

DALAK İÇİ FETAL HEPATOSİT ALLOTRANSPLANTASYONUNA İMMUNOSUPRESYONUN ETKİSİ

Uzm. Dr. Servet KARAHAN (*) • Doç. Dr. Selçuk MERCAN (**) • Dr. Mehmet ÇAĞLIKÜLEKÇİ (**) • Prof. Dr. Temel DAĞOĞLU (**) • Doç. Dr. Selçuk ÖZARMAGAN (**) • Prof. Dr. Uğur ÇEVİKBAŞ (***)

ÖZET: Allogenic fetal hepatositlerin dalak içine transplantasyonlarında immunosupresyonun etkisi iki deney grubunda araştırıldı. 20 inbred Wistar albino erkek sıçan alıcı, 4 adet Sprague Dowley hamile sıçan verici olarak kullanıldı. 1. gruba Siklosporina (CsA) 3 mgm kg/gün SC ile immunosupresyon yapıldı. 2. gruba immunosupresyon yapılmadı. 1. grupta, transplante edilen fetal hücrelerin 14. günde canlı oldukları saptandı.

SUMMARY: The effect of Immunosuppression in intrasplenic fetal hepatocyte transplantation: The effect of immunosuppression in intrasplenic allogenic hepatocyte transplantation was investigated in two groups. 20 inbred Wistar albino rats were recipients 4 Sprague Dowley pregnant rats were donors. Immunosuppression was done with subcutan Cyclosporine A injection 3 mg/kg/day in group 1.2. group was not immunosuppressed. In first group, transplanted fetal hepatocytes were alive on 14. day.

GİRİŞ

Dalak içine transplante edilen hepatositlerin alıcıda yarleştiği proliferere olduğu ve karaciğerin işlevsel ve yapısal bütünlüğünü kazandığı bilinmektedir (4,6,11). Mito ve ark (13) 2-3 yıl izledikleri hepatosit isotransplantasyonlarında, hepatositlerin dalak hacmini % 20-40 oranında arttırdığını gör-düler.

Diğer organ ve dokuların transplantasyondan hemen sonra reddedilmelerine karşın hepatosit alogreftlerinin daha iyi seyir göstermesinin nedeni açıklanamamaktadır (5). Bunun yanında hepatosit transplantasyonları ile ilgili çalışma-

lar klinik uygulamaya doğru ilerlemektedir (9). Allogenic hepatositlerin alıcıda canlılığını sağlayan ve bunun sürekliliğine imkan veren modeller bu gelişmelerde önemli rol oynarlar.

Dalak içi hepatosit isotransplantasyonları, kısa ve uzun süreli birçok çalışmaya konu olmasına karşın immunosupresyon ve hepatosit allotransplantasyonları son araştırılmaya başlanmıştır. Fetal hepatosit allotransplantasyonunda immunosupresyonun etkisi ise araştırılması gereken bir konu durumundadır. Bu çalışmada dalak içine transplante edilen fetal hepatositlerin yaşamlarına immunosupresyonun etkisini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışmada alıcı olarak 20 adet, 200-300 gm

* I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi H. Acil Vakalar Anabilim Dalı

** I.Ü. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı

*** I.Ü. Tıp Fakültesi Patolojik Anatomi Anabilim Dalı

ağırlığında, inbred Wistar albino erkek sıçan, verici olarak 4 adet, 18-21 günlük hamile Sprague Dowley sıçan kullanıldı. Bir hamile sıçandan yaklaşık 10 fetus karaciğeri cerrahi olarak çıkarıldı. Deney için alıcı sıçanlar 2 gruba ayrıldı.

1. grup (10 sıçan): İntrasplenik fetal hepatosit allotransplantasyonu

2. grup (10 sıçan): İntrasplenik fetal hepatosit allotransplantasyonu+Siklosporin A (Cs A) 3 mg/kg/gün subkutan

Fetal hepatositler daha önceki bir çalışmamızda (10) anlatılan yöntemle hazırlandı. Hepatositlerin canlılığı Trypan mavisi testi ile değerlendirildi.

0.2 ml fetal hepatosit süspansiyonu 22 no iğne dalak içine transplante edildi. Kanama lokal baskı ile kontrol edildi.

2. gruba 3 mg/kg/gün subkutan Cs A ile immunosupresyon yapıldı. 4., 7. ve 14. günlerde dalaklar çıkarılarak histolojik inceleme yapıldı.

BULGULAR

Allogenic fetal hepatosit transplantasyonundan 4 gün sonra çıkarılan dalakların histolojik incelemesinde immunosupresyon yapılmayan 1. grupta; değişik büyüklükte nekroz alanları, seyrek fetal hepatositler yanında karyolizis ve karyoreksiz gösteren nekrotik hepatositler görüldü. 2. grupta ise nekroz alanlarına rastlanmadı. Tek yada gruplar halinde pembe sitoplazmalı, hiperkromatik nüveli hepatositler dikkati çekti (Resim 1).

7. günde 1. grupta hepatosit nekrozunda artma görüldü. 2. grupta hepatositlerin yapısında bir değişiklik gözlenmedi.

14. günde yapılan incelemede, 1. grupta nekrotik alanlar içinde sitoplazması parçalanmış nekrotik hepatositler görüldü (Resim 2). 2. grupta hepatositlerde birden fazla nüve ve mitoz varyasyonları dikkati çekti (Resim 3).

TARTIŞMA

Karaciğer hücre transplantasyonu ile ilgili çalışmalar artık klinik uygulama alanına doğru ilerlemektedir. Hepatositlerin iso yerine allotransplantasyonların klinik uygulamalara daha uygun olduğu düşünülmektedir (8,9).

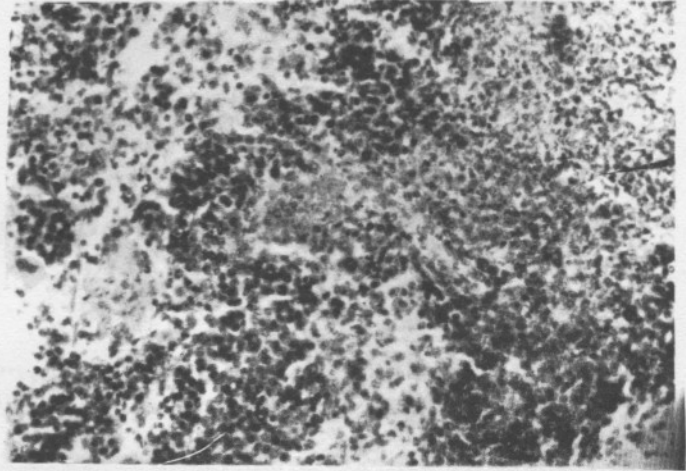
Crigler Najjar ve Rotor sendromu, alfa₁ antitripsin eksikliği gibi konjenital enzim defektleri bu çalışma modellerine uy-

gun klinik tablolardır (9,15). Matas ve ark. (12) enzim eksikliği olan Gunn sıçanlarına portal ve dalak içi yolla yaptıkları allotransplantasyonlarda bilirubin seviyelerinde geçici ancak yararlı düşüşler sağladıklarını bildirirler.

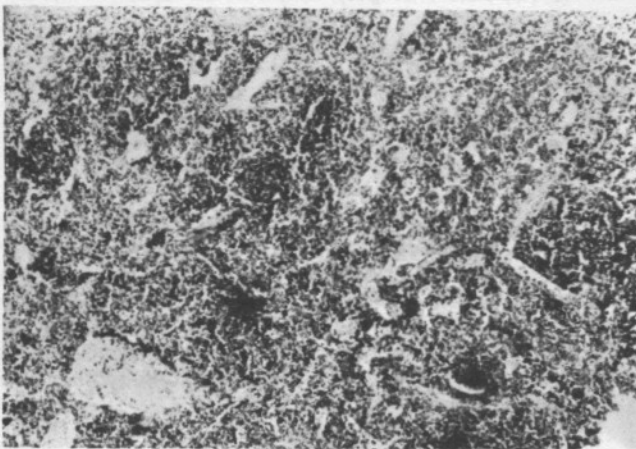
Makowka ve Lee (14) ise siklosporin A ile immunosupresyon eşliğinde yaptıkları hepatosit allotransplantasyonlarında hücrelerin 14 gün canlı kaldığını, immunosupresyon yapılmayan grupta ise 4.-5. günlerde nekroze olduklarını göstermişlerdir.

Brent ve ark (3) la antiğenleri olmayan saf karaciğer hücrelerinin immunojenik olmadığını ancak bu hücrelerin Kupfer hücreleri ile kontaminasyonu oranında immunojenik olabileceklerini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca fetal hücrelerin yüksek oranda büyüme faktörleri içerdikleri ve bunun bu hücrelerdeki hızlı gelişimin nedeni olduğu ortaya atılmıştır (7). Bu nedenle hepatosit transplantasyonları ile ilgili çalışmalarda mezenkimal hücrelerin arındırılma oranı transplantasyonun başarısında çok önemlidir.

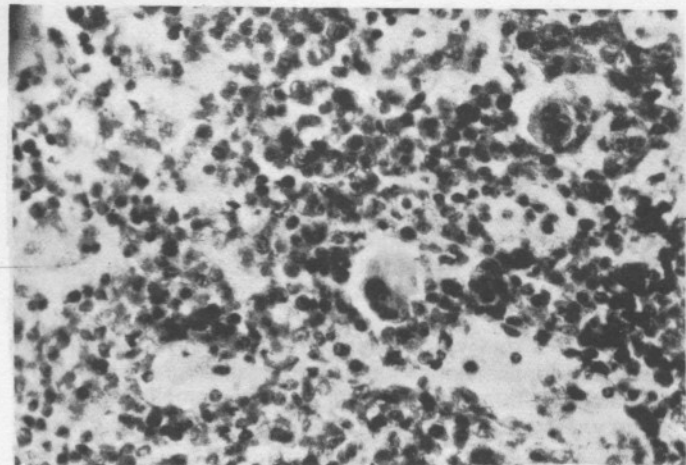
Seglen (16) ve Berry (2)'nin yöntemlerini birleştirerek modifiye eden Alper ve ark (1) tarafından tanımlanan yön-



Resim 2: Dalakta nekroz alanı içinde parçalanmış fetal hepatositler görülmektedir (HEx400)



Resim 1: Dalak içindeki normal fetal hepatositlerin varlığı görülmektedir (HEx125)



Resim 3: Dalaktaki fetal hepatositlerde hiperkromatik nüveler görülmektedir. (HEx400).

temde canlı hepatositlerin daha fazla olduğu ve mezenkimal hücrelerden daha yüksek oranda arındırıldığı bildirilmiştir.

Bu yöntemi kullandığımız çalışmamızın immunosupresyon yapılmayan grubunda 7. günde canlı hepatositlerin bulunması, immunosupresyon uygulanan grupta 14. günde hepatositlerde birden fazla nüve ve mitoz varyasyonlarının görülmesi, hepatosit hazırlama yöntemimizin üstünlüğünün yanı sıra immunosupresyonun transplantasyondaki olumlu rolünü desteklemektedir. Ayrıca fetal hepatosit kullanılması allotransplantasyon çalışmalarının başarı şansını artıracığı ve klinik uygulamalara ışık tutacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Alper, A., Fuller, B.J., Innes, G.K., Hobb, S, K.E.F.: Ascorbate effect on cultured rat hepatocytes, (unpublished).
- Berry, M.N., Frieds, D.S.: High yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells J Cell Biol, 43: 506-520 (1969).
- Brent, L., Bain, A.G., Butter, R., Horburgh, T., Opara, S.C., Wood, R.J.: The antigenicity of purified liver paranchyma cells. Transplan Proc, 13: 860 (1981).
- Curevas-Mons, V., Cienfuegos, J., Magonta, P.: Long term evaluation of isolated syngeneic hepatocytes transplanted into the normal rat spleen by Tc99M-HIDA scintigraphy, Transplantation, 39: 87 (1987).
- Ebate, H., Oikawa, I., Mito, M.: Rejection of allagenic hepatocytes and fetal hepatic tissue transplanted into the rat spleen, Transplantation, 39, 2: 221-4 (1985).
- Ebate, H., Mito, M.: Intrasplenic fetal ret hepatic tissue isotransplantation, Transplantation, 39: 77 (1985).
- Foglia, R.D., LaQuaglia, M., Dipreta, M., Donachoe, P.K.: Can fetal and newborn allografts survive in an immunocompetent host? J Ped Surg, 21, 7: 608-12 51986).
- Gugenheim, J., Houssin, D., Tamisier, D.: Spontaneous longterm survival of liver allograft in inbred rats: Influence of the hepatectomy of the recipient's own liver. Transplantation, 32: 445 (1981).
- Groth, G.G., Arborg, B., Bjorken, C., Sundberg, B., Lundgren, G.: Corection of hyperbilirubinemia in the glucuronyl transferase deficient rat by intraportal hepatocyte transplantation, Transplant Proc, 9: 313 (1977).
- Karahan, S., Mercan, M., Çağlıküleki, M., Özarmağan, S., Altuğ, A., Çevikbaş, U.: Dalak içi fetal hepatosit transplantasyonuna parsiyel hepatektominin etkisi. Türk Patoloji Dergisi (Baskıda).
- Kusano, M., Mito, M.: Observation of long survived isolated hepatocytes inoculated into rat spleen, Gastroenterology, 82: 616 (1982).
- Matas, A.J., Sutherland, D.E.R., Steffes, M.W.: Hepatocellular transplantation for metabolic deficiencies: decrease of plasma bilirubin in Gunn rats. Science, 192: 892 (1976).
- Mito, M., Ebata, H., Kusano, M., Onishi, T., Satio, T., Sakamoto, S.: Morphology and function of isolated hepatocytes transplanted into the rat spleen, Transplantation, 28: 449 (1979).
- Makowka, L., Lee, G., Cobourn, S.C., Farber, E., Falk, J.A., Falk, R.E.: Allogenic hepatocyte transplantation in the rat spleen under cyclosporine immunosuppression, Transplantation, 42, 5: 537 (1986).
- Rugstad, H., Rubinson, S.H., Yannoni, C., Tashjian, A.H.: Transfer of bilirubin uridine diphosphate glucuronyl tranferase to enzyme deficient rats, Sciens, 170: 553 (1970).
- Seglen, P.O.: Preparation of isolated rat liver cells, Presscott, D.M. ed. Method in cell biology, Vol 13: Newyork, 29-83 (1976).