

# Heteropik splenik ototransplantların hemolizin antikoru oluşumu üzerindeki etkileri(\*)

Alp NUMANOĞLU, İhsan NUMANOĞLU  
Ege Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi, İzmir

## Özet

Araştırma, heteropik splenik ototransplantların, taze koyun eritrositlerine karşı oluşturulan hemolizin antikorumunun incelenmesi ile, ototransplantın immunolojik yönden değerlendirilmesi amacı ile yapıldı.

Ortalama 1500 gr. vücut ağırlıklı, 30 adet Yeni Zelanda tavşanı, kontrol, splenektomi, splenektomi+omentuma heterotopik splenik ototransplantasyon olarak üç gruba ayrıldı. Ön çalışmada, yeterli hemolizin antikorumları sağlyabilecek, antijen miktarı olarak, taze koyun eritrositlerinin % 50 suspansiyonundan 4 cc. intravenöz verilmesinin gerekli olduğu saptandı. Üç grup tavşana, cerrahi girişimlerin uygulanmasından iki ay sonra taze koyun eritrositleri verilerek immunizasyonu takip eden 6. -12. günlerdeki tavşan serumlarında hemolizin antikor titrajları yapıldı. Omentumda heterotopik splenik ototransplantların histolojik incelemelerinde, merkezde nekroze bölge çevresinde canlı dalak dokusu ve dış tarafında granülasyon oluşumu tespit edildi. Üç grup tavşanın, taze koyun eritrositleri verilerek immunizasyonunu takip eden 6. -12. günlerdeki serum hemolizin antikor değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında;

6. günde omentuma heterotopik splenik ototransplantların kontrol grubuna kıyasla daha az, fakat splenektomi grubuna kıyasla anlamlı olarak daha fazla hemolizin antikor üretebildiği tespit edildi.

12. gün serumlarının karşılaştırılmasında, daha düşük derecede anlamlı olmak üzere aynı sonuçlar elde edildi.

**Anahtar kelimeler:** Dalak, dalak ototransplantasyonu, hemolizin antikoru.

## Summary

*The Effect of Heterotopic Splenic Autotransplantation Into Omental Pouch On Hemolysin Antibody Production*

The hemolysin-antibody induction by heterotopic splenic autoransplant into omental pouch was investigated. Thirty New Zealand rabbits-each weighing approximately 1500 gr- were divided into three groups - splenectomized group, heterotopic splenic autotransplantation into omental pouch group and controls. In the preliminary study, it was determined that sufficient hemolysin antibody production could be induced by 4 ml I.V administration of % 50 suspension of fresh sheep erythrocytes. Two months after surgical interventions all three groups of rabbits were immunized by sheep red blood cells, which was followed by serum hemolysin antibody titer determinations on the 6th and 12th days. In histologic examinations of heterotopic splenic autotransplants into omental pouch, around a zone of central necrosis intact splenic tissue surrounded by granulation was seen. The serum hemolysin antibody titers obtained on 6th and 12th days were statistically evaluated. On the 6th day in the heterotopic splenic autotransplant group, hemolysin antibody titers were significantly lower than those in the controls, but significantly higher than those in the splenectomized group. On the 12th day, in all three groups the results were similar to those obtained on the 6th day, but less significant.

**Key words:** Spleen, splenic autotransplantation, hemolysin antibodies.

## Giriş

Son yirmi yıl içinde dalağın önemli fonksiyon-

(\*) Bu çalışma VIII. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinde (14-16 Eylül 1988 Kıbrıs-Girne) sunulmuştur.

Adres: Dr. İhsan NUMANOĞLU, Ege Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Bornova, İzmir.

larının belirlenmesi için yoğun araştırma ve çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, konunun hala karışık ve açıklanamayan yönleri vardır. King ve Shumacher (1952), Eraklis ve Filler (1972), Singer'in (1973) postsplenektomi döneminde gelişen enfeksiyon ve sepsis ile çocukların

kaybedildiğini bildirmelerinden sonra, dalağın koruyucu fonksiyonları üzerinde durularak, splenektomi yerine, dalağın vücutta muhafaza edilmesini öngören çeşitli klinik ve eksperimental çalışmalar yapılmıştır (10,15,25).

Konjenital anomali, kan hastalıkları, travmalar sonucu, dalak üzerinde cerrahi girişimler, gözleme, onarım, arteria lienalis ligatürü, splenektomi+çeşitli lokalizasyonlara heterotopik splenik ototransplantasyon şekillerinde yapılmaktadır (1,2,3,4,5,6,14).

Bu çalışma, normal, splenektomili, splenektomi + heterotopik splenik ototransplantasyon uygulanan 30 adet Yeni Zelanda tavşanında, taze koyun eritrositlerine karşı oluşan hemolisin antikorlarının titrasyonu ile retikulo-endotelial sistem içinde dalak ve herotopik splenik ototransplantların rollerinin incelenmesi amacı ile yapıldı.

## Gereç ve Yöntem

Üç aylık, ortalama vücut ağırlığı 1500 gr. olan Yeni Zelanda tipi 30 adet tavşan araştırmanın materyelini teşkil etmektedir.

Tavşanlar:

Grup I Normal kontrol 10 tavşan  
Grup II Splenektomi 10 tavşan  
Grup III Splenektomi + omentuma heterotopik splenik ototransplantasyon 10 tavşan

Ön Çalışma;

İkişer adet, üç grup, altı tavşana, % 3, % 30, % 50 dilüe edilmiş taze koyun eritrositi süspansiyonundan 4 cc. I.V. olarak verilerek, tavşanlarda klinik gözlem, tolerans, 6. -12. günlerde serumda hemolizin antikor titrajı yapılarak, yeterli immünizasyon sağlamak için, taze koyun eritrositlerinin % 50 süspansiyonundan 4 cc. I.V. olarak verilmesine karar verildi.

Çalışma;

Normal, splenektomi, splenektomi + heterotopik splenik ototransplantasyon uygulamasından iki ay sonra % 50 taze koyun eritrosit süspansiyonundan 4 cc. I.V. olarak bir defa verilip, takip eden 6. -12. günlerde serumda hemolizin antikor titrajı yapıldı. Ototransplantlar histolojik olarak incelendi. Cerrahi girişimler, Ketalar anestezisi ile (150 mg/kg I.M) temiz şartlar altında yapıldı.

Bilinmeyen nedenlerle ölen üç tavşan yerine aynı

işlemler tekrarlanarak yerine konup sayı tamamlandı.

Hemolizin antikor titrasyonu;

1- Tavşan serumları 8 tüpte Kolmer tuzlu suyu ile 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200, 1/6400 olarak dilüe edildi.

2- 1/30 kobay komplemanı,

3- % 3 taze koyun eritrositi,

4- 37 °C Benmaride 1 saat bekleme,

5- Hemoliz'in gözlenmesi ile en dilüe tüpün belirlenmesi (minimal hemolitik doz).

Cerrahi girişimler, Ege Tıp Fakültesi, Deneysel Araştırma Merkezinde, istatistik değerlendirme Ege Üniversitesi Bilgisayar Merkezinde, Histolojik İncelemeler Ege Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, Hemolisin Antikor titrajları Ege Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapıldı.

## Bulgular

Üç grup tavşanda, serumda tespit edilen Hemolizin antikor titrajları Tablo 1'de gösterilmiştir.

6. ve 12. günlerde üç grup tavşan serum hemolisin antikor titrajı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 2 'de gösterilmiştir.

Heterotopik splenik ototransplant mikrofotografisi Resim 1-2 'de gösterilmiştir.

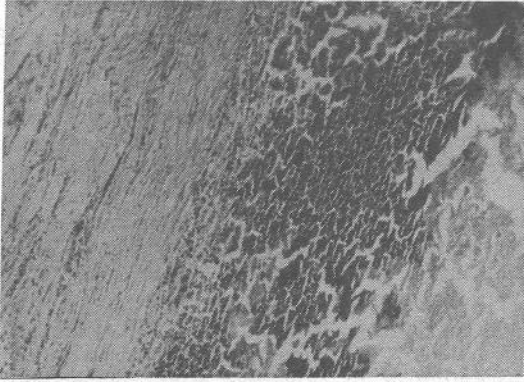
Heterotopik splenik ototransplant serum hemolisin antikor titrajları ve karşılaştırmaları Grafik 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. 6. ve 12. günlerde üç grup tavşan serumunda hemolizin antikor titrajları.

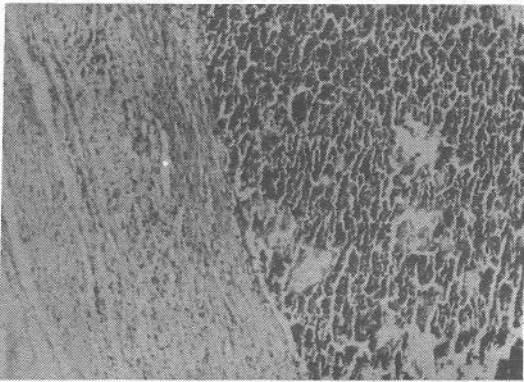
Gruplar	Min.	Maks.	Ort.	S.D.
6.gün norm. kont.	0.00016	0.00250	0.00077	± 0.00073
6. gün Spl.	0.-	0.-	0.-	± 0.-
6. gün Spl.+Oto T.	0.00000	0.02000	0.00687	± 0.00633
12. gün Norm. Kont	0.00000	0.02000	0.00387	± 0.00605
12. gün Spl.	0.-	0.-	0.-	± 0.-
12. gün Spl.+Oto T.	0.00000	0.02000	0.01114	±0.00857

Tablo 2. 6. ve 12. günlerde gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma.

6. gün kontrol	6. gün Spl.	Anlamli fark var P<0.01
6. gün kontrol	6. gün Spl.+ Oto.T.	Anlamli fark var P<0.01
6. gün Spl	6. gün Spl + Oto.T.	Anlamli fark var P<0.01
12. gün kontrol	12. gün Spl.	Anlamli fark var P<0.05
12. gün kontrol	12. gün Spl.+ Oto.T.	Anlamli fark var P<0.05
12. gün Spl.	12. gün Spl.+ Oto.T.	Anlamli fark var P<0.01



Resim 1. Omentuma Heterotopik Splenik Ototransplant'ın mikrofotografisi



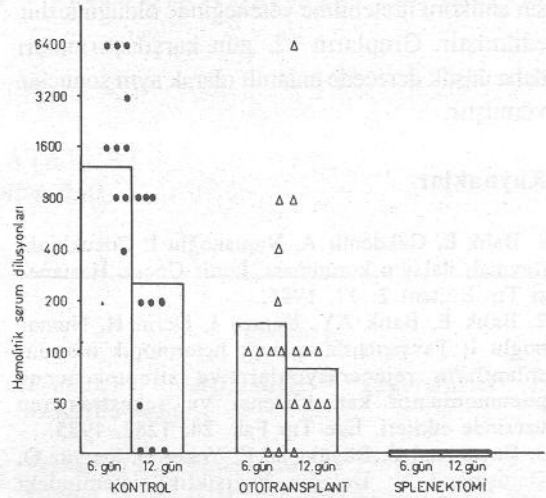
Resim 2. Omentuma Heterotopik Splenik Ototransplant'ın mikrofotografisi

### Tartışma

Dalağın vücutta koruyucu önemli görevlerinin bulunduğu anlaşılmışından sonra, dalağı koruyup, muhafaza etme yöntemleri ve splenik ototransplantasyonlar klinik ve eksperimental olarak uygulanmış ve korunan dalak fonksiyonları değerlendirilmeğe çalışılmıştır (7,8,12,13,16,17, 21,22).

Dalağın vücutta mevcudiyeti ve RES içindeki fonksiyonlarının incelenmesi çeşitli yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Bunlar, Tc 99 m sülfürkolloid uptake, histolojik incelemeler, immünolojik yeterlilik, RES'in fagositozu, IgM, kompleman, properdin, Tlenfositleri, hemolisin gibi antikorların araştırılmaları ile yapılabilmektedir (1,5,9,11,17,23,27).

Heterotopik splenik ototransplantlar yaşama, damarlanma ve bakteri eliminasyonları yönünden daha çok omentum içine seçilerek yerleşti-



Grafik 1. Hemolizin antikor titrajları.

rilmektedir (2,3,7,8,12,16).

Van Wyck ark. (1978) onarılmış, kısmi veya hemisplenektomi yapılmış dalaklarda, koruyucu görevin sağlanabilmesi için dalak ağırlığının 1/3'ü büyüklüğünde dalak dokusunun muhafaza edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. (26,27).

Heterotopik splenik ototransplantlarda, nekroz, fibrosis, bölgesel kalsifikasyonlarla, daima biraz küçülme meydana gelmektedir. Bu nedenle ototransplantlarda mümkün olduğu kadar büyük ölçüde doku transplante edilmesi gerekmektedir (18,19,20,24).

Araştırmamızda, splenektomi yapılan dalak kapsülüne iki paralel insizyon ve ters çevirme ile dalağın tamamı omentuma yerleştirilmiştir.

Normal, splenektomi, heterotopik splenik ototransplantasyon, gruplarından önceden karşılaşmamış ve hiç tanımadığı bir antijen olarak koyun eritrositleri tavşanlara verilerek hemolisin antikorları geliştirilmiş ve değerlendirmeler antikor titrajı ile yapılmıştır. Tavşanlardaki serum antikor titrajı değerlerinin karşılaştırılması Grafik 1'de gösterilmiştir.

Sonuç olarak, üç grup tavşanda 6. ve 12. günlerdeki serum hemolisin antikor titrajı değerlerinin karşılaştırılmalarında, 6. günde, omentuma heterotopik splenik ototransplantların, kontrol grubuna kıyasla daha az, fakat splenektomi



grubuna kıyasla anlamlı olarak daha fazla hemolisin antikoru üretebilme yeteneğinde olduğu tesbit edilmiştir. Grupların 12. gün karşılaştırmaları daha düşük derecede anlamlı olarak aynı sonuçlar vermiştir.

## Kaynaklar

1. Balık E, Gökdemir A, Numanoğlu İ: Çocuklarda travmalı dalağın korunması. İzmir Çocuk Hastanesi Tıp Bülteni 2: 77, 1985.
2. Balık E, Balık AY, Karaca İ, Derin H, Numanoğlu İ: Tavşanlarda splenik heterotopik ototransplantların rejenerasyonları ve streptococcus pneumonia'nın kan klirensi ve sekestrasyonu üzerinde etkileri. Ege Tıp Fak. 24: 1287, 1985.
3. Büyükcinal C, Büyükcinal E, Yeker D, Şenyüz O, Danişmend N: Dalağın bağışıklık sistemindeki yeri ve çocuklarda splenektomi sonrası sepsis sorunu. Haseki Tıp Bülteni 20: 211, 1982.
4. Büyükcinal C, Danişmend N, Yeker D: Spleen saving surgical procedures in pediatric splenic trauma. Br J Surg 74: 350, 1987.
5. Büyükcinal C, Söylet Y, Erdoğan E, Danişmend N, Urgancıoğlu İ: Çocuk yaş grubunun dalak yaralanmalarında splenektomi yerine dalağı koruyucu cerrahi yöntemler ve sonuçları. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi 13:200, 1982.
6. Büyükcinal C, Söylet Y, Erdoğan E, Danişmend N, Yeker D: Dalak koruyucu cerrahi girişimler ile ilgili deneyimlerimiz. Ulusal Cerrahi Dergisi 3: 55, 1987.
7. Church J: Antibody responses after splenectomy and splenic autotransplantation in rats. Surg Research 31: 343, 1981.
8. Cooney DR: Heterotopic autotransplantation in prevention of overwhelming postsplenectomy infection. J Pediatr Surg 14: 336, 1979.
9. Derin H, Balık E: Çocuklarda rüptürden sonra onarılan dalakların radioizotop imajlarda takibi. Ege Tıp Fak Mec 24: 321, 1985.
10. Eraklis AJ, Filler RM: Splenectomy in childhood: A review of 1413 cases. J Pediatr Surg 7: 382, 1971.
11. Erasmie V: Scintigraphic evaluation of traumatic splenic lesions in children. Acta Radiol 29: 121, 1988.
12. Haskill JS: Density distribution analysis of cells forming 19.5 hemolytic antibody in the rat. J Immunology 102: 703, 1969.
13. Karp MP: Immun consequences of nonoperative treatment of splenic trauma in the rat model. J Pediatr Surg 24: 112, 1989.
14. Keramidas DC: Splenic injury and its management. Pediatrik Cerrahi Dergisi (Pediatric Surgery-Special Issue) 3: 113,1989.
15. King H, Shumacher HB: Splenic studies susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. Ann Surg 136: 239, 1952.
16. Likhite VV: Immunological impairment and susceptibility to infection after splenectomy. JAMA 236: 1376, 1976.
17. Malangani MA: Splenic phagocytic function after partial splenectomy and splenic autotransplantation. Arch Surg 120: 275,1985.
18. Oakes DD: Intraportal splenic autotransplantation in rats: feasibility and effectiveness. J Surg Res 32: 7, 1982.
19. Pabst R: Autotransplantation of splenic tissue. J Pediatr Surg 21: 120, 1986.
20. Patel J: Protection against pneumococcal sepsis splenectomized rats by implantation of the splenic tissue in an omental pouch. Surg 96: 638, 1982.
21. Rowley DA: Formation of circulating antibody in the splenectomized human being following intravenous injection of heterologous erythrocytes. J Immunol 65: 515, 1950.
22. Rowley DA: The effect of splenectomy on the formation of circulating antibody in the adult male albino rat. J Immunology 64: 289, 1950.
23. Schumacker MJ: Serum immunoglobulin in transferrin levels after childhood splenectomy. Arch Dis Child 45: 114, 1970.
24. Shwartz AD: Antibody response to I.V. immunization following splenic tissue autotransplantation in sprague Dawley rats. Blood. 49: 779, 1977.
25. Singer DB: Postsplenectomy sepsis: Perspectives in pediatric pathology. Chigago III, Year Book 1973, pp 285-311.
26. Van Wyck DB: Critical splenic mass for survival from experimental pneumocococemia. J Surg Research 28: 14, 1980.
27. Vefa A: Splenic autotransplantation: Optimal functional factors. J Pediatr Surg 16: 898,1981.