

**DENEYSSEL SİSTEMİK DALAK HÜCRESİ OTOTRANSPLANTASYON  
MORFOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ****MORPHOLOGIC EVALUATION OF EXPERIMENTAL SYSTEMIC SPLENIC  
CELL AUTOTRANSPLANTATION****Dr.Yılmaz USER Dr.Nurtaç Karadeniz AYDIN Dr.Faruk CEMŞİT**

**ÖZET:** Bu çalışmada, 3 grup 10 adet Wistar türü dişi sıçan kullanıldı. Ototransplantasyon yapılan sıçanlara, splenektomi yapıldıktan sonra, kendi dalaklarından hazırlanan, canlı dalak hücresi içeren süspansiyonlar sistemik olarak verildi. Deney hayvanlarından 5 adedi ilk 11 gün içinde kaybedildi. Hayvanların akciğerleri morfolojik olarak değerlendirildi. Postop 2. günde ölen iki hayvanda sepsis bulguları ve organize pnömoni, 5. günde ölen 2 hayvandan birinde damarlar içerisinde, seyrek olarak da parankimal eritrofagositoz aktivitesi gösteren makrofajlar, diğerinde kronik bronşit, 11. günde ölen bir hayvanda yaygın eritrofagositoz, makrofajlar ve kronik pnömoni saptandı. 6 ay sonra sakrifiye edilen 5 hayvanda kronik pnömoni saptandı. Bu bulgularla akciğer alanlarında dalak hücre adacıkları oluşmadığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** OPSI, Dalak Ototransplantasyonu.

**SUMMARY:** In the study, three groups of animals each consisting 10 female Wistar rats were used. In the autotransplantation group, after splenectomy, the rats were given their own splenic cell suspension, systemically. Five of the animals, died in the first eleven days. The lungs of the animals were evaluated histopathologically. In two animals which died on the second day post-operatively, findings of sepsis and pneumonia were found. Two rats died on the fifth day. In one of them chronic bronchitis was found. The other animals lung histopathology revealed, intravascular and some scarce paranchimal macrohages showing erythrophagocytic activity. The last rat which died on the eleventh day was found to have widespread erythrophagocytosis and pneumonia. In the animals which were sacrificed post operatively, the only lung patholgy was chronic pneumonia. Upon these findings it was decided that, no splenic cell islands were formed in the pulmonary areas.

**Key Words:** OPSI, Splenic Autotransplantation.

Splenektomi, günümüzde pratik olarak, dalak yaralanmalarında ve bazı hematolojik hastalıklarda uygulanan bir cerrahi girişimdir. Retiküloendotelial sistem (RES) içinde önemli bağışıklık işlevleri olan dalağın yokluğunda, bazı yetersizlikler gelişmesi beklenir. Nitekim splenektomili hastalarda, çoğunlukla mortal seyreden bir sepsis tablosu geliştiği hekimlerin dikkatini çekmiş ve bu tabloya "postsplenectomy sepsis" (PSS) veya "ovewhelling post-splenectomy infection" (OPSI) adı verilmiştir. OPSI daha çok küçük yaşlarda veya hematolojik nedenlerle yapılan splenektomilerden sonra özellikle erken dönemde görülmektedir. Sepsis tablosu, başta D.pneumonie ve semptomların başlamasından kısa bir süre sonra, %50-70 oranında ölümlerle sonuçlanmaktadır (1,2).

Bu bilgiler cerrahları, eski çağlarda önemli bir organ

sayılmayan dalağın yaralanmalarında, dalağı koruyucu, hi değilse organizmadaki dalak dokusu bırakacak şekild girişimler yapmaya yöneltmiştir.

Klinikte dalağı koruyucu ya da organizmaya dalak dokusu sağlayan cerrahi girişimler, splenik arter bağlanması splenorafi, parsiyel splenektomi, splenektomini kaçınılmaz olduğu durumlarda ise intraperitoneal, ekstraperitoneal ya da subkutan dalak ototransplantasyonunu (3,4,5).

Bu yöntemler arasında, dalak koruyucu girişimlerde sonra organizmanın bağışıklık işlevlerinde bir eksikli görülmemektedir. Dalak ototransplantasyonundan sonra humoral bağışıklık korunmakla beraber, partiküler antije filtrasyonunda yetersizlik görülmekte yani bakteriler elimine edilememektedir. Diğer bir deyişle dalak ototransplantasyonu bağışıklığın korunabilmesi için yetersiz kalmaktadır. Dalağın arteriyel kan akımını almasının partiküler antijen filtrasyonu açısından önemi büyüktür (2,6).

Bu noktadan hareketle, bu çalışmada, hematoz sahasını

genişliği nedeni ile, splenektomiden sonra intrakaval yolla akciğere dalak hücresi otoplastasyonu planlandı. Çahşma deney hayvanlarında gerçekleştirildi.

### MATERYEL-METOD

Bu deneysel çalışma, İstanbul Haydarpaşa Hastanesi hayvan laboravutarında gerçekleştirildi. Deneyler için 200-220 gr ağırlığında, Wistar türü dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı:

- 1.laparotomi grubu-lap- (10 sıçan)
- 2.splenektomi grubu -sp- (10 sıçan)
- 3.splenektomi + intrakaval dalak hücresi otoplastasyonu -tr- (10 sıçan)

Deney hayvanları, hafif eter anestezisi altında, steril koşullarda ameliyat edildiler. Karına median insizyonla girildi, ameliyattan sonra insizyon 2 kat üzerinden 4/0 ipek dikişlerle kapatıldı.

Laparotomi grubunda, dalaklar zedelenmemelerine dikkat edilerek insizyona kadar mobilize edildi ve tekrar lojlarına yerleştirildi.

Splenektomi grubunda, dalaklar zedelenmemelerine dikkat edilerek ve hiç kanama olmadan total olarak çıkarıldı.

Splenektomi + otoplastasyonu grubunda, aynı koşullarda splenektomi uygulandı. Çıkarılan dalaklardan, daha önce User'in kullandığı yöntemle, hücre süspansiyonları hazırlandı (7).

Dalak hücre süspansiyonu hazırlanması:

Splenektomiden sonra, çıkarılan dalaklar, por genişliği 200mm. olan paslanmaz çelik elekten geçirilerek, 10ml serum fizyolojik içine alındı. Bu süspansiyon 5 dakika 1500 devir/dk. ile santrifüjde çevrildi. Santrifüj işleminden sonra üst sıvı atıldı ve oluşan çökelti, tekrar 10ml serum fizyolojik ile süspansiyon haline getirildi. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Sonuçta oluşan çökelti 1ml serum fizyolojik ile süspansiyon haline getirildi. Süspansiyondaki hücrelerin canlılığı ethidium bromid + akrinin oranj floresans boya testi ile kontrol edildi ve %90-95'inin canlı olduğu saptandı. Lökosit kamarası ile yapılan sayımlarda (1.5 0.2)x 10<sup>8</sup>/ml lenfoid seri hücresi olduğu saptandı.

Her sıçanın kendi dalağından hazırlanan 1cc süspansiyon, hayvanın vena cava inferioruna, 27.5 g iğneli injektörle, 2 dakikada fraksiyone olarak verildi.

Pikür yerinden kanama olan hayvanlar, deney grubuna alınmadı. Beş dakika içinde anesteziden çıkan hayvanlar kafeslerine alındılar ve standart laboratuvar hayvan yemi ve su ile beslendiler. Ameliyat sonrası dönemde koruyucu antibiyotik kullanılmadı.

6 ay bekletilen deney hayvanları bu süre sonunda sak-

rifiye edildikten sonra akciğer, karaciğer ve lap grubunda olanların dalakları histolojik inceleme için %10'luk formalinle tespit edildi. Histolojik kesitler için hazırlanan preparatlar Haydarpaşa Numune Hastanesi Patolojik Anatomi Laboratuvarı'nda değerlendirildi.

### BULGULAR

Deney hayvanlarının otopsislerinde, karın içerisinde minimal yapışıklıklar ve, SP ve TR grubundan bazılarında abse odakları saptandı. Karın içerisinde dalak implantlarına rastlanmadı.

Laparotomi grubunda, akciğer, karaciğer, dalak dokularından hazırlanan preparatlarda: akciğerlerde kronik bronşit, organize pnömoni ya da normal akciğer dokusu, karaciğer ve dalakta normal histolojik bulgular saptandı. Splenektomi grubunda ise akciğerlerde benzer değişiklikler, karaciğerlerde normal bulgu saptandı.

Splenektomi + otoplastasyonu grubunda ise akciğer kesitlerinde:

Postop 2. günde ölen 2 hayvanda sepsis bulguları ve organize pnömoni;

Postop 5. günde ölen 2 hayvandan birinde damarlar içerisinde, seyrek olarak ta parankimal eritrofagositoz aktivitesi gösteren makrofajlar, diğerinde kronik bronşit;

Postop 11. günde ölen 1 hayvanda yaygın eritrofagositoz, makrofajlar ve kronik pnömoni saptandı (Resim-I).

6 ay sonra sakrifiye alanlarında dalak hücre adacıkları oluşmadığı sonucuna varıldı.

### TARTIŞMA

Dalağın, organizmanın bağışıklık sistemi içinde tartışılmaz bir yeri vardır. Dalağın bağışıklık işlevi, humoral bağışıklık ve mekanik filtrasyon olmak üzere iki yönlüdür. Splenektomiden sonra, organizma bu işlevlerden yoksun kalır. Splenektomi sonrası res içinde yer alan kemik iliği, lenf ganglionları, akciğer, karaciğer gibi dokular, bu eksikliği doldurmaya çalışırsa da, organizmanın bağışıklık işlevleri normal haline dönememektedir.

Organizmada immünglobulinler (Ig) plazma hücreleri tarafından yapılırlar. Plazma hücrelerinin prekürsörleri olan Ig taşıyan B lenfositleri kemik iliği, dalak, lenf ganglionları gibi RES dokularında yaygın olarak bulunurlar. Bu lenfositler IgG taşıyan ve IgM taşıyan B lenfositleri olarak ikiye ayrılırlar. IgM taşıyan B lenfositleri dalakta yoğun olarak bulunurlar. Splenektomi, bu hücrelerin plazma hücrelerine dönüşme yeteneklerini etkilememektedir, ancak, splenektomiden sonra organizmadaki IgM taşıyan B lenfositleri popülasyonunda %50 oranında azalma olmaktadır.

Bu eksiklikleri gidermek için, kemik iliği ve lenf ganglionlarındaki IgM taşıyan B lenfositlerinin sayısında artış görülürse de, bu yeterli olmamaktadır. Nitekim deneysel ve klinik çalışmalarda splenektomiden sonra IgM düzeylerinde %50 oranında azalma olduğu gösterilmiştir (8,9).

Splenektomiden sonra, polimorf nüveli lökositlerin fagositoz yeteneklerini artıran lökofilik  $\gamma$ -globulin düzeyinde de azalma olmaktadır. Bu azalma, 4-8 hafta sonra miktar olarak kompanse edilmektedir, ancak, bu normal düzeydeki lökofilik  $\gamma$ -globulinin, fagositoz için gerekli lökokinin aktivitesinden yoksun olduğu gösterilmiştir. Bu aktivite için tuftsın adlı molekül gerekmektedir. Tuftsın lökofilik  $\gamma$ -globulinin, yapısında bulunan ve enzimatik parçalanması sonucu elde edilen bir molekül olup, dalakta yapılmaktadır. Lökofilik  $\gamma$ -globulin, tuftsın için taşıyıcı görevi yapmaktadır. Asplenik organizmalarda, lökofilik  $\gamma$ -globulin fraksiyonunda tuftsın bulunmadığı saptanmıştır (10,11,12,13).

Dalağın organizmanın bağışıklık sistemine esas katkısı ise, partiküler antijen eliminasyonudur (mekanik filtrasyon). Dolaşımdaki partiküler antijenler-özellikle bakteriler-dalakta tutulur ve fagosite edilirler. Dalak ayrıca kanın, kusurlu şekilli elemanlarının da elimine edildiği yerdir. Splenektomiden sonra, kanda Howell-Jolly ve Heinz ci-

simciklerinde artış olduğu görülmektedir (14).

RES'in mekanik filtrasyon yeteneği bakterilerle ya da partiküler özellikler taşıyan lipid emülsiyonları, sülfür koloid ve karbon parçacıkları ile araştırılmaktadır (6,9,14,15). Partiküler özellikleri olan bu maddeler RES'ın tüm elemanları (karaciğer Kupffer hücreleri, dalak, kemik iliği, lenf ganglionları ve akciğerdeki sabit makrofajlar tarafından tutulabilmektedir. Ancak, splenektomiden sonra canlı bakteri kullanılarak yapılan çalışmalarda dalağın ek sikliği kendini belirgin olarak göstermektedir. Örneğin splenektomiden sonra, akciğerde lipid emülsiyonu tutulmasında büyük artışlar görülmektedir. Bu artış, geçici olmakta, ayrıca şok, travma, sepsis gibi durumlarda da izlenmektedir, dolayısı ile nonspesifiktir (7). Splenektomide sonra bakteri eliminasyonunda akciğer kaynaklı bir kompensasyon görülmemektedir. Çünkü, splenektomi sonra deneysel sepsis modellerinde mortalite oranının %7 olduğu bulunmuştur. Bu oran kontrol gruplarında ise %21'dir (9).

RES'in bir parçası olan karaciğerdeki Kupffer hücre popülasyonu, RES dokusu olarak dalağın 3 katı kadardır ve bu hücrelerin de mekanik filtrasyon yetenekleri vardır. Bakımdan karaciğerin işlevsel olarak dalaktan daha üstü olacağı düşünülür. Ancak karaciğerin bakteri eliminasyon yeteneği, kandaki antikor düzeylerine bağlıdır ve el-

Resim-I: Deneysel sistemik dalak hücresi otransplantasyonunun morfolojik değerlendirmesi



minasyon için opsonizasyon gereklidir. Başka bir deyişle, organizmanın bağışıklık durumu ile yakından ilgilidir. Halbuki, bağışık olmayan (nonimmün) organizmalarda bakteri eliminasyonu primer olarak dalakta gerçekleştirilmektedir. Dolayısı ile karaciğer de splenektomi sonrası işlevlerini tam olarak üstlenememektedir (2).

Yalnız, dalağın mekanik filtrasyon yapabilmesi için, arteryel kan akımı alması şarttır. Ayrıca bu işlev için gerekli bir kriter de dalağın kütlesidir. Dalak bakteri eliminasyonunu, ağırlığıyla orantılı olmadan gerçekleştirmekle beraber, bu işlev için dalağın organizmada en az %25'inin kalması gerekmektedir. Bu kritik oranın altına inildiğinde, bakteri eliminasyonunda gecikme ve yetersizlikler başgöstermektedir. Ancak, organizmada kalan az miktardaki dalak dokularının, fonksiyon uyarımı ile, kritik kütlenin üzerine kadar hipertrofiye olabildikleri gözlenmiştir (2,6,13,17,22).

Gerek dalak koruyucu girişimler, gerekse periton içi dalak ototransplantasyonundan sonra bunlara splenozis vakaları da eklenebilir-humoral bağışıklıkta eksiklik görülmemektedir. Bu dokular IgM sentezi yapabilmektedir. Başka bir deyişle, organizmada dalak dokusu kaldığında humoral bağışıklık korunmaktadır. Bu durumda IgM, opsonin düzeylerinin normal, lökokinin aktivitesinin eksiksiz olduğu saptanmıştır (12,18).

Ne varki, dalak en önemli görevi sayılan mekanik filtrasyonu, arteryel olarak kanlandığında gerçekleştirebilmektedir. Splenorafi ve parsiyel splenektomi bu koşula uygunluk gösterirler (4,14,19,20). Dalağın mutlaka splenik arterden kanlanması şartı yoktur. Splenik arter ligasyonundan sonra dalağın a.a. Gartrica breves tarafından kanlanabildiği bilinmektedir. Ancak splenozis dokuları ve periton içi ototransplantlar, kapiller kanla beslenirler. Bu nedenle, mekanik filtrasyon işlevinde yetersiz olmaları beklenir. Bu durum deneysel çalışmalarla desteklenmiştir (6,8,15,21). Nitekim, klinik olarak da, splenektomiden sonra periton içine ototransplantasyon yapılan veya post-mortem incelemelerde, splenosis, hatta aksuar dalak varlığı saptanan vakalarda opsi gözlenmiştir (22).

Splenektomiden sonra, OPSI'e karşı koruyucu antibiyotik tedavisi ve polivalan pnömokok aşıları denenmiştir. OPSI'e değişik bakteri türlerinin neden olması dolayısı ile, bu yöntemlerin koruyuculuğu sınırlı kalmaktadır (19,22).

Özetle splenektomi, organizmada yeri doldurulmayacak bir eksikliğe neden olmaktadır. Bu nedenle daak koruyucu girişimler, dalak yaralanmalarında yeni seçenekler ge-

tirmektedir. Ancak, splenektomi uygulanması gereken vakalar önemli bir sorun olarak kalmaktadır.

İnsanlarda, yüksek doz ışınlama sonrasında, habis hastalıklar ve hemofilide hastalığın gidişini olumlu yönde etkilemek amacı ile, dalak hücreleri infüzyonları uygulanmıştır. Sıçanlarda ve farelerde, sistemik olarak verilen, allogeneik dalak hücrelerinin, kemik iliği, dalak, timus, lenf ganglionları gibi "homolog" dokulara yerleşerek, rejenerere olabildikleri gözlenmiştir. Buradan hareketle, karaciğerin, homolog bir doku olmamasına karşın, dalak hücreleri için bir ototransplantasyon sahası olabileceği düşünülmüştür. Dalak hücreleri süspansiyonu karaciğere direkt olarak verildiğinde, dalak hücreleri bir varlık gösterememektedir (23,24,25). Hücre transplantasyonu konusunda yapılan çalışmalarda dalak hücreleri süspansiyonu, karaciğer içine portal yoldan verildiğinde, distal portal venüllerde, rejeneratif dalak adacıklarının geliştiği gözlenmiştir. Ancak, bu adacıklar filtrasyon işlevi görmemektedir (7). Halbuki teknik olarak vakaların %35'inde splenektomi zorunlu olmaktadır ve asplenik organizmalarda OPSI gelişme riski yadsınamaz. OPSI'nun genellikle üst solunum yolu kaynaklı olması ve akciğerlerin iyi kanlanan organlar olması nedeni ile, akciğer alanları ototransplantasyon sahası olarak düşünülebilir. Dalak ototransplantları ile ilgili çalışmalar genellikle 4-12 hafta içinde sonlandırılmaktadır. Bu çalışmalardan daha uzun bir süre beklenilmesi planlandı.

Asplenik sıçanlarda enfeksiyonların sık görülmesi nedeni ile splenektomi + ototransplantasyon grubundan ancak beş hayvan planlanan süre yaşatabildi. Erken dönemlerde kaybedilen sıçanların akciğerlerinde görülen, eritrofagositoz morfolojik açıdan ve fagositoz fonksiyonu açısından, önemli bir bulgu olarak değerlendirilmedi. 6 aylık dönem sonunda ise eritrofagositoz fenomeni ile karşılaşılmadı.

Bu bulgularla akciğerlerin dalak hücre süspansiyonu ototransplantasyonu için uygun olmadığı sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR

1. King, H., Schumacher, H.B.: Splenic studies I. susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy, *Ann Surg* 136: 239-242, 1952.
2. Timens, W., Leemans, R: Splenic autotransplantation and the immune system, *Ann. Surg* 215: 256-259, 1992.
3. Conti, S.: Splenic artery ligation for trauma, *Am J Surg* 140: 444-446, 1980.

4. Buntain, W.L., Lynn, H.B.: Splenorrhaphy: Changing concepts for traumatized spleen, surgery 86: 748-760, 1979.
5. Dickerman, J.D., Horner, S.R., Coil, J.A., Gump, D.W.: The protective effect of intraperitoneal splenic autotransplants in mice exposed to an aerosolized suspension of type LII streptococcus pneumonia, Blood 54: 354-357 1979.
6. Horton, J., Ogden, M.E., Williams, S., Coln, D.: The importance of splenic blood flow in clearing pneumococcal organisms, Ann Surg 195: 172-176, 1982.
7. User, Y.: Deneysel intraportal dalak hücreleri ototransplantasyonunun splenektomi sonrası oluşan immun yetersizliğe etkisi, Uzmanlık Tezi. 1986.
8. Chaimoff, C., Douer, D., Pick, I. A., Pinkhas, J: Serum immunoglobulin changes after accidental splenectomy in adults, Am J Surg 136: 332-333, 1978.
9. Chaudry, I.H., Tabata, Y., Schlek, S., Baue, A.E.: Effect of splenectomy on reticuloendothelial function and survival following sepsis, J Trauma 20:s 649-654 1980.
10. Fidalgo, B.V., Najjar, V.A.: The physiological role of the lymphoid system LII. Leucophilic Y-globulin and the phagocytic activity of the polymorphonuclear leucocyte, Proc N A S 57: 957-964 1967.
11. Najjar, V.A., Nishioka, K: "Tuftsin": A natural phagocytosis stimulating peptide, Nature 228: 672-673, 1970.
12. Constantopoulos, A., Najjar, V.A., Wish, J.B., Necheles, T.H., Stolbach, L.L.: Defective phagocytosis due to tuftsin deficiencies in splenectomized subject, Am J Dis Child 125: 663-665, 1973.
13. Likhite, V.V.: Opsonin and leucophilic Y- globulin in chronically splenectomized rats with and without heterotopic autotransplanted splenic tissue, Nature 253: 742-743, 1975.
14. Krasna, I. H., Thompson, D.A.: Failure of autotransplantation of the spleen in dogs: An anatomic, radioisotope, and pathologic study, J Ped Surg 20: 30-33, 1985.
15. Malangoni, M.A., Dames, L.G., Droegge, E. A., Rao, S.A., Collier, B.D., Almagro, U.A.: Splenic phagocytic function after partial splenectomy and splenic autotransplantation, Arch Surg 120: 275-278, 1985.
16. Malangoni, M.A., Evers, B.M., Peyton, J.C. Wellhausen, S.R.: Reticuloendothelial clearance and splenic monoclonal cell populations after resection and autotransplantation, Am J Surg 155: 298-302, 1988.
17. Alvarez, F.E., Greco, R.S.: Regeneration of the spleen after ectopic implantation and partial splenectomy, Arch Surg 115: 772-775, 1980.
18. Likhite, V.V.: Immunological impairment and susceptibility to infection after splenectomy, JAMA 236: 1376-1377 1976.
19. Cooney, D.R., Daert, J.C, Swanson, S.E., Dewanwee, M.K. Telander, R.L.: Relative merits of partial splenectomy, splenic reimplantation and immunization in preventing post-splenectomy infection, surgery 86: 561-569, 1979.
20. Pearl, R.H., Wesson, D.E., Spence, L.J., Filler, R.M., Ein S.H., Shandling, B., Superina, R.A.: Splenic injury: A 5 year update with improved results and changing criteria for conservative management, J Ped Surg 24: 121-125 1989.
21. Meeke, I., Staak, F., Oostrom, C.: Results of splenectomy performed on a group of 91 children, Eur J Ped Surg 5: 19-2. 1995.
22. Giebink, G. S., Le, C.T., Schiffman, G.: Decline of serum antibody in splenectomized children after vaccination with pneumococcal capsular polysaccharides, J Of Pediatrics 105: 576-582, 1984.
23. Bem, C., Echum, D.: Regeneration of the spleen and splenic autotransplantation, Br J Surg 78: 1276 1991.
24. Greco, R. S., Alvarez, F.E.: Intraportal and intrahepatic splenic autotransplantation, surgery 90: 535-540, 1981.
25. Pegg, C.A.S., Norman, J.: Intraportal splenic autotransplantation, Surgery 69: 433-440, 1971.