

YANIĞA BAĞLI BAKTERİYEL TRANSLOKASYONA GRANÜLOSİT KOLONİ STİMÜLAN FAKTÖRÜN ETKİLERİ

EFFECTS OF GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR ON BACTERIAL TRANSLOCATION DUE TO BURN INJURY

Dr.Orhan YALÇIN* Dr.Gürsel SOYBİR* Mikr.Emine ER** Dr.Ferda KÖKSAY*
Dr.Hakkı ER* Dr.Recep ÖZTÜRK***

ÖZET: Yanıklı hastalarda hücrel ve hümmoral immün fonksiyonlarda birtakım defektler tesbit edilmiştir. Keza ciddi termal yaralanma sonucu enterik bakterilerin mezenter lenf bezleri ve uzak organlara translokasyon oluşturduğu gözlenmiş ve translokasyon ile yanık mortalitesi arasında ilişki gözlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak lökositlerin fonksiyonlarını arttırıcı bir ilaç olan Granülosit Koloni Stimulan Faktör'ün (G-CSF) bakteriyel translokasyona etkisi araştırıldı. 24 adet 250gr erkek Wistar Albino rata %30 haşlanma yanığı ve 1x10³ koloni oluşturan ünite (cfu) Pseudomonas Aeruginosa ile enfeksiyon oluşturuldu. Kontrol grubuna (12 adet), yanıktan 2 gün önce başlayarak %5 Dextroz, tedavi grubuna (12 adet) ise 100ug/kg dozda recombinant human G-CSF (Nuepogen-Roche) günde tek doz subkütan uygulandı. Yanık sonrası 4. gün ratlarda mezenter lenf ganglionları (MLG), karaciğer ve dalağa translokasyon araştırıldı. Kontrol grubunda MLG'da (5/12p<0.01), karaciğerde (6/12p<0.01) ve dalakta (6/12p<0.01) translokasyon oluştu. MLG'deki translokasyon miktarı kontrol grubunda 986 349 cfu/gr tedavi grubunda 371 151 cfu/gr (p<0.05) bulundu. G-CSF'nin yanık ve enfeksiyona bağlı bakteriyel translokasyonu anlamlı derecede azalttığı tesbit edilmiştir.

SUMMARY: Certain defects of cellular and humoral immunity have been established in burn patients. Likewise translocation of enteric bacteria to mesenteric lymph nodes and to distant organs has been observed following serious thermal injury and this translocation has shown relationship with burn mortality. Bearing this factors in mind effects of Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF), a leukocyte function improving drug on bacterial translocation has been investigated. 24 Wistar Albino rats weighing 250gr have been scalded 30% and the lesion infected by 1x10³ cfu Pseudomonas Aeruginosa. The control group (n=12) has been treated with 5% Dextroz solution subcutaneously starting two days preburn, and the study group (n=12) with 100ug/kg human G-CSF (Neupogen - Roche) subcutaneously. On the 4th post burn day translocation to mesenteric lymph nodes (MLN), liver and spleen has been investigated. Translocation in the control group was 12/12 in MLN, 12/12 in liver and 12/12 in spleen where as in the study group the values were 5/12 in MLN (p<0.01), 6/12 in liver (p<0.01) and 6/12 in spleen (p<0.01). Translocation values in MLN were 986 349 cfu/gr (p<0.05) in the study group. It has been observed that G-CSF is significantly effective in reducing bacterial translocation due to burn injury infection.

Son yıllarda yanıklı hastalardaki mortalite modern yoğun bakım ünitelerinde yapılan dinamik tedaviler ile önemli oranda azaltılmıştır. Ancak yanık sonrası sepsis ve buna bağlı multipl organ yetmezliği önemli bir mortalite nedeni olmaya devam etmektedir (1).

Halen yanığa bağlı mortalitenin %75-80'ini bu faktörler oluşturmaktadır. Bu hastalarda sellüler ve hümmoral immün cevapta yetersizlik mevcut olduğundan, antibiotik te-

davisine rağmen sepsis önlenememektedir (2). Yanıklı hastalarda özellikle nötrofil fonksiyonlarında bozukluklar tesbit edilmiştir (3).

Sağlıklı bir insanda lenf ganglionlarında bakteri ürememektedir. 1980'li yıllarda Berg ve Deitch tarafından bakterilerin barsak mukozasından mezenter lenf bezlerine ve buradan da uzak doku ve organlara geçişi tanımlanmış olup bu olaya "Bakteriyel Translokasyon" adı verilmiştir (4,5). Bakteriyel translokasyon olayı yanık (6,7), ciddi travma (8), ve tek başına immün supresyon sonucu (4) gelişebilmektedir.

Deneyisel çalışmalarda bakteriyel translokasyon ile yanık mortalitesi arasında anlamlı bir ilişki tesbit edilmiştir (6). Bundan dolayı bakteriyel translokasyonun engellenmesi,

* Taksim Hastanesi 1. Cerrahi Kliniği.

** M.Sultan Tıp Merkezi

*** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D

Yazışma Adresi:Dr.Orhan YALÇIN

Feyzullah Efendi Sok. Prinççi Apt. No:8/1 Daire:4 34260
Fatih-Istanbul.

yanığa bağlı mortaliteyi azaltıcı etki yapabilecektir.

Koloni uyarıcı faktörler glikoprotein yapısında olup kemik iliğindeki değişik hücreleri uyarmaktadır (9). Granülosit koloni stimulan faktör (GCSF) de granülosit prekürsörlerinin gelişimini stimüle eder ve olgun nötrofilleri aktive eder (10).

Bu bilgilere dayanarak, immün fonksiyonlarda bozukluk yarattığı bilinen yanık olayında, GCSF'nin bakteriyel translokasyona potansiyel etkilerini araştırdık.

MATERYEL-METOD

Deney, Taksim Hastanesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. 24 adet, 250-300gr ağırlığında erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Hayvanlar deney süresince normal oda sıcaklığında standart fare yemi ile beslendiler.

GCSF (Neupogen fl. 300MIU) Roche firmasından temin edildi. Tedavi grubuna, GCSF 1/4 oranında %5 Dekstroz ile sulandırılarak 10ug/kg dozda günde bir kez subkütan uygulandı. Kontrol grubuna ise 0.5ml %5 Dekstroz subkütan uygulandı.

Yanık oluşturulması: Mason ve Walker'in (11) metoduna göre yapıldı. Sırt tüyleri traş edilen hayvanlar, vücut yüzeyinin %30'unda yanık oluşturmak için düzenlenmiş bir kap içindeki 95 C su içine, eter anestezi altında sırt üstü yatırıldılar. 10 saniye su ile sırtları temas ettirilen sıçanlara daha sonra resüsitasyon için 6ml Laktatlı Ringer solüsyonu intraperitoneal olarak verildi. Bunu takiben 1×10^3 koloni oluşturan ünite (cfu) Pseudomonas Aeruginosa içeren solüsyonun 1ml si ile yanık bölgesi enfekte edildi.

Tedavi başlangıcından 48 saat sonra yanık uygulanan hayvanlara, yanıktan sonraki 4.gün (ilaç tedavisi başlangıcından sonra 6.gün) laparotomi uygulandı. Aşırı doz eter anestezi ile sakrifiye edilen hayvanların karınları alkol ile silindi. Steril şartlarda mezenter lenf bezlerinden, karaciğer ve dalaktan doku örnekleri alınarak tartıldı. Örnekler 5ml sıvı besi yeri içinde manuel doku ezicisi ile ezildiler. Bunu takiben kanlı jeloz ve Mc Conkeys besiyerine ekildi ve 24-48 saat sonra üreme olup olmadığı değerlendirildi. Üreyen bakterilerin cinslerinin tayini standart mikrobiolojik yöntemlerle yapıldı.

Mezenter lenf bezlerindeki üreme ayrıca kantitatif olarak 1gr doku başına koloni oluşturan ünite (cfu/gr) olarak hesaplandı.

GCSF'nin in vivo etkinliğini değerlendirmek için deney başlamadan önce hayvanları sakrifiye etmeden önce retroorbital yoldan alınan kanda lökosit sayımları yapıldı.

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi Fisher'in

kesin Ki kare testi ve Mann-Whitney-U testi ile yapıldı.

BULGULAR

Hayvanlarda deney süresince mortalite olmadı. Her 2 gruptaki bakteriyel translokasyon oranları Tablo-I'de gösterilmiştir. Grupların lökosit sayım ortalamaları da Tablo-II'de gösterilmiştir.

Tablo-I: Gruplardaki bakteriyel translokasyon oranları

	Mezenter Lenf Bezleri	Karaciğer	Dalak
Kontrol Grubu	12/12	12/12	12/12
Tedavi Grubu	6/12*	6/12*	6/12*

Tablo-II: Gruplara göre ratların lökosit sayımları

	Deney Öncesi	Deney Sonrası Kontrol Grubu	Deney Sonrası Tedavi Grubu
Lökosit Sayısı/mm ³	12/12	12/12	12/12
	6/12*	6/12*	6/12*

Mezenter lenf bezlerindeki üreme miktarları kontrol grubunda 986 349 cfu/gr, tedavi grubunda ise 371 151 cfu/gr bulundu. Aradaki fark anlamlı idi ($p < 0.05$).

Kültürlerin değerlendirilmesinde, çoğunlukla E.Coli, daha az proteus ürettiği tesbit edildi.

TARTIŞMA

Yanıklardan sonra en büyük mortalite nedeni enfeksiyon olmaktadır. Bu hastalarda aynı zamanda immünoşüpresyon da bulunduğu için enfeksiyon ile mücadele zorlaşmaktadır.

Deneysel çalışmalarda ciddi yanıklardan sonra bakteriyel translokasyon gösterilmiştir. Erken dönemde yüksek oranda oluşan translokasyon, yanığı takip eden günlerde git-tikçe azalmakta, ancak yanık üzerine enfeksiyonun ek-lenmesi, bu azalmayı engellemektedir (7,12). Klinikte görülen tablolarda, yanık oluştuktan bir süre sonra enfeksiyon geliştiği gözlenmektedir. Bu yüzden yanık yarasının en sık görülen enfeksiyon mikroorganizması olan Pseudomonas aeruginosa inokülasyonu işlemi klinik tabloyu taklit etmek için gereklidir.

Jones ve ark. (12) tarafından ratlarda %30 yanık ve enfeksiyon modelinde, yanık sonrası 4. günde, tüm ratlarda mezenter lenf bezleri ve dalakta, translokasyon bulunmuş. Karaciğerde ise translokasyon oranı 10/11 tesbit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise, kontrol grubundaki tüm ratlarda translokasyon tesbit ettik.

Yanıklı hastalarda gram negatif bakteriyeminin yüksek mortalite ile ilgili olduğu belirlenmiştir (1). Bu bakterilerin orjini enterik mikroorganizmalardır. Bakteriyel translokasyon olayında da gram negatif mikroorganizmalar ve özellikle E.Coli rol oynamaktadır. Bu bulgularla infekte yanıklarda, mortalitede bakteriyel translokasyonun rol oynadığını düşünmekteyiz.

Yanık oluşturulan farelerde, yanık arttıkça bakteriyel translokasyonun oranının da arttığı gösterilmiştir (13). Fukushima ve ark. (6) çalışmasında %20 yanık oluşturulan farelerde, bakteriyel translokasyon ile sürvi arasında zıt yönde bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada prostoglandin E analogları translokasyonu azaltırken sürviyi de uzatmıştır.

Granülosit Koloni Stimülan Faktör (GCSF) glikoprotein yapısında bir madde olup, normalde insan vücudunda da bulunmaktadır. Bu madde granülopoezi arttırmakta, ayrıca olgun hücrelerin hem yaşam süresini uzatmakta hem de fonksiyonel aktivitelerini arttırmaktadır (14,15). Recombinant GCSF insan GCSF'nin etkilerine sahip olup, fare ve ratlarda da etkilidir (14). GCSF'nin nötropenik olmayan konaklarda da etkili olduğu gözlenmiştir. Deneysel pnömokok pnömonisi (16), intraabdominal enfeksiyonlar (17), hemoraji sonrası Pseudomonas aeruginosa pnömonisi (18) modellerinde bu etki gösterilmiştir.

Farelerde deneysel yanık modelinde (19), GCSF'nin yanığa bağlı nötrofil fonksiyon bozukluklarını düzelttiği gösterilmiştir. Bir diğer koloni uyarıcı faktör olan Granülosit Makrofaj Koloni Stimülan Faktörün kullanıldığı fare modelinde sürvinin uzadığı tesbit edilmiştir (20).

Mooney ve ark. (21) çalışmasında ise %15 yanık oluşturulan farelerde aynı gün başlanan GCSF tedavisi uygulanmıştır. Bu ilacın lökosit sayısını arttırdığı ve keza sürviyi uzattığı gözlenmiştir ancak bakteriyel translokasyona etkili olup olmadığı araştırılmamıştır.

Çalışmamızda GCSF uygulamasının lökosit sayılarını arttırdığı keza bakteriyel translokasyonu anlamlı derecede azalttığı tesbit edilmiştir. Translokasyonun azalmasının GCSF'nin immünostimülan etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak, ratlarda yanık ve yanık yarısı sepsisi modelinde, GCSF'nin, bakteriyel translokasyonu anlamlı derecede azalttığı kararına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Sittig K, Deitch AE: Effect of bacteremia on mortality after thermal injury. Arch Surg. 123: 1367-70, 1988.
2. Stratta RJ, Warden GD, Ninnemann JL, Saffle RJ: Immunologic parameters in burned patients. Effect of therapeutic interventions. J Trauma 21: 7-17, 1986.
3. Alexander JW, Meakins IL: A physiologic basis for the development of opportunistic infections in man. Surgery 176: 273-87, 1972.
4. Berg RD, Wommack E, Deitch EA: Immunosuppression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of mice. Arch Surg 119: 166-172, 1984.
5. Deitch Ea, Wintertorn J, Berg RD. Promotion by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of mice. Arch Surg. 119: 166-172, 1984.
6. Fukushima R, Giannotti L, Alexander JW, pyles T: The degree of bacterial translocation is a determinant factor for mortality after burn injury and is improved by prostaglandin analogs. Ann Surg 216: 438-45, 1992.
7. Çetinkale O, Anđ Ö, Bilgiç L, Şenyuva C, Pusane A. Yanık eskarının erken eksizyonu ve grettleminin barsakta oluşan bakteriyel translokasyon üzerine etkisinin deneysel olarak araştırılması. Çağdaş Cerrahi Dergisi 6: 35-41, 1992.
8. Salman FT, Buyruk MN, Gürler N, Çelik A: The effect of surgical trauma on the bacterial translocation from the gut. J Pediatr Surg. 27 (7): 802-804, 1992.
9. Yeun Y, Lalenda C, Demling R: The role of mediators in the response to thermal injury. World J Surg 16: 30-36, 1992.
10. Dieft CA: Hematopoietic growth factors. J Clin Invest 79: 1549-57, 1987.
11. Walker HL, Mason AD: A standart animal burn. J Trauma 8: 1049-54, 1968.
12. Jones WG, Minei JP, Barber AE, Rayburn JL, Fahey TJ, Shirer III GT, Shires GT. Bacterial translocation and intestinal atrophy after thermal injury and burn wounds sepsis. Ann Surg 214: 399-405, 1990.
13. Giannotti L, Alexander JW, Pyles T, James L, Babcock GF: Relationship between extent of burn injury and magnitude of microbial translocation from the intestine. J Burn Care Rehabil 14: 336-42, 1993.
14. Nelson S: Role of granulocyte Colony-Stimulating factor in the immun response to acute bacterial infection in the non-neutropenic host: An overview. Clinical Infectious Diseases 18: (Suppl): 197-204, 1994.
15. Lang CH, Bagby GJ, Debreseu C, Nelson S, Spitzer JJ: Effects of granulocyte Colony Stimulating Factor on sepsis-induced changes in neutrophil accumulation and organ glucose uptake. J infect. Dis 166: 336-43, 1992.
16. Lister PD, Gentry MJ, Preheim LC. Granulocyte Colony stimulating factor protects control rats but not ethanol fed rats from pneumococcal pneumonia. J Infects. Dis 168: 922-26, 1993
17. O'reilly M, Silver GM, Greenhaly DG, Gamelli RL, Davis JC. Treatment of intraabdominal infection ith granulocyte colony-stimulating factor. J Trauma 33: 679-682, 1992.

18. Abraham E, Stevens P: Effects of granulocyte colony-stimulating factor in modifying mortality from pseudomonas aeruginosa after hemorrhage. Crit care med. 20 (8): 1127-1133, 1992.

19. Sartorelli KH, Silver GM, Gamelli RL, The effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) upon burn-induced defective neutrophil chemotaxis. J Trauma 31: 523-530, 1991.

20. Gennari R, Alexander JW, Gianotti L, Pyles TE, Hartmann S: Granulocyte Macrophage Colonystimulating factor improves survival in two models of Gut-derived sepsis by improving gut barrier function and modulating bacterial clearance. Ann Surg. 220: 68-76, 1994.

21. Mooney DP, Gamelli RL, O'Reilly M, Hebert JC: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and pseudomans burn wound sepsis. Arch Surg. 123: 1353-1357, 1988.