

## DENEYSEL PERİTONEAL SEPSİS MODELİNDE SPLENEKTOMİ SONRASI KARACİĞER KUPFFER HÜCRE PROLİFESYONUNUN ETKİLERİ

### THE EFFECT OF POSTSPLENECTOMIC KUPFFER CELL PROLIFERATION IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF PERITONEAL SEPSIS

Mehmet YILDIRIM\*  
Ümit BAYOL\*\*

Abdullah AKDAĞ\*  
Tevfik BALIOĞLU\*\*

Nazif ERKAN\*  
Dilşen ALBAYRAK\*\*

Aytaç SAYIN\*

\*SSK İzmir Eğitim Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği

\*\*SSK Tepecik Eğitim Hastanesi Patoloji Kliniği

**Anahtar Sözcükler:** Peritonit, Splenektomi, Kupffer

**Key Words:** Peritonitis, Splenectomy, Kupffer

## ÖZET

*Splenektomili ve splenektomisiz ratlarda , Karaciğer makrofajları olan Kupffer hücrelerinin E. Coli'ye yanıtları araştırılmıştır. Splenektomi yapılan ratlarda belirgin olarak fazla miktarda Kupffer hücre proliferasyonu görülmektedir. Bizde eksperimental model üzerinde daha önceleri üzerinde çalışılmış olan Kupffer hücrelerinin peritonitteki koruyucu etkilerini araştırdık. Bu çalışmada 32 rat dört gruba ayrıldı. Birinci grup sham ,ikinci grup splenektomi,üçüncü grup splenektomi ve intraperitoneal E.Coli solüsyonu grubuydu. Son gruba ise splenektomi yapılmayıp,intraperitoneal bakteri verildi. Çalışma sonunda splenektomili ratlarda (2.Grup) Kupffer hücre proliferasyonu olduğu ve splenektomiye ilaveten E.Coli ile peritonit yapılan grupta(3.Grup) splenektomisiz grupta (4 Grup) belirgin farklılık bulamadık.*

## SUMMARY

*The response of liver macrophages (Kupffer cells) to the pathogenic material (E.Coli) was investigate by comparing splenectomized versus non splenectomized rats. In response to splenectomy much more Kupffer cell proliferation was detected than splenic rats. Since previous studies have demonstrated that Kupffer cells proliferation in the liver were a protective effect of the peritonitis induced by E. Coli, we investigated it in experimental model.In this study 32 rats divided into four groups. The group one is sham,second group is splenectomy, third is splenectomy and intraperitoneal E.Coli inoculated group and last one is nonsplenectomized intraperitoneal E.Coli inoculated group. The results of this study suggest that Kupffer cell was significantly increased in rats with splenectomy (Group 2). There is no different correlation between splenectomy plus E.Coli group(Group 3) and E.Coli inoculated group(Group 4)*

## GİRİŞ

Kupffer hücreleri hepatik sinüzoidlere komşu makrofajlardır. Kupffer hücreleri organizmaya yabancı toksik yada yararlı maddelerin portal kandan atılmasında ve

yararlı mediatörlerin salgılanmasında rol oynamaktadır (1). Bazen toksik ve vazoaktif maddeler Kupffer hücrelerinden salınarak karaciğer hastalıklarının oluşumunda rol oynarlar. Bu aktiviteler barsaktan derive olan ve Vena Portada bulunan endotoksin varlığında uyarılır (2). Kupf-

fer hücreleri monosit orijinli olup replikasyon kapasitesine sahiptir. Bu özelliği travmalar, yanıklar, peritoneal sepsislerde ve splenektomi sonrası görülebilmektedir (3). Splenektomili ratlarda Kupffer hücrelerinin sayıca arttığı gösterilmiş ve bu durum özellikle 4 haftadan uzun süren monositopeni varlığında izlenmiştir. Glucan kullanılarak granulom oluşturulan ratlarda da Kupffer hücre proliferasyonu, konglomerasyon ve çekirdekli dev hücreler olduğu görülmüştür. Bu durum Kupffer hücrelerinin kendini yenileyebildiğinin göstergesi olarak kabul edilmiştir. Splenektomili ratlarda Kupffer hücre artışının intraperitoneal sepsis üzerinde etkili olacağı da bildirilmiştir (4). Splenektominin tek başına bakteriyel translokasyona yol açan tüm faktörleri uyardığını gösteren çalışmalar yanında şiddetli sepsis modellerinde RES'te baskılanma olduğu gösterilmiştir. Splenektomi ankapsüle organizmaların yaptığı infeksiyonlarda artışa yol açmaktadır. İntra peritoneal sepsisi olan ve olmayan splenektomili ratlarda plasmada fibronektin azalırken sepsisli ve splenektomili ratlarda ayrıca Kupffer hücrelerinde E.Coli tutulumunda azalmaktadır. Bu nedenle dalağın gram - negatif bakteri klirensinde önemi vardır. Sonuçta Kupffer proliferasyonunun splenektomiden sonra peritonitin ağırlaşmasını engellediği öne sürülmüştür (5). Bu nedenle rat guruplarında intraperitoneal bakteri solüsyonu verilerek oluşturulan peritoneal sepsis modelinde; splenektominin karaciğer Kupffer hücre proliferasyonuna, peritonit ve karaciğerde abse oluşumuna etkisini inceledik.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma 2003 yılında SSK İzmir Eğitim Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniğinde projelendirilmiş, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi etik kurulundan onam alınarak aynı laboratuarda yapılmıştır. Çalışmada 32 adet 150-200 gram Wistar Albino rat kullanılarak sekizerli dört gruba ayrıldı. Rat anestezisinde 50 mg/kg Ketamin intramuskuler kullanıldı. Laparotomide median hattın 2 cm'lik insizyon kullanıldı. Splenektomi grubunda dalak pedikülüne ipek 3/0 ile tek bağlama yapıldı. Tüm guruplarda laparotomi insizyonu 4/0 dekson kullanılarak kapatıldı. İntraperitoneal Eschericia Coli (E.Coli) verilen gurupta E.Coli suşu SSK İzmir Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniğinde, insan infekte yaralarından alınan bakteriden süspansiyon şeklinde hazırlandı. (0,5 macfarland) 0,1 cc E.Coli solüsyonu  $10^8$  oranında dilüe edilerek standardize edildikten sonra intraperitoneal olarak verildi. Ratlar laparotomi sonrası pelet yem ve su ile beslenmiştir. 7.

gün ratlar sacri fiye edildiler. Histopatolojik inceleme SSK Tepecik Hastanesi Patoloji laboratuvarında yapıldı. Ratlardan karaciğer ve periton örnekleri alındı. Karaciğer doku değişiklikleri için karaciğer sağ lob büyük aksdan geçen birer örnek alınıp 5-7 mikronluk seri kesitler yapılmıştır. Periton ise bilateral periton örnekleri yaklaşık 1 cm<sup>2</sup> olacak şekilde alınmıştır. Karaciğer örneklerinde Kupffer hücre artışı, granülom, mikro abse , peritonda ise peritonit tanısı koyduracak kriterler anlamlı kabul edildi. Preperatlar Hemotoxilen Eosin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda aynı patolog tarafından değerlendirildi. Çalışma sonuçları Ege Üniversitesi İstatistik Anabilim dalında Fischer Exact testi ile değerlendirilerek p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

Çalışmada sekizer rat içeren 4 grup oluşturuldu.

Grup I (N = 8 sham) Laparatomiden sonra minimal manüplasyon yapıldı. Dalak manüple edilerek batın içine tekrar bırakıldı.

Grup II (N = 8) Splenektomiyi takiben hemostaz yapılarak drensiz kapatıldı.

Grup III (N=8) Splenektomiden sonra standart E.Coli solüsyonu intraperitoneal yolla verildi.

Grup IV (N=8) Splenektomisiz grup, batın içine E.Coli verildi.

## BULGULAR

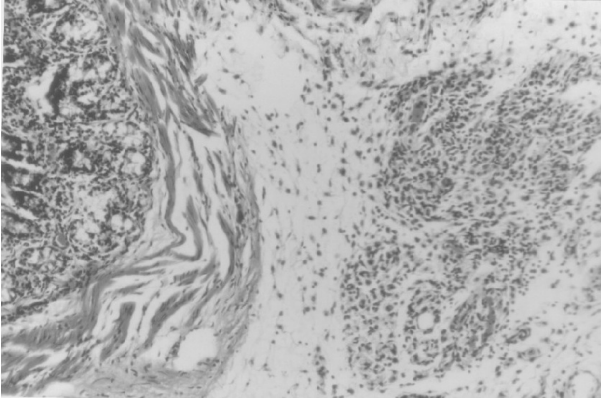
Grup 3 ve grup 4'den birer rat postoperatif 5. gün ex oldu. Nekropsi yapılarak karaciğer ve periton örnekleri alındı.

Grup 1: Kupffer hücre artışı ve peritonit hiçbir ratta saptanamadı, 1 (%12,5) olguda karaciğerde mikroabse saptandı

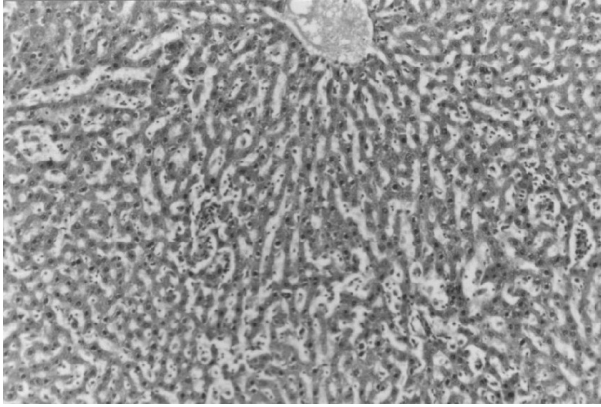
Grup 2: Kupffer hücre artışı 8 (%100) ratta bulundu., Peritonit (Resim 1) ve karaciğerde mikroabse 1 (%12,5) ratta saptandı

Grup 3: Karaciğerde Kupffer hücre artışı 8 (%100) ratta bulundu (Resim 2), Peritonit 7 (%87,5) ratta gözlemlendi, karaciğerde mikroabse 4 (%50) ratta saptandı

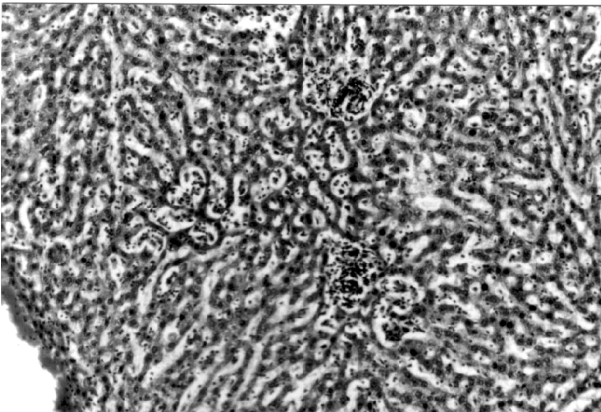
Grup 4: Karaciğerde Kupffer hücre artışı hiçbir ratta görülmedi. 5 (%62,5) ratta peritonit ve 2 (%25) ratta karaciğerde mikroabse tesbit edildi. (Resim3).



**Resim 1.** H-E x100 Peritonitin mikroskopik görünümü (Ödem ve yangısal hücre infiltrasyonu)



**Resim 2.** H-E x40 Karaciğer parankimde diffüz yangısal hücre ve Kupffer hücre artışı



**Resim 3.** H-E x40 Karaciğerde mikroabse görünümü

## SONUÇLAR

Splenektomi yapılan ratlarda nonsplenektomize ratlara göre belirgin kupffer hücre artışı tesbit edildi (Grup 1'de hücre artışı oranı %0, Grup 2'de %100 bulundu) ( $p<0,05$ ) Grup 3 ve Grup 4 arasında peritonitli rat sayısı istatistik anlam taşııyordu. Aynı gruplar arasında mikroabse oluşumundada artış saptanmamıştır ( $p<0,05$ )

## TARTIŞMA

Deneyisel peritoneal sepsis modelinde splenektomi sonrası Kupffer hücre sayısında artış olması ve etkileri halen tartışılmaktadır. Kupffer hücre artışı yanında, Kupffer hücresinden salınan sitokinlerinde patojenlerin yıkımında rol oynadığı bildirilmiştir (6,7). Sepsiste endotoksinlerle situmilasyon sonucu TNF $\alpha$ , IL-6 ve Nitrik Oksit sentezi olmaktadır. Bu etkilerin hemoraji oluşturulan ratlarda bakteriyel translokasyonla, çoklu organ yetmezliğinde ise lizozim, lektin gibi enzimlerin artmış aktivasyonu olduğu gösterilmiştir (8). Normal karaciğerde ise negatif reaksiyon gözlenmektedir. Özellikle fekal peritonit nedeniyle oluşan çoklu organ yetmezliğinde histolojik bakıda Kupffer hücrelerinde şişmeler olduğu bildirilmiştir (9). Splenektomi ise Kupffer hücrelerinde proliferasyona yol açmaktadır. Bu durumun endotoksin klirensini arttırdığı tesbit edilmiştir. Splenektomi ayrıca yanık ve yabancı cisimlerin neden olduğu bakteriyel translokasyonda engellemektedir (5). Bu gözlemlerle splenektominin Kupffer hücresi üzerindeki uyarımının temelde organizmanın korunmasına yönelik olduğunu düşündürmektedir. Bu durumda Kupffer hücresi ilk yanıt yeri olmakta ve antijenik temas sonucu sitokin içeren kaskad sistemini tetiklemektedir Splenektominin Kupffer hücre üzerindeki proliferasyonunun gözlemek ve peritoneal sepsisteki etkisini incelemek için yaptığımız modelde splenektominin sham ve splenektomi yapılmayan gruplara göre Kupffer hücre artışına yol açtığı gösterilmiştir. Ancak bu artışın peritoneal sepsiste yararını sorgulamak ve yanıt aramak için peritona bakteri içeren süspansiyonlar verilmiştir. Çekumon bağlanıp delindiği yöntem peritonit oluşturmak için sık kullanılmakla birlikte peritona akan feçes miktarı farklı olmakta ve peritonitin değerlendirilmesini zorlaştırmakta olduğundan hazırlanmış solüsyon kullanılmıştır (10,11). Kullanılan solüsyonun bakteri miktarı  $10^8$  CFU/ml olup bizim çalışmamızda bu miktar kullanılmıştır. Femur kırığı ve sepsis oluşturulan rat modellerinde Kupffer hücresine olan etki araştırıldığında sepsiste deneklerin %44'ünde ölüme yol açarken karaciğer ablasyonu yapılırsa oranın %13'e

düştüğü ve fagositoz kapasitesinin %61 arttığı gözlenmiştir (2) Sonuçta sepsisin şiddeti proinflatuar fazlalığına bağlanmış, Kupffer hücresi daha az etkili olarak değerlendirilmiştir. Bizim sepsis gurubumuzda peritonit ve karaciğer içinde mikro abse oluşumu, splenektomili sepsis gurubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark içeren peritonit grupları olmadığı görülmüştür. Bu durumda splenektomili gruptaki Kupffer hücre artışı peritonit ve karaciğerde mikroabse oluşumunu etkilememiştir. Bir başka rat çalışmasında splenektomi grubunda, sham grubuna göre çekum ve terminal ileumdaki bakteri sayısı 10 kat artmış, splenektominin bakteriyel translokasyona yol açan tüm faktörleri uyardığı sonucuna varılmıştır (3).

Gram negatif bakteri klirensinde splenektominin etkisinin incelendiği bir gruptaysa septik deneklerde karaciğerde E.Coli tutulumu azalmış ve dalağın gram-negatif bakteri klirensinde önemi vurgulanmıştır (1).

Sonuç olarak çalışmamızda splenektomi sonrası Karaciğerde Kupffer hücre artışının olduğu saptandı ancak peritoneal sepsis ve yandaş patolojilerde olumlu etkisi ile ilgili veriler elde edemedik. Sepsis gruplarında splenektomiden bağımsız olarak peritonit ve karaciğer abseleri oluştu. Kupffer hücre artışının deneysel peritoneal sepsisteki yerini saptamak için ileri çalışmalara gereksinim olduğu söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Boulton RA, Allison MR, Goldina M, Selden C, Hodgkin HJ. Augmentation of the early phase of liver regeneration after 70 % partial hepatectomy in rats following selective kupffer cell depletion. J. Hepatol 1998; 29: 271-280
2. Mc Cuskey RS, Mc Cuskey PA The structure and function of kupffer cells. J.Electron-Microsc. Tech 1990; 14: 237-246
3. Okabayashi K, Ohtani M, Morio M, Kajihara H. Structural changes of Kupffer cells in rat liver following experimental termal injury. Burns 1990; 16: 83-88.
4. Eallery MP, Kamen T, Flye M. Kupffer cell blockade increases mortality during intraabdominal sepsis despite improving systemic immunity. Arch Surg 1990; 125: 36-40
5. Baykal A, Ağlar F. Bakteriyel Translokasyon.In:Sayek İ, Coker A, Sökmen S, editörler. Cerrahi İnfeksiyon.1.Baskı Güneş Kitabevi; 2001: s.74-82
6. Decker K. The response of liver macrophages to inflamatory stimulation. Keio J. Med 1998; 47: 1-9
7. Busam KJ, Bauer TM, Bauer J et al. Interleukin 6 relase by rat liver macrophages. J. Hepatol 1990; 11: 367-373
8. Chaudry H, Zellweger R, Ayala A. The role of bacteriel translocation on kupffer cellimmune function following hemorrhage. Prog. Clin. Biol. Res. 1995; 392: 209-218
9. Tiqhe D, Moss R, Boghossion S et al. Multiorgan damage resulting from experimental faecal peritonitis. Clin Sci 1989; 76: 269-276.
10. Rotstein OD, Kao J, Houston K. Reciprocal synergy between Escherichia coli and Bacteroides Fragillis in an intra-abdominal infection model. J. Med. Microbiol, 1989; 29: 269-276.
11. Verweij-Van Vught A, Namauar F, Sparrius M et al. Pathogenic synergy between E. Coli and Bacteroides Fragillis: studies in an experimental mouse model. J. Med. Microbiol. 1985; 19: 325-331.