PERİTONİT MODELİNDE GEÇİKMİŞ TİPTE AŞIRI DUYARLILIK DERİ TESTLERİNE OLAN CEVABIN PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ

M. Faik ÖZÇELİK* Yusuf ÇİÇEK* Salih PEKMEZCİ** Vedat DURGUN* Ahat ANDİCAN***

ÖZET

Çalışmada sıçanlarda oluşturulan peritonit modelinde gecikmiş tipte aşırı duyarlılık deri testleri (GADDT) ne olan cevabın prognoz ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışma, peritonit modeli oluşturulan (n : 30), Sham operasyonu yapılan (n : 10) ve hiçbir cerrahi işlem uygulanmıyan (n : 10) gruplarda gerçekleştirilmiştir.

Sıçanlarda dinitroflorobenzen (DNFB) ile gecikmiş tipte deri aşırı duyarlılığı oluşturulduktan 5 gün sonra her iki kulak kalınlıkları ölçüldü. Sham operasyonu ve peritonit grubuna cerrahi işlemleri takiben, kontrol grubuna hiçbir cerrahi işlem yapmadan sıçanların kulaklarına test dozu DNFB sürüldü. 24 saat sonra her iki kulak kalınlıkları ölçülerek aradaki farklar tesbit edildi ve kontrol grubundaki artışa göre yüzdeleri belirlendi.

Sham operasyonu grubunda GADDT cevabında % 18 lik anlamlı azalma olduğu gözlendi ($p < 0.02$).

Peritonit modeli oluşturulan grupta ilk 24 saatte 7 sıçan eksitus oldu ve GADDT cevapları değerlendirilmeye dahil edilmedi. Hayatta kalan 23 sıçandan GADDT cevapları kontrollere göre % 50—80 arasında olanlarda sadece 2 denekte abse gelişmişken, cevabın % 20—50 arasında olduğu deneklerden 8 inde abse oluşmuş, 4 ünde eksitus olmuştur. Bu sonuçlar Fisher exact testine göre yorumlandığında anlamlı fark olduğu bulunmuştur ($p = 0.004$).

Sonuç olarak GADDT den peritonite bağlı septik komplikasyon gelişebilecek olguların tesbitinde faydalanılabileceği kanısına varılmıştır.

SUMMARY

In peritonitis model, delayed type hypersesitivity skin reaction compared to the prognosis

In this study, delayed type hypersensitivity skin reaction positivity was compared to prognosis had been searched at rats which were artifically established peritonitis.

By the means of DNFB, delayed type skin hypersensitivity had been established at rats. 5 days later bilateral ear thickneses had been measured. In sham operation and peritonitis group, following the surgical procedure and to the control group test dose of DNFB had been rubbed to the ears of rats. 24 hours later bilateral ear thicknesses had been measured and difference between them had been confirmed. The results had been percentaged by the means of increasment in the control group.

In sham operation group, delayed type hypersensitivity skin reactions (DTHSR) result was decreased % 18, which was accepted neaningfull ($p < 0.02$).

In group which was established peritonitis, 7 rats were dead in first 24 hours so DTHSR results could not be established. In living 23 rats, DTHSR persentage which was compared to control group as between responses % 50—80 only 2 had developed abces. 8 abces had been observed and 4 of these died in the working group that had the response between % 20—50. As these results attributed to Fishers's exact test, there found a meaningfull difference ($p = 0.004$).

As a result, DTHSR can be used in order to discriminate the septic complications which could be developed by the means of peritonitis.

Gecikmiş tipte aşırı duyarlılık deri testleri (GADDT) immünokompetansın değerlendirilmesinde değerli bir yöntemdir. Deri testlerine reaksiyon yeteneğinin olmaması hali olan anerji, organizmanın savunma mekanizmalarındaki bozulmayı göstermektedir[1,2]. Klinik deneyimler anerjik hastaların postoperatif dönemde septik komplikasyonlar ve mortalite açısından yuksek risk taşıdığını göstermektedir[3-5].

* İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanı
** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Öğrencisi
*** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Profesörü

İnsanlarda sepsis, anerji nedeni olarak gözükmektedir. Klinik değerlendirmede anerjiye neden olabilecek birlikte bulunabilen diğer etkenleri de (kanser, malnütrisyon veya travma gibi) ayırt etmek genellikle güçtür. Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunun anerjik olduğu ve septik odağın drenajı ile GADDT ne cevabın düzeldiği gözlenmiştir[3].

Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan peritonit modelinde GADDT ne olan cevabın prognoz ile ilişkisi araştırılmıştır.

MATERYEL ve METOD

Bu çalışma İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patolojik Anatomi Anabilim Dalı hayvan laboratuarında yapılmıştır.

Çalışmada 50 adet, ağırlıkları 130–160 gr arasında değişen Sprague–Dawley sıçanları kullanılmıştır. Sıçanlar deney süresince standart hayvan yemi ve su ile ad libitum olarak beslenmişlerdir.

Sıçanlarda Hansbrough ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde Dinitrofluorobenzen (DNFB) ile kontakt duyarlılık oluşturuldu[6,7]. Bunun için hayvanların traş edilen karın bölgelerine 25 mikrolitre 4/1 oranında aseton/zeytinyağında hazırlanmış % 0.5 DNFB karışımı sürüldü. Ertesi gün aynı miktar ve yoğunlukta DNFB hayvanların karın bölgelerine tekrar sürüldü. İkinci uygulamadan 5 gün sonra sıçanların teker teker her iki kulak kalınlıkları hassas bir mikrometre (10–4 cm hassasiyette) ile ölçülerek kaydedildi. Kontrol grubuna hiçbir işlem yapılmadan, peritonit ve sham operasyon gruplarında cerrahi işlemi takiben sıçanların kulaklarına 20 mikrolitre % 0.2 DNFB sürüldü ve 24 saat sonra her iki kulak kalınlıkları tekrar ölçülerek kaydedildi. Aralarındaki fark hesap edilerek peritonitli ve Sham operasyonlu hayvanlarda bulunan değer, kontrol grubundaki değerin yüzdesi olarak ifade edildi.

Peritonit oluşturulan 30 sıçanda eter anestezisi altında yaklaşık 2 cm lik orta hat batın insizyonunu takiben çekum tabanından ileus oluşturulmayacak şekilde 3/0 ipekle bağlandı. Daha sonra antimezenterik yüze 20 numara injeksiyon iğnesi ile iki adet delik açıldı ve batın 3/0 ipek ile kapatıldı. Sham operasyonu yapılan 10 sıçanda eter anestezisini takiben orta hat batın insizyonu yapılıp, çekum insizyona kadar mobilize edilerek bırakılmış takiben batın 3/0 ipek ile kapatılmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 10 sıçana ise hiçbir cerrahi işlem yapılmamıştır.

Eksitus olan bütün sıçanların nekropsisi yapılmıştır, hayatta kalanların hepsi 7. gün aşırı dozda eter anestezisi ile sakrifiye edildikten sonra nekropsileri yapılarak batın içinin görünümü, abse odakları değerlendirilmiştir. Eksitus olan ve sakrifiye edilen sıçanların peritoneal eksüdaları veya abselerinden kültür için örnekler alınmıştır.

GADDT sonuçları, gruplar arasındaki kulak sayvanı kalınlıkları farklı standart t test ve t si testlerine göre, abse gelişmesi ile mortalite Fisher'in Exact testine göre değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Peritonit geliştirilen 30 sıçanın 11 i exitus olmuştur. Exitus, 7 sıçanda ilk 24 saat içinde meydana gelmiştir. Diğer 4 sıçandan birer tanesi 3 ve 4. günlerde, 2 si de 5. günde exitus olmuştur. 24 saat içerisinde exitus olan sıçanların nekropsilerinde batında kötü kokulu bolca miktarda mai ile karşılaşıldı, bu maiden yapılan mikrobiyolojik incelemede E.coli hakimiyeti tesbit edildi. Daha sonraki günlerde exitus olan ratların nekropsilerinde batında mültipl abseler ve adhezyonlar bulundu, abselerin mikrobiyolojik incelemelerinde B. fragilis hakimiyeti mevcuttu. Yedinci gün sakrifiye edilen sıçanların nekropsilerinde, 10 tanesinde batında abseler, diğerlerinde de adhezyonlar ile karşılaşıldı.

Sham operasyonu yapılan sıçanlarda kulak sayvanı kalınlıkları farkı kontrol grubuna göre ortalama olarak % 18 daha azalmış bulunmuştur. Kulak sayvan artışı kontrol grubunda 1 ∓ 0.2 mm, sham operasyonu grubunda ise 0.82 ∓ 0.01 mm dir. Bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($t = 2.54$, $p < 0.02$).

Peritonit modeli uygulanan sıçanlarda 24 saat içinde exitus olanların kulak sayvanı kalınlıkları değerlendirilmeye alınmadı. Daha uzun süre yaşayan sıçanlardaki kulak sayvanları kalınlığı farkının kontrol grubundaki normal veya % 100 kabul edilen değerlere yüzdesi oranları % 20 ile % 80 arasında ölçüldü (0.8 mm ile 0.20 mm arasında). Bu değişimlerin hepsi anlamlı ve çok ileri derecede anlamlı bulunmuştur. Farkın % 20 ile 30 arasında olduğu grupta $t = 2.190$, $p < 0.05$ ile % 70 ile 80 arasındaki grupta $t = 5.67$, $p < 0.001$ arasında değerler elde edilmiştir. Sıçanların kulak sayvanı kalınlığı farkı yüzdeleri Tablo 1 de, abse ve exitus gibi komplikasyonların geliştiği sıçanlardaki GADDT sonuçları Tablo 2 de görülmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre kulak sayvanı kalınlığı farkı normalin % 50 sinin altında bulunan grupta 8 sıçanda abse, 4 tanesinde de exitus gelişmiştir. Kulak sayvanı kalınlığı farkının normalin % 50 nin üzerinde

olanlarda ise sadece 2 abse görülmüştür. Bu sonuçlar Fisher exact testine göre yorumlandığında anlamlı fark bulunmuştur (p : 0,004).

Tablo 1. Peritonit grubunda gecikmiş tipte aşırı duyarlılık deri testi cevapları.

Kulak sayvanı kalınlığı farkı % sl	Denek sayımı
70 — 80	6
60 — 70	2
50 — 60	1
40 — 50	4
30 — 40	6
20 — 30	4

Tablo 2. Peritonit grubunda gecikmiş tipte aşırı duyarlılık deri testi cevaplarına göre oluşan komplikasyonlar.

Kulak sayvanı kalınlığı farkı % sl	Abse	Exitus
70 — 80	—	—
60 — 70	1	—
50 — 60	1	—
40 — 50	2	1
30 — 40	4	1
20 — 30	2	2

TARTIŞMA

GADDT leri hücresel immüniteyi değerlendirmek için kullanılmaktadır. Hücresel immüniteyi değerlendirmek için yapılan invitro testler T lenfositlerinin özel fonksiyonlarını ölçmeye yöneliktirler[1]. İn vitro testlerin hepsi ileri teknik gerektiren laboratuarlarda uzman kişilerce yapılabilen pahalı ve uzun süre isteyen yöntemlerdir. İn vivo olarak yapılan testler yeni antijen kullanılarak (DNCB, DNFB) veya vücudun daha önceden karşılaşmış olduğu bellek antijenleri uygulanarak yapılan gecikmiş tipte deri aşırı duyarlılık testleridir[1]. Bir cilt testi olan bu testler basit ve çabuk uygulanabildiği gibi immün yetmezliğin olup olmadığına karar verdiricidir, fakat immün yetmezliğin sebebini ve yerini göstermemektedirler[2].

Yeni antijen kullanılarak yapılan cilt testlerinde evvelâ duyarlılık oluşturan küçük doz daha sonra da test dozu uygulanır. T hücrelerinin fonksiyonları normal ise test dozundan sonra bir kontakt dermatiti gelişir. Bu testlerde 48 saat sonra enflamatuar cevabın alınamaması anerji olarak tanımlanır. Test yerinde önce 24 saat içinde bir sertleşme, eritem oluşur, 48 saatte reaksiyon en üst düzeyine ulaşır ve daha sonraki bir iki gün içinde kaybolur.

GADDT ile gerçekte bütün antibakteriyel immünolojik olaylar test edilir. Bunlar; antijenin tesbit edilmesi, makrofajlar tarafından işlenmesi, lenfokinlerin açığa çıkması, antikor sentezi, lökosit kemotaksisi ve enflamatuar cevaptır. Test edilmeyen tek safha bakterilerin öldürüldüğü safhadır[1].

GADDT ile elde edilen immün cevap tümöre karşı duyarlılık, transplantasyon immünitesi, fungal, viral ve intrasellüler bakteriel infeksiyonlara rezistans ile de ilgilidir[1,3].

Günümüzde, sepsis cerrahi hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir.

GADDT ile anerji hali tesbit edilen preoperatif, postoperatif ve posttravmatik hastalarda sepsis ve mortalite riskinin arttığı gösterilmiştir[2,3,5].

Çalışmamızdaki sonuçlar incelendiğinde GADDT ne cevap azaldıkça sıçanlarda generalize peritonite bağlı exitus ile abse oluşmasının arttığı gözlenmektedir. Cevabın % 50 ve daha fazla azaldığı grupta % 71.4 oranında abse veya exitus gibi komplikasyonlar gelişmiştir (Tablo 2).

Bohnen ve arkadaşları, sıçanlarda intraperitoneal baryumla karıştırılmış çeşitli konsantrasyonlardaki B.fragilis, E.coli, S.fecalis ve C.perfringens inokülasyonları ile oluşturdukları peritonit modelinde 24 saat sonra GADDT ne reaktif sıçanların % 10 unda, anerjik olanlarınsa % 90 ında mortalite ve abse gelişimi olduğunu bildirmektedirler[8]. Bu sonuçlar bizim çekal ligasyon ve delme işlemi ile oluşturduğumuz peritonit modelindeki 24 saat sonraki GADDT sonuçları ile uyumludur.

Cerrahi travma ve anestezinin deri duyarlılığını azalttığı bildirilmiştir. Cerrahi işlemlerin GADDT lerine cevabı baskılayıcı etkisi bulunmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Biz çalışmalarımızda anesteziye bağlı deri duyarlılığı testi cevabına bozulmasını en aza indirmek için eter ile inhalasyon anestezisini kullandık[9-11]. Çalışmamızda Sham operasyonu grubundaki GADDT cevabında % 18 lik, istatistiki olarak anlamlı bir azalma olduğunu ($p < 0.02$) tesbit ettik.

Peritonitli hastalarda ve deneysel olarak peritonit oluşturulmuş hayvanlarda GADDT duyarlılığı ile ilgili deneyim çok kısıtlıdır. Van Epps ve arkadaşlarının inceledikleri 6 peritonitli olguda GADDT ne cevabın normal olmadığı bildirilmiştir[12].

Çalışmamızda, peritonit oluşturulan sıçanlarda erken dönemde deri testi reaktivitesinin azaldığı grupta abse ve mortalitenin anlamlı oranda yüksek görülmesi, bu

safhada anerji ile savunma mekanizmasındaki bozukluğun arasında bir bağlantının olduğunu düşündürmektedir. Çalışma ile erken dönemde GADDT ne cevap ile abse veya mortalite gelişebilecek sıçanların belirlenebileceği kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak GADDT den, peritonite bağlı septik komplikasyon gelişebilecek olguların tesbitinde faydalanılabileceği, riskli olgularda vakit kaybetmeden cerrahi, antimikrobik ve immünorestoratif tedavi kombinasyonu ile tedavinin plânlanmasının mortalite ve morbiditeyi azaltacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Stites DP, Terr AI : Basic and clinical immunology. Appleton and Lange. Norwalk, Connecticut/Los Altos, California. 1991.
2. Mac Lean LD : Delayed type hypersensitivity testing in surgical patients. Surg Gynecol Obstet. 166: 285, 1988.
3. Meakins JL, Pietsch JB, Bubenick O, et al : Delayed hypersensitevity : Indicator of acquired failure of host defenses in sepsis and trauma. Ann Surg. 186 : 241, 1977.
4. Kınacı N, Topuzlu C : Gecikmiş hipersansitivite deri testlerinin cerrahi hastalarda prognostik değeri. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası. 46 : 64, 1983. .
5. Christou NV, Meakins JL, MacLean LD : The predictive role of delayed hypersersitivity in preoperative patients. Surg Gnecol Obstet. 152 : 297, 1981.
6. Hansbrough JF, Zapata—Sirvent R, Peterson V, et al : Characterization of the immunosupressive effect of burned tissue in an animal model. J Surg Res. 37 : 383, 1984.
7. Hansbrough JF, Peterson V, Kortz E, Placentine J : Postburn immunosuppression in an animal model : Monocyte dysfunction incuced by burned tissue. Surgery 93 : 415, 1983.
8. Bohnen JM, Christou NV, Chiasson L et al : Anergy secondary to sepsis in rats. Relation to outcome. Arch Surg. 119 : 117, 1984.
9. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL : Small—bowel bacterial overgrowth and systemic immunosuppression in experimental peritonitis. Surgery. 104 : 404, 1988.
10. Slade MS, Simmons RL, Yunis E, Greenberg LJ : Immunodepression after major surgery in normal patients. Surgery. 78 : 363, 1975.
11. Pietsch JB, Meakins JL, Gotto D, MaacLeen LD : Delayed hypersensitivity responses : The effect of surgery. J Surg Res. 22 : 228, 1977.
12. Van Epps DE, Frierson JA, Williams Jr RC : Immunological studies of anergic patients. İnfect Immunol. 10 : 1003, 1974.