

Siklosporin-A ile immünosupresyonun yağ embolisine etkisi

Osman Güven⁽¹⁾, Tanıl Esemeli⁽¹⁾, Sevgi Küllü⁽²⁾

Bu araştırmada sıçanlarda kırık yapılarak, yağ embolisi oluşturuldu ve Siklosporin'in bunun üzerine etkisi araştırıldı. 4 grup halinde 10 sıçan kullanıldı. Biokimyasal, hematolojik ve histopatolojik yönden değerlendirildi. Sonuçta Siklosporin verilen hayvanların akciğerlerinde, damarlarda diğer gruplara oranla daha fazla yağ globülleri toplandığı tesbit edildi.

Effects of immunosuppression on fat embolism by Cyclosporin-A

Effects of immunosuppression on fat embolism by Cyclosporin-A administration are investigated in this experiment. 4 groups, each has 10 rats are used in this research.

Biochemical, hematological and histopathological analyses were done and their results are evaluated. Blood PaO₂, Hemoglobin, platelet and triglyceride levels are measured and fresh lung specimens are evaluated histopathologically to detect events of fat embolism in each group. There was no difference between 4 groups by laboratory examination. But increased fat globules are found in lungs of the Cyclosporin administered rat by histopathological examination.

Gereç ve yöntem

Bu araştırma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmada Swiss Albino tipi, ortalama ağırlıkları 442,6 gr. olan 5 aylık 40 adet erişkin sıçan kullanıldı.

Sıçanlar normal sıçan diyeti, musluk suyu ile beslenirler ve 10'ar adetlik 4 grup halinde metal kafeslerde muhafaza edildiler. Gruplara aşağıda belirtilen işlemler uygulandı.

I. Grup: Bu gruptaki hayvanlara 10 mg/kg. olmak üzere i.m. Siklosporin 4 gün süre ile uygulandı. 2. gün eter anestezisi altında sağ femur, tibia ve fibulaları ile kontralateral humerus, radius ve ulnaları manuel olarak kırıldı.

II. Grup: Bu gruptaki hayvanlara 4 gün süre ile intramuskuler olarak, I. gruptaki sıçanlara verilen Siklosporin ile eşit hacimde zeytinyağı uygulandı. 2. gün I. gruptaki şekilde kırıklar oluşturuldu.

III. Grup: Bu gruptaki sıçanlara 4 gün süre ile 10 mg/kg i.m. Siklosporin uygulandı.

IV. Grup: Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir müdahale yapılmadı.

Tüm gruplara 4. gün eter anestezisi altında torakotomi yapılarak laboratuvar incelemesi için sol ventrikülden kan alındı. Akciğerler, histopatolojik inceleme için çıkartıldı.

Alınan kanlarda, PaO₂, trigliserit, hemoglobin ve trombosit seviyeleri tesbit edildi. PaO₂, Hb ve trombosit ölçümlerinde "Nova, stat profile 3 analyzer" kullanıldı.

Bütün sıçanların her iki akciğeri, hilusdan geçecek şekilde taze iken kesilerek, dondurulmuş kesitleri yapıldı ve "Oil red O" ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Kesitler 15 mm kalınlığında kesildi. Geriye kalan dokular Hematoxylin-Eozin ile boyandı.

Bulgular

Klinik olarak deney ve kontrol gruplarında hiçbir hayvanda yağ embolisi sendromu bulguları saptanmadı. 4 gün süre ile izlenen 40 sıçandan alınan kan örneklerinden elde edilen sonuçlar Tablo-1,2,3 ve 4'de gösterildi.

PaO ₂ DENEY GRUPLARI	MİN (mm Hg)	MAX (mm Hg)	ORTALAMA (mm Hg)
I	26.7	45	38.2
II	15.1	47.7	37
III	22.4	41	38.8
IV	24.2	48.3	40.1

Tablo 1: PaO₂ değerleri (P 0.05)

TRİGLİSERİT DENEY GRUPLARI	MİN (mg/dl)	MAX (mg/dl)	ORTALAMA (mg/dl)
I	83	346	130
II	86	250	124
III	94	320	143
IV	102	236	118

Tablo 2: Trigliserit değerleri (P 0.05)

Hb DENEY GRUPLARI	MİN (gr/dl)	MAX (gr/dl)	ORTALAMA (gr/dl)
I	13.3	15.2	14.2
II	11.1	15.3	13.6
III	12.1	14.9	13.1
IV	13.0	15.4	14.1

Tablo 3: Hemoglobin değerleri (P 0.05)

(1) Marmara Üniv. Tıp Fak. Ortopedi ve Trav. Anabilim Dalı Yardımcısı Doçenti

(2) Marmara Üniv. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Doçenti.

TROMBOSİT DENEY GRUPLARI	MİN ($\times 10^3$)	MAX ($\times 10^3$)	ORTALAMA ($\times 10^3$)
I	702	936	834
II	689	991	782
III	764	962	780
IV	713	865	805

Tablo 4: Trombosit sayımı sonuçları (P = 0.05)

Resim 1: Akciğer dokusunda küçük boy damarlarda yaygın yağ embolisi görülmektedir. (Oil red O \times 100)Resim 2: Bronş çevresi damar lümenini tamamen oblitere eden yağ globülleri (Oil red O \times 100)

Sonuçları istatistiksel olarak değerlendirmede T testi kullanıldı. Laboratuvar sonuçları arasındaki farklar önemsiz bulundu.

Histopatolojik incelemede III. ve IV. gruplarda akciğer dokusunda yağ embolisine rastlanmadı. Buna karşın kırık oluşturulan gruplarda yağ embolisi tesbit edildi. Bunlardan I. gruptaki 3 sıçanda akciğerde bir çok peribronşiyal küçük, orta hatta büyük çaplı damarın yağ globülleri ile dolu olduğu (Resim 1-2) ve Hematoxylin-Eozin ile boyanmış akciğerlerde yer yer ödem, konjestif ateletazi alanları görüldü (Resim 3). 5 sıçanda ise daha az oranda olmak üzere yağ embolisine rastlanıldı (Resim 4). Ka-

Resim 3: Akciğer dokusunda konjestif ateletazi alanları (H.E. \times 40)Resim 4: Küçük çaplı damarların bir bölümünde yağ embolisi görülmektedir (Oil red O \times 40)Resim 5: Yağ embolisi görülmeyen, normal akciğer dokusu (Oil red O \times 40)

lan 2 sıçanın akciğerlerinde ise yağ embolisine rastlanmadı (Resim 5). II. grupta hiçbir hayvanda, I. gruptaki 3 hayvanda görülen yaygın emboli tesbit edilmedi. Bu gruptaki 7 hayvanda bazı peribronşiyal damarlarda lümeni kısmen kaplayacak şekilde yağ globülleri saptandı. Bu gruptaki diğer hayvanlarda ise akciğerler normal olarak değerlendirildi.

Tartışma

Kırık sonrası gelişen yağ embolisi sendromu küçümsemeyecek oranlarda ölüme neden olmaktadır^(3,4,5,10). Etiyolojisi üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına rağmen kesin bir fikir birliği oluşturulmamıştır. Ancak son araştırmalar RES'in etiyojide önemli bir yer tuttuğunu göstermektedir^(3,6).

Bu görüşe göre hadiseye, hangi mekanizma ile oluştuğu henüz bilinmeyen yağ partiküllerinin, RES tarafından yetersiz fagositozu neden olmaktadır^(16,17).

RES fonksiyonlarının, T lenfositler ile yakından ilişkili olduğu göz önünde tutulursa, immüno-supresif tedavi altındaki hastalarda oluşan kırıklardan sonra yağ embolisi görülme riskinin daha fazla olacağı söylenebilir. Bu araştırma bu soruya cevap aramak amacı ile planlanmıştır.

Deney hayvanlarında kırık sonucu yağ embolisi gelişebileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir⁽⁶⁾. Bu nedenle deney hayvanı olarak sıçan kullanılmıştır.

Bu çalışmada Siklosporin-A selektif olarak T lenfositler üzerinde etkili olması^(7,8,9) ve son yıllarda yaygın olarak kullanılması^(8,12) nedeni ile immüno-supresan olarak tercih edildi. Sıçanlarda efektif etkili immüno-supresif dozun 10 mg/kg olduğu⁽⁹⁾ ve etkinliğin ilk 24 saat içinde başladığı^(8,12) gösterilmiştir. Bu nedenlerle bu çalışmada bu hususlar göz önüne alındı. Kontrol gruplarında plasebo olarak zeytinyağı verilmesinin nedeni, Siklosporin'in yağlı bir solüsyon olmasıdır. Bu daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir⁽¹²⁾.

Subklinik ve klinik yağ embolisinde en değerli laboratuvar bulgunun PaO₂ olduğu, trigliserit, hemoglobin ve trombosit seviyelerinin de diğer önemli kriterleri teşkil ettiği klasik bilgiler arasındadır^(4,5). Bu çalışmada histopatolojik inceleme önde tutulmakla birlikte bu faktörlerle araştırılmıştır.

Yağ embolisinde hedef organın akciğerler olması nedeni ile bu çalışmada akciğerlerin histopatolojik incelenmesi üzerinde titizlikle durulmuş ve özel bir yağ boyası olan "Oil red O" kullanılmıştır⁽¹⁰⁾.

Pulmoner fagositik klerens mekanizmasının türler arasında farklılıklar gösterdiği Crocker ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir⁽¹⁾. Bu çalışmada multipl kırık oluşturulan 20 sıçandan hiçbirinde klinik yağ embolisi tablosunun görülmemesi bu farklılığa bağlanabilir.

Tablo-1 incelendiğinde PaO₂ değerlerinin gruplar arasında belirgin bir farklılık göstermediği görülmektedir. Bunda klinik yağ embolisinin gelişmemesinin yanısıra, eter anestezisinin de, minimum ve maksimum değerler arasında önemli oynamalara neden olması muhtemelen etkili olmuştur. Diğer tablolardaki (Tablo 2,3,4) değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak önemsiz olmasında yine klinik yağ embolisi gelişmemesinin rol oynadığı söylenebilir.

Histopatolojik incelemelerde kırık oluşturulmayan III. ve IV. gruplarda yağ embolisi görülmemesi, beklenen bir bulgu olarak düşünülebilir. Ancak, yağ embolisinin travma dışı nedenlerle ortaya çıkabildiği⁽¹³⁾ göz önünde tutulursa, kolloid ve immüno-supresif bir madde olan Siklosporin solüsyonunun yağ embolisine yol açmamasının dikkate alınması gereken bir bulgu olduğu ortaya çıkmaktadır.

Kırık oluşturulan toplam 20 sıçandan, 15 tanesinde histopatolojik olarak yağ embolisi tesbit edilmiştir. Bu bul-

gularla kırığın yağ embolisinde önemli bir etken olduğu görülmektedir. Siklosporin verilen grupta, ikinci gruba oranla daha fazla hayvanda ve daha fazla oranda yağ embolisinin tesbit edilmiş olması, bu çalışmanın ortaya çıkış fikrini desteklemektedir. İki grup arasındaki yağ embolisi açısından belirgin farkın, immüno-supresif tedaviden kaynaklandığı öne sürülebilir. Siklosporin'in T lenfositlerinin yanısıra, makrofaj aktive eden faktör (MAF) ve makrofaj kemotaktik faktörü de (MCF) inhibe ettiği Kahan'ın^(7,8) çalışmalarında gösterilmiştir. Bu bulgular yağ embolisi etiyojisinde makrofajların ve RES'in önemini vurgulaması açısından düşündürücüdür.

Bu çalışmadan çıkartılacak bir diğer sonuç ise, immüno-supresif tedavi altındaki hastaların, kırık sonrası yağ embolisi yönünden bir risk grubu oluşturduğudur. Bu doğrultuda yapılacak çalışmalarda daha sağlıklı sonuçlara varılabileceği söylenebilir. Ayrıca Siklosporin'in etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. ₂-SB Glikoprotein ile olan ilişkisinin araştırılması bu konuya açıklık getirecektir.

Kaynaklar:

1. Crocker, SH., Eddy, DO., Obenauf, RN., et al: Bacteriemia: Host-specific lung clearance and pulmonary failure. *J. Trauma*. 21:215, 1981.
2. Duis, HJT., Nijsten, MWN., Klasen, HJ., Binnendijk, B: Fat embolism in patients with an isolated fracture of the femoral shaft. *J. Trauma*. 28:383, 1988.
3. Gossling, HR., Pellegrini, VD Jr: Fat embolism syndrome: A review of pathophysiology and physiological basis of treatment. *Clin Orthop*. 165:68, 1982.
4. Gurd AR: Fat embolism. An aid to diagnosis. *J. Bone Joint Surg*. 52-B:732, 1970.
5. Güven O: Fat embolism syndrome. A case report and review of current concepts. *Marmara Medical Journal*. 1(1):19, 1988.
6. Güven O., Esemeli, T: Yağ embolisinde levamizol ile profilaksi. *Acta Orthopædica et Traumatologica Turca*. 23:78, 1989.
7. Kahan, BD., Van Buren CT., Flechner, SM., et al: Clinical and experimental studies with Cyclosporine in renal transplantation. *Surgery*. 97:125, 1985.
8. Kahan, BD.: Pharmacologic and immunologic monitoring of ciclosporin-treated renal allograft recipients. In: Management of ciclosporin in renal transplantation, Ed, Paul LC., pp.40, Actua-Sandoz, Uden, 1985.
9. Kroczer, RA., Black CDV., Barbet, J., Shevach, EM.: Mechanism of action of cyclosporin A in vivo. *J. Immunol* 139:3597, 1987.
10. Murray DG: Complications and treatment of fractures and dislocations. In: Complications in Orthopedic Surgery, Ed. Epps CH Jr, pp. 13, JB Lipincott Co. Philadelphia, 1986.
11. Olcay, I., Holper, K., Kitahama, A., et al: Reticuloendothelial function. Determinant for survival following hepatic ischemia in the baboon. *Surgery*. 76(4):643, 1974.
12. Paskert, JP., Yaremchuk, MJ., Randolph, MA., Weiland, AJ: The role of Cyclosporin in prolonging survival in vascularized allografts. *J. Plast Rec Surg*. 80:240, 1987.
13. Rosen, JM., Braman, SS., Hasan, FM., Teplitz, C.: Nontraumatic fat embolisation. *Am Rev Res Dis*. 134:805, 1986.
14. Saba, TM.: Physiology and pathophysiology of the reticuloendothelial system. *Arch Inter Med*. 126:1031, 1970.
15. Saba, TM., Blumenstock, FA., Scovill, WA., Bernard, H: Cryoprecipitate reversal of opsonic ₂-SB-glycoprotein deficiency in septic surgical and trauma patients. *Science* 201:622, 1978.
16. Saba, TM: Reticuloendothelial systemic host defence after surgery and traumatic shock. *Circ Shock*. 2:91, 1975.
17. Scovil, WA., Saba, TM., Kaplan, JE., et al: Deficits in reticuloendothelial humoral control mechanisms in patients after trauma. *J. Trauma*. 16:898, 1976.