsyon 1500 rpm de 20 dakika süre ile santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant, 280 lambda uzunluğunda (ZEİSS PM 2 DL Uv) spektrofotometresinde okundu. Sonuçlar, standardize edilmiş grafiğe uygulanarak, serum immünkompleks düzeyleri mg/dl cinsinden hesaplandı.

**İmmünkomplekslerdeki İmmünooglobulin Tipinin Saptanması:** Bu amaçla radial immünodifüzyon tekniği uygulandı. Hazır plaklardaki (Behring Diagnostic, Hoechst Pharmaceuticals) çukurlara fosfat tampon solüsyon ile eritilmiş % 4'lük PEG solüsyonundan 3 mikrolitre kondu. Onun üzerine 5 mikro/litre hasta serumu ilave edildi. Hazırlanan plaklar 37°C'de, immünooglobulin G için 48 saat, immünooglobulin M için 80 saat süre bekletildikten sonra plaklar üzerinde meydana gelen presipitasyon halkasının çapı ölçüldü. Sonra standart grafik kullanılarak, 4 PEG presipitasyonu içindeki immünooglobulin tipleri saptandı.

Çalışmada bulunan sonuçlar Nova yöntemine göre istatistiki yönden değerlendirildi.

## BULGULAR

Sistemik amiloidozisli 32 hastanın yaşları 16-60 arasında olup, ortalama  $30.4 \pm 12.8$  yıldır. Bunların 24'ü erkek, 8'i kadındır. Kontrol grubundaki 20 kişinin yaşları ise 18-64 yıl arasındaydı ( $35.8 \pm 8.8$  yıl) (Tablo: I). İncelenen hastaların amiloid tiplerine göre dağılımı tablo I'de özetlendi.

**Tablo: I- Böbrek Amiloidozisli 32 Hastanın Yaş, Cins ve Amiloid Tiplerine Göre Dağılımı, İmmünkompleks, İmmünkompleksteki İmmünglobulinler**

Vaka No	Yaş ve Cins	Amiloid Nedeni	İmmünkompleks (mg/dl)	İmmünkompleksteki İmmünglobulinler
1	24/E	Akc. Tbc.	2.5	-
2	38/E	FMF	10.2	Ig M
3	17/K	Jüvenil Rom Art.	11.0	Ig M
4	60/E	Primer	10.4	Ig M
5	27/E	?	3.0	-
6	21/E	Romatoid artrit	17.2	Ig G
7	16/K	FMF	12.5	Ig M
8	36/E	?	12.2	-
9	27/E	?	11.0	Ig M
10	32/E	Kalça fistülü	16.2	Ig M
11	16/E	FMF	4.0	Ig M
12	32/K	FMF	12.2	Ig M
13	18/K	Akc. Tbc.	14.8	-
14	21/E	?	7.0	Ig M
15	25/E	FMF	10.4	-
16	21/K	FMF	10.0	Ig M
17	47/E	Akc. Tbc.	10.6	-
18	49/E	Akc. Tbc.	4.0	Ig M
19	32/E	Primer	10.4	-
20	26/K	FMF	14.4	-
21	20/K	FMF	12.0	-
22	49/E	Primer	20.0	Ig G
23	60/E	Akc. Tbc.	8.5	-
24	30/E	Kr. Pyelonefrit	3.0	Ig G
25	28/E	Akc. Tbc.	11.0	-
26	39/E	?	12.4	Ig G
27	32/K	?	7.8	Ig G
28	17/E	?	3.6	-
29	20/E	?	6.8	Ig G
30	20/E	?	9.6	Ig G
31	19/E	?	8.0	Ig G
32	21/E	Akc. Tbc.	12.4	Ig G
ORTALAMA			9.60 ± 4.10	

Otuz iki hastanın 24'ünde (% 75) ödem, 10'unda (% 31) hipotansiyon vardı. Hipertansiyonlu hasta yoktu. Böbrek fonksiyonları hastaların 15'inde (% 46.8) normal, 10'unda (% 31) serum üre yoğunluğu 40-100 ml/dl arasında, geri kalanlar 100 mg/dl nin üzerindeydi. İdrarla olan ortalama protein kaybı  $3.5 \pm 2$  gr/l idi.

Hasta ve kontrol grubunda protein elektroforezi ve saptanan değerlerin ortalaması tablo II'de gösterildi.

**Tablo: II-Hasta ve Kontrol Grubunda Protein Elektroforezi, Serum İmmünkomplekslerin Ortalama Değerleri**

	Protein Elektroforezi (%)					
	Albumin	alfa-1	alfa-2	beta	gamma	immünkompleks (mg/dl)
<b>HASTA</b>						
n: 32	29.6 $\pm$ 8.5	8.9 $\pm$ 5.6	25.8 $\pm$ 10.1	17.7 $\pm$ 4.4	18.4 $\pm$ 5.8	9.60 $\pm$ 4.10
<b>KONTROL</b>						
n: 20	53.0 $\pm$ 3.9	5.4 $\pm$ 1.1	5.7 $\pm$ 2.7	12.4 $\pm$ 2.4	18.4 $\pm$ 3.9	2.94 $\pm$ 0.94
p	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05

Kontrol grubunda serum immün kompleks yoğunluğu  $2.95 \pm 0.94$  mg/dl bulundu. Amiloidozisli hastalarda ise  $9.60 \pm 4.10$  mg/dl olarak saptandı (Tablo: II). İki grup karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiki yönden anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Serum immün kompleks değerleri amiloidozis tiplerine göre değerlendirildi. Serum immün kompleks yoğunluğu, ailevi akdeniz humması ile birlikte olan amiloidli hastaların 7'sinde (% 87,5) sekonder amiloidozisli 11 hastanın 8'inde (% 72), primer amiloidozisli 3 hastanın hepsinde (% 100), bir nedene bağlanamayan 10 hastanın 8'inde (% 80) yüksek bulundu (Tablo: III). Belirlenen bu gruplarda saptanan immün kompleks değerleri birbiri ile karşılaştırıldı ve sonuçlar istatistiki yönden anlamsız bulundu ( $p > 0.05$ ). Öbür yandan böbrek fonksiyonu normal olan ve olmayan vakalarda bulunan immün-kompleks değerleri arasında istatistiki yönden anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

Yirmi hastanın immün komplekslerdeki immünglobulinlerinin tipleri araştırıldı. Bunların 11'inde (% 55) Ig M, 9'unda (% 45) Ig G saptandı. İmmün komplekslerde IgM saptanan 11 hastanın 5'i FMF, 3'ü sekonder, 1'i primer ve 2'ide sınıflandırılmayan amiloidozisli hastalardı. Immunglobulin G bulunan 9 hastanın 3'ü sekonder, biri primer ve 5'i sınıflandırılmayan amiloidozisli vakalardı (Tablo: I).

**Tablo: III- Amiloidozisli Vakaların Serum İmmün Kompleks Düzeyleri**

Amiloidozis Tipi	Total	Serum İmmünkompleks Değerleri				Ortalama
		Yüksek		Normal		
		Sayı	%	Sayı	%	
FMF	8	7	87.5	1	12.5	10.11 ± 4.27
Sekonder Nedeni Belli	11	8	72.7	3	27.3	10.11 ± 5.15
Olmayan Primer	10	8	80.0	2	20	8.58 ± 3.52
	3	3	100	-	-	9.77 ± 1.10
TOPLAM	32	26	81.3	6	18.7	9.60 ± 4.10

### TARTIŞMA

Amiloidozis, uzun yıllardan beri bilinmesine rağmen, bugüne kadar patogenezi kesinlikle açıklığa kavuşturulamamıştır<sup>1-5.10.11.16</sup>. Başlangıçta primer ve sekonder olarak iki grupta incelenen amiloidozisli hastalar, son yıllarda ailevi, genetik, yaşlılık ile birlikte olan amiloidozis gibi çeşitli gruplar eklenmiştir<sup>1.2.18-22.31</sup>. Uzun yıllardan beri gerek boyama özelliklerine, gerekse elektron mikroskopik görünüşüne göre primer, sekonder ve öbür tip amiloidozislerin arasında önemli bir farklılığın olup olmadığı, varsa amiloidozis tiplerinin sınıflandırılmasında işe yarayıp yaramadığı tartışma konusu olmuştur<sup>2.3.15.16.17</sup>.

Son yıllarda bazı araştırmacılar, amiloidozis tiplerinin immünolojik bir bozukluk sonucu oluşabileceği üzerinde durmuşlardır<sup>10.15.16</sup>. Bu amaçla, bugüne kadar, çeşitli yöntemler kullanılmasına rağmen amiloidozis tipleri arasındaki farklılık olduğunu gösterecek kesin bir sonuca varılmamıştır.

Bu tür çalışmalardan birisi de amiloidozisli hastaların serumunda immünkompleksin bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır. Akoğlu ve arkadaşları<sup>15</sup>, değişik gruplardaki amiloidozisli hastaların serumlarında serum immünkompleks düzeylerini araştırmışlardır. Sekiz immünoisitik (primer) amiloidozisin 3'ünde (% 25), sekonder amiloidozisli 6 vakanın tümünde (% 100), ailevi Akdeniz hummasına bağlı amiloidozisli 12 vakanın 9'unda (% 81.8) serum immünkompleksini müspet bulmuşlardır. Bu sonuca göre primer amiloidoziste düşük yoğunlukta bulunan serum immünkomplekslerin amiloidozis, tipinin tanısına yardımcı olabileceği düşünülebilir. Bununla beraber bu çalışmamızda ise primer amiloidozisli vakaların tümünde, sekonder amiloidozisde % 72'sinde ailevi Akdeniz humması ile birlikte olan amiloidozis vakaların % 75'inde herhangi bir gruba dahil edilemeyen vakaların % 80'inde immünkompleks seviyeleri yüksek bulundu (Tablo: III). Bu sonuç immün kompleks değerlerinin amiloidozis tiplerinin ayırımı yararlı olamayacağını göstermiştir. Öte yandan, bu çalışmamızda amiloidozis vaka-

larında bulunan serum immünkompleks değerleri, kontrol grubuna oranla yüksek bulundu (% 78.1). Bu sonucun sistemik amiloidozis şüphelenilen vakalarda tanıya gitmede ek incelemelerin yapılmasının zorunluluğunu destekleyici bir ön bulgu olduğu kanısındayız.

Ayrıca bu çalışmada, öbür araştırmacılar tarafından yapılmayan, serum üre düzeyleri ile serum immünkompleks değerleri arasında karşılaştırma yapıldı. Böbrek fonksiyonları normal ve bozulmuş olan vakalarda bulunan değerler arasında istatistiki yönden anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

#### KAYNAKLAR

1. COHEN, A.S.: Amyloidosis. N. Eng. J. Med. 277: 522-530, 574-583, 628-638, 1967.
2. COHEN, S.A., CATHCART, E.S., SKINNER, M.: Amyloidosis: Current trends in its investigation. Arthritis 21: 153-160, 1978.
3. GLENNER, G.G.: Amyloid deposit and amyloidosis. The Beta Fibriloses. N. Eng. J. Med. 302: 1283-1992, 1333-1343, 1980.
4. KYLE, R.A., BAYRD, E.: Amyloidosis review of 236 cases. Medicine 54: 271-299, 1975.
5. GLENNER, G.G., TERRY, W.D., ISERSKY, C.: Amyloidosis: Its nature and pathogenesis. Seminars in Hematol. 10: 65-86, 1973.
6. ÖZDEMİR, A.İ., SÖKMEN, C.: Renal Amyloidosis in Turkey: Review of 150 cases, Ankara Tıp Bülteni I: 269-278, 1979.
7. ÖZDEMİR, A.İ.: Böbrek hastalıklarının Türkiye'deki durum ve coğrafi dağılışı: 1144 olguda yapılan 1280 biopsinin sonuçları. A.Ü. Tıp Fak. Mec. 33: 365-380, 1980.
8. ABRUZZO, J.L.: Amyloidosis. A study of its pathogenesis and role of humoral immunity. Artr. Rheum. 14: 451-456, 1971.
9. CATHCART, E.S., MULLARKEN, M., COHEN, A.S.: Cellular immunity induced amyloidosis. Immunology 20: 1001-1008, 1971.
10. CLERICI, E., GARLOTTA, G., PORTA, C., BILGI, G., PESSINA, A., VILLA, M.L.: Immunological aspects of amilodosis. Israel J. Med. Science 9: 881-887, 1973.
11. COHEN, A.S., CATHCART, E.S.: Amiloidosis and immunglobulins. Adv. Intern. Med. 19: 41-60, 1974.
12. GLENNER, G.G., EVIN, D., TERRY, W.D.: The immunoglobulin origin of amyloid. Amer. J. Med. 52: 141-151, 1972.
13. ISERSHY, C., EIN, D., PAGE, D.L., HARADA, M., GLENNER, G.G.: Immunochemical cross reaction of human amyloid proteins with immunoglobulin light chains. J. Immunol. 108: 486-493, 1972.

14. SCHEINBERG, M.A., WOHLGETHAN, J.R., CATHCART, E.S.: Humoral and celuler aspects of amyloid disease. Prog. Allergy. 27: 250, 1980.
15. AKAOĞLU, E., AKAOĞLU, T., GÜRÇAY, A., TURGAN, C., ANIL, H.: Circulating Immune Complexes in Systemic Amyloidosis. Clin. Immunol. Immunopathol. 20: 321-324, 1981.
16. CATHCART, E.S.: Immunoglobulins and amyloidosis. Amer. J. Med. 52: 93-100, 1972, An. Immunologic study of sixty-two patients with biopsy proved disease. Amer. J. Med. 52: 93-100, 1972.
17. SILVERMAN, S.L., CATHCART, E.S., SKINNER, M., COHEN, A.S.: The degradation of serum amyloid A protein by activated polymorphonuclear leucocytes: Participation of granulocytic elastase. Immunology 46: 737-744, 1982.
18. ÖZDEMİR, A.İ., SÖKMEN, C.: Familial Mediteranean fever among the Turkish people. Amer. J. Gastroent. 51: 311-316, 1969.
19. DAHLİN, D.C.: Classification and general aspects of amyloidosis. Med. Clin. N. Amer. 34: 1107-1111, 1980.
20. GUNNAR, H.: A chemical classification of amyloid. Scand. J. Rheum. 9: 60-64, 1980.
21. MARHAUG, G. and HUSBY, G.: Characterization of human amyloid related protein SAA as a polymorphic protein: Association with albumin and prealbumin in serum. Clin. Exp. Immunol. 45: 97-106, 1981.
22. HIJMANS, W., JEAN, D.: Levels of the serum amyloid A protein (SAA) in normal persons of different age groups. Clin. Exp. Immunol. 35: 96-100, 1979.

A. İlhan ÖZDEMİR

1. Ataç Sokak No: 35/9

Yenişehir - ANKARA

Kur. Doç. Dr. Ülküç Üner, Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı

\*\* Araç. Doç. Ülküç Üner, Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı

\*\*\* Doç. Dr. Ülküç Üner, Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı

\*\*\*\* Prof. Dr. Ülküç Üner, Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı