

BAŞ-BOYUN BÖLGESİ KANSERLERİNDE SERUM İMMÜNGLOBULİN VE KOMPLEMAN DÜZEYLERİ VE SAPTANAN OTOANTİKOR POZİTİFLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Sabri GÜNGÖR (*) Hüseyin GÜN (**) Yalçın ÖZKAPTAN (***)

Anahtar terimler: Kanser, Otoantikor, İmmünoglobulinler, Kompleman.

Key words: Cancer, Autoantibody, Immunoglobulins, Complement.

ÖZET

Çalışmamız baş-boyun bölgesinde lokalize kanserli hastalarda Düz kas antikor (SMA), anti-nükleer antikor (ANA), anti-mitokondrial antikor (AMA), mide parietal hücre antikor (PA), glomerular basal membran antikor (GM), serum immünglobulin ve komplemanın C3 fraksiyonu düzeylerinin araştırılmasını ve elde edilen bulguların kanserli olgulardaki değerini tartışmak üzere yapılmıştır.

Histopatolojik olarak baş-boyun bölgesi kanseri tanısı konmuş tüm olgularda ANA (% 31.91) ve SMA (%38.29) pozitiflik oranı diğer otoantikora göre daha yüksek bulundu. Nitekim olgularda AMA % 4.25, Pa % 12.76 ve GM'de % 2.12 oranında pozitif bulunmuştur. Kontrol grubunda ise ANA pozitifliği % 3.33, SMA pozitifliği ise % 10 olarak bulundu.

Larenks kanserli 30 hastanın 10'unda ANA ve SMA (% 33.3), nazofarenks kanseri bulunan 9 hastanın 5'inde ANA (% 55.5), 4'ünde ise SMA (% 44.5) pozitifliği bulunurken, hastaların tümünde immünglobulin ve kompleman C3 düzeyleri normal sınırlarda bulunmuştur.

Kanserli olgularda kontrol grubuna oranla, özellikle ANA ve SMA başta olmak üzere çeşitli otoantikorlarda yüksek sıklıkta pozitiflik bulunması, bu otoantikorların oluşmasına yol açabilecek çeşitli olasılıklar yanında kişide malignite olasılığını da akla getirmesi ve incelemelerin bu yönde de yapılmasını aktive etmesi bakımından dikkate değer bir bulgu olduğu kanısındayız.

SUMMARY

Serum Immunglobulin and Complement Levels in the Patients With Head and Neck Carcinoma and the Evaluation of Autoantibody Positivity Rate

* Gaziantep Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji ABD Prof. Dr.

** GATA ve As. Tıp Fak. Mik. ve Kl. Mik. ABD. Yrd. Doç. Dr.

*** GATA ve As. Tıp Fak. K.B.B. Anabilim Dalı Prof. Dr.

In this study, smooth muscle antibody (SMA), anti-nucleer antibody (ANA) anti-mitochondrial antibody (AMA), anti-parietal cell antibody (PA), antiglomerular basal membrane antibody (GM), serum immunglobulins and complement-C3 levels have been searched.

The positivity rate of ANA (31.91 %) and SMA (38.29 %) were found high in sera of the patients with head and neck carcinoma which had been diagnosed histopathologically. But the positivity rate of AMA (4.25 %) PA (12.76 %) and GM (2.12 %) were low in the same group.

ANA and SMA were detected in 10 of 30 patients with laryngeal carcinoma; ANA were detected in 5 of 9 patients (55.5 %) and SMA were found in 4 of 9 patients (44.5 %) with nasopharyngeal carcinoma. There was no significant deviation in the levels of immunglobulins and complement-C3. The highest levels of immunglobulins have been detected in patients with laryngeal carcinoma.

Finding of high positivity rate of ANA and SMA in the patients with head and neck carcinoma showed an accordance with the other investigators' results.

GİRİŞ

Otoantikörlerin oluş mekanizmaları hakkında çeşitli görüşler ileri sürülmektedir. Bu konuda henüz cevap bulmakta güçlük çekilen karanlık noktalar vardır. Viral enfeksiyonlar, metabolik bozukluklar ve kollagen doku hastalıkları gibi patolojiler sonucu dokularda olan değişiklikler, dokuyu organizma için yabancı, yani antijen durumuna getirmekte ve sonuçta bu antijene karşı bir immün yanıt oluşabilmektedir (1,2).

Sağlam doku hücrelerinin maling transformasyonu sırasında hücre zarı ve sitoplazmasında oluşan değişiklikler, hücreyi konakçıya karşı yabancı durumuna getirmektedir. Antijenik uyarımların böylece başlamasıyla olgulara göre değişmek üzere değişik titrelerde antikor oluşumu ve bir kısım olguda da immünkompleks oluşumuna bağlı klinik tablolar ortaya çıkmaktadır. Bu noktadan hareket edilerek yapılan araştırmalarda birçok maling olguda otoantikör sıklığının artmış olduğu gözlenmiştir (1,2,3,4,5)

İlk olarak Johnson ve arkadaşları 1965'de fare mide kesitlerini antijen olarak kullandıkları indirekt immünofluoresan yöntemle mide parietal hücreleri ve mide bezlerini çevreleyen düz kas liflerine karşı oluşan antikorları saptamayı başarmışlardır (1).

Düz kas antikorlarının (SMA-Smooth muscle antibody) değişik virus enfeksiyonlarında (Enfeksiyöz mononükleoz, sitomegalovirus enfeksiyonları vb.), kronik aktif hepatitte, mikoplazma enfeksiyonlarında, malign tümörlerde ve hatta % 3-4 oranında da sağlam popülasyonda da oluşabileceği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (1,2,4,5,6,7,8).

Enfeksiyonlar ve maling transformasyonlar gibi çeşitli etkenler, özellikle hücre za-

rını etkileyerek antijenik değişikliklere yol açarlar. Örneğin viral etkenler hepatosit membranında bulunan acto-myozin benzeri bir yapıda değişikliklere ve dolayısıyla yapısal bozulmalara yol açarak bu yapıyı konakçıya karşı yabancı duruma getirir ve antijenik uyarım sonucu immün yanıt ortaya çıkar. Antijenik benzerlik nedeniyle düz kasların bulunduğu diğer dokularla da bu otoantikör reaksiyona girer (1,4,6).

Düz kas miyofibrilleri aktin, miozin, ağır meromyozin, hafif meromyozin ve tropomyozin gibi kontraktıl proteinleri içermektedir (1,4,6,9). Ayrıca bu proteinlerin kas hücresi dışındaki diğer birçok hücrelerde de filamentöz oluşumlar şeklinde buldukları ve muhtemelen bunların hücre içi ve dışı aktivitelerde rol oynadıkları belirtilmiştir (1,2). Bu filamentöz oluşumların miktarı hücrenin fonksiyonel aktivitesi ile ilgili olarak değişmektedir. Yapılan çalışmalarla kanserli hücre kontraktıl proteinlerinde hücre aktivitesi ile paralel bir artma saptanmış ve kontraktıl proteinlerdeki bu artış, kanserli hücre ile normal hücreyi birbirinden ayırt ettirici bir özellik olarak kabul edilmiştir (5,10).

Anti-mitochondrial antikör (AMA), lipoprotein yapısındaki bir antijene karşı oluşur. AMA en çok mide parietal hücre antikörü (PA) ile benzerlik gösterir ve değerlendirme hataları yapılabilir. Ancak PA, organa özgül olup, böbrek tübülü epitelleri veya karaciğer hücresi sitoplazmalarında fluoresan boyanmaya neden olmamaları ile AMA'dan ayrılır (4,6).

Glomerul basal membranına ve tübülü basal membranına karşı oluşmuş antikörlerin meydana getirdikleri otoimmün nefropatilerde, yüksek sıklıkta ve yüksek titrelerde anti-glomerular basal membran (GM) antikörleri saptanmıştır (4,11).

Çalışmamızda baş-boyun bölgesinde lokalize olmuş ve histopatolojik olarak kanser tanısı almış olgularda çeşitli otoantikörlere ait pozitiflikleri, serum immünglobulin düzeylerini ve kompleman C3 fraksiyonu düzeyini saptayarak, malign transformasyonun immün sistem üzerindeki etkilerine bir açıdan bakmaya çalıştık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde, K.B.B. kliniğinde yatırılarak ve histopatolojik olarak kesin kanser tanısı almış 47 baş-boyun bölgesi kanserli olguyu ve sağlam kan donörlerinden seçilmiş 30 kontrol kişiyi kapsamaktadır. İmmünolojik incelemeler Gülhane Askeri Tıp Akademisi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır.

Çalışma kapsamına alınan 47 kanserli olgunun kanser cinslerine göre ve kanser evrelerine göre dağılımı Tablo-1'de gösterilmiştir. Vakaların hiçbirinde metastaz bulunmamakta idi.

Çalışma üç aşamada yapılmıştır;

1. Baş-boyun bölgesi kanserli hastaların saptanması ve serumlarının toplanması,
2. ANA, AMA, SMA, PA ve GM otoantikörlerinin araştırılması,
3. Serum immün-

globulin (IgG, IgM ve IgA) ve kompleman C3 fraksiyonu düzeyinin saptanması.

Tablo-1

Olguların kanser cinslerine ve evrelerine göre dağılımı

KANSER CİNSİ	TOPLAM		KANSER EVRESİ				
	OLGU SAYISI	%	T1	T2	T3	T4	Metastaz
Larenks kanseri	30	63.83	4	6	17	3	-
Nazofarenks kanseri	9	19.15	3	6	-	-	-
Diğer kanserler	8	17.02	2	4	-	2	-
— Özofagus (2)							
— Tonsil (2)							
— Maksiller sinüs (2)							
— Burun (2)							
TOPLAM	47	100	9	16	17	5	-

Hasta ve kontrollerden uygun şekilde alınıp hazırlanan ve teste alınincaya kadar sodyum azid ile prezerve edilerek -20 C de saklanan serumlar, günlük çalışılacak kadarı oda ısısında çözüldü ve çalışmaya alındı.

Serumda İndirekt Floresan Antikor Tekniği (IFAT) ile ANA, SMA, AMA, PA ve GM Otoantikörlerinin Araştırılması:

Antijen olarak rat mide, karaciğer ve böbrek kesitleri kullanıldı.

Fare dokularından alınan parçalar mide-karaciğer-böbrek kompozit blokları şeklinde sıvı nitrojenle süratle dondurulduktan sonra kullanıncaya kadar - 70 C de saklandı. Daha sonra teste alınacakları sırada ise kryostatta (Leitz Cryostat-1720) 4-5 mikron kalınlığında kesitler yapılarak önceden kenarları teflonla kaplanıp ortalarında doku kesitleri için yüzeyel kuyucuklar bırakılmış kısımlara da bu kesitler yerleştirildi ve oda ısısında fan altında kesitler kurutuldu.

Konjugat: Çalışmada Wellcome, sheep anti-human immünglobulin'i (polivalan, anti-IgM, anti-IgG, anti-IgA) kullanıldı. Sulandırma oranı olarak normal insan serumu ile minimal nonspesifik fluoresans veren 1/50 serum sulandırımı kullanıldı.

Daha önce hazırlanmış olan doku kesitleri pozitif ve negatif kontrol serumları ile birlikte hasta serumlarının PBS ile hazırlanmış 1/10 luk dilüsyonları ile oda ısısında ve rutubetli ortamda 30 dakika işleme sokuldu. Daha sonra PBS ile ve bir manyetik karıştırıcı yardımıyla 10 dakika yıkandı. Lamın altı ve kesitler arası kurutma kağıdı ile kurulandı ve üzerlerine 1/50 sulandırımı yapılmış konjugat damlatıldı ve oda ısısında nemli ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin bitiminde lamlar yine manyetik karıştırıcı yardımı ile 1 saat süreyle yıkanarak nonspesifik boyanmaların giderilmesine çalışıldı. Yıkama işleminden sonra lamların altı ve kesit araları kurulandı. Herbir kesit üzerine birer damla gliserinli tampon (1/9) konarak

üzerleri lamelle kapatıldı ve fluoresan mikroskopta (Standart Carl - Zeiss Araştırma mikroskobu) incelendi. Çalışmada BG-II exciter ve 50-44 barrier filtreleri kullanıldı. 1/10 sulandırımı pozitif bulunan serumların 1/20 dilüsyonları yapılarak antikor pozitiflikleri saptandı ve değerlendirmelerde 1/20 titredeki pozitiflikler anlamlı olarak kabul edildi.

İlk aşamada polivalan konjugat kullanılarak pozitiflik saptanan serumlarda otoantikör cinslerinin immüngloblin yapıları da sonraki aşamada ayrı ayrı monovalan IgG, IgM ve IgA konjugatları kullanılarak belirlendi.

Değerlendirmelerde PA ve GM araştırmaları özellikle ANA ve AMA pozitiflikleri için kesin kriter oluşturmada bir bakıma hakem testler olarak dikkate alınabilir. Örneğin kişide sadece mide parietal hücrelerde saptanan sitoplazmik bir boyanma spesifik PA pozitifliği anlamında yorumlanırken, aynı zamanda hücrelerindeki sitoplazmik boyanma ile birlikte olursa, AMA pozitifliği lehinde önemli bir delil sayılır. Öte yandan mide-karaciğer-böbrek kesitlerinin hemen tümündeki çekirdek boyanmaları ise ANA pozitifliği için kesin delil oluşturur.

Serum immünglobulin ve C3-kompleman düzeylerinin saptanmasında Mancini- Radial Gel İmmünodiffüzyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde, "Behring-OSLN-OSLP-OSLM-OSLE-Nor Partigen, IgG, IgM, IgA ve C3" pleytleri kullanıldı. Pleytlerdeki kuyucuklara 5 er mikrolitre hasta serumu konularak 72 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda saptanan diffüzyon çapı kareleri ölçüldü ve daha önce standart serumlarla çizilmiş olan eğrilerden sonuçlar % mg. cinsinden okundu.

BULGULAR

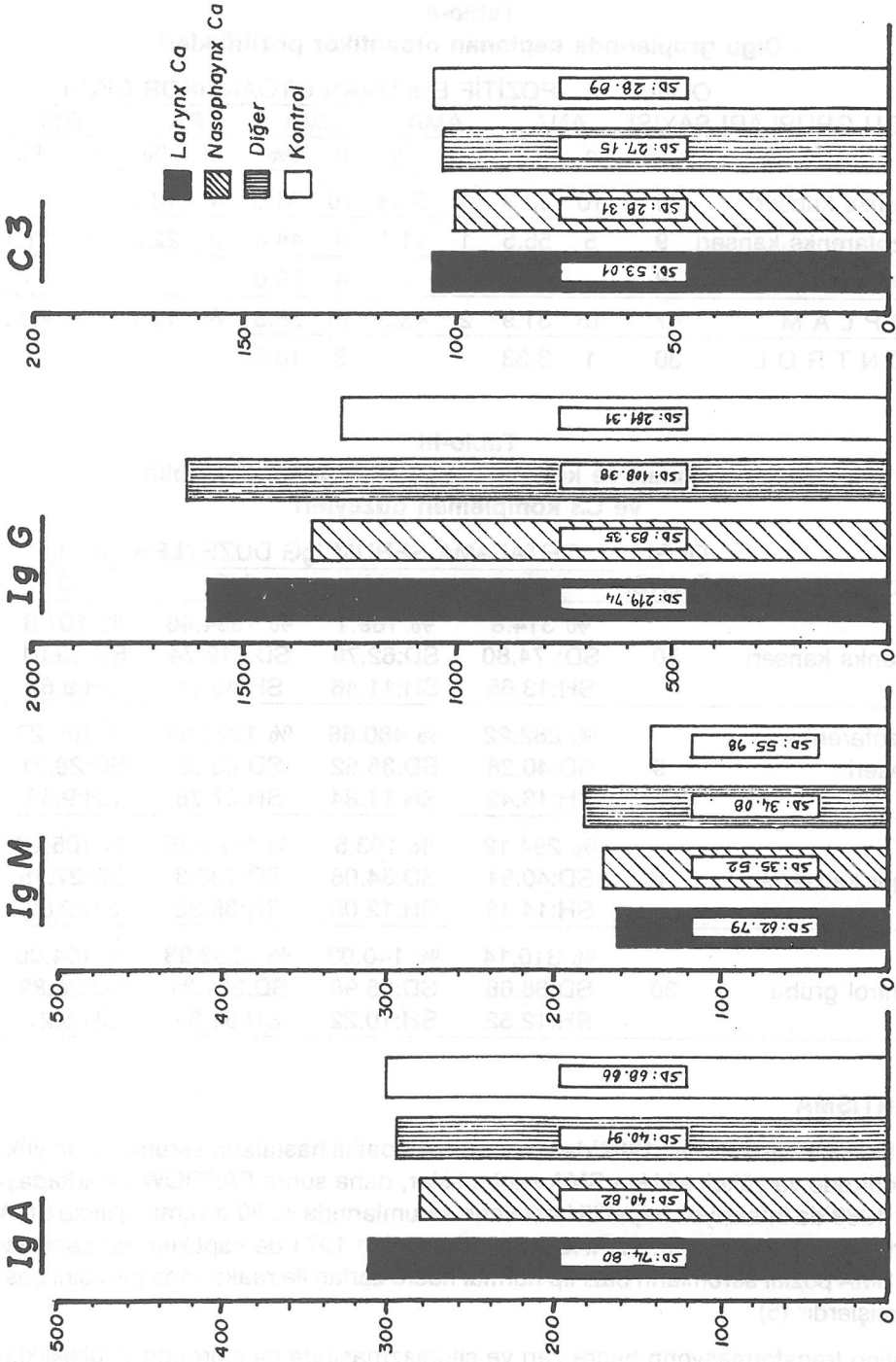
Olgu grupları ve kontrol serumlarda saptanan otoantikör pozitiflikleri ve pozitiflik yüzdeleri Tablo-II'de görülmektedir.

İmmünglobulin ve C3 kompleman düzeyleri ise Tablo-III'de gösterilmiştir.

Saptanan otoantikörlerden gerek SMA'nın gerekse ANA'nın genellikle IgS yapısında oldukları görülmüştür. % 38.30 oranında pozitif bulunan düz kas antikörlerinden % 6'sı IgM, % 30.09'u IgG ve geriye kalan % 2 si ise hem IgG hem de IgM yapısında antikor içeren hastalara ait oldukları saptanmıştır. Genel toplamda %31.91 olarak bulunan ANA pozitifliğinin sadece %2'sinin IgM ve % 1.91'inin IgG-IgM yapısında olduğu, geriye kalan % 28'inin ise IgG

yapısındaki antikörlerden oluştuğu belirlenmiştir. AMA, PA ve GM pozitifliklerinin ise IgG yapısındaki antikörlere bağlı olduğu saptanmıştır.

Tablo-III ve Şekil-1'de görüldüğü gibi tüm olgu gruplarında ortalama immünglobulin ve C3 kompleman düzeyleri normal sınırlar içerisinde olup önemli bir sapma mevcut değildir.



Şekil-1: Olgu grupları ve kontrolünde, Ig ve C3 düzeyleri.

Tablo-II
Olgu gruplarında saptanan otoantikör pozitiflikleri

OLGU GRUPLARI	OLGU SAYISI	POZİTİF BULUNAN OTOANTİKÖR CİNSİ									
		ANA		AMA		SMA		PA		GM	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Larenks kanseri	30	10	33.3	1	3.33	10	33.3	4	13.3	-	-
Nazofarenks kanseri	9	5	55.5	1	11.1	4	44.4	2	22.2	1	11.1
Diğer kanserler	8	-	-	-	-	4	50.0	-	-	-	-
T O P L A M	47	15	31.9	2	4.25	18	38.3	6	12.7	1	2.13
K O N T R O L	30	1	3.33	-	-	3	10.0	-	-	-	-

Tablo-III
Olgu grupları ve kontrol serumlarında immüngloblin ve C3 kompleman düzeyleri

OLGU GRUPLARI	OLGU SAYISI	ORTALAMA SERUM IgG DÜZEYLERİ % mg.			
		IgA	IgM	IgG	C3
Larenks kanseri	30	% 314.8 SD: 74.80 SH:13.65	% 169.1 SD:62.79 SH:11.46	% 1594.46 SD:219.74 SH:40.11	% 107.8 SD:53.01 SH:9.67
Nazofarenks kanseri	9	% 282.22 SD:40.28 SH:13.42	% 480.66 SD:35.52 SH:11.84	% 1320.55 SD:83.35 SH:27.78	% 105.27 SD:28.31 SH:9.49
Diğer kanserler	8	% 294.12 SD:40.91 SH:14.46	% 193.5 SD:34.08 SH:12.05	% 1626.25 SD:108.3 SH:38.32	% 105.27 SD:27.15 SH:9.60
Kontrol grubu	30	% 310.14 SD:68.66 SH:12.52	% 140.03 SD:55.98 SH:10.22	% 1268.93 SD:281.31 SH:51.54	% 104.00 SD:28.89 SH:5.27

TARTIŞMA

Doniach ve Walker 1969'da kronik aktif hepatitli hastaların serumlarında yüksek titrede ve yüksek sıklıkta SMA saptamışlar, daha sonra FARROW ve arkadaşları 1969'da infeksiyöz hepatitli hastaların serumlarında % 80'e varan sıklıkta SMA varlığını göstermişlerdir. FARROW ve arkadaşları 1971'de yaptıkları bir çalışmada SMA pozitif serumların bazı tip normal hücre zarları ile reaksiyona girdiğini göstermişlerdir (5).

Maling transformasyon hücre zarı ve sitoplazmasında oluşturduğu değişikliklerin vücutta yeni antijenik uyarılara neden olabileceği gösterilmiş olup, ilk kez WHI

TEHOSE ve HOLBOROW 1971 yılında kanserliler üzerinde yaptıkları bir çalışmada SMA'yı maling melanoma'lı hastalarda % 60, over kanserli hastalarda ie % 83 oranında bulmuşlardır. Aynı çalışmada toplam SMA pozitiflik oranı % 67 bulunurken, kontrol grubunda bu oran % 20 olarak saptanmıştır. (1,5).

Daha sonra yapılan çalışmalarda değişik kanser tiplerinde kontrol kişilere oranla oldukça yüksek sıklıklarda SMA ve diğer otoantikörlara ait pozitiflikler bulunduğu saptanmıştır (1,2,6).

Yurdumuzda, BÜYÜKPAMUKÇU ve arkadaşlarının çocukların solid maling tümörleri üzerinde toplam 86 olguyu kapsayan çalışmalarında, otoantikör pozitifliği % 53.4 oranında bulunmuştur. Aynı çalışmada kontrol grubu için saptanan pozitiflik oranı % 10'dur (12).

ARITÜRK, yapmış olduğu çalışmada larenks kanserli 11 hastanın 10'unda (% 90.9), nazofarenks kanserli 4 hastanın 3'ünde (% 75) SMA pozitifliği saptamıştır (1).

Çalışmamızda 10'u larenks kanserli, 4'ü nazofarenks kanserli ve 4'ü de diğer kanserler grubundan olmak üzere toplam 18 olguda SMA pozitifliği saptarken (% 38.30); 10'u larenks kanserli ve 5'i de nazofarenks kanserli 15 hastada ANA pozitifliği (% 31.91) bulduk. Otoantikör pozitifliği yönünden üçüncü sırayı % 12.76'lık bir oranla PA almaktadır. Parietal hücre antikörünü 4'ü larenks kanserli ve 2'si de nazofarenks kanserli olmak üzere toplam altı hastada saptadık (Tablo-II).

Elde ettiğimiz sonuçlar, diğer araştırmacıların bu alanda yaptıkları benzer çalışmalarla uyum göstermektedir.

Maling olgularda saptadığımız ANA ve SMA'nın yüksek orandaki pozitifliği, kolla-gen doku hastalıklarında, otoimmün hastalıkların tanısında kullandığımız bu marker'lar, çeşitli araştırmalarda da vurgulandığı gibi malignitenin erken tanınmasında, ya da saptandıklarında diğer muhtemel tanılar yanında malignitenin de akla gelmesi gerektiğini telkin etmesi bakımından dikkat çekicidir. Öte yandan daha duyarlı yöntemlerle yapılacak ileri çalışmalar, mutlaka konuya daha da açıklık getirecektir. Olgulardaki otoantikör pozitifliklerinin kantitatif yöntemlerle titre yükselmelerinin metaztaz olduğu şüphesi uyandırması, yada çeşitli tedavi etkinlikleri ile titre azalması şeklinde sonuçlar alınması, diğer kriterler yanında klinisyene yardımcı ipuçları oluşturabilir.

KAYNAKLAR

1. Antürk, S.: Çeşitli kanser türlerinde düz kas antikörü, anti nükleer antikör, serum immünglobulin ve kompleman C3 düzeylerinin araştırılması. GATA Bülteni 23:9-1981.
2. Gabbiani, G., Trenchev, P., Holborow, E.J.: Increase of contractile proteins in human cancer cells. The Lancet 11:796-797, 1975.
3. Akman, Ş., Atik, U., Kutluay, T., Arı, E., Karaca, L.: Dolaşımdaki immün komplekslerin çeşitli immün kompleks hastalıklarında taranması. Biyokimya Dergisi 8 (3): 24-29, 1983.
4. Akman, Ş., Atik, U., Kutluay, T., Arı, E., Karaca, L.: İmmün kompleks hastalıklarında indirekt immünofluoresans yöntemiyle otoantikör araştırması. Biyokimya Dergisi 8 (3): 11-23, 1983.

5. Whitehouse, J.M.A., Holborow, E.J.: Smooth muscle antibody in malignant disease. *Br. Med. J.* 4:511—513, 1971.
6. Güngör, S.: Viral hepatitlerin kronikleşmesinin saptanmasında immünolojik parametrelerin değerlendirilmesi. Doçentlik tezi. GATA 1980, Ankara
7. Johnson, G.D., Holborow, E.J., Glynn, L.E.: Antibody to smooth muscle in patients with liver diseases. *The Lancet* 11 (7418): 878-879, 1965.
8. Leyvraz, S., Henle, W., Chahinian, A.P., Perlmann, C., Klein, G., Gordon, R.E., Rosenblum, M., Holland, J.F.: Association of Epstein-barr virus with thymic carcinom a. *N. Engl. J. Med.* 20 (312): 1296-1299, 1985.
9. Koniçe, M.: Gastrointestinal sistem ve karaciğer hastalıklarının immünolojisi. Temel ve Klinik İmmünoloji. Derleyen Dilşen, N.. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Ders Kitapları, Sanat Matbaacılık, İstanbul 1981, 292-314.
10. Dilşen, N.: Kollojen hastalıklar ve romatizmal hastalıkların immünolojisi. Temel ve Klinik İmmünoloji. Derleyen Dilşen, N., İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Ders Kitapları, Sanat Matbaacılık, İstanbul 1981, 238-272.
11. Koniçe, M.: İmmünkompleks hastalıkları. Temel ve Klinik İmmünoloji. Derleyen Dilşen, N., İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Ders Kitapları, Sanat Matbaacılık. İstanbul 1981, 136-153.
12. Büyükpamukçu, M., Güngen, Y., Köksal, M., Çevik, N.: Çocukluk çağı solid malign tümörlerinde otoantikolar. IV. Ulusal immünoloji kongresi. Ankara 6-8 Aralık 1977, 60-69