

15240

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSSEL BCG UYGULANIMINDA
AKCİĞER VE KARACİĞERDE ORTAYA ÇIKAN
HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER
VE
BUNLARIN TNF - α İLE İLİŞKİSİ

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

UZMANLIK TEZİ

Dr. H. Reyhan EĞİLMEZ

SİVAS - 1991



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun
05.01.1984 tarih ve 84/1 No'lu kararı ile kabul edilen
tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır.

C.Ü. TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalı'nda **TIPTA UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../1991

Prof. Dr. Ali GÖKALP

DEKAN

TEŞEKKÜR

Tezimin seçilmesi ve hazırlanması süresince ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocalarım, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. **Handan AKER GÜNEŞ**'e, bölümümüz Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. **Ö. Fahrettin GÖZE** ve Sayın Yar. Doç. Dr. **Ender DÜZCAN**'a, deneysel çalışmamda gerekli olan malzemelerin teminini bana sağlayan Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. **Ferit KOÇOĞLU**'na ve Verem Savaş Dispanseri Hekimi Sayın Dr. **Ali Rıza ERDOĞAN**'a, preparatların hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen bölümümüz teknisyenlerinden **Asuman ŞAHİN**'e tezimin çizimini yapan Radyodiyagnostik Anabilim Dalı teknisyenlerinden **A. Turan BALK**'a, emeği geçen bölümümüz araştırma görevlilerine ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	18
BULGULAR	21
TARTIŞMA	43
SONUÇLAR	55
ÖZET	56
KAYNAKLAR	59

ŞEKİLLER

SAYFA

Şekil 1: TNF - α 'nın dokudaki düzeylerine göre biyolojik etkileri	8
Şekil 2: Ateşin mekanizması	10
Şekil 3: Yangısal reaksiyonda TNF - α ve IL - 1'in etkileri	11
Şekil 4-a: A grubundan bir farenin akciğerlerinde izlenen milier lezyonların makroskopik görünümü	22
Şekil 4-b: Şekil 4-a'daki farenin akciğer dokusunda hiperemik damar yapıları arasında yer alan santral kazeifikasyon nekrozu içeren tüberkülomlar (H - E, x 40)	22
Şekil 4-c: Şekil 4-a'daki farenin akciğer dokusunun normal yapısını ortadan kaldıran santral kazaifikasyon nekrozu çevresinde epiteloid histiositler, lenfositlerin yer aldığı tüberkülomlar (H - E, x 100) ..	23
Şekil 5: Karaciğer dokusunda v. centraliste konjesyon, Kupffer hücre hiperplazisi, disse aralığında iri hiperkromatik nükleuslu mononükleer hücreler ile megakaryositlerin yer aldığı ekstramedüller hemopoezis (em) odağı (H - E, x 40)	26
Şekil 6: Akciğerde hiperemik damarlar ve serbest kanama alanları (H - E, x 100).....	28

- Şekil 7:** Kontrol (k) ve deney gruplarındaki (d) farelerin karaciğerlerinin makroskopik görünümleri 31
- Şekil 8-a:** A grubundaki bir farenin karaciğerindeki abse odağının makroskopik görünümü 31
- Şekil 8-b:** 8-a'daki farede karaciğer dokusundan belirgin fibröz bağ dokusuyla ayrılan yangısal reaksiyon, santralde bol PMNL ve nekrotik hücre artıklarının yer aldığı abse odağı (H - E, x 40)..... 32
- Şekil 9:** Kaldırım taşı manzarası gösteren hepatositlerin oluşturduğu bulanık şişme (bş) alanları ve lenfositler, seyrek PMNL'lerin yer aldığı fokal nekroz (fn) odağı (H - E, x 100)..... 32
- Şekil 10:** İntrasitoplazmik mikroveziküler yağlı dejenerasyon gösteren hepatositlerin yer aldığı karaciğer dokusu (H - E, x 100).. 35
- Şekil 11:** V. centraliste konjesyon, Kupffer hücre hiperplazisi ve belirgin büyüklük farkı gösteren nükleuslara sahip hepatositlerin yer aldığı karaciğer dokusu (H - E, x 40)... 37
- Şekil 12:** Z₂'de lenfositler, seyrek PMNL'lerin yer aldığı fokal nekroz (fn), belirgin şekil ve büyüklük farkı gösteren nükleuslara sahip hepatositler ve Kupffer hücre hiperplazisinin yer aldığı karaciğer dokusu (H - E, x 100)..... 38

Şekil 13: Çevrede bulanık şişme gösteren hepatositler ile epiteloid histiosit, Langhans tipi dev hücre ve lenfositlerin yer aldığı, nekrozu olmayan kronik granülomatöz yangısal reaksiyonun izlendiği karaciğer dokusu (H - E, x 100)..... 41



TABLÖLAR

SAYFA

Tablo I: Deney ve Kontrol Gruplarına Göre Akciğerde İzlenen Histopatolojik Değişikliklerin Dağılımı	28
Tablo II: Kontrol ve Değişik Dozlarda BCG Uygulanan Farelerde Karaciğer Parankiminde Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Dağılımı..	33
Tablo III: Hepatositlerdeki Nükleer Pleomorfizmin Kontrol ve Deney Gruplarına Göre Dağılımı	36
Tablo IV: Kontrol ve Değişik Dozlarda BCG Uygulanan Farelerde Karaciğerde Portal Alanda Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Dağılımı	41

GİRİŞ

BCG (bacille de Calmette Guérin), Mycobacterium bovis suşundan uzun süreli pasajlar sonucu hazırlanan canlı, atenüe bir aşıdır (1-9). Tüberküloz profilaksisi amacıyla kullanılan bu aşının, konağın hücresel immün direncini artırarak bazı viral, paraziter ve bakteriyel hastalıklarda da profilaktik etkisi olduğu bilinmektedir (3-5). Nonspesifik aktif immünoterapide de uygulanmaktadır (7, 10-19). BCG, lipopolisakkarit (LPS), parazitler, viral partiküller, bakteriler ve bazı bakteri enterotoksinleri aktive makrofajlar ile lenfositlerden TNF - α (Tümör Nekroz Faktörü - α)/Kaşektin salınımını artırır (12, 20-32). Bu sitokin hücre zedelenmesi, yangısal reaksiyon, enfeksiyon, kaşeksi ve tümör nekrozunda rol oynayan mediatörlerden en önemlisidir (1, 20-27, 33-37). TNF - α düşük dozlarda yangısal reaksiyon ve yara iyileşmesi ile dokunun yeniden şekillenmesinde fizyolojik rol oynadığı halde, enfeksiyon sırasında aşırı salınımı letal doku zedelenmesi ve şoka neden olur (20).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda adjuvan olarak kullanılan BCG enjeksiyonu sonrasında LPS verilerek serumda yüksek TNF - α düzeyleri saptanmış ve visseral organlarda meydana gelen histopatolojik değişikliklerden TNF - α sorumlu tutulmuştur (20-27, 38-50).

Bu çalışmada, TNF - α 'nın salınımının sadece BCG vererek uyarılıp uyarılmadığını ve eğer uyarılıyorsa bunun BCG dozları ile ilişkisinin olup olmadığını saptamak ve nadir de olsa BCG'nin hem tüberküloz profilaksisi hem de nonspesifik aktif immünoterapide görülen yan etkilerinin

TNF - α ile ilişkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla albino farelere deneysel olarak değişik dozlarda BCG verilerek akciğer ve karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler araştırıldı.



GENEL BİLGİLER

BCG aşısı, 1908 yılında Pasteur Enstitüsü'nde Calmette ve Guérin isimli iki Fransız tarafından tüberküloz basilinin "Mycobacterium bovis" suşundan uzun süreli pasajlar sonucu hazırlanan, insanlar ve hayvanlar için virülansını kaybetmiş canlı, atenüe bir aşıdır (1-9). Bu aşı, 1921 yılından beri tüberküloz profilaksisinde kullanılmaktadır (5-9, 51). Hücreyel immünite yolu ile konağın direncini artırdığı ve bu nedenle sadece tüberküloz değil, lepra, salmonella, brusella, tularemi , bazı parazitler ve viral hastalıklara karşı da profilaktik etkisi olduğu bilinmektedir (1, 3, 4, 52).

BCG ile aşıl原因 çocuklarda lösemi görülme insidansı aşıl原因mayanlara göre daha düşüktür (4, 7). Akut lösemi ve Hodgkin hastalığında immünoprofilaktik etkisi bilinen BCG, immünoterapi amacıyla 1970'li yıllardan sonra kullanılmaya başlanmıştır (1, 3-5, 7, 10-12, 14-17, 53-56). İlk kez deride malign melanom tedavisinde kullanılmış, konağın immün yanıtını değiştirerek etkili olmuştur (56). Daha sonraları meme karsinomunun deri metastazı, ALL, akciğer karsinomları, jinekolojik karsinomlar, baş-boyunda ilerlemiş evrede tekrarlayan yassı hücreli karsinom, kolon karsinomu, prostat karsinomu ve yumuşak doku tümörlerinde de immünoterapi amacıyla kullanılmıştır (7, 15, 17). Yüzeysel mesane tümörlerinde ise ilk kez 1976'da Morales ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır (19). Yüzeysel mesane karsinomu ve karsinoma in situ olgularında intravezikal tedavilerde oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir (16, 18, 19, 53, 56 - 62).

Nonspesifik aktif immünoterapide kullanılan BCG'nin son zamanlarda yapılan çalışmalar ile sistemik kullanımının etkili olmadığı, kanser dokusuna lokal uygulanımı ile tedavi edici etkisinin ortaya çıktığı bildirilmektedir (14-16, 54, 55). Etki mekanizması hakkında birçok teoriler ileri sürülmektedir (56, 57, 63).

Bunlardan biri üç grupta toplanan görüştür (56).

1- Ani yangısal yanıt: T - hücrelerini uyardan direkt makrofajlar ile,

2- Tüberkülin tip yanıt: BCG'i sindirmiş makrofajların T - hücrelerini uyarması ve lenfokin üretimi ile,

3- Tümör spesifik immünite: BCG ile uyarılan proliferen T - hücrelerinin yanısıra BCG ve tümör hücre debrilerini sindirmiş makrofajların birarada etkisi ile meydana gelir. Bu mekanizma tümör spesifik killer T - hücrelerinin etkisini de açıklamaktadır.

Kolestergaard ve arkadaşları ise BCG ile aktive edilmiş mediatör rol oynayan makrofajların, tümör hücrelerine sitotoksik etkisini in vitro çalışmalarda şu şekilde açıklanmaktadır. BCG intraselüler demir miktarını azaltarak Krebs siklusunun bir enzimi olan akonitazda reversibl inhibisyon, mitokondride elektron transport zincirinde reversibl olaylar meydana getirerek proliferatif kapasitedeki değişiklik sonucunda sitostazis, plazma membran değişikliği sonucunda sitoliz oluşturmaktadır (63).

Bir başka çalışmada ise plazma, ekstraselüler matriks ve bazal membran boyunca bulunan bir glikoprotein olan fibrinonektin (FN)'e özellikle zedelenmiş alanda BCG'nin bağlandığı ve bu yolla antitümöral etkinin başladığı belirtilmektedir. FN molekülü yara iyileşmesi, yangısal

reaksiyon ve normal hücreler arası kohezyonu sağlamada rol oynar. Bunun yanısıra FN ile bağlanmış yabancı cisim ve bakteriler (sitafilokok, streptokok, treponema ve mikobakteriler), retiküloendotelyal sistem (RES)'in fagositoz fonksiyonunda opsonin görevi görür (57).

Sonuç olarak BCG'nin antitümöral etki mekanizması hakkında pek çok teori olmakla beraber, bu etkinin aktive edilmiş makrofajlar ve lenfositlerden salınan ve sitokinler adı verilen polipeptid hormonlar aracılığı ile meydana geldiği ileri sürülebilir. Bu sitokinler; interferonlar (IFNs), interlökinler (ILs), myelopoetik ve lenfopoetik büyüme faktörleri, TNF - α ve TNF - β 'dır (15, 16, 20, 64).

BCG'nin komplikasyonlarını ve doku üzerindeki etkilerini anlatmadan önce BCG'nin TNF - α 'nın salınımına yol açabileceği, bu nedenle oluşabilecek etkilerle ilişkisini kurabilmek amacıyla TNF - α ve etkilerine kısaca değinilecektir.

TNF - α , doku zedelenmesi ile akut ve kronik yangısal reaksiyonda rol oynayan primer mediatörlerden biridir (12, 14, 20, 24, 67). Endotoksemik farede tümör lizisine neden olduğu için bu isim verilmiştir (42).

TNF - α , çeşitli aktive fagositik ve nonfagositik hücrelerde, makrofaj / monosit, lenfosit yanısıra natürel killer hücrelerinde, beyinde astrosit ve mikrogliyalarda, karaciğerde Kupffer hücrelerinde, Hodgkin hastalığında Reed - Strenberg hücrelerinde sentez edilir (20-27, 33, 36, 37, 60, 65). BCG, LPS, bazı bakteri enterotoksinleri, toksik şok sendromu toksin - 1, virüsler, funguslar veya parazitik ajanlar, C_{5a}, interlökin - 1 (IL - 1) ve otokrin etki ile TNF - α 'nın kendisi salınımını artırır (20 - 28).

Daha önceleri yapılan çalışmalarda, kronik hastalıklarda ve tümörlerde görülen kaşektinin mekanizmasını ortaya koymak için izole edilen makrofaj hormonuna "Kaşektin" adı verilmiştir (22). Beutler ve arkadaşları 1985 yılında kaşektin ve TNF'nin aminoasid dizilimini inceleyerek bunların aynı molekül yapısına sahip olduğunu saptadılar (22, 43).

TNF ile kaşektinin aynı molekül olduğunun belirlenmesinden sonra, TNF'nin iki formu olduğu saptandı. Bunlar TNF - α (Kaşektin) ve TNF - β (Lenfotoksin)'dir (20, 21, 42).

TNF - α , 233 aminoasidden oluşan prohormon halinde bulunur (20). Bu polipeptidden 76 aminoasidin ayrılması ile 157 aminoasidden oluşan matür TNF - α meydana gelir. Bu molekül başta bir amino grubu, sonda bir karboksil grubu taşır. Molekülde bulunan iki sistin birbirine bir disülfid köprüsü ile bağlanır (21, 42).

TNF - β , 171 aminoasidden oluşur. Aminoasid dizilimi TNF - α 'ya benzer. TNF - α tarafından uyarılan TNF - β neoplastik hücreler üzerinde antiproliferatif etki gösterir (20, 21, 42). İnterferon- γ (IFN - γ), IL - 1, TNF - α ile birlikte kronik yangısal reaksiyonlarda lenfositlerin endotele adezyonunu sağlar (66).

Her ikisi de insanda 6. kromozomun kısa kolunda ayrı genlerde kodlanır (20 - 22).

Diğer sitokinler gibi TNF - α ve TNF - β 'nın etkileri üç yoldan olur. Bunlar;

1- Otokrin etki. Kendini üreten hücre üzerine etkisi,

2- Parakrin etki. Hızla yakınındaki hücrelere etkisi,

3- Endokrin etki. Diğer hormonlar gibi sistemik etkisidir (33, 65).

Çalışmalarda TNF - α 'nın sentezini uyararak için iki aşamalı uygulama yapılmaktadır. Böylece önce, BCG ve daha sonra LPS verildiğinde hem transkripsiyon hem de translasyon ile bir kaç dakika içinde matür TNF - α salgılandığı deneysel olarak gösterilmektedir (20 - 28, 36, 38-47, 50, 60, 65).

TNF - α doza bağlı olarak değişik biyolojik etkiler meydana getirir. Düşük dozda hücrel sitotoksisite ve diğer büyüme faktörleri ile birlikte yara iyileşmesinde hem kollajen hem de kollajenazın sentezini artırarak proliferatif ve destrüktif olayları birlikte koordine eder. Bunun yanısıra IL - 1 ile birlikte fibröz dokunun yeniden şekillenmesinde rol oynar (20, 33).

Doz biraz daha arttırıldığında yine IL - 1 ile birlikte yangısal reaksiyonda polimorfonükleer lökosit (PMNL)'lerin, monosit ve lenfositlerin endotel yüzeyine adezyonunu artırır (20, 33). Prostaglandin I₂ (PG I₂)'nin sentezini ve salınımını artırarak vazodilatasyonu ve trombosit agregasyonunu inhibe eder (33). Diğer taraftan Trombosit Aktive Eden Faktör (Platelet Activating Factor - PAF) sentezini de uyarır (20, 33).

TNF - α kronik, subletal dozda kaşeksiden sorumludur (20-24, 33, 42, 43). TNF - α akut sistemik salınımı durumunda ise doku zedelenmesi, irreversibl şok ve ölüme neden olur (20 - 27). Şekil 1 'de TNF - α 'nın doku düzeylerine göre etkileri gösterilmiştir.

Yara İyileşmesinde ve Dokunun Yeniden Şekillenmesinde TNF - α 'nın Rolü: TNF - α yara iyileşmesi ile dokunun yeniden şekillenmesinde proliferatif ve destrüktif olayları koordine bir şekilde yürütür. Büyüme faktörlerinin yanısıra fibroblastları direkt olarak proliferate eder. Sente-

zini artırdığı büyüme faktörleri, Fibroblast Büyüme Faktörü, Dönüştürücü Büyüme Faktörü (Transforming growth factor - TGF), Trombositten Oluşan Büyüme Faktörü (Platelet-derived growth factor - PDGF)'dür. Destruktif etkisini ise direkt endotel hücrelerine sitotoksik etkisinin yanısıra kollajenaz ve proteaz enzimleri, reaktif oksijen metabolitleri ve arakidonik asit metabolitleri aracılığı ile meydana getirir (20). Ayrıca angiogenezde sinerjik etki oluşturur (33).

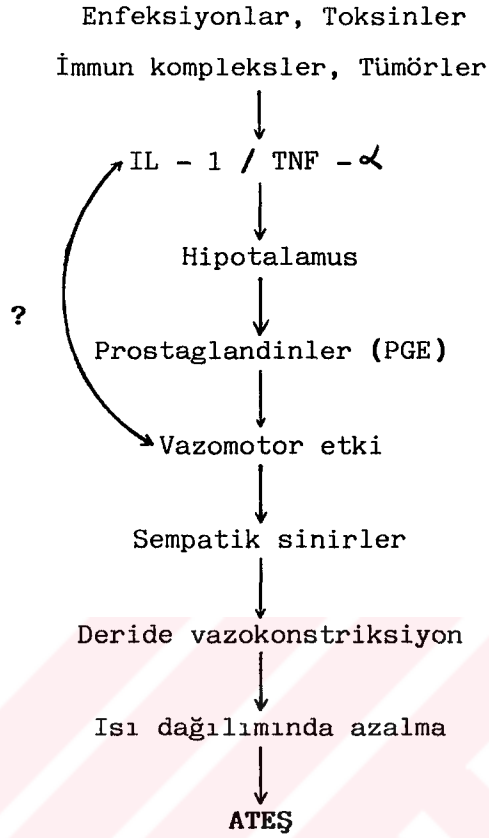


Şekil 1: TNF - α 'nın dokudaki düzeylerine göre biyolojik etkileri (Tracey KJ ve arkadaşları: Cachectin/Tumor Necrosis Factor: Lancet, May 20, 1989).

Yangısal Reaksiyonda TNF'nin Rolü: TNF - α

akut ve kronik yangısal reaksiyonlarda rol oynayan en önemli kimyasal mediatörlerden birisidir. Bu etkilerini IL - 1 ile birlikte oluşturur (12, 14, 20 - 24, 33, 67). PMNL, monosit, lenfosit ve makrofajların kemotaksislerini, fagositik ve sitotoksik aktivitelerini artırır. PMNL'lerin marjinasyonunu uyarır. Lenfosit ve PMNL'lerin endotel yüzeyine adezyonunu, artmış interselüler lökosit adezyon molekülleri (Intercellular - leucocyte adhesion molecules ICAMs) ve endotelial lökosit adezyon molekülleri (Endothelial - leucocyte adhesion molecules ELAMs) ile sağlar. Endotel hücrelerinin morfolojilerini de değiştirir. Endotel hücresinde prostaglandin (PG) sentezini uyarır. Ayrıca endotel hücre yüzeyinde prokoagulan aktiviteyi de hızlandırır. Bütün bu etki mekanizmaları in vitro olarak gösterilmiştir (20, 33, 55). Ayrıca sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, immun kompleks glomerulonefriti ve transplant rejeksiyonu gösteren hastaların serumları ve dokularında TNF - α saptanmıştır (20, 37, 66, 67).

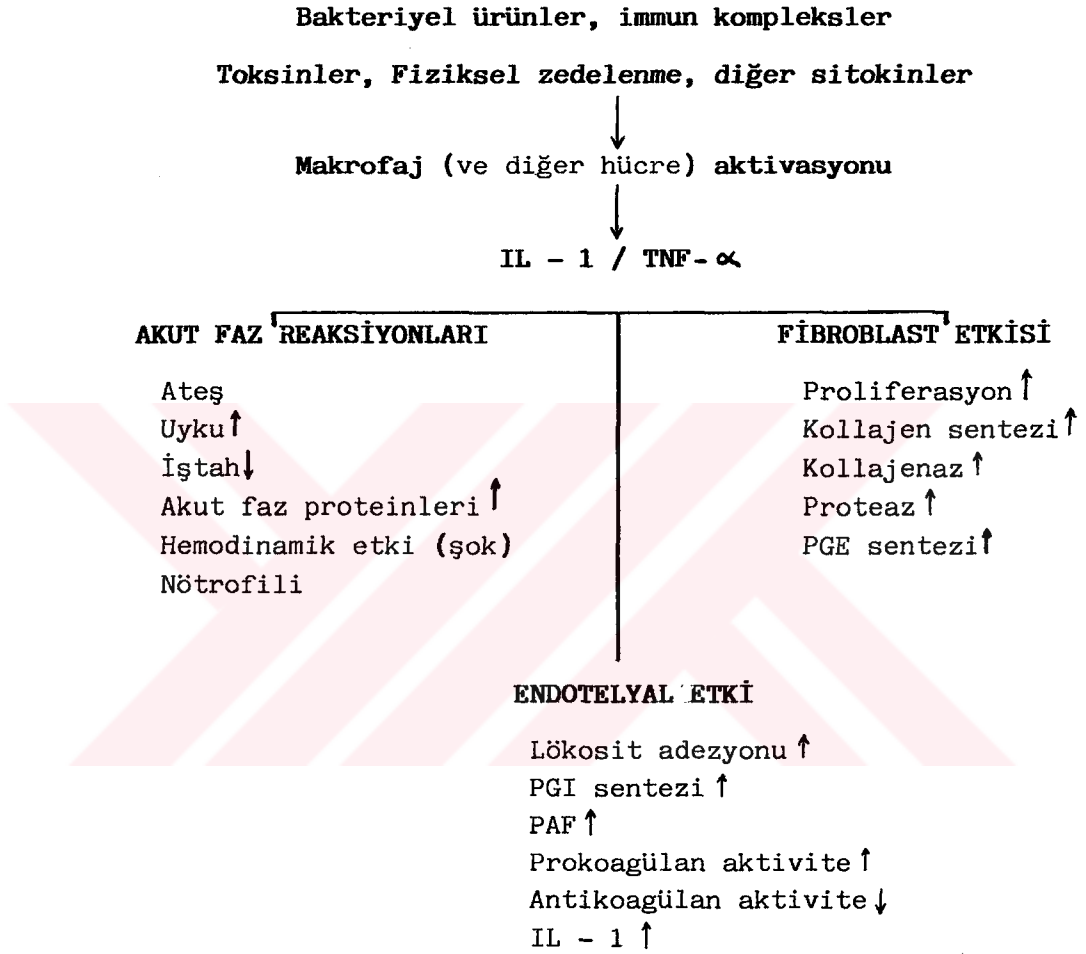
Yangısal reaksiyonların sistemik belirtilerinden ve akut faz reaksiyonlarından biri olan ateşin oluşmasında TNF - α yine IL - 1 ile birlikte mediatör rol oynar (20, 33). TNF - α ve IL - 1 ya da her ikisi birlikte salındığında hipotalamusta termoregülatuar merkezdeki vasküler reseptörleri direkt veya PG üretimi yoluyla uyarır. Sempatik sinir stimülasyonu ve derideki damarlarda konstriksiyon nedeniyle ısı dağılımının azalması sonucunda ateş meydana gelir (33). Ateşin mekanizması şekil 2'de özetlenmiştir.



Şekil 2: Ateşin mekanizması (Cotran RS ve arkadaşları: Inflammation and repair: Robbins pathologic basis of disease, 1989).

Özellikle bakteriyel enfeksiyonların neden olduğu yangısal reaksiyonlarda lökositoz önemli bir bulgudur (1, 4-6, 33). Enfeksiyonun başlangıcında belirgin olan ve bazen lökomoid reaksiyon olarak da tanımlanan lökositoz, IL - 1 ve TNF - α aracılığı ile kemik iliğinde postmitotik rezerv havuzunda bulunan hücrelerin hızla kana salınımı sonucunda meydana gelir (33). Bununla beraber uzamış enfeksiyonlarda Koloni Stimüle Eden Faktörlerin (Colony - stimulating factors - CSFs) artması nedeniyle kemik iliğindeki

prekürsör hücrelerinin de proliferere olması sonucunda lökosit artışı devam eder (33). Yangısal reaksiyonda TNF- α 'nın etkileri Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3: Yangısal reaksiyonda TNF - α IL - 1'in etkileri (Cotran RS ve arkadaşları: Inflammation and repair: Robbins pathologic basis of disease, 1989).

Kaşekside TNF - α 'nın Rolü: Kronik subletal dozda TNF - α verilen hayvanlar kaşektik olmaya başlar. Anoreksi, kilo kaybı, anemi, bütün vücut proteinlerinde azalma görülür (20). Ancak, çok küçük dozlarda bile kronik salınımında anoreksi ve kilo kaybı meydana getirdiği de gösterilmiştir (31). İn vitro sitokinle enkübe edilen yağ ve iskelet kası hücrelerinde lipolizis ve glukojenolizis yoluyla katabolizmanın arttığı gösterilmiştir (20). Ayrıca TNF - α lipoprotein lipaz supresyonu yaparak yağ dokusunda ekzojen trigliseridlerin yağ hücrelerine alınımını engeller ve paradoksal olarak hiperlipemi oluşturur ki bu özellik bazı enfeksiyon hastalıkları ve bazı tümörlerde tespit edilebilir (43).

Balkwill ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada over ve akciğerin yulaf hücreli karsinomunda, hastalığın aktif seyrinde serumda yüksek TNF - α düzeyleri tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada hastalığı belirgin olmayan kolon, mide karsinomlu hastalarda serum TNF - α düzeyleri düşük bulunmuştur (68).

Değişik enfeksiyon hastalıklarında da TNF - α düzeyleri değerlendirilmiştir. Tüberküloz, tüberküloid lepra ve AIDS'in yanısıra bazı parazitik enfeksiyonlarda özellikle fatal seyirli malarya olgularında serumda yüksek TNF - α düzeyleri tespit edilmiştir (20, 28, 29, 31, 68, 69).

Kaşekside görülen değişikliklerden yalnızca TNF - α 'nın sorumlu tutulamayacağı bilinmektedir. Burada TNF - α ile uyarılan diğer mediatörlere de gereksinim vardır. Sekonder salınan bu mediatörler;

1- Peptid regülatuar faktörler: IL - 1, Interlökin - 6 (IL - 6), Granülosit - makrofaj - CSF (Granulocyte-

macrophage colony stimulating factor - GM-CSF), PDGF ve TGF,
 2- Ökosanoidler: PGs, Lökotrienler (Leukotrienes-LTs), PAF,
 3- Hormonlar: Kortikotropin / kortizol, adrenalin, noradrenalin ve glukagon'dur (20).

Kaşekside tedavi amacıyla kullanılmış bulunan monoklonal anti - kaşektin / TNF - α antikorları ile başarılı sonuç alınamamıştır (20).

Septik Şokta TNF - α 'nın Rolü: Deneysel çalışmalarda TNF - α 'nın endotoksinin intravenöz verilmesinden iki saat sonra serumda yükseldiği, sistemik salınımı ile endokrin etki sonucunda doku zedelenmesi ve şok meydana getirdiği gösterilmiştir (12, 20, 22-26, 39, 41, 43).

TNF - α endotelial prokoagulan aktiviteyi PMNL'lelerin endotele adezyonunu artırır. Diğer taraftan süperoksit radikalleri ile arakidonik asit metabolitlerinin de salınımını artırarak doku zedelenmesinde mediatör rol oynar (20, 22-26).

Endotel hasarı ve mikrosirkulatuar dolaşım yetmezliği sonucunda anoksi ile hücre ölümü meydana gelir (33). Septik şoktaki kardiyovasküler kollaps patogenezinde TNF - α dışında diğer mediatörlere de gereksinim vardır. Bunlar; IL - 1, Interlökin 2 (IL - 2), GM - CSF, TGF, PGs, LTs, PAF, kortizol, adrenalin, noradrenalin ve glukagon'dur (20, 33).

Malignitede TNF - α 'nın Rolü: İlk kez Coley, bir hastada gelişen streptokok enfeksiyonu sonrasında tümörün gerilediğini gözlemlemiş ve daha sonra anti-tümoral yanıt için canlı bakteri enfeksiyonları oluşturarak başarılı

sonuçlar elde etmiştir. Ancak bu kez enfeksiyonun kontrol edilememesi zerine "Coley Toksinleri" olarak bilinen l bakterilerden hazırlanan maddeler kullanılmıştır (70). Bu toksinlerin ateş, döküntü gibi yan etkilerinin olması yanısıra radyoterapi ve kemoterapinin gelişmesi ile kullanımını azalmıştır (21).

Yapılan alışmalarda BCG ve bunun ardından LPS enjeksiyonu sonrasında hayvanlardan elde edilen TNF - α 'nın diğer hayvanlara aktarımı sonucunda tüm hayvanların tümörlerinde hemorajik nekroz meydana geldiği gösterilmiştir (20-27, 31, 39-43, 47, 50). TNF - α endotoksemik farelerde de tümör nekrozuna yol açar (20 - 24). Sitotoksik etkisi in vivo olarak gösterilen TNF - α bazı toksik etkileri nedeniyle tedavi amacıyla kullanılamamaktadır (20). TNF - α 'nın toksik etkilerinin çoğundan PGE₂ sorumlu tutulmaktadır. Kettelhut ve arkadaşları PGE₂ oluşumunu bloke eden siklooksijenaz inhibitörleri ile TNF - α 'nın toksik etkilerinin inhibe edilebileceğini göstermişlerdir (45).

Sonuç olarak TNF - α düşük dozlarda yangısal reaksiyon ve yara iyileşmesinde, dokunun yeniden şekillenmesinde fizyolojik rol oynadığı halde, enfeksiyon sırasında aşırı salınımı letal doku zedelenmesi ve şoka neden olur (20-27, 31, 33, 37-43, 47, 50, 55, 66, 67).

Buğn dünyanın çeşitli ülkelerinde kullanılan BCG aşıları orijinal suştan üretilerek hazırlanmaktadır. Aşının retim tekniğindeki farklılıklar, bakteriyel suşta zamanla oluşan genetik değişiklikler, aşının uygulama yolları ve yöntemleri, aşının uygulama yaşının küçük olması, kişinin immün sistemindeki değişiklikler BCG aşısının imm-

nojenitesinde, etkisinde ve reaksiyonunda değişikliklere neden olabilmektedir. Bu nedenle, yapılan çalışmalarda morbiditeyi % 70-80 oranında azalttığı ileri sürülürken, diğer bazı çalışmalarda ise koruyucu etkisinin az veya hiç olmadığı ileri sürülmüştür (8, 33, 51, 56).

Değişik aşı suşlarının değişik komplikasyonları olmakla beraber, en sık görülenen ipsilateral aksilla veya supraklavikular lenf ganglionunda aşından 3 - 12 hafta sonra gelişen lenfadenittir. Subkutan abseler de gelişebilir (51, 71-74). Nadiren aksiller lenf ganglionunda kalsifikasyon oluşabilir (73). Diğer nadir görülen komplikasyonları osteomyelit, lupus vulgaris, eritema nodosum, iritis veya dissemine BCG enfeksiyonu (BCGitis)'dur (8, 51, 71-74). İmmün sistemi baskılanmış kişilerde BCGitis'in daha sık görüldüğü bildirilmektedir (14, 71, 72, 75).

Nonspesifik aktif immünoterapi nedeniyle kullanılan BCG'nin de komplikasyonları nadirdir (14, 59, 61, 62, 76-79). Yüzeyel mesane karsinomlarının tedavisinde disüri, hematüri gibi irritasyon semptomları ve epididimit şeklinde lokal semptomlar yanısıra granülatöz prostatit, renal granülomlar, granülatöz hepatit, septik artrit, Pott hastalığı, eritema multiforme, cerrahi yara iyileşmesinde gecikme ve BCGitis şeklinde komplikasyonların ortaya çıktığı olgular bildirilmiştir (14, 61, 62, 76-79).

BCGitis'de histopatolojik değişiklikler her organda görülebilir. En önemlileri arasında bronkopulmoner lezyon ve granülatöz hepatit şeklinde karşımıza çıkan lezyonlardır (33, 62, 76-82). Bronkopulmoner lezyon, diffüz bronkopnomoni veya eksüdatif konsolidasyon şeklindedir. Histopatolojisinde karakteristik olarak santralde geniş

kazeifikasyon alanı ile bunu çevreleyen Langhans tipi dev hücreler, epiteloid histiositler ve lenfositlerden oluşan tüberkül yapıları izlenir (33, 83).

Karaciğerde meydana gelen değişiklik granülo-
matöz hepatit'dir. Özellikle portal alanda belirgin epi-
teloid histiositler, lenfositler, Langhans tipi dev hücre-
ler ve az veya çok kazeifikasyon nekrozundan meydana gelen
epiteloid granülomlar izlenir (83 - 85). Eğer lezyon parankim
içinde ise granülomların ayırıcı tanısı zordur (86).

Granüloamatöz hepatit mikobakteriyel enfeksiyon
dışında, bakteriyel, viral, paraziter, spiroketal, mikotik,
riketsiyal enfeksiyonlarda da gelişebilir. Hepatik granülom
ayrıca metalik zehirlenmeler, ilaca bağlı zedelenmeler,
çeşitli yabancı cisimler, hücre içeriğinin dışarıya çıkması,
karaciğer tümörleri, sarkoidoz, primer bilier siroz, infla-
matuar barsak hastalıkları, polimyalgia romatika, jeju-
noileal bypass cerrahileri gibi çok geniş etiyolojileri
içerir. Granülomun kazeifikasyon gösterip göstermemesi,
lipo veya epiteloid granülom olup olmaması yanısıra seçilmiş
olgularda mikroorganizmalar için özel boyalar, polarize,
faz kontrast, skenning veya transmisyon mikroskopileri,
immünflorasan teknikler ayırıcı tanıda yapılmalıdır. Ayrıca
öykü ve serolojik incelemelerin de bilinmesi gerekmektedir
(33, 84-90).

BCG'nin granülom dışında karaciğer dokusunda
neden olduğu diğer histopatolojik değişiklikler literatürde
tanımlanmamıştır. Ancak ilgi gereği, fokal nekroz lobülüs
zonları, nükleer pleomorfizmden bahsedilecektir.

Fokal nekroz, karaciğer lobülüslerinin belirli
bir bölgesiyle belirgin ilişki göstermeyen küçük litik

nekroz odaklarıdır. Hücre membranı parçalanarak hücre içeriği boşaldığından fokal nekroz alanında parankim hücreleri yerine histiosit, lenfosit ve plazma hücreleri, bazen de az sayıda PMNL'leri içeren yangısal reaksiyon izlenir. Viral hepatitin yanısıra tüberküloz, sarkoidoz ve diğer granülomatöz hastalıklar ve bilier obstrüksüyonda safra gölcükleri ile birlikte, tifo, difteri, tularemi gibi enfeksiyon hastalıklarında ve hızlı seyreden Hodgkin hastalığında da görülür (33, 49, 84, 85, 87-90).

Parankim içinde yer alan lezyonların lokalizasyonunu belirtmek için Rappaport'un zon ayırımı kullanılır. Buna göre periportal zon (Z_1), midzonal bölge (Z_2), santrolobuler zon (Z_3) olarak ayrılır (84, 85, 91).

Hepatositlerde gözlenen nükleer değişiklikler letal veya subletal etki ile zedelenen hücrelerde ortaya çıkar. Erken değişiklik olarak kromatin kabalaşır ve nükleer membrana yaklaşarak kümeler oluşturur. Daha sonra nükleus büzülerek küçülür (piknoz), bunu karyolizis ya da karyorek-sis izler (33).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Eylül 1990 - Mart 1991 tarihleri arasında yapıldı.

Denekler: Çalışmada ağırlıkları 45 - 50 gr. arasında değişen, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarında yetiştirilen sağlıklı albino tipi fareler kullanıldı. Fareler 37x17x15 cm. boyutlarında, üzeri telle kaplı çinko kafesler içinde çalışma gruplarındaki dişi ve erkek fareler ayrı ayrı olmak üzere normal oda ısı ve neminde tutuldular. Fareler Sivas Yem Fabrikası tarafından üretilen standart fare yemi ile beslendi. Farelere musluk suyu verildi.

Deney Gruplarının Oluşturulması: Deney grupları için kullanılan BCG - Liyofilize (Cannaught Laboratories Limited, 2259 - 11), Sivas Halk Sağlığı Daire Başkanlığı ve Sivas Verem Savaş Dispanseri'nden soğuk zincirine uyularak alındı. Uygulamada kullanılan BCG, en küçük dozu insan dozuna göre ayarlanarak artan dozlarda verildi. Kontrol grubundaki farelere serbest piyasadan elde edilen En İlaçları Laboratuvarına ait sodyum klorürün % 0.9 izotonik sudaki solüsyonu (Vakumlu ENSET - Serum^R) kullanıldı.

Çalışmaya 19 dişi, 31 erkek olmak üzere 50 fare ile başlandı. Fareler, rastgele 5 gruba ayrılarak deney yürütüldü. Bu gruplarda;

KONTROL GRUBU: (5 dişi, 5 erkek): 0.05 ml.
sodyum klorürün % 0.09 izotonik
sudaki solüsyonu,

A GRUBU: (3 dişi, 7 erkek): 0.05 ml. (50.000 canlı jerm) / fare BCG,

B GRUBU: (3 dişi, 7 erkek): 0.1 ml. (100.000 canlı jerm) / fare BCG,

C GRUBU: (3 dişi, 7 erkek): 0.2 ml. (200.000 canlı jerm) / fare BCG,

D GRUBU: (4 dişi, 6 erkek): 0.4 ml. (400.000 canlı jerm) / fare BCG,

steril tüberkülin enjektörü ile intraperitoneal (IP) olarak verildi.

Tüm farelerde gözlem süresi 6 hafta olarak belirlendi. Gözlem süresi içinde ölen 6 fareye (A grubundan bir, B grubundan iki, C grubundan iki, D grubundan bir) hemen otopsi yapıldı. 6 hafta gözlem süresince yaşayan fareler, gözlem süresi sonunda servikal dislokasyonla öldürülerek otopsileri yapıldı.

Farelerin akciğer ve karaciğerleri makroskopik olarak incelenerek gözlenen patolojik değişiklikler kaydedildi.

İncelenen akciğer ve karaciğer dokuları % 99.5' luk etil alkolde tespit edildi. Tespite alınan akciğer dokularından hazırlanan parafin bloklardan 4'er adet 5 mikron kalınlığında ince kesitler yapıldı. Hazırlanan kesitler Hematoksilen - Eozin (H - E), bakteri için Gram, tüberküloz basili için Ziehl Neelson boyaları ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Karaciğerden hazırlanan parafin bloklardan 6'şar adet 5 mikron kalınlığında ince kesitler yapılarak H - E, glikojen için Periodik Asid Schiff (PAS), Gomori'nin retikülüm boyası, bakteri için Gram, tüberküloz basili için Ziehl Neelson boyaları ile

boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.

Elde edilen sonuçlara "Kruskal Wallis varyans analizi" ve "İki Yüzde Arasındaki Farkın Önemlilik 't' Testi" uygulanarak istatistiksel olarak değerlendirildi.



BULGULAR

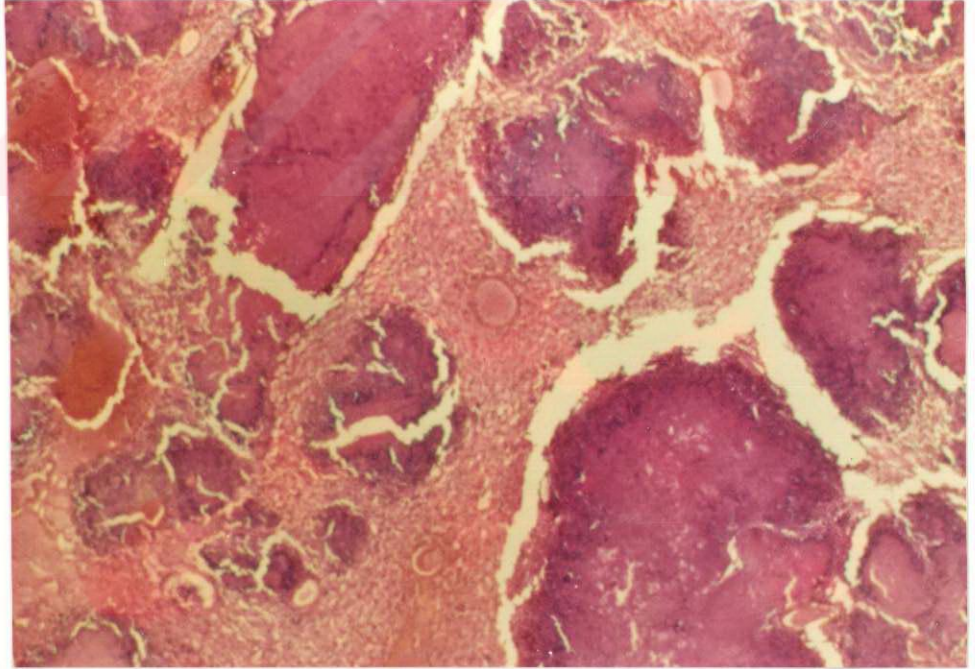
BCG'nin fare akciğer ve karaciğeri üzerindeki etkileri ve indirekt yolla TNF - α salınımını uyarıp uyardığı ve buna bağlı meydana gelebilecek değişiklikler, gözlem süresi içinde ölenler ve gözlem süresi sonunda öldürülenler esas olmak üzere iki aşamada değerlendirildi.

Gözlem süresince A grubundan bir, B grubundan üç, C grubundan iki, D grubundan iki olmak üzere toplam sekiz fare öldü. Gözlem süresince A, C ve D grubundaki ölüm oranı kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulundu. Kontrol grubu ile B grubu arasındaki farklılık ise, istatistiksel incelemede oran değer değişikliğine bağlı olarak önemli bulundu ($p > 0,05$ ve $p < 0,10$).

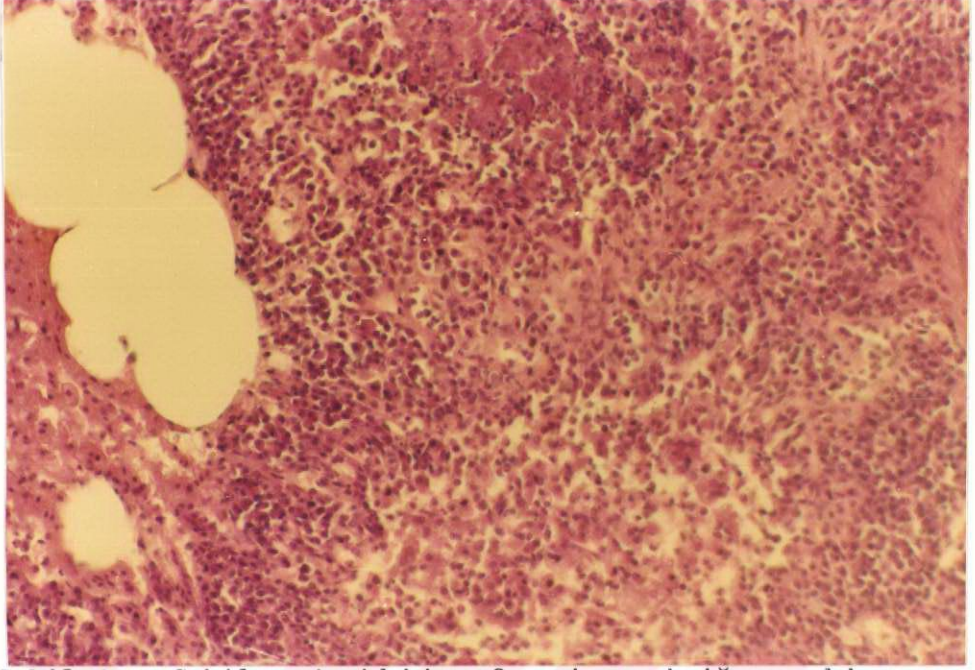
A grubundan, gözlemin on altıncı günü ölen farenin yapılan otopsisinde makroskopik olarak her iki akciğerde, çapları 1-2 mm arasında değişen beyaz - sarı renkli milier lezyonlar izlendi (Şekil 4 - a). Bu lezyonların histopatolojik incelemesinde, santralde yer yer kalsifikasyon gösteren geniş kazeifikasyon nekrozu bulunan, çevrede epitelooid histiositlerin yer aldığı çok sayıda birbirleriyle kaynaşmış granülomlar izlendi. Bu granülomların bazılarında Lánghans tipi dev hücre ve lenfositler tespit edildi (Şekil 4-b, 4-c). Yapılan Ziehl Neelson boyası ile aside dirençli bakteri (ARB) saptanmadı.



Şekil 4-a: A grubundan bir farenin akciğerlerinde izlenen milier lezyonların makroskopik görünümü.



Şekil 4-b: Şekil 4-a'daki farenin akciğer dokusunda hiperemik damar yapıları arasında yer alan santral kazeifikasyon nekrozu içeren tüberkülomlar (H-E, x 40).



Şekil 4-c: Şekil 4-a'daki farenin akciğer dokusunun normal yapısını ortadan kaldıran, santral kazeifikasyon nekrozu çevresinde epitelioid histiositler, lenfositlerin yer aldığı tüberkülomlar (H - E, x 100).

Aynı farenin karaciğeri büyük ve 7 gram ağırlığında idi. Makroskopik incelemesinde herhangi bir patoloji izlenmedi. Histopatolojik incelemede konjesyone santral ven çevresinde normal lobül yapısının korunduğu, hepatositlerde bulanık şişme ve bu alanlarda sinuzoidlerin kapandığı dikkati çekti. Yapılan PAS boyası ile glikojen miktarında azalma olduğu izlendi. Sinuzoidlerde yer alan Kupffer hücreleri fuziform şekilde idi. Nükleer pleomorfizm, anizokaryoz belirgin olup, nükleuslar iri ve hiperkromatikti. Genellikle Z_2 'de yer alan lenfositler ve seyrek plazma hücrelerinin yer aldığı fokal nekroz alanları görüldü. Portal alanlar normal görünümde idi.

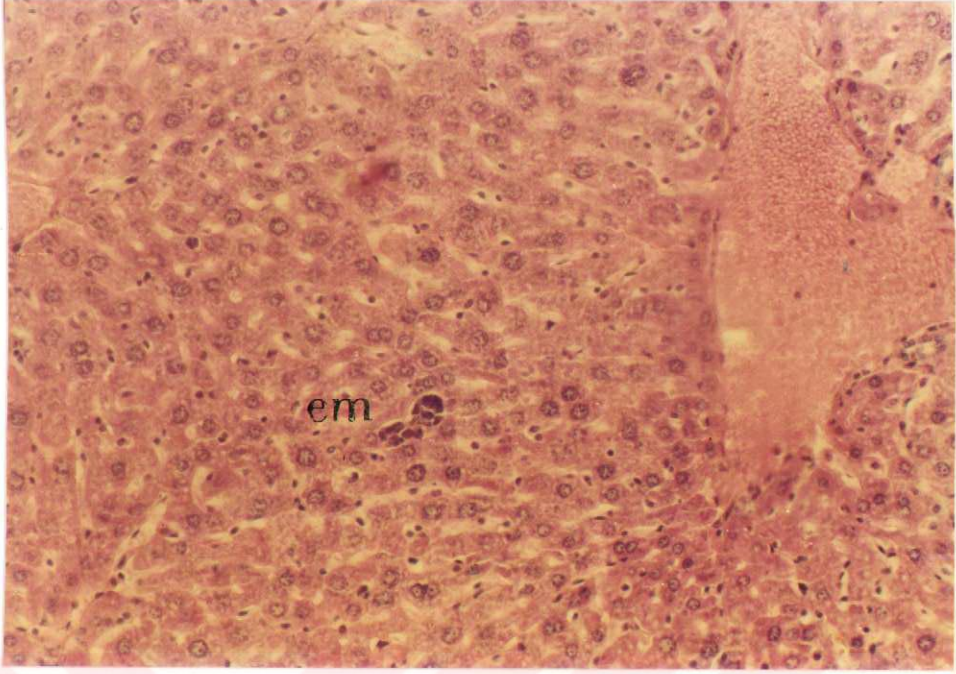
Deney grupları içinde B grubundan, deneyin beşinci, altıncı ve on birinci günlerinde olmak üzere üç fare öldü. Beşinci günde ölen farenin kafesteki diğer fareler tarafından parçalanması nedeniyle organlarındaki morfolojik değişiklikler değerlendirilemedi. Altıncı ve on birinci günlerde ölen farelerin yapılan otopsilerinde akciğerlerinin her ikisinin de açık sarı pembe renkli olduğu izlendi. Histopatolojik incelemelerinde hiperemik damarlar içeren akciğer dokusunda, bazı alveol boşlukları ve interalveolar septalar içinde PMNL'ler ve seyrek lenfositlerin yer aldığı yangısal reaksiyon dikkati çekti.

Aynı farelerin karaciğerleri 5 gram ve 6 gram ağırlığında olup koyu kahverenkli idi. Histopatolojik incelemelerinde, konjesyone santral ven çevresinde lobül yapısının korunduğu, hepatositlerde bulanık şişme ve bu alanlarda sinuzoidlerde daralma olduğu izlendi. PAS boyası ile glikojende azalma saptandı. Nükleer kromatin kaba veziküler görünümde olup, altıncı gün ölen farede nükleer membranları genellikle girintili çıkıntılı idi. Belirgin anizokaryoz saptandı. Kupffer hücre hiperplazisi belirgindi. Nükleusların ise genellikle oval ya da yuvarlak ve fuziform olduğu saptandı. On birinci gün ölen farede Z_2 'de belirgin olmak üzere Z_1 ve Z_3 'de de görülen küçük fokal nekroz odakları izlendi. Portal alanlarda konjesyone ven yanısıra on birinci gün ölen farede birkaç alanda safra duktuslarının proliferere olduğu saptandı.

C grubundan on ikinci ve on sekizinci gün ölen farelerin yapılan otopsilerinde, akciğerleri her ikisinde de açık sarı pembe renkliydi. Histopatolojik

incelemelerinde her ikisinde de hiperemik damarlar gözlemlendi. On sekizinci gün ölen fare de ise interalveolar septada serbest kanama alanları ile epitelooid histiositlerin yer aldığı birkaç adet nekrozu olmayan granülom dikkati çekti.

Aynı farelerin karaciğerleri 5'er gram ağırlığında olup koyu kahverenkli idi. Histopatolojik incelemelerinde konjesyone santral ven çevresinde lobül yapısının korunmuş olduğu, hepatositlerde bulanık şişme ve bu alanlarda sinüzoidlerde daralma saptandı. PAS boyası ile glikojen içeriğinde azalma görüldü. Nükleuslar iri olup, on ikinci gün ölen farede kromatin ağı kaba, veziküle görünümdeydi. On sekizinci gün ölen farede ise hepatosit nükleuslarının hiperkromatik olduğu görüldü. Kupffer hücrelerinde belirgin hiperplazi yanısıra nükleuslarının yuvarlak veya fuziform görünümde olduğu saptandı. On ikinci gün ölen farede disse aralığında hiperkromatik nükleuslu dar sitoplazmalı hücreler ve megakaryositlerin yer aldığı ekstramedüller hemopoezis odakları saptandı (Şekil 5). On sekizinci gün ölen farenin sinüzoidlerinde ise eritrositler görüldü. Fokal nekroz on ikinci gün ölen farede Z_1 ve Z_2 'de daha fazla olmak üzere, on sekizinci gün ölen farede her üç zonda da küçük lenfosit topluluklarının oluşturdukları odaklar tarzında izlendi. On ikinci gün ölen farede gümüşleme boyası ile retikülin ağında artış saptandı. Portal alanlarda yer alan venlerde konjesyon, on ikinci gün ölen farede bazı portal alanlarda ödem, her iki farede de safra duktusu çevresinde mononükleer hücreler görüldü.



Şekil 5: Karaciğer dokusunda v. centraliste konjesyon, Kupffer hücre hiperplazisi, disse aralığında iri hiperkromatik nükleuslu, mononükleer hücreler ile megakaryositlerin yer aldığı ekstramedüller hemopoezis (em) odağı (H - E x 40).

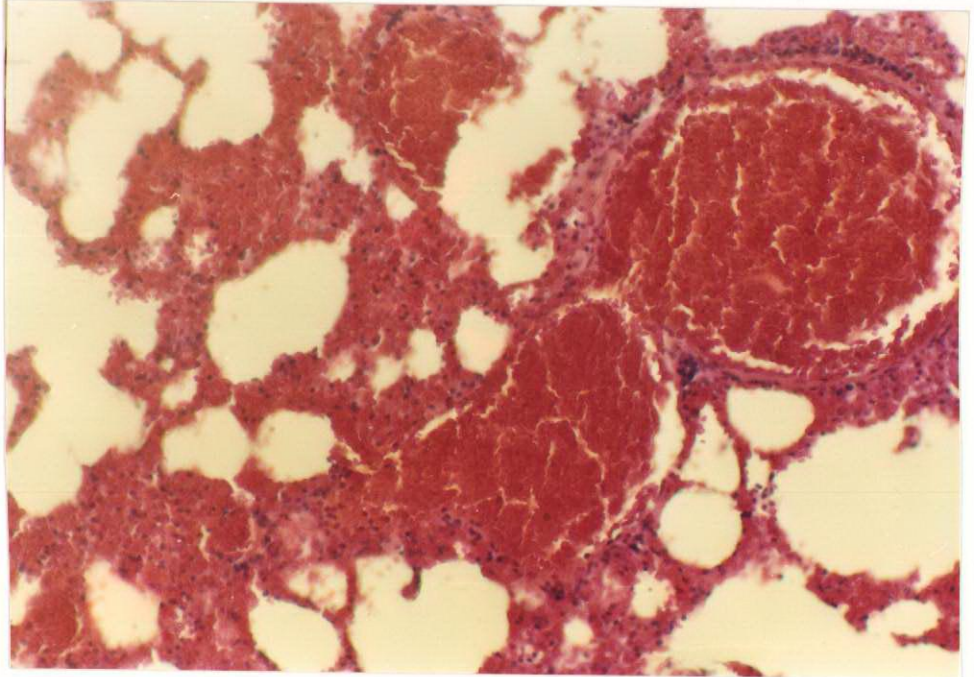
D grubundan on dördüncü ve yirmi ikinci gün ölen farelerden, on dördüncü gün ölen farenin kafesteki diğer fareler tarafından parçalanması nedeniyle organlardaki morfolojik değişiklikler değerlendirilemedi. Yirmi ikinci gün ölen farenin sağ akciğerinin dış yüzünde iki milimetre çapında pembe beyaz renkli lezyon izlendi. Bu lezyonların histopatolojik incelemesinde interalveolar septada serbest kanama alanları, hiperemik damarlar arasında, lenfositlerden zengin mononükleer hücrelerin yer aldığı yangısal reaksiyon izlendi.

Aynı farenin karaciğeri 6 gram ağırlığında olup gri kahverenkliydi. Histopatolojik incelemede normal lobül yapısının korunduğu karaciğer dokusunda hepatositlerde bulanık şişme, santral vende konjesyon ve PAS boyası ile glikojen içeriğinde azalma görüldü. Nükleuslar iri olup anizokaryoz belirgindi. Nükleusların yuvarlak ve fuziform olduğu Kupffer hücrelerinde hiperplazi saptandı. Fokal nekroz odakları Z_3 'de belirgin olmak üzere her üç zonda da izlendi. Gümüşleme boyası ile retikülin ağında artış saptandı. Portal alanda venlerde konjesyon, safra kanaliküllerinde proliferasyon ve kanalikül çevresinde minimal mononükleer hücreler izlendi.

Kontrol grubu ve deney gruplarında yer alan farelerde gözlem süresi sonunda öldürülenlerin akciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler, hiperemi, serbest kanama alanları, yangısal reaksiyonun varlığı, lokalizasyonu ve tipi yönünden incelenerek değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucu elde edilen veriler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Buna göre hiperemi, kontrol ve deney grupları olmak üzere farelerin hepsinde saptadığımız bir bulgu idi (Şekil 6).

Serbest kanama yönünden incelendiğinde; kontrol grubunu oluşturan farelerin 1 (% 10) tanesinde A grubundaki farelerin 3 (% 30) tanesinde, B grubunda yer alan farelerin 2 (% 22,3) tanesinde, C grubunda yer alan farelerin biri gözlem süresi içinde ölen farelerden olmak üzere 3 (% 30) tanesinde, D grubunda yer alan farelerin 3 (% 33,4) tanesinde bu değişiklik gözlemlendi. Bu bulgular ışığında aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0,05$).



Şekil 6: Akciğerde hiperemik damarlar ve serbest kanama alanları (H - E, x 100).

Tablo I: Deney ve Kontrol Gruplarına Göre Akciğerlerde İzlenen Histopatolojik Değişikliklerin Dağılımı

	Kontrol		A		B		C		D	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Hiperemi	10	100.0	10	100.0	9	100.0	10	100.0	9	100.0
Serbest Kanama	1	10.0	3	30.0	2	22.3	3	30.0	3	33.4
Yangısal Reaksiyon	3	30.0	3	30.0	2	22.3	4	40.0	8	88.9
GYR*	-	0.0	1	10.0	-	0.0	1	10.0	-	0.0

(*) Granülomatöz Yangısal Reaksiyon

Yangısal reaksiyonun tipi ve lokalizasyonu bakımından incelendiğinde, kontrol grubunu oluşturan farelerin 3 (% 30) tanesinde alveol boşlukları içinde dağılmış seyrek PMNL'ler ve bunların 2 (% 20) tanesinde ayrıca perivasküler alanda yoğunlaşan, PMNL ve lenfositlerin yer aldığı yangısal reaksiyon izlendi. A grubunda 1 (% 10) tanesi gözlem süresi içinde ölen farede olmak üzere kronik granülomatöz yangısal reaksiyon izlendi. Aynı grupta yer alan farelerin 3 (% 30) tanesinde alveoller içinde ve interalveolar septada belirgin PMNL'ler izlendi. B grubunda 2 (% 22,3) tane, her ikisi de gözlem süresi içinde ölen farenin bazı alveol boşlukları içinde ve interalveolar septada PMNL'ler ve seyrek lenfositlerin yer aldığı yangısal reaksiyon dikkati çekti. C grubunda 4 (% 40) tanesinde alveol boşlukları içinde ve perivasküler alanda belirgin lenfositlerin izlendiği yangısal reaksiyon; ayrıca gözlem süresi içinde ölen 1 (% 10) tanesinde epitelooid histiositler ve lenfositlerden oluşan nekrozsuz granülomatöz yangısal reaksiyon izlendi. D grubunda biri gözlem süresi içinde ölen 8 (% 88,9) tanesinde perivasküler alanda belirgin lenfositler, plazma hücreleri, histiositler ve seyrek PMNL'lerden oluşan yangısal reaksiyon görüldü. Yangısal reaksiyon bakımından kontrol grubu ile D grubu arasındaki karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu ($t: 2,27; p < 0,05$) saptandı. Kontrol grubu ile A, B, C grupları arasındaki farklılık ise önemsiz ($p > 0,05$) bulundu. Granülomatöz yangısal reaksiyon bakımından da farklılık önemsizdi ($p > 0,05$).

Kontrol grubu ve deney gruplarında yer alan farelerin karaciğer dokusundaki makroskopik özellikler

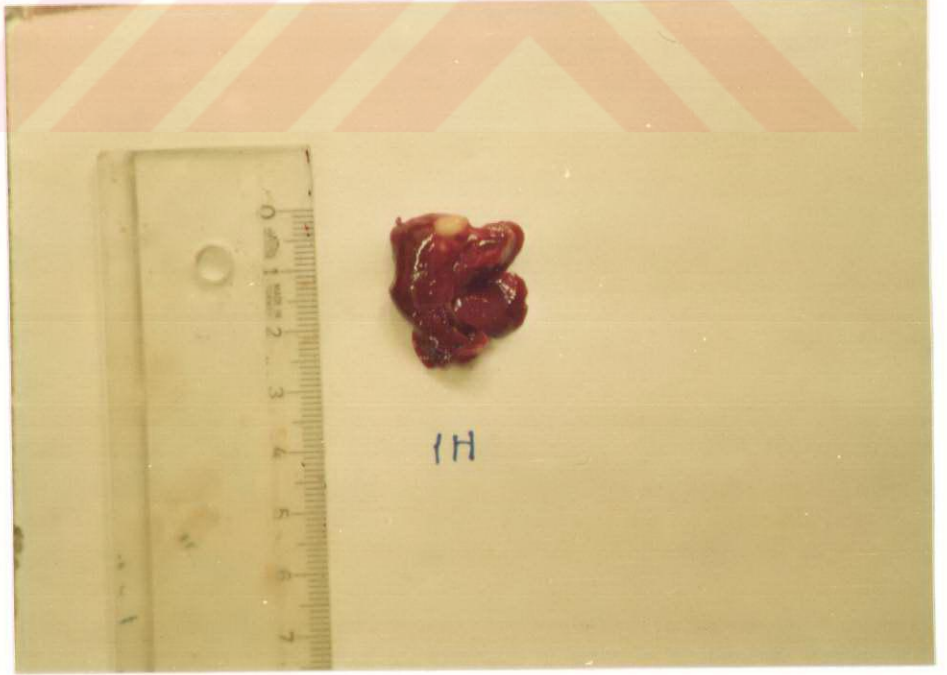
ağırlık ve renk bakımından değerlendirildi. Buna göre, kontrol grubundaki farelerin karaciğerlerinin ağırlıkları 5 - 6 gram (Ort: 5,3 gram) idi. A grubundaki farelerin karaciğerlerinin ağırlıkları 4 - 7 gram (Ort: 6 gram), B grubundaki farelerin karaciğerlerinin ağırlıkları 5 - 6 gram (Ort: 5,6 gram), C grubundaki farelerin karaciğer ağırlıkları 5 - 7 gram (Ort: 5,6 gram), D grubundakilerde ise 5 - 7 gram (Ort: 5,8 gram) bulundu. Buna göre, gruplardaki farelerin karaciğerlerinin ağırlıkları bakımından aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu (KW: 2,156; $p > 0,01$).

Renk bakımından incelendiğinde, kontrol grubundaki farelerin karaciğerleri açık kahverenkli idi (Şekil 7). A grubunda 1 (% 10) farenin karaciğerinde 0,5 cm. çapında beyaz - sarı renkli iyi sınırlı lezyon dışında diğer farelerinki koyu kahverenkliydi (Şekil 8a). B, C, D grubundaki farelerin karaciğerlerinin de koyu kahverenkli olduğu dikkati çekti (Şekil 7).

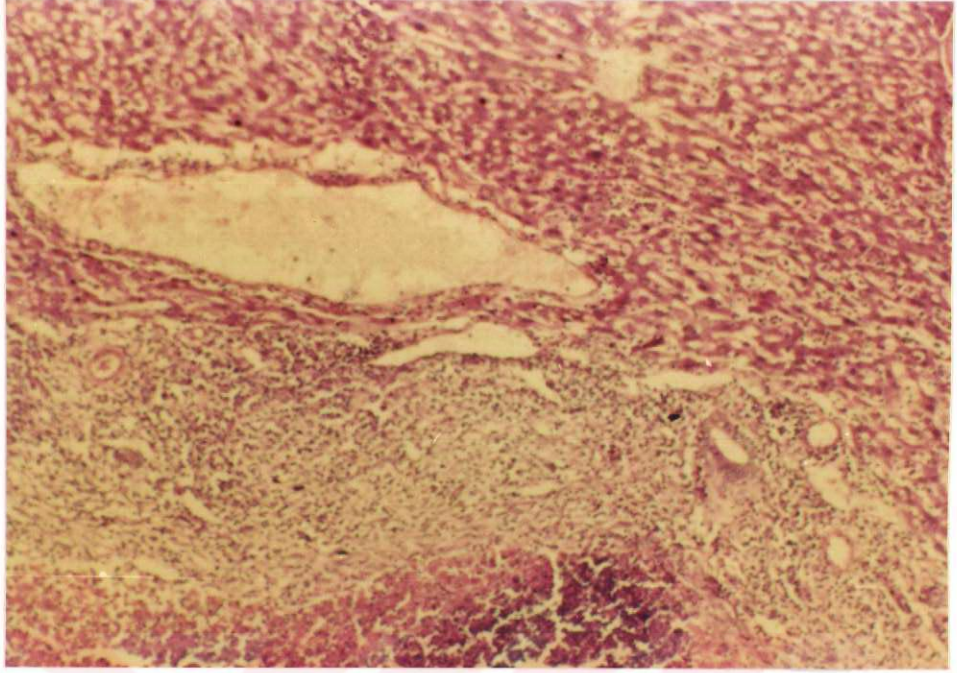
Kontrol ve deney gruplarında yer alan farelerin karaciğer dokuları parankim ve portal alanda meydana gelen histopatolojik değişiklikler gözönüne alınarak değerlendirildi. Buna göre, parankim hücrelerinde oluşan histopatolojik değişiklikler dejenerasyon, madde birikimleri, hepatositlerin glikojen içeriğinde meydana gelen değişiklikler, nükleer pleomorfizm, nekroz, Kupffer hücrelerinde görülen sayısal ve morfolojik farklılıklar ile konjesyon, yangısal reaksiyon, bakteri, ARB görülebilme yönünden bakteri ve ARB boyaları ile boyanarak ışık mikroskobu ile incelenip değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucu elde edilen veriler Tablo II'de gösterildi.



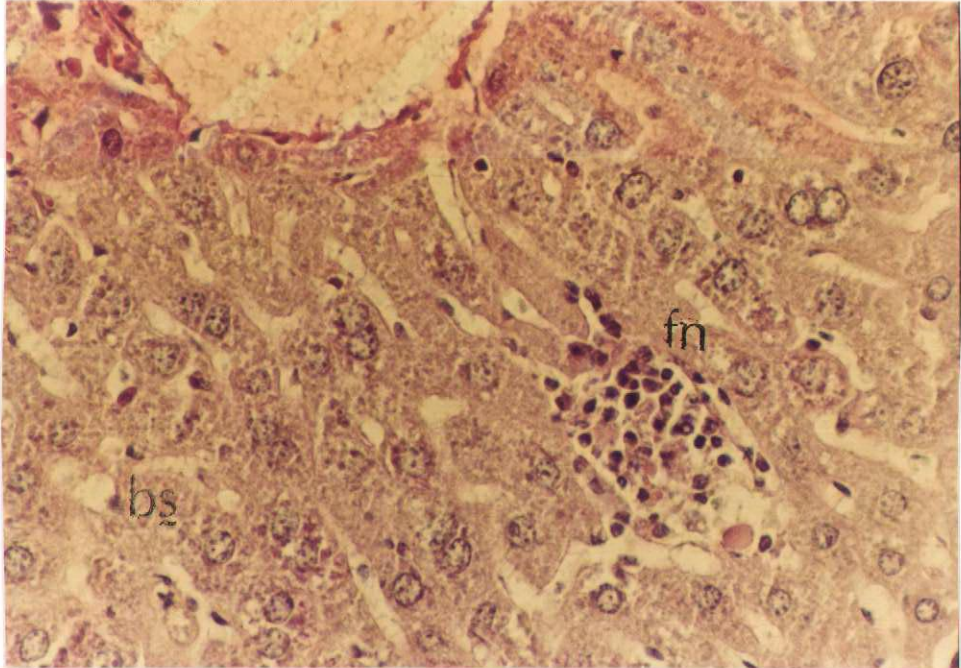
Şekil 7: Kontrol (k) ve deney gruplarındaki (d) farelerin karaciğerlerinin makroskopik görünüşleri.



Şekil 8a: A grubundaki bir farenin karaciğerindeki abse odağının makroskopik görünüşü.



Şekil 8b: Şekil 8a'daki farede karaciğer dokusundan belirgin fibröz bağ dokusuyla ayrılan yangısal reaksiyon, santralde bol PMNL ve nekrotik hücre artıklarının



Şekil 9: Kaldırım taşı manzarası gösteren hepatositlerin oluşturduğu bulanık şişme (bs) alanları ve lenfositler, seyrek PMNL'lerin yer aldığı fokal nekroz (fn) odağı (H - E, x 100).

Tablo 11: Kontrol ve Değişik Dozlarda BCG Uygulanan Farelerde Karaciğer Parenkiminde Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Dağılımı.

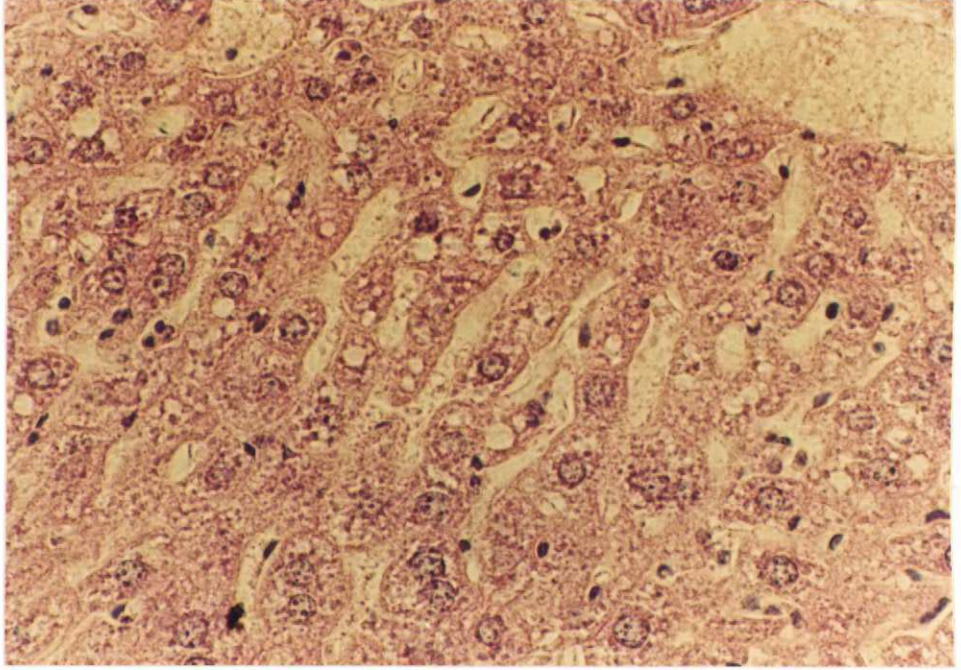
	Kontrol		A		B		C		D	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Bulanık Şişme	10	100.0	10	100.0	9	100.0	10	100.0	9	100.0
Vakuol. Dejenerasyon	1	10.0	-	0.0	4	44.5	4	40.0	1	11.2
Yağlanma	3	30.0	1	10.0	-	0.0	-	0.0	1	11.2
Safra Pigmenti	2	20.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
Hemosiderin	1	10.0	1	10.0	-	0.0	-	0.0	1	11.2
Glikojende Azalma	-	0.0	3	30.0	4	44.5	3	30.0	2	22.3
Nükleer Pleomorfizm	10	100.0	10	100.0	9	100.0	10	100.0	9	100.0
Fokal Nekroz	10	100.0	10	100.0	8	88.9	10	100.0	9	100.0
Tek Hücre Nekrozu	5	50.0	4	40.0	5	55.6	4	40.0	2	22.3
Kupffer Hü. Hiperpl.	10	100.0	9	90.0	9	100.0	10	100.0	9	100.0
Kupffer Hü. Morf. Farklılığı	10	100.0	10	100.0	9	100.0	10	100.0	9	100.0
V. centraliste Konjesyon	10	100.0	10	100.0	9	100.0	10	100.0	9	100.0
Bakteri	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
Abse	-	0.0	1	10.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
Basil	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
Granülom	-	0.0	1	10.0	-	0.0	1	11.2	-	0.0
Ekstramedüller Hemopoezis	3	30.0	2	20.0	2	22.3	3	30.0	2	22.3

Hepatositlerde meydana gelen dejeneratif değişikliklerden bulanık şişme, kontrol grubu ve deney grubundaki farelerin gözlem süresi içinde ölenler de dahil olmak üzere hepsinde görülen bir bulgu idi (Şekil 9). Bu nedenle kontrol grubu ile deney grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı ($p > 0,05$).

Vakuoler dejenerasyon, kontrol grubunda 1 (% 10) farede izlendi. A grubundaki farelerde vakuoler dejenerasyon görülmedi. B grubundaki farelerin 4 (% 44,5), C grubundaki farelerin 4 (% 40) tanesinde, D grubundaki farelerin ise 1 (% 11,2) tanesinde saptandı. Bu oranlar dikkate alındığında kontrol grubu ile A ve D grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulundu. Kontrol grubu ile B ve C grubu karşılaştırıldığında aradaki farklılık önemsiz ($t: 1,75; p > 0,05$) olmasına rağmen; oran değer değişikliğine bağlı olarak önemli bulundu ($p < 0,10$).

Hepatositlerde yağlı dejenerasyon görülme oranları incelendiğinde, kontrol grubunda 3 (% 30) (Şekil 10), A grubunda 1 (% 10), D grubunda 1 (% 11,2) farede gözlemlendi. B ve C grubunda yer alan farelerin hiçbirinde yağlanma saptanmadı. Buna göre yağlı dejenerasyon görülme oranı bakımından BCG dozları ile kontrol grubu arasında farklılık bulunamadı ($p > 0,05$).

Hepatositlerde safra pigmenti yönünden inceleme yapıldığında sadece kontrol grubundaki 2 (% 20) farede saptandı. Bunlardan birinde Z_1 'de, diğerinde ise Z_2 'de yer alan hepatositlerde açık sarı granüller şeklinde izlendi. Deney gruplarındaki fare karaciğerlerinin hiçbirinde pigment birimi saptanmadı. Oranlar karşılaştırıldığında kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p > 0,05$).



Şekil 10: İntrasitoplazmik mikroveziküler yağlı dejenerasyon gösteren hepatositlerin yer aldığı karaciğer dokusu (H - E, x 100).

Hemosiderin pigmenti bakımından inceleme yapıldığında kontrol grubunda 1 (% 10) farede Z_3 'de hemosiderin pigmenti izlendi. A grubunda ise 1 (% 10) farede her üç zonda, D grubunda da 1 (% 11.2) farede Z_3 'de saptandı. B ve C grubundaki farelerin hiçbirinde hemosiderin pigmentine rastlanmadı. Bu farklılık istatistiksel olarak önemsizdi ($p > 0,05$).

Hepatositlerin glikojen içeriğinde azalma olup olmadığı PAS boyası ile değerlendirildi. Kontrol grubunda hiç bir farede glikojende azalma saptanmadı. A grubunda biri gözlem süresi içinde ölen fare olmak üzere 3 (% 30), B grubunda ikisi gözlem süresi içinde ölen fareler olmak üzere 4 (% 44,5), C grubunda ikisi gözlem süresi içinde ölen fareler olmak üzere 3 (% 30),

D grubunda biri gözlem süresi içinde ölen fare olmak üzere 2 (% 22,3) farede glikojen içeriğinde azalma gözlemlendi. Bu azalmanın lobülusun bütün alanlarında eşit olarak dağıldığı gözlemlendi. Kontrol grubu ile A ve C grubu karşılaştırıldığında aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz ($t: 2; p > 0,05$) olmasına rağmen oran değer değişikliğine bağlı olarak ($p < 0,10$) önemli bulundu. B grubu ile kontrol grubu arasındaki farklılık önemli bulundu ($t: 2,5; p < 0,05$). D grubu ile olan farklılık önemsizdi ($p > 0,05$).

Nükleer pleomorfizm, kontrol ve deney gruplarında her farede izlendi. Ancak pleomorfizmin derecesine göre kontrol ve deney grupları arasında belirgin farklılık dikkati çekti.

Hepatosit nükleuslarında görülen pleomorfizmin derecesi, nükleer kromatinde kabalaşma, nükleer membrana yakınlaşma (+) nükleus bazofilisinde azalma, anizokaryoz, nükleer membranın irregüler olması ve piknoz (++) şeklinde kalitatif olarak sınıflandırıldı (Tablo III).

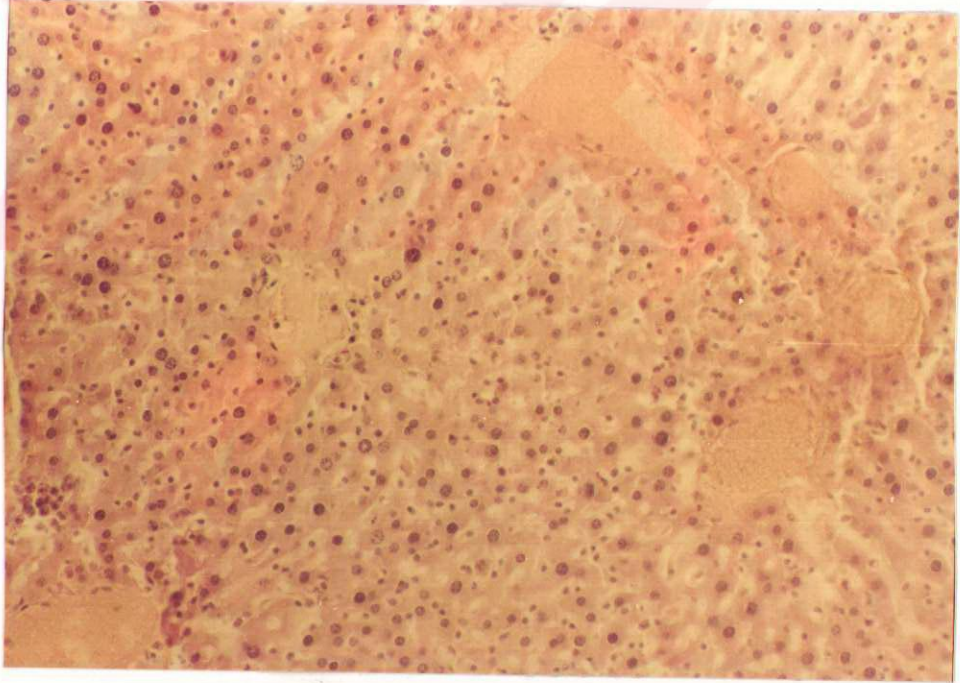
Tablo III: Hepatositlerdeki Nükleer Pleomorfizmin Kontrol ve Deney Gruplarına Göre Dalımı.

	Kontrol		A		B		C		D	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Pleomorfizm (+)	10	100.0	8	80.0	5	55.6	6	60	8	88.9
Pleomorfizm (++)	-	0.0	2	20.0	4	44.4	4	40	1	11.1

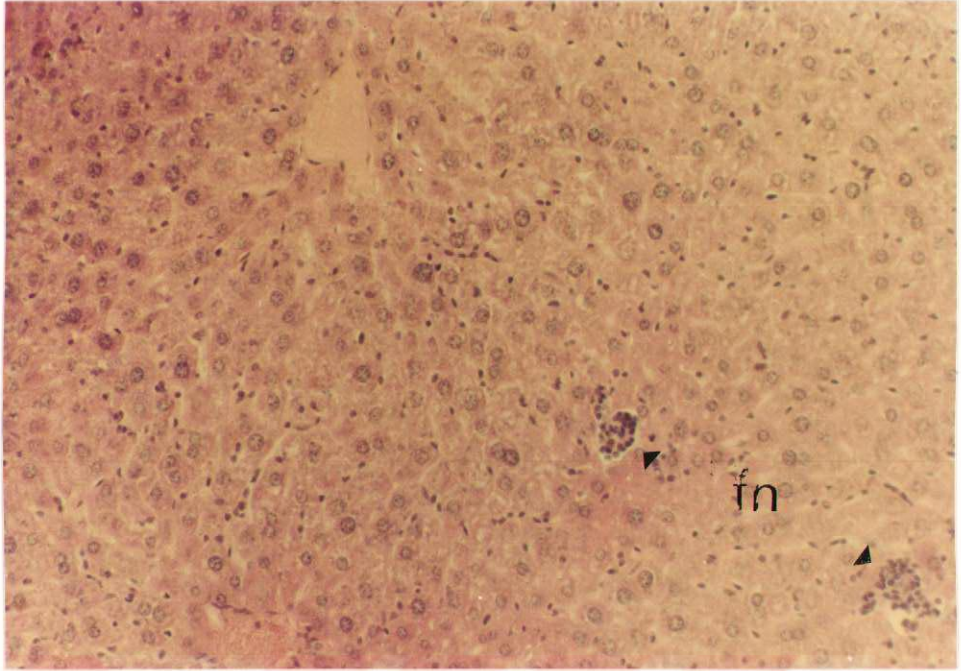
(+) : Kromatinde kabalaşma, nükleer membrana yakınlaşma

(++) : Kromatinde azalma, piknoz, nükleer membranın irregüler olması

Buna göre nükleer kromatinde kabalaşma, nükleer membrana yakınlaşma kontrol grubunda 10 (% 100) farede, A grubunda 8 (% 80) farede, B grubunda 5 (% 55,6) farede, C grubunda 6 (% 60) farede, D grubunda 8 (% 88,9) farede izlendi. Nükleer pleomorfizm (++)'lik kontrol grubunda hiç bir farede izlenmedi. A grubunda 2 (% 20), B grubunda 4 (44,4), C grubunda 4 (% 40), D grubunda 1 (% 11,1) farede saptandı (Şekil 11, 12). Kontrol grubu ile A ve D grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) olmasına rağmen, B grubu ($t: 2,5; p < 0,05$) ve C grubundaki oranlar ($t: 2,35; p < 0,05$) önemli bulundu.



Şekil 11: V. centraliste konjesyon, Kupffer hücre hiperplazisi ve belirgin büyüklük farkı gösteren nükleuslara sahip hepatositlerin yer aldığı karaciğer dokusu (H - E, x 40).



Şekil 12: Z_2 'de lenfositler, seyrek PMNL'lerin yer aldığı fokal nekroz (fn), belirgin şekil ve büyüklük farkı gösteren nükleuslara sahip hepatositler ve Kupffer hücre hiperplazisinin yer aldığı karaciğer dokusu (H - E, x 100).

Karaciğer dokusunda izlenen nekrozlar tek hücre nekrozu ve fokal nekroz yönünden değerlendirildi. Fokal nekroz kontrol grubunda 10 (% 100) farede, A grubunda 10 (% 100) farede, B grubunda 8 (% 88,9) farede, C grubunda 10 (% 100), D grubunda 9 (% 100) farede izlendi. Deney gruplarındaki fokal nekrozların Z_2 'de daha fazla olmak üzere Z_1 ve Z_3 'de yer aldığı görüldü (Şekil 9, 12). Kontrol grubundaki fokal nekrozların ise az sayıda olup belirgin bir zonal dağılım göstermediği dikkati çekti. Fokal nekroz kontrol grubu, A, C ve D gruplarındaki farelerin hepsinde; B grubundaki farelerin 8 (% 88,9)'inde saptandı.

Buna göre aradaki farklılık önemsizdi ($p > 0,05$). Ancak, fokal nekrozun kontrol grubu ile deney gruplarındaki dağılımı yönünden aradaki farklılık önemliydi ($p > 0,05$).

Tek hücre nekrozu kontrol grubunda 5 (% 50), A grubunda 4 (% 40), B grubunda 5 (% 55,6), C grubunda 4 (% 40), D grubunda 2 (% 22,3) farede saptandı. Buna göre, aradaki farklılık önemsizdi ($p > 0,05$).

Kupffer hücre değişiklikleri, hiperplazi ve hücre morfolojisinde meydana gelen farklılıklar yönünden incelendiğinde, A grubundan gözlem süresi içinde ölen 1 (% 10) fare dışında kontrol ve deney gruplarını oluşturan farelerin tümünde Kupffer hücre hiperplazisi izlendi (Şekil 5, 11, 12).

Morfolojik açıdan değerlendirildiğinde, bütün gruplarda ve kontrol grubunda bütün farelerde oval, yuvarlak ve daha az olarak fuziform nükleuslu oldukları görüldü.

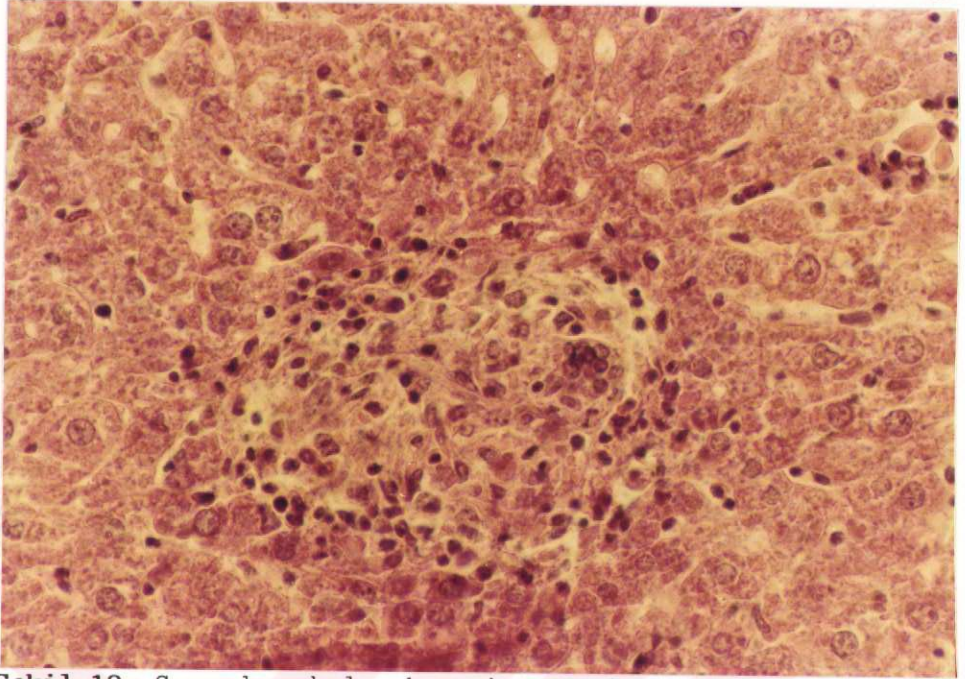
V. centraliste konjesyon, kontrol ve deney gruplarının hepsinde saptadığımız bulgu idi (Şekil 5, 11). Bakteri için Gram boyası, ARB için Ziehl Neelson boyası uygulandı. Uyguladığımız Gram boyası ile kontrol ve deney gruplarındaki hiç bir farenin akciğer ve karaciğer dokularında bakteri görülmedi. ARB için boyanan Ziehl Neelson boyası ile de kontrol ve deney gruplarındaki hiç bir farenin akciğer ve karaciğer dokularında da ARB izlenmedi.

Farelerin karaciğer dokusunda nonspesifik yangısal reaksiyon görülme oranı incelendiğinde kontrol grubunda hiç bir farede yangısal reaksiyon saptanmadı. A grubundan 1 (% 10) farede parankim içinde çevre

hepatositlerden fibröz bağ dokusu ile çevrelenmiş santralde nekrotik hücre artıkları içeren bol PMNL'lerin yer aldığı iki adet abse odağı izlendi (Şekil 8b). B, C, D grubundan hiçbir farede nonspesifik yangısal reaksiyon izlenmedi. Yalnız bir farede saptanan absenin kontrol grubu ile arasındaki farklılık önemsizdi ($p > 0.05$).

Farelerin karaciğerleri kronik granüloamatöz yangısal reaksiyon bakımından incelendiğinde kontrol grubu, B ve D gruplarında hiçbir farede granülom saptanmadı. A grubundan gözlem süresi sonunda öldürülen farelerden 1 (% 10) tanesinde, C grubundan gözlem süresi içinde ölen 1 (% 10) tanesinde lobülüs içinde her üç zonda da yeralan epitelooid histiositler, Langhans tipi dev hücreleri ve seyrek lenfositlerin oluşturduğu nekrozu bulunmayan küçük tüberkülomlar görüldü (Şekil 13). Kronik granüloamatöz yangısal reaksiyon bakımından kontrol grubu ve deney grupları arasındaki farklılık önemsizdi ($p > 0,05$).

Deney gruplarındaki ve kontrol grubundaki farelerin bir kısmında ekstramedüller hemopoezis saptandı. Bu alanlar lobülüsün içinde, disse aralığında yeralan iri hiperkromatik nükleuslu, dar sitoplazmalı mononükleer hücre toplulukları şeklinde izlendi (Şekil 5). Bunların dağılımı kontrol grubunda 3 (% 30), A grubunda 2 (% 20), B grubunda 2 (% 22,3), C grubunda biri gözlem süresi içinde ölen 3 (% 30), D grubunda 2 (% 22,3) farede izlendi. Bu oranlar kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığında önemsiz bulundu ($p > 0,05$).



Şekil 13: Çevrede bulanık şişme gösteren hepatositler ile epitelioid histiosit, Langhans tipi dev hücre ve lenfositlerin yer aldığı, nekrozu olmayan kronik granülomatöz yangısal reaksiyonun izlendiği karaciğer dokusu (H - E, x 100).

Portal alanlarda mononükleer hücreler dışında konjesyon ve duktal dilatasyon izlendi. Bunların kontrol ve deney gruplarına göre dağılımı Tablo IV'de gösterilmiştir.

Tablo IV: Kontrol ve Değişik Dozlarda BCG Uygulanan Farelerde Karaciğerde Portal Alanda Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Dağılımı

	Kontrol		A		B		C		D	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Konjesyon	9	90.0	8	80.0	9	100.0	9	90.0	9	100.0
Duktal Dilatasyon	3	30.0	-	0.0	2	22.3	-	0.0	1	11.2

Buna göre portal alanda yer alan konjesyon farelerin hemen hemen tümünde saptadığımız bulguydu. Kontrol grubunda 9 (% 90), A grubunda biri gözlem sırasında ölen fare olmak üzere 8 (% 80), B grubunda 9 (% 100), C grubunda ikisi gözlem sırasında ölen olmak üzere 9 (% 90), D grubunda 9 (% 100) farede saptandı. Bu oranlar, kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aradaki farklılık önemsiz bulundu ($p > 0,05$).

Duktal dilatasyon kontrol grubunda 3 (% 30), B grubunda 2 (% 22,3), D grubunda 1 (% 11,2) farede saptanırken, A ve C grubundaki farelerin hiçbirinde görülmedi. Bu oranlar gözönüne alındığında aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0,05$).

TARTIŞMA

Bu çalışmada, ağırlıkları 45-50 gram arasında değişen albino farelere BCG verilerek karaciğer ve akciğer üzerindeki morfolojik etkileri incelendi.

Bu amaç için 5×10^4 canlı jerm, 1×10^5 canlı jerm 2×10^5 canlı jerm, 4×10^5 canlı jerm içeren BCG dozları kullanıldı. TNF - α 'nın BCG + LPS tatbikinden sonra salgılandığının saptanması ve TNF - α 'nın değişen dozlarda değişik etkilerinin in vitro olarak gösterilmesi nedeniyle çalışmada, pratik uygulamada sadece BCG kullanımının sonuçları, farklı dozlardaki etkilerini ve bu etkilerin TNF - α ile ilgisi bulunup bulunmadığı araştırıldı.

Bu etkiler iki aşamada değerlendirildi. Öncelikle BCG'nin farelerin akciğer ve karaciğerleri üzerindeki enfeksiyöz ya da non - enfeksiyöz etkileri, daha sonra da elde edilen veya ortaya çıkmayan bulguların TNF - α ile ilişkisi incelendi.

BCG'nin etkisi önce morfolojik olarak tüberkülomların varlığı ile takip edildi. Buna göre tüberkülomlar A grubundan gözlemin on altıncı günü ölen 1 (% 10) farenin akciğerinde makroskopik olarak milier lezyonlar şeklinde saptandı.

Deney grupları içinde histopatolojik olarak tüberkülom saptanan diğer üç farede makroskopik olarak bir lezyon görülmedi. Histopatolojik olarak görülen bu lezyonlar; C grubunda gözlemin on sekizinci gününde ölen 1 (% 10) farenin akciğerinde, altı haftalık gözlem süresi sonunda öldürülen A grubundan 1 (% 10) farenin, C grubundan 1 (% 11,2) farenin karaciğerinde görüldü.

Sonuç olarak tüberkülomların gelişmesi yönünden dozlar ve kontrol grubu arasındaki farklılık önemsiz bulundu.

Tüberkülomlar, periferde, fibröz doku ile çevrelenmiş, bunun hemen altında lenfositler, epitelooid histiositler, Langhans tipi dev hücreler ve merkezde değişen oranlarda kazeifikasyon nekrozunun yer aldığı tüberkülozdaki kronik granümatöz yangısal reaksiyonda görülen çok sayıdaki granülomlardan oluşan lezyonlardır (33, 90). Kobay veya tavşanlarda yapılan deneysel çalışmalarda tüberkülomların oluşması için geçen süre *M. bovis*'in IV verilmesinden sonra 2 - 3 haftadır. Yine aynı deneysel çalışmalarda tüberkülomlar meydana gelmeden önce nonspesifik reaksiyonların oluştuğu gösterilmiştir. Basilin IV verilmesinden sonra 12 saat içinde organlarda, özellikle akciğerlerde kapillerden PMNL emigrasyonu olur. İkinci ve üçüncü günde makrofajlar bu alana gelir. Bu makrofajların bir kısmı Langhans tipi dev hücrelerine dönüşür. Kazeifikasyon nekrozunun 10 - 12 gün sonra mikroorganizmaya karşı gelişen hipersensitivite reaksiyonu sonucunda meydana geldiği ileri sürülmektedir (90).

Tipik granülomun oluşumundan önceki evrede görülen nonspesifik histopatolojik değişiklikler spesifik tanı için yeterli değildir. Ancak çalışmada; kontrol grubundaki farelerden 3 (% 30) tanesinde akciğerlerinde alveol boşluğu içinde dağılmış seyrek PMNL'ler ve bunların 2 (% 20) tanesinde ayrıca perivasküler alanda yoğunlaşan PMNL ve lenfositlerin yer aldığı hücrel infiltrasyon izlendi.

A grubundaki altı haftalık gözlem süresi sonunda öldürülen 9 farenin 3 (% 30) tanesinde akciğerlerinde alveoller içinde ve interalveoler septada PMNL'ler izlendi.

Aynı gruptaki gözlem süresi sonunda öldürülenlerden 1 (% 10) farenin karaciğerinde iki adet abse odağı izlendi. Bu odak periferde fibröz doku ve bunun hemen altında bol miktarda PMNL ve nekrotik hücre artıklarından meydana gelmekteydi.

B grubundaki 10 fareden gözlemin altıncı ve on birinci günlerinde ölen 2 (% 22,3) farede, bazı alveol boşlukları içinde ve interalveoler septada PMNL ve seyrek lenfositlerin yer aldığı yangısal reaksiyon görüldü.

C grubundaki 10 fareden, altı haftalık gözlem süresi sonunda öldürülen 8'inin 4 (% 40)'ünde alveol boşlukları içinde ve perivasküler alanda lenfositlerden zengin yangısal reaksiyon görüldü.

D grubundaki 10 fareden, gözlemin yirmi ikinci günü ölen 1 (% 11,2) tanesi, altı haftalık gözlem süresi sonunda öldürülen 8 farenin 7 (% 77,7) tanesinde olmak üzere toplam 8 (% 88,8) farenin akciğerlerinde perivasküler alanda belirgin lenfositler, plazma hücreleri, histiositler ve seyrek PMNL'lerden oluşan yangısal reaksiyon görüldü.

Tüberküloz öncesinde görülen akut, primer non-spesifik değişiklikler olarak yorumlayabileceğimiz değişiklikler gözlem süresi içinde ölen farelerde araştırıldı. Altı hafta olan gözlem süresi sonunda öldürülen farelerdeki değişiklikler bu kapsamın dışında bırakıldı. Buna göre B grubundan 2 (% 20), D grubundan 1 (% 11,2) farenin akciğerinde alveol içi ve interalveoler septada PMNL infiltrasyonu erken reaksiyonlar olarak yorumlandı.

Tüberküloz profilaksisinde kullanılan BCG'nin değişik aşı suşlarınının değişik aşı komplikasyonları bulunmaktadır (8, 51, 71-74). Bunlardan en sık görüleni aynı taraf aksiller veya supraklaviküler lenf ganglionunda aşından 3 - 6 hafta sonra % 1 - 12 oranında gelişen basit, 2 - 12

hafta sonra % 0.1-4 oranında gelişen süpüratif lenfadenittir (8, 51, 71-74). Yaygın ama hafif görülen diğer bir komplikasyon uygulama yerinde gelişen subkutan abselerdir (51, 71-74).

Pringle ve arkadaşları lenfadenit komplikasyonunun daha sık oluşmasında uygulanan aşı dozu, liyofilize aşının homojenizasyonunun yeterli yapılamaması ve kullanılan iğne ve enjektörlerin yanlış seçiminden kaynaklandığını belirtmektedirler (71).

Helmick ve arkadaşları ise bu komplikasyonun nedeninin BCG ile verilen canlı jerm sayısının miktarı (doz), aşının uygulama yolu olarak subkutan verilmesi ve kullanılan aşı süşuna bağlı meydana geldiğini belirtmektedirler (72).

Profilaksi nedeniyle uygulandığında gözlenen diğer komplikasyonlar osteomyelit, lupus vulgaris, eritema nodosum, iritis veya BCGitis oldukça nadirdir (71, 72, 74). BCGitis milyonda 0,72 oranında gelişir. Daha çok immün sistemin baskılandığı kişilerde ortaya çıkmaktadır (14, 71, 72, 75).

Mesane tümörlerinde nonspesifik aktif immünoterapide kullanıldığında kendiliğinden iyileşen hematüri, disüri gibi iritasyon semptomları ve epididimit gelişebilir. Ayrıca mesane tümörlerinde, malign melanom ve over karsinomu olgularında nadiren granülomatöz hepatit, renal granülomlar, Pott hastalığı ya da geç komplikasyon olarak 6 - 12 ay sonra BCGitis geliştiği bildirilmiştir (61, 62, 76-82).

Nonspesifik aktif immünoterapide görülen bu komplikasyonların nedeni, basilin kana karışması, dormant asite rezistan reaktivasyon ve hipersensitivite reaksiyonu olarak kabul edilmektedir (61, 62, 76-79).

Steg ve arkadaşları, Kelleher ve arkadaşları ile Monte ve arkadaşları ise BCGitis'in basilin direkt kana karışmasından meydana geldiğini ileri sürmektedirler (62, 76, 79).

Deney sonucuna göre BCG uygulanması ile farelerin birinin akciğerlerinde kazeifiye tüberküloz, diğer bir farede nonkazeifiye tüberküloz, iki ayrı farenin ise karaciğerinde nonkazeifiye tüberkülozun varlığı saptandı. Tüberküloz gelişiminin basilin IP yolla uygulama sonucu basilin direkt kana karışması ile olduğu kabul edilmektedir.

Çalışmada karaciğerde saptanan vakuoller dejenerasyon, yağlı dejenerasyon, glikojen içeriğinde azalma, fokal nekroz ve nükleer pleomorfizm gibi histopatolojik değişikliklerin görülmesi direkt basilin etkisi ile açıklanamamaktadır. Burada mediatör rol oynadığı düşünülen TNF- α 'nın karaciğerdeki bu değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Dejeneratif değişikliklerden biri olan vakuoller dejenerasyonun kontrol grubu ve deney gruplarında görülme oranları araştırıldığında kontrol grubunda 1 (% 10) farede vakuoller dejenerasyon saptanırken, A grubundaki 10 farenin hiç birinde vakuoller dejenerasyon görülmedi. Diğer gruplarda görülen vakuoller dejenerasyon gözlem süresi sonunda öldürülen farelerde izlendi. B grubunda 4 (% 44,5), C grubunda 4 (% 40), D grubunda 1 (% 11,2) farede vakuoller dejenerasyon saptandı.

Değişen dozlarda uygulanan BCG'nin deney grupları ve kontrol grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirildi. Oran değer değişikliğine bağlı olarak B ve C grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı

fark bulundu ($t: 1,75; p > 0,05, p < 0,10$). A ve D grupları ile kontrol grubu arasındaki farklılık önemsizdi ($p > 0,05$).

Buna göre vakuoler dejenerasyonun artan BCG dozları ile ilişkili bulunmayıp, B ve C grubunda ise ancak denek sayısı artırıldığında önemli olan bir bulgu olarak yorumlandı.

Diğer bir değişiklik olan yağlı dejenerasyonun kontrol grubu ve deney gruplarında görülme oranları araştırıldığında kontrol grubunda altı haftalık gözlem süresi sonunda öldürülen farelerin 3 (% 30) tanesinde yağlı dejenerasyon saptanırken, bunlardan bir tanesinde yağlı dejenerasyonun yanısıra vakuoler dejenerasyon da bulunmaktaydı. A ve D gruplarında, altı haftalık gözlem süresi sonunda öldürülenlerden olmak üzere 1'er (% 10 - 11,2) farede yağlı dejenerasyon izlendi. B ve C grubundaki farelerin hiç birinde yağlı dejenerasyon görülmedi. Bu oranlar arasındaki fark, istatistiksel olarak önemsizdi ($p > 0,05$).

Yağlanma, hepatositlerde lipidin anormal birikimi ile karakterli değişikliktir. Biriken yağın miktarı, yapımı ve mobilizasyonu arasındaki dengeye bağlıdır. Normal şartlarda lipidler karaciğere yağ depolarından ve diyetle alınan serbest yağlardan gelir (33, 87, 90).

Karaciğer hücresinde fazla miktarda trigliseridinin birikim nedenleri; fazla miktarda yağ asidi girmesi, yağ asidi sentezinin artması, yağ asidlerinin trigliseridlere dönüşmesinin artması, karaciğer hücresinden atılımı için gerekli apoprotein sentezinin azalması ve karaciğerden lipoprotein sekresyonunun zalmasındadır (33).

Deney gruplarından A ve D grubundan sadece birer farede yağlı dejenerasyon saptanırken, kontrol grubundan 3 (% 30) farede izlendi. Kontrol grubunda görülen

ve deney gruplarında ise toplam iki farede görülen bu yağlı dejenerasyonun verilen artan BCG dozları ile ilişkisi saptanmadı.

BCG verilen gruplarda yağlanmanın hiç görülme-yişi ya da birer farede olmak üzere çok az, buna karşın kontrol grubundaki 10 farenin 3 (% 30)'ünde görülmesi, bu farkın BCG verilmesi ile uyarılan ve yağlanmayı engelleyici mediatör rol oynayan bir madde aracılığıyla gerçekleştiğini düşündürülebilir. Burada mediatör rol oynayan TNF - α sorumlu tutulmaktadır.

Tracey ve arkadaşları, TNF - α 'nın yağlanmayı, lipolizisi artırarak engellediğini belirtmektedirler (20).

Beutler ve Cerami ise buradaki TNF - α 'nın sistemik lipoprotein lipaz aktivitesini azaltarak yağ asidlerinin hücre içine alınmasını inhibe ettiğini ve bu nedenle yağlanmanın olmadığını, dolayısıyla kaşeksinin oluştuğunu ileri sürmektedirler (22). TNF - α 'nın rol oynadığı bu değişikliklerde beraberinde paradoksal lipemi söz konusudur (20, 22). Bu da yukarıda vurgulamaya çalıştığımız mekanizmayı destekleyen bir bulgudur.

Çalışmamızda glikojen içeriğinde azalma PAS boyası ile araştırıldı. Buna göre; kontrol grubundaki farelerin hiç birinde glikojen içeriğinde azalma görülmedi. A grubundan, biri gözlemin on altıncı günü ölen, 2 (% 20) tanesi gözlem süresi sonunda öldürülen farelerden olmak üzere toplam 3 (% 30) farede glikojen içeriğinde azalma saptandı. B grubundan 2 tanesi gözlemin altıncı ve on birinci günlerinde ölen fareler, 2 tanesi gözlem süresi sonunda öldürülen fareler olmak üzere toplam 4 (% 44,5) farede glikojen içeriğinde azalma saptandı. C grubundan

2 tanesi gözlemin on ikinci ve on sekizinci günü ölen farelerden olmak üzere 3 (% 30) farede, D grubunda 2 (% 22,3) tanesi gözlemin on ikinci ve on sekizinci günü ölen fareler olmak üzere glikojen içeriğinde azalma saptandı.

Bu oranlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde B grubu ile kontrol grubu arasındaki fark önemli ($t: 2,5; p < 0,05$), A ve C grubu ile kontrol grubu arasındaki fark oran değer değişikliğine bağlı olarak önemli ($t: 2; p > 0,05, p < 0,10$), D grubu ile kontrol grubu arasındaki fark önemsiz bulundu ($p > 0,05$).

İstatistiksel olarak anlamlı bulunan B grubu ile oran değer değişikliğine bağlı olarak anlamlı bulunan A ve C gruplarındaki farelerin karaciğer hücrelerindeki glikojen içeriğindeki azalma TNF - α 'nın glikojenolizisi artırması yoluyla gerçekleştiği kabul edilebilir. Nitekim Tracey ve arkadaşları, Beutler ve arkadaşları, in vitro çalışmalarda TNF - α 'nın glikojenolizisi artırdığını göstermişlerdir (20, 22).

Ayrıca A ve C grubundaki farelerde olaya tüberkülomların eşlik etmesi yangısal reaksiyonlarda TNF - α 'nın mediatör rolünü de yansıtmaktadır. Yangısal reaksiyonlarda TNF - α ve IL - 1 aracılığı ile bir yandan endotel yüzeyine lenfosit ve PMNL'lerin adezyonunu artırması, diğer yandan prokoagülan aktiviteyi artırması ayrıca endotel hücrelerinden PG sentezini de uyararak iskemik zedelenmeye yol açtığı bilinmektedir (20, 22-26, 33).

Anaerobik glikoliz yoluyla meydana gelen fosfat esterlerinin hidrolizi, laktik asid ve inorganik fosfatların birikmesi ile hücre içi pH düşer. Bu, bir yandan nükleer kromatinde kümeleşmeye, diğer yandan da hücrenin iyon denge-

sindeki değişikliğe neden olur. Zedeleyici ajanın etkisinin devam etmesi halinde membran zedelenmesi lizozomal enzimlerin açığa çıkışı ile hücre içi komponentler sindirilir. Nükleus, büzülerek küçülür. Bunu karyolizis ya da karyoreksiz izler (33, 90).

Çalışmada kalitatif olarak değerlendirdiğimiz nükleer pleomorfizm (+), deney grupları ve kontrol grubundaki hayvanların tümüne yakınında izlendi.

Nükleer pleomorfizm (++) ise kontrol grubunda hiç bir farede izlenmedi. Gözlem süresi sonunda öldürülenlerden olmak üzere A grubundan 2 (% 20), B grubundan 4 (% 44,5), C grubundan 4 (% 40) ve D grubundan 1 (% 11,2) farede saptandı.

Bu oranlar, A ve D grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemsizdi ($p > 0,05$). B ($t: 2,5; p < 0,05$) ve C ($t: 2,35; p < 0,05$) gruplarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bulundu. Bu oranlara göre doz ile ilişkili olmayan şiddetli olarak da tanımlanabilen nükleer pleomorfizm (++) , B ve C grubunda anlamlıydı.

Bu nükleer değişikliklerin yine hücre zedelenmesine neden olan bir mediatör aracılığıyla meydana geldiği düşünülmektedir. Daha öncede anlatıldığı gibi pH'nın düşmesi, lizozomal enzimlerin açığa çıkması, nükleer değişikliklerin meydana gelmesine neden olmaktadır (33).

Çalışmada fokal nekrozun deney grupları ve kontrol grubunda görülme oranı ve lobülüs içinde dağılımı bakımından değerlendirildiğinde kontrol grubundaki 10 (% 100), A grubunda 10 (% 100), B grubunda 8 (% 88,9), C grubunda 10 (% 100), D grubunda 9 (% 100) farede fokal nekroz sap-

tandı. Kontrol grubundaki fokal nekrozlar az sayıda olup belirgin bir zonal dağılım göstermiyordu. Ancak deney gruplarındaki farelerde izlenen nekrozların hepsi Z_2 'de daha fazla olmak üzere, daha az olarak da Z_1 ve Z_3 'de izlendi.

Deney grupları ile kontrol grubu arasında fokal nekrozun görülme oranı bakımından fark istatistiksel olarak önemsiz olmasına karşın ($p > 0,05$), fokal nekrozun dağılımı yönünden anlamlı idi ($p < 0,05$). Bu daha çok Z_2 'de meydana gelen bu nekrozların iskemik zedelenmeden farklı bir mekanizmasının olabileceğini düşündürdü.

Yapılan deneysel çalışmalarda prokoagülan aktiviteyi artıran TNF - α ve IL - 1'in beraberinde antikoagülan aktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (20, 22-26, 33). Bu olay karaciğerde fibrin depolanması ve trombosit topluluklarının meydana gelmesi ve sinüzoidlerde mikrotrombüslerin oluşmasına neden olur. Bu şekilde mikrosirkülasyonda meydana gelen bu bozukluk kendini öncelikle Z_2 'de, daha sonra diğer zonlarda nekroz şeklinde gösterir (44, 48, 49).

TNF - α ve IL - 1 aracılığıyla meydana gelen iskemik doku zedelenmesi sonucunda Z_3 'de fokal nekrozların daha fazla olması beklenirdi. Ancak burada bazı araştırmacıların özellikle mikrosirkülasyon bozukluğu nedeniyle meydana gelen nekrozların Z_2 'de bulunması ve daha sonra diğer alanlarda bulunması dikkat çekicidir (44, 48, 49).

Deney gruplarında özellikle Z_2 'de izlenen bu fokal nekrozlar sirkülasyon bozukluğuna yol açan bir mediatör aracılığı ile oluştuğu görüşünü desteklemektedir.

Karaciğer dokusunda meydana gelen diğer histopatolojik değişikliklerden bulanık şişme, tüm farelerde 48

(% 100), safra pigmenti kontrol grubunda 2 (% 20), hemoside-
rin pigmenti kontrol grubunda 1 (% 10), A ve D grubunda
1'er (% 10 - 11,2) farede, Kupffer hücre hiperplazisi A
grubundan biri hariç hepsinde, v. centraliste konjesyon
tüm farelerde izlendi. Portal alanda konjesyon kontrol
grubunda 9 (% 90), A grubunda 8 (% 80), B grubunda 9 (%
100), C grubunda 9 (% 90), D grubunda 9 (% 100) farede,
duktal dilatasyon kontrol grubunda 3 (% 30), B grubunda
2 (% 22,3), D grubunda 1 (% 11,2) farede görüldü.

Ekstramedüller hemopoezis ise kontrol grubunda
3 (% 30), A grubunda 2 (% 20), B grubunda 2 (% 22,3), C
grubunda 3 (% 30), D grubunda 2 (% 22,3) farede görüldü.
İnsanlarda fötal hayat ve yeni doğan evresinin ilk haftasın-
da karaciğerde normalde hemopoezis odakları görülmesine
karşın erişkin dönemde anemi veya myeloproliferatif hasta-
lıklarda ekstramedüller hemapoezis olur (33, 87, 88, 90,
91). Erişkin dönemdeki farelerde ise normalde ekstramedüller
hemopoezis odakları bulunabileceği bilinmektedir (92).

Bu çalışmada BCG'nin nadir görülen komplikasyon-
larından bir olan BCGitis yanısıra, karaciğerde vakuoler
dejenerasyon, yağlanma, glikojen içeriğinde azalma, fokal
nekroz ve nükleer pleomorfizm gibi histopatolojik bulgular
ile artan BCG dozları arasında belirgin bir fark görülmedi.
Ancak kontrol grubu ile deney grupları karşılaştırıldığında
anlamlı hepatoselüler değişiklikler saptandı. Bu değişiklik-
lerin mediatör rol oynayan herhangi bir sitokin aracılığı
ile olabileceği düşünülmele beraber bulgular, bu sitokinin
BCG kullanımı ile salınan TNF - α ile oluştuğu görüşünü
desteklemektedir. Diğer bir deyişle LPS olsun veya olmasın
yalnızca BCG kullanımının TNF - α 'nın başlattığı endotel

harabiyeti ve bunun sonuçlarının karaciğer dokusunda histopatolojik olarak kendini gösterdiği söylenebilir.



SONUÇLAR

BCG'nin 45 - 50 gr. ağırlığındaki albino farelere değişik dozlarda IP enjeksiyonu ile akciğer ve karaciğerde meydana gelen morfolojik değişiklikler iki grupta ele alındı. Bunlar:

A. BCG'ye bağlı direkt etkiler:

1. Gözlem süresi içinde ölen farelerin 3 (% 6.3) tanesinin akciğerlerinde akut primer nonspesifik yangısal reaksiyon görüldü.

2. Gözlem süresi içinde ölen A grubundan 1 (% 10) farenin akciğerlerinde, C grubundaki 1 (% 10) farenin karaciğerinde, gözlem süresi sonunda öldürülen C grubundan 1 (% 10) farenin akciğerlerinde, A grubundan 1 (% 10) farenin karaciğerinde olmak üzere toplam 4 ayrı farede kronik granülomatöz yangısal reaksiyon görüldü.

B. BCG'nin bilinen etkileri dışında ortaya çıkan indirekt histopatolojik değişiklikler:

1. BCG'nin değişik dozlarda verilmesi ile karaciğerde çeşitli histopatolojik değişiklikler oluşturuldu. Bunlar arasında vakuoler dejenerasyon, yağlanma, glikojen içeriğinde azalma, fokal nekroz, nükleer pleomorfizm sayılabilir.

2. Bu bulguların ışığı altında BCG verilen farelerde meydana gelen karaciğer değişikliklerinin TNF - α 'nin oluşturduğu değişikliklere çok büyük benzerlik gösterdiği saptandı.

ÖZET

Bu çalışma, 45 - 50 gr. ağırlığında farelere BCG vererek akciğer ve karaciğerlerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerle TNF - α salınımının sadece BCG verilerek uyarılıp uyarılmadığını saptamak ve nadir de olsa BCG'nin hem tüberküloz profilaksisi hem de nonspesifik aktif immünoterapide görülen yan etkilerinin TNF - α ile ilişkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapıldı.

Deneyde toplam 50 fare kullanıldı. 10'ar fareden oluşan deney gruplarına 5×10^4 canlı jerm içeren 0.05 ml. BCG (A grubu), 1×10^5 canlı jerm içeren 0.1 ml. BCG (B grubu), 2×10^5 canlı jerm içeren 0.2 ml. BCG (C grubu), 4×10^5 canlı jerm içeren 0.4 ml. BCG (D grubu) IP yolla uygulandı. Kontrol grubundaki farelere 0.05 ml. sodyum klorür % 0.9 izotonik sudaki solüsyonundan verildi. Tüm farelerde gözlem süresi 6 hafta olarak belirlendi. Gözlem süresi içinde değişik günlerde ölen 6 fareye otopsi yapıldı. Deney sırasında iki farenin kafesteki diğer fareler tarafından parçalanması nedeniyle organlarındaki morfolojik değişiklikler inceleneemedi. Gözlem süresi sonunda kalan 42 farenin hepsine otopsi yapıldı.

BCG'nin albino farelerin akciğer ve karaciğer dokuları üzerindeki etkileri iki ana grupta toplandı:

A. BCG'ye bağlı direkt etkiler:

1. Gözlem süresi içinde ölen B grubunda 2 (% 20), D grubundan 1 (% 11.2) farenin akciğerlerinde akut primer nonspesifik yangısal reaksiyon görüldü.

2. Gözlem süresi sonunda öldürülen kontrol grubundan hiçbir farede kronik granümatöz yangısal reaksiyon izlenmedi. A ve C grubundan birer farenin karaciğerinden ve aynı gruplardan birer farenin akciğerinde kronik granümatöz yangısal reaksiyon saptandı.

B. BCG'nin bilinen etkileri dışında ortaya çıkan indirekt histopatolojik değişiklikler:

BCG'nin değişik dozlarda verilmesiyle karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişikliklerden kontrol grubu ile deney grupları arasındaki farklılığın anlamlı bulunduğu vakuoler dejenerasyon, hepatositlerin glikojen içeriğinde azalma, nükleer pleomorfizm, fokal nekroz ve ilişkili bulunan yağlanma esas olarak değerlendirildi.

Vakuoler dejenerasyonun hepsi gözlem süresi sonunda öldürülen farelerde izlendi. Kontrol grubunda hiçbir farede bu değişikliğe rastlanmadı. A grubunda hiçbir farede gözlenemezken, B grubunda 4 (% 44,5), C grubunda 4 (% 40), D grubunda ise 1 (% 11,2) farede histopatolojik bir bulgu olarak karşımıza çıktı.

Yağlanma kontrol grubunda 3 (% 30) farede izlenirken, A ve D grubunda birer farede (% 10 - 11,2) saptandı. B ve C grubunda hiçbir farede yağlanma gözlenmedi.

Hepatositlerin glikojen içeriğinde azalma kontrol grubunda hiçbir farede dikkati çekmedi. Buna karşın A grubunda 3 (% 30) (bir tanesi gözlem süresi içinde öldü), B grubunda 4 (% 44,5) (iki tanesi gözlem süresi içinde öldü), C grubunda 3 (% 30) (iki tanesi gözlem süresi içinde öldü) ve D grubunda da 2 (% 21,2) farede hepatositlerin glikojen içeriğinde azalma saptandı.

Hafif nükleer pleomorfizm kontrol ve deney gruplarını oluşturan farelerin tümünde saptanan bir bulgu olmasına karşın belirgin formu A grubunda 2 (% 20), B grubunda 4 (% 44,5), C grubunda 4 (% 40) ve D grubunda 1 (% 11,2) farede izlendi. Kontrol grubunu oluşturan farelerin hiçbirinde ise belirgin nükleer pleomorfizm görülmedi.

Fokal nekroz görülme oranları arasındaki farklılık yönünden kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamlı bir sonuç elde edilmedi. Ancak, nekroz odaklarının lokalizasyonu yönünden önemli farklılıklar dikkati çekti. Kontrol grubunda belirgin bir zonal patern göstermeyen fokal nekroz alanlarının deney gruplarında, özellikle Z_2 'de yoğunlaştığı belirlendi.

Karaciğer dokusunda izlenen diğer histopatolojik değişikliklerin görülme oranları yönünden kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Bu bulgular ışığında değişik dozlarda BCG verilen farelerin karaciğerlerinde görülen değişikliklerin TNF - α 'nın bilinen etkileriyle büyük benzerlik gösterdiği belirlendi. Ancak bu değişikliklerin artan doz ile bir ilişkisi saptanmadı.

Sonuç olarak, değişik dozlarda BCG verilen farelerde doz ile ilişkili olmayan tüberkülomların gelişebileceği, ayrıca karaciğerde görülen değişikliklerin TNF - α 'nın etkileriyle büyük benzerlik gösterdiği ve yine bu değişikliklerin artan doz ile ilişkili olmadığı ortaya kondu.

KAYNAKLAR

1. Willet HP. Mycobacterium. In: Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfert CM, eds. Zinsser microbiology. USA: Prentice - Hall International Inc., 1988: 423 - 48.
2. Gülmezoğlu E. Bağışıklığın temelleri: İnfeksiyonlara karşı bağışıklık. 3. baskı Ankara: Sevinç Matbaası, 1983: 181.
3. Berlin OGW. Mycobacteria. In: Baron EJ, Finegold SM, eds. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1990: 597 - 640.
4. Bilgehan H. Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları: Mycobacteriaceae. 4. baskı. İzmir: Bilgehan Basımevi, 1983: 338.
5. Unat EK. Tıp bakteriyolojisi ve virolojisi: Mycobacterium cinsi. 1. baskı. İstanbul: Emek Matbaacılık, 1982: 312.
6. Floyd WD. Infectious diseases. In: Behrman RE, Vaughan 111 VC, Senior Editor Nelson WE, eds. Nelson textbook of pediatrics. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1987: 544 - 755.
7. Leventhal BG, Konior GS. Immunologic treatment of neoplasms in man. In: Green I, Cohen S, McCluskey RI, eds. Mechanisms of tumor immunity. USA: John Wiley Sons, Inc. 1977: 215 - 48.
8. Yalçın I. BCG aşısı. XXII. Türk Mikrobiyoloji Kongre kitabı. ed. Doç. Dr. Gülendame Saygı, Sivas: Emek Matbaası, 1986: 53 - 6.
9. Styblo K, Meijer J. Impact of BCG vaccination programmes in children and young adults on the tuberculosis problem. In: Selected papers. Holland: The Royal Netherlands Tuberculosis Association 7 Riouwstraat - The Hague, 1977; 17: 5 - 37.

10. Klein G. Tumour immunology. In: Fougereau M, Dausset J, eds. Immunology 80. London: Academic Press, 1980: 680-7.
11. Fudenberg HH, Wybran J. Experimental immunotherapy. In: Fudenberg HH, Stites DP, Caldweel JL, Wells JV, eds. Basic clinical immunology. Los Altos, California: Lange Medical Publications, 1980: 722 - 36.
12. Rook G. Cell - mediated immune responses. In: Roitt IM, Brostoff J, Male DK, eds. Immunology. London, Churchill, Livingstone: Gower Medical Publishing, 1989: 9.1 - 9.14.
13. Böhle A, Nowc CH, Ulmer AJ, et al. Elevations of cytokines interleukin - 1, interleukin - 2 and tumor necrosis factor in the urine of patients after intravesical bacillus Calmette - Guerin immunotherapy. J. Urol 1990; 144: 59 - 64.
14. Stilmant M, Siroky MB, Johnson KB. Fine needle aspiration cytology of granulomatous prostatitis induced by BCG immunotherapy of bladder cancer. Acta Cytol 1985; 29 (6): 961 - 6.
15. Klein WR, Steerenberg PA, Poelma F, et al. Immune reactivity in cattle with ocular squamous cell carcinoma after intralesional BCG immunotherapy. Cancer Immunol Immunother 1986; 22: 87-94.
16. Oettgen HF. Biological agents in cancer therapy: cytokines, monoclonal antibodies and vaccines. J Cancer Res Clin Oncol 1990; 116 (1): 116 - 9.
17. Mısırlıgil Z. Akciğer kanserinde BCG ile immün tedavi. Tüberküloz ve Toraks 1984; 32 (2): 80 - 3.

18. Lage JM, Bauer WC, Kelley DR, Ratliff TL, Catalona WJ. Histological parameters and pitfalls in the interpretation of bladder biopsies in bacillus Calmette - Guerin treatment of superficial bladder cancer. J Urol 1986; 135 (May): 916 - 9.
19. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary bacillus Calmette - Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. J Urol 1976; 116 (Aug): 180 - 3.
20. Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin / Tumour necrosis factor. Lancet 1989; 20 (May): 1122 - 6.
21. Atabey N, Gökoğlu M, Atabey A. Tümör nekroz faktörü. Ç. Ü. Tıp Fak. Der. 1989; 3: 458 - 64.
22. Beutler B, Cerami A. Cachectin: More than a tumor necrosis factor. N Engl J Med 1987; 316 (7): 379 - 85.
23. Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). Science 1985; 230 (4726): 630 - 2.
24. Carswell EA, Old LJ, Kassel LR, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin - induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc Nat Acad Sci USA 1975; 72 (9): 3666 - 70.
25. Matthews N. Tumour - necrosis factor from rabbit III. Relationship to interferons. Br J Cancer 1979; 40: 534 - 9.
26. Bauss F, Dröge W, Männel DN. Tumor necrosis factor mediates endotoxic effects in mice. Infect Immun 1987; 55 (7): 1622 - 5.
27. Satoh M, Inagawa H, Minagawa H, et al. Endogenous production fo TNF in mice long after BCG sensitization. J Biol response Mod 1986; 5: 117 - 23.
28. Grau GE, Taylor TE, Molyneux ME, et al. Tumor necrosis factor and disease severity in children with falciparum malaria. N Engl J Med 1989; 15 (June): 1586 - 91.

29. Silva C, Foss NT. Tumor necrosis factor in leprosy patients. *J Infect Dis* 1989; 159 (4): 787 - 90.
30. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, et al. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* 1988; 318 (23): 1481 - 6.
31. Beutler B, Cerami A. Cachectin - Tumour necrosis factor: A cytokine that mediated injury initiated by invasive parasites. *Parasitol Today* 1987; 3 (11): 345 - 6.
32. Fayer R, Andrews C, Dubey JP. Lysates of *Sarcocystis cruzi* Bradizoides stimulate raw 264,7 macrophages to produce tumor necrosis factor (cachectin). *J parasit* 1988; 74 (4): 660 - 2.
33. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease: Inflammation and repair. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1989: 39.
34. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987; 79: 319 - 24.
35. Ruco LP, Stoppacciaro A, Pomponi D, et al. Immunoreactivity for IL - 1 beta and TNF alpha human lymphoid and nonlymphoid tissues. *Am J Pathol* 1989; 135 (5): 889 - 97.
36. Mc Call JL, Yun K, Funamoto S, Parry BR. In vivo immunohistochemical identification of tumor necrosis factor / Cachectin in human lymphoid tissue. *Am J Pathol* 1989; 135 (3): 421 - 5.
37. Eberlein - Gonska M, Noronha IL, Waldherr R. Tumornekrosefaktor bei entzündlichen Nierenerkrankungen. *Verh Dtsch Ges Path* 1990; 74: 487.

38. Matsumura H, Nakano M. Endotoxin - induced interferon - γ production in culture cells derived from BCG - infected C3H/HeJ mice. *J Immunol* 1988; 140 (2): 494 - 590.
39. Kajikawa T, Shimada Y, Oshima H, Yamazaki M, Mizuno D. Endogenous production of TNF - like cytotoxic factor in BCG - primed mice by heterologous fibrinogen. *J Biol Response Mod* 1987; 6 (1): 88 - 95.
40. Neale ML, Matthews N. Antimicrobial effects of a macrophage - derived cytotoxin from the serum of BCG - primed rabbits (Tumour necrosis factor). *J Med Microbiol* 1984; 17: 211 - 3.
41. Groote MA, Martin MA, Densen P, Pfaller MA, Wenzel RP. Plasma tumor necrosis factor levels in patients with presumed sepsis. *Jama* 1989; 262 (2): 249 - 51.
42. Aggarwall BB, Kohr WJ, Hass PE, et al. Human tumor necrosis factor. Production, purification and characterization. *J Biol Chem* 1985; 260 (4): 2345 - 54.
43. Beutler B, Krochin N, Milsark IW, Luedke C, Cerami A. Control of cachectin (Tumor necrosis factor) synthesis: Mechanisms of endotoxin resistance. *Science* 1986; 232 (May): 977 - 80.
44. Fukushima H, Ikeuchi J, Tohkin M, Matsubara T, Harada M. Lethal shock in phartially hepatectomized rats administered tumor necrosis serum. *Circ Shock* 1988; 26: 1 - 14.
45. Kettelhut IC, Fiers W, Goldberg AL. The toxic effects of tumor necrosis factor in vivo and their prevention by cyclooxygenase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84 (June): 4273 - 7.

46. Sun X, Hsueh W, Torre - Amione G. Effects of in vivo 'priming' on endotoxin induced hypotension and tissue injury. The role of PAF and tumor necrosis factor. Am J Pathol 1990; 136 (4): 949 - 56.
47. Peavy DL, Baughn RE, Musher DM. Effects of BCG infection on the susceptibility of mouse macrophages to endotoxin. Infect Immun 1979; 24 (1): 59 - 64.
48. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. Science 1986; 234 (Oct): 470 - 4.
49. Düzcan E. Siklofosfamid ve steroid verilen farelerde oluşturulan deneysel E. coli sepsisinde uygulanan farklı tedavilerin karaciğer histopatolojisi üzerine etkileri (Tez), Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi, 1990.
50. Stark JM, Jackson SK, Taylor S, Davies I, Harwood JL. The effect of endotoxin on membran fatty acid composition in BCG - sensitized mice. Experientia 1990; 46: 472 - 4.
51. Anonymous. BCG: Bad news from India (Editorial). Lancet 1980; 12 (Jan): 73 - 4.
52. Frommel D, Lagrange PH. BCG: modifier of immune responses to parasites. Parasitol Today 1989; 5 (6): 188 - 90.
53. Sarıyüce O, Ayhan A, Özen H, Gedikoğlu G. Yüzeysel mesane tümörlerinde profilaktik intrakaviter BCG tedavisine bağlı histopatolojik değişiklikler. VIII. Ulusal Patoloji Kongre Kitabı Ankara; 1988: 212 - 5.
54. Lamm DL. Bacillus Calmette - Guerin immunotherapy for bladder cancer. J Urol 1985; 134: 40 - 3.

55. Marans HL, Bekirov HM, Granulomatous hepatitis following intravesical bacillus Calmette - Guerin therapy for bladder carcinoma. J Urol 1987; 137 (Jan): 111 - 2.
56. Merguerian PA, Donahue L, Cockett ATK. Intraluminal interleukin 2 and bacillus Calmette - Guerin for treatment of bladder cancer: a preliminary report. J Urol 1987; 137 (Feb): 216 - 9.
57. Hudson MA, Ritchey JK, Catalona WJ, Brown EJ, Ratliff TL. Comparison of the fibrinonectin - binding ability and antitumor efficacy of various Mycobacteria. Cancer Res 1990; 50 (July): 3840 - 7.
58. Morales A, Pang ASD. Prophylaxis and therapy of an experimental bladder cancer with biological response modifiers. J Urol 1986; 135 (Jan): 191 - 3.
59. De Hertogh D, Fierer E, Orell JA. Hypersensitivity reaction to bacillus Calmette - Guérin treated with plasmapheresis. Am J Med 1989; 86 (March): 343 - 4.
60. De Jong WH, De Boer EC, Van Der Meijden APM, et al. Presence of interleukin - 2 in urine of superficial bladder cancer patients after intravesical treatment with bacillus Calmette - Guérin. Cancer Immunol Immunother 1990; 31: 182 - 6.
61. Sakamoto GD, Burden J, Fisher D. Systemic bacillus Calmette Guérin infection after transurethral administration for superficial bladder carcinoma. J Urol 1989; 142 (Oct): 1073 - 5.

62. Steg A, Leleu C, Debré B, Boccon - Gibod L, Sicard D. Systemic bacillus Calmette - Guérin infection, 'BCGitis', in patients treated by intravesical bacillus Calmette - Guérin therapy for bladder cancer. *Eur Urol* 1989; 16: 161 - 4.
63. Klostergaard J, Leroux ME, Ezell SM, Kull FC. Tumoricidal effector mechanisms of murine bacillus Calmette - Guérin - activated macrophages: mediation of cytolysis, mitochondrial respiration inhibition, and release of intracellular iron by distinct mechanisms. *Cancer Res* 1987; 47 (Apr): 2014 - 9.
64. Laster SM, Wood JG, Gooding LR. Tumor necrosis factor can induced both apoptic and necrotic forms of cell lysis. *J Immunol* 1988; 141 (8): 2629 - 34.
65. Hsu PL, Hsu SM. Production of tumor necrosis factor - α and lymphotoxin by cells of Hodgkin's neoplastic cell lines LDLM - 1 and KM - H2. *Am J Pathol* 1989; 135 (4): 735 - 45.
66. Cavender DE, Edelbaum D, Ziff M. Endothelial cell activation induced by tumor necrosis factor and lymphotoxin. *Am J Pathol* 1989; 134 (3): 551 - 60.
67. Vissers MCM, Fantone JC, Wiggins R, Kunkel SL. Glomerular basement membrane - containing immune complexes stimulate tumor necrosis factor and interleukin - 1 production by human monocytes. *Am J Pathol* 1989; 134 (1): 1 - 6.
68. Balkwill F, Burke F, Talbot D, et al. Evidence for tumour necrosis factor / cachectin production in cancer. *Lancet* 1987; 28 (Nov): 1229 - 32.
69. Scuderi P, Lam KS, Ryan KJ, et al. Raised serum levels of tumour necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* 1986; 13 (Dec): 1364 - 6.

70. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas; with a report of ten original cases. *Am J Med Sci* 1893; 105: 487 - 511.
71. Pringle D, Ray CS, Legg W, Mbengeranwa OL. Lymphadenitis associated with BCG vaccination: a report of an outbreak in Harare, Zimbabwe. *Cent Afr J Med* 1988; 34 (12): 281 - 6.
72. Helmick CG, D'Souza AJ, Goddard N. An outbreak of severe BCG axillary lymphadenitis in Saint Lucia, 1982 - 83. *West Indian Med J* 1986; 35: 12 - 7.
73. Burdeny DA, Reed MH, Ferguson CA. Calcification of axillary lymph nodes following BCG vaccination. *Can Assoc Radiol J* 1989; 40: 92 - 3.
74. Pehlivan E, Özcan C. Ankara'da BCG aşısı ve PPD uygulayan kuruluşlarda saptanan aşı komplikasyon ve fireleri. *Tüberküloz ve Toraks* 1987; 36 (1): 21 - 29.
75. Boudes P, Sobel A, Deforges L, Leblic E. Disseminated *Mycobacterium bovis* infection from BCG vaccination and HIV infection. *Jama* 1989; 262 (17): 2386.
76. Kelleher MB, Christopherson WA, Macpherson TA. Disseminated granulomatous disease (BCGosis) following chemoimmunotherapy for ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1988; 31: 321 - 6.
77. Kondratowicz, Wallace DMA. Granulomas of the kidney induced by bacillus Calmette Guérin (BCG). *J Clin Pathol* 1989; 42 (4): 442.
78. Stanistic TH, Brewer ML, Graham AR. Intravesical bacillus Calmette - Guérin therapy and associated granulomatous renal masses. *J Urol* 1986; 135: 356 - 8.

79. Monte S, Hutchins GM. Fatal disseminated bacillus Calmette - Guérin infection and arrested growth of cutaneous malignant melanoma following intralesional immunotherapy. *Am J Dermatopathol* 1986; 8 (4): 331 - 5.
80. Jenkins MJ, Kilpatrick. Pulmonary tuberculosis due to BCG. *Br Med J* 1971; 3: 229 - 30.
81. Ritch PS, McCredie KB, Gutterman JU, Hersh EM. Disseminated BCG disease associated with immunotherapy. *Cancer* 1978; 42: 167 - 70.
82. Trevenen CL, Pagtakhan RD. Disseminated tuberculoid lesions in infants following BCG vaccination. *Can Med Assoc J* 1982; 127: 502 - 4.
83. Saygun N. Tüberkülozlu kobaylarda BCG ve PPD ile uyarılmaya bağlı histopatolojik ve bakteriyolojik değişiklikler (Tez), Ankara, Ankara Üniversitesi, 1976.
84. Rosai J. *Ackerman's surgical pathology: Liver*. 7th ed. St. Louis: The C. V. Mosby Company, 1989: 675.
85. Ishak KG, Stromeyer FW. Medical disease of the liver. In: Silverberg SG, ed. *Principles and practice of surgical pathology*. New York: Churchill Livingstone, 1990: 1261 - 316.
86. Yüce G, Yağcı Sayın A. Granülomatöz hepatitler. VIII. Ulusal Patoloji Kongre Kitabı Ankara; 1988: 384 - 7.
87. Weinbren K. The liver. In: Symmers W St. C, ed. *Systemic Pathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1978: 1199 - 302.
88. Scheuer PJ. *Liver biopsy interpretation: The normal liver*. 2nd ed. London; Bailliére and Tindall, 1973: 11.

89. Turhan B. Özel patolojik anatomi: karaciğer. 2. baskı
İstanbul: Hüsnü Tabiat Matbaası, 1960: 90 - 127.
90. Edmondson HA, Peters RL. Liver. In: Anderson WAD,
Kissane JM, ed. Pathology. Saint Louis: The C. V.
Mosby Company, 1977: 1321 - 488.
91. Fawcett DW. Bloom and Fawcett a textbook of histology:
The liver and gallbladder. 11th ed. Philadelphia:
W.B. Saunders Company, 1986: 679.
92. Hummel KP, Richardson FL, Fekete E. Anatomy. In:
Green EL, ed. Biology of the laboratory mouse. McGraw
Hill, 1966: 247 - 307.