

Künt beyin travmalarının timus ve bağışıklık sistemi üzerindeki morfolojik etkilerinin deneysel araştırılması*

Dr. Sait Bilgiç, Dr. Ünsal ÖZGEN, Dr. Süleyman Kaplan,
Dr. Cem KOPUZ, Dr. Nusret ÇİFTÇİ, Dr. Belma DÜRUPINAR,
Dr. Bedri KANDEMİR, Dr. Hasan GÜMÜŞ

*Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Çocuk Sağlığı ve Hast.
Histoloji, Patoloji ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalları, SAMSUN*

✓ Bu çalışmada 50 adet 45-55 günlük albino dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar herbirinde 10'ar adet olan 5 gruba ayrıldı. I., II., III. kontrol IV. ve V. ise deney grupları olarak seçildiler. Grup I'deki sıçanlara hiçbir işlem yapılmadı. Deney grubundaki sıçanlara cerrahi işlemler derin anestezi altında yapıldı (0.1 mg/kg ketamin). Grup II'deki sıçanlara sham operasyonu uygulandı ve işlemden sonra 2 gün tutuldular. Grup III'deki sıçanlara da sham operasyonu uygulandı ve bunlar işlemden sonra 5 gün tutuldular. Deney grubunu oluşturan Grup IV'deki sıçanlara beyin travması uygulandıktan sonra 2 gün, Grup V'deki sıçanlara beyin travması uygulandıktan sonra 5 gün tutuldular. Künt beyin travması; kranium dorsal yüzünde açılan 3 mm çapındaki delikten, özel olarak yapılan bir aletle gerçekleştirildi. Bütün gruplardaki sıçanlar deneyde tutuldukları sürenin sonunda uyutularak intrakardiyak yolla kanları alındı ve aynı yolla formaldehitte perfüzyonları yapıldı. Daha sonra toraks ön duvarı açılıp timuslara çıkarıldı, hassas terazide ağırlıkları ölçüldü. Histopatolojik incelemeler için timus dokusundan rutin histolojik tekniklerle preparatları hazırlandı. Kan kortizol düzeyleri RIA yöntemiyle ölçüldü. Sonuçlar Mann-Whitney U testi ile kontrol edildi. Grup I'e göre Grup V'de görülen lenfosit sayısındaki ve kortizol düzeyindeki azalma anlamlıydı ($p<0.05$). Timus ağırlıkları yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi.

Anahtar Kelimeler: Travma, Timus, İmmun Sistem, Sıçan.

An experimental study on effects of blunt trauma on immune system and thymus of rats

✓ Fifty albino rats, aged between 45 and 55 days, were used in this study. The animals were divided into five groups, ten rats in each group. The animals in group I were killed without any operation. Sham-operated groups II and III were killed after 2 and 5 days of postoperative observation, respectively. The animals in groups IV and V were traumatized by a blunt percussion device that was left in a hole 3 mm in diameter of cranium which were surgically prepared. The animals in the traumatized groups IV and V were killed after 2 and 5 days of postoperative observation, respectively. For sacrifice, the rats were deeply intraperitoneally anesthetized with ketamin in a dose of 0.1mg/g of body weight, and the blood was taken into a tube. After that intracardiac perfusion was carried out, with isotonic saline and 19% formalin (20 to 30 ml). Following perfusion, the thymus was removed and weighed. The thymus tissues were prepared for histopathologic analysis. The number of lymphocytes and concentration of cortisol in the blood were calculated for each group. Mann-Whitney U test is used to test for significance between experimental and control groups. There was no significant difference among the groups in the weights of thymus, however there was a significant decrease in the numbers of lymphocyte and the concentrations of cortisol between group I and group V ($p<0.05$).

Key words: Trauma, Thymus, Immune System, Rat.

GİRİŞ

Hergün birçok kişinin ölümüne sebep olan trafik kazaları aynı zamanda çok sa-

*Bu çalışma Ondokuzmayıs Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiş ve II. Ulusal Anatomi Kongresi'nde (22-25 Eylül 1993 Adana) tebliğ edilmiştir.

yıda kişinin de yaralanmasına ve sakatlanmasına sebep olmaktadır. Şiddetli travmaların en önemli komplikasyonlarından birisi enfeksiyondur. Önemli künt travmalardan sonra sekonder enfeksiyon oranlarındaki artışın bağışıklık sisteminin basılanmasından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (1).

Bağışıklık sisteminin merkezi konumundaki timus, bağışıklığın tesisinde ve korunmasında önemli bir yere sahiptir (2-4). Timus lenforetiküler bir yapıda olup (5,7) timozin, timopoetin, timostimulin ile timus humoral faktör gibi salgıları oluşturur (8). Lenfositler kemik iliğinde "Stem cell" denilen mezenşim kökenli hücrelerinden gelişirler (9,10).

"Stem Cell" in timus'ta T lenfositlerine dönüşmeye başladığı bildirilmekle birlikte, timusa gelmeden önce farklılaşmaya başlayıp, başlamadığı tartışmalıdır (8). Olgunlaşmamış lenfositler timusun korteksinde, olgunlaşanlar ise medullasında bulunurlar. Lenfositler buradan diğer lenfoid yapılara gönderilerek bağışıklık sisteminin fonksiyonel hücrelerini oluştururlar (11). Sinir sistemi, endokrin sistem ve bağışıklık sistemi arasında bir ilişki bulunmaktadır (11-13). lenfositler birçok hormona ait (kortikosteroid, insulin, katekolaminler, büyüme hormonu ve met-enkafalin) reseptörlere sahiptirler. Bu hormonların bağışıklık sistemi üzerinde doğrudan etkileri yoktur. Burada timus merkezi bir rol oynar; sinir ve endokrin sistemden gelen sinyalleri alır ve kendi hormonları yoluyla bağışıklık sistemine aktarır (8).

Akut ve kronik enfeksiyonlar, beslenme bozuklukları, açlık, zehirlenmeler, röntgen ışınları ve çeşitli travmalar, timusta lenfositlerin harabiyetine yol açarak atrofiye sebep olabilirler (6). Bağışıklık sisteminin primer bir elemanı olduğu bilinen timusun, büyük yaralanmalar ve travmaları takiben bağışık yetenekte görüldüğü bildirilen olumsuz değişmeye (14-16) paralel olarak etkilenmesi söz konusu olabilir. Bu nedenlerle künt beyin travmasının (17-18) timus üzerindeki morfolojik etkilerini araştırmak için böyle bir deneysel çalışma yapıldı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 50 adet yaklaşık olarak 45-55 günlük dişi albino sıçanlar kullanıldı. Ondokuz Mayıs Üniv. Cerrahi Araştırma Merkezinden temin edilen sıçanlar 5 gruba ayrıldılar. Birinci grup (Grup I) normal kontrol grubunu oluşturmaktaydı. İkinci (Grup II) ve üçüncü (Grup III) gruplara sham operasyonu uygulandı. Dördüncü (Grup IV) ve beşinci (Grup V) gruptaki sıçanlara künt beyin travması yapıldı. Sham-operasyonu ve künt beyin travması derin anestezi altında (100mg/kg i.p. Ketamin) uygulandı. Operasyona alınan sıçanlar uyuştuktan sonra stereotaksik alete yerleştirildi. Grup II ve III'deki sıçanların kafatası sol dorsal yarımındaki kafa derisi sagittal istikamette kesildi (5mm uzunluğunda) ve dikiş atılarak kapatıldı. Bu işleminden sonra Grup II'deki hayvanlar 2 gün, Grup III'dekiler ise 5 gün süreyle kafeslerinde beslendiler. Grup IV ve V'deki sıçanlar da uyutulduktan sonra stereotaksit alete yerleştirildi. Kafatasının dorsal kısmı sol yarımındaki kafa derisine 5mm uzunluğunda kesit yapıldı. Deri altındaki yumuşak dokular uzaklaştırıldıktan sonra dişi tur motoru yardımıyla kraniumda 3mm çapında delik açılarak duramater görünür hale getirildi (19). Şekil 1'de görülen aletin darbe yapacak ucunun açılan delik yoluyla duramaterle örtülü durumdaki parietal lob üzerine 5 mm yükseklikten ani olarak bırakılmasıyla 8374 dyn. sn'lik bir impuls uygulandı. (İmpuls : F, t= m.v, F: mg cismin ağırlığı dolayısıyla uygulanan kuvvet; t çarpma süresi, m cismin kütlesi, v ise çarpışma anındaki hızdır.

$V: (2gh)^{1/2}$ den h: 5mm düşme yüksekliği, g ise yer çekeimi ivmesidir.

$V: (2.100gr/s^2. 5 \times 10^{-1})^{1/2} = 31.6cm/s,$
m= 265 gr olduğu için,

İmpuls: mv= 265 gr x 31.6cm/s = 8374 dyn.s'lik impuls eşittir). Uygulanan travmadan sonra deri dikilerek bırakıldı ve Grup IV 2 gün, Grup V ise 5 gün süreyle kafeslerinde bakım altında tutuldular.

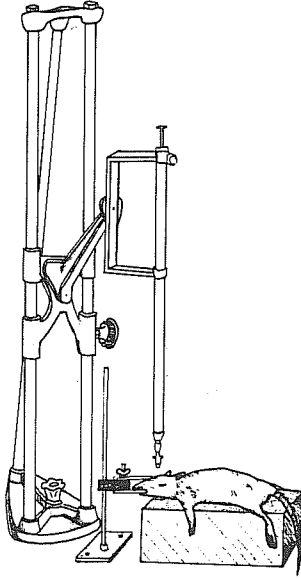
Deneyde tutulma süreleri sonunda hayvanların anestezi altında intrakardiyak yolla kanları alındı. Kanları alındıktan

sonra aynı yolla formaldehit verilerek perfüzyonları tamamlandı. Perfüzyondan sonra ise timusları çıkarılarak hassas terazide (METTLER PM 600, 0.01g) tartıldı. Timuslardan histolojik kesitler alınarak bunlardan preparatlar hazırlandı. Hematoksilen-eosin ile boyanan preparatların histopatolojik incelemeleri yapıldı. Histolojik preparatlar Zeiss Axiophot marka binoküler fotomikroskop yardımıyla resimler alındı. Alınan kan örneklerinde lenfositotoksiste

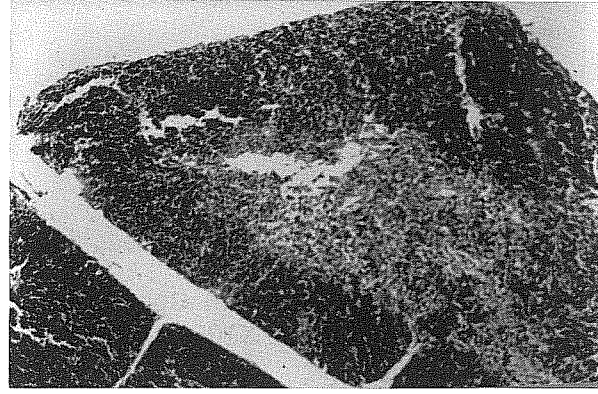
yöntemiyle lenfosit sayımı yapıldı ve RIA tekniğiyle (DPC kiti) kortizol seviyeleri ölçüldü. Sonuçlar Mann-Whitney U testi ile kontrol edildi.

BULGULAR

Tablo 1'de timus ağırlıkları, lenfosit sayıları ve kortizol düzeyleri dağılımı görülmektedir. Timus ağırlıkları yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Lenfosit sayısında Grup III ve Grup V'de an-



Şekil 1: Travma uygulamak için kullanılan aletin şematik görünümü



Şekil 2: Normal Kontrol Grubu, Timus, X100

Tablo I: Gruplarda timus ağırlığı (mg timus ağırlığı/gr vücut ağırlığı), lenfosit sayısı (mm^3) ve kortizol düzeylerinin ($\mu\text{gr}/\text{dl}$) dağılımı

Gruplar	n	Timus ağırlığı	Lenfosit sayısı	Kortizol konsantrasyonu
Grup I	10	4.55±0.32	1566±437	0.795±0.04
Grup II	10	4.27±0.92	2266±527	0.816±0.05
Grup III	10	4.53±0.04	596±112*	0.469±0.03*
Grup VI	10	4.30±0.25	1500±201	0.667±0.04*
Grup V	10	4.29±0.22	256±44*	0.673±0.04*

*p<0.05

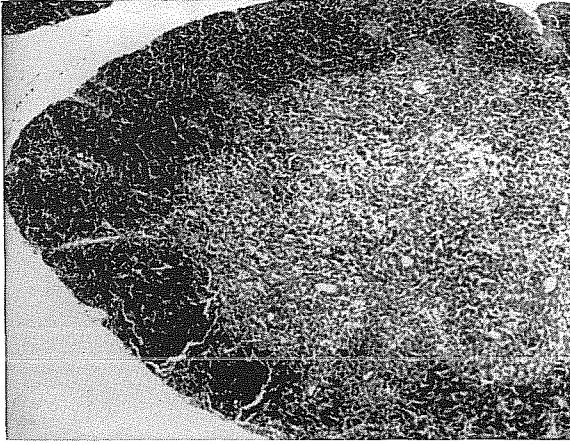
Gruplar X±SE

lamlı düşmeler gözlemlendi ($p < 0.05$). Kan kortizol düzeylerinde ise Grup III, Grup IV ve Grup V'de anlamlı düşmeler görüldü ($p < 0.05$)

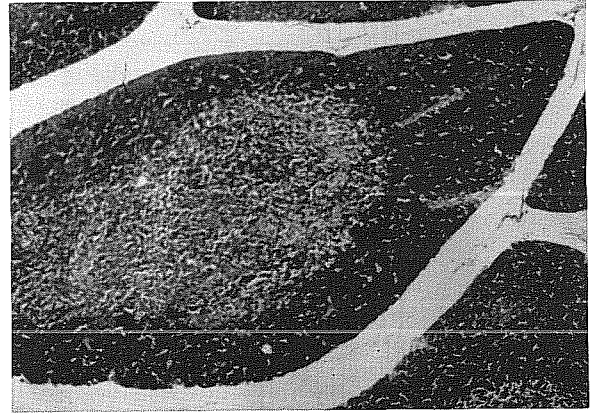
Timus preparatlarının histopatolojik incelemesinde; Grup I'de lobüller arasında çok önce stromanın mevcut olduğu, korteks ve medulla sınırının belirgin olarak seçildiği, korteks kalınlığının medullanın en kalın yarı kısmına eşit görüldüğü, medullanın insana göre daha yoğun lenfosit bu-

lundurduğu ve Hassal cisimciklerinin insandaki gibi belirgin olmadığı görüldü (Şekil 2).

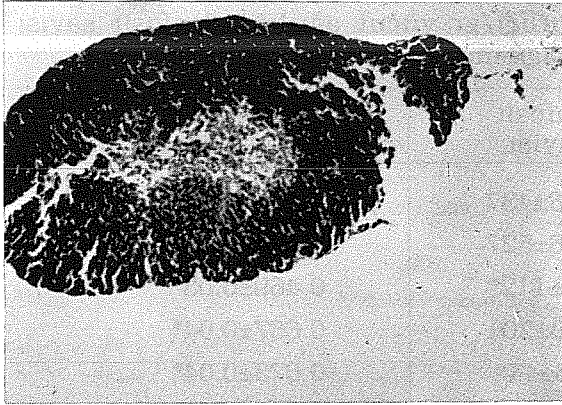
Grup I ile diğer dört grup timuslarının histopatolojisi karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık yoktu. Hepsinde korteks medulla sınırı belirgindi, korteks medulla oranında değişiklik yoktu ve fagosit bulunmuyordu. Timusta atrofi olduğunu gösterecek bulgulara rastlanmadı (Şekil 3,4,5,6).



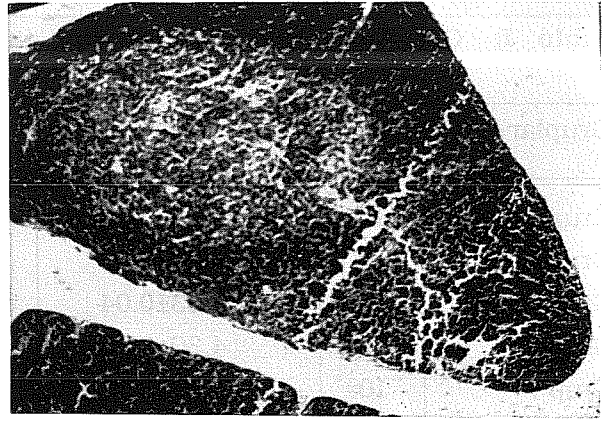
Şekil 3: İki Günlük Sham-Operasyonlu Grup, Timus, X100



Şekil 5: İki Günlük Travmalı Grup, Timus, X100



Şekil 4: Beş Günlük Sham-Operasyonlu Grup, Timus X100



Şekil 6: Beş Günlük Travmalı Grup, Timus, X100

TARTIŞMA VE SONUÇ

Timusun bağışıklık sisteminin primer bir elemanı olduğu (10), bağışıklık sisteminin gelişmesinde ve korunmasında önemli bir rol oynadığı (2-4) bildirilmektedir. Değişik travmaları takiben bağışık yetenekte düşme olduğu kaydedilmiştir (1,8,12,14,16). Lenfositlerin birçok hormona ait reseptörlere sahip olduğu ve immun sistemin, hormonların bu reseptörlerle algılanması sonucu etkilendiği fakat bu mekanizmada timusun sinir ve endokrin sisteminden gelen sinyalleri alarak kendi hormonlarıyla da immun sistem elemanlarını etkileyerek önemli bir görev üstlendiği bildirilmiştir(11)

Beyin yaralanmaları ve kafa travmalarında bağışıklık sisteminde ortaya çıkan gerilemeyi açıklayabilmek amacıyla yapılan bir çalışmada farelerin sağ ve sol beyin kortekslerinden parça çıkarılması sonucunda yeme, içme, çiftleşme ve hareket etme gibi davranışlarda değişiklik ortaya çıkmadığı, fakat T lenfositlerinde azalma tesbit edildiği bildirilmiştir (22). Ayrıca bağışık yetenekte (2) ve timusta (9,19-21) ilerleyen yaşla birlikte gerileme olduğu da bildirilmektedir.

Yapılan bu çalışmada; beyine künt travma uygulayarak timusun ve bağışıklık sisteminin etkilenip etkilenmediğine morfolojik ve histopatolojik olarak bakıldı. Timus ağırlığı yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. Normal kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, total kan lenfosit sayıları 5 günlük sham operasyonlu ve 5 günlük travmalı gruplarda anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.05$). Hem sham operasyonlu kontrol grubunda, hem de travmalı deney grubunda lenfosit sayısındaki bu azalmaya travmanın dışında uygulanan cerrahi işlemin ve kafesteki bakım süresinin uzaması stresinin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak aynı grupların ve ilave olarak 2 günlük travmalı gruptaki sıçanların kan kortizol düzeylerinin normal kontrol grubundan anlamlı derecede azalma da görüldü ($p<0.05$). Bu ise lenfosit sayısındaki azalmayı deney stresi-ne bağlama düşüncemizi zayıflatıyor. Çün-

kü birçok araştırmacının (23,24,25) depresyonlu hastalarda veya stres altındaki kişilerde kan kortizol düzeylerinin yükseldiğini hatta kortizol seviyesi yüksekliğini stres için biyokimyasal bir işaret olarak da kabul ettiklerini görmekteyiz.

Cerrahi işleme ve travmaya maruz kalmış gruplardaki lenfosit sayısı azalmasını Wilson1, Hirokawa2 ve Gürgeç24'in de ifade ettikleri gibi travma veya strese bağlı olarak, bağışıklık sistemindeki zayıflamaya işaret kabul etmek mümkün olabilir. Fakat aynı gruplardaki kortizol seviyesinin düşmesini net bir şekilde yorumlamaktan şimdilik kaçınmanın uygun olacağını düşünmekteyiz. Daha hassas travma metodlarının uygulanabildiği çalışmalarda bu sonuçların teyid edilmesi halinde net yorum yapılabileceği kanaatindeyiz.

Geliş Tarihi: 19.10.1993

Yayına Kabul Tarihi: 10.11.1993

KAYNAKLAR

1. Wilson. N., Ochs, HD., Peterson, B., et al.: abnormal primary antibody responses in pediatric trauma patients. *J. Pediatrics*, 1989; 115 (3): 424-426.
2. Hirokawa, K., Utsuyama M., Kasai, M.: role of the thymus in aging of the Immune system: (in) Allan L. Golstein (ed). *Biomedical Advances In Aging*. Plenum Publishing corporation, 1990; 375-384.
3. Peter, J., Bağışıklık Sistemimiz. *Bilim ve Teknik Derg.* 1986; 19(223): 30-33.
4. Pierpaoli, W., Sorkin, E., Relationship between Thymus and Hypophysis. *Nature* 1967;215(Aug.): 634-637.
5. Fawcett, DW.: a textbook of Histology. 11 th ed. London: W.B. Saunders Company, 1989: 436-448.
6. Erkoçak, A., Özel Histoloji (Dolaşım, lenfotik, İç Salgı, Üriner, Genital, Sinir ve Solunum Sistemleri) Ankara, A.Ü. Tıp Fak. Basımevi, 1982: 71-75.
7. Ross. MH., Reith, ES.: Histology, A Text and Atlas Harper and Now. New York, S.B. Lippincott company, 1985: 309-313.

- 8.** Roit, I., et al.: Immunology. 2 nd Ed. London and Melbourne, Churchill livingstone Pub., 1989; 3,1-14.6.
- 9.** Hirokawa K., Utsuyama M., Kasai, M., et al.: Age-related hyperplasic of the thymus ant T-cell system in the Buffalo rat. virhows Archiv B Cell Pathol. 1990; 59: 38-47.
- 10.** Peter, J.: Bağışıklık Sistemimiz. Bilim ve Teknik Derg. 1986; 19(227):H 22-29.
- 11.** Kendall, MD.: Have we Underestimated the Importance of the Thymus in Man. Experienti, 1984; 40: 1181-1185.
- 12.** Besedovsk, HQ., Adriana, E., Sorkin E.: Immune-neuroendocrine interactions. J. Immunol. 1985; 135(2): 750-754.
- 13.** Cardarelli, NF.: The role of A Thymus-Pineal Axis in an Immune Mechanism of Aging. J. Theor. Biol., 1990; 145: 397-405.
- 14.** Meakins, JL., Pietsch, JB., Bubenick, O. et al.: Delayed hypersensitivity: Indicator of acquired failure of host defense in sepsis and trauma. Ann. Surg., 1977; 186: 241-250.
- 15.** Alexander, JW., Stinnet, JD., Ogle, CK., et al.: A comparison of immunologic profiles and their influence on bacteremia in surgical patinets with a high risk of infection. Surgery. 1979; 86: 94-104.
- 16.** Faist, E., Kupper, TS.- baker, CC., et al.: Depression of cellular immunity after major injury. Arch. Surg., 1986; 121: 1000-1005.
- 17.** Black, Pl, Markowitz, RS., Damjanov, I., et al.: Models of Spinal Cord Injury: Part 3 Dynamic load Technique. Neurosurgery. 1988; 22(1): 51-60.
- 18.** Dixon, E., Lyeth, B., Poulshock, J., et al.: A Fluid Percussion Model of Experimental Brain Injury in the Rat. J Neurosurg. 1987; 67: 110-119.
- 19.** Francis, IR., Glazer, GM., Bookstein, FL., et al: The Thymus: rexamination of Age-Related Changes in Size and Shage. Am. Roent Ray Soc. 1985; 145: 249-254.
- 20.** Fitzpatrick, FTA., Greenstain, BD.: Effect of various steroids on the thymus, spleen, ventral prostate and seminal vesicles in old orchidectomized rats. J. Endocr. 1987; 113: 51-55.
- 21.** Greenstain, BD., Fitzpatrick, FTA., Addock, IM., et al.: Reapperance of the thymus in old rats after orchidectomy: Inhibition of regeneration by testosterone. J. Endocr., 1986; 110: 417-47.
- 22.** Gurgun F., Sterese Karşı Psikolojik Tepkiler. Bilim ve Teknik Derg. 1986; 19 (228): 22-23.
- 23.** Bohnen, N., Nicolson, N., Sulon, J., et al.: coping Style, Trait Anxiety and Cortisol Reactivity During Mental Stress. J. Psychosomatic Res. 1991; 35(2/3): 141-147.
- 24.** Leake, A., Chafilton, B.G., Lowry, PJ., et al.: Plasma N-POMC, ACTH and Cortisol Concentrations in a Psychogeriatric Population. Britisch S. Psych. 1990; 156: 675-679.
- 25.** Ptohl, B., Rederer, M., Coryell, W., et al.: Association between Post-Dexamethasone Cortisol level and Blood Pressure in Depressed Inpatients. J. Nervous and Mental Disease. 1991; 179(1):H 44-47.