Komple Freund Adjuvanı ile Swiss Albino Sıçanlarda Oluşturulan Patolojik Değişiklikler

Dr. İlhan Tuncer* / Dr. Muharrem Köksal**

Freund adjuvanının eksperimental immünolojide kullanılması, henüz birçok meçhullerle dolu olan bu alanda aydınlatıcı ve yardımcı olmuştur. Freund[1] tavşan ve kobayları cilt altı ölü tüberküloz basili + parafin yağ enjeksiyonuyla duyarlandırma metodunu uyguladıktan sonra birçok araştırıcı freund adjuvanını değişik doku ekstreleri ile birlikte enjekte ederek; tiroiditis. aspermatogenezis allerjik ensefalomyelitis, adrenalitis veya artritis ve iridosiklitis gibi deneysel hastalık tabloları oluşturmuşlardır.[2] Bu hastalık tablolarının meydana gelmesinde adjuvanın önemli bir yeri olduğu belirtilmiştir. Nitekim tek başına adjuvan enjeksiyonuyla da sıçanlarda artritis meydana getirilmiştir.[3, 4, 5, 6]

Bu ilk atılımları takibeden günlerde deneysel adjuvan artiriti üzerinde birçok araştırmalar yapılmış[7, 8, 9, 10, 11] ve yapılmaktadır. Buna rağmen bu konu üzerinde henüz son söz söylenememiştir.

Konuya yeni bir ışık tutma umut ve amacıyla ve gelişen farklı immünolojik reaksiyonları incelemek üzere değişik bir sıçan suşu olan swiss albino'larda adjuvanla artirit oluşturma yöntemini uyguladık.

Materyel ve Metod

4-5 aylık 150-200 gr. ağırlıkta 16 adet genç ve 1-2 yaşında 200-250 gr. ağırlıkta 19 adet yaşlı her iki seksten swiss albino sıçanlar (Hacettepe Dency Hayvanları Laboratuvarından) kullanılmıştır. Hayvanlar 3-5 lik kafeslerde standart şartlarda tutulmuştur.

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bilim Dalı Uzmanı.

** Aynı Fakülte Patoloji Bilim Dalı Profesörü.

35 sıçan, 10 u kontrol (5 yaşlı, 5 genç) 11 i tek dozluk (6 genç, 5 yaşlı) 14 ü iki dozluk (8 yaşlı, 6 genç) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

Deneyin 0. gününde her iki deney grubundan 25 sıçana kuyruk 1/3 distalinden steril şartlarda tüberkülin enjektörü ve 26 no. lu iğne ile 1 mg/0,1 ml. komple freund adjuvanı* (K. F. A.) enjekte edilmiştir.

110. günde deney grubundan 1 yaşlı erkek ve 1 yaşlı dışı sıçana ön çalışma olmak üzere 1 mg./0,5 ml. KFA ikinci doz olarak uygulanmış, ikinci gün bu sıçanlardan dişi olan ölmüştür. Enjeksiyondan sonra 1 gün içerisinde öldüğü için bu hayvan tek dozluk grupta değerlendirilmiştir. Ayrıca 12 adet sıçana 210. gün 0,1 mg/0,5 ml. KFA kuyruk 1/3 distalinden ikinci doz olarak verilmiştir.

Sistemik bir hastalık olan adjuvan hastalığında tanımlanan böbrek değişikliklerini[9, 12] daha iyi değerlendirmek amacıyla 280. günden itibaren deney ve kontrol grubu sıçanlar teker teker özel metabolik kafeslere konularak 24 saatlik idrarları toplanmış 1 cc. lik kısmından santrifüjden sonra sedimentte mikroskopik inceleme yapılmış, geri kalan kısmından ise biüret metoduyla[13] kantitatif olarak protein tayin edilmiştir.

300. günde hayvanlar eter ile öldürülmüş, iskelet sistemini bilhassa kuyruk ve arka ekstremiteleri artirit yönünden değerlendirmek üzere rontgen filmleri çekilmiştir. Deney ve kontrol grubu sıçanların sistemik otopsileri yapılmış, arka ekstremitler ve kuyruk 1/3 proksimalinden alınan örnekler önce % 10 luk nötral formalinle tesbit edilmiş, dah sonra dekalsifiye edilmek üzere % 5 lik formik asite konulmuştur. Ayrıca inguinal lenf nodları, böbrekler, dalak karaciğer, timus, kalp ve makroskopik olarak patoloji saptanan deriden alınan örneklerde % 10 luk nötral formalinde tesbit edilmiştir. Bütün doku örnekleri parafin bloklara gömülerek 5 mikron kalınlığında mikrotonda kesilmiş tamamı H+E ile, değişik kısımlar ise lezyonların cinsine göre, PAS Alsiyan Mavisi (Alcian blue), M. G. P. (Methyl Green Pyronin), Asit fast, Oil-Red-0, Vangieson ve Toluidin mavisi özel histokimyasal metodlarıyla boyanarak ışık mikroskobu seviyesinde incelenmiştir.

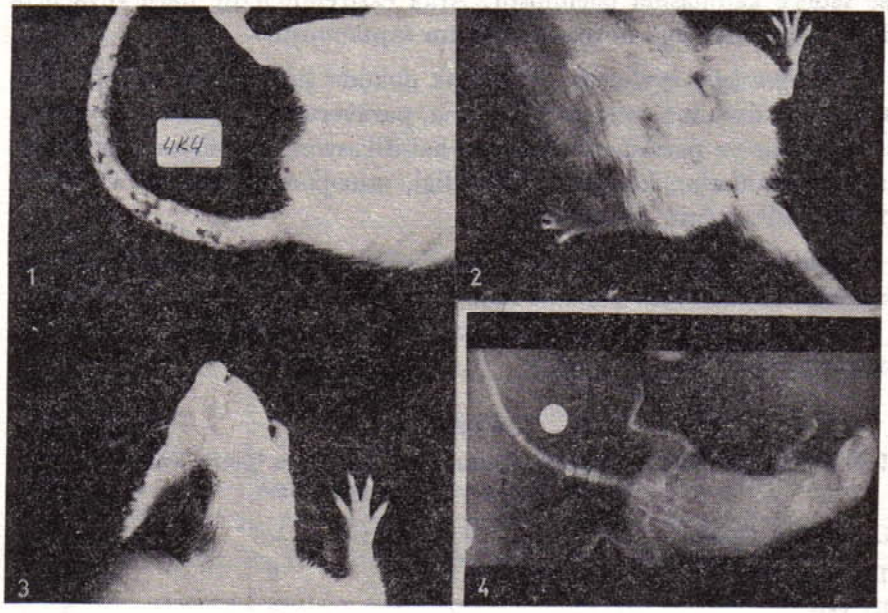
Bulgular

İlk enjeksiyonu takiben deney grubu sıçanlarda 4-5. günlerde enjeksiyon yeri olan kuyrukta şişme, kızarma, bir süre sonra kurutlu ülseras-

* Bacto Adjuvant, Complete Freund Difco Laboratories Detroid 1, Michigan.

yonlar ve nihayet ankiloz ve deformite tesbit edilmiştir (Şekil 1). Hayvanların bir kısmında huzursuzluk veya bunun aksine durgunluk izlenmiş, zayıfladıkları saptanmıştır.

Sırtta ve baldırlarda fokal alanlarda tüylerinin döküldüğü, kurutlu küçük ülserlerin ortaya çıktığı (Şekil 2) ve göz kapaklarının çapaklandığı (konjonktivit hali) dikkati cekmiştir. (Şekil 3). Bu bulgular dışında elle yapılan muayenelerde arka ekstremitelerde minimal veya orta derecede şişme ve normal kalınlık tesbit edilmiştir.



Şekil 1
Kuyrukta yüzeyel kurutlu ülserler, kalınlaşma.

Şekil 2
Sırtta tüy dökülmesi, kurutlu ülserler.

Şekil 3
Göz kapağında çapaklanma (Konjonktivitis)

Şekil 4
Kuyrukta periosteal ossifiksayon ve kalsifikasyonu hatrlatır görünüm, ankiloz ve deformite.

Deney grubundan hayvanlarda izlediğimiz bu patolojik değişiklikler, gerilemeler ve alevlenmeler göstererek devam etmiştir.

300. günde deney ve kontrol grubu hayvanlar eterle öldürüldükten sonra makroskopik muayenleri ve sistemik otopsileri yapılmıştır. Makroskopik olarak tek doz KFA enjekte edilen 12 sıçandan ikisinde % 17 tüylerde dökülme ve deride küçük ülserasyonlar, üçünde % 25 konjonk-

tivit hali tesbit edilmiştir. Kuyruklarda ise üç sıçanda ülserasyon ve ankiloz, 5 inde kalınlaşma, sertleşme ve deformite 4 tanesinde ise hafif kalınlaşma görülmüş veya normal sınırlarda bulunmuştur. İki doz komple freund adjuvanı alan 13 sıçandan 5 tanesinde (% 38) tüylerde dökülme ve yüzeyel kurutlu ülserasyonlar, 1 tanesi cilt lezyonu ile birlikte olmak üzere ikisinde (% 15) konjonktivit hali gözlenmiştir. Kuyrukta ise, 7 sıçanda skatris, ankiloz 1 tanesinde kısmi spontan amputasyon, ülserasyon ve ankiloz, 4 ünde kalınlaşma ve sertleşme, 1 tanesinde ise ise sadece kalınlaşma izlenmiştir. Arka ekstremitelerde hafif veya orta derecede şişme veya normal görünüm saptanmıştır.

Rontgenolojik incelemede: Yumuşak dokuda şişlik, intervertebral disk aralığında daralma, yer yer kaynaşma, paravertebral ligamanlar, yumuşak dokular ve periosteal alanlarda kalsifikasyon ve ossifikasyonu hatırlatan görünümler, korteks düzensizliği, osteoporozis, ankiloz ve deformiteler izlenmiştir. (Şekil 4).

İki doz enjeksiyonda tek doza oranla hayvanlarda latent periyotta kısalma, klinik ve morfolojik belirtiler daha şiddetli olarak saptanmış (Tablo I), yaşlı sıçanların adjuvan enjeksiyonuna daha duyarlı oldukları bulunmuştur (Tablo II, III).

TABLO I

Tek Doz ve İki Doz Uygulanan Sıçanlarda-Eklem ve Çevre Yumuşak Doku Lezyonlarının Karşılaştırılması

Lezyonların Şiddeti	+	++	+++	++++
Tek Doz	3	2	5	2
İki Doz	1	2	5	5

TABLO II

Tek Doz Uygulanan Sıçanlarda-Eklem ve Çevre Yumuşak Doku Lezyonlarının Genç ve Yaşlılardaki Durumu

Lezyonların Şiddeti	+	++	+++	++++
Genç	1	1	3	–
Yaşlı	2	1	2	2

TABLO III

İki Doz Uygulanan Sıçanlarda-Eklem ve Çevre Yumuşak Doku Lezyonlarının Genç ve Yaşlılardaki Durumu

Lezyonların Şiddeti	+	++	+++	++++
Genç	1	1	2	2
Yaşlı	–	1	3	3

Histopatolojik Bulgular

Kuyruk: Kuyruktan, enjeksiyon alanının proksimalden hazırlanan histolojik kesitlerin mikroskopik incelenmesinde, epidermisde bir kısım vakalarda dökülme, kollajen bandlar arasında adjuvan damlaları etrafında, damarlar çevresinde ve duvarlarında bir kısmı proninofilik yer yer ise dev hücresi niteliğinde iltihabi reaksiyonlar (adjuvan granülomları) görülmüştür (Şekil 5). Vertebralarda 5 vakada periosteal yeni kemik teşekkülleri (Şekil 6) intervertebral mesafede nukleus, pulpozis kaybı, fibröz ve osseöz ankiloz (Şekil 7). izlenmiştir. Ayrıca kemik iliği genellikle hücreden fakir, gerek kemik iliğinde gerekse çevre yumuşak dokuda kalsifi kasyonlar bulunmuştur (Şekil 8).



Şekil 5
Kuyrukta yumuşak dokuda adjuvan granülomu. H+E X45
Şekil 6
Periosteal kemik teşekkülü, kuyruk. H+E X20
Şekil 7
İntervertebral osseöz onkiloz, kuyruk. H+E X20
Şekil 8
Kuyrukta yumuşak doku kalsifikasyonu. H+E X20

Arka ekstremitelerde, enjeksiyon alanından bir hayli uzakta olmasına rağmen önemli histopatolojik değişiklikler saptanmıştır. Bütün sıçanlarda sinoviyal hücrelerin diffüz veya papiller proliferasyonu görül-

müş (Şekil 9, 10) epifiz kartilajında harabiyet, pannus formasyonu, kemik nekrozu, kemik iliği ve çevre yumuşak dokuların kalsifikasyonu, PAS ile daha iyi belirlenen kollajen ödemi ve parçalanması kemik iliğinin genellikle hücreden fakir hali izlenmiştir. Ayrıca 5 vakada kemik iliğinde proninofilik hücre zenginliği dikkati çekmiştir. Geç devre lezyonları incelemeyi amaç edinen çalışmamızda ekstremitlerde eksüdatif olay lardan ziyade 1 vaka dışında proliferatif patolojik gelişmeler saptanmıştır.

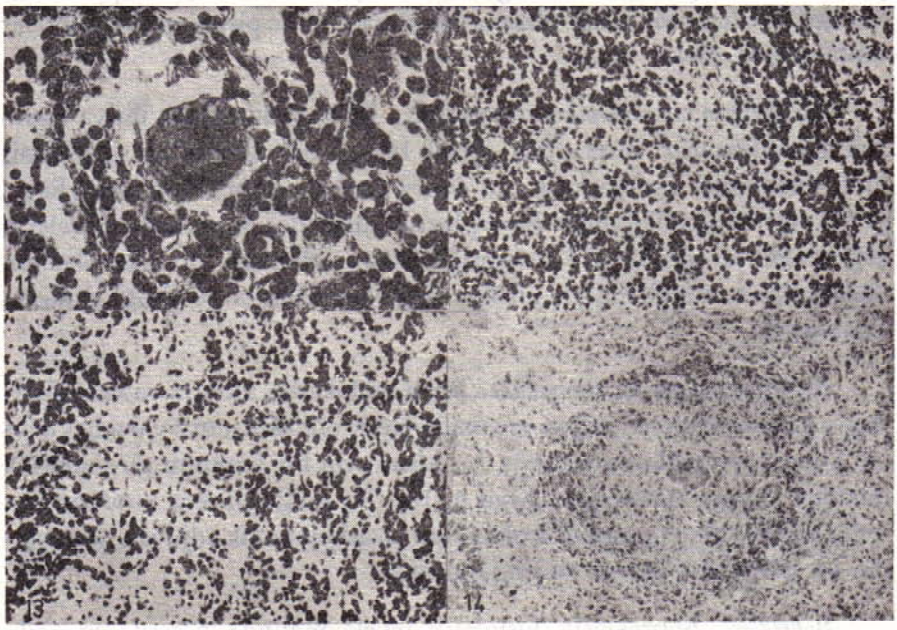


Şekil 9
Difüz sinoviyal hücre proliferasyonu, arka ekstremite. H+E X20

Şekil 10
Papiller sinoviyal hücre proliferasyonu ve epifiz kartilaj harabiyeti, arka ekstremite. HE X20

Lenf nodları makroskopik olarak büyük ve hiperemik bulunmuş, bunların mikroskopik incelenmesinde; bütün lenf nodlarında marjinal sinüslerde, kortekste ve daha az medüllada değişik büyüklükte boş-

luklar (adjuvan veya içindeki yağlı maddeye ait) etrafında prolifere endotel hücreleri, histiyositler ve geniş vakuollü sitoplazmalı bir veya birden fazla nukleuslu yabancı cisim veya Langhans dev hücresi niteliğinde hücrelerin oluşturduğu tüberküloid yapılar saptanmıştır (Şekil 11). Bir vakada ise tüberküloid odaklar ortasında kazeifikasyon nekrozunun varlığı dikkati çekmiştir. Yapılan Asit Fast boyamada tüberküloz basili görülememiştir.



Şekil 11
İnguinal lenf nodunda dev hücresi ve epiteloid histiyositler. HE X150

Şekil 12
Parakortikal ve medüller pironinofilik hücreler, inguinal lenf nodu. M. G. P. X45

Şekil 13
Dalakta, kırmızı pulpada pironinofilik hücreler, az sayıda histiyositler. M. G. P. X75

Şekil 14
Tüberkülom, akciğer. H + E X45

M. G. P. ile boyanan lenf nodlarının tamamında parakortikal ve medüller alanlarda geniş şişkin sitoplazmalı ekzantrik nukleuslu bir kısmı plazma hücresi niteliğinde veya Russel cisimciği şeklini almış çok sayıda pironinofilik hücrelerile daha az sayıda histiyositik hücrelerin kontrollere oranla fazla sayıda olduğu gözlenmiştir (Şekil 12). Lenf nodları kapsülü ve çevre yumuşak dokuda mast hücrelerinin zenginliği izlenmiş damarlarda konjesyon tesbit edilmiştir.

Timus: Makroskopik olarak normal hudutlarda olan timus dokusunda mikroskopik gözlemde: Medüllada genişleme, korteksde nisbi bir incelme saptanmış medülla ve daha az da kortekste bir kısmı plazma hücresi niteliğinde pironinofilik hücre artımı tesbit edilmiştir.

Dalak: Makroskopik olarak kontrollere göre % 50 oranında büyümüş olan dalak dokusunda mikroskopik incelemede; kırmızı pulpada perisinüzoidal, perivasküler dağınık olarak, lenfoid folliküller çevresinde manşon şeklinde bir kısmı plazma hücresi şeklinde pironinofilik hücreler saptanmıştır (Şekil 13).

Akciğerlerin mikroskopik incelenmesinde: İki vakada nekroz ihtiva etmeyen granülomatöz birer odak (Şekil 14) ve bir vakada ise apseleşmiş lipid pnomonisi saptanmıştır. 25 deney grubu sıçanın 17 sinde belirgin peribronşiyal lenfoid doku hiperplazisi bulunmuş buradaki hücrelerin çoğunluğunun pironinofili gösterdiği dikkati çekmiştir. Bu hiperplazinin lenfoid sistemin etkilenişiyle birlikte değerlendirilmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

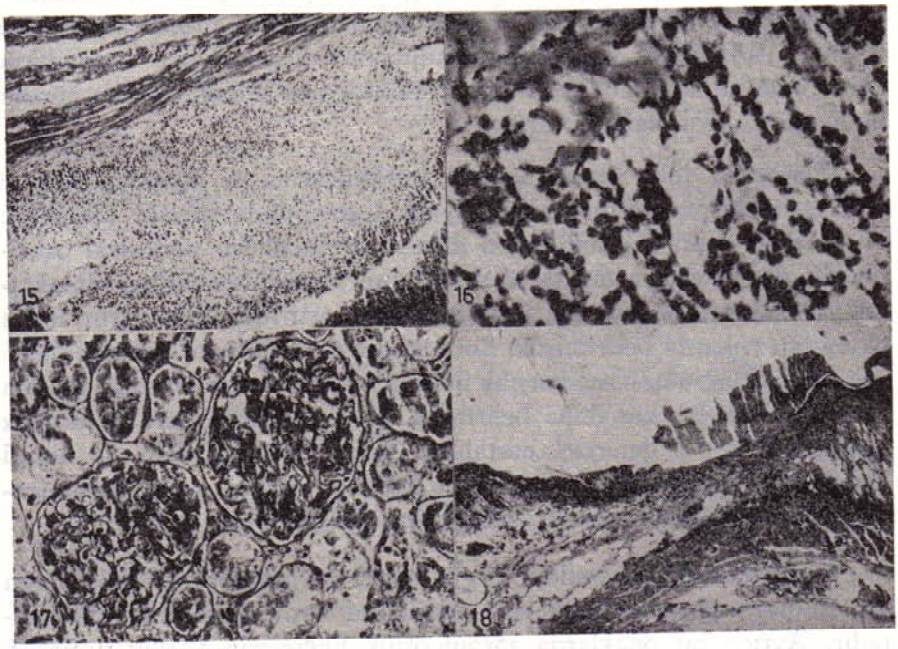
Kalbin histolojik incelenmesinde: Birisi endokarda altında ve ventriküle doğru gelişim gösteren, diğeri myokard içinde olmak üzere 2 vakada yuvarlak hücre toplulukları görülmüş, bu hücrelerin bir kısmının pironinofilik nitelikte olduğu izlenmiştir (Şekil 5, 16). Bu bulgu ilk kez tarafımızdan tesbit edilmiş olup nonspesifik olmaktan ziyade sistemik adjuvan hastalığının bir görüntüsü olarak yorumlanmıştır.

Böbrekler: Böbreklerin histolojik incelenmesinde patogenezi açıklanamamakla beraber adjuvana bağlı glomerül bazal membranında diffüz membranöz veya lobüler nitelikte değişik derecede kalınlaşma hafif ve orta derecede epitelyel, endotelyal ve kısmen de mezangial hücre artımı saptanmıştır.

24 saatlik idrar numunelerinde kantitatif protein tayinleri ve idrar sedimentinin mikroskopik tetkikleri yapılmış: Deney ve kontrol grubu sıçanlardaki idrar protein değerlerinin karşılaştırılmasında deney grubunda kesin proteinüri tanısını koyduracak bir sonuca varılamamıştır. Ayrıca glomerül lezyonları ile idrar proteini ve sedimentin mikroskopik verileri arasında da kesin bir uyumluluk tesbit edilememiştir.

Karaciğer: Mikroskopik incelemelerde karaciğer dokusu genellikle normal görünümde bulunmuş, bazı vakalarda dağınık az sayıda yuvarlak hücrelerin portal mesafelerde ve sinüzoidler içinde yer aldığı gözlenmiştir.

Deri lezyonları: Her iki deney grubundan 7 sıçanda (% 28) izlenen yüzeyel kurutlu ülseröz lezyonların histolojik incelenmesinde, epidermesin ortadan kalktığı, bu alanda yüzeyel kurut ve nekrozun yer aldığı görülmüştür. Dermis, deri altı yağ dokusu ve kas dokusunu işgal etmiş yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu (dermatit ve panniküllit) tesbit edilmiştir. Bu alandaki iltihabi hücreleri bir kısmı M. G. P. ile pironinofili gösteren mononükleerler ile histiyositler, föbroblastalar ve mast hücreleri teşkil etmektedir. Üst dermiste kollajenin kaybolduğu ve yerini fibröz dokuya bıraktığı görülmüş ayrıca damar çevrelerinde ve çeperlerinde mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu ve endotal proliferasyonu saptanmıştır (Şekil 18).



Şekil 15

Kalbde, subendokardiyal ventriküle doğru gelişen iltihabi hücre topluluğu ve endokardiyal hücre proliferasyonu. M. G. P. X20

Şekil 16

Kalbde, myokardiyumda pironinofilik hücre topluluğu. M. G. P. X120

Şekil 17

Glomerül yumağında membranöz kalınlaşma. PAS X75

Şekil 18

Deride, ülserasyon, kurut, fibrozis, panniküllit, vaskülit ve kıl follikülü kaybı. H+E X15

Tartışma

1937 de Freund, Cassals ve Hosmer'in bulduğu tavşan ve kobayları duyarlandırma metodu[1] ilk kez 1954 de Stoerk Bielinski ve Budzilovich[3] daha sonra da Pearson, Waksman ve Sharp[4, 5, 6] tarafından sıçanlarda deneysel artirit meydana getirmede kullanıldı.

Swingle ve Jaques[14] değişik sıçan suşlarında adjuvan artiritinin gelişimini karşılaştırmışlar ve sıçan suşları arasında adjuvan enjeksiyonuna cevap olarak ortaya çıkan artiritik lezyonların farklılığını belirtmişlerdir.

Bulgularımız, geç devrede ekstremitelerde eksüdatif olaylardan ziyade proliferatif patolojik gelişimler göstermiştir. Sıçanların tamamında izlediğimiz sinoviyal diffüz veya papiller hücre proliferasyonunun (Şekil 9, 10), Benek ve Nohl'un[15] adjuvan artiritte ikincil lezyonların kalıcı bulgusunun sinoviyal hücre proliferasyonu olduğuna dair görüşü ile kesin bir uyumluluğu vardır.

Periosteal yeni kemik dokusu teşekküllerini 25 sıçandan 5 inde sadece enjeksiyon yerine yakın kuyruk segmentinde izledik. (Şekil 6). Kuyruktaki iltihabi granülasyon dokusu muhtemelen periosteal osteoblastik aktiviteyi uyarmakta ve yeni kemik teşekkülüne sebep olmaktadır. Enjeksiyon alanından uzakta oluşan artiritik lezyonların farklı olduğunu yukarda belirtmiştik. Burada sadece proliferatif reaksiyonların yer almış olduğunu, buna karşılık iltihabi infiltrasyonun bir vaka dışında görülmediğini bir kez daha belirtmek isteriz. Bununla beraber değişik araştırıcılar[4, 5, 6, 9] deneysel hastalıkta hem kuyrukta hem de tarsal kemiklerde periostcal yeni kemik ve kıkırdak dokusu gelişimini sıçanlara özgü bir bulgu olarak izlediklerini söylemişlerdir.

Kuyrukta enjeksiyondan 30 gün sonra da granülasyon dokusunun saptanması, adjuvanın uzun süre etkinliğini sürdürdüğünü kanıtlamaktadır. Ayrıca bu odaklarda pironinofilik hücrelerin varlığı antijenik uyarının da devam ettiğini göstermektedir.

5 vaka dışında deney grubu sıçanların tamamında kemik iliğinde hematopoezisin azlığı veya yokluğunu izlemiş olmakla beraber buna paralel hematolojik bir inceleme yapma olanağını bulamadık. Bununla beraber Lukens ve arkadaşları[16] adjuvan enjeksiyonuyla sıçanlarda anemi meydana getirdiklerini belirtmişlerdir.

Kemik iliği normal veya hücreden zengin olan sıçanlarda M. G. P. ile incelemede lenf düğümleri ve enjeksiyon alanlarında görülen tipte pironinofilik hücre artımı dikkatimizi çekti. Bu gözlemimizde Putnam'ın[10]

sıçan adjuvan artiritlerindeki hücresel aşırı duyarlık reaksiyonundan sorumlu hücrelerin kemik iliği kaynaklı olduğunu belirten çalışmasını hatırlatır niteliktedir.

Hastalık tablosunun 5 haftalıktan küçük sıçanlarda meydana getirilemeyeceği,[6] erişkin dişi sıçanların adjuvan enjeksiyonuna en iyi cevap verdiği belirtilmiştir.[9] Çalışmamızda yaşlı sıçanlarda eklem bulgularının gençlere oranla daha şiddetli olarak tesbit ettik (Tablo II, III). Fakat seksler arasındaki farklılığı incelemedik.

Bulgularımız adjuvanın, mikrobakteruyum tüberkülozumun veya nihai parçalanma ürünlerinin organizmaya yayıldığını göstermektedir. Literatürde bunu doğrulayan araştırmalar da yapılmış; C^{14} ile işaretli tüberküloz basili kullanarak Jones ve Ward[17] 1962 de KFA nın kuyruktan enjeksiyondan birkaç saat sonra uzak dokulara yayıldığını göstermişlerdir. Pearson ve arkadaşları[5] enjeksiyon alanının drene olduğu lenf nodlarında, akciğerlerde ve karaciğerlerde tipik adjuvan granülomları gördüklerini kaydetmişlerdir. Akamatsu[18] 1966 da ise asit fast boyamalarla tüberküloz basilinin enjeksiyon alanından, popliteal, inguinal, abdominal, paratrekeal, aksillar lenf nodları ve akciğerlere yayıldığı, adjuvan damlalar içinde görüldüğünü belirtmiştir. Biz asit fast boyamalarda olumlu sonuç alamadık.

Adjuvan enjekte edilen sıçanların akciğerlerinde görülen granülomların Silverstein ve Sokolof[19] adjuvan maddesinin mikroembolisi sonucu olduğunu söylemişlerdir. Bulgularımız bu görüşü desteklemektedir. İki vakada akciğerde mikroskopik seviyede nekroz ihtiva etmeyen granülomatöz birer odak saptadık (Şekil 14). 17. vakada izlediğimiz peribornşial lenfoid doku hiperplazisi ve pironinofilik hücre zenginliği, bölümümüzde çam polenleri ile sıçanlarda meydana getirilen akciğer granülomları ve bunların patogenezi üzerinde çalışan Kutkam'ın[20] deney grubu sıçanlarında peribronşial dokuda tesbit ettiği lenfoid doku hiperplazisi ile tam bir benzerlik göstermektedir. Velo ve Spector.[21] Fare ve sıçanlarda endotrakeal B. C. G., Freund adjuvan ve Carrageennan vererek oluşturduğu deneysel pnömonide alveoler makrofajların kemik iliği kaynaklı olduklarını ve akciğere gelip olgunlaştıktan sonra fonksiyon gördüklerini belirtmişlerdir.

Kalp dokularının histolojik incelenmesinde, iki vakada; birisi endokard altında diğeri myokardiyum içinde bir kısmı pironinofili gösteren hücre toplulukları izledik. Bu bulgumuz şimdiye dek tanımlanmamış olup nonspesifik olmaktan ziyade henüz kesin olarak aydınlatılmamış olan sistemik adjuvan hastalığının bir görüntüsü olarak yorumlanabilir.

Saptadığımız böbrek lezyonlarının da (Şekil 17) adjuvan hastalığının bir komponenti olduğu kanısına varmış bulunuyoruz. Bu alanda biz den önceki araştırıcıların daha kanıtlayıcı çalışmaları vardır. Heyman ve arkadaşları[22] tekrarlayan pür adjuvan enjeksiyonlarıyla hayvanların % 10 unda proteinüri ile seyreden glomerül lezyonları saptayıp KFA'nın konakçı böbreğine doğrudan etkisini göstermişlerdir. Ayrıca Watson[12] Zahiri ve arkadaşları[9] da böbrek lezyonlarını oluşturmuşlar, bu görünümün immünolojik ve immünolojik olmayan nedenlerle oluşabileceğini belirtmişlerdir. Bununla beraber bu böbrek lezyonlarının kesinlikle adjuvan hastalığına delalet ettiğini söyleme olanağı yoktur.

İzlediğimiz deri lezyonları (Şekil 18) ise literatür bulgularına uymaktadır.[6]

Literatürde sıçanlarda adjuvanla oluşturulan deneysel hastalık tablosuyla bazı sebebi bilinmeyen insan hastalıkları arasında klinik, laboratuvar ve morfolojik bulgular açısından benzerlikler bulunmuş ve karşılaştırmalar yapılmıştır.[5, 7, 9, 14, 23, 24, 25, 26] Swiss albino sıçanlarda KFA ile gelişen hastalık tablosu klinik seyri açısından insan romatoid artiritine benzerlik göstermekte olup arka ekstremitelerdeki eklem bulgularının morfolojisi yönündende benzerlik ve farklılıkları mevcuttur. Eklem kartilaj harabiyeti, pannus formasyonu ve sinoviyal hücre proliferasyonu tıpkı insan romatoid artiriti şeklinde gelişti (Şekil 9, 10). Fakat bir vaka dışında hiçbir iltihabi hücre infiltrasyonu ve lenfoid follikül teşkilini sinoviyal dokuda göremedik. Romatoid faktör hasta sıçanlarda tesbit edilmemiş27 ancak biz romatoid faktörü sıçanlarda araştırmadık. Deri altı nodülleri ise tesbit edemedik. Sadece kollajen dejenerasyonu, dermatit, pannikülit ve vaskülit gördük (Şekil 18).

İnsan spondil artiritisi ile sıçanlardaki kuyruk lezyonlarının karşılaştırılmasında literatürdeki çalışmalarla paralellik gösteren fibröz, osseöz, ankiloz ve deformiteler gibi uyumlu, (Şekil 7) periosteal kemik teşekkülü (Şekil 6) ile periferik eklemlerde artiritik lezonların birlikte bulunuşu (Şekil 9, 10) şeklinde uyumsuz bulgular tesbit ettik.

İnsan romatoid artirit vakalarında örülen böbreklezyonları[28, 29] ile sıçanlarda saptadığımız glomerül değişiklikleri arasında bir ilişki kurulması düşünülebilirse de sonucun spekülatif olacağı kanısındayız. Biz bu deneyde romatoid faktör saptanması yoluna gitmediğimiz gibi deney hayvanlarında romatoid artirite eşit bir hastalığın söz konusu olup olmadığı hakkında bir fikrimizde mevcut değildir. Her ne kadar Sokoloff[30] mycoplasma artiritidisin sıçanlarda epizodik ve sporadik enfeksiyonlarla insan romatoid artiritine benzer bir tablo oluşturduğunu

belirtmiş ise de bu hususta kesin ifadelerde bulunmanın doğru olmayacağı düşüncesindeyiz.

Adjuvanla meydana getirilen hastalık tablosunun oluş nedeni bugün dahi kesin olarak aydınlatılamamıştır. Bu konuda geniş çalışmaları olan Pearson ve arkadaşları[4] hastalık adjuvan içinde enjekte edilen tüberküloz basili ve basil fraksiyonlarına karşı sistemik bir immünolojik (geç tip aşırı duyarlık) cevabın sonucudur demişlerdir.

Mackay ve Burnet[31] otoimmünite görüşünü ileri sürmüşler, fakat hayvanların derisinde humoral antikorları gösterememişlerdir. Akamatsu[18] fagositöz sonucu tüberküloz basilinin parçalanmasıyla toksik eleman Wax-D nin ortaya çıktığını, temas yerlerinde tipik tüberküloz granülomlarını oluşturduğunu söylemiştir. Bu olasılıkta toksik eleman, periosteal doku, eklem çevresi ve kemik iliğine ulaşarak metastatik lezyonları meydana getirmektedir.

Berry ve arkadaşları[23] adjuvan hastalığında endojen antijenlerin rolünü belirtmişlerdir. Tüberküloz basilinin bir fraksiyonu olan Wax-D nin tabloyu oluşturan bir seri antijenden sadece biri olduğunu, adjuvan veya adjuvanın değişmiş elemanlarının lokal olarak konakçı dokularıyla birleşmesi sonucu yeni antijenik odakların doğacağını öne sürmüşlerdir.

İnterferonu teşvik eden statolon ve pyron copolymerin hastalığı önleyici etkileri nedeniyle etyolojide virüsler önerilmiştir.[32] Ayrıca kompleman ve komponentlerinin rol oynayabileceği söylenmiştir.[33] Sokoloff[30] mycoplasma artiritidis'in epizodik ve sporadik olarak sıçanlarda oluşturduğu artiritin; hormonal, stress, immünolojik adjuvan ve muayyen farmakolojik ajanlarla meydana getirilen deneysel artiritlerin değerlendirilmesinde karışıklıklara yol açabileceğine dikkati çekmiştir.

Çalışmamızda, enjeksiyon yeri bölgesel lenf nodları ve akciğerlerde tüberküloid lezyonlar (Şekil 11, 14), lenf nodlarında medüller, parakortikal alanlarda, dalakta, timus, kemik iliği ve akciğerlerde peribronşial alanlarda bir kısmı plazma hücresi niteliğinde pironinofilik hücre artımı saptadık (Şekil 12, 13). Bu bulgular mikobakteriyumun organizmaya dağılımını ve bilhassa lenf düğümlerindeki pironinofilik hücrelerin parakortikal bölgede artımı bu hastalık tablosunda geç tip aşırı duyarlılık cevabının varlığını kanıtlamaktadır.[34] Bunun yanısıra medüller bölgede plazma hücresi niteliğinde hücrelerin artışı, kollajen dejenerasyonu, deri, böbrek ve kısmen de kalbde izlenen değişiklikler; endojen antijenlerin ve humoral cevabın hastalığın oluşumundaki önemini belirten araştırıcıların görüşünü düşündürmekte ve desteklemektedir.

Deney ve kontrol grubu sıçanlarda bakteriyolojik ve virolojik bir inceleme yapmadık. Ayrıca antibakteriyal ve antiviral herhangibir ajan da kullanmadık. Her ne kadar literatürde4,9 bakteriyolojik ve virolojik görüşü reddeden çalışmalar mevcut ise de, araştırmamızda kullandığımız farklı bir sıçan suşu olan swiss albinolarda değişik laboratuvar ortamında ve beslenme şartlarında adjuvanla oluşturduğumuz bu hastalık tablosunda viral ve bakteriyolojik ajanların etkilerini de reddedemeyiz.

Sonuç olarak adjuvanla swiss albino sıçanlarda oluşturulan sistemik hastalık tablosu: Organizmaya dağılan adjuvan içindeki tüberküloz basili ve basil fraksiyonlarına karşı gelişen geç tip aşırı duyarlılıkla birlikte, muhtemelen endojen antijenlere karşı doğan humoral immun cevap sonucu meydana gelmektedir.

Özet

25 adet swiss albino sıçanda, uygulanan komple freund adjuvanının organizmaya olan etkileri incelenmiş. Çeşitli morfolojik lezyonların ortaya çıktığı (Adjuvan hastalığı) saptanmıştır. Bulgular literatür ışığı altında değerlendirilmiş ve tartışılmıştır.

Bu araştırmada faydalanılan literatürde rastlanmayan bir bulgu ortaya çıkarılmış; iki vakada, subendokardiyal ve intermyokardiyal lenfo-histiyo-plazmositer hücrelerin oluşturduğu nodüllerin meydana geldiği ve bu bulgunun adjuvan hastalığının yeni bir komponenti olabileceği önerilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Freund, D. L., Cassals, S., and Hosmer, E. P.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **37:** 509, 1937. (Zahiri (9) tarafından belirtimiştir).
2. White, R. G.: Role of adjuvant in the production of Delayed hypersenvitivity. Brit. Med. Bull. **23:** 39, 1967.
3. Stoerck, H. C., Bielinsky, T. C., and Budzilovich, T.: Amer. J. Path. **30:** 616, 1954. (Waksman (4) tarafından belirtilmiştir).
4. Waksman, B. H., Pearson, C. M., and Sharp, J. T.: Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. J. Immunol. **85:** 403-417. Oct., 1960.
5. Pearson, C. M., Waksman, B. H., and Sharp, J. T.: Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. J. exp. Med. **103:** 485-509, March 1961.
6. Pearson, C. M., and Wood ,F. D.: Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. Amer. Journal of Pathol. **42:** 73, 1963.
7. Newbould, B. B.: Role of lymph nodes in adjuvant induced arthritis in rats .Ann. Rheum. Dis. **23:** 392-396. Sep. 1964.

8. Ryzewska, A., Dabrowskı, M.: The role of the thymus in the pathogenesıs of adjuvant-induced polyarthritis in rats. Archivum Immunologiae et Therapeae Experimentals, **16:** 747, 1968.

9. Zahiri, H., Gagnon, J., Ayotle, R., Laurin, A. C.: Adjuvant experimental polyarthritis. Canada. Med. Ass. J. **101:** 269, Sept. 1969.

10. Putnam, D. A., Lubaroff, D. A., Waksman, B. H.: Bone marrow Source of cells in reactions of cellular hypersensitivity 3. adjuvant arthritis in the rat. Arth. Rheum. **12:** 215-219, 1969.

12. Watson, J. I.: The effect of C. F. A. on rat kidneys, Lab. Invest. **14:**1559-1567, 1965

13. Colovıch, S. P., Kaplan, N. O.: Biüret method in methods in enzymology Vol. III. Academic press inç, Publishers New York, 1957, P: 450-454.

14. Swingle, K. L., Jaques, L. W., Kıwam, D. C.: Differences in the severity of adjuvant arthritis in four strains of rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **132:** 608-612, 1969.

15. Benek, V. G., und Nohl, M.: Die synovialzellen proliferation bei der experimentallen adjuvans-arthritis der ratte Z. Rheumaforschg. **29:** 335-347, 1970.

16. Lukens, J. N., Cartwright, G. E., Wintrobe, M. M.: Anemia of adjuvant-induced inflamation in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **126:** 346, 1967.

17. Jones, R. S., and Ward, J. R.: Arth. Rheum. **5:** 650, 1962.

18. Akamatsu, Y., Nıshızawa, H., Watanabe, S., Kumagai, A.: Adjuvant-induced polyarthritis in rats it's histogenesis. Acta. Path. Jap. 16 **2:** 131-140, 1966.

19. Silverstein, E., and Sokoloff, L.: Periarthritis produced in rats with freunds adjuvant Arth. Rheum. **39:** 485-495, 1960. (Pearson (6) tarafından belirtilmiştir).

20. Kutkam, T.: Sıçanlarda pinus brutia, pinus nigra ve pinus silverstris polenleri ile meydana getirilen pulmoner granülomlar ve bunların patogenezi üzerinde araştırmalar. Doçentlik tezi, Ankara 1970, Sayfa: 39.

21. Velo, G. P., and Spector, W. G.: The origin and turnover of alveolar macrophages in experimental pneumonia, J. Path. **109:** 7, 1973.

22. Heymann, W,. Hunter, J. L., and Hackel, D. B.: Experimental auto-immune nephrosis in rats III. J. Immunol. **88:** 135, 1962.

23. Berry, H., Willoughby, D. A., and Giroud, J. P.: Evidence for an endogenous antigen in the adjuvant arthric rat. The Journal of Pathology. **111:** 229-238, Dec. 1973.

24. Glenn, E. M.: Am. J. Vet. Res. **26:** 1180, 1965.

25. Ward, J. R., and Cloud, R. S.: Drug Effect on Adjuvant Arthrit J. Pharmacol. Exp. Therap. **152:** 116, 1966.

26. Walz, D. T., Di Martino, M. J., and Misher, A.: Suppression of adjuvant induced arthritis in the rats by gold sodium thiomalate. Ann. Rheum. Dis. **30:** 303, 1971.

27. Glenn, E. M., and Kooyers, W. M.: Plasma inflammation Units: An objective method for investigating effect of drugs on experimental inflammation. Life. Sci. **5:** 619, 1966.

28. Burry, H. C.: Reduced glomerular function in rheumotoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. **31:** 65, 1972.

29. Burger, R. J., Healey, L. A., and Polinsky, P.: Renal abnormalities in Rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. **27:** 339, 1968.

30. Sokoloff, L.: Animal model of human disease. Reumatoid arthritis. The American Journal of Pathology. **73:** 261, 1973.

31. Mackay, I. R., and Burnet, F. M.: Autoimmune disease. Sprinfield Thomas 1963, 149.

32. Kapusta, M. A., and Mendelson, J.: The inhibition of adjuvant disease in rats by the interferon inducing agent pyran copolymer. J. Arth. Rheum. 12: 463, Oct. 1969.

33. Kaurounakis, N. L., Nelson, J. R., Kapusta, M. A.: The effect of a cobra venom factor on complement and adjuvant-induced disease in rats. Arth. Rheum. (N.Y.) 16/1 71-76, 1973.

34. Weiser, R. S., Myrvik, Q. N., Pearsel, N. N.: Fundamentalis of Immunology. (Chapter: 6,7) Lea. Febiger, Philadelphia, 1966. 199.