

Afibrinojenemiye Bağlı Opsonofagositoz Bozukluğunun Fibrinojen Replasmanı ile Düzeltilmesi

TREATMENT OF OPSONOPHAGOCYTOSIS DISORDER DUE TO AFIBRINOGENEMIA BY FIBRINOGEN REPLACEMENT

Hüseyin DİNÇ*, Davut ALBAYRAK**

* Uzm.Dr.Giresun Devlet Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, GİRESUN

** Doç.Dr.Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD, SAMSUN

ÖZET

Tam plazmada fibrinojen seviyesinin artışı fagositozu artırır. Biz plazmada fibrinojen yokluğunun fagositozu azaltıp azaltmadığını tetkik ettik. Afibrinojenemik bir hastanın plazmasında *Streptococcus agalactianın* fagositozu (26.0 ± 14.2), aynı yaştaki sağlıklı bir çocukta elde edilen kontrol plazmadakinden daha düşük bulundu (35.7 ± 1.7). Bu çocuğun plazmasına fibrinojen katılarak seviye normale getirildiğinde fagositozun normale döndüğü gözlemlendi (35.6 ± 16.8).

Anahtar Kelimeler: Afibrinojenemi, Fagositoz

T Klin Pediatri 1997, 6:64-66

SUMMARY

The increase of fibrinogen level in pure plasma increases phagocytosis. We examined if the absence of fibrinogen in plasma also decrease phagocytosis. The phagocytosis of *Streptococcus agalactia* in the plasma of afibrinogenemic patient was found lower (26.0 ± 14.2) than that of control plasma (35.7 ± 17.1) obtained from a healthy child in same age. The phagocytosis (35.56 ± 16.8) return normal value when fibrinogen level increased normal level by the addition of normal plasma.

Keywords: Afibrinogenemia, Phagocytosis

T Klin J Pediatr 1997, 6:64-66

Bir akut faz proteini olan fibrinojenin sedimentasyon hızını arttırması yanında koagülasyon işlevinde de rol oynadığı bilinmektedir (1-3). Bilinen bu fonksiyonlarının dışında fibrinojenin yüzey fagositozunu arttırdığı, süspansiyon fagositozunu etkilemediği, izotonik tuzlu su ortamındaki süspansiyon opsonofagositozunu azalttığı, tam plazma ortamındaki opsonofagositozu ise arttırdığı önceki çalışmalarla gösterilmiştir (4-8). Fakat son çalışmalarda fibrinojen artışının tam plazmada yapılan opsonofagositozu arttırdığı bildirilmiştir (9,10). Tam plazmada fibrinojen yokluğunun fagositozu azaltıp azaltmadığı bilinmemektedir. Çalışmamızda bu konuya açıklık getirmek amacıyla afibrinojenemik tam plazmada nötrofillerin *Streptococcus agalactianın* (Grup B streptokok) fagositozunu azaltıp azaltmadığı araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Departmanında yapıldı. Plazma kaynağı olarak departmanımızda afibrinojenemi tanısı ile izlenen dört yaşında bir kız hasta ve aynı yaştaki sağlam bir kız donör kullanıldı. Fagositoz deneyi modifiye Qui yöntemi kullanılarak yapıldı (9-11). Lökosit donorü erişkin

Geliş Tarihi: 02.04.1996

Yazışma Adresi: Dr. Hüseyin DİNÇ
Devlet Hastanesi Çocuk Kliniği,
GİRESUN

sağlam bir şahıs olarak seçilmiş olup bütün gruplar için sabitti. Her iki plazma vericinin kan grubu ORh pozitif idi. Fagositozu araştırılan mikroorganizma *Streptococcus agalactia* 57-3-114 CNCTC İstanbul Tıp Fakültesi Mikroorganizma Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÜKENS)'nden temin edildi. Bir gün önce Brain Heart Infusion Broth'a ekildikten sonra PBS (Phosphate Buffered Saline) de 500nm dalga boyunda absorbanları tespit edildi. Uygun dilüsyonlarla 8×10^8 bakteri/cm³ içeren süspansiyon hazırlandı. İnsan fibrinojeni (SIGMA-ST.LOU'IS USA) serum fizyolojikte 100mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanarak kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

Üç plastik tüp deney için kullanıldı. Birinci tüp fibrinojen eksikliği olan donör, ikinci tüp fibrinojen eksikliği olan plazmaya 4mg/ml fibrinojen ilavesini, üçüncü tüp 4 yaşındaki sağlam kontrolü göstermek üzere işaretlendi. Her tüpe önceden hazırlanmış olan 4000 PMNL/mm^3 içeren plazmada lökosit süspansiyonundan birer millilitre kondu. Birinci ve ikinci deneyler için hasta plazması, üçüncü deney için aynı yaştaki sağlam donör plazması kullanıldı, ikinci tüpe 4mg/ml fibrinojen ilave edildi. Tüplerdeki eksik hacimler PBS'le eşitlendi. Tüplere ayrı ayrı önceden hazırlanmış olan ve 8×10^9 bakteri/cm³ içeren süspansiyondan 100'er ml eklendi. Otuz dakika 37°C de inkübe edildikten sonra PBS ile iki kez yıkandı. Sitosantrifüj preparatları hazırlanarak Giemsa ile boyanıp herpreparat için 100 PMNL'deki bakteri sayısı sayıldı. İ-

tatikselsel analiz ortalamalar arası fark testi kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Deneyde kullanılan hasta ve kontrol plazmasında çalışılan fibrinojen, fibronektin, C3, C4, haptoglobin, CRP, IgG, IgA, IgM, total protein ve albümin değerleri Tablo 1'de gösterildi. Hasta plazmasında fibrinojenin çok düşük olması dışında tüm parametreler normal sınırlardaydı. Afibrinojenemili hasta plazmasında, hasta plazmasına 4mg/ml fibrinojen ilavesinde ve sağlam kontrol grubunda nötrofil başına fagosite edilmiş bakteri sayıları Tablo 2'de gösterildi. Nötrofil başına elde edilen en düşük fagositoz oranı 26.0 ± 14.2 ile afibrinojenemili hasta plazmasında elde edildi. Hasta plazmasına 4mg/ml fibrinojen ilave edildiğinde parçalı başına fagosite edilen bakteri sayısı 35.7 ± 17.1 'e yükseldi. Kontrol grubu plazmasında nötrofil başına ortalama fagositoz 35.6 ± 16.8 olarak bulundu.

TARTIŞMA

Fibrinojen doku yıkımı ile seyreden hastalıklarda artış gösteren bir akut faz reaktanıdır. Enfeksiyon hastalıklarından fibrinojen artışı sedimantasyon hızını ve kan viskozitesini artırırken fagosit fonksiyonlarını da etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda fibrinojenin yüzey

fagositozunu arttırdığı, süspansiyon fagositozunu etkilemediği, süspansiyon opsonofagositozunu azalttığı bildirilmiştir. Fakat yapılan diğer bir çalışmada fibrinojenin plazma ortamındaki opsonofagositozu arttırdığı gösterilmiştir. Tam plazmada fibrinojen yokluğunun fagositozu azaltıp azaltmadığı çalışmamızda araştırılmıştır. Sonraki çalışmalarda tam plazma ortamına fibrinojen ilavesinin opsonofagositozu arttırdığı sekiz ayrı enfeksiyon ajanı ile çalışılarak gösterilmiştir (9,10). Afibrinojenemili hasta plazmasına fibrinojen katılmadan nötrofil başına 26.0 ± 14.2 bakteri fagosite edildiği, aynı plazmaya 4mg/ml fibrinojen ilavesinde parçalı başına 35.7 ± 17.1 bakterinin fagosite edildiği görülmüştür. Fibrinojensiz ortama göre %37,1 oranında anlamlı bir artış elde edildi (P<0.001).

Bu çalışmada aynı yaştaki sağlam kontrol donörün plazmasından elde edilen nötrofil başına fagosite edilmiş bakteri sayısı, afibrinojenemili hastanın plazmasından yüksek, fakat fibrinojen eklenen tüplerdeki fagositozla eşitti. Fibrinojen katıldığında afibrinojenemili hasta plazmasında fagositozun artarak normal donör seviyesine çıkması, hasta plazmasındaki fagositoz azlığının fibrinojen eksikliğinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Afibrinojenemili hasta plazmasına fibrinojen ilavesiyle elde edilen anlamlı artış, Albayrak ve arkadaşlarının erişkin tam plazmasına 8mg/ml'ye kadar fibrinojen ilave edildiğinde fagositozda elde edilen artışla uyum göstermektedir. Bu çalışmalarda fibrinojenin fag JS-itozu artırıcı özelliği, onun bir asimetrik makromolekül olması sebebiyle eritrositlerin, lökositlerin ve bakterilerin birbirlerine temas edebilmelerini engelleyen negatif yüklerini azaltarak nötrofillerin ve bakterilerin birbirlerine daha kolay temas edebilmeleri ve yapışabilmeleri ile açıklanmıştır.

Sonuç olarak afibrinojenemili hastada opsonofagositoz düşük olup, fibrinojen ilavesiyle afibrinojenemi düzeltildiğinde aynı yaştaki normal donörün seviyesine çıkmaktadır. Bu bulgular fibrinojenle opsonofagositoz arasında bildirilen pozitif yöndeki korelasyonu desteklemektedir. Daha ayrıntılı yorumlara gidebilmek için çok sayıda olgu ile yapılmış çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Kushner I. The acute phase response: An overview. In Sabato G, Everse J, eds. Methods in Enzymology. Vol. 63. Phagocytosis and cell-mediated cytotoxicity. New York, Academic Press, 1988;303-7.
2. Pollack W, Hager HJ, Reckel R, Toden DA, Singher HD. A study of the forces involved in second stage of hemagglutination. Transfusion 1965;5:158-83.
3. Fabry TL. Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation. Blood 1987;70:1572-76.
4. Huzinga TWJ, Ross D. Neutrophil Fc-G receptors: A two way bridge in the immun system. Blood 1990 ;75:1211-14.
5. Falcieri E, Vaundaux P, Huggler E, Lew D, Waldvogel F. Role of the bacterial exopolymers and host factors on adherence and phagocytosis of staphylococcus aureus In foreign body Infection. J Infect Dis 1987;155:524-31.

Tablo 1. Deneyde kullanılan afibrinojenemili ve kontrol donör plazmasında çalışılan parametreler.

Çalışılan parametre	Afibrinojenemili hasta plazması	Sağlam kontrol plazması
Total protein (g/dl)	6.4	6.6
Albümin (g/dl)	4.1	4.3
Fibrinojen (mg/dl)	10	250
Fibronektin (mg/dl)	22	23
Haptoglobin (g/l)	0.2	0.2
CRP (mg/dl)	4	4
C3 (mg/dl)	82	88
C4 (mg/dl)	18	16
IgG (g/l)	4.5	4.1
IgA (g/l)	0.2	0.2
IgM (g/l)	0.4	0.5

Tablo 2. Afibrinojenemili hasta plazmasında, 4mg/ml fibrinojen ilave edilmiş hasta plazmasında ve kontrol grubunda nötrofil başına fagosite edilmiş bakteri sayıları

	Ortalama bakteri/PMNL	P
1-Afibrinojenemili hasta plazması	26.0	-
2-4 mg/ml fibrinojen ilave edilmiş hasta plazması	35.7	< 0.000*
3-Sağlam kontrol plazması	35.6	< 0.000**

*1 ile 2 karşılaştırıldı. **1 ile 3 karşılaştırıldı.

6. Poirier TS, Kehoe MA, Whitnack E, Dockter EME, Beachey EHT. Fibrinogen binding and resistance to phagocytosis of streptococcus sanguis expressing cloned M protein of streptococcus pyogenes. *Infect Immun* 1989;57:29-35.
7. Chhatwal GS, Dutra IS, Blobel H. Fibrinogen binding inhibits the fixation of the third component of human complement on surface of groups A, B, C and G streptococci. *Mikrobiol Immunol* 1985;29:973-80.
8. Boschwitz JS, Timoney JF. Characterization of the antiphagocytic activity of equine fibrinogen for *Streptococcus equi* subsp *equi*. *Microbial Pathogenesis* 1994; 17:121-9.
9. Albayrak D. Fibrinogen ile fagositozun ilişkisi: Sedimentasyon fagositozu artırmak için mi artmaktadır?. *Hematoloji Uzmanlık Tezi*. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 1991.
10. Dinç H, Albayrak D, Gürses N, İşlek İ. Tam plazmada artan fibrinogen konsantrasyonlarının farklı mikroorganizmaların fagositozu üzerine etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi* . 1994;11:79-85.
11. Qui PG, White JG, Holmes B, Good RA. In vitro bactericidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes: Diminished activity in chronic granulomatous disease of childhood. *J Clin Invest* 1967;46:668-72.