

DERİ-PENCERE TESTİNİN (SWT) İMMÜNOLOJİK PROFİLDEKİ ÖNEMİ

Serap Utaş*, Ümit Soyuer**

Özet:Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Kliniğinde yatan 9 hasta üzerinde SWT'nin erken ve geç reaksiyonu,SK-SD ile intradermal deri testi, Ig G seviyeleri ve T-lenfosit değerleri karşılaştırılarak yapıldı. SWT'nin erken reaksiyonu ile intradermal deri testi ve Ig G arasında olduğu gibi SWT'nin geç reaksiyonu ile T-lenfosit değerleri arasında da ilişki olduğu gözlemlendi. SWT'nin geç reaksiyonu ve T-lenfosit oranları erken reaksiyona göre daha anlamlı bulundu.

Anahtar Kelimeler:İmmünolojik profil, deri pencere testi

The importance of skin window test in immunologic profile

Summary: This study was performed on nine patients hospitalized in the Dermatology Department of Erciyes University Hospital. Immediate and delayed response of Skin window test and intradermal test were compared with SK-SD, Ig G levels and T-lymphocyte values. A positive correlation was found between not only immediate reaction of SWT, intradermal skin test and Ig G levels but with also delayed reaction and T-lymphocyte rates. The correlation between delayed reaction and T-lymphocytes was more significant than immediate reaction.

Key Words: Immunologic profile, skin window test

Deri-pencere testi(Rebuck Skin Window Test): Antijenik uyarıma karşı oluşturulan inflamasyon sıvısında hücrelerin zamana göre göçlerinin ve birbirlerine oranlarının değerlendirildiği in vivo immunolojik bir araştırma yöntemidir(5,6). Tekniğin oldukça basit olmasına karşın değerlendirilmesi tecrübe gerektiren bu testin uygulanması sınırlı kalmıştır.

Bu çalışmada SWT ile intradermal test, IgG düzeyi, T-lenfosit değerleri karşılaştırılarak immünolojik parametrelerle SWT arasındaki ilişkinin saptanması amaçlanmıştır.

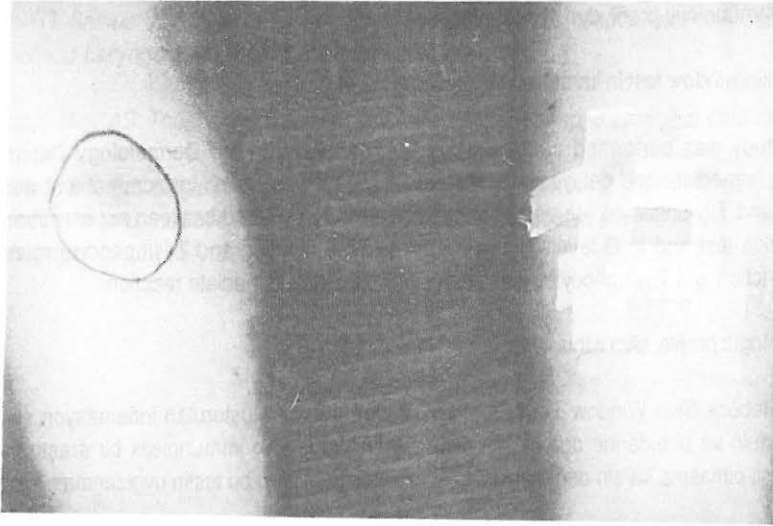
Materyal ve Metod

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Kliniğinde yatarak tedavi gören 6 sı malign alopesi, 2 si psöriazis, 1 i Lupus Vulgaris olan toplam 9 hasta üzerinde SK-SD deri testi, SK-SD ile deri pencere testi, IgG ve T rozet tayini yapılarak gerçekleştirildi.

* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı Başkanı

Streptokinaz-Streptodornaz(SK-SD Varidase) deri testi:(SK-SD Varidase 20.000/5.000 IU ile 1/50 sulandırım). Deri temizliği yapıldıktan sonra ön kol iç yüzüne 0.1 cc. intradermal olarak uygulandı. Testin yapılmasından 20 dakika sonra erken reaksiyon, 24 saat sonra geç reaksiyon değerlendirildi. Eritem ve indurasyon milimetrik olarak ölçüldü (4). Deri-pencere testi(SWT): Ön kol derisi iç yüzü alkol ile temizlendikten ve kuruduktan sonra steril bir bistüri ile kanatılmadan 1x1 cm. boyutlarında kazındı. Kazınan bu deri bölgesine bir damla SK-SD damlatıldı ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra bu bölge 2x2 cm. lik özel lamlarla kapatılarak 6,12,24. saatlerde değerlendirildi (Resim 1). Değerlendirme için lamlara yapışan eksuda kuruduktan sonra metil alkol ile tespit edilip Wright boyası ile boyandı. Işık mikroskobu ile 200 hücre sayılarak polimorf nükleer hücrelerle mononükleer hücrelerin zamana göre göçleri ve birbirlerine oranı saptandı(5,6).



Resim 1. Intradermal test ve SWT'nin iki no'lu vakada görünümü

Immünglobulin G (IgG): SK-SD hastalara uygulanmadan önce ve testten 15 gün sonra olmak üzere iki defa 5cc. kan normal tüplere alındı. Kan 1 saat sonra santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışmanın yapılacağı ana kadar -20°C'de bekletildi.

Immünglobulin tayini için "Behringwerke" firmasının hazırladığı nor-partigen Ig G kiti kullanıldı. Bu kit çalışmadan bir süre önce koruyucu tabakasından çıkarılarak oda ısısında tutuldu. 5 mikrolitrelik otomatik pipetle hasta serumlarından alınan örnekler plak üzerindeki kuyucuklara konuldu. Oda ısısında iki gün bekletilen plaktaki kuyucuklar çevresinde oluşan daire şeklindeki presipitin halkası milimetre olarak ölçülerek standart değerler ile karşılaştırılıp sonuçlar mg/dl olarak belirlendi.

T-rozet: Bunun için hastalardan 0.4 cc. sitrat içeren tüplere 2.6cc. IV kan alındı. Bu tüpler üzerine eşit miktarda Ficoll-Paque solüsyonundan damla damla konuldu. 1500 devir/dakikada 45 dakika santrifüj edilerek Ficoll ve eritrositler arasında oluşan halka şeklindeki lenfosit tabakası pastör pipeti ile alındı. Ph:7.2 olan PBS(Phosphate Buffered Saline) ile 3 kez yıkandı. Tekrar 1500 devir/dakikada 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra üstteki kısım döküldü. Dipteki çökeltiden 0.2cc başka bir tüpe alınarak üzerine serum fizyolojik ile yıkanmış %1 lik koyun kanından eşit miktarda konuldu. ve 37 °C de 30 dakika etüve bırakıldı. Enkübasyondan sonra üzerine tekrar 0.2 cc koyun eritrositi konularak 500 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edildi. Buzdolabında (+4°C) 12 saat bekletildi. Bu süre sonunda tüpün dibindeki çökelti hafifçe sallanarak pastör pipeti ile bir damla alındı ve lam üzerine damlatıldı. Üzerine lamel kapatılarak ışık mikroskopunda 100 hücre sayıldı. Dört veya daha fazla koyun eritrositi bağlayan lenfositler "rozet formasyonu" olarak değerlendirildi(2).

Bulgular

SK-SD ile deri testi: 4 hastada erken reaksiyon, 8 hastada geç reaksiyon pozitif bulundu(Tablo I).

Tablo I. Hastaların deri testi, % T lenfosit, IgG değerleri

Vaka No	Deri Testi		%T lenfosit	Ig G mg/dl	
	Erken	Geç		Önce	Sonra
1	-	30mm	%60	1760	1250
2	+	25mm	%37	1900	1900
3	+	7mm	%34	1900	463
4	-	15mm	%35	1830	963
5	+	30mm	%74	2650	2980
6	-	17mm	%45	2040	1250
7	-	17mm	%52	1560	1250
8	+	10mm	%41	1250	1250
9	-	22mm	%40	1900	1560

Deri-Pencere testi: 6.saatte 6 hastada polimorf nüveli lökosit hakimiyeti, 2 hastada mononükleer hücre hakimiyeti gözlemlendi, 1 hastada hücre görülmedi. 12. saatte 4 hastada PMN hücre hakimiyeti, 2 hastada mononükleer hücre hakimiyeti gözlemlendi, 2 hastada hücre görülmedi. 24. saatte 1 hastada PMN hücre hakimiyeti , 6 hastada mononükleer hücre hakimiyeti gözlemlendi, 1 hastada hücre görülmedi. 1 hastada ise PMN hücre ve mononükleer hücre oranları eşitti(Tablo II).

T rozet oranı: %34-74 arasında değişmekte idi (Tablo I).

Ig G değerleri: SK-SD deri testinden önce 3 hastada normal, 6 hastada normal değerlerin üzerinde bulundu. Deri testi yapıldıktan 15 gün sonraki Ig G değerleri 5 hastada normal, 2 hastada normal değerlerin üzerinde, 2 hastada altında bulundu (Tablo I).

Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tablo II. Hastaların saatlere göre SWT sonuçları

Vaka No	Yaş	Cisn	Tanı	Saat	SWT Sonuçları	
					% Polimorf	% Monomorf
1	15	E	Alopesi	6	76.92	23.07
				12	17.64	82.35
				24	27.27	72.72
2	14	E	Alopesi	6	Hücre yok	Hücre yok
				12	Hücre yok	Hücre yok
				24	28.57	71.42
3	19	E	Alopesi	6	60	40
				12	35	65
				24	11.11	88.88
4	30	E	Alopesi	6	66.66	33.33
				12	60	40
				24	80	20
5	20	K	Alopesi	6	80	20
				12	57.14	42.85
				24	31.81	68.18
6	28	K	Alopesi	6	33.33	66.66
				12	80	20
				24	50	50
7	20	E	Psöriazis	6	66.66	33.33
				12	41.66	58.33
				24	24.32	75.67
8	57	K	Lupus Vulgaris	6	36	64
				12	59.25	40.74
				24	36.84	63.15
9	48	K	Psöriazis	6	57.14	35.71
				12	Hücre yok	Hücre yok
				24	Hücre yok	Hücre yok

Zamana göre hücre cinslerinin dağılımı hastaların yaşı ve cinsi ile belirgin bir ilişki göstermemiştir.

Tartışma

Çeşitli antijenik uyarılara karşı immün cevabın belirlenmesinde ilk adım deri testleridir. Deri testlerinde erken cevap humoral, geç cevap hücrel immünite hakkında kabaca fikir verebilir. Bu nedenle immün profil belirlenirken anerji paneli başlığı adı altında çeşitli antijenlerle intradermal deri testi yapılır. Anerji paneli için kullanılan en seçkin antijenler DNCB (Dinitro kloro benzen), SK-SD, Candidin'dir. DNCB ile deri testi yapılmadan önce şahsın bu antijenle duyarlandırılması gerekmektedir. Candidin'e karşı duyarlılık oranı %75-80 dolayındadır. SK-SD ise normal popülasyonda %90 pozitif reaksiyon veren en güçlü antijendir. Bu nedenle incelememizde SK-SD kullanılmıştır(4). Karşılaştırma amacı ile SWT de de aynı antijene karşı hücre göçü değerlendirilmiştir.

Humoral immünitenin değerlendirilmesinde Ig G değerleri ile intradermal test ve SWT nin erken cevabı karşılaştırılmıştır. Ig G nin değerlendirilmeye alınmasının nedeni antikor cevabının geç olmasına karşın pik değerinin daha uzun süre sabit kalmasındandır. Antijenik uyarımdan önce ve sonraki Ig G değerleri arasında belirgin bir fark olmaması antijene spesifik Ig cevabının çok küçük değerlerde olmasındandır. Bu değişikliği saptayabilmek için antijene spesifik Ig nin ölçülmesi fikir verebilir.

SWT de elde ettiğimiz sonuçlar daha önce bu konudaki yayınlara uygun bulunmuştur (1,3,5,6). Antijenik uyarımdan sonra 6. saatte parçalıların hakim olduğu, 12. saatte mononükleer hücrelerin artmaya başladığı ve 24. saatte mononükleer hücrelerin hakim olduğu saptanmıştır.

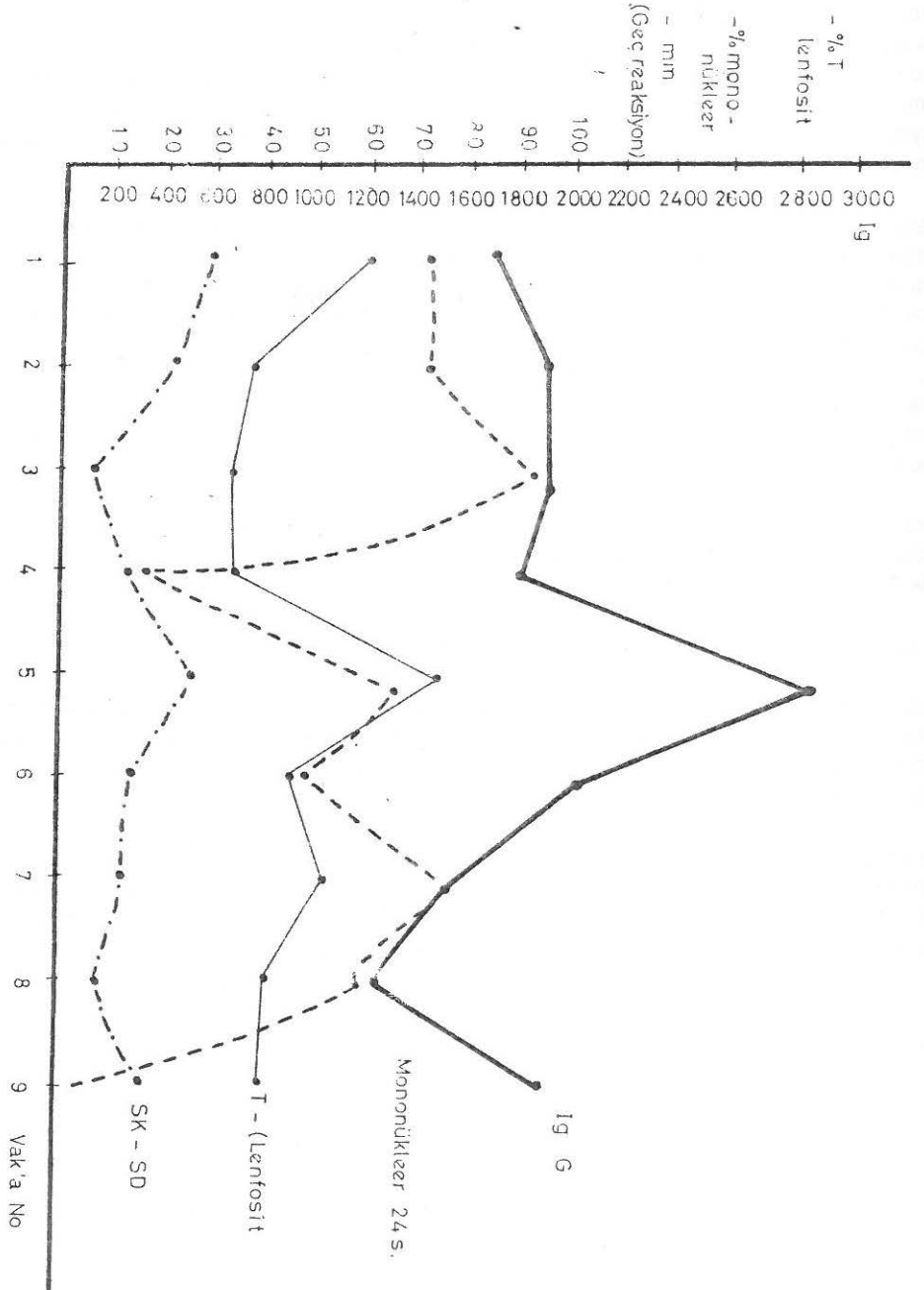
T lenfosit değerleri hem intradermal test, hem de SWT nin 24 saatlik sonuçları ile uyum göstermiştir. Erken deri cevabı Ig ve SWT nin ilk 6 saatteki sonuçları arasında da benzer şekilde bir paralellik olmakla beraber geç cevap kadar düzenli bir ilişki saptanamamıştır(Tablo III).

SWT, uygulanması kolay olmakla beraber eksudadaki hücrelerin belirlenmesinde kısmen zorlukları olan bir testtir.

İncelememizde saptadığımız bu zorluklar; eksuda hücre içeriğinin çok yoğun olduğu alanlarda sayımın güçlüğü, bazı preparatlarda hücre görülebilmesi ve görülen hücrelerin dokudan göç eden hücreler olması dolayısı ile zaman zaman nitelenmelerinin zorluğu olarak sıralanabilir. Saydığımız bu zorluklara rağmen SWT nin hastayı travmatize etmeyen, minimal risk taşıyan, çok ucuz ve her yerde yapılabilen bir test olması değerini arttırmaktadır.

Küçük bir hasta grubunda yapılmış olan bu preliner incelemede SWT ve intradermal testin bir hastanın antijenik uyarıya karşı özellikle hücrel immün cevabı belirlemede yararlı ve oldukça yeterli kanaat verdiği sonucuna varılmıştır. Tekniği zor ve pahalı olan in vitro immünolojik testlerden önce in vivo deri testlerinin yapılması immün cevabın belirlenmesinde pratik ve etkin bir yaklaşımdır.

Tablo III. Hastalarda T-rozet, IgG, İntradermal test ve SWT sonuçları



Kaynaklar

1. Garried AS, Levan N: Skin Window Tests in Lepramatous Leprosy. *The Lancet* 23:1116,1970
2. Gülmezoğlu E: **Bağışıklığın Temelleri**. Hacettepe Üniversitesi Yayınları Ankara, 1975 ss 52-56.
3. Gürgey E, Taşpınar A, Gürer MA: Leprada SWT ile elde edilen sonuçlar. *Lepra Mecmuası* 9:39-43, 1978.
4. Peacock JE, Tomar RH: **Manual of Laboratory Immunology**. Lea and Febiger Philadelphia 1980, pp 171-173.
5. Rebeck JW, Crowley JH: Skin Window Test . *Ann NY Acad Sci* 59:757-760,1955.
6. Rebeck JW, Monto RW, Monaghan A: Skin Window Test .*Ann NY Acad Sci* 78:8,1958.