Eş Zamanlı Kalp ve Cilt Allografti Transplantasyonunun Kalp Allograft Dayanıklılığı Üzerine Olumlu Etkisi Deneysel Çalışma

Harun ARBATLI*, Ergun DEMİRSOY*, Bahadır DAĞLAR*, Gökhan İPEK*, Uğur ÖZKUTLU, Arif GÜMÜŞ***, Dilek ÖZBEYLİ***, Ömer IŞIK*, Cevat YAKUT***

**Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi Kardiyovasküler Cerrahi Kliniği, **Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalı, ***Marmara Üniversitesi Deneysel Çalışma ve Hayvan Laboratuarı, İstanbul*

Bu çalışmada sıçanlarda eş zamanlı olarak uygulanan kalp ve cilt allografti transplantasyonun kalp allograft sürvisine etkileri araştırıldı. Kalp allografti ve cilt allografti uygulanan grup (grup I), kalp allografti ve cilt allografti uygulanan grup (grup II) ile karşılaştırıldı. Kalp allograft sürvisinin grup I lehine arttığı gözlendi (p=0.0004). Kalp ve cilt alografti metil prednizolon ile kombine edildiğinde (grup III) kalp allografti, cilt otografti ve metil prednizolon kullanılan grup (grup IV) ile kalp allograft sürvisi bakımından farklılık görülmedi (p=0.1405) Kalp ve cilt allografti Cyclosporin-A (Cy-A) ile kombine edildiğinde ise (grup V), kalp allografti, cilt otografti ve Cy-A kullanılan gruba göre (grup VI) kalp allograft sürvisi anlamlı derecede artış gösterdi (p<0.0001). Sonuç olarak eş zamanlı kalp ve cilt allograft transplantasyonunun kalp allograft sürvisini olumlu yönde etkilediği gözlendi.

GKD Cer Derg 1997;5:33-37

Synchronized Cardiac and Skin Transplantation Improved the Cardiac Allograft Survival

The effects of synchronized cardiac and skin allograft transplantation on cardiac allograft survival was investigated in this study. Skin allograft transplant group (group I) was compared with cardiac allograft transplanted and skin autograft reimplan-ted goup (group II). Cardiac allograft survival was significantly increased in group I (p=0.0004). When methyl prednisolene combined with cardiac allograft and skin allograft trasplantation (group III) no stastical difference was observed as compared with cardiac allograft transplanted, skin autograft reimplanted and methyl prednisolone treated group (group IV) (p=0.1405) When Cyclosporin-A (Cy-A) combined with cardiac allograft and skin allograft transplantation (group V), cardiac allograft survival was significantly increased as compared with cardiac allograft transplanted, skin autograft reimplanted and Cy-A treated group (group VI) (p<0.0001). In conclusion,synchronized cardiac and skin allograft transplantation has significantly improved cardiac allograft survival.

Organ transplantasyonunda aşılması gereken en önemli sorunlardan birisi allograft rejeksiyonudur. Allograft rejeksiyonunda üç faz olduğu varsayılmaktadır.

Birinci faz, greftin implantasyonundan sonra, greftteki histokompatibilite antijenlerinin salınımı ve dolaşımdaki matür lenfositler tarafından farkedilmesi dönemidir ve afferent faz olarak da adlandırılır. İkinci faz, hücresel etkileşim sonucu hücre proliferasyonu ve farklılaşması ile lenfokinler ve diğer mediatörlerin oluşturulması aşamasıdır, santral faz olarak da adlandırılır. Üçüncü faz ise T lenfositler, K lenfositler, aktive olmuş makrofajlar lenfokinler ve kompleman sisteminin birlikte greft destrüksiyonu oluşturduğu dönemdir ve efektör faz da denir [(1)]. Cilt allograftinin sensitize olmamış bir primatta rejekte olması yaklaşık 15 gün kadar sürmektedir [(2-4)]. Kalp allograftinin rejeksiyonu ise MHC antijenlerine bağlı olarak 3-8 gün sürmektedir[(5,6)].

Bu çalışmada kalp allografti ile cilt allograftinin senkron olarak transplante edilmesi ile, aktive olan T lenfosit ve makrofajların efektör fazda

antijenitesi yüksek cilt grefti tarafından uyarılarak bu bölgede sekestre olmaları ve kalpteki rejeksiyon proçesinin hafifletilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Hayvan Laboratuarında yapıldı. Çalışmada alıcı olarak 220-300 g ağırlığında Sprague Dawley (SD) türü erkek sıçanlar, donör olarak ise 140-170 g ağırlığında Wistar Albino (WA) türü erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışmada Helsinki Deklarasyonu'nun laboratuar hayvanları ile ilgili maddelerine uyuldu. Çalışmanın homojen gruplarda yapılabilmesi için genetik olarak birbirinden farklı iki ayrı tür sıçan seçildi. Altı ayrı grupta servikal bölgeye heteroptopik kalp transplantasyonu uygulandı.

Grup I (kalp allografti+cilt allografti): Bu grupta 8 adet SD türü sıçana WA türü sıçandan alınan kalp allografti ve aynı seansta aynı donörden alınan cilt grefti transplante edildi.

Grup II (Kalp allografti + cilt otografti): Bu grupta 8 adet SD türü sıçana WA türü sıçandan alınan kalp allografti transplante edildi. Alıcının kendi cilt grefti reimplante edildi.

Grup III (kalp allografti+cilt otografti+metil prednizolon): Bu grupta 4 adet SD türü sıçana WA türü sıçandan alınan allografti ve aynı seansta aynı donörden alınan cilt grefti transplante edildi. Metil prednizolon başlangıç dozu 10 mg/kg/gün, idame dozu 5 mg /kg gün iki eşit dozda intraperitoneal yolla verildi.

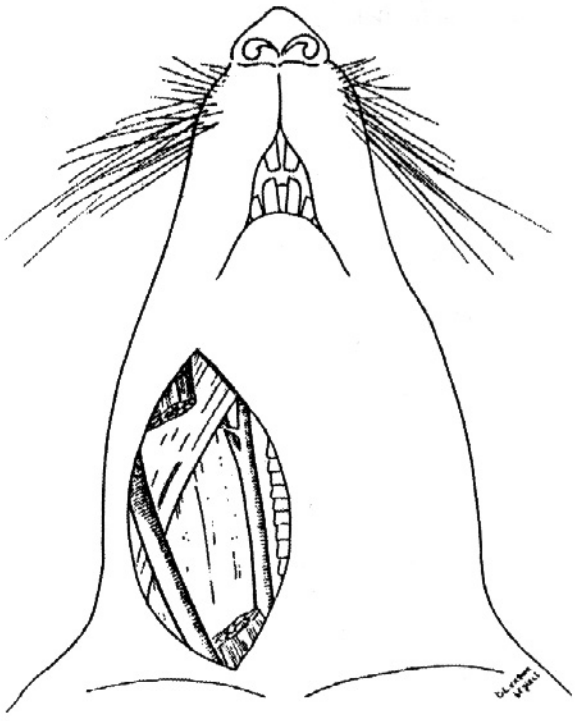
Grup IV (kalp allografti+cilt otografti+metil prednizolon): Bu grupta 3 adet SD türü sıçana WA türü sıçandan alınan kalp allografti transplante edildi. Alıcının kendi cilt grefti reimplante edildi. Metil prednizolon başlangıç dozu 10 mg/kg/gün, idame dozu 5 mg/kg/gün olarak iki eşit dozda intraperitoneal yolla verildi.

Grup V (kalp allografti+cilt allografti+Cy-A): Bu grupta 8 adet SD türü sıçana WA türü sıçandan alınan kalp allografti ve aynı seansta aynı donörden alınan cilt grefti transplante edildi. Cy-A, başlangıç dozu 20 mg/kg/gün, idame dozu 5 mg/kg/gün iki eşit dozda intramusküler verildi.

Grup VI (kalp allografti+cilt otografti+Cy-A): Bu grupta 8 adet SD türü sıçana WA türü sıçandan alınan kalp alllogreti tarsplante edildi. Alıcının kendi cilt grefti reimplante edildi. Cy-A, başlangıç dozu 20 mg/kg/gün, idaem dozu 5 mg/kg/gün iki eşit dozda intramusküler olarak verildi.

Cerrahi teknik

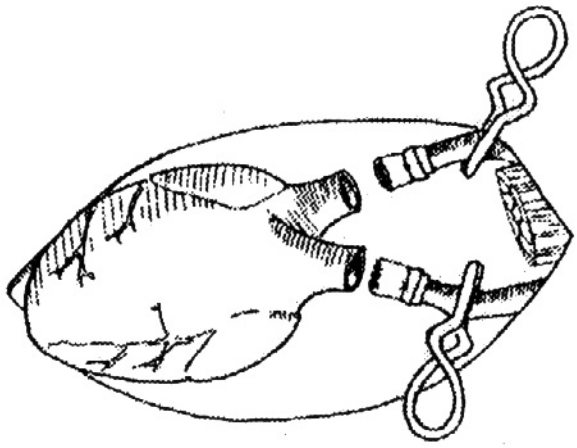
Deneklerde, 20-30 mg/kg ketamin HCI, 0.02 mg/kg fentanil ve 0.8 mg/kg dehidrobenzperidol kombinasyonu intraperitoneal yoldan verilerek anesezi sağlandı. Kardiyak transplantasyon işleminde, Heron tarafından tanımlanan tekniğin bir modifikasyonu kullanıldı[5]. Denek supin pozisyonunda yatırıldı. Sağ angulus mandibula-dan skapulaya kadar vertikal insizyon yapıldı. Sıçanlarda diğer memelilere göre daha fazla gelişmiş olan jugularis eksterna veninin 10-12 mm'lik dalsız segmenti serbestleştirildi (Şekil 1).



Şekil 1. Juguler ven ve karotis arterinin preparasyonu.

Tanımlanan kalp transplantasyonu tekniğine uygun olarak, ven proksimalden klampe edildi. Distali bağlanarak kesildi. Serbest kalan venin distal ucuna konan üç adet 7/0 propilen sütur yardımıyla lümen görünür hale getirildi. Venin serbest ucu 16G IV kanülden hazırlanan 3mm'lik stentin içinden geçirildi. Ven cidarı süturler yardımıyla plastik stentin dış yüzüne everte edildi. Ven cidarı 6/0 propilen ile stent üzerinden bağlanarak tespit edildi. Daha derin tabakada yer alan karotis arterlerine ulaşmak için sternokleidomastoid adele rezeke edildi. Trakea lateralinde yer alan karotis arteri, yandaş seyreden vagus nervine zarar vermemeye özen göstererek serbestleştirildi. Arter proksimaline klemp kondu, distali bağlanarak kesildi. Juguler vene yapılan işlem, arterde 20 G IV kanülden hazırlanan stent kullanılarak yinelendi. Arter ve ven lümenleri heparinli solüsyon ile yıkandı. Donör sıçana anestezi verildikten sonra laparotomi yapıldı. Sol renal venden 300 IU/kg heparin yapıldı. Diafragma ve toraks duvarları lateralden kesilerek toraks ön duvarı kaldırıldı. Vena kava inferior ve vena kava superior bağlanarak kesildi. Aorta içine + 4 derecede soğuk kristalloid kardiyopleji (St. Thomas II) solüsyonu verilerek diyastolik arrest sağlandı. Pulmoner arter bifürkasyon seviyesinden kesildi. Sol atriyum arka duvarında kalan pulmoner venler ve sıçanlarda normal anatomik yapı olan sol superior vena kava, kalbin arakasında total olarak bağlandı. Pulmoner venler ve sol superior vena kava, ligatürün distalinden kesilerek kalp çıkarıldı. Lokal soğutma amacıyla 4-5 dakika kadar soğuk kardiyoplejik solüsyon içinde bekletildi.

Pulmoner arter ve aorta arası diseke edildi. Kalp, alıcının servikal bölgesine getirilerek donör pulmoner arteri alıcının stent yerleştirilmiş juguler veni üzerinde 6/0 propilen ile bağlandı (Şekil 2). Donör kalbin aortası alıcının karotis arteri üzerinde aynı işlemle bağlandı. Önce juguler ven, daha sonra karotis üzerindeki klempler kaldırıldı. Koroner kan akımına bağlı olarak miyokardın kırmızılaşması, sağ atriyum ve sağ ventrikülün dolması ve en çok bir iki dakika



Şekil 2. Donör kalbin servikal bölgeye implantasyonu.

içinde kontraksiyonların başlaması başarılı bir işlemin belirtileri olarak kabul edildi. Miyokard kontraksiyonları olmayan ya da ilk gün içerisinde kontraksiyonları duran allogreftlerde teknik hata bulunduğu düşünülerek denek çalışma dışı bırakıldı. Palpasyonla kalp kontraksiyonları izledi ve kontraksiyonların durduğu gün greft sürvisi olarak kabul edildi.

Histopatolojik inceleme

Kontraksiyonları durduktan sonra çıkarılan kalp ve aynı anda çıkarılan cilt allogreft kesitleri Hematoksilen-Eosin ile boyandı ve x 400 büyütmede ışık mikroskobu ile incelendi. Ayrıca cilt ve kalp kesitlerinde immünhistokimyasal boyama ile IgM ve IgG presipitasyonu araştırıldı.

İstatistiksel değerlendirme

Gruplar arasındaki değişkenlikler Student-t testi ile değerlendirildi, p değerinin 0.01'den küçük olduğu durumlar anlamlı olarak kabul edildi.

Sonuçlar

Herhangi bir immünsupresif verilmeyen I. ve II. Gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında kalp allogreft sürvisinin I. grupta anlamlı derecede artmış olduğu saptadı (grup I: 112.5±5.53, grup II: 82.53.54; p=0.0004). Metil prednizolon verilen III. grupta kalp allogreft sürvisi yine metil prednizolon verilen IV. gruba göre istatistiksel olarak önemli bir fark göstermedi (grup III: 108±10.95 saat, grup IV: 87.5±5.75

Tablo 1. Gruplara göre kalp allogreft sürvileri

	No	Ortalama sürvi (saat)	p değeri
Grup I	8	112.5±5.53	0.0004
Grup II	8	82.5±3.54	
Grup III	4	108±10.95	0.1405
Grup IV	4	87.5±5.75	
Grup V	8	223.5±10.38	<0.0001
Grup VI	8	153±5.44	

saat; p=0.1405). Cy-A verilen V. Ve VI. gruplar arasında ise kalp allogreft sürvisini V. Grup lehine anlamlı derecede arttığı gözlendi (grup V: 223.5±10.38 saat, grup VI: 153±5.44 saat; p=0.0001) (Tablo 1).

Kalp allogrefti ve cilt allogrefti ile birlikte metil prednizolon kullanılması (grup III), yalnızca kalp allogrefti ve cilt allogrefti uygulamasına göre (grup I) sürvide anlamlı bir artışa sebep olmadı 5p=0.6876). Kalp ve cilt allogreft transplantasyonu Cy-A ile kombine edildiğinde (grup V), Cy-A ile kombine edilmeyen gruba göre (grup I) kalp allogreft sürvisinin beklenenden daha fazla arttığı görüldü (p<0.0001).

Tartışma

Bu çalışmada transplantasyon sonrası humoral ve hücresel immün sistem yanıtının bir bölümünün cilt allogreftine yönlendirilerek kalp allogreft sürvisinin arttırılması amaçlandı.

Klinik deneyimler, kalp akciğer transplantasyonu sonrası ortaya çıkan kardiyak rejeksiyon epizodlarının sayısının sadece kalp transplantasyonu uygulanan hastalardaki rejeksiyon epizodlarına göre belirgin ölçüde daha düşük olduğunu göstermiştir[7]. Baldwin ve ark. Kalp-akciğer transplantasyonu ve sadece kalp transplantasyonu uygulanan hastalarda yaptıkları retrospektif çalışmada ilk ay içindeki rejeksiyon epizoduna kadar geçen süre ve sonrasında ortaya çıkan rejeksiyon insidansında belirgin farklılık olduğunu görmüşlerdir[8].

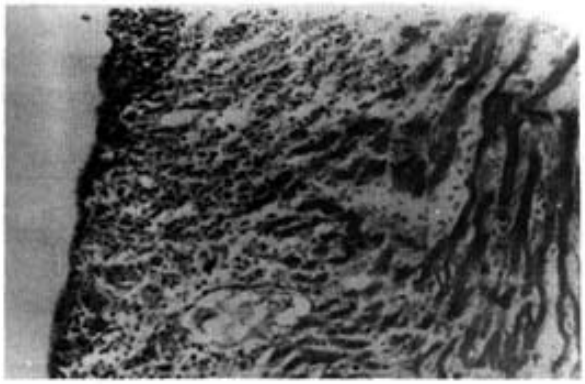
Ayrıca ilk iki ay içinde yapılan endomiyokardiyal biyopsi incelemelerinde hemen hemen hiç kardiyak rejeksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir[9]. Çeşitli hayvan deneyleri sonucunda akciğerlerdeki bronşial lenfoid dokunun (Bronchus Associated Lymphoid Tissue, BALT) rejeksiyon proçesindeki hedef hücreler olduğu düşünülmektedir. Bu hedef hücreler belki de kalp-akciğer transplantasyonunda immün cevabı kendilerine yönlendirerek kardiyak rejeksiyonunun gecikmesine sebep olmaktadır.

Cilt dokusu, derma tabakasında çok sayıda histiosit, mast hücresi, kısmen de monosit ve lenfositleri içerir. Cilt allogreft transplantasyonu sonrası bu hücreler MHC (Major Histocompability Complex) antijenlerini açığa çıkarırlar. Bu nedenle cilt allogrefti şidetli bir rejeksiyon cevabı oluşturmaktadır.

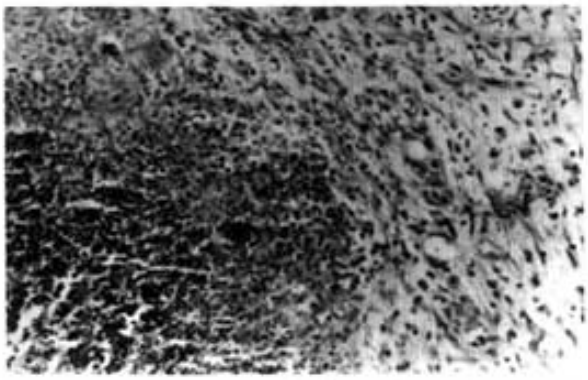
Çalışmamızda, eş zamanlı olarak kalp ve cilt allogrefti transplante edildiğinde, cilt allogrefti transplante edildiğinde, cilt otogrefti uygulanarak kalp transplantasoyunu yapılan gruba göre kalp allogreft sürvisi daha uzun bulundu. Bu iki grup metil prednizolon ile immünosupresyon uygulanarak birbiriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi. Cy-A verilen V. ve VI. gruplarda ise kalp ve cilt allogrefti uygulanan V. grup lehine kalp allogreft sürvisinde anlamlı bir artış gözlendi. Bu farkın beklenenden daha fazla olması, bir yandan güçlü bir immünsupresif olan Cy-A'nın interlökin-1 ve interlökin-2 salınımını inhibe ederken, bir yandan da cilt allogreftinin kendisini hedef göstererek immün sistemi bir ölçüde yanılttığını ve kalbin rejeksiyonunu geciktirdiğini düşündürmektedir.

Kalp ile birlikte çıkarılan cilt allogreftinde de bol miktarda lenfosit infiltrasyonu bulunması bu düşünceyi desteklemektedir (Resim 1 ve 2).

Ayrıca kalp gibi direkt vaskülarize bir organ olmayan cilt allogreftinin immünojenik özelliklerinin ortaya çıkması için kalp allogreftine göre daha uzun bir zaman geciktirmesi ve Cy-A ile immünsupresyonunun bu zamanı kazandırmış olabileceği söylenebilir.



Resim 1. Ödemli miyokard dokusu içinde lenfosit, plazma hücresi, nötrofil polimorf infiltrasyonu ve hücre artıkları.



Resim 2. Cilt altında yoğun lenfosit, plazma hücresi, nötrofil polimorf infiltrasyonu içeren bağ dokusu.

Sonuç olarak, eş zamanlı kalp ve cilt allogreft transplantasyonunun, kalp allogreft sürvisini anlamlı derecede arttırdığı gözlendi. Kalp ve cilt allogreftine ek olarak Cy-A ile immünsupresyon uygulandığında kalp allogreft sürvisindeki artış beklenenden daha fazla oldu. Kalp transplantasyonunda akut rejeksiyon epizodlarının azaltılması amacıyla immünojenik özellikleri olan doku ya da hücrelerin birlikte transplantasyonunun yarar sağlayabileceği izlenimi edinildi. Bu tür bir yaklaşımın daha geniş bir biçimde araştırılması ve uzun süreli etkilerinin incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Shumway SJ: Basic immunologic concepts in organ transplantation. Heart and heart-lung transplantation. WB Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich Inc 1990; Ch 2, p.15.
2. Dicknеite G, Walter P, Scholemmer HU, Sedlacek HH: Immunosuppressive properties of 15-Deoxyspergualin and its effects on experimental skin and islet cell transplantation. Recent Advances in Chemotherapy. Ishigami J (ed). University of Tokyo 1985; 949-50.
3. Dicknеite G, Scholemmer HU, Weinmann E, Barlett RR, Sedlacek HH: Skin transplantation in rats and monkeys: Evaluation of efficient treatment with 15-Deoxyspergualin. Transplant Proc 1987; 19:4244-7.
4. Dicknеite G, Scholemmer HU, Racenberg J, Sedlacek HH: Administration schedule of 15-Deoxyspergualin and combination therapy with cyclosporin-A in rat tail skin transplantation. Transplant Proc 1989; 21:1097-8.
5. Heron I: A technique for accessory cervical heart transplantation in rabbits and rats. Acta Pathol Microbiol Scand 1971; 79:366-8.
6. Todo S, Kahn D, Pan CE, et al: Effects of 15-Deoxyspergualin on experimental organ transplantation. Transplant Proc 1988; 20(Suppl 1): 223-5.
7. Reitz BA: Heart and lung transplantation: Heart and heart-lung transplantation. WB Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich Inc 1990; Ch 29, p.319.
8. Baldwin JC, Oyer PE, Stinson EB, et all: Comparison of cardiac rejection in heart and heart-lung transplantation. J Heart Transplant 1987; 6:352-6.
9. Glanville AR, Imoto E, Baldwin JC, et al: The role o righ ventricular endomyocardial biopsy in the long term management of heart-lung transplant recipients. J Heart Transplant 1987; 6:357-61.

Yazışma adresi: Op. Dr. Harun Arbath, Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi, 81300 Kadıköy-İstanbul