

Semmelweis Orvostudományi Egyetem,  
II. Belgyógyászati Klinika  
(igazgató: Petrányi Gyula dr.)

## Keringő immunkomplexek meghatározása klinikailag aktív és inaktív stádiumban levő autoimmun betegek szérumában

Török Katalin dr., Gergely Péter dr.  
és Petrányi Gyula dr.

A systemás lupus erythematosus (SLE) kialakulásában fontos szerepe van az immunkomplex (IC) képződésének és lerakódásának. A megbetegedés lényeges eleme, hogy keringő maganyagok ellen nagy mennyiségben képződnek antitestek, majd a keletkező kötődött antigén-antitest IC-ek a kiserek basalmembránján lerakódva a különböző szervekben, szövetekben gyulladást váltanak ki. Kettősláncú natív DNS, egyláncú denaturált DNS és RNS, valamint magfehérjék (hisztionok) ellen képződött antitestek jelenhetnek meg SLE-ben (1, 2, 5, 14, 24, 26). DNS-bontó enzimet adva SLE-s betegek savójához, az anti-DNS titer (azaz a DNS-kötő aktivitás) megnő — ami arra utal, hogy ennek az antitestnek egy része már IC formájában kering a vérben (4, 5, 26). A keringő IC-ek pathogen szerepét valószínűsíti egyes klinikailag aktív, magas keringő IC szintű, szteroidrezisztens SLE-s betegekben végzett plasmapheresis jó eredménye (11). A különböző szervekben, szövetekben, így a vesében, bőrben elhelyezkedő IC-eknek megfelelő antigén, a DNS, az antitest, IgG, IgA, IgM és az IC-hez kötődő komplement immunofluoreszcenciával és elektronmikroszkópos vizsgálattal mutatható ki (18, 20, 21).

Az SLE immunodiagnosztikáját, az LE-sejt jelenlég vizsgálatát, az antinukleáris antitest (ANA) kimutatását és az anti-DNS aktivitás meghatározását néhány lényegesen kevésbé specifikus módszer hasznosan egészíti ki: a szérum komplement (ill. frakciók) aktivitásának mérése és a keringő IC-ek meghatározása.

Az IC-ek igen különböző módszerek segítségével mutathatók ki általában, így az SLE-s betegek

savójában is (3, 5, 8, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 27). A módszerek részben közvetlenül, részben közvetve mutatnak ki keringő IC-eket. A különféle módszereknek nemcsak az érzékenysége tér el egymástól, hanem kvalitatív különbségek is vannak közöttük, azaz bizonyos betegségekben más és más IC-ek fordulnak elő, amelyek kimutatására nem minden módszer egyaránt alkalmas.

Vizsgálataink célja SLE-ben és egyéb autoimmun betegségekben szenvedő betegek szérumában IC és ANA párhuzamos meghatározásával a klinikai aktivitás és a savó ANA, ill. IC tartalma közötti összefüggés, továbbá az ANA és IC pozitívítás közötti kapcsolat vizsgálata volt.

### Anyag és módszer. Betegek

Az első betegcsoportot 46 SLE-ben szenvedő beteg alkotta. Közülük 42 nő, 4 férfi volt, koruk 16 és 65 év között volt. A diagnózist ez ARA kritériumok (6), az aktivitást a klinikai kép alapján állapítottuk meg. A betegek közül a vizsgálat időpontjában 27 (58,7%) aktív, 19 (41,3%) inaktív stádiumban volt.

A második betegcsoportban 66 egyéb autoimmun betegségben szenvedő 59 nő- és 7 férfibeteget vizsgáltunk, koruk 21 és 59 év között volt; 39 beteg (59,1%) a vizsgálat idején aktív, 27 beteg (40,9%) inaktív stádiumban volt. A betegek diagnózis szerinti megoszlása: rheumatoid arthritis 28, nem differenciált autoimmun syndroma 20, polymyositis 5, Sjögren-syndroma 6, scleroderma 1, discoid lupus erythematosus 1, polyarteriitis (PAN) 2, uveitis 2, Hashimoto-thyreoiditis 1.

A kontroll csoportot 33, kor és nem szerinti megoszlásban hasonló, immunopathológiai, ill. daganatos betegségben, krónikus fertőzésben nem szenvedő egyén alkotta.

A natív éhomi vér savóját legkésőbb 3 órával a vérvétel után lefagyasztottuk és a meghatározás időpontjáig (max. 6 napig)  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

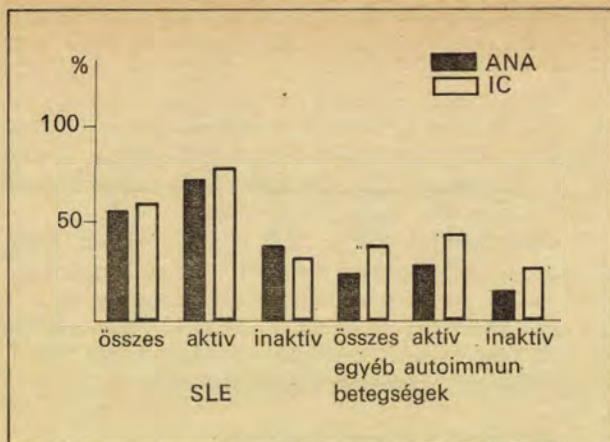
### ANA meghatározás

8  $\mu\text{m}$  vastagságú, cryostattal metszett, metanol-aceton 1:1-es elegyében  $4^{\circ}\text{C}$ -on 10 percig rögzített patkánymájszeletet a savóminta 1:10-es hígításával (hígító szer foszfátpuffer, pH 7,4) nedveskamrában, szobahőmérsékleten 15 percig inkubáltuk, majd 20 percig  $37^{\circ}\text{C}$ -os foszfátpufferrel mostuk. 1:50-es hígítású fluoreszcein-izotiocianáttal jelzett polivalens antihumán immunoglobulin (Hyland) oldattal 15 percig ismét nedveskamrában, szobahőmérsékleten inkubáltuk, majd 20 percig  $37^{\circ}\text{C}$ -os foszfátpufferrel mostuk. Az értékelést epilluminációval ellátott Leitz Orthoplan mikroszkóppal, 400-szoros nagyítással végeztük.

### Keringő immunkomplex szint meghatározás

Johnson és mtsai által ismertetett módszert (12) használtuk, módosítva. 300  $\mu\text{l}$ -nyi savómintát  $56^{\circ}\text{C}$ -on 30 percig dekomplementáltunk, majd komplementként tengerimalac savó (Human) ismert komplementaktivitású hígításának 300  $\mu\text{l}$ -ét adtuk a savókhöz. Hígításra  $\text{Ca}^{++}$ -ot és  $\text{Mg}^{++}$ -ot tartalmazó 7–7,4 pH-jú veronál-puffert használtunk. 1 órán át  $0^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk a savómintákat, majd nyúl-haemolysin (Amboceptor, Flow Laboratories) 1:125-ös hígításával érzékenyített 12%-os birka-vörösvérsejt szuszpenzióból 50–50  $\mu\text{l}$ -t tettünk a rendszerhez. 30 perces  $37^{\circ}\text{C}$ -on történő inkubálás után a reakciót  $0^{\circ}\text{C}$ -on leállítottuk, a csöveket 10 percig 1500 g-vel centrifugáltuk és a felülúszó 0,5 ml-ét 2 ml  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  és Na-laurilszulfát hozzáadásával módosított Drabkin-oldatba mérve, a haemoglobin-tartalmat fotometriánál meghatároztuk. A rendszer által elfogyasztott össz-komplement aktivitása — mely a keringő IC mennyiségével arányos — a reziduális komplement mennyiségével fordítva változik. A rezi-



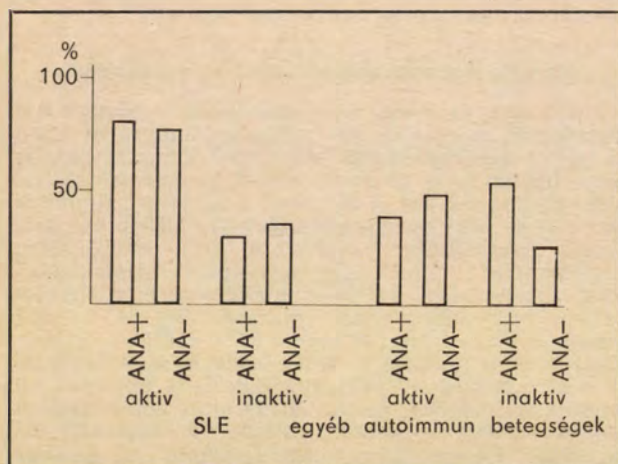


1. ábra: ANA és IC SLE-s és egyéb autoimmun betegek savójában. Kapcsolat a klinikai aktivitással (a pozitív esetek százalékban vannak feltüntetve)

duális komplement aktivitását  $CH_{50}$  egységekben adhatjuk meg. A határérték  $1,1 CH_{50} E$ , a magasabb értékek normálisnak tekintendők.

### Eredmények

A két betegcsoport azonos arányban tartalmazott aktív és inaktív stádiumban levő betegeket. Mindkét csoportban a kontrollhoz képest ( $= 6,7\%$ ) szignifikánsan nagyobb arányban észleltünk IC pozitív eseteket, azonban a SLE-s és egyéb autoimmun betegeket magában foglaló csoport között mind az IC pozitívitas, mind az ANA kimutathatósága között jelentős különbség volt. ANA pozitívitas a kontrollok között nem fordult elő. Az 1. ábrán tüntettük fel a két betegcsoport ANA és IC pozitívitasának gyakoriságát az aktív és inaktív klinikai stádium szerint csoportosítva. SLE-ben gyakrabban lehetett ANA, ill. IC pozitívitas észlelni ( $56,5$ , ill.  $58,7\%$ ), mint a többi vizsgált autoimmun betegségben ( $32,7$ , ill.  $36,3\%$ ) a különbség statisztikailag azonban nem bizonyult szignifikánsnak. Aktív SLE-ben gyakrabban lehet mindkét pozitívitas észlelni, mint inaktív stádiumban ( $70,4$ , ill.  $77,8\%$  aktív és  $36,8$ , ill.  $31,5\%$  inaktív esetekben), az észlelt különbségek statisztikailag szignifikánsak ( $p < 0,01$ ). Egyéb autoimmun betegségekben



2. ábra: Az ANA és IC pozitívitas kapcsolata (az IC pozitív esetek százalékban vannak feltüntetve)

— bár különbségek észlelhetők — nem szignifikánsak (1. ábra).

Mivel aktív SLE-ben az ANA és az IC pozitívitas meglehetősen párhuzamosan halad, megvizsgáltuk; hogy az ANA pozitív és negatív csoportokban milyen gyakorisággal lehet IC-eket kimutatni (2. ábra); azaz milyen összefüggés van az IC-ek és az ANA között. Láthatjuk, hogy az IC pozitívitas gyakorlatilag független az ANA-tól és csak a klinikai aktivitástól függ. Nem SLE-s autoimmun betegségekben sem az ANA és az IC-ek, sem a klinikai aktivitás között nem lehetett összefüggést kimutatni (2. ábra).

### Megbeszélés

Az irodalmi adatok az SLE-s betegek keringő IC-szintje és a betegség aktivitása közötti összefüggést vizsgálva eltérő eredményeket mutatnak. Hughes (9) a betegség aktivitása és a keringő IC-szint között nem talált kapcsolatot, míg megfigyelései szerint az anti-DNS aktivitás nagyságának változása jól követi a klinikai képet. Davis és mtsai (7); Levinsky és mtsai (14) adatai szerint a betegség lefolyását mind a keringő IC-szint, mind az anti-DNS aktivitás jól jellemzi. Steinmann és mtsai (24) vizsgálatai szerint az anti-DNS aktivitás az SLE-s nephritis klinikai aktivitásával, ill. a vesében levő IC-depositióval, annak nagyságával arányosan változik. Tron és Bach (27) a keringő IC-szint és a betegség lefolyása közötti kapcsolatot nem találta egyértelműnek. Bach (3) az immunkomplex betegségek, így az SLE diagnosztikájában is jelentősnek tartja a keringő IC-meghatározást.

Kézenfekvőnek látszik, hogy az IC-k egy része SLE-ben kapcsolatban van az antinukleáris antitestekkel, az IC-ek többi része egyéb autoantitestek és autoantigének kapcsolódásából keletkezik, ill. az autoimmun betegségekben általában felfokozott humorális immunreaktivással függhet össze.

Saját megfigyeléseink szerint SLE-ben a klinikai aktivitás és az IC-ek jelenléte között kapcsolat van, egyéb autoimmun betegségekben ez a kapcsolat valószínű, de nem bizonyított. Az SLE-s betegcsoport emelkedett keringő IC-szintje a betegség aktivitására jellemző. A klinikailag aktív stádiumban levő ANA-negatív betegek keringő IC-szintje is magas; ami azzal magyarázható, hogy az általunk meghatározott IC-k nagy része feltehetően nem maganyag-ANA komplex. Ehhez kapcsolódik az a megfigyelésünk, hogy az SLE-s betegek veseérintettsége és az IC-, ill. ANA-pozitívitas között nincs összefüggés (nem közölt adatok). Az IC-lerakódás és a keringő IC-ek kapcsolatát hosszú időn át végzett ismételt vizsgálatok világíthatják meg.

A keringő IC-meghatározás klinikai jelentőségét az antigén ismeretlen volta, a használatos módszerek sokszor nem megfelelő érzékenysége korlátozza. IC-lerakódás okozta betegségekben a keringő IC-meghatározás az aktivitás felmérésének egyik immunológiai paramétere lehet. Az SLE aktivitásának immunológiai követésére egyéb vizsgálatok mellett alkalmas módszernek tartjuk.



**Összefoglalás.** Szerzők klinikailag aktív systemás lupus erythematosusos (SLE-s), ill. egyéb autoimmun betegségben szenvedő betegek szérumában immunkomplex (IC)-szint emelkedést mutattak ki. Az IC-meghatározás IC-depositio okozta betegségek aktivitásában az immunológiai háttér kiegészítő felmérésére ajánlható.

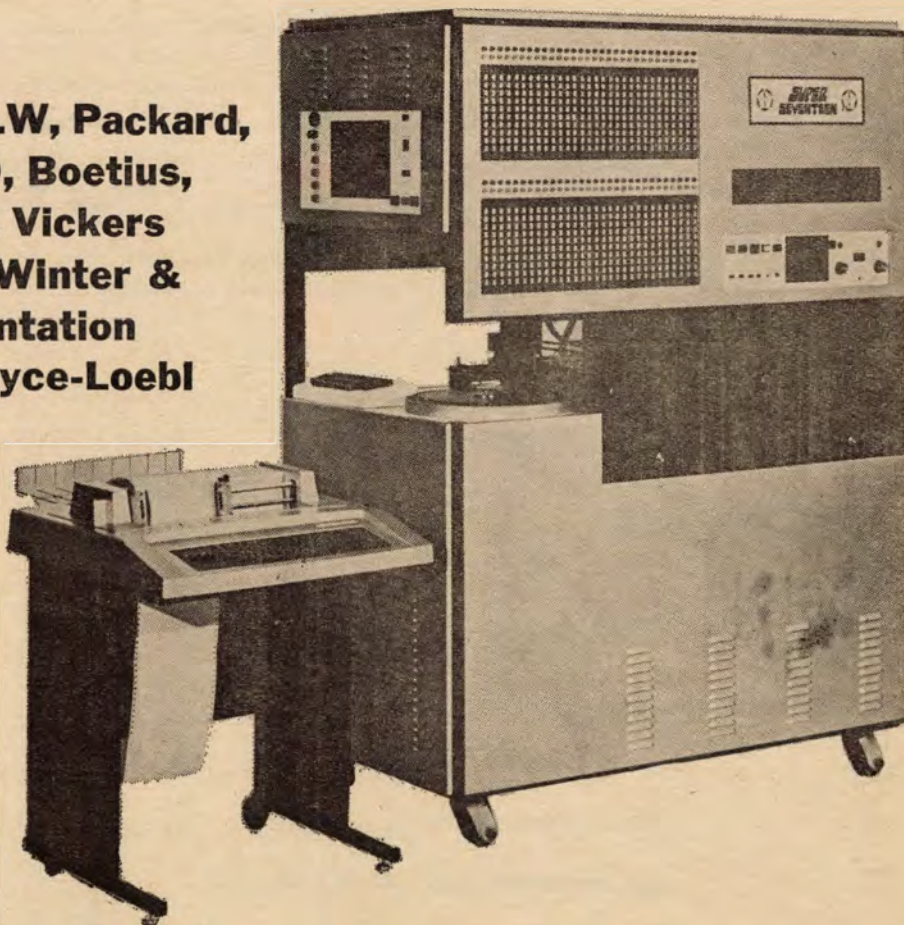
**IRODALOM:** 1. *Alarcon-Segovia, D. és mtsai:* Immunology. 1976, 30, 413. — 2. *Andrews, B. S., Penny, R.:* Aust. N. Z. J. Med. 1976, 6, 591. — 3. *Bach, J.-F.:* Nouv. Presse Med. 1977, 6, 4027. — 4. *Bruneau, D. D. és mtsai:* Clin. Exp. Immunol. 1977, 28, 433. — 5. *Cano, P. O. és mtsai:* Clin. Exp. Immunol. 1977, 29, 197. — 6. *Cohen, A. S., Canoso, J. J.:* Arthritis Rheum. 1972, 15, 540. — 7. *Davis, P. és mtsai:* Clin. Exp. Immunol. 1977, 28, 226. — 8. *Digeon, M., Bach, J.-F.:* Nouv. Presse Med. 1977, 6, 4031. — 9. *Hughes, G. R. V.:* Ann. Rheum. Dis. 1974, 33/4, 402. — 10. *Hüttenroth, T. H. és*

*mtsai:* Klin. Wschr. 1977, 55, 899. — 11. *Verrier, J. és mtsai:* Lancet. 1976, I, 709. — 12. *Johnson, A. H. és mtsai:* Lancet. 1975, I, 762. — 13. *Kávai M. és mtsai:* Orv. Hetil. 1977, 118/40, 2387. — 14. *Levinsky, R. J. és mtsai:* Lancet. 1977, I, 564. — 15. *Nydegger, U. és mtsai:* Schweiz. Med. Wschr. 1974, 104, 126. — 16. *Nydegger, U. és mtsai:* Verh. Dtsch. Ges. Inn. 1974, 80, 1575. — 17. *Nydegger, U. és mtsai:* J. Clin. Invest. 1974, 54, 297. — 18. *Nydegger, U. és mtsai:* J. Clin. Invest. 1977, 59, 862. — 19. *Onyewotu, I. I. és mtsai:* Nature. 1974, 248, 156. — 20. *Ooi, Y. M. és mtsai:* Kidney Int. 1977, 11, 275. — 21. *Puritz, E. M.:* Clin. Immunol. Immunopathol. 1973, 2, 98. — 22. *Roberts-Thomson, P. J. és mtsai:* Ann. Rheum. Dis. 1976, 35, 314. — 23. *Rosenthal, M. és mtsai:* Dtsch. Med. Wschr. 1977, 102, 415. — 24. *Steinmann, Ch. R. és mtsai:* Am. J. Med. 1977, 62/3, 319. — 25. *Stingl, G. és mtsai:* Clin. Immunol. Immunopathol. 1976, 6, 131. — 26. *Tan, E. M. és mtsai:* J. Clin. Invest. 1971, 45, 1732. — 27. *Tron, F., Bach, J.-F.:* Nouv. Presse Med. 1977, 6/29, 2573.

**Carl Zeiss, MLW, Packard,  
Olympus, PZO, Boetius,  
Helena, Hycel, Vickers  
Instruments, Winter &  
IBE, Instrumentation  
Laboratory, Joyce-Loebl**

gyártmányú kórházi  
laboratóriumi  
műszerek  
esetenkénti  
és garancián túli  
javítása.

Rendszeres féléves  
karbantartásra  
szerződés köthető.



**FOTO OPTIKA** I SZ

Megrendeléssel forduljon központunkhoz:

Budapest V., Kossuth Lajos u. 17. 1053

Telefon: 173-022