

Sıçanlarda Fetal Kas Allogreftlerinin Geç Sonuçları*

The Fate of Fetal Muscle Allografts In Rats

Ufuk EMEKLİ*, Sinan Nur KESİM*, İsmail BÜYÜKÇAYIR*, Sibel ERDAMAR**
Tuba ERDOĞAN*, Ercan DEMİRAY*, Ayhan KONURALP*

* İstanbul Üniv. İstanbul Tıp Fak. Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı

** İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Patolojik Anatomi Anabilim Dalı

ÖZET

AMAÇ: Sıçanlarda fetal kas allogreftlerinin geç sonuçlarının araştırılması.

MATERYAL VE METOD: Sprague Dawley cinsi gebe bir sıçandan alınan yaklaşık 2 mm'lik gluteus maksimum kas greftleri kullanılmıştır. Deney gruplarından 1. ve 2.sinde kas allogreftleri yine Sprague Dawley dişi sıçanların biceps humeri kası içerisine, 3. ve 4. gruplarda ise aynı kasta oluşturulan defekte yerleştirilmişlerdir. Kontrol gruplarından 1.sinde otojen kas greftleri biceps humeri kası içine, 2.sinde ise kasta oluşturulan defekte yerleştirilmiştir. İkinci ve 4. gruptaki sıçanlara immunosupresyon amacıyla siklosporin kullanılmıştır. Denekler 90. gün sakrifiye edilerek materyaller tespit edilmiş ve histopatolojik incelemeye tabi tutularak canlılık, denervasyona bağlı dejenerasyon, atrofi, fibrozis, inflamatuvar reaksiyon ve yabancı cisim reaksiyonu kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Grupların tümünde fetal kas allogreftlerinin canlılıklarını koruduğu, tüm gruplarda denervasyona bağlı dejenerasyon geliştiği saptandı. Allogreftlerin otogreftlere göre biraz daha fazla atrofiye olduğu, ancak fibrozis bakımından fark olmadığı bulundu.

SONUÇ: Yukarıdaki kriterlerin otojen ve allojen kas greftleri gruplarında birbirine çok yakın sonuçlar verdiği saptanmış ve fetal kas allogreftlerinin ancak küçük hacimlerin doldurulması görevini yerine getirebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: Fetal Kas Allogreftleri, Immunosupresyon.

SUMMARY

OBJECTIVE: Observation of the fate of renal muscle allografts.

STUDY DESIGN: Fetal muscle allografts of 2 mm were taken from gluteus maximus muscle and in the first and second experimental groups they were inserted in biceps humeri muscles of Sprague Dawley rats. In the third and fourth groups, the muscle allografts were suture fixed in defects of biceps humeri muscles. The rats in the control groups received autogenous muscle grafts from their gluteus maximus muscle and the grafts were inserted in the biceps humeri muscles and sutured in the defects in the same muscles in two separate control groups. As an immunosuppressive agent, cyclosporin was used in second and fourth groups. The rats were sacrificed on the 90th day and the biopsy materials were fixed and examined under light microscopy.

RESULTS: In all groups, it was observed that the vitality of the fetal muscle allografts was preserved and degeneration due to denervation occurred. Atrophy of the allografts was some more than the autografts but no difference was observed between the groups in the basis of fibrosis criteria. Vitality, degeneration due to denervation, atrophy, fibrosis, inflammatory reaction, and foreign material reaction were the criteriae; very similar results were obtained from the auto and allografts.

CONCLUSION: The results according to the above criteriae were very similar between the allo and autografts and it is concluded that fetal muscle allografts may be used only for filling small volumes.

KEY WORDS: Fetal Muscle Allografts, Immunosuppression.

Yazışma Adresi:

Ufuk Emekli
Bağdat Caddesi, Gazi Muhtarpaşa Sokak No: 57/11
81040 Feneryolu, İstanbul
Tel: (0212) 635 11 84 (Has.)
(0216) 348 14 64 (Ev)

GİRİŞ

Anatomik lokalizasyondaki sinir ve damar bağlantılarından ayrıldıktan sonra orijinal yerine (ortotopik) veya başka bir anatomik lokalizasyona (heterotopik) transfer edilen kas greftleri hakkında cerrahi literatürde ilk bilgiler karamsardır (1). Ancak bu ilk kas greftleri genellikle kasın tamamının taşınmasıyla gerçekleştirilmiştir. 1960'da Rusya'da Studitsky ve Bosova serbest kas transferlerini kası 1 mm³lük parçalara bölerek yapmış ve böyle "kıyma" şeklinde transfer edi-

* XVII. Ulusal Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kongresi, Girne-K.K.T.C., (20-25 Eylül 1995)'te bildiri olarak sunulmuştur.

len greflerin yaşadığını göstermişlerdir (sıçan gastrocnemius kas transferi) (1). Bu araştırmacıların Anglo Sakson tıp literatürünün 1976 yılına kadar ilgisini çekmeyen bulguları; kas hücrelerinin yaşamasında küçük parçalara bölmenin mitotik aktiviteyi stimüle ettiği şeklindedir. Studitsky ve Bosova transfer ettikleri kas hücrelerinin nükleuslarının büyüdüğünü ve bölündüğünü, amitotik nükleus bölünmesi olduğunu sarkoplasm kitlesinin arttığını ve myofibrillerin oluştuğunu göstermişlerdir (2).

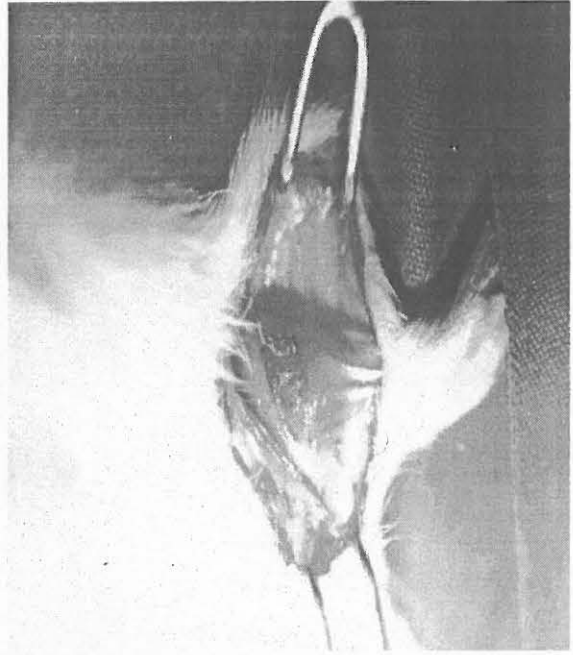
İnsanda ilk başarılı kas grefti nakli 1971 yılında Thomson tarafından daha çok paralize yüz kaslarına yönelik olarak yapılmıştır (1, 2). Bu amaçla kullanılan kaslar transferden 3 hafta önce kas hücrelerinin metabolik ihtiyaçlarını azaltmak, kas dolaşımını ve kapiller dolaşımı arttırmak ve dolayısıyla greftin yeni yerinde yaşama şansını arttırmak amacıyla denerve ediliyordu. Pretransfer döneminde denervasyonun yararlı olduğu laboratuvar araştırmaları ile kanıtlanmamıştır (1, 2, 3, 4, 5). Ancak klinikte pretransfer döneminde denervasyon yapılır. Transfer edilen kas gruplarında, kas liflerinden pek çoğunun iskemik nekroza gittiği bilinmektedir (1, 5, 6, 7). Greftin vas-küler yataktan uzaklığı ile artan bu nekroz, kas greftinin 1 mm³'lük parçalar halinde nakledilmesiyle kısmen önlenebilmektedir.

MATERYAL VE METOD

Fetal dokular en başta düşük antijenik özellikleri nedeniyle rekonstrüktif cerrahi ile uğraşan hekimlerin ilgisini çekmiştir. Allogreft olarak kullanılan fetal kas dokusunun akıbetini araştırmak amacıyla ağırlıkları 280-320 gr arasında değişen Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlarda araştırma yapıldı. Gebeliğinin onbeşinci gününde olan dişi Sprague Dawley cinsi bir sıçanın fetüslerinden elde edilen ve gluteus maximus kasından alınan yaklaşık 2 mm³'lük fetal kas greftleri kullanıldı. Deney ksilazin (10 mg/kg) ve beş dakika sonra pentobarbital (20 mg/kg) anestezisi altında yapıldı. Fetal kas greftleri birinci grupta 11, ikinci grupta 10 sıçanda biceps kası içine yerleştirildi. Dokuz sıçanın bulunduğu üçüncü ve 12 sıçanın bulunduğu dördüncü grupta ise fetal kas greftleri biceps kasında oluşturulan 2 mm'lik defekte yerleştirilerek 8/0 nylön materyal ile tespit edildi (Resim 1).

İmmunosupresif olarak ikinci ve dördüncü gruplarda 4 mg/kg/gün siklosporin 21 gün süreyle kullanıldı. Kontrol grubundaki 18 sıçanda ise gluteus maximus kasından alınan otogreftler biceps kasının içine ve bu kasta oluşturulan defekte yerleştirildi. Denekler 90. günde sakrifiye edilerek histopatolojik inceleme ya-

Resim 1: Fetal kas allogreftinin biceps humeri kasında oluşturulan defekte dikişle tesbiti

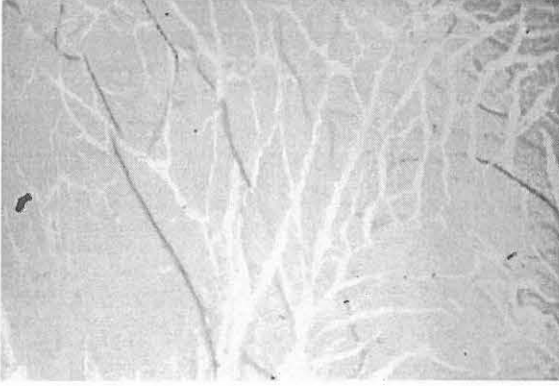


pıldı. Biopsi materyalleri hematoksilin eosin boyasıyla boyandıktan sonra 40x ile 400x büyütme arasında değişen magnifikasyon alanlarında atrofi, fibrosis, inflamatuvar reaksiyon, yabancı cisim reaksiyonu ve denervasyona bağlı dejenerasyon kriterlerine göre değerlendirildi.

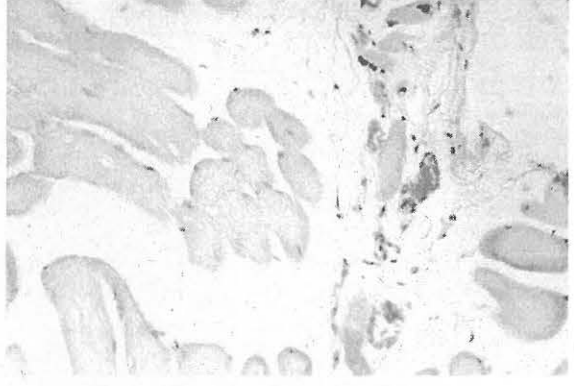
BULGULAR

Histopatolojik olarak incelemeye alınan materyaller gruplarına göre canlılık (Resim 2), atrofi (Resim 3), denervasyona bağlı dejenerasyon (Resim 4), fibrosis (Resim 5), yabancı cisim reaksiyonu (Resim 6), inflamatuvar reaksiyon (Resim 7) parametrelerine göre 3+ üzerinden değerlendirildi (Tablo 1, 2, 3). Bütün gruplarda kasların hepsi canlılıklarını koruyorlardı. İnervasyon bozukluğu nedeniyle tüm gruplarda dejenerasyon bulgularına rastlandı, ancak gruplar arasında fark gösterecek bir özellik bulunmadı. Bu dejenerasyon hücre çekirdeklerinin bir alanda zincir gibi dizilmesi şeklinde görülmektedir. Kas greftlerinin tespit edildiği sütür materyaline bağlı olarak yabancı cisim reaksiyonu tespit edildi ve bu kriterlere göre siklosporin kullanılan ve kullanılmayan gruplar arasında fark yoktu. Fetal kas grefti uygulanan deneklerde allogreftlerin otogreftlere göre biraz daha fazla atrofiye olmalarına karşın fibrosis kriterine göre kontrol grupları ile fetal kas grefti uygulanan gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

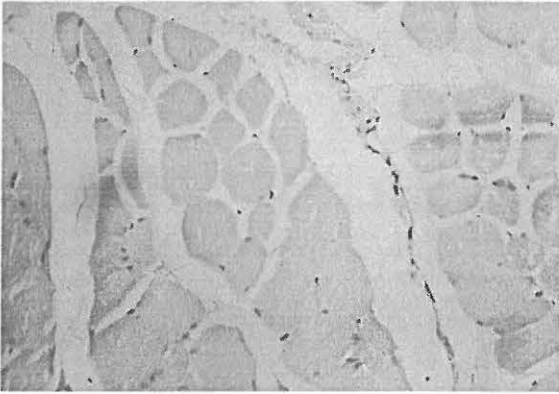
Resim 2: Siçan kasının normal yapısı
(Hematoksilen Eosin, 40x)



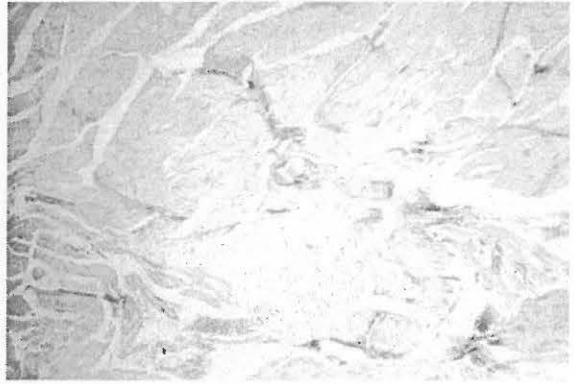
Resim 5: Atrofi sonrası fibrozis
(Hematoksilen Eosin, 200x)



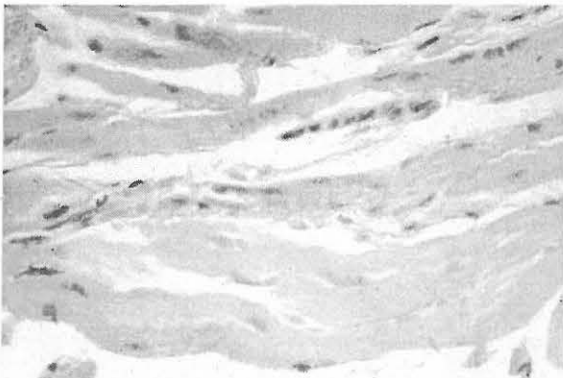
Resim 3: Fetal kas allogreftinde atrofi
(Hematoksilen Eosin, 100x)



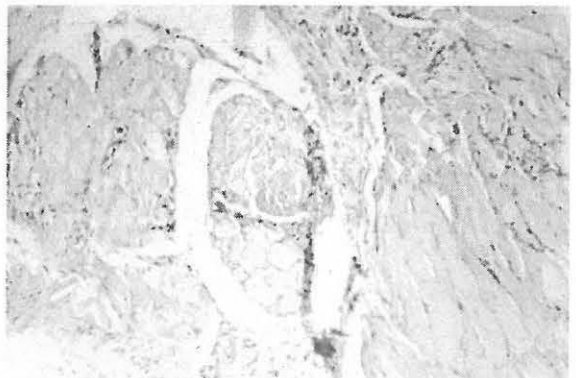
Resim 6: Yabancı cisim reaksiyonu
(Hematoksilen Eosin, 40x)



Resim 4: Fetal kas allogreftinde denervasyona
bağlı dejenerasyon
(Hematoksilen Eosin, 400x)



Resim 7: İnflamatuvar reaksiyon
(Hematoksilen Eosin, 60x)



Tablo 1

| | Denek No | Canlılık | Denervasyona bağlı dejen. | Atrofi | Fibrozis | Inflamatuvar reaksiyon | Yabancı cis. reak. |
|--------|----------|----------|---------------------------|--------|----------|------------------------|--------------------|
| Grup 1 | 1 | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 1+ |
| | 2 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ |
| | 3 | 1+ | 3+ | 1+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 4 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 1+ | — |
| | 5 | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 1+ |
| | 6 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| | 7 | 1+ | 3+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| | 8 | 2+ | 3+ | 1+ | 2+ | 2+ | — |
| | 9 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 10 | 1+ | 3+ | 2+ | 1+ | 1+ | — |
| | 11 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ |
| Grup 2 | 1 | 2+ | 3+ | 1+ | 2+ | 1+ | — |
| | 2 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 3 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | — |
| | 4 | 1+ | 2+ | 1+ | 1+ | 2+ | — |
| | 5 | 2+ | 1+ | 1+ | 2+ | 1+ | — |
| | 6 | 1+ | 3+ | 2+ | 1+ | 1+ | 1+ |
| | 7 | 2+ | 3+ | 1+ | 2+ | 1+ | — |
| | 8 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ |
| | 9 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 1+ | — |
| | 10 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | — |

Grup 1 ve 2'de fetal kas allogreftleri biceps humeri kası içerisine yerleştirilmiş, Grup 2'de immunosupresyon amacıyla siklosporin kullanılmıştır.

Tablo 2

| | Denek No | Canlılık | Denervasyona bağlı dejen. | Atrofi | Fibrozis | Inflamatuvar reaksiyon | Yabancı cis. reak. |
|--------|----------|----------|---------------------------|--------|----------|------------------------|--------------------|
| Grup 3 | 1 | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 2+ | 2+ |
| | 2 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 3 | 2+ | 3+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| | 4 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 1+ | 3+ |
| | 5 | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 2+ |
| | 6 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 7 | 2+ | 3+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| | 8 | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 2+ |
| | 9 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 3+ |
| Grup 4 | 1 | 1+ | 3+ | 3+ | 3+ | 2+ | 2+ |
| | 2 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ |
| | 3 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 3+ |
| | 4 | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 2+ | 2+ |
| | 5 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| | 6 | 1+ | 3+ | 1+ | 1+ | 2+ | 2+ |
| | 7 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| | 8 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 2+ | 3+ |
| | 9 | 2+ | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ |
| | 10 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| | 11 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| | 12 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ |

Tablo 3

| | Denek No | Canlılık | Denervasyona bağlı dejen. | Atrofi | Fibrozis | Inflamatuvar reaksiyon | Yabancı cis. reak. |
|--------|----------|----------|---------------------------|--------|----------|------------------------|--------------------|
| Grup 5 | 1 | 2+ | 3+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 2 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| | 3 | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | — |
| | 4 | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | — |
| | 5 | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 1+ | 1+ |
| | 6 | 2+ | 3+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| | 7 | 1+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | — |
| | 8 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ |
| | 9 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| Grup 6 | 1 | 1+ | 3+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| | 2 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |
| | 3 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 4 | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | — |
| | 5 | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | 2+ | — |
| | 6 | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 2+ | 1+ |
| | 7 | 1+ | 3+ | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ |
| | 8 | 2+ | 2+ | 2+ | 1+ | 2+ | — |
| | 9 | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ | — |

Grup 5'te otojen kas greftleri biceps humeri kası içine, Grup 6'da kasta oluşturulan defekte yerleştirilmişlerdir.

TARTIŞMA

Değişik hayvan türlerinde çalışılan kas greftlerinin histolojik bulguları aynıdır. Kas greftlerinin naklinden birkaç saat sonra, greftin dış kenarlarındaki kısım hariç olmak üzere iskemik nekroz gelişir. Nekroz gelişmeyen kısımlar, alıcı yataktan diffüzyon ile beslenirler. İki gün içinde greft içine damarsal oluşumlar girer ve bu yolla gelen lökosit ve makrofajlar, bazal laminayı intakt bırakacak şekilde nekroze sarkoplazmı temizlerler. İlk kas rejenerasyonu ise birkaç gün sonra bazal laminadan başlar. Böylelikle oluşan myoflamanlar birleşerek multinükleer myotübülleri ve giderek fassikuler kas paternini oluştururlar (1, 2, 3, 5, 6, 7). Kas rejenerasyonu hakkında literatürde görüşbirliği olan bir nokta da küçük greftlerin daha çabuk rejenere olduğu şeklindedir (1, 2, 4, 6, 7). Ancak rejenerasyon siklusunun tamamlanması değişik türlerde farklı zamanlarda olmaktadır; bu siklus sıçanlarda 60 günde tamamlanmaktadır (1).

Literatürde, otojen kas greftlerinin nakline ilişkin değişik türde deneysel çalışmalar olmasına karşın, allojen fetal kas greftlerinin nakline ilişkin neticelere rastlanmamıştır. Çalışmamızda, nakledilen fetal kas allogreftlerinin boyutlarının 2 mm civarında olması,

greftlerin alıcı yatakla göreceli olarak daha fazla kısmının temas etmesini ve greftin daha çabuk damarlanmasını amaçlıyordu. Deney ve kontrol gruplarının tümünde greftlerin canlılık değerlendirmelerinin birbirine yakın olması, kas greftlerinin viabilitesinde, en önemli faktörün kas greftlerinin boyutu olduğu şeklindeki literatür bulgusunu desteklediği şeklindedir.

Denerve kasların dejenere olacağı üzerinde görüş birliği vardır (1, 2, 3, 4, 6). İncelediğimiz bu kritere göre de tüm gruplarda, bu arada otojen kas grefti kullanılan kontrol gruplarında da, hemen hemen aynı ağırlıkta denervasyona bağlı dejenerasyon saptanmış, immunosupresyonun bu histopatolojik değişikliği etkilemediği gözlenmiştir.

Atrofi ve bunu izleyen fibrosis, kas greftlerinin uğradığı kaçınılmaz bir sonudur (1, 2, 7). Greftin hacmi arttıkça ortasındaki kan dolaşımından uzak bölge de artmakta ve zamanla bu bölgede atrofi ve fibrosis gelişmektedir (1). Çalışmamızda immunosupresyonun fetal kas allogreftlerinde atrofi ve fibrosis üzerine önemli bir etkisi olmadığı ancak kontrol gruplarındaki otojen kas greftlerinin allogreftlere göre daha az atrofiye uğradığı ve dolayısıyla bu greftlerde fibrozisin de daha az olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Üzerinde çalıştığımız deneklerin tümünde inflamatuvar reaksiyon ve sütür materyali kullanılan 3. 4. ve 6. gruplarda yabancı cisim reaksiyonu izlenmiştir.

Fetal kas allogreftlerinin biceps humeri kası içine ve bu kasta oluşturulan defekte tespit edilmesi, dikiş materyalinden kaynaklanan yabancı cisim reaksiyonu dışında incelenen kriterler bakımından fark yaratmamıştır.

SONUÇ

Denervasyona bağlı dejenerasyon tüm gruplarda eşit olduğundan otogreftlerde de allogreftlerde de nakledilen kas dokusunun yakın vadede kontraktıl özellik kazanacağını beklemek bulgularımıza göre anlamsızdır. Ancak fetal kas allogreftleri diğer fetal allogreftler gibi düşük antijenik özellikleri nedeniyle iltihabi reaksiyona sitostatik verilse de verilmese de ancak otogreftler kadar yol açmaktadırlar. Fetal kas allogreftleri çalışmamızdan elde ettiğimiz neticeler ışığında ancak küçük hacimlerin doldurulması görevleri yerine getirebilirler.

KAYNAKLAR

- 1 Miller, TA: Repair and grafting of skeletal muscle in Plastic Surgery. (Ed) Mc Cathy, J. G. W. B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo pp. 546, 1990.
- 2 Carlson, B.M.: A quantitative study of muscle fiber survival and regeneration in normal, prede-nervated, and marcaine treated free muscle graft in the rats. Exp. Neurol., 52: 421, 1976.
- 3 Cedars, M.G., Das, S. K., Roth, J.C., Miller, T.A.: The microscopic morphology of orthtopic free muscle grafts in rabbits. Plast. Reconstr. Surg. 72: 179, 1983.
- 4 Lavine, D., Cochian, T.: The failure of survive of autogenous free grafts of whole gracillis muscles in dogs. Plast. Reconstr. Surg. 58: 221, 1976.
- 5 Garrt, W. E., Jr., Seaber, AV., Bostwick, J., Ubarniak, J. R., Goldner, J. L.: Recovery of skeletal muscle after laceration and repair. J. Hand Surg., 9: 683, 1984.
- 6 Das, S. K., Cragun, J. R., Idler, R., Miller, T. A.: Autogenous free muscle grafts and regeneration in rabbits. A preliminary study. Plast. Reconstr. Surg. 69: 500, 1982.
- 7 Hansen-Smith, F. M., Carlson, B. M.: Cellular response to free grafting of the extensor digitorum longus muscle of the rat. J. Neurol. Sci. 41: 149, 1979.