

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**YANIKLARIN BAĞIŞIK YANIT ÜZERİNE OLAN
BAZI ETKİLERİNİN HAYVAN DENEYLERİYLE
ARAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

Dr.Hülya Çaşkurlu

İstanbul - 1992

Ö N S Ö Z

Uzmanlık öğrenimim süresince engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, büyük fedakârlık ve gayretle yetiştirmemizi sağlayan, bilim ve araştırma sevgisi aşıl原因, her konuda sabır ve hoşgörü ile yardımını gördüğüm değerli hocam Prof.Dr.Ekrem Kadri Unat'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

Anabilim Dalında çalıştığım süre boyunca yetiştirmemde büyük emeği geçen, araştırma ve disiplinli çalışma konusunda her zaman yardımcı olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı sayın hocam Prof.Dr.Ayhan Yücel'e teşekkür ederim.

Her zaman yakın ilgilerini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden azami derecede yararlandığım değerli hocam Prof.Dr.Yaşar Bağdatlı'ya teşekkür ederim.

Yetiştirmemde emeği geçen Anabilim Dalımızın değerli hocaları Prof.Dr.Kemal Altaş, Doç.Dr.Mustafa Samastı, Doç.Dr.Müzeyyen Mamal Torun, Y.Doç.Dr.Recep Öztürk'e ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yetiştirmemde emeği geçen Prof.Dr.Sina Emre'yi saygı ve rahmetle anarım.

Tez çalışmalarımında yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr.Oğuz Çetinkale, Uzm.Dr.Fadıl Ayan ve Uzm.Dr.Cemal Şenyuva'ya ayrı ayrı teşekkür ederim.

Anabilim Dalında çalıştığım süre boyunca samimi ilgilerini, yakınlıklarını ve yardımlarını esirgemeyen asistan, hemşire, laborant, personel ve bütün mesai arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ayrıca öğrenim ve eğitim hayatım boyunca ilgi ve yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkürü borç bilirim.

Dr.Hülya Çaşkurlu

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
MATERYAL VE METOD.....	14
BULGULAR.....	19
TARTIŞMA.....	25
SONUÇ.....	29
ÖZET.....	30
KAYNAKLAR.....	32

G İ R İ Ő

YANIKLARIN BAĞIŞIK YANIT ÜZERİNE OLAN BAZI ETKİLERİNİN HAYVAN DENEYLERİYLE ARAŞTIRILMASI

Sağlam deri; vücuda girecek mikroplara karşı çeşitli fizik, kimya ve biyoloji özellikleriyle karşı koymakta ve böylece onların içeriye girmesine genellikle engel olmaktadır(35).

Yanıklardan sonra derinin bütünlüğü ve yapısı bozulmakta ve bu bölgede mikroplara karşı koyma gücü de zarara uğramaktadır. Yanıkta meydana gelen ölü doku, mikroorganizmaların üremesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Bu ölü dokudan bağışıklık sistemini baskılayan bazı maddelerin salındığı hayvan deneylerinde gösterilmiş bulunmaktadır(6,26).

Yanıkta derinin koruyucu etkisinin ortadan kalkmasına ilaveten özgöl ve özgöl olmayan bağışıklık sistemi de etkilenmektedir. Birçok araŐtırıcı tarafından hem klinik hem de hayvan deneyleri çalışmalarında çeşitli şekillerde yanık olayının bağışıklık sisteminde bir baskıya yol ağıp ağmadığı araŐtırılmış bulunmaktadır(10,11,12,32).

Yanık yarasının kan dolaşımı bozuk olduğundan dolayı konağın mikroorganizmalara reaksiyonu burada sınırlı kalmakta ayrıca bu bölgenin damar sistemi de bozulduğundan kullanılan antibiyotiklerin dokuya geçişi azalmaktadır(21).

Ciddi yanıklı hastaların tedavisinde infeksiyon her zaman önemli rol oynamaktadır. Bölgeye uygulanan veya genel yoldan verilen antibiyotiklerin hiçbir zaman beklenen sonuçları vermediği ve ilaçlara karşı in vitro duyarlılığın klinik uygulamaya paralel bir etkinlik göstermediği anlaşılmaktadır(14).

Bütün bu sebeplerden dolayı yanıkta meydana gelen infeksiyon yayılmaya eğilimlidir ve sepsise yol açabilmektedir. Antikorlar ve hücreler aracılığıyla gelişen bağışıklıktaki olası yetersizlikten dolayı meydana gelen sepsisin, yanık sonrası ölümlerin en önemli sebebi olduğu ileri sürülmektedir.

Yanık merkezlerinde sepsisin en önemli etkenleri olarak Staphylococcus aureus ve başta Pseudomonas aeruginosa olmak üzere diğer bazı Gram negatif çomakçıklar saptanmaktadır. Daha az sıklıkla diğer mikropolar da etken olabilmektedir(5,22,24,26).

Yanık tedavisi süresince yapılan ameliyatlar, anestezi uygulaması ve verilen antibiyotikler gibi çeşitli etkenler bakteriler üzerine olan dirençte de değişikliklere sebep olduğundan dolayı insanlarda böyle bir ilişkiyi ortaya çıkartmak zordur.

Bu çalışmamızda yanık neticesi organizmanın bakterilere dolayısıyla ile infeksiyona karşı direncinde değişiklik olup olmadığını ve varsa bu değişiklikte antikorlar ve hücreler aracılığıyla gelişen bağışıklıkların rolünü, Pseudomonas aeruginosa'yı hayvan modellerinde kullanarak araştırdık.

GENEL BİLGİLER

Bu bölümde yanıklarla ilgili bazı tanımlar yapıldıktan sonra yanıklarda deri ve mukoza örtüsünde, özgül ve özgül olmayan bağışıklık sisteminde meydana gelen değişiklikler, yanıklı hastalarda bağışıklık sistemini etkileyen diğer faktörler ve bağışık yanıtı araştırmak için yapılan deneyler ile ilgili özet bilgilere yer verilmekte ve çalışmamızda *Pseudomonas aeruginosa*'yı kullandığımızdan dolayı bu bakteri hakkında bazı genel bilgiler sunulmaktadır.

Bazı tanımlar

Vücudun ateş, buhar, sıcak cisimler gibi doku yakan etkenlerle karşı karşıya kalması sonucu gelişen doku harabiyetine yanık denmektedir. Doku harabiyeti, proteinin denatüre olmasına bağlıdır ve yakıcı etken ile karşılaşmanın nitelik ve niceliğiyle ilgili olarak çok değişik derinlik ve genişlikte olabilmektedir(1).

Yanıklar genel olarak birinci, ikinci ve üçüncü derece olarak sınıflandırılmaktadır(7).

Birinci derece yanık sadece epidermisi tutan, derinin koruyucu görevinin zarar görmediği yanıktır ve hiçbir iz bırakmadan iyileşmektedir.

İkinci derece yanıklar ise epidermisin tamamını ve ayrıca dermanın bir kısmını tutmaktadır (Kısmi kalınlıkta yanık).

Üçüncü derece veya tam kalınlıktaki yanıklarda derinin tüm katları etkilenmekte kan damarları tamamen harap olmakta ve damarlarda tromboz meydana gelmektedir.

Diğer bir ayırımda yanığın iyileşmesi esas alınmakta, kendiliğinden iyileşen yanıklar ve doku aşılmasını gerektiren derin yanıklar olmak üzere sıralama yapılmaktadır.

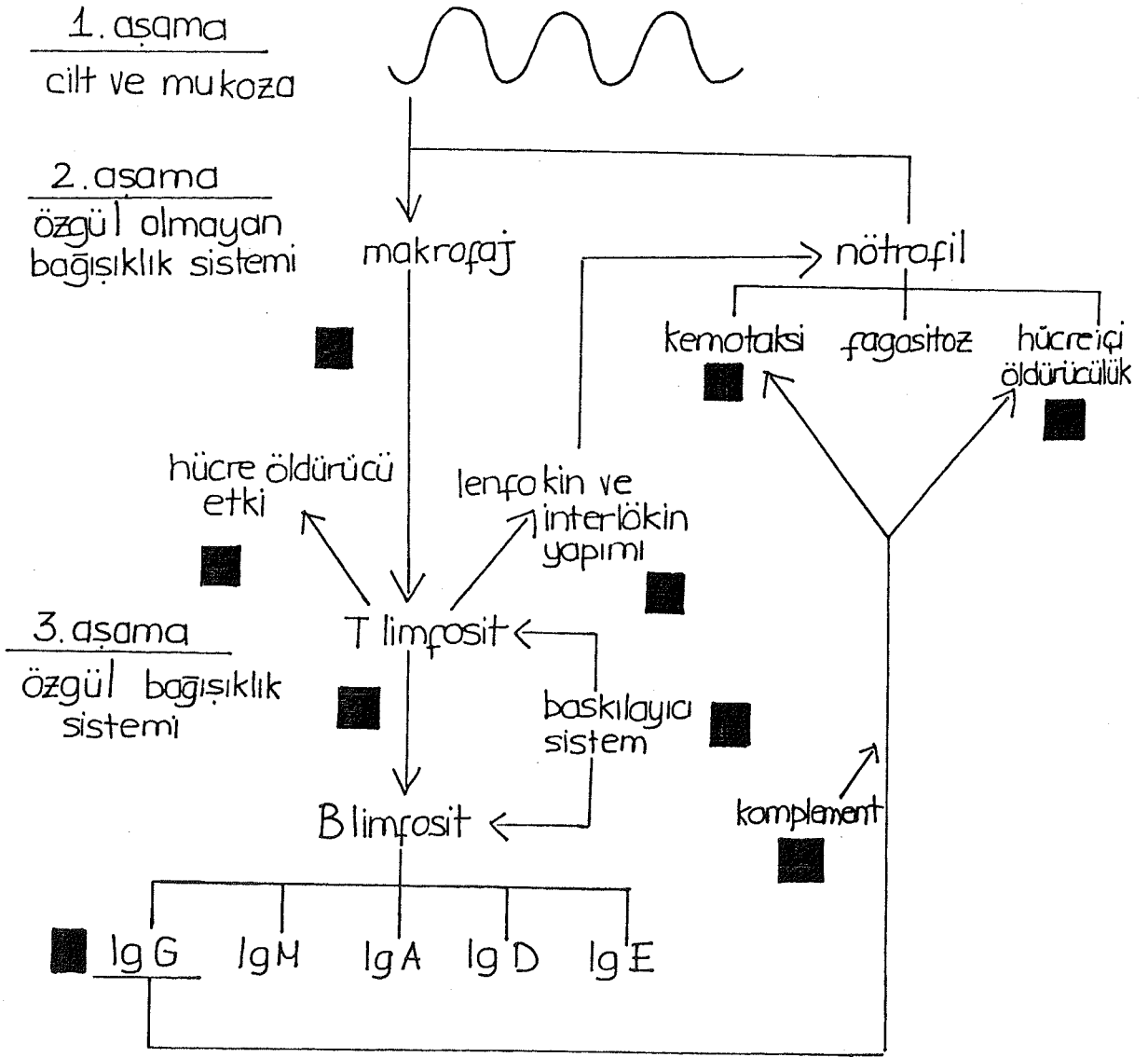
Yanıkların yüzeyi dokuzlar kaidesi uygulanarak hesaplanmaktadır. Buna göre baş % 9, gövdenin önü % 18, arkası % 18, sağ bacak % 18, sol bacak % 18, sağ kol % 9, sol kol % 9 perine % 1 olarak değerlendirilmektedir.

Yanıkta bağışıklık sisteminde meydana gelen değişiklikler (Şekil: 1)

Yanıklardan sonra hem doğa direncinde hem de bağışıklık sisteminde değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklerden doğa direncindeki değişiklikler "deri ve mukozadaki değişiklikler" başlığı altında, bağışıklık sistemindeki değişiklikler de "özgül olmayan ve özgül bağışıklık sistemindeki değişiklikler" başlıkları altında özet bilgiler halinde sunulmuş bulunmaktadır ve ayrıca yanıklı hastalarda bağışıklık sistemini etkileyen diğer faktörlere de yer verilmektedir.

a) Deri ve mukozadaki değişiklikler

Dış çevre ile vücudun iç ortamı arasında deri ve deriye yakın mukozalarla sağlanan bir mekanik engel vardır. Yanıklardan sonra bu engelde bir zayıflama olmaktadır. Deride yanık etkisiyle oluşan koagülasyon nekrozu ve eksudalar mikroorganizmaların gelişimi için uygun bir ortam oluşturabilmektedir. Diğer yandan yanığın doğrudan etkisiyle ve prostoglandin fazlalığı sebebiyle tromboksan salınmasına bağlı olarak da damarlarda büzülme ve trombosit kümelenmesi meydana gelmektedir. Bunun sonucunda ortaya çıkan trombozlar ve kanla iyi beslenememe neticesi doku hasarı ortaya çıkmaktadır(22,34).



Şekil :1 - Normal Vücut Savunma Sistemi (26)

Açıklama:

■ Yanıktan sonra bozulduğu bilinen mekanizmaları göstermektedir.

b) Özgül olmayan bağışıklık sistemi değişiklikleri

Birinci derece küçük yanıklarda bile yangı meydana gelmektedir. Yaralanan dokudan veya mononükleer kan hücrelerinden prostaglandinler, serotonin, hyaluronidaz, tromboksan ve araşidonik asit metabolizmasının lökotriyen gibi ürünleri salınmaktadır. Bu mediatörler yangıya sebep olmakta ve yerel damar genişlemesi, kapillerlerin geçirgenliğinin artması ile polimorf nüveli lökosit ve monositlerin buraya toplandığı görülmektedir. Daha ağır yanıklarda ise venlerde kan akışında duraklama ve küçük damarlarda trombozlar meydana gelmekte ve endotel hücreleri dökülmektedir. Akyuvarların hücre zarlarında oluşan bozukluk neticesinde bir arada toplanarak çökmeleri ve alyuvarlarda rulo oluşumu ile birlikte kan akışında düzensizlik meydana gelmektedir. Bunun sonucunda yanık dokusu ile canlı doku arasında çeşitli maddelerin ve bu arada oksijenin taşınması bozulmaktadır(22).

Özgül olmayan sistemin hücrelerle ilgili kısmını oluşturan makrofajlar ve polimorf çekirdekli lökositlerin kemotaksi, fagositoz ve hücre içi öldürme gücünde yanıktan sonra azalma meydana gelmektedir. Bunun sonucunda organizmalar bağışıklık sisteminin etkisinden kurtulmakta ve bakteriyemi tehlikesi artmaktadır(26,28,29).

Yapılan bir çalışmada nötrofil fagositozunun, IgG seviyesindeki bir azalmayla birlikte olduğu saptanmış bulunmaktadır. Yanıkta, sabit makrofajların fagositoz etkinliği azalmakta (nötrofil bakteri öldürme indeksi ile ölçülen) nötrofil fonksiyonları da bozulmaktadır. Bu durum bakterilerin infeksiyon ihtimalini arttırmaktadır(2,6).

Yanığın doğrudan etkisiyle lökotriyenler ve prostoglandinler gibi araşidonik asit metabolitleri salınmaktadır. Bu bileşikler limfosit cevabının baskılanmasında rol oynamaktadır. Prostaglandin E₂ baskılayıcı T limfosit aktivitesini uyarmakta ve monosit baskılama aktivitesinde de önemli bir aracı olmaktadır.

Yanıktan sonra interlökin-2 üretiminde bozukluk olduğu saptanmış bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar yanıkta salınan Prostaglandin E₂ (PG-E₂)'nin interlökin-2 (IL-2) üretimini engellediğini hayvan deneylerinde göstermişlerdir(15,38).

Yanığı takiben barsak duvarından kana geçen endotoksinler prostaglandini serbestleştirerek doğrudan veya dolaylı olarak baskılayıcı T hücrelerini uyarmaktadır.

Yanıktan sonra komplement sistemi de aktive olmaktadır. Dolaşımdaki C_{3a} ve C_{5a}'nın azaldığı gösterilmiştir. Bu elemanların histamin ve serotonin salınımı ile yangıya aracılık ettiği ve sonuçta doku ödeminin ortaya çıktığı düşünülmektedir. C₃ properdin ve faktör B'nin de tüketildiği çalışmalarla gösterilmiş bulunmaktadır.

Plasma fibronectininin, α -2 glycoproteininin azalması S.aureus'un opsonizasyonunu azalmakta ve sepsise zemin hazırlamaktadır.

Yangıda nötrofillerden salınan enzimlerin oluşturduğu zararı sınırlayan α -2 makroglobulinin miktarı da yanıktan sonra azalmaktadır.

c) Özgül bağışıklıktaki değişiklikler

Bu bilgi hücreler aracılığı ile ve antikora bağlı bağışıklıktaki değişiklikler olmak üzere iki bölümde sunulmuş bulunmaktadır.

1) Hücreler aracılığıyla olan bağışıklıktaki değişiklikler: Yanıktan sonra hücreler aracılığı ile bağışıklık çeşitli tarzda etkilenmektedir. Allogreft yaşam süresi uzamakta, tümör hücrelerine cevap azalmakta ve litomutajenlere, hatırlama (recall) antijenlerine ve mikst limfosit reaksiyonuna karşı cevap bozulmaktadır(25). Yanıkta oluşan yara, baskılayıcı T limfosit aktivitesini arttırdığı gibi yardımcı T hücrelerinin aktivitesini de azaltmaktadır. Böylece her iki düzenleyici T limfosit grubu da etkilenmektedir.

Hayvan deneylerinde baskılayıcı T hücre aktivitesinin arttığı gösterilmiş bulunmaktadır(33).

Ayrıca hayvan deneylerinde yanıkta oluşan ölü dokudan salınan ve bağışıklık sistemini baskılayan maddeler de elde edilmiştir. Bu bileşikler limfositlerin fonksiyonunu bozmaktadır. Bunların klinik infeksiyon ataklarıyla orantılı olarak da saptandığı kaydedilmektedir(22,27).

Baskılayıcı T hücrelerindeki belirgin artışın aynı zamanda septik riskin de başladığı yanıktan sonraki 7-14. güne rastladığı çalışmalarda yazılmaktadır(26).

2) Antikora bağlı bağışıklıktaki değişiklikler: Yanıktan sonra katabolizma artışı, sentezin azalması ve kapiller sızıntı ile protein kaybindan dolayı dolaşımdaki IgG ve IgA miktarı azalmaktadır. IgM molekül ağırlığı büyük olduğundan sızıntıdan daha az etkilenmekle birlikte yine de miktarında geçici bir azalma olmaktadır(22).

Yanıktan sonra, Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin opsonizasyonu ile ilgili olan IgG'deki azalma septik komplikasyonlara yol açmaktadır. Büyük bir yanığa uğrayan hastalarda ilk 48 saat içinde immunglobulin yoğunluklarının 500 mg'ın altında olması septik komplikasyon tehlikesinin yüksek olduğunu göstermektedir(31).

Yanık ile ilgili olarak yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar özgül antikor yapımının azaldığını göstermektedir. Bununla birlikte bazı hayvan çalışmalarında, yanıktan sonra B limfosit cevabının bazı antijenlere karşı normal ya da normalin üzerinde olabileceği anlaşılmaktadır(22).

IgG'nin azalması ile opsonik aktivite bozukluğu arasında bir ilişki bulunmaktadır(22).

d) Yanıklı hastalarda bağışıklık sistemini etkileyen diğer faktörler

Bu hastalarda uygulanan idrar sondası, damar kateterleri, endotrakeal tüpler, cerrahi girişimler, kan nakilleri, genel anestezi vücut savunmasını etkilemektedir(16).

Yanıktan sonra katabolizma artışına bağlı olarak negatif azot dengesi ortaya çıkmakta, diğer metabolik bozukluklarla birlikte normal hücre içi fonksiyonlar da bozulmaktadır.

Daha az önemli olmakla beraber kullanılan antibiyotiklerin de bağışıklık sistemini baskılayıcı etkileri vardır.

Bağışık yanıtı araştıran deneyler(17,21,30)

Bağışık yanıt, antikorlar ve hücre aracılığıyla olan bağışıklık, fagosit fonksiyonları ve komplemente yönelik deneylerle araştırılmaktadır. Bu deneyler aşağıda dört grup halinde özetlenmektedir.

1) Antikorlarla ilgili bağışıklığı araştıran deneyler:

- *Basit serum elektroforezi:* Ig'lerin ölçülmesi için kantitatif ve başarılı bir yöntem olarak kabul edilmemektedir.

- *İmmunoelektroforez:* Özgül IgG, IgM, IgA antiserumları yanında normal polivalan antiserumlarla yapılmaktadır.

- *Kantitatif Ig seviyeleri: (IgG, IgM, IgA, IgE)*

- *Özgül antikor oluşumu testleri:* Bir antijen (tetanus toksoidi, difteri toksoidi) verilerek injeksiyon öncesi ve üç hafta sonra özgül antikor seviyeleri ölçülmektedir.

- *Isohemaglütinin titreleri (anti-A, anti-B):* İki yaşından itibaren insanların serumunda 0 kan grubundakilerde anti-A ve anti-B, B kan gru-

bundakilerde anti-A ve A grubundakilerde anti-B antikorları bulunmaktadır. Bu antikorların yokluğu B limfositlerinin işlevlerinin bozulduğunu göstermektedir.

2) Hücre aracılığı ile olan bağışıklığı araştıran deneyler:

- Bütün limfosit seviyesi sayımı

- Gecikmiş aşırı duyarlık testleri: Antijene karşı özgül T hücresi ve makrofaj cevabını ölçmektedir.

İki şekilde yapılmaktadır:

a) Tüberkülin, trichophytin, candidin, kabakulak virüsü, difteri toksoidi gibi antijenler ön kol derisi içine verilerek 48 saat sonra o bölgede oluşan şişlik, sertleşme ve kızarıklık değerlendirilmektedir.

b) Yüksek derecede, duyarlaştırıcı bir madde olan dinitrochloro veya fluorobenzene (DNFB veya DNFB) doğrudan doğruya deriye sürülmektedir. Deriye uygulamadan 5-10 gün sonra kızarıklık, şişlik ölçülmektedir.

Bu testlerin negatif olması hücre aracılığı ile olan bağışıklıkta bozukluk olduğunu göstermektedir.

- T limfositlerinin fonksiyonlarını araştırmak amacıyla phytohemaglutinin, concanavalin A gibi mitojenlerle uyarma sonucunda limfosit sayısının artıp artmadığı ölçülmektedir.

T limfositlerinin sayımı:

a) T limfositlerini B limfositlerinden ayırarak saymak için alyuvar (eritrosit) rozet yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde T limfositlerinin koyun alyuvarlarına yapışarak rozet oluşturmasından faydalanılmaktadır.

b) T hücre alt kümelerini (CD₃, CD₄, CD₈...) saptamak için özgül monoklon antikolar kullanılarak fluororessensli antikolar deneyleri yapılmaktadır.

3- Fagosit yeterliliğini araştıran deneyler:

- Lökosit sayımı; Lökositlerin, yeterli sayıda olup olmadıklarını belirlemektedir.

- Nitroblue tetrazolium testi (NBT); Fagositlerin metabolik fonksiyonlarını ölçmektedir.

- Kemotaksi yöntemi; uyaran etkiye doğru nötrofillerin hareket yeteneğini ölçmektedir.

- Diğer bir test de fagositlerin hücre içi mikroorganizmayı öldürme yeteneğini saptamak için yapılmaktadır.

4) Komplemente yönelik testler

- Bütün alyuvar eritici komplementin saptanması (CH₅₀)

- Komplement öğelerinin ayrı ayrı değerlendirilmesi komplement fonksiyonları hakkında bilgi vermektedir.

Pseudomonas aeruginosa ile ilgili bazı genel bilgiler(8,18,35).

P.aeruginosa hareketli, sporsuz, aerop ortamda 30-37° C'de adi besiyerlerinde üreyebilen Gram negatif çomakçıdır. Glikoz, galaktoz, arabinoz, mannoz, mannit ve ksilozdan oksidatif olarak asit yapmakta, laktoz, maltoz ve sukrozdan asit oluşturmamaktadır.

Bu bakteri biri klorofomda eriyen pyocyanin, diğeri kloroformda değil suda eriyen pyoverdin isimli iki boya yapmaktadır.

P.aeruginosa 55° C'de bir saatte ölür, ışığa, kuruluğa, kimya maddelerine oldukça dayanıklıdır. Hastanelerde birçok yerlerde uzun süre yaşayabilmektedir.

Deri ve mukozalarda doğrudan doku zararı meydana getiren olaylarda, damar içine veya idrar yollarına kateter uygulaması sırasında, kanser tedavisi gibi lökosit sayısının azaldığı durumlarda hastalık yapıcı rol oynamaktadır(18).

Antijen yapısı: H ve O antijenlerine sahiptir. Aglütinasyon reaksiyonlarıyla belirlenen farklı lipopolisakkarid O antijenleri vardır.

Dış membran proteini (OEP) yaygın bir antijendir. Bu madde ura karşı koyucu, interferon yapıcı, antijenliği artırıcı, kemik iliğinde reaksiyon artırıcı, komplementi aktifleştirici ve hipoferremi geliştirici bir maddedir. Bunun protein kısmı bu bakterinin bütün serotiplerinde ortaktır ve bunlara karşı koruyucu bağışıklık oluşturmaktadır. Ura karşı koyucu ve interferon yapıcı özelliği ise lipopolisakkarid kısmındadır(35).

P.aeruginosa'nın salgıladığı ekzotoksin A doku nekrozuna yol açmaktadır ve hayvana injekte edilirse öldürücü etkisi vardır. Ciddi *P.aeruginosa* infeksiyonundan iyileşen hastaların serumlarında antitoksin bulunmaktadır.

Hücre duvarının lipopolisakkaridi endotoksik ve O antijen aktivitesindedir.

Bazı *P.aeruginosa* kökenleri tarafından salınan diğer toksinler de şunlardır:

Lökosidin; birkaç kökende bulunan bu madde lökositleri harap edici etkiye sahiptir. Proteolitik enzimler, atar damarların elastik liflerinde bozulma ve kanamaya yol açmaktadır. Kapsülün fagositoza karşı koyucu etkisi vardır. Hemolizinlerden biri olan glikolipid, alyuvarları eritmekte,

fosfolipaz C ise kanamalı lezyonlar meydana getirmektedir. Pyochelin, demir bağlayıcıdır, ekzotoksin A sentezini düzenlediği düşünülmektedir(8).

Hayvanları hastalandırmada bu bakterinin proteazı, elastazı, ekzotoksini, enterotoksini ve sümük maddesi önemli rol oynamaktadır.

Pseudomonas aeruginosa'ya karşı vücut savunmasında polimorf çekirdekli lökositler ve opsoninleyen antikorlar etkili olmaktadır.

MATERYAL VE METOD

Bu bölümde, çalışmamızda kullanılan hayvanlar, besiyerleri, *P.a-eruginosa* kökeni ve deneyler hakkında bilgi verilmiştir.

Deney hayvanları

180 g. ağırlığında Wistor-Albino tipi dişi sıçanlar kullanıldı. Bunlar (DETAM) Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nden temin edildi.

Deney hayvanları kapağı madenden örgülü, polietilen kafeslerde tutuldu ve sabit çevre koşullarında su ve laboratuvar diyeti *Ad Libitum* ile beslendi.

Çalışmalar sırasında Helsinki Nihai Sözleşmesi kurallarına titizlikle uyuldu(31).

Besiyerleri

Balıkli buyyon besiyeri(35). Bakterilerin koloni sayımlarını yaparken kullanılmak üzere önce ana balıklı besiyeri yapıldı. Bu besiyeri balığın bütün vücudunu kendi enzimlerine hazmettirerek, alkali veya asit ortamda olmak üzere iki türlü hazırlanır. Hamsi, istavrit, sardalye, lüfer veya herhangi bir tür balık seçilir. Biz hamsi balığını kullandık ve alkali

ortamda hazırladık.

Balıklar çeşme suyunda iyice yıkandıktan sonra içorganlarıyla birlikte kıyma makinasında çekildi. Balık kıyması tartılıp uygun bir kaba kondu. Ağırlığının iki katı % 0.6 sodyum karbonatlı ve % 7.5 kloroformlu su katıldı. 37°C'da 48 saat, arada sırada karıştırılarak hazma uğratıldı. Bu yöntemle elde edilen sıvı önce bez torbadan, sonra süzgeç kağıdından süzüldü. HCl ile pH'sı 7.5-7.6'ya ayarlandı. Buğu kazanında 100 derecede bir saat ısıtılarak steril edildi. Elde edilen bu besiyeri (1/2 sulandırılmış balıklı besiyeri) ana balıklı buyyon besiyeridir.

Adi agar veya jeloz. 1/2 ana balıklı buyyon besiyerine % 1 agar agar konarak adi agar besiyeri hazırlandı. 15'er ml'lik tüplerde saklandı. Kullanılacağı zaman kaynayan suya daldırılarak sıvı hale getirilen jeloz Petri kutularına döküldü ve katılaştıktan sonra koloni sayımları için kullanıldı.

P.aeruginosa kökeni. Deneylerimizde anabilim dalımıza gelen irinlerden ayırdığımız Pseudomonas aeruginosa'yı kullandık.

Deneylerin yapılışı

Deney hayvanları üç ana gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak ayrılan birinci grup deney hayvanından oluşuyordu. İkinci grup % 30 haşlanma yanığı oluşturulmuş deney hayvanından ibaretti. Bu grup da invivo bağışıklık deneylerinin yapıldığı günlere göre altı alt gruba ayrılıyordu. Üçüncü grupta ise yanığı takiben 48 saat sonra yanık ölü dokusu organizmadan çıkarılan ve doku aşılması yapılan elli hayvan bulunuyordu ve bu grupta beş alt gruba ayrılıyordu. Deney hayvanlarının bu ana grup ve alt grupları daha ayrıntılı olarak aşağıda gösterildi.

I. Ana Grup: Yanıksız kontrol grubu

II. Ana Grup: % 30 III. derece yanık oluşturulan grup

- 1) İn vivo deneylerin yanık sonrası 1. günde uygulandığı grup
- 2) İn vivo deneylerin yanık sonrası 4. günde uygulandığı grup
- 3) İn vivo deneylerin yanık sonrası 7. günde uygulandığı grup
- 4) İn vivo deneylerin yanık sonrası 10. günde uygulandığı grup
- 5) İn vivo deneylerin yanık sonrası 14. günde uygulandığı grup
- 6) İn vivo deneylerin yanık sonrası 21. günde uygulandığı grup

III. Ana Grup: % 30 III. derece yanık oluşturulup, yanık sonrası 3. gün yanık dokusu erken olarak çıkarılan ve deri grefti ile kapatılan grup.

- 1) Ameliyattan sonraki 4. gün invivo deneylerin yapıldığı grup
- 2) Ameliyattan sonraki 7. gün invivo deneylerin yapıldığı grup
- 3) Ameliyattan sonraki 10. gün invivo deneylerin yapıldığı grup
- 4) Ameliyattan sonraki 14. gün invivo deneylerin yapıldığı grup
- 5) Ameliyattan sonraki 21. gün invivo deneylerin yapıldığı grup

Yanık oluşturulması: Sırt, göğüs ve karınları traş edilen hayvanlarda periton içine uygulanan 25 mg/kg pentobarbital ile genel anestezi altında % 30 üçüncü derece haşlanma yanığı oluşturuldu. Yanıktan hemen sonra ıslak bir havlu ile soğutulan hayvanlara şoku önlemek amacı ile peritona 6 ml laktatlı Ringer solüsyonu verildi. Hayvanlar daha sonra normal ve serbest beslenmeye bırakıldı(36).

Deneyler:

Yanıkta bağışıklık sistemini araştırmak amacıyla 3 ayrı deney uyguladık.

1) Derinin bakterilere karşı direncini ölçen test:

Yanıklı hayvanlarda derinin bakterilere (organizmanın infeksiyona karşı direncini) ölçmek amacıyla bu test yapıldı: Bu amaçla 1 ml'de 10^{10} *Pseudomonas aeruginosa* içeren bakteri asıntısından yanmamış göğüs bölgesine yanık sonrası 1,4,7,10,14 ve 21. günlerde 0.1 ml (10^9 *P.aeruginosa*) injekte edildi. *S.aureus* ile yapıldığı yazılan(32,36) bu testi biz, klinikte daha sık görülmesi sebebiyle, *P.aeruginosa* ile uyguladık. Bakteri asıntılarını her seferinde standart on numaralı Mac Farland tüpünün iki katı yoğunluğunda hazırlandı ve her deneyde kullanılan asıntıdan hayvanlara verilen miktar kadar da Petri kutusundaki jeloz besiyerine ekim yapılarak normal değerler takip edildi. Her bir grupta yukarıda belirtilen günlerde deri içine yapılan injeksiyondan 24 saat sonra steril koşullarda injeksiyon yapılan cilt bölgesi standart genişlikte (1 cm^2 ve alttaki yağlı dokuya kadar) çıkarıldı. Çıkarılan deri parçalarının her biri 10 ml % 0,9'luk steril tuzlu suyla porselen havanda iyice ezildikten sonra bir tüpe kondu ve karıştırıcı alet ile karıştırıldı. Karıştırılan bu sıvıdan 0.1 ml steril pipetle alınarak içinde 9,9 ml tuzlu su bulunan ikinci tüpe konarak tekrar aynı tarzda karıştırıldı ve bundan 0.1 ml alınarak 3. tüpe, 3. den 4.tüpe ve 4.den 5. tüpe aynı işlem tekrarlandı. Her bir tüpte bulunan 9.9 ml tuzlu su ile beş kez sulandırma yapılmış oldu. 5. tüpten alınan 0.1 ml daha önceden hazırlanıp, numaralanan Petri kutusundaki jeloz besiyerine ekildi, cam yavrulu tüple yayılarak 37°C 'deki etüve kaldırıldı. Her bir doku parçası için aynı işlem tekrarlandı. Bu işlemler sırasında steriliteye özellikle dikkat edildi.

24 saat sonra etüvden çıkarılan besiyerlerindeki bakteri kolonileri Petride agar yöntemi ile sayıldı ve çıkan sonuçlar sulandırma oranları göz önüne alınarak 10^{13} sayısı ile çarpıldı. Her bir gruptaki ortalama değer elde edildikten sonra gruplar arasındaki farklılıklar karşılaştırıldı ve elde edilen tüm sonuçlar öğrenci T testi ile karşılaştırıldı. Standart sapmaları hesaplandı. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

2) Aglütinasyon testi

Yanıklı deney hayvanlarının verilen *P.aeruginosa* kökenine karşı özgül antikor oluşturup oluşturmadığını dolayısı ile antikora bağlı bağışıklığı araştırmak amacıyla bu testi uyguladık.

Yanık sonrası 1. gün *P.aeruginosa* kökenini vermeden önce ve kökeni verdikten sonra 10. ve 21. günlerde hayvanların veninden kan alındı. Serumları ayrıldıktan sonra 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 oranında tuzlu su ile sulandırıldı. Bu işlem şu şekilde yapıldı:

Her bir serum için beş tüp alındı. Birinci tüplere 0.4 ml diğerlerine 0.25'er ml tuzlu su kondu. Birinci tüpe 0.1 ml deney serumu ilave edilerek bundan 0.25 ml alıp 2. tüpe, 2.den 3.ye, 3.den 4.ye, 4.den 5.tüpe aynı işlem tekrarlandı. 5.den 0.25 ml alınıp boş bir şişeye atıldı. Bu şekilde sulandırılan serumlara 0.25'er ml üç numaralı Mac Farland tüpüne göre yoğunluğu belirlenen *P.aeruginosa* asıntısından eklendi. Bakteri eklenen tüpler iki saat etüvde bırakıldıktan sonra 18 saat oda ısısında bekletildi ve aglütinoskop ile aglütinasyon varlığına bakıldı.

3) Dinitrofluorobenzene (DNFB) ile temas duyarlılık testi: Bu testle yanıklı hayvanların hücreler aracılığıyla olan bağışıklık sistemini araştırmayı amaçladık.

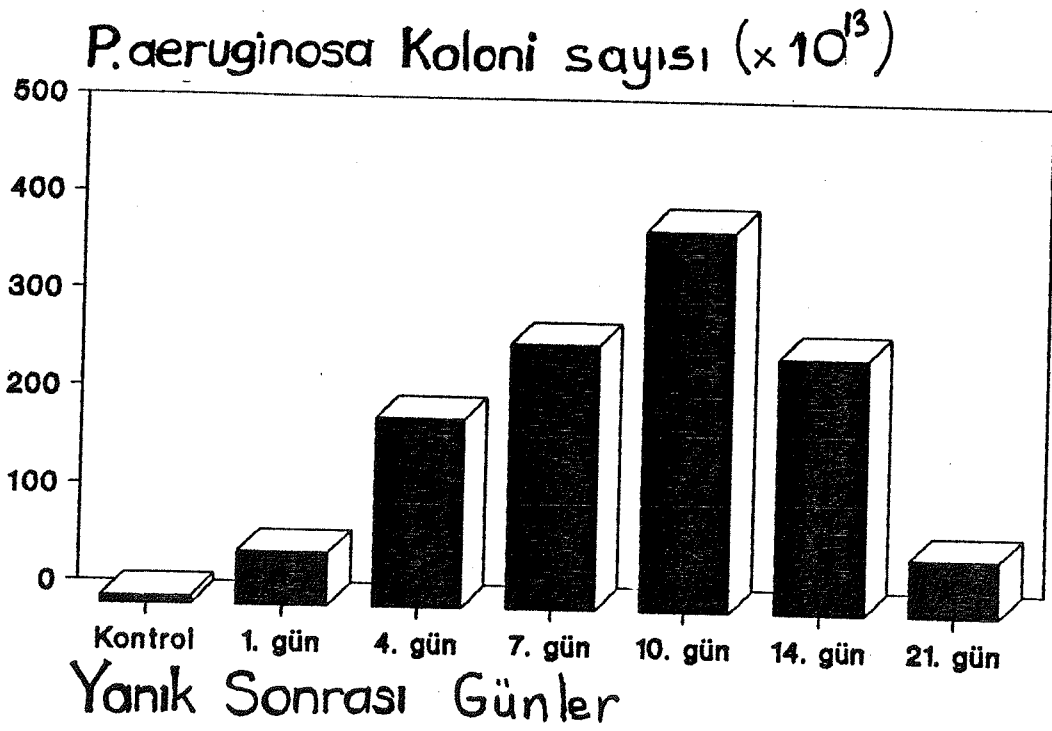
Hansbrough ve arkadaşlarının tarif ettiği gibi her bir grupta yanık sonrası 1,4,7,10, 14 ve 21. günlerde DNFB ile temas duyarlılığı oluşturuldu(11,12,14). Bu amaçla hayvanın daha önceden tıraş edilmiş karın bölgesine 50 mikrolitre 4 kısım aseton, 1 kısım zeytinyağ karışımında hazırlanmış % 0.5 DNFB sürüldü. İkinci yani ertesi gün aynı miktar DNFB karın bölgesine tekrar sürüldü. Beşinci gün hayvanın her iki kulak kalınlığı hassas bir mikrometre ile ölçülerek kaydedildi ve sağ kulak sayvanına 20 mikrolitre % 0.2 DNFB sürüldü. Bundan tam 24 saat sonra her iki kulak kalınlığı tekrar ölçülerek kaydedildi. Aradaki fark hesap edildi ve her gruptaki ortalama değer kontrol grubuna göre % olarak değerlendirilmeye alındı.

B U L G U L A R

1) Derinin bakterilere karşı direncini ölçen testin bulguları:

Yanık sonrası 1,4,7,10,14 ve 21. günlerde hayvanlara deri içine verilen kökenlerin şırınga yapılan bölge ile birlikte 24 saat sonra çıkarılması ve bu doku parçalarındaki bakteri kolonilerinin sayımı bağışıklık sistemindeki baskılanmaya uygun sonuçlar verdi. Yanık sonrası 1. gün (Grup 1) verilen 1×10^9 bakterinin 8×10^{13} 'e kadar, 10. günde ise 399×10^{13} 'e kadar arttığı tesbit edildi. 10. günden itibaren koloni sayılarının azalmaya başladığı 21. günde 57×10^{13} koloniye kadar düştüğü görüldü (Grafik: 1).

Bu düzelme aşırı duyarlık testinde olduğu gibi yanık yarasının iyileşmesine ve ölü dokunun vücuttan uzaklaşmasına paralellik göstermektedir. Yanık sonrası onuncu gün hücre aracılığı ile bağışıklık cevabı en küçük değere ulaşırken normalden beş kat oranda azalma göstermiştir. Aynı gündeki bakteri sayısı kontrol grubunda 8×10^{13} iken yanıklı hayvan grubunda yaklaşık 400×10^{13} bulunarak normale göre yaklaşık 50 kat arttığı görülmüştür. Her iki testin öğrenci T testi ile değerlendirmesinde tüm gruplar ile kontrol grubu arasındaki sonuçların ileri derecede anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.001$).



Grafik 1 : Derinin Bakterilere Direncini Ölçen Testin Sonuçları

2- Aglütinasyon testinin bulguları

Deney farelerimizin kan serumunda kullanılan *P.aeruginosa* kökenine karşı bakteri asıntısını şırınga etmeden önce yaptığımız aglütinasyon deneylerinde 1/10 - 1/160 sulandırmalarda aglütinasyon gözlenmedi.

Yanıklı hayvan grubunda yanık sonrası; 10. gün serumlarında (3 numaralı hayvan serumu hariç diğerlerinde) 1/160 oranındaki sulandırmada bile aglütinasyon tesbit edildi. 3 numaralı hayvanın serumunda da 1/80 sulandırmada aglütinasyon görüldü (Çizelge: 1). Yanıksız kontrol grubu ve yanık dokusu erken çıkarılan ve allogreftleme (doku aşılması) yapılan grupta 10. gün serumlarında 1/160 oranındaki sulandırmaların hepsinde aglütinasyon tesbit edildi.

Yanıklı Grup 10. Gün	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	-
4	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+
10.gün Kontrol Grubu	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
1	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+
Yanıklı Grup 21. gün	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
1	+	+	-	-	-
2	+	+	+	-	-
3	+	+	+	+	-
4	+	+	+	+	-
5	+	+	+	+	-
6	+	+	+	+	-
Kontrol Grubu 21.gün	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+

Cetvel: 1 - Aglütinasyon testinin sonuçları

Yanıklı hayvanların 21. gününde ise 1 numaralı hayvana ait serumda aglütinasyon 1/20'de pozitif, 1/40'da negatif, 2 numaralı hayvan-
da 1/20 pozitif, 1/40 pozitif, 1/80 negatif, kalan diğer hayvan serumların-
da ise 1/20, 1/40, 1/80'de pozitif, 1/160'da negatif bulundu.

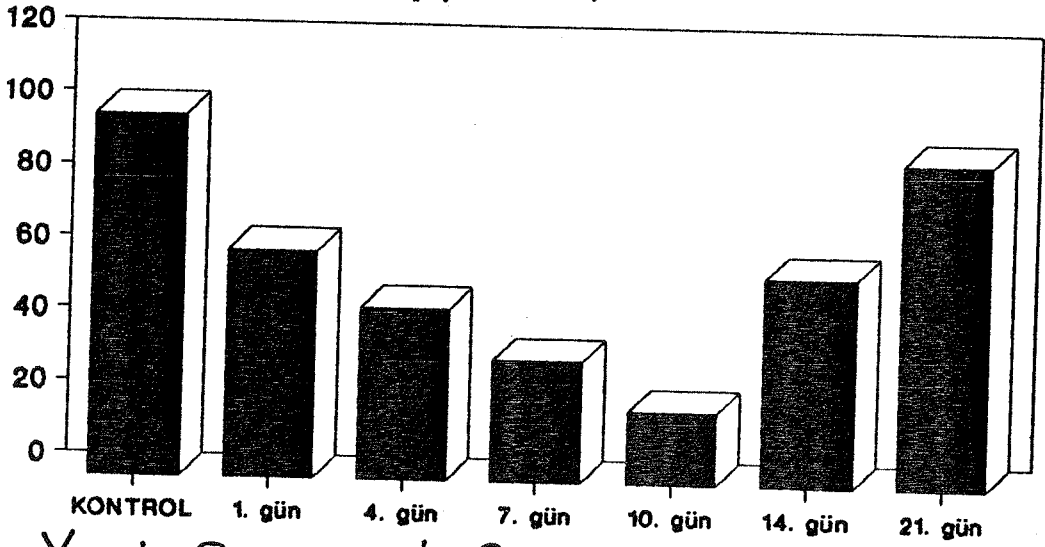
Böylece 10.günde biri 1/80 değerinin hepsi 1/160 sulandırmalar-
da bile aglütinasyon veren antikor oranının 21.günde düştüğü tesbit edildi.

Yanıksız grup ve ameliyatlı grupta ise 21. günde 1/160 titrasyon-
da da aglütinasyon kuvvetli bir şekilde devam ediyordu (Çizelge 1).

3- Dinitroflubrobenzene (DNFB) testinin bulguları

DNFB antijenine karşı duyarlaştırılan hayvanlarda hücreler ara-
cılığı ile gelişen bağışıklıktaki en fazla baskılanma 7.-10. günlerde görüldü
(Grafik: 2). Kontrol grubundaki kulak sayvanı şişmesi normal ve % 100 ola-
rak kabul edildi. Yanık sonrası ilk günden itibaren hücre aracılığı ile geli-
şen bağışıklıktaki baskılanmanın giderek arttığı gözlemlendi. Grafik 2'de top-
lu olarak sunulan sonuçlarda 4. grupta yani yanık sonrası 10. günde kontrol
grubundaki normal değerinin % 20'sine kadar bir düşüş görülmektedir. Bu
düşüş yanık sonrası 10. günde durmuş ve daha sonra yükselerek 21. günde
(Grup 6) normal sınırlara yaklaşmıştır. Yanık sonrasında 15. günde hayvan-
ların sırt bölgesindeki yanık yarasının giderek büzülerek küçüldüğü ve 30.
günde büyük oranda iyileştiği görüldü. Bu dönemde hücre aracılığı ile bağı-
şıklığın normale dönerek bu olaya paralellik gösterdiği tesbit edildi.

Kulak Sayvanındaki Şişme (%)



Yanık Sonrasında Bağışıklığın Baskılanması

Grafik 2 : DNFB ile Deri Duyarlılık Testinin Sonuçları

T A R T I Ő M A

Yanıĝın baĝıŐıklık sisteminde sebep olduğu baskı in vivo ve in vitro olarak bir çok parametre ile gösterilmektedir. Bunların arasında en çok kullanılan hücre aracılıĝı ile baĝıŐıklıktaki baskılanmayı araştırmak amacıyla yapılan allerji testleridir. BaskılanmıŐ baĝıŐıklık sisteminin bir göstergesi olan allerjik cevap düŐüklüđü, oĝunlukla sepsisin ve kötü prognozun bir habercisi olabilmektedir. Hücre aracılıĝı ile baĝıŐıklıĝın her çeŐit bakteriyeye karşı savunmadaki rolü tam olarak açıklanmamıŐtır. Bununla birlikte hücre aracılıĝı ile baĝıŐıklık hücre içi mikroorganizmalara karşı savunmada önemli rol oynamaktadır.

Yanıktta oluşan bakteriyemi ve sepsislerde yaygın etken olarak Gram (-) bakterilerle karŐılaŐılmaktadır. Gram negatif bakterilere karşı savunmada hücre aracılıĝı ile baĝıŐıklıkla beraber nötrofil ve makrofajlar da önemli rol oynamaktadır. Bundan baŐka T limfositleri, yangıda ve anti-kora baĝlı baĝıŐıklıkta da önemli hücre faktörleridir(4,11,28,32).

Yanıktaki l dokunun, canlı organizma üzerinde bulunduğu sürece baĝıŐıklık sistemini baskılayıcı etkisini sürdürdüğü ve bu dokunun parçalarının saĝlıklı hayvanların cilt altına verildiĝinde baĝıŐıklık sistemini baskıladıĝı bildirilmiŐtir(14,20). Yanıklarda limfosit fonksiyonlarındaki baskılanma, baskılayıcı hücrelerin artıŐıyla açıklanmıŐ yanıkta oluşan l dokudan ve yanıĝın doĝrudan etkisiyle salınan prostoglandinler, lkotriyenler gibi araŐıdonik asit metabolizması ürünleri, yanık etkisiyle barsak duva-

rından kana geçen endotoksinler gibi baskılayıcı faktörlerin ortaya çıkışı çok sayıdaki çalışmalarla gösterilmiştir(3,4,41).

Bu bilgiler ışığında bakterili infeksiyonlara karşı direnç ve hayatta kalmanın şartı için normal fonksiyon gören hücre aracılığı ile ve antikorlara bağlı bağışıklığın varlığı kaçınılmaz bir gerçektir.

Yanıktan sonra gelişen anerji veya düşük allerjik cevap, yanık olayının bağışıklık sisteminde yaptığı değişiklikler ve bozukluklarla yakından ilişkilidir. Çeşitli sitokinlerin üretilmesindeki değişiklikler, bağışıklık fonksiyonlarını bozmakta ve antikor üretiminin aksamasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak düşük allerjik cevap veya anerjinin varlığı konaktaki bağışıklık sistemindeki yaygın baskılanmanın önemli bir işaretidir(39,41). Sadece yanık değil aynı zamanda kan nakli, sepsis, beslenme bozukluğu ve geniş cerrahi travmalar da bağışıklık sisteminde yetersizliğe sebep olabilmektedir. Bu olaylarda, esas olarak, hücre aracılığı ile bağışıklıkta oluşan bozukluk sonucu infeksiyona ve sepsise direnç azalmaktadır(14,21,34,35). Bakterilere karşı direncin azalması ve sepsise meyilin artması birçok araştırmacı tarafından hayvan deneylerinde (barsak florasındaki enterik bakterilerle) çalışılmış ve bağışıklık cevabı ile yaşam süresi arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğu ortaya konmuş bulunmaktadır(10,23,33,40).

Dışarıdan apse odakları oluşturularak yapılan çeşitli infeksiyon modellerinde de çalışılarak; bağışıklık sisteminin büyük oranda baskılanması ile bakterilere karşı direnç azalması arasında ters orantılı fakat anlamlı bir ilişki ortaya konmuştur(9,37).

Bağışıklığı baskılayan yanık ve yukarıda belirtilen olaylarda bozulan geciken tipte aşırı duyarlılığın; mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak kısıtlı bilgiler, bu duyarlılığın; infeksiyon etkenleri, bazı kimya maddeleri ve yabancı hücrelere karşı ortaya çıkan, antijenin uygulanmasından saatler sonra gelişmeye başlayan, 48 saatte en şiddetli duruma ulaşır birkaç gün devam eden ve aşırı duyar şahsın serumunun injeksiyonu ile normallere geçirilemeyen bir reaksiyon olduğunu göstermektedir. Geciken tip-

te aşırı duyarlılığın başlatılmasında makrofajlar ile yardımcı T limfositleri önemli rol oynamaktadır(19,35).

Geciken tipte aşırı duyarlılıkta allerjenin verildiği yerde limfosit ve makrofajların etkisiyle kan damarlarının bozulması sonucunda kızarıklık ve sertlik meydana gelmektedir.

Bu çalışmada hücre aracılığı ile bağışıklığı araştırmak amacıyla; deride duyarlılık yapıcı etkisi bulunan DNFB'nin 5 gün sonra tekrar organizmayla temasa geldiğinde geciken tipte aşırı duyarlılığa sebep olduğu görülmüştür ve ikinci temas eden bölgede yani hayvanın kulak sayvanında oluşan şişlik kantitatif olarak ölçülmüştür. DNFB'ye karşı oluşan Tip 4 (geciken tipte aşırı duyarlılık) reaksiyonunun oluşabilmesi için T limfosit fonksiyonlarının yeterli olması gerekmektedir. Bu reaksiyon T limfositlerinin nakli ile daha önceden duyarlılaştırılmamış hayvanlarda da ortaya çıkarılmakta, ancak duyarlı hayvanın serumu ile nakledilmemektedir. Reaksiyonun elde edildiği hayvanların kasında özel antikörlara da rastlanmamaktadır(11,13,14). Bu da bize reaksiyonun antikörlarla değil hücreler aracılığıyla taşındığını göstermektedir.

Deneyimizde geciken aşırı duyarlılık reaksiyon yeri olan kulak sayvanında kalınlığın mikrometre ile ölçülmesi ile kantitatif değerlendirme yapılmış oldu. Yanık sıçanlarda çok küçük de olsa geciken aşırı duyarlılık reaksiyonunun ortaya çıkması yanık hayvanın hala antijene duyarlı olduğunu ve antijeni tanıdığını fakat cevabın bağışıklık sistemindeki baskıdan dolayı azaldığını göstermektedir.

Biz bu çalışmamızda geciken tipte aşırı duyarlılık ile derinin bakterilere karşı direnci arasındaki ters fakat anlamlı ilişkiyi ortaya çıkardık. Şöyle ki yanık sonrası 1. günde verilen 1×10^9 bakterinin hücre aracılığı ile bağışıklığın baskılanmasının en fazla olduğu 10. günde en büyük değere (399×10^{13}) ulaştığı tesbit edildi. Buna karşılık yanık yarasının iyileştiği ve ölü dokunun vücuttan uzaklaştığı ortalama 21. günde ise bakteri sayısının da 57×10^{13} 'e indiği gözlemlendi. Bu da bize yanıkta hücre aracılığıyla olan

başışıklıktaki azalmanın organizmanın enfeksiyona direncini, bakteri öldürme gücünü negatif yönde etkilediğini göstermektedir.

Yanıkta immunglobulinlerin salgılanmasında azalma ve antikorlarla ilgili başışıklık sistemindeki IgG, IgA, IgM ve antijene özgül ikincil antikor cevabının azalması gibi çeşitli bozukluklar laboratuvar çalışmaları da ortaya konmuş bulunmaktadır(14).

Bizim çalışmamızda da yanıklı farelerde yanık sonrası 10.günde *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antikor oluşumunu gösteren aglütinasyonun 1/160 lık sulandırmalarda (+) pozitif iken 21. günde (aynı orandaki sulandırmada) kaybolduğunu gözledik.

Buna karşılık yanısız kontrol grubunda ve yanıklı fakat yanık dokusu ameliyatla çıkarılan grupta 10. günde 1/160'da pozitif olan aglütinasyonun 21. günde aynı yoğunlukta kuvvetli bir şekilde devam ettiğini saptadık.

Bu iki grup arasındaki fark bize, yanıkta aglütininerle ilgili başışıklığın da baskılandığını göstermiş oldu.

S O N U Ç

Yapılan deneyler sonucunda; yanıkta, DNFB testi ile incelenen hücre aracılığı ile bağışıklıkta ve aglütinasyon varlığı ile araştırılan antikorlarla ilgili bağışıklıkta baskılanma olduğu gözlemlendi.

Bağışıklık sistemindeki bu baskılanma sonucunda bakterilere karşı vücut direncinin azaldığı tesbit edildi.

Yanıkta bağışıklık sistemindeki bu baskılanma sonucunda mikroplara karşı direncin azalması yanıklı hastalarda önemli bir infeksiyon ve sırasında ölüm sebebi olmaktadır.

Yaptığımız çalışmaya dayanarak yanıklarda azalan vücut direncinin büyük bir önem taşıdığını, tedavide bunun dikkate alınması gerektiğini vurgulamaktayız.

Ö Z E T

Yanıktan sonra bağışıklık sistemindeki baskılanma sonucunda sepsise karşı eğilimde bir artış olduğu gözlenmektedir. Ancak bu ilişkiyi insanlarda göstermek oldukça zordur bu sebeple çalışmamızda hayvan modeli kullanıldı.

Ortalama ağırlığı 180 g Wistor Albino tipi dişi sıçanlarda vücut yüzeyinin % 30'u oranında üçüncü derece haşlanma yanığı oluşturuldu ve yanık sonrası 1,4,7,10,14 ve 21. günlerde farelerin göğüs derisi içine *Pseudomonas aeruginosa* injekte edildi ve bakterinin üreyebilirliği ölçüldü. Aynı zamanda yanık sonrası 10. ve 21. günlerde alınan serumda verdiğimiz bakteri kökenine karşı özgül antikor oluşup oluşmadığı araştırıldı.

Deney hayvanlarındaki hücre aracılığı ile bağışıklık, temasla duyarlılık yapan bir madde özelliğindeki dinitrofluorobenzene (DNFB) karşı duyarlaştırılmış hayvanlarda geciken tipte aşırı duyarlılığın derecesi belirlenerek kantitatif olarak değerlendirildi.

Yanık sonrası 1, 4, 7, 10, 14 ve 21. günde yapılan bu iki testin sonucuna göre hücre aracılığı ile bağışık cevaptaki en büyük baskı yanık sonrası 10. günde ortaya çıktı. Hayvanların bakteriyi öldürme yetenekleri ise 7, 10 ve 14. günlerde en düşük olarak bulundu. Hemen hemen birbirine ters olarak paralel seyreden hücre aracılığı ile bağışıklıktaki baskılanma ile hayvanların bakterilere karşı direncindeki azalmanın kantitatif değere-

rinin yanık sonrası 21. günde normal sınırlara yaklaştığı görüldü.

Buna karşılık aglütinasyon testinde ise yanıklı hayvan grubunda 10. günde 1/160 sulandırma oranında aglütinasyon pozitif iken 21. günde negatif oldu.

Yanıksız kontrol grubu ve yanıklı fakat yanık dokusu ameliyatla çıkarılan hayvanlarda 10. günde 1/160'daki aglütinasyonun 21. günde aynı yoğunlukta kuvvetli bir şekilde devam ettiği gözlemlendi.

KAYNAKLAR

- 1- Akgül,H.: Çağdaş Cerrahi Tanı ve Tedavi, 7. Baskı, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, 1985, s.264.
- 2- Alexander,J.W., Ogle,C.K. ve ark.: A sequential, prospective analysis of immunologic abnormalities and infection following severe thermal injury. Ann.Surg., 188:809, 1978.
- 3- Burleson,D.G., Mason,A.D., Pruit,B.A.: Lymphoid subpopulation changes after thermal injury and thermal injury with injection in an experimental model. Ann. Surg., 207:208, 1988.
- 4- Burleson,D.G., Yaughn,G.K. ve ark.: Flow cytometric measurment of rat lymphocyte subpopulation after burn injured and burn injury. Arch. Surg., 122:216, 1987.
- 1 × 5- Clifford,C.D., Laterman,A., Currer,W.P.: Systemic antibiotic treatment in burned patients. Surg. Clin. Nort Am., 67:57, 1987.
- 2 × 6- Gaugh,D.B., Moss,N.M., Jordan,A., Grbic,J.T., Rodrick,M.L., Mannick,J.A.: Recombinant interleukin-2 (IL-2) improves immune response and host resistance to septic challenge in thermally injured mice. Surgery, 104:294, 1988.

- 7- Değerli, Ü.: Genel Cerrahi, Birinci Baskı, İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı, İstanbul, 1983, s.169.
- 8- Freeman, B.: Burrows Textbook of Microbiology, 22. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1985, s.545.
- 3 x 9- Galandıuk, S., George, C.D., Pietsch, J.D. ve ark.: An. experimental assesment of the effect of blood transfusion on susceptibility to bacterial infection. Surgery, 108:567, 1990.
- 4 x 10- Gough, D.B., Moss, N.M., Jordan, A. ve ark.: Correlation of depressed immune function and susceptibility to infection in a murine model of thermal injury. Ped. Proc., 46:1515, 1987.
- 5 x 11- Hansbrough, J.F. ve ark.: Postburn immunosuppression in animal model II. Restoration of cell mediated immunity by immunomodulating drugs. Surgery, 95:290, 1984.
- 12- Hansbrough, J.F., Peterson, V., Kortz, E., Piacentine, J.: Postburn immunosuppression in an animal model: Monocyte dysfunction induced by burned tissue. Surgery, 39:415, 1983.
- 13- Hansbrough, J.F., Zapata-Sirvent, R. ve ark.: Prevention of suppressed Cell Mediated Immunity in burned mice with Histamine-2 receptor antagonist drugs. J. Surg. Res., 29:150, 1985.
- 14- Hansbrough, J.F., Zapata: Immunomodulation following burn injury. Surg. Clin. North Am., 67:69, 1987.
- 15- Hansbrough, J.F., Zapata-Sirvent, R., Peterson, V.M., Wang, X., Berder, E., Claman, H., Boswick, J.: Characterization of the immunosuppressive effect of burned tissue in an animal model. J. Surg. Res., 37:383, 1984.

- 16- Horgan,P.G., Mannick,J.A., Dubravec,D.B., Rodrick,M.L.: Effect of low dose recombinant interleukin 2 plus indomethacin on mortality after sepsis in murine burn model. *Br.J.Surg.*, 77:401, 1990.
- 17- Hyde,M.R., Patrode,R.A.: Immunology. Dördüncü baskı. National Medical Series, Baltimore, 1990,s.90.
- 18- Jawetz,E., Melnick,J.L., Adelberg,E.A., Brooks,G.F., Butel,J.S., Ornston,L.N.: Medical Microbiology, 18.baskı, Prentice-Hill International In., 1989, s.215.
- 19- Kılıçturgay,K.: İmmunolojiye Giriş, 2.Baskı, Güney Kitabevi, Bursa, 1991, s.106.
- 20- Krob,M.J., Sheley,J.: İmmunosuppressive effects of burn injury and nonspecific blood transfusion. *J. Trauma*, 26:40, 1986.
- 21- Mandell,G.L., Douglas,R.G., Bennett,J.E.: Principles and Practice of Infectious Diseases, Üçüncü Baskı, Churchill Livingstone, New York, 1990, s.139, s.830.
- 6 x 22- Moran,K., Munster,A.M.: Alterations of the host defence mechanism in burn patients. *Surg. Clin. North Am.*, 67:57, 1987.
- 7 x 23- Moss,N.M., Gouph,D.B., Jordan,A.L. ve ark.: Temporal correlation of impaired immuno response after thermal injury with susceptibility an infection in a murine model. *Surgery*, 104:882, 1988.
- 8 x 24- Munster,A.M. ve ark.: Cell mediated immunity after thermal injury. *Ann.Surg.*, 177:139, 1973.
- 25- Munster,A.M., Eurenus,K. ve ark.: Ability of splenic lymphocytes from injured rats to induce a grafts versus host reaction. *Transplantation*, 14:106, 1972.

- 9 X 26- Smith, J.W., Astor, S.J.: Plastic Surgery, Dördüncü baskı, Little Brown and Company, Londra, 1991, s.697.
- 27- Stephan, P.N., Kupper, T.S., Geha, A.S., Baue, A.E., Choudry, I.H.: Hemorrhage without tissue trauma produces immunosuppression and enhances susceptibility to sepsis. Arch. Surg., 122:62, 1987.
- 28- Stinnett, J.D., Alexander, J.W., Morris, M.J., Dreffer, R.L., Craycroft, T.K., Anderson, P.E., Ogle, C.K., MacMillan, B.G.: Improved survival in severely burned animals using intravenous *Corynebacterium parvum* vaccine post injury. Surgery, 89:237, 1981.
- 29- Stinnett, J.D., Loche, L.D., Miskell, P., Tenney, C.L., Gonce, S.J., Alexander, J.W.: Synthetic Immunomodulators for prevention of fatal infections in a Burned Guinea Pig model. Ann.Surg., 98:53, 1983.
- 30- Stites, D.P., Stabo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V.: Basic and Clinical Immunology, Yedinci Baskı, Lange Medical Publications, Los Atlos, 1991, s.366.
- 31- Şenyuva, C.: Geniş yanıklı hayvan modelinde erken eskar eksizyonu ve allogreftlemenin barsakta oluşan bakteriyel translokasyon üzerine etkilerinin araştırılması ve immunrestoratif özelliklerinin in-vivo yöntemlerle incelenmesi. Uzmanlık Tezi, İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak. Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi ABD, 1992.
- 10 32- Tchervenkov, J.I., Diano, E., Meakins, J.L. ve ark.: Susceptibility to bacterial sepsis. Accurate measurement by the delayed-type hypersensitivity skin test score. Arch. Surg., 121:37, 1988.
- 11 X 33- Thomas, S.K., Christopher, C., Baker, T., Thomas, A., Ferguson and Douglas, R.G.: A burn induced, Ly-2 suppressor T cell lowers resistance to bacterial infection. J. Surg. Res., 38:606, 1985.

34- Unat,E.K.: Temel Mikrobiyoloji, Dördüncü Baskı, Beta Basım Yayım A.Ş., İstanbul, 1985, s.338.

35- Unat,E.K.: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi I-II, İkinci Baskı, Dergah Tıp Yayınları, İstanbul, 1986, s.661.

12 36- Walker,H.L., Masor,A.D.: A standart animal burn. J. Trauma, 8:1049, 1968.

4 X 37- Waymack,D.P., Kapien,J., Garnett,D. ve ark.: Effect of transfusion on immune function in a traumatized animal model. Arch. Surg., 121:50, 1986.
13

38- Waymack,J.P., Robb,E., Alexander,J.W.: Effect of transfusion on immune function in a traumatized animal model: II. Effect on mortality rate following septic challenge. Arch. Surg., 122:935, 1987.

12 X 39- Wood,J.J., Gibie,J.T., Rodrick,M.L. ve ark.: Supression of IL-2 production in an animal model of thermal injury is related to prostoglandin synthesis. Arch. Surg., 122:179, 1987.
14

13 X 40- Zapata-Sirvent,R., Hanbrough,J.F.: Postburn immunosuppression in an animal model 3. Maintenance of normal splenic helper and supressor lymphocyte subpopulation by immunomodulating drugs. Surgery, 97:721, 1985.
15

14 X 41- Zapata-Sirvent,R.L., Hansbrough,J.F., Bender,E.M. ve ark.: Postburn immunosuppression in an animal model IV. Improved resistance to septic challenge with immunomodulating drugs. Surgery, 99:53, 1986.
16