

IMMUNOLOGISCHE FUNKTION VON MILZAUTOTRANSPLANTATEN

W. PIMPL, J. THALHAMMER, M. PATTERMANN aus dem Ludwig Boltzmann-Institut für experimentelle und gastroenterologische Chirurgie, Salzburg-Hallein

Leiter: Prof. Dr. O. Boeckl

Die Entfernung der Milz bedeutet den Verlust von ca. $\frac{1}{3}$ der Masse des lymphoretikulären Systems.

Die Milz ist als in die Blutbahn eingeschaltetes Filtersystem zu sehen, in dem einerseits korpuskuläre Elemente, wie enkapsulierte Bakterien, aber auch pathologische Einschlüsse in Erythrozyten hängen bleiben [10]. Fehlt diese Clearanceleistung, so sind im Differentialblutbild Erythrozyten mit Kernresten, Eisengranula oder Proteinpartikeln zu sehen, die als Howell-Jolly-Körper, Siderozyten oder „pitted erythrocytes“ bekannt sind. In der weißen Pulpa finden sich in der periarteriolären lymphatischen Begleitscheide überwiegend T-Lymphozyten, um die Keimzentren in erster Linie B-Lymphozyten. Diese lymphatischen Zellen befinden sich in dauernder Rezirkulation und können in der Milz wie in den anderen lymphatischen Organen direkt mit Immunoglobulinproduktion auf ein phagozytiertes Antigen reagieren [2].

Ein Milzverlust führt zu einem Abfall der Serum IgM Konzentration [22] und des Tuftsins, einem Tetrapeptid, das bei der Opsonierung eine Rolle spielt [19]. Nur passagär zu beobachten sind eine Erhöhung der Lymphozyten und Thrombozytenzahl, im Blutausschlag [22]. Klinische Folgen nach Splenektomie sind in erster Linie ein erhöhtes Sepsisrisiko, bekannt als OPSI-Syndrom (= overwhelming post splenectomysepsis) [8, 18] sowie eine Zunahme von thromboembolischen Komplikationen, besonders im ersten pop. Jahr [14].

Diese Tatsache hat zu einer milzerhaltenden Einstellung in der Behandlung der traumatischen Milzruptur geführt. Sind organerhaltende Maßnahmen, wie Klerbung [15] oder Koagulation [16] nicht möglich, so kann als Alternative zur Splenektomie die autologe Transplantation von Milzgewebe erwogen werden.

Sowohl experimentell [13, 20] als auch klinisch [4, 17] ist die ausgezeichnete Regenerationsfähigkeit des transplantierten Milzgewebes belegt. Die Milzregenerate lassen sich szintigraphisch, sonographisch und auch mittels Computertomographie darstellen [4, 5]. Untersuchungen mittels Technetium markierten huma-

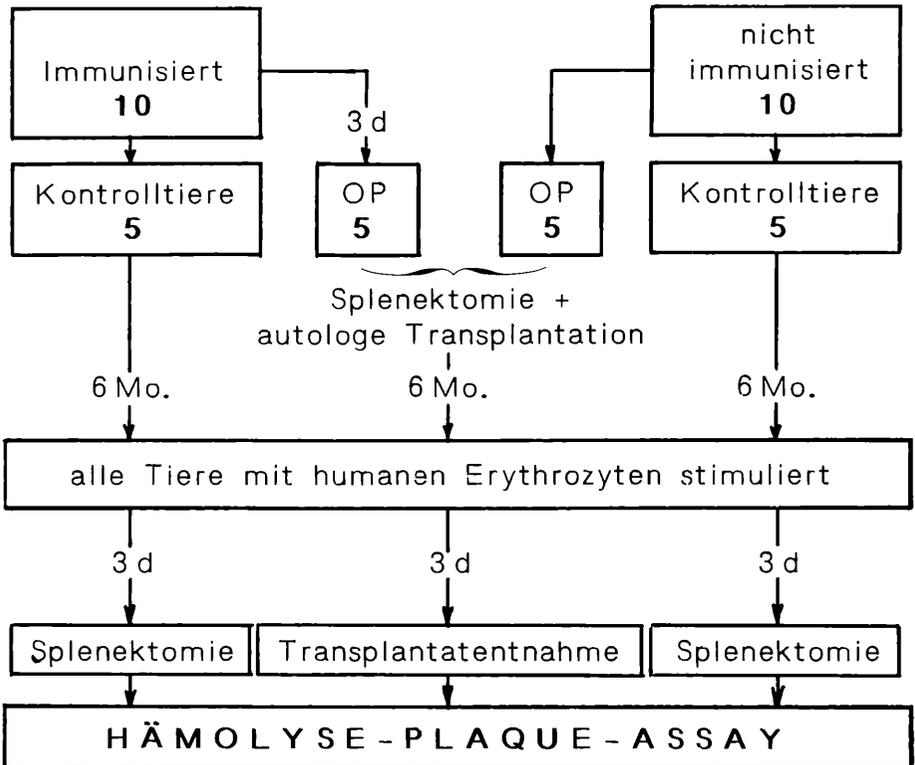
nen Albumin Mikrosphären erlauben einen Rückschluß auf die Durchblutung und Phagozytoseleistung der „Neomilzen“ [1]. Nur ungenügend bekannt ist jedoch die immunologische Leistungsfähigkeit der Milztransplantate, da ausreichend empfindliche Untersuchungsmethoden fehlen.

Es ist zwar nachgewiesen, daß durch die Autotransplantation der IgM-Abfall nach Splenektomie teilweise ausgeglichen werden kann [4, 12], aber bei der guten Kompensation der immunologischen Leistung der Milz durch das übrige lymphatische Gewebe ist dieser Parameter zu grob und variabel [9]. Ebenso enttäuscht haben Bestimmungen von Komplement und Zellen des Differentialblutbildes.

Die vorliegende experimentelle Untersuchung beschäftigt sich mit einem direkten, quantitativen immunologischen Test am Transplantat selbst. Mittels Plaquesassay-Technik, einem seit Jerne [7] geläufigen Verfahren, versuchten wir folgende Fragen zu beantworten:

Versuchsaufbau

(Kaninchen KG: $x = 1,66 \text{ kg}$, $n = 20$)



1. Wieviel aktiv IgM produzierende Zellen pro 10^4 Milzzellen finden sich in den Milztransplantaten, bezogen auf eine normale Milz?
2. Führt eine vorangegangene Immunisierung der Tiere zu einer verstärkten Immunreaktion in den Transplantaten?

Material und Methodik: (Abb. 1)

Verwendet wurden 20 Kaninchen beiderlei Geschlechts, mittleres Körpergewicht 1,66 kg, Milzgewicht $x = 1025$ mg. Alle Tiere wurden unter identen Bedingungen am Bauernhof gehalten. 10 Kaninchen wurden am Beginn mit 10^6 – 10^8 humanen Erythrozyten i. v. immunisiert, 10 blieben ohne Immunisierung.

Jeweils die Hälfte aus diesen beiden Gruppen blieben als Kontrolltiere unoperiert bis zum Versuchsende nach 6 Monaten.

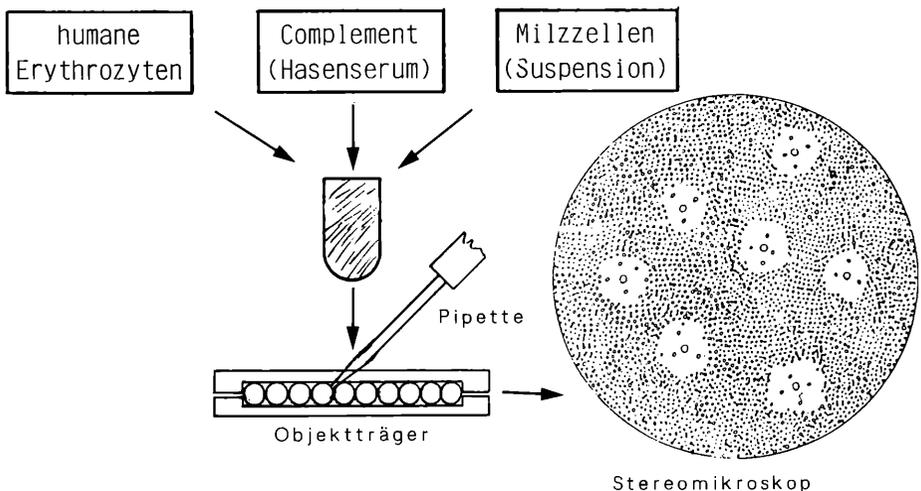
Die restlichen 10 Tiere wurden in Ketavetanästhesie laparotomiert. Anschließend an die Splenektomie erfolgte die autologe Transplantation eines Pulpahomogenates (200 ± 50 mg) in jeweils 2 präformierte Peritonealtaschen.

Nach 6 Monaten wurden die Versuche beendet und alle Tiere mit gewaschenen humanen Erythrozyten intravenös stimuliert. 3 Tage später erfolgte bei den Kontrolltieren die Splenektomie und die Entnahme der Milztransplantate bei den operierten Tieren.

Das Milzgewebe wurde gewogen und anschließend histologisch und immunologisch untersucht.

Hämolyse-plaque-assay

(nach Mitchell)



Der direkte Hämolyse plaque assay wurde folgenderweise durchgeführt: (Abb. 2) Das Milzgewebe wurde mit dem Skalpell von Bindegewebe gesäubert

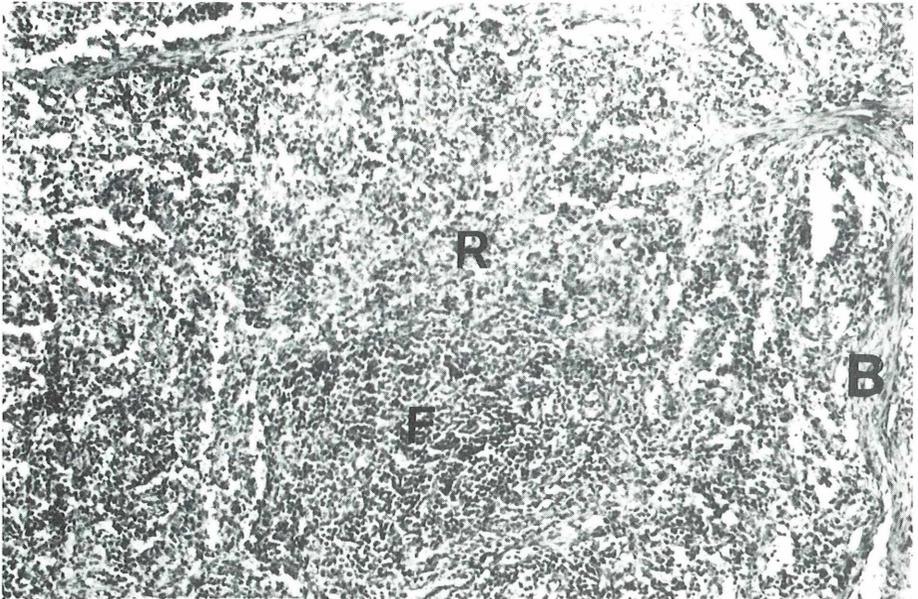
und zerkleinert, Herstellung einer Suspension aus Milzzellen, gewaschenen humanen Erythrozyten und gegen humane Erythrozyten adsorbiertes Hasenserum als Komplement in Pufferlösung (HEPES®).

Durch Verdünnung wurden optimal auszählbare Plaques (= pro Gesichtsfeld ca. 100 Zellen) hergestellt. Die Zählung der Zellen mit Hämolysehof erfolgte nach Einbringen der Suspension als „monolayer“ zwischen 2 Objektträger, die umseitig dicht mit Paraffin verschlossen wurden, unter dem Stereomikroskop.

Die Anzahl der plaque forming cells (= pfc) wurden auf 10^4 Milzzellen hochgerechnet; das Ergebnis für die gesunden Milzen und Autotransplantate mit und ohne Vorimmunisierung wurde statistisch gegenübergestellt, Signifikanz mittels Weir- und t-test überprüft.

Ergebnisse:

Bei 8 von 10 Tieren fanden wir vitale Milztransplantate mit einem mittleren Gewicht von 14,33 mg pro Transplantationsort. Der histologische Aufbau zeigte alle Strukturen einer gesunden Milz (Abb. 3).



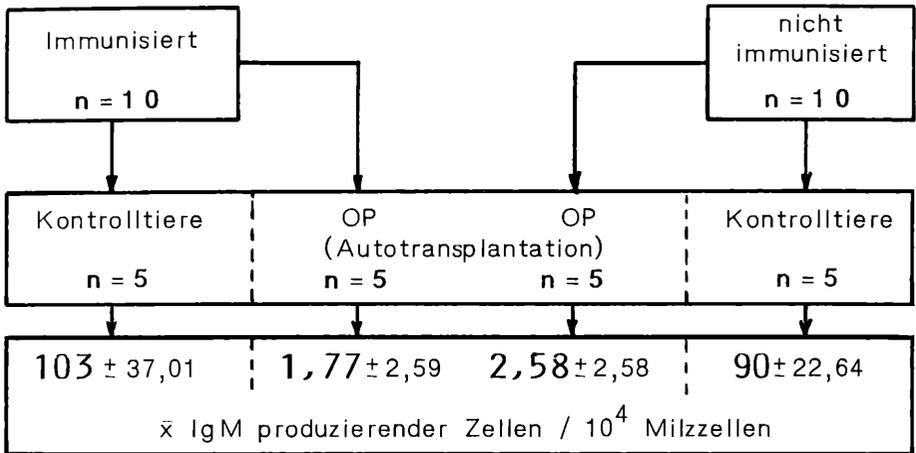
Milztransplantat 6 Monate postoperativ: Weiße Pulpa, Lymphfollikel (F), rote Pulpa (R), Kapselbindegewebe (B). Paraffinschnitt, HE-Färbung.

Die Anzahl der plaque-bildenden Zellen (pfc/ 10^4 Milzzellen) in der Kontrollgruppe ergab ohne Vorimmunisierung $90 \pm 22,64$, mit Vorimmunisierung $103 \pm 37,01$ Zellen (Abb. 4).

Drastisch vermindert waren die Plaques in den Transplantaten mit $2,58 \pm 2,58$ ohne und $1,77 \pm 2,59$ mit Vorimmunisierung (Abb. 4).

In keiner der beiden Gruppen besteht ein signifikanter Unterschied in der lokalen Immunantwort durch die Vorimmunisierung mit humanen Erythrozyten.

Ergebnisse – Hämolyse plaque assay



Diskussion:

Die autologe Transplantation von Milzgewebe ist nichts anderes als die iatrogene Optimierung einer Splenosis peritonei. Seit der Fragestellung durch Widmann et al. „Is peritoneal splenosis a disease or beneficial condition?“ [21], haben sich viele Arbeitsgruppen vor allem experimentell mit der Milzautotransplantation auseinandergesetzt.

Der anfängliche Enthusiasmus, bedingt durch die ausgezeichnete Regeneration von transplantiertem Milzgewebe, muß eine Einschränkung erfahren. So haben Durchblutungsmessungen von Pabst ergeben, daß die für eine ausreichende Milzfunktion so notwendige gute Organdurchblutung in den Milztransplantaten drastisch erniedrigt ist [11]. Auch konnte ein eindeutiger Schutz gegen Pneumokokkeninfektionen durch die Milztransplantate bisher nicht bewiesen werden [3, 16].

Unsere Ergebnisse zeigen eine Reduktion der lokalen Immunantwort in den Transplantaten, verglichen mit der gesunden Milz, von weit über 90%. Über die Ursachen dieser reduzierten Immunfunktion kann derzeit nur spekuliert werden.

Eine Interpretationsmöglichkeit ist, daß aufgrund drastisch verminderter Durchblutung der Transplantate die Rezirkulation von immunkompetenten Zellen eingeschränkt ist.

Eine Untersuchung, die die lokale Immunfunktion mit der Durchblutung der Transplantate vergleicht, ist Thema unserer derzeit laufenden Experimente.

Literatur:

1. BÖTTCHER, W., R. M. SEUFERT, U. HEUSERMANN, D. MUNZ: Die Autotransplantation der Milz im Tierexperiment: Clearancefunktion, Durchblutung und Histologie. *Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum* (1981) 211.
2. COETZEE T.: Clinical anatomy and physiology of the spleen. *South Afric. Med. J.* 61: 737 (1982)
3. DICKERMANN, J. D., S. R. HORNER, J. A. COIL, D. W. GUMP: The protective effect of intraperitoneal splenic autotransplantation in mice exposed to an aerosolized suspension of Type III streptococcus pneumoniae. *Blood* 54 (1979) 354
4. DÜRIG, M., M. HEBERER, J. WALSTRÖM, A. GRATWOHL, R. FRIDRICH, F. HARDER: Die Replantation autologen Milzgewebes in das Omentum majus: eine Alternative zur Splenektomie? *Helv. chir. Acta* 49 (1982) 795.
5. GENTRY, L. R., J. M. BROWN, R. D. LINDGREN: Splenosis: CT Demonstration of Heterotopic Autotransplantation of Splenic Tissue. *J. Computer assisted Tomography* 6 (1982) 1184.
6. HÖLLERL, G.: Versorgung der verletzten Milz mittels Fibrinklebung, Infrarot-Kontaktkoagulation und Laserkoagulation. *Acta Chir. Austr.* 2, 13 (1981), Supplement 37: 1.
7. JERNE N. K.: The immune system (Network theory) *Scientific American*. (1973) 52.
8. KING H., H. B. SHUMACKER: Splenic studies. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann. Surg.* 136 (1952) 239.
9. KÖREN A., R. H. HAASZ, A. TIATLER, E. KATZUNI: Serum Immunglobulin Levels in Children After Splenectomy. *Amer. J. Dis. Children* 138 (1984) 53.
10. PABST R.: Die Milz und ihre Funktion bei Immunreaktionen. *Med. Mo. Pharm.* 5,2 (1982) 43.
11. PABST R., D. KAMRAN: Autotransplantation of splenic tissue. *J. pediatr. Surg.* (1984) in press.
12. PIMPL, W., W. WAYAND, J. THALHAMMER: Ergebnisse der experimentellen Autotransplantation von Milzgewebe beim Hausschwein. *Acta chir. Austriaca* 1, 15 (1983) 1.
13. PIMPL, W., W. WAYAND, J. THALHAMMER, A. TROST: Experimentelle Studie zur Frage der Transplantatkonditionierung und Transplantatgröße bei heterotoper autologer Milztransplantation. *Langenbecks Arch. Chir.* 362 (1984) 5.
14. ROBINETTE, C. D., J. F. FRAUMENI: Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939-45 war. *Lancet* 2 (1977) 127.
15. SCHEELE, J.: Erste klinische Erfahrungen mit der Fibrinklebung bei traumatischer und intraoperativer Milzverletzung. *Chirurg* 52 (1981) 531.
16. SCHWARTZ, A. D., J. F. GOLGHTORN, J. A. WINKELSTEIN, A. J. SWIFT: Lack of Protective Effect of Autotransplanted Splenic Tissue to Pneumococcal Challenge. *Blood* 51, 3 (1978) 475.
17. SEUFERT, R. M., W. BÖTTCHER, D. MUNZ, U. HEUSERMANN: Erste klinische Erfahrungen mit der Autotransplantation der Milz. *Chirurg* 52 (1981) 285.
18. SINGER, D. B.: Postsplenectomy sepsis. *Perspect. Pediatr. Pathol.* 1 (1973) 285.
19. SPIRER, Z., V. ZAKÜTH, S. DIAMANT, W. MONDORF, T. STEFANESCU, Y. STABINSKY, M. FRIKIN: Decreased Tuftsin concentration in patients who have undergone splenectomy. *Br. Med. J.* 2 (1978) 1574.
20. TAVASOLLI, M., R. J. RATZAN, W. H. CROSBY: Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. *Blood* 41 (1973) 701.
21. WIDMANN, W. D., F. A. LAUBSCHER; Splenosis: A Disease or a Beneficial Condition? *Arch. Surg.* 102 (1971) 152.
22. WINKELMEYER, M., K. LITTMANN, G. TRAEHNHART, G. TICHY, E. K. KUWERT, F. W. EIGLER: Veränderungen des humoralen und zellulären Immunsystems nach Splenektomie. *Klin. Wschr.* 59 (1981) 485.

Anschrift für die Verfasser: Dr. W. PIMPL
 I. Chirurgische Abteilung
 der Landeskrankenanstalten Salzburg
 A-5020 Salzburg
 Müllner Hauptstraße 48

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg](#)

Jahr/Year: 1984

Band/Volume: [7](#)

Autor(en)/Author(s): Pimpl W., Thalhammer J., Pattermann M.

Artikel/Article: [IMMUNOLOGISCHE FUNKTION VON MILZAUTOTRANSPLANTATEN. 7-12](#)