

"Alfa-Zincir Hastalığı" Elektron Mikroskopik Gözlemler

[İnce barsak lamina propriyasında mononükleer hücrelerin yapısal nitelikleri.*]

Dr. Bedri Uzunâlimoğlu**, Dr. Figen Batman***, Dr. Yavuz Özorhan**** Dr. Özden Uzunâlimoğlu,*****, Dr. İlhan Kerse.*****

ÖZET

PLI (Plasmalenfositik infiltrasyon) döneminde iki α -zincir hastalığı vakası, transmisyon elektron mikroskobu yöntemi ile incelenmiştir.

Işık mikroskopunda yapısal değişiklikler alfa-zincir hastalığına özgü bulgulardır.

Elektron mikroskobu düzeyinde en belirgin bulgu, lamına propriyada değişik evrim dönemlerinde ve yapısal özelliklerde olan plasma hücreleri ve lenfositlerden oluşmuş yoğun ve heterogen hücre infiltras-

SUMMARY

Two cases of alpha-chain disease in PLI (Plasmolymphocytic infiltration) stage have been investigated by means of transmission electron microscopy.

The morphological findings are those of an alpha-chain disease at light microscopy.

The most striking morphological finding at E.M. level is that of a dense heterogenous mainly mononuclear cell population in the lamina propria consisting of plasma cells and lymphocytes in different

* Hacettepe Üniversitesi Patoloji, Gastroenteroloji ve Histoloji Embriyoloji Bilim Dalları ile Ankara Üniversitesi Gastroenteroloji Kliniği ortak çalışması. Bu çalışma kısmen I. ci Ulusal Gastroenteroloji kongresinde sunulmuştur. (5-7 Aralık, 1974, Ankara)

** Hacettepe Üniversitesi Patoloji Doçenti.

*** Aynı Üniversite Gastroenteroloji Doçenti.

**** Aynı Üniversite Patoloji asistanı.

***** Ankara Üniversitesi Gastroenteroloji Profesörü.

***** Hacettepe Üniversitesi Histoloji — Embriyoloji Profesörü ve bilim dalı başkanı.

yonudur. Bu hücreler arasında immunoblast tipinde hücrelerle daha az sayıda eozinofil lökosit ve mast hücreleri de izlenmiştir. Sıklıkla, lenfosit ve plasma hücreleri arasında yapısal özellikler gösteren hücreler (intermediate cells) dikkati çekmiştir.

Belirgin hücre tipi işlev (fonksiyon) açısından çok aktif görünen plasma hücresi ve/veya plasmotoid lenfositlerdir. Bu hücrelerde çok iyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumu ve belirgin golgi komplekslerinin varlığı bunu göstermektedir.

Yapısal gözlemler, alfa-zincir proteinin plasma hücreleri ve çok büyük olasılıkla büyük lenfositlerde yapıldığını düşündürür niteliktedir. Diğer taraftan, bu hücreler arasında sekresyon sistemleri ve burada izlenen değişimler açısından morfolojik yönden ayrıcalıklar vardır. Bu da iki hücrenin protein molekülünü (α -ZP) salgılama ve/veya yapma açısından değişik davranışta olduklarını düşündürmektedir.

İlginç yapısal bir gözlem membranları yer yer yırtılma gösteren, genişlemiş granüllü endoplazma retikulumunu içeren, plasma hücre sitoplazma parçacıklarının izlenmesidir. Çevre dokuda ise tekniğe bağlanabilecek bir bozulma izlenmemiştir. Bu gözlem, plasma hücrelerinin başlıca klasmatozis yolu ile salgılama yaptıklarını düşündürmektedir.

İnce barsak lamina propriyasında izlenen hücre kompozisyonu, yapısal özellikleri ve aralarındaki ilişkiler hastalığın etyo-patogeneğinde

stage of maturation and morphological features along with immunoblast type cells, some eosinophil leucocytes and mast cells. Frequently the cells with features of both lymphocytes and plasma cells (intermediate cells) are encountered.

The predominant cell type is plasma cell and/or plasmocytoid lymphocyte which seems functionally very active from morphological point of view as judged by the presence of very well developed rough endoplasmic reticulum with different degree of dilatation and prominent Golgi complexes.

The morphological observations suggest that the alpha-chain protein is produced by plasma cells and quite possibly by large lymphocytes (turned on lymphocytes). On the other hand the morphological differences between the plasma cells and the large lymphocytes in terms of their secretory system and the changes observed within them suggest that the way these cells produce alpha chain protein might be different in regards to the pace of production and/or the secretion of the protein (α -CP).

An interesting morphological finding is the presence of fragmented parts of the plasma cells containing dilated granular endoplasmic reticulum sacs, membranes of which appear to be ruptured at some places in an otherwise well preserved background. It is suggested in the light of this observation that clasmatozis might be the way of the secretion or excretion of the abnormal protein molecules (α -CP) through the plasma cells.

The composition and the relationship between the cells observed in the lamina propria of the small intestine support the idea that chronic antigenic stimulus is

kronik antijenik stimulus önerisini destekler niteliktedir.

Bu incelemede, virus veya vırusa benzer yapıların görülmemesi, önceki araştırmacıların gözlemleri ile uyumludur.

the major etio-pathogenetic mechanism.

No virus or virus like material has been demonstrated in this observation which is in accord with the findings of previous investigations.

α -zincir hastalığı, IgA sekresyon sisteminde immunglobulin A (Ig A) molekülünün yapım ve/veya salgılanmasında moleküler düzeyde patolojiye ikincil kliniko-patolojik bir hastalık tablosudur.^{24, 32, 34} Moleküler düzeydeki bu defekt, yapısal olarak ince barsak ve/veya mezenter lenf nodüllerinde lenfo-plasmositer hücre proliferasyonu, immunokimyasal açıdan da IgA'nın ek-sik ağır zincir polipeptid molekülünün (alfa zincir proteini) (α -ZP) serum, jejunal sıvı ile diğer bazı vücut sıvılarında bulunması ile nitelenir.^{15, 32, 34}

İntestinal α -zincir hastalığı (α -ZH) ile ilgili yayınlarda hastalığın klinik, radyolojik bulguları ve İmmunokimyasal nitelikleri ile ışık mikroskobu düzeyinde yapısal özellikleri oldukça geniş bir şekilde incelenmiştir.^{14, 15, 18, 20, 24, 27, 31, 34, 39}

Transmisyon elektron mikroskobu düzeyinde α -zincir hastalığı ile ilgili yayınlar ise kısıtlı sayıdadır.^{5, 15, 19, 29}

Biyosentetik çalışmalarda α -ZH'ni simgeleyen (α -ZP) nin, ince barsak lamina propriyasındaki lenfo-plasmositer hücreler tarafından yapıldığı gösterilmiştir.^{26, 34} İnce yapı düzeyinde bu hücrelerin tipleri ve yapısal özellikleri tanımlanmış olmakla beraber, hücrelerde protein sentezi, hücre içinde polipeptid moleküllerinin dağılımı ile salgılanma ve/veya ekskresyonu açısından gözlemlerin genişletilmesine gereksinme vardır.^{15, 18, 19, 20, 29}

Hastalığın oluş mekanizmasında (patogenez) barsak enfeksiyonlarına bağlı kronik antijenik stimulus önerilmiştir.^{25, 33} Bu konuda bir ultrastrüktür çalışmasında, ince barsak lamina propriyasında izlenen hücre tip ve değişikliklerinin immunolojik reaksiyonda saptanan nitelikte olduğu belirtilmiştir.¹⁹ Bu yönden ince yapı gözlemlerinin patogenez açısından da konuya ışık tutma olasılığı vardır.

Bu gözlemlerin, diğer bazı disproteinemik sendromlarda plazma hücreli myelom, Waldenström makroglobulinemisi ve diğer immunglobulin sınıflarının yapım ve/veya salgılanmasın-

daki defektlere ikincil gamma—zincir γ —zincir) ve mu—zincir (μ zincir) hastalıklarındaki ince yapı bulguları ile karşılaştırılması, hem ayırıcı tanı hemde işlev (fonksiyon) ve patogenetik yönden aydınlatıcı olabilir.

Bu temel amaçlarla tanımladığımız ve izlediğimiz onbir α —zincir hastalığı vakasından, PLI (Plasma—lenfositler infiltrasyonu) döneminde olan iki vakayı transmisyon elektron mikroskobu ile inceledik.

Bu makalede ince yapı düzeyinde ince barsak mukozasında gözlemlerimiz sunulacak, bilhassa lamina propriyada izlenen hücrelerin yapısal özellikleri ile işlev açısından bunların anlamı tartışılacaktır.

MATERYEL — METOD

Her ikisinde erkek olan vakalarımızda tanı öncesi bulguların süresi 2 yıl olup, tanı alma yaşları 8 ve 26'dır. Şiddetli mal-absorpsiyon tablosu ile baş vuran vakalarımızda, belirgin kilo kaybı, buna eşlik eden halsizlik ve parmaklarda çomaklaşma başlıca klinik bulguları oluşturmaktadır. Laboratuvar yöntemleri ile steatore saptanmış ve yapılan ince barsak absorpsiyon testleri bozuk bulunmuştur. Vakalarımıza ait klinik, laboratuvar bulguları ayrıntıları ile önceden yayınlanmıştır.³⁸

Bir vakamızda (A—K) α —ZP serum, jejunal sıvı ve idrarda Radl'in immunoseleksiyon tekniği ile gösterilmiştir, diğer vakamızda ise (Z—B) yalnız serumda bu proteinin varlığı, IgA ya monospesifik antiserum ile immünelektroforez yöntemi ile saptanmıştır.^{14, 34}

Elektron mikroskobu için doku örnekleri peroral endoskopik ince barsak biyopsi yöntemi ve Crosby kapsülü ile alınmıştır. Doku örnekleri % 2.5 luk fosfat tamponlu gluteraldehide solüsyonunda (PH 7.4) 4°C da tesbiti izleyerek % 1 lik Osmic acid de (PH: 7.4), oda ısısında tesbit (post fixation) tamamlanmıştır. Değişik yoğunluk derecesinde olan ethanol solüsyonlarında kurutma (dehydration) işlemini izleyerek, doku örnekleri Araldite 502 ye gömülmüştür.

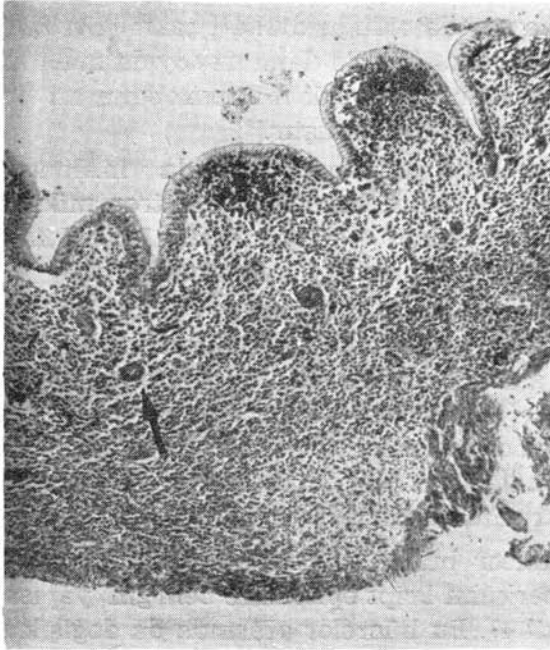
Kesitler, LKB ultramikrotomunda elmas bıçak ile yapılmış ve ince kesitler Reynold's un metoduna göre uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanmıştır.²⁸

İnce yapı incelenmesi, Carl Zeiss E.M. 9.A. transmisyon elektron mikroskobu ile yapılmıştır.

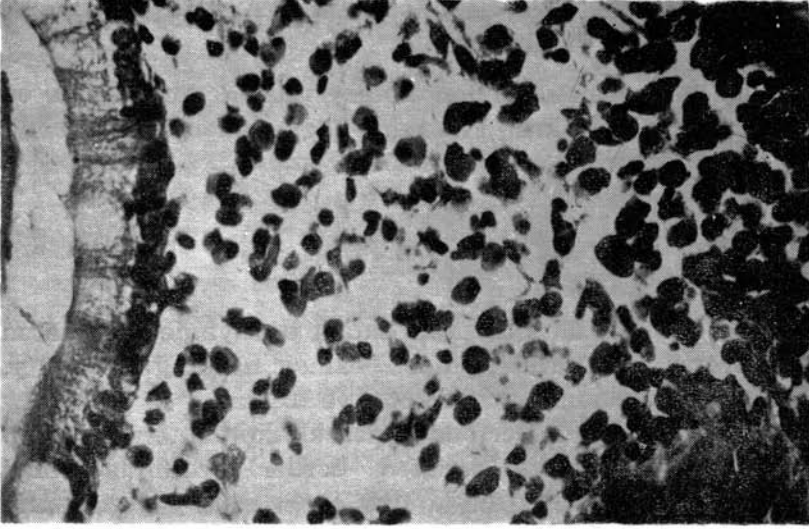
Ayrıca doku örneklerinden Rotary mikrotomu ile elde edilen seri kesitler (6 mikron kalınlıkta- hematoksilen ve eozin ile boyanarak ışık mikroskobu ile incelenmiştir.

BULGULAR

Her iki vakamızda ışık mikroskobu düzeyinde ince barsak peroral biyopsi doku örneklerinde α -zincir hastalığına özgü yapısal değişimler izlenmiştir. Subtotal ve totale yakın villus atrofişi gösteren doku örneklerinde genellikle kolumnar yüzey epiteli, intak fırçamsı kenar (Striated border) yanında belirgin kript kaybı ve/veya azlığı ile lamina propriyada yoğun plasmolenfositler hücre infiltrasyonu saptanmıştır (Şekil 1, 2). Bir vakamızda (A.K) plasma hücreleri ile plasmositoid lenfositler hakim hücre tipini oluştururken, diğer vakada (Z—B) lenfositlerin



Şekil : — İnce barsak per oral biyopsi örneği. Subtotal villus atrofişi, belirgin kript kaybı ve lamina propriyada yoğun, lenfositik hücrelerin hakim olduğu hücre proliferasyonu görülmektedir. Yüzey epitel hücreleri intaktır. Ok, az sayıda olan bir kripti göstermektedir. Vaka (Z—B) H+E X 190



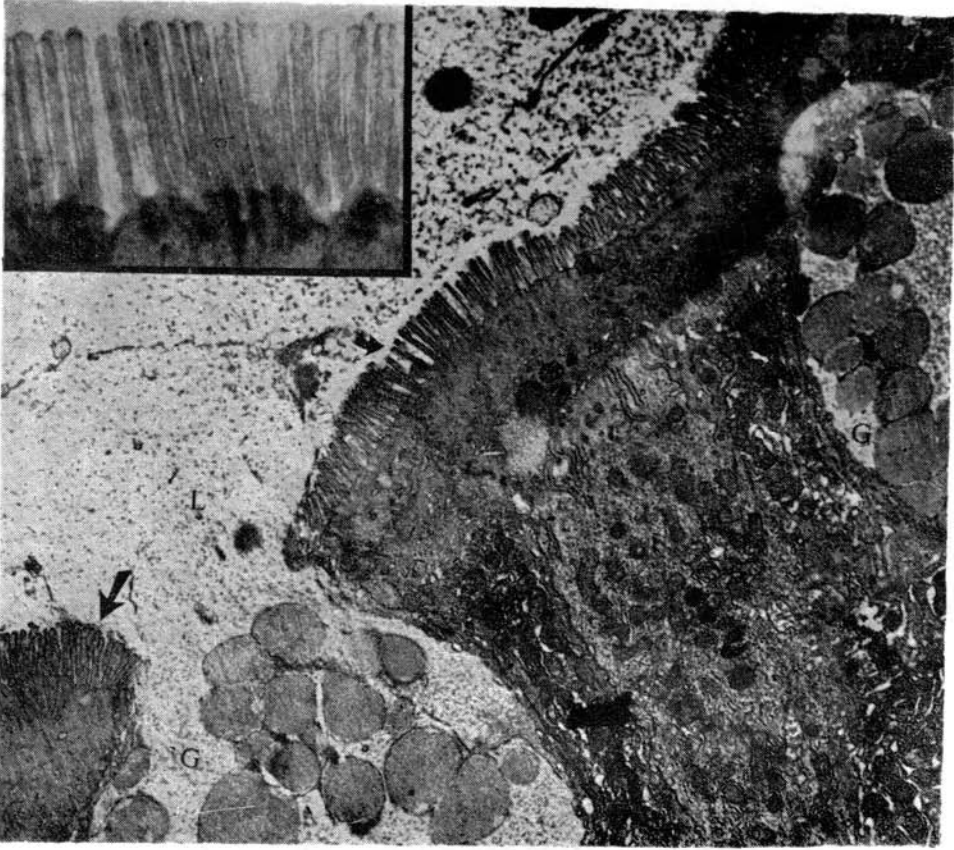
Şekil : 2 — Lamina propriyada plasma hücreleri, plasmositoid lenfositler ve lenfositler. Sol üst köşede bir kript görülmektedir. (Vaka A—K H + E X 480)

daha belirgin sayıda olduğu dikkati çekmiştir. Bu hücreler arasında eozinofil lökositler ile daha az sayıda mast hücreleri'de izlenmiştir. Vakalarımızda ışık mikroskobuna ait bulgular ayrıntıları ile önceden yayınlanmıştır.³⁸

Her iki vakada lamina propriyada infiltrasyon oluşturan hücrelerde atipi yoktur; bu açıdan elektron mikroskopik inceleme için alınan örnekler α —zincir hastalığının P.L.I. (plasma lenfositler infiltrasyon) dönemini yansıtmaktadır.

Elektron mikroskopik gözlemler : Bulgular, her iki vakada da temel olarak aynı nitelikte olduğundan birlikte sunulacaktır. İzlenen alanlarda yüzey epiteli (enterocyte) ve fırçası kenar intaktır. (Şekil 3 ve inset). Yer yer bu hücreler arasında goblet hücreleri ve lenfositler normalden daha fazla sıklıkla izlenmiştir. Bu gözlem ışık mikroskopu düzeyindeki gözlemlerimizi kanıtlar niteliktedir.

Mononükleer hücre infiltrasyonu ve harabiyet alanları dışındaki Lieberkühn kript epitelinde belirgin yapısal bir değişim yoktur (Şekil 4). Bu hücreler arasında da değişik sekresyon aktivitesinde olan goblet hücreleri normalden daha sık olarak dikkati çekmiştir (Şekil 4-.) Yine yüzey epitelinde olduğu gibi yer yer kript epitelileri arasında da lenfosit tipinde mononükleer hücreler görülmüştür.



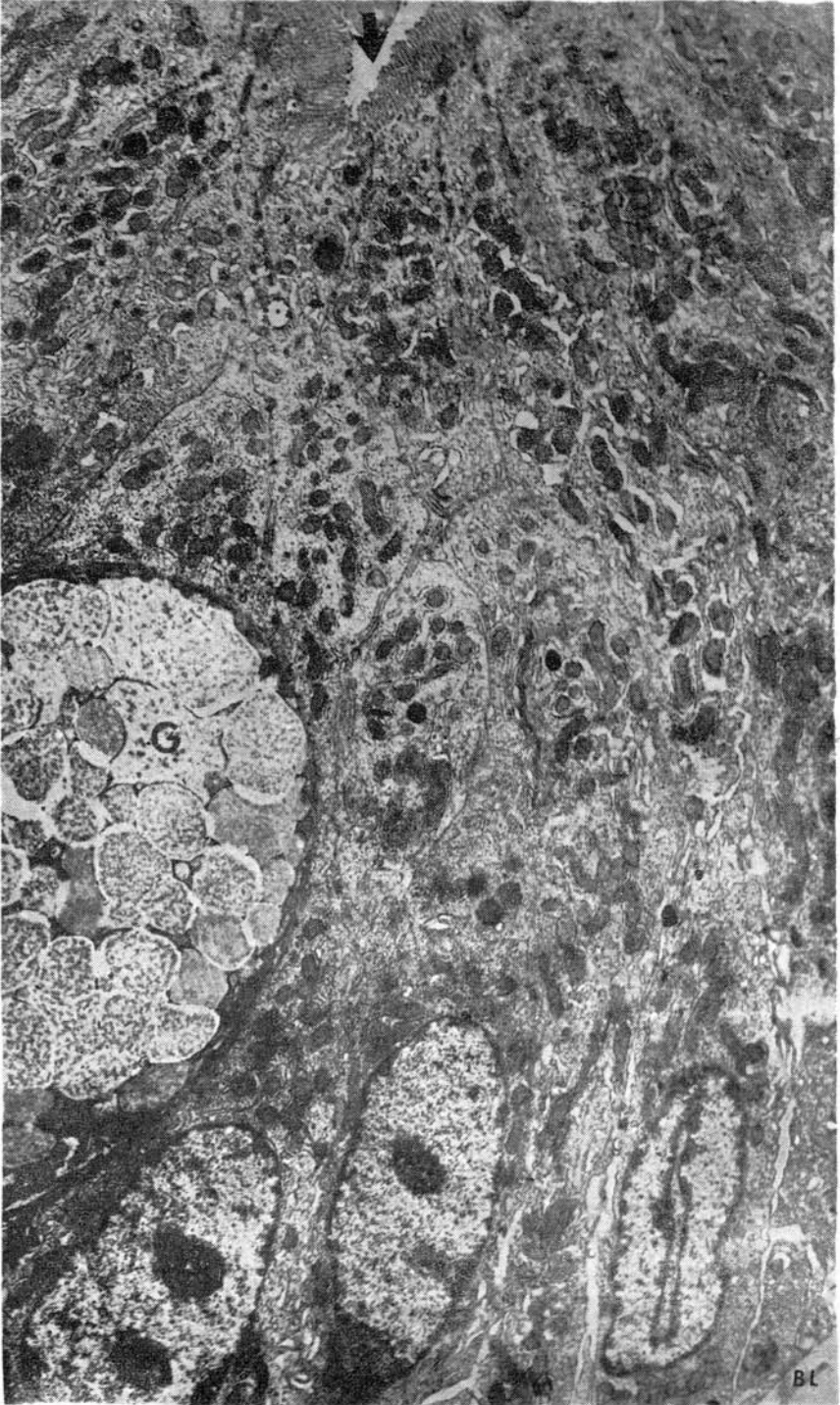
Şekil : 3 — Yüzey epitel ve intakt görünen çizgili kenar (striated border) izleniyor. Alanda biri lümene ağızlaşmış, 2 goblet hücresi vardır. G : goblet hücresi, L : lümen, ok çizgili kenarı göstermektedir. Uranil asetat, kurşun sitrat X 24.000

Sol üst köşede bu alandaki mikrovillusların ileri büyütmede görünümü X72000.

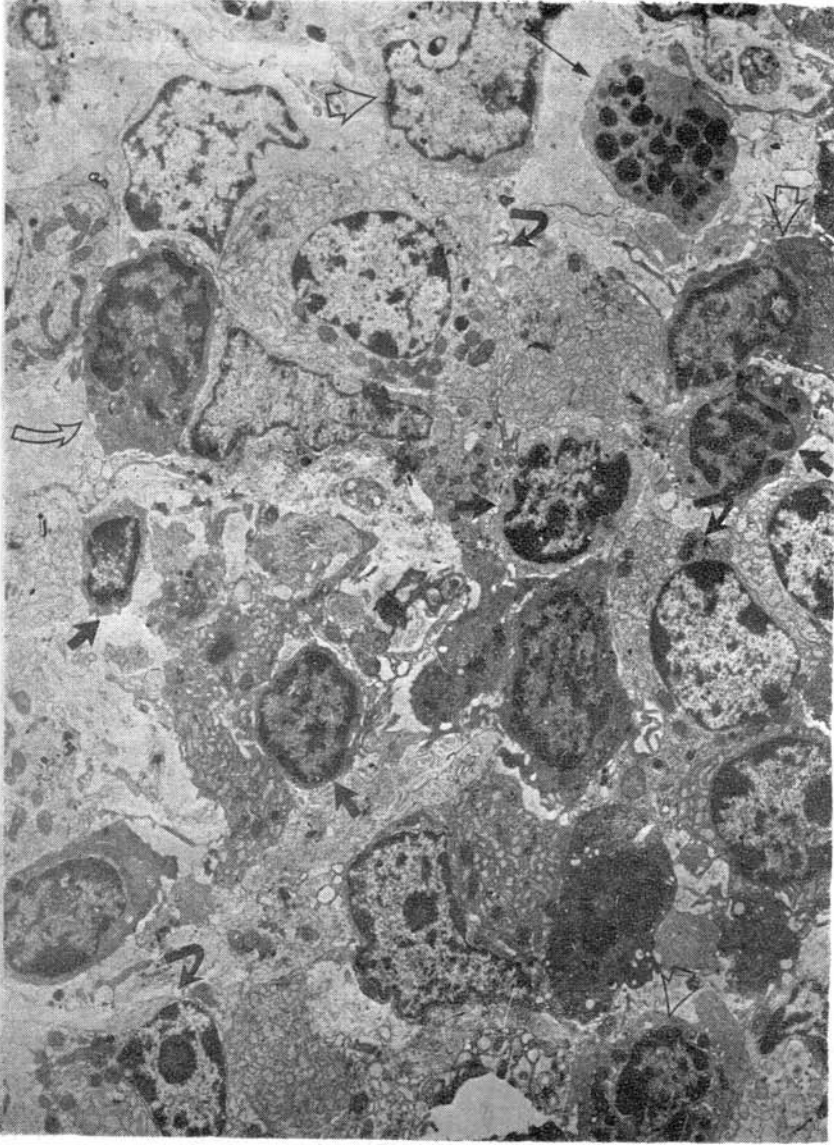
Yer yer daha belirgin olan ödem, hücre aralarının genişlemesine yol açmıştır.

Paneth hücreleri de kolaylıkla osmiofilik granülleri ile tanınmaktadır. Kript basal laminasında kayda değer bir yapısal değişim yoktur.

Lamina propriyadaki yoğun hücresel infiltrasyon, başlıca plasma hücreleri, değişik büyüklükte lenfositler ile yer yer immunolast tipinde hücreler ve bunların arasındaki geçiş şekillerinden (intermediate cells) (Şekil 5) oluşmuştur.



Şekil : 4 — Bir kript alanı. Mikrovilluslar normal görünümündedir. Belirgin yapısal bir değişim göstermeyen kript epitel hücreleri arasında bir goblet hücresi izleniyor. G : Goblet hücresi, BL : Bazal lamina, ok kript lümeni ile mikrovillusları gösteriyor. Uranil asetat, kurşun sitrat X24000.



Şekil : 5 — Lamina propriyada mononükleer hücreler. Değişik evrim devrelerinde lenfositler, plasma hücreleri ile immünoblast tipinde hücreler görülmektedir. Arada, bir eozinofil lökosit dikkati çekmektedir. İçi dolu eğri ok; plasma hücresi, içi dolu düz ok; küçük lenfosit, içi boş düz ok; büyük lenfosit, içi boş eğri ok; immünoblast, ince uzun siyah ok da eozinofil lökositini göstermektedir. Uranil asetat, kurşun sitrat X6600.

İki vakamız arasında lamina propriyadaki hücre infiltrasyonunun niteliği ve niceliği açısından fark, elektronmikrosko-

bik düzeyde ışık mikroskopu düzeyinde olduğundan da çok azdır (Plasma hücreleri ve lenfosit hakimiyeti gibi). Fakat aynı vadede, bazı alanlarda plasma hücreleri daha belirgin iken, diğer bazı alanlarda lenfositik hücreler daha fazla sayıda izlenmiştir.



Şekil : 6 — Bir plasma hücresinin ileri büyütmede görünümü. İyi gelişmiş granüllü endoplazma keselerinde genişleme ve lümenlerinde ince noktacıklı materyel görülüyor. Golgi kompleksleri belirgindir. İçi dolu düz ok; golgi kompleksi, ince uzun ok; mitokondriyon, içi boş eğri ok; granüllü endoplazma retikulumu, içi dolu eğri ok da sitoplazmik çıkıntıları göstermektedir. Uranil asetat, kurşun sitrat X24.000.

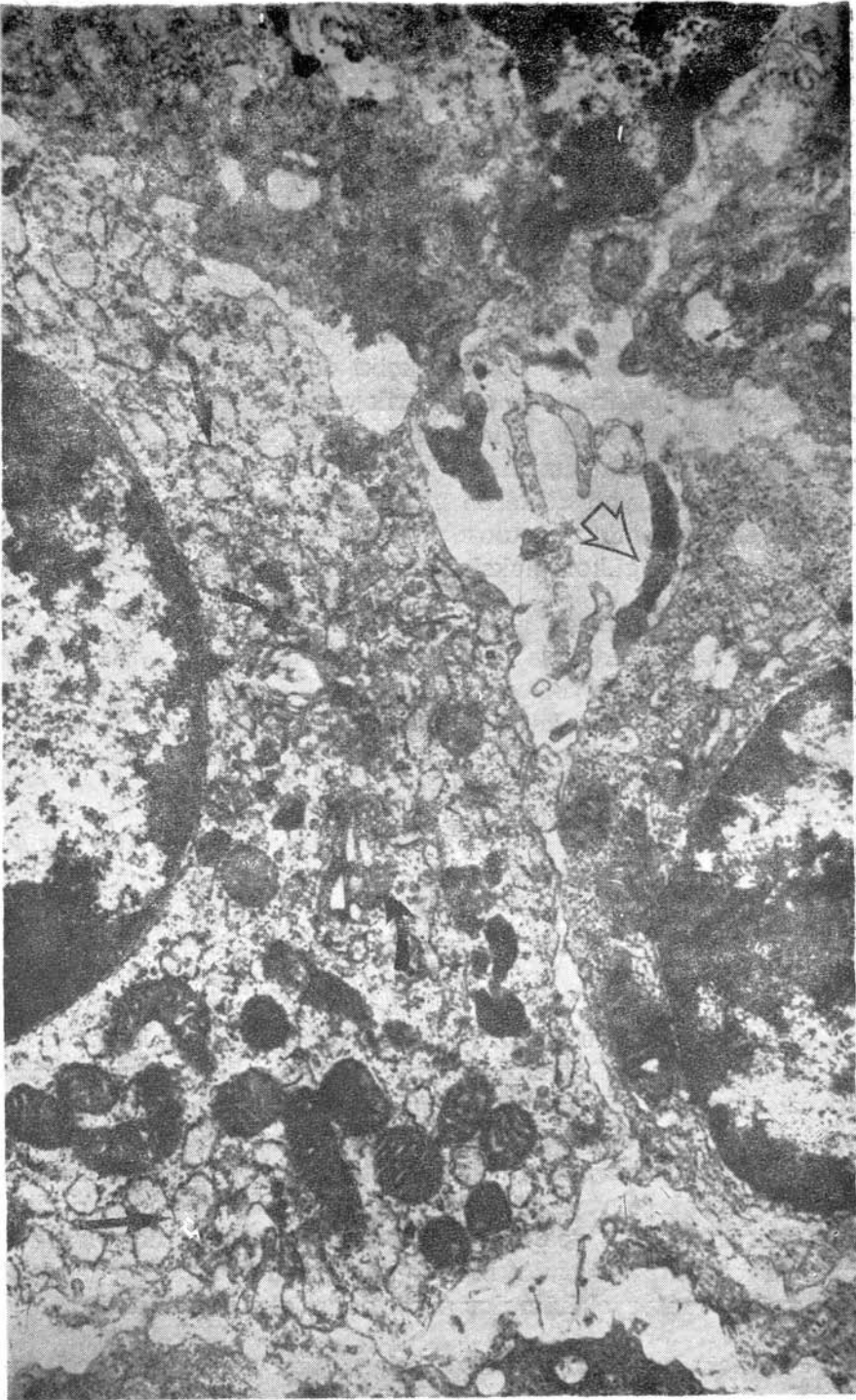
Plasma hücreleri, ovoid şekilde olup, sıklıkla plasma membranlarının uropoid, psödopoid çıkıntılar oluşturduğu görülmektedir (Şekil 6). Yuvarlak ve/veya ovoid çekirdeğin düzgün çepiri olup, genellikle kromatin kümelerinin çekirdek membranı altında yerleşim gösterdiği dikkati çekmektedir. İzlendiğinde belirgin alan nükleolus (çekirdekçik) de genellikle tektir. Tek olarak izlenen çekirdek de ekzantrik yerleşim gösterebildiği gibi, hücre ortasında da görülebilmektedir (Şekil 5, 6). Plasma hücrelerinin yapısal açıdan en belirgin niteliği çok iyi gelişmiş genellikle dilatasyon gösteren granüllü endoplazma retikulumu (rough endoplasmic reticulum) (g—e—r) ile yine izlendiğinde belirgin alan Golgi komplekslerinin varlığıdır (Şekil 5, 6, 7-.)

Genişleme gösteren g.e.r genellikle orta derecede elektron yoğun ve hafif derecede noktacıklı bir materyel içermektedir (Şekil 5,6). Bu materyel bazı hücrelerde kondanse ve daha elektron yoğun olup g.e.r keseleri içinde çevrelerinde bir hale bırakacak şekilde yerleşim göstermektedir (mott cells) (Şekil 8 inset).

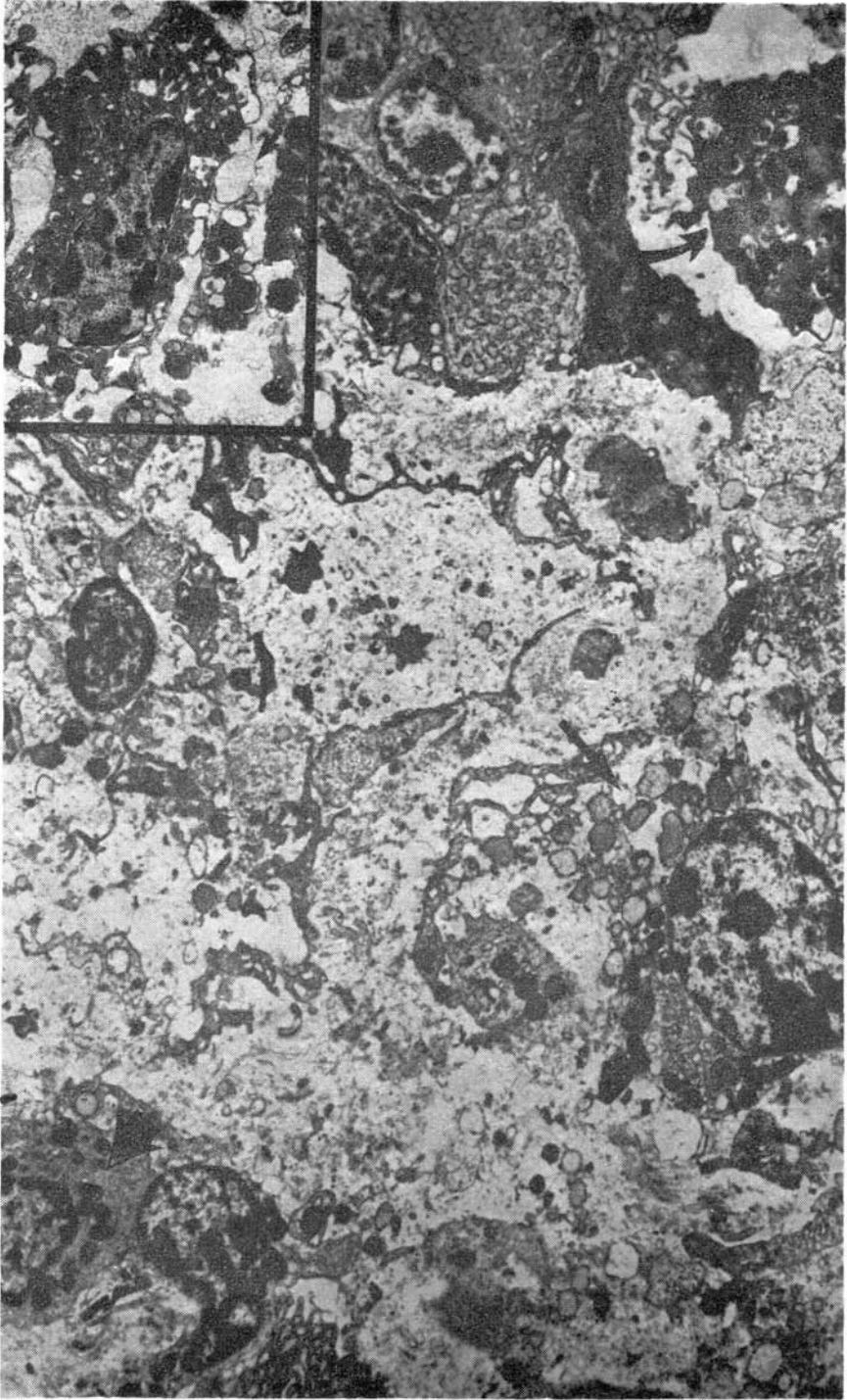
Bu hücreler yer yer Russel cisimciklerine dönüşmektedir. Bununla beraber incelenen plasma hücreleri g.- e.- r içinde kristal ve/veya parakristalin yapılar dikkati çekmemiştir. Ayrıca nükleer ve/veya sitoplasmik vakuol ve/veya inklüzyon gözlenmemiştir.

Dikkati çeken ve sıklıkla izlenen bir bulgu da plasma hücre sitoplazmasına ait kısımların hücreler çevresinde serbest olarak izlenmesidir (Klasmositosis) (Şekil 8). Bu sitoplazma bölümleri, yer yer devamlılığı bozulmuş ana plasma hücreleri ile ilişkili olup bir kısmında genişleme gösteren g.- e.- r membranlarının yırtılarak çevreye açılmış ve/veya açılmakta olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 8 ve 8 inset). Bu alanlarda, endoplazma retikulumu içindeki materyele benzer noktacıklı orta derecede elektron yoğun materyel hücreler arası dokuda görülmektedir.

α -zincir hastalığında kısıtlı olan diğer ultrastrüktürel çalışmalar da da dikkati çeken bu bulgunun, plasma hücrelerinin immünglobulinleri salgılamasında önerilen salgılama mekanizmalarından birinin (klasmatosis) yapısal görüntüsü olma olasılığı mevcuttur.^{7, 15, 29, 37} Vakalarımızda, hücreler arasında amiloid veya benzeri bir madde toplanmasını düşündürecek bir gözlemimiz yoktur.



Şekil : 7 — Lenfosit ve plazma hücre kısımları görülüyor. Serbest ribozomlardan zengin lenfosit sitoplazmasında birkaç mitokondriyon vardır. Yapısal açıdan bu hücre blast transformasyonu gösteren lenfosit benzemektedir. Plazma hücresi ise g.e.r. den zengin ve golgi kompleksleri belirgindir. Siyah düz ok; granüllü endoplazma retikulumu, siyah eğri ok; golgi kompleksi, içi boş ok da lenfosit göstermektedir. Uranil asetat, kurşun sitrat X24.000.



Şekil : 8 — Lamina propriyada izlanan hücre tipleri. Plasma hücreleri çevresinde genişlemiş granüllü endoplasma retikulumu keselerini içeren sitoplas-

ma fregmanları dikkati çekiyor. (Klasmatisis) (düz ince siyah ok) Blast transformasyonu gösteren iki lenfosit de kalın siyah okla gösterilmektedir. Eğri siyah ok bir mast hücreini işaret etmektedir. Uranil asetat, kurşun sitrat X6600.

Inset : Klasmotosis fenomeni gösteren diğer bir plasma hücresi g.e.r. keselerinin çevre ile ilişkisine dikkat ediniz (siyah ok). Bu keseler içinde elektron yoğun, çevrelerinde bir açık alan içeren materyel mevcuttur. (Mott cell) Uranil asetat, kurşun sitrat X6600.



Şekil : 9 — Bir plasma hücresi, immünoblast ve lenfositleri göstermektedir. İmmünoblastlar (içerik) ve lenfositleri (içerik) görülmüştür. İçerik boş eğri okla gösterilen immünoblast tipindeki lenfositlerin sitoplazmasının ribozomlardan zengin olup organel açısından fakirliğine dikkat ediniz. Plasma hücresi g.e.r. keseleri genişlemiştir (içerik boş düz ok) lenfosit çekirdeğinde geniş bir indentasyon olup sitoplazma oldukça dardır (siyah ok). Uranil asetat, kurşun sitrat X24000.

Unit membran sistemine giren, paralel lameller ve veziküler yapıları içeren Golgi komplekslerinin, izlendiğinde çok iyi gelişmiş ve belirgin olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 6, 7, 8).

Mitokondriyonlar vakalarımızda plasma hücrelerinde normal hudutlar içinde olup belirgin bir yapısal değişim göstermektedir (Şekil 6, 7).

Diğer taraftan lenfositik hücreler, organelleri bilhassa granüllü endoplazma retikulumu (g.e.r) ve Golgi komplekslerinin azlığı ve/veya yokluğu ile yukarda tanımlanan plasma hücrelerinden kolaylıkla ayırdanmaktadır (Şekil 5, 7, 9) Boyut açısından plasma hücreleri az çok birbirine uyum gösterirken, lenfositik hücrelerin değişik boyutlarda olduğu izlenmektedir (küçük, büyük lenfosit gibi) Hücre boyutu ile paralel olarak organel sayısında (bilhassa g- e- r) artım göstermekte ve bazı büyük lenfositler organel açısından plasma hücrelerine yakın benzerlik göstermektedir (intermediate cells) (Şekil 8). Küçük lenfositlerde daha belirgin olmak üzere çekirdek/sitoplasma oranı, plasma hücrelerinden büyüktür.

Lenfositik hücrelerde plasma hücreleri çekirdeklerinden farklı olarak çekirdek konturu çentikler göstermekte ve düzgün olmayan bir çekirdek profili görülmektedir (Şekil 5.9). Kromatin çekirdek içinde dağınık küçük kondansasyonlar yapabildiği gibi, plasma hücrelerini anımsatır biçimde çekirdek membranı altında kümeler halinde de yerleşim göstermektedir.

Çekirdekçik (Nükleolus) genellikle büyük lenfositlerde ve tek olarak izlenmektedir.

Genel olarak, lenfositik hücre sitoplasmasında az sayıda mitokondriyon ,az gelişmiş endoplazma retikulumu profilleri ve rudimanter Golgi vezikülleri yanında, lizozomlar ve serbest ribozomlar, bazı enklüsyonlar (gall body gibi) ve vakuoller görülmektedir. Yukarda vurgulandığı gibi bu organellerin sayısı hücre büyüdükçe (blast transformation) belirginleşmekte ve/veya artmaktadır.

Lenfositik hücrelerde de psödopoid ve uropod şeklinde sitoplasmik çıkıntılar, sıklıkla izlenmiştir. Ayrıca lenfosit sitoplazmaları mono ve/veya poliribozomları içermektedir.

Bilhassa «Immunoblast» tipinde hücre sitoplasmasının poliribozomlardan çok zengin olduğu görülmektedir (Şekil 9). Si-

toplasmalarında az sayıda mitokondrion görülmekle beraber endoplazma retikulumu gelişmemiştir. Hücre membranları gibi, çekirdek membranlarında irregular bir profile sahip olup çekirdekte kromatin marginal yerleşim göstermekte ve genellikle belirgin ve çok sayıda olabilen çekirdekçikleri içermektedir (Şekil 7, 9).

Yukarda ana yapısal nitelikleri belirtilen bu hücreler arasında geçiş şekilleri sıklıkla izlenmektedir.

Lamina propriyada hücreleri oluşturan bu mononükleer hücreler yanında, makrofajlar, eozinofil lökositler ve daha seyrek olarak ta mast hücreleri ile az sayıda bazofil'ler ve fibroblastlar kendilerine özgü ince yapıları ile izlenmiştir.

Vakalarımızda incelenen tüm alanlarda EM. düzeyinde virus veya virusa benzer yapılar görülmemiştir.

TARTIŞMA

Vakalarımızda, transmisyon elektron mikroskobu düzeyinde incelenen α — zincir hastalığının PLI (Plasma-lenfositler infiltrasyonu) döneminde belirgin yapısal özellik, ince barsak lamina propriyasında izlenen hücresel çeşitlilik ve zenginliktir. Plasma hücreleri, küçük lenfositler ile büyük lenfositler (transformed) lymphocytes) ve immunoblast tipinde hücrelerle, yapısal açıdan bunların ara geçiş ve gelişim evrelerini simgeleyen hücreler, bu yoğun hücre topluluğunu oluşturmaktadır. Bu hücreler arasında serpilmiş olarak eozinofil lökositler ve mast hücreleri ile makrofajlar yer almaktadır.

İnce barsak lamina propriyasında izlediğimiz bu hücresel infiltrasyonda belirgin tipi, değişik gelişim ve fonksiyon dönemlerinde olan plasma hücreleri oluşturmaktadır. Büyük çoğunluğunda yapısal düzeyde çok iyi gelişmiş ve genişleme gösteren granüllü endoplazma retikulumu (g.e.r) ve belirgin Golgi komplekslerinin varlığı bu hücrelerin işlev (fonksiyon) açısından aktif olduğunu göstermektedir.⁷ Immunglobulin yapımı ile yükümlü plasma hücrelerinden ince barsak lamina propriyasında IgA plasma hücrelerinin, yerel immunglobulin yapan diğer plasma hücreleri (IgG, IgM, IgE plasma hücreleri) arasında hakim tipi oluşturduğu bilinmektedir.^{12,13} α — zincir hastalığını simgeleyen IgA'nın eksik ağır zincir polipeptid molekülü (α —ZP), yalnız se-

rumda değil, Jejunal sıvıda da bulunmaktadır ve bu proteinin (α -ZP) hastalığın intestinal şeklinde, lamina propriyadaki hücrelerde yapıldığı gösterilmiştir.^{15, 34} Yapısal düzeyde plasma hücrelerinde gözlediğimiz salgı aktivitesini simgeleyen bulgular, σ -zincir proteininin bu hücrelerde yapılıp salgılandığını düşündürür niteliktedir. Granüle endoplazma retikulumu içinde izlediğimiz orta derecede elektron yoğun granüler madde de muhtemelen bu salgı birikimini temsil etmektedir.

Biyosentetik çalışmalarda, α —zincir proteininin yalnız plasma hücrelerinden değil, lenfositlerden de salgılandığı gösterilmiştir.^{26, 34} Bilhassa büyük lenfositlerde plasma hücrelerindeki kadar olmasa da, granüllü endoplasma retikulumu (g.e.r) ve golgi komplekslerinin izlenmesi, bu hücrelerinde α —zincir protein (α -ZP) yapımına katıldıklarını düşündürür niteliktedir. Ayrıca, g.e.r açısından çok fakir olan lenfositlerin de salgı yapabileceklerini düşündüren somut gözlemler mevcuttur.^{6, 21} Diğer taraftan izlediğimiz lenfositlerde granüllü endoplasma retikulumu içinde plasma hücrelerinde olduğu gibi salgı birikimi görülmemiştir. Bununla beraber, değişik polipeptid salgılanması ile nitelenen diğer bazı disproteinemik sendromlarda da bu molekülleri sentez eden ve salgılayan hücrelerde her zaman endoplazma retikulumun da genişleme ve içinde salgı birikimi görülmemektedir.^{1, 7, 35, 16} Genişlemiş (g.e.r) keseleri içinde salgı birikimi morfolojik açıdan ya bu polipeptit moleküllerinin hücrenin salgılama ve/veya ekskresyon (excretion) düzeyinin üstünde fazla yapımına ait birikimi ve/veya salgılama, ekskresyon mekanizma hızında azalmayı, duraklamayı düşündürür. Hangisi geçerli olursa olsun, transmisyon elektron mikroskopik düzeyde bu farklılık, eğer lenfositlerde α —zincir protein yapımına katılıyorsa, sentez ve/veya salgılama açısından plasma hücrelerinden ayrıcalık gösterdiklerini düşündürmektedir. Bunu dolaylı destekleyen bir gözlemlerde biyosentetik çalışmalarda α —zincir proteininin, plasma hücreleri ile lenfoma hücreleri tarafından farklı zaman birimlerinde salgılanmalarının gösterilmesidir.²⁶

Transmisyon elektron mikroskobu ile olan gözlemlerimiz α —zincir proteininin ince barsak lamina propriyasında plasma hücreleri ile bir kısım lenfositlerden (transforme lenfosit) salgılandığını destekler niteliktedir. İnce yapı düzeyinde bunun kanıtlanabilmesi için ise immünelektron mikroskopu ve elektron mikroskopik otoradyografi yöntemlerinin uygulanmasına gereksinme vardır.

İnce yapı düzeyinde, plasma hücrelerinin salgılama işlemi üzerinde bazı gözlem ve görüşler olmakla beraber, lenfositlerin salgılama yolları hakkında bilgilerimiz daha kısıtlıdır. ^{7, 23, 36, 37}

Sıklıkla, plasma hücrelerinin çevresinde izlediğimiz, genişlemiş endoplasma retikulumu keselerini içeren sitoplasma fragmanları bu hücrelerin klastomatososis yolu ile salgılama yaptıklarını düşündürür niteliktedir. Bu hücreler çevresindeki diğer hücrelerin ve hatta bu plasma hücrelerinin çekirdeklerinin ve diğer sitoplasma bölümlerinin sağlam bulunması bunun teknik nedenlere ikincil olamayacağı göstermektedir.

Literatürde kısıtlı sayıda olan α -zincir hastalığı ile ilgili elektron mikroskopik çalışmaların bir kısmındaki elektronmikrograflar'da klastomatososis fenomenini destekler yapısal görünümeler içermektedir. ^{15, 20} Scotto ve ark. hücre nekrozuna bağladığı bu görüntülerin, basit bir nekrozdan öte, belirli fizyolojik görev ve yönelik, hücre fonksiyonuna ikincil bir yapısal bulgu olduğu kanısındayız. ²⁰ Bu konuda diğer araştırmacılar ise yapısal açıdan, α -ZP nin hücrelerden salgılanma ve/veya ekskresyonu konusuna değinmemişlerdir. ^{15, 18, 19, 20}

Plasma hücrelerinden salgılamanın vakuol oluşumu aracılığı ile olduğu görüşünü ise yapısal açıdan destekleyecek bir bulguya rastlamadık. ^{7, 40}

α -zincir hastalığının PLI dönemine ait transmisyon elektron mikroskobu bulguları, izlenen hücre çeşitliliği ve tipi açısından diğer anormal immunglobulin yapımı ile nitelenen plasma hücre myelomu, Waldenström makroglobulinemisi, Gamma ve mu zincir hastalıklarına yakın benzerlik göstermektedir. ^{1, 4, 17, 22, 35, 40, 41} Bu antitelerde proliferen alan lenfo-plasmatik hücrelerin anatomik yerleşimleri ve buna ikincil oluşan klinik tabloları ise α -zincir hastalığından çok farklıdır. ^{3, 11, 17} Bu disproteinemik sendromlarda primer olarak ince barsak tutumuna bağlı malabsorpsiyon sendromu belirgin bir klinik bulgu değildir. Yalnız son yıllarda, malabsorpsiyon sendromu ile seyreden ve ince barsak lamina propriyasında lenfo-plasmatik hücre proliferasyonu ile nitelenen Waldenström makroglobulinemisi vakaları yayınlanmıştır. ^{2, 4, 9} Bu açıdan α -zincir hastalığındaki ince yapıda saptadığımız bulgular, Waldenström makroglobulinemisinde ince barsakta gözlenen bulgularla karşılaştırılacaktır.

Temel olarak Waldenström makroglobulinemisinde lenfo-plasmatik hücre proliferasyonu ve lamina propriyada izlenen

hücreler açısından α -zincir hastalığının PLI dönemi ile benzerlik bulunmakla beraber, gerek ışık mikroskobu düzeyinde ve gerekse ince yapı düzeyinde iki hastalık arasında ayrıcalıklar dikkati çekmektedir. Bir kısım Waldenström makroglobulinemisi vakasında, ince barsak lamina propriyasında saptanan hücreler arasında hyalini eozinofilik madde birikimi yanında, köpük hücreleri ile nükleer ve sitoplazmik enklüzyonlar, vakalarımızda izlenmemiştir.⁴

Bir Waldenström vakasında ince yapı düzeyinde, depolanan maddenin granüler, amorf nitelikte az sayıda gelişmiş güzel dağılım gösteren ince fibrilleri içerdiği (30 — 60°A) saptanmış ve bu makroglobulin moleküllerinin hücreler arası varlığına bağlanmıştır.⁴

Vakalarımızda, α -zincir protein molekülüne ait olabilecek fibriller veya kristaloid bir yapı da gözlenmemiştir. Bu molekülün fizikokimyasal özelliğinden çok molekül çapının nisbi küçüklüğüne bağlanabilir.

Scotto ve ark. α -zincir hastalığında ultrastrüktürel yapı ile ilgili ve bu konuda ilk çalışmayı oluşturan yayınlarında, plasma hücrelerinin multiple myelom hücreleri ile aynı yapısal nitelikleri paylaştıklarını ve bu hücrelerin neoplastik hücreler olduğunu belirtmişlerdir.²⁹

Vakalarımızda ışık mikroskobu düzeyinde olduğu gibi ultrastrüktürel düzeyde de bu hücrelerin neoplastik niteliklerini kanıtlayacak bulgulara rastlamadık. Yüksek çekirdek/sitoplazma oranı yanında, birden fazla çekirdek, çekirdekçik varlığı ile anisositoz, hiperkromazi poikilositoz ve atipik formları da içeren artım gösteren mitotik aktivite vakalarımızda mevcut değildir.

Ayrıca Scotto ve ark. yayınında, E.M. bulgularının ışık mikroskobu bulguları ile karşılaştırılmamış olmamasının da bu konuda yorum yanlışlığına yol açabileceği kanısındayız. Diğer taraftan vakalarımızdan birinin (A.K.) tedaviden sonra 5 yıllık klinik izlemede tam klinik immunolojik iyileşme göstermesi, biyolojik açıdan hücrelerin neoplastik nitelikte olmadığını kanıtlar niteliktedir.³⁸

Bununla beraber bu araştırmacıların değindikleri α -zincir hastalığında izlenen plasma hücrelerinin, multiple myeloma hücreleri ile olan yapısal benzerliklerine ve bu hücreler arasın-

da morfolojik açıdan, hücre düzeyinde ayırım yapmanın güçlüğüne bizde katılıyoruz. Diğer taraftan myelom hücrelerinde izlenen ve çekirdeğe ait ozmiyofilik enklüsyonlar incelediğimiz hücrelerde yoktur. Ayrıca bu enklüsyonlar myelom hücreleri içinde karakteristik olmayıp, Waldenström makroglobulinemisi vakalarında da gözlenmiştir.⁸

Transmisyon elektron mikroskopide ince barsak lamina propriyasında izlenen lenfo-plasmositik hücrelerle immunoblastlar ve bu hücreler arasında değişik gelişim ve geçiş şekilleri, antijenik stimulusa bağlı immunolojik reaksiyonda izlenen tabloyu anımsatmaktadır.^{10, 23, 29}

Ayrıca eozinofil lökositler, mast hücreleri ve makrofajların varlığı ile bu benzerlik kuvvet kazanmaktadır.

Diğer taraftan lenfositik hücrelerde izlediğimiz değişik gelişim devrelerini yansıtan hücreyel değişimlerde (küçük lenfosit - büyük lenfosit - immunoblast) deneysel phytohemaglutinin etkisi ile olan lenfosit blast transformasyonuna benzemektedir.¹⁶ Bu hücrelerde histokimyasal olarak enzim aktivitesinin artımının gösterilmesi de bunu desteklemektedir.²⁹

İnce barsak mikroorganizma ve/veya parazitlerine ikincil antijenik sitomulus α -zincir hastalığı oluşumunda (pathogenesis) sorumlu bir etken olarak önerilmiş ve klonal proliferasyonu direk olarak başlatabileceği ileri sürülmüştür.^{25, 33} İnce yapıda izlediğimiz hücreyel kompozisyon bu öneriyi destekler niteliktedir.

Diğer taraftan bu antijenik stimulusun IgA immunglobulin sentezini kontrol eden genleri değiştiren bir virusun onkojenik etkisine, yalnızca hazırlayıcı (predisposing faktor) olabileceği görüşü ileri sürülmüştür.²⁵

Fakat bu güne kadar α -zincir hastalığı vakalarında sorumlu bir virus gösterilememiştir.³⁰ Bununla beraber virus veya virusların α -zincir hastalığı tanımından yıllarca evvel etkisini gösterme olasılığı ileri sürülmüştür.²⁵ Literatürdeki yayımlarla uyumlu olmak üzere vakalarımızda, biz de yapısal olarak virus veya virusa benzer yapılara rastlamadık.^{5, 15, 18, 19, 29} İlginç olmak üzere diğer disproteinemik sendromların çoğunda E.M. düzeyinde virus veya virusa benzer yapıların varlığı yayınlanmıştır.^{35, 40}

Tartışmayı kapamadan önce ince yapı açısından, α -zincir hastalığının gelişimine ışık tutabilecek bir iki noktaya değinmek istiyoruz.

Vakalarımızda olduğu gibi, literatürdeki yayınlarda da kısıtlı olsa ince yapı gözlemleri α -zincir hastalığının PLI (Plasma-lenfositler infiltrasyonu) döneminde yapılmıştır. Lenfoma evresindeki vakalar ve bilhassa geçiş dönemindeki gözlemler yapısal açıdan önemli bilgiler verebilir.

Diğer taraftan ince barsak lamina propriyasındaki kript azlığı ve kaybı hastalığın belirgin yapısal bulgusunu oluşturmaktadır.^{15, 18, 20, 32, 38} Işık mikroskobu düzeyinde kısmen harap olmuş ve/veya olmakta olan kript epitellerinde lenfosit tipinde mononükleer hücreler ile kript epitel hücreleri arasında yakın ilişki, ışık mikroskobu düzeyinde sitotoksik nitelikte hücre-lenfosit etkileşmesini düşündürmektedir. Bu alanların elektron mikroskopik incelemesinden bu etkileşimde hücrel immünite açısından oluş mekanizmasına ışık tutacak bilgiler elde edilebilir. Vakalarımızda kriptlerin belirgin azlığı nedeni ile bu incelemeyi yapamadık ilerdeki çalışmalarda bu noktalara ağırlık verme gereğine inanıyoruz.

KAYNAKLAR

1. Argani, I; Kipkie, G. F.: The cellular origin of macroglobulins. A study of the protein secreting cells in Waldenström's disease. Lab. Invest. 14: 720, 1965.
2. Baber, S. G; Grases, P. J. Merino, F; et al.: Intestinal malabsorption in macroglobulinemia. Am. J. Dig, Dis, 16: 648, 1971.
3. Ballard, H. S; Hamilton, L.M; Marcus, A.J; Illes, C.H.: A new variant of heavy-chain disease (μ -cain disease) New-Eng. J. Med. 282: 1060, 1970.
4. Bedine, S.M.; Yardley, J.H; Elliott, H.L; Banwell, J.G; Hendrix, T.R.: Gastroenterology 65: 308, 1973.
5. Barnadou, A; Segond, P; Bilski-Pasquier, G; Mihaesco, E; Preud' Homme, J-L; Bousser, J.: La maladie des chaines lourdes alpha. A propos d'une observation. Nouv. Rev. Hematol. 12:333, 1972.
6. Bosman, C; Feedman, J.D; Pick, E.: Heterogeneity of antibody forming cells. An electron microscopic analysis. J. exp. Med. 129: 1029, 1969.
7. Besis, C.M.: Ultrastructure of lymphoid and plasma cells in relation to globulin and antibody formation. Cell Ultrastructure 10:1040. 1961.
8. Brittin, G.M; Tanaka, Y; Brecher, G.: Intracellular inclusions in multiple myeloma and macroglobulinemia. Blood 31: 335, 1963.
9. Cabrera, A; Dela Pava, S; Pickren, J-W.: Intestinal localization of Waldenström's disease. Arch. Int. Med. 114: 1399, 1964.
10. Chapman, J.A; Elves, M.W; Gough, J.: An electron microscope study of the in vitro transformation of human leucocytes. I-Transformation of lymphocytes. J. Cell,Sci. 2: 359, 1967.

11. Cohen, R.J.; Bohannon, R.A.; Wallerstein, R.O.: Waldenström's macroglobulinemia. *Am. J. Med.* 41:274, 1966.
12. Crabbe, P.A.; Heremans, J.F.: The distribution of immunoglobulin-containing cells along the human gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 51: 305, 1966.
13. Crabbe, P.A.; Carbonara, A.D.; Heremans, J.F.: The normal human intestinal mucosa as a major source of plasma cells containing gamma A immunoglobulin. *Lab. Invest.* 14 235, 1965.
14. Doe, W.F.: Alpha-chain disease: Clinicopathological features and relationship to so-called Mediterranean lymphoma. *Br. J. Cancer.* 31: Suppl II. 350, 1975.
15. Doe, W.F.; Hoobs, H.J.R.; Jones, A.F.; Dent, C.E.; Booth, C.: Five cases of alpha-chain disease. *Gut* 13: 947, 1972.
16. Douglas, S.L.: Electronmicroscopic and functional aspects of human lymphocyte response to mitogens. *Transplant. Rev* 11: 39, 1972.
17. Franklin, E.C.; Lowenstein, J.; Bigelow, B.; Meltzer, M.: Heavy chain Disease-A new Disorder of serum γ -globulins. *Am. J. Med.* 37: 332, 1964.
18. Galian, A.; Lecestre, M.J.; Scotto, J.; Bognel, C.; Matuchansky, C.; Ramboud, J.C.: Pathological study of alpha-chain disease with special emphasis on evolution. *Cancer* 39: 2081, 1977.
19. Lageron, A.; Scotto, J.; Stralin, H.; Theodoropoulos, G.; Caroli, J.: Etude histoenzymologique et ultrastructurale d'un cas de maladie des chaînes lourdes α -Acta histochem. 48: 349, 1974.
20. Lewin, K.J.; Kahn, L.B.; Novis, B.H.: Primary intestinal lymphoma of «Western» and «Mediterranean» type, alpha-chain disease and massive plasma cell infiltration. *Cancer.* 38: 2511, 1976.
21. Lobb, N.: The synthesis of immunoglobulin-G by cultured human lymphocytes. *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci.* 46: 396. 1968.
22. Maldonado, J.E.; Kyle, A.R.; Brown, L.A.; Bayrd, E.D.: «Intermediate» cell types and mixed cell proliferation in multiple myeloma: Electron microscopic observations. *Blood.* 27: 212, 1966.
23. Mc Gregor D.D.; Mackaness, G.B.: The inflammatory process. Edited by Zoeffach, B.W, Grant, L; McClusky, R.T. Academic Press, Inc. Vol: 3. Chap. 1. New-York, 1974.
24. Ramboud, J.C.; Seligmann, M.: Alpha-chain disease. *Clinics in Gastroenterology* 5: 341, 1976.
25. Ramboud, J.C.; Matuchansky, C: Alpha-chain disease. Pathogenesis and relation to Mediterranean lymphoma. *Lancet*, 1430, 1973.
26. Ramot, B; Levanon, M; Hahn, Y; Lahat, N; Moroz, C.: The mutual clonal origin of the lymphoplasmocytic and lymphoma cell in alphaheavy chain disease. *Clin. exp. Immunol.* 27: 440, 1977.
27. Rappaport, H; Ramot, B; Hulu, N; Park J.K.: The pathology of so-called mediterranean abdominal lymphoma with malabsorption. *Cancer* 29: 1052, 1972.
28. Reynolds, E.S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol* 17: 208, 1963.

29. Scotto, J; Stralin, H; Caroli, J.: Ultrastructural study of two cases of alphachain disease. Gut 11: 782, 1970.
30. Seligmann, M.: Immunobiology and pathogenesis of alpha-chain disease Ciba Foundation symposium 46 (new series) sayfa 263. Elsevier North Holland. Inc. 1977.
31. Seligmann, M: Alpha-Chain Disease: Immunoglobulin abnormalities. Pathogenesis and current concepts. Br. J. Cancer, 31: Suppl 11, 356, 1975.
32. Seligmann, M.: Immunochemical, clinical and pathological features of alpha-chain disease. Arc. Intern. Med. 135: 78, 1975.
33. Seligmann, M; Mihaesco, E; Frangione, B.: Studies on alpha-chain disease. Ann. N.Y. Acad. Sci. 190: 487, 1971.
34. Seligmann, M; Mihaesco, E; Hurez, D; Mihaesco, C; Preud'Homme, J.L; Rambaud, J.C.: Immunochemical studies in four cases of alpha-chain disease. J. Clin. Invest. 48: 2374, 1969.
35. Sorenson, D.G.: Electronmicroscopic Observations of bone marrow from patients with multiple myeloma. Lab. Invest. 13: 196, 1964.
36. Thiery, J.P.: Microcinematographic contributions to the study of plasma cells. In Ciba Foundation Symposium on Cellular Aspects of Immunity, sayfa 59, Boston, Little, Brown and Co; 1960.
37. Thiery, J.P.: Etude du plasmocyte en contraste de phase et en microscopie electronique. IV. La clasmatose. Rev. Franc. Et. Clin. biol 4: 601, 1959.
38. Uzunâlimoğlu, B. Uzunalimoğlu, Ö, Batman, F.; Telatar, H; Karacadağ, Ş; Çevik, N; Büyükpamukçu M.: Alfa zincir hastalığı: 11 vakanın kliniko-patolojik incelemesi: Peroral ince barsak biyopsisinin tanıdaki yeri Patoloji Bülteninde basım için kabul edilmiştir.
39. Werbeloff, L; Bank, S; Marks, I.N.: Radiological findings in protein losing gastroenteropathy. Br. J. Radial. 42: 605, 1969.
40. Zucker-Franklin, D; Frar.klin, E.C.: Ultrastructural and Immunofluorescence studies of the cells associated wiht u-chain disease Blood. 37: 257, 1971.
41. Zucker-Franklin, D, : Structural features of cells associated with the paraproteinemias. Seminars Hemat. 1: 165, 1964.

TEŞEKKÜR

Vakalarımızda immünelektroforez incelemelerinin laboratuvarında yapılmasını sağlayan Prof. Dr. M. Seligmann'a teşekkür etmeyi bir borç biliriz. Teknik yardımlarından dolayı Gültekin Erdoğan ile makaleyi yazan sekreter Gülay Yıldırım'a teşekkür ederiz.