

31525

T.C.

Uludağ Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Çocuk Cerrahisi A.B.D.

SIÇANLARDA FÖTAL ADRENAL GLAND
TRANSPLANTASYONU VE SONUÇLARI

Dr.A. Murat ŞANAL

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Uzmanlık Tezi
Bursa - 1993

ÖNSÖZ

Çocuk Cerrahisi ihtisasım süresince bana emeği geçen tüm hocalarıma saygı ve teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Giriş	1 - 5
Gereç Yöntem	6 -13
Bulgular	14-22
Tartışma	23-28
Sonuç	29
Özet	30-31
Kaynaklar	32-37

GİRİŞ

Organ ya da doku nakli anlamını taşıyan transplantasyon fonksiyon dışı kalan bir organın yerine efektif haldeki bir başka organın kullanılması ilkesine dayanır.

Bugün bir çok hastalığın tedavisinde, geleneksel yöntemlerin çaresiz kaldığı durumlarda başvurulan seçkin bir sağaltım şekli haline gelen transplantasyona dair ilk yazmalara M.Ö. 300 yıllarında rastlanır(1).

Modern anlamda ilk transplantasyon çalışmaları ise 1900-1930 yılları arasında yapılmıştır. Carrel ve Emerick Ullmann, kedilerde vena cava ve aortayı da içine alacak şekilde "en bloc" bir teknik uygulayarak böbrek transplantasyonunu gerçekleştirmişlerdir(1).

Transplantasyonun güncelleşmesi ile immünoloji büyük önem kazanmıştır.

Dokuların hücre yüzeylerinde yerleşik bulunan antijenik karakterdeki moleküller T-lenfositler tarafından tanınır. Doku antijen sistemi olarak da adlandırılan bu sistem (HLA Human Leucocyte Antigen) vasıtasıyla dışarıdan giren farklı yapıdaki moleküller tahrip edilir (2-4).

Bu sistemin etkinliğini kırmak amacıyla tüm lenfoid dokunun baskılanması işlemine immüsupresyon adı verilmiştir.

Merill ve arkadaşları tarafından 1956' da gerçekleştirilen

ilk başarılı böbrek transplantasyonunu takiben immünolog ve cerrahların birlikte yaptıkları çalışmalar daha da yoğunluk kazanmış ve 1960 yılında transplantasyon sonrası prednisolon-azothiopurine kombinasyonu ile yapılan immüno-supresyon sayesinde yüz güldürücü sonuçlar alınmaya başlanmıştır(2).

Immünolojik çalışmalarını Barel ve arkadaşlarının yaptığı Cyclosporine-A (CyA), 1978 yılında Calme tarafından ilk kez klinikte kullanılmış ve yeni bir çığır açmıştır(1,5). Cyclosporine-A sonrası kalp ve karaciğer transplantasyonları da başarılı bir şekilde yapılmaya başlanmıştır(1,5).

Bu arada kanser araştırmalarında yapılan doku kültürü çalışmaları, fötal dokuların immün açıdan transplantasyon için daha uygun olduklarını ortaya çıkarmış ve bunun sonucu fötal dokuların transplantasyonu üzerine yoğun çalışmalar başlatılmıştır (5-7).

Bu çalışmaların öncüleri olan Zinzar ve Deutsch, fötal greftlerin alıcıda gösterdikleri yapısal değişiklikler, bunların beslenmeleri ve kanlanmaları gibi bir çok konuya araştırmalarıyla açıklık kazandırmıştır (6,7).

Alıcıya yerleştirilen fötal doku, gerekli besini ilk gün çevresinden osmoz yolu ile alır. 24 saat sonra neovaskülarizasyon başlar. Bu olay ya alıcının damarlarının grefte invazyonuyla ya da greftte oluşan yeni damarlanmanın çevresindeki dokuya yayılması şeklinde gerçekleşir(8,9).

Kirkwood ve Billington fötal dokuların immünojenitesi üzerine yaptıkları araştırmalarda , bu dokularda antijenik fonksiyonların farklı zamanlarda başladıklarını bulmuşlardır. Buna göre farelerde, fötal akciğer-barsak-deri gibi dokuların antijenitesi böbrek ve gonadlardan önce gerçekleşmektedir (10).

Tüm bu deneysel çalışmalardan çıkan sonuç, ftus ne kadar ufak ise alınan dokunun ortaya çıkaracağı immün reaksiyon o kadar az, doku uyumu ise o kadar iyi olacaktır şeklinde özetlenmiştir (8-10).

Fötal dokuların transplantasyonu üzerine yapılan sayısız deneysel çalışma 80'li yıllarda ilk meyvesini vermiş ve beyin cerrahları ilk klinik fötal doku transplantasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Ftustan alınan adrenal gland ekstreleri Parkinson hastalarında lateral ventrikül duvarında nucleus caudatus başına implante edilmiştir. Bu teknik özellikle hastalığın başlangıç dönemindeki genç hastalarda oldukça yüz güldürücü sonuçlar vermiştir (11-14).

Cushing sendromunun tedavisinde, bilateral adrenalectomi 1945 yılından beri kullanılmaktadır (15-20).

Ancak bilateral adrenalectomiye maruz kalan kişiler yaşam boyu dışarıdan steroid tedavisi almak zorunda kalır. Bu tedavi biçimi ise önemli bazı komplikasyonları beraberinde getirir. Bunların başında hipofizden aşırı melanafor stimülan hormon salınımına bağlı pigmentasyon artışı

gelir. Bunun dışında hipofizde adenom gelişmesine yol açar ki bu da melanosıs cutaneous-amenore ve görme bozukluğu ile özellenen Nelson sendromunu doğurur.

Adenomun optik chiasma'ya bası yapması ise zaman içinde körlük oluşmasına sebep olur (20-22).

Meydana gelen bu sorunlara bir çözüm bulabilmek amacıyla bilateral adrenalectomi sonrası adrenal gland ototransplantasyonu denenmiş ve bir çok hastada başarılı sonuçlar alınmıştır (15,17,18,23-25).

Hardy 1965-1976 yılları arasında cerrahi tedavi uygulanan bilateral adrenalectomize 26 Cushing'li hastaya ototransplantasyon yapmıştır. Bu hastaların 22'sinde takılan greftler tutmuş ve red olayı gözlenmemiştir. 16 hastada transplante edilen greftlerin fonksiyonel olmaları sayesinde dışarıdan steroid verilmesine gerek kalmamıştır (15).

Ancak adrenal gland ototransplantasyonu bilateral adrenal kanseri olgularında çözüm olamaz.

Böyle bir olgu karşısında iki seçenek gündeme gelir.

Bunlardan birisi fötal adrenal doku transplantasyonu diğeri ise allogreft kullanımınıdır.

Fötal adrenal doku transplantasyonu ilk defa 1986'da Foglia ve arkadaşları tarafından sıçanlarda gerçekleştirilmiştir (26).

Foglia bu çalışmada 6 farklı transplantasyon grubu oluş-

turmuştur. 1.grupta; erişkin sıçanlardan alınan adrenal greftler erişkin sıçanlara , 2.grupta; yenidoğandan alınan greftler erişkine , 3.grupta; fötal greftler erişkine 4.grupta; erişkinden alınan greftler yenidoğana , 5.grupta; yenidoğandan alınan greftler yenidoğana ve 6.grupta; fötal greftler yenidoğana transplante edilmiştir.

Doku uyumunun en iyi olduğu ve hiç red olayı görülmeyen grup, ftustan (dişi) erişkin sıçanlara yapılan adrenal greft transplantasyonudur (26).

Trammer ve arkadaşlarının yaptıkları benzer bir çalışmanın sonuçları da fötal adrenal greftlerin erişkin sıçanlara transplante edildikten 4 hafta sonra geliştiklerini bildirmektedir (27).

Ancak bizim ulaşabildiğimiz literatürde, fötal adrenal greftlerin transplantasyon sonrası fonksiyonel hale gelip gelmediklerine dair bir çalışma yoktur.

Biz yaptığımız bu deneysel çalışma ile, sıçanlarda aşamalı olarak gerçekleştirdiğimiz bilateral adrenalektomi ve fötal adrenal gland transplantasyonunun morfolojik ve fizyolojik sonuçlarını ortaya koymaya çalıştık.

Bu gaye ile doku uyumunu , greftlerin damarlanmalarını, büyüme ve gelişmelerini, histolojik yapılarını ve sıçanların kortikosteron değerleri ile sağkalım sürelerini araştırdık.

GEREÇ YÖNTEM

Çalışmamızda Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi tarafından üretilen Wistar Albino türü, 37.batın inbred Bursa suşu 200-250 g ağırlığında dişi sıçanlar kullanıldı. Fötal greftlerin elde edilebilmesi için, aynı merkezde yapılan planlanmış gebeliklerinin son trimestrindeki sıçanlar 15. - 17. günler sectio ile doğurtulmuşlardır. Önce bilateral adrenalectomi sonrasında, sıçanların kortikosteron düzeyleri ve sağkalım (sürvive) süreleri Sham grubu ile karşılaştırıldı.

Ön Çalışma :

Üç grup oluşturularak toplam 30 sıçanda çalışıldı. Birinci grupta bilateral adrenalectomi, 2.grupta Sham prosedürü uygulandı. 3.grup kontrol grubuydu (Tablo:1).

Tablo : 1 Ön çalışma grupları

1.grup	2.grup	3.grup
Bilateral adrenalectomi	Sham op.	Kontrol
n:10	n:10	n:10

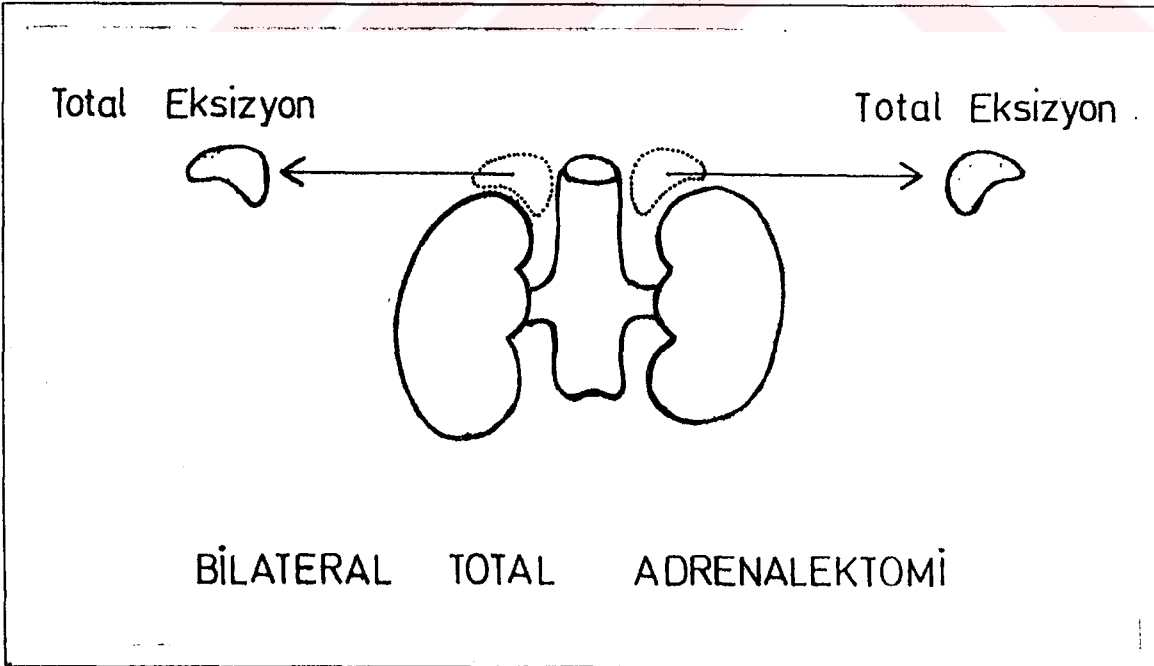
Yarılanma ömrü 72-90 dakika arasında değişen sıçan kortikosteronunun ölçümü için "ICN-Biomedicals Inc.RSL 125-I corticosterone KİT " sıçan kit'i kullanıldı.

Sıçanların anestezisi , 50 mg/kg tek doz intraperitoneal uygulanan Na-Pentobarbital ile gerçekleştirildi.

Anestezi sonrası batın Povidine-Iodine solüsyonu ile temizlendikten sonra traşlandı.

1.grupta (bilateral adrenalectomi) önce sağ sonra sol flank ensizyon ile her iki taraf adrenal glandlar çıkarıldı. Kanama kontrolü baskılı tamponad ile sağlandı ve batın 3/0 ipek ile kapatıldı (Şekil:1).

Şekil : 1 Bilateral total adrenalectomi.



2.grupta (Sham op.) orta hat ensizyon ile batına girilerek Sham operasyonu yapıldı.

3.grupta (kontrol) batına herhangi bir müdahale uygulanmadı.

Kan örnekleri alabilmek için , her üç grubada a.carotis communis kanülasyonu yapıldı. Kan örnekleri 4'er saatlik intervallerle alındı.

1.grupta operasyonu takiben sıçanların hepsi erken dönemde (ilk 8 saat) öldüler. Bu gruptan alınan kan örneklerinde kortikosteron düzeyleri ortalama 587 ng/ml idi (Tablo:2).

2.grupta , ameliyat sonrası yalnızca bir sıçan öldü, diğer 9 sıçan yaşamaya devam etti. Bu gruptan alınan kortikosteron değerleri ortalama 795 ng/ml idi (Tablo : 2).

3.grupta ise hiç ölen olmadı ve ortalama kortikosteron değeri 610 ng/ml olarak bulundu (Tablo :2).

Tablo : 2 Ön çalışmadaki sıçanların ortalama kortikosteron değerleri ve sağkalım süreleri.

	1.Grup		2.Grup		3.Grup	
	0-8 St.	>8 St.	0-8 St	>8 St.	0-8 St	>8 St.
Sağkalım (Saat)	10	-	10	9	10	10
Kortikosteron (Ort.ng/ml.)	587		795		610	

Kortikosteron değerleri için $p > 0.05$

Sonuç: - Bilateral adrenalectomi uygulanan sıçanlar, post-operatif erken dönemde (ilk 8 saat) ölmektedir.
- 3 grupta yapılan kortikosteron tayinleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

Çalışma grubu :

Aşamalı olarak bilateral adrenalectomi uygulanan sıçanlarda fötal adrenal gland transplantasyonunun sonuçlarını inceleyeceğimiz çalışmada toplam 24 sıçan ile çalışıldı.

A.Greft alımı :

Fötalgreftler , planlı gebeliklerinin 3. trimestrinde bulunan sıçanların 15.-17.günlerde sectio ile doğurtulması sonucu çıkarılan fötuslardan elde edildi.

Gebe sıçanlar ön çalışmada uygulanan aynı yöntemle uyutularak batin traşını takiben sectio'ya tabii tutuldular. Fötuslar servikal diskonneksiyon ile sakrifiye edilir edilmez batinları açıldı ve fötal adrenal glandlar iris makası kullanılarak çıkarıldı. Fötal dokular alıcıya transplante edilene kadar (artı) 4 derecedeki serum fizyolojik içinde saklandı. Alıcıya yerleştirilene kadar geçen soğuk iske mi zamanı ortalama 30 dakika idi.

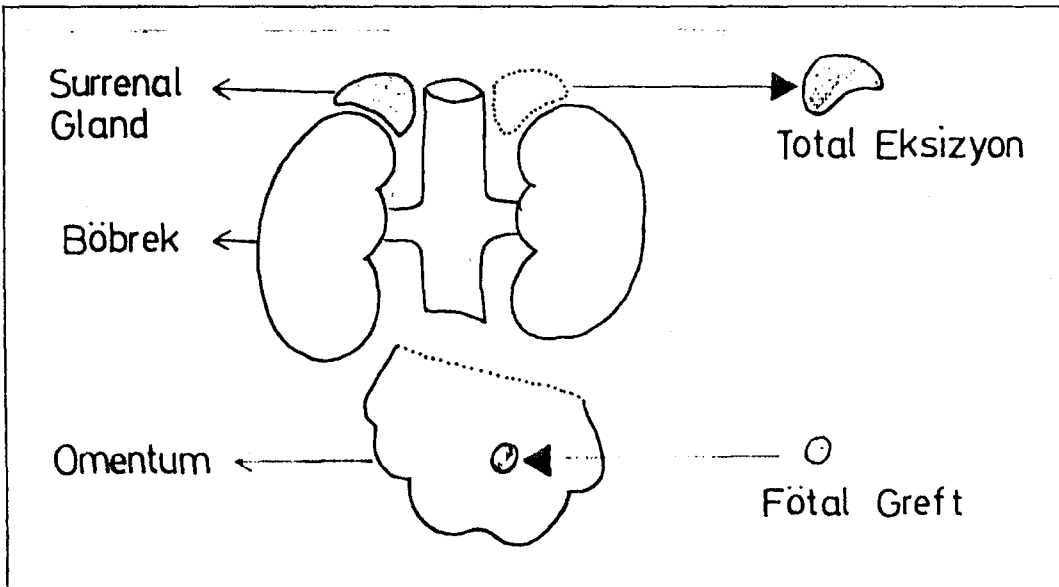
B. Birinci aşama :

(sol adrenalectomi - fötal greft transplantasyonu)

200-250 g ağırlığındaki dişi sıçanlar, n çalışmadaki yöntemle operasyona hazırlandıktan sonra sol flank en-sizyon ile batına girildi. Dalak ve sol böbrek mediale ekarte edilerek kolayca sol adrenal glanda ulaşıldı. Adrenal gland metzenbaum makas ile total olarak eksize edildi ve loja baskılı tampon uygulandı.

5 dakikalık tamponad sonrası kanama kontrolünün sağlan-dığından emin olundukta , sol böbrek ve dalak normal po-zisyonlarına yerleştirildi. Omentum batın dışına alındı Artı 4 derecede saklanan fötal greftler omentuma yerleş-tirildi. Bunların omentuma tesbitlerini sağlamak ve 2. aşamada bulunmalarını kolaylaştırmak amacıyla 6/0 prolen dikiş ile pursestring yöntem kullanıldı (şekil:2)

şekil : 2 Sol adrenalectomi - fötal greft transplantasyonu (birinci aşama)



C.İkinci aşama :

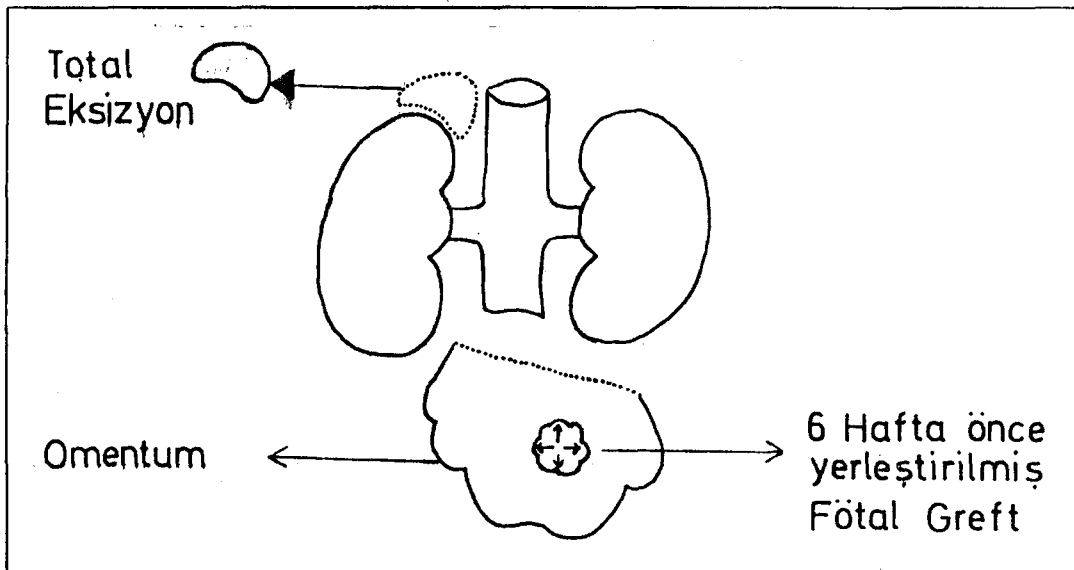
(sağ adrenalektomi - 6 hafta sonra)

1. aşamadan 6 hafta sonra sol adrenal glandları alınmış ve aynı seansta omentumlarına fötal adrenal greft yerleştirilmiş olan sıçanlara, birinci aşamada uygulanan tekniğin aynısı kullanılarak sağ total adrenalektomi yapıldı(Şekil:3). Loja uygulanan baskılı tamponad ile kanama kontrolü sağlandıktan sonra batın 3/0 ipek ile kapatıldı.

Aynı seansta sıçanlara a.carotis communis kanülasyonu yapıldı ve postoperatif 4.saat , 2. , 4. ,ve 6. günlerde hormon tayini için kan örnekleri alındı.

Sıçanlar postoperatif dönemde kafeslerine alınarak su ve özel rasyonlu pelet yem ile beslendi. Bu dönemde sıçanlara dışarıdan ilave herhangi bir medikasyon ya da hormon enjeksiyonu yapılmadı.

Sekil : 3 Sağ adrenalektomi - 6 hafta sonra
(ikinci aşama)

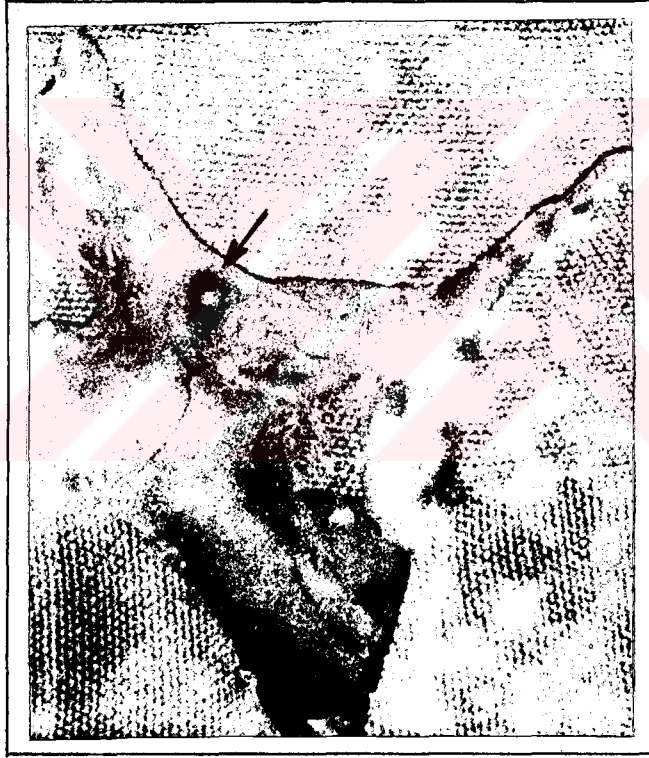


D.Reeksplorasyon :

Sıçanlar ameliyat sonrası takibe alındı ve öldükleri gün reeksplore edildi.

Fötal greftler bulundu ve %5 formol solusyonuna konuldu (Resim: 1).

Resim : 1 Fötal greftlerin 6 hafta sonraki hali.



Yaşamaya devam eden 6 sıçan , ikinci aşamadan 16 gün sonra sakrifiye edildi ve greftler çıkarıldı.

E. Ölçümler :

Erişkin sıçanlara ait adrenal glandlar, fötal adrenal glandlar ve transplantasyondan 6 hafta sonra gelişen

föetal greftlerin boy ve en ölçümleri için kompratör saatli kumpas (mm) kullanıldı.

Ağırlık ölçümleri için de hassas terazi kullanıldı.

Gram cinsinden yapılan ölçümlere %5 formol fazlası dahil edildi ve terazinin hata payı ± 0.05 idi.

F. Histolojik inceleme :

Preparatlar %5 formol ile fikse edildikten sonra doku takibine alındı. Parafin blokları haline getirildikten sonra her bloktan 5 μ m kalınlığında seri kesitler yapıldı. Hemotoksilen-Eosin ile boyanan kesitler ışık mikroskobunda incelendi.

G. Değerlendirme :

Istatistikî değerlendirme için Student-t testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışma grubundaki toplam 24 sıçandan ikisi peroperatif kanama ve ikisinde anestezi komplikasyonu nedeniyle ölümlerinden çalışmaya dahil edilmedi.

1. MORFOLOJİK BULGULAR

1.A) Reeksplorasyon :

Reeksplorasyonda makroskopik olarak, transplante edilen greftlerin hemen hemen erişkin adrenal gland boyutlarına ulaşmış olduklarını saptadık.

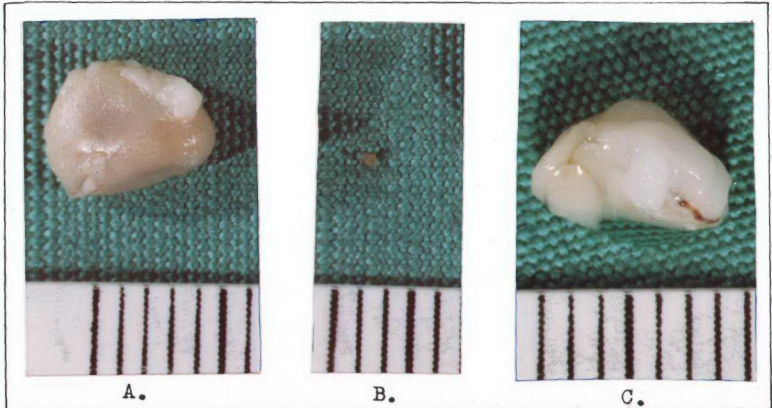
Hiç bir sıçanda greft nekrozu, red olayı gözlemedik.

Greftlerin damarlanması ve beslenmesi çok iyi idi (Resim:2).

Resim 2 : A. Erişkin sıçana ait adrenal gland.

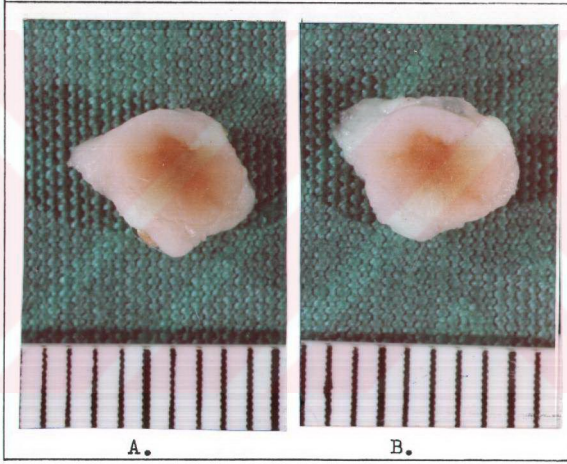
B. Föetal adrenal gland.

C. Föetal greftin 6 hafta sonraki hali.



Greftin 6 hafta sonra ulaştığı halinden yapılan kesit ile erişkin sıçana ait adrenal gland kesiti karşılaştırıldığında makroskobik olarak farklı yapıda olmadıkları saptandı (Resim: 3).

Resim : 3 A. Greftin 6 hafta sonraki halinden kesit
B. Erişkin sıçana ait adrenal gland kesiti



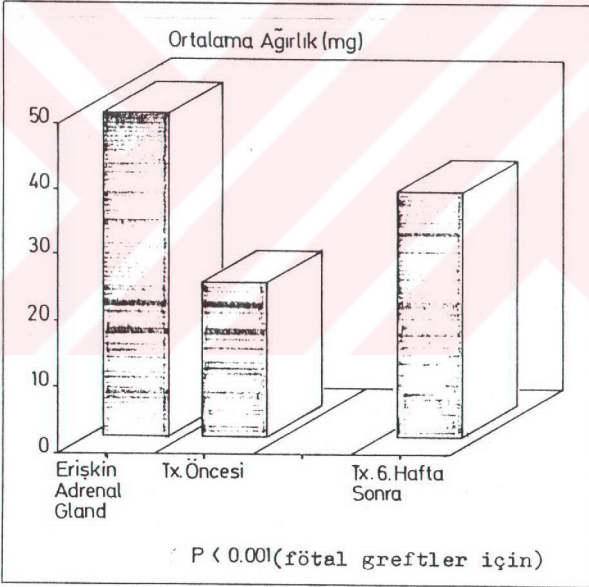
1.B) Ölçümler :

Hassas terazi kullanılarak yapılan ağırlık ölçümleri, fötal greftlerin geöen 6 haftalık süre içinde ortalama ağırlıklarının 2,67 mg dan 40,6 mg a ulaştıklarını gösteriyordu.

Bu değer, erişkin sıçanlara ait adrenal glandların orta-

lama ağırlıkları (52 mg) ile karşılaştırıldığında istatistikî açıdan anlamlı bir farklılık göstermiyordu (Şekil:4).

Şekil 4 : 4 Fötal adrenal glandların transplantasyon öncesi ve 6 hafta sonraki ağırlıkları ve erişkin sıçana ait adrenal gland ile karşılaştırılması .



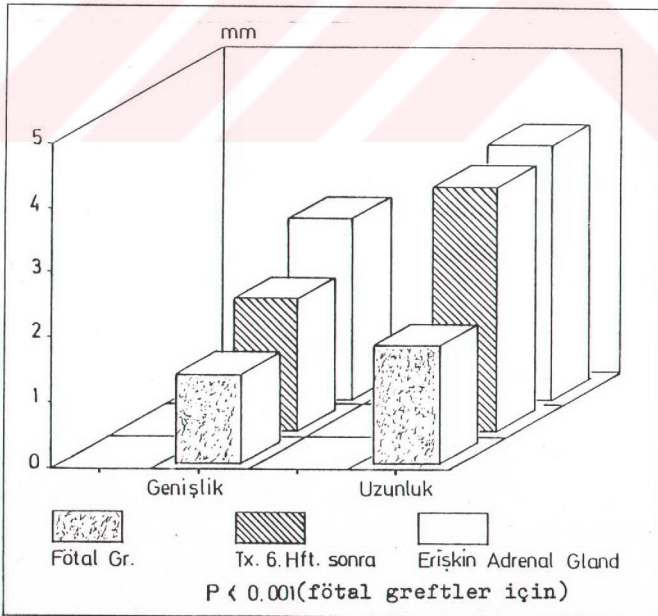
Komprator saatli kumpas ile yapılan boy-en ölçümlerinde, fötal dokuların boyları ortalama 1,83 mm den 4,3 mm ye ulaşmıştı . Bu artış istatistikî olarak anlamlı idi .

Erişkin sıçanlara ait boy ölçümleri ise ortalama 5 mm idi ve bu değer ile transplantasyon(Tx.) grubuna ait değer arasında anlamlı bir fark yoktu(Şekil: 5).

En ölçümleride fetal dokuların 6 hafta sonra anlamlı bir şekilde artmış olduğunu gösteriyordu.

Fötal dokuların enleri ortalama 1,4 mm iken 6 hafta sonra 2,6 mm ye ulaşmıştı. Erişkin sıçanlara ait en ölçümü ortalaması ise 3,8 mm idi (Şekil : 5).

Şekil : 5 Fötal adrenal glandların transplantasyon öncesi ve 6 hafta sonraki boy-en ölçümlerinin , erişkin sıçana ait boy-en değerleri ile karşılaştırılması .



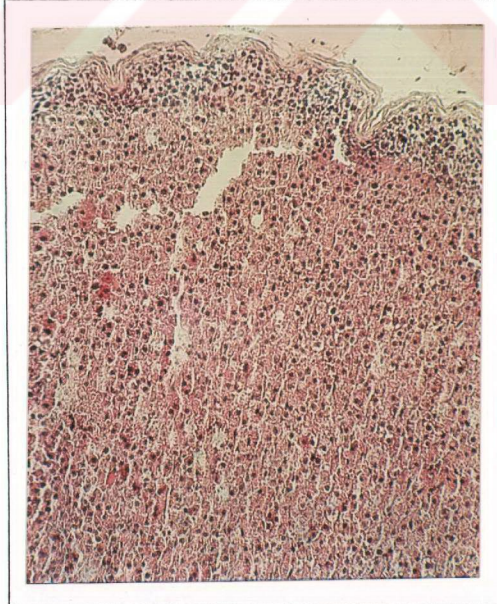
Boyut bakımından f3tal greftler 6 hafta sonra anlamlı bir artış g3sterirken , transplantasyon (Tx.) grubunu normal erişkin adrenal gland boyutları ile karşılaştırdığımızda anlamlı bir farklılık bulamadık.

1.C) Histolojik bulgular :

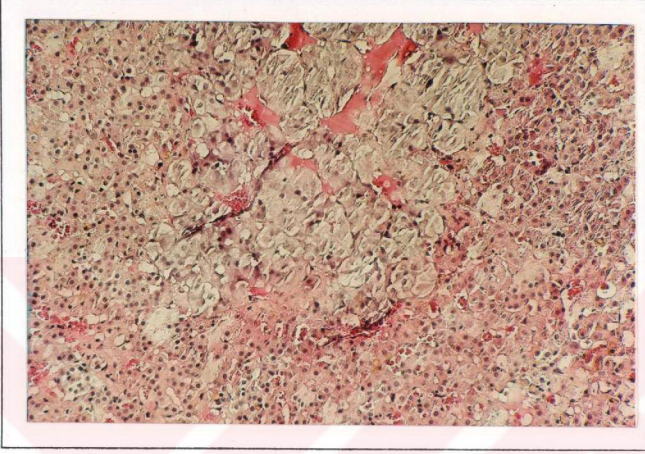
Histolojik incelemede, kontrol grubundaki erişkin adrenal glandlar ve f3tal adrenal glandlarda normal s3rrenal dokusu g3zlendi (Resim : 4,5,6).

Korteksin her 3 tabakası zona glomerulosa-zona fasciculata-zona reticularis ve medulladaki h3creler ayırdedildi.

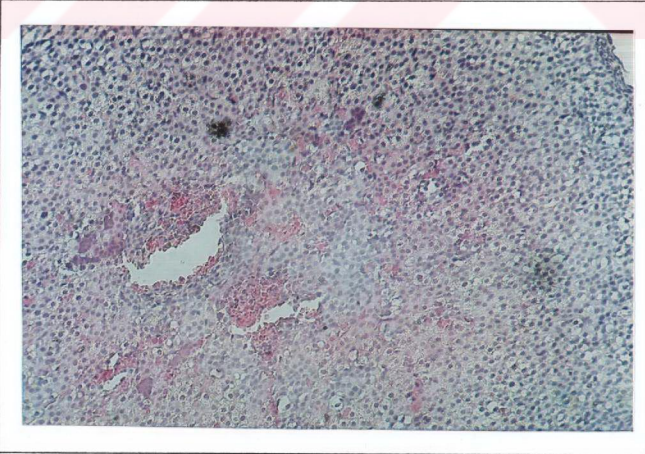
Resim : 4 Normal erişkin adrenal bez korteksi.
(H-E boya / x 1600)



Resim : 5 Normal erişkin bez medullası ve zona reticularise ait hücreler.
(H-E boya / x 2000)

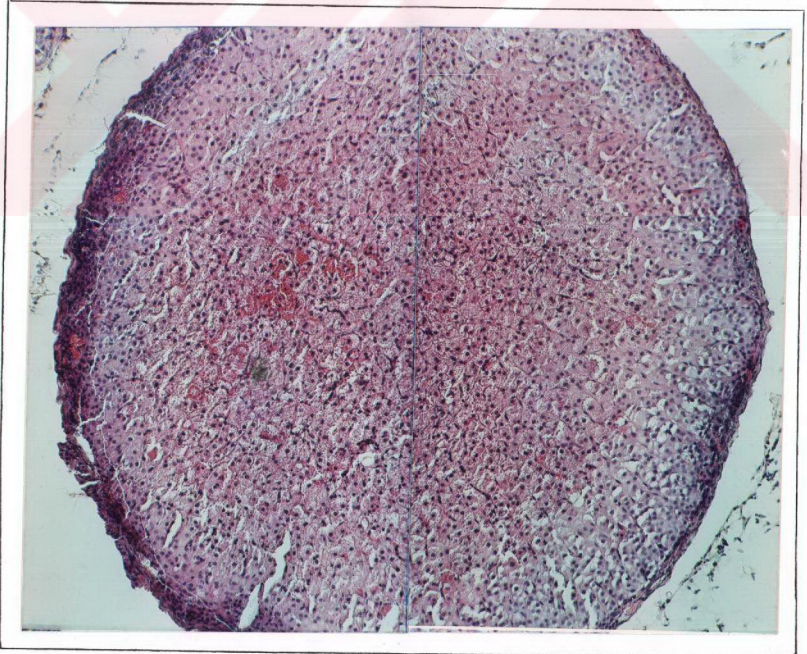


Resim : 6 Föetal adrenal glanda ait korteks ve medulla hücreleri.
(H-E boya / x 1280)



Deney grubuna ait blokların tümünden alınan kesitlerde transplante edilen fötal srrenalin etrafında yeterli damarlanma sağlandığı görüldü ve dejenerasyon izlenmedi. Preparatlarda korteks tabakaları çok iyi gelişmiş olduğu halde medulla hücrelerine rastlanmadı. Korteks tabakalarından zona glomerulosa-zona fasciculata ve zona reticularis ayırıldı (Resim: 7).

Resim : 7 Fötal adrenal greftin 6 hafta sonraki kesiti. Korteks tüm katları ile normal gelişim gösterdiği halde medullaya ait hücreler gelişmemiş. (H-E boya / x 1200)



2. FIZYOLOJİK BULGULAR

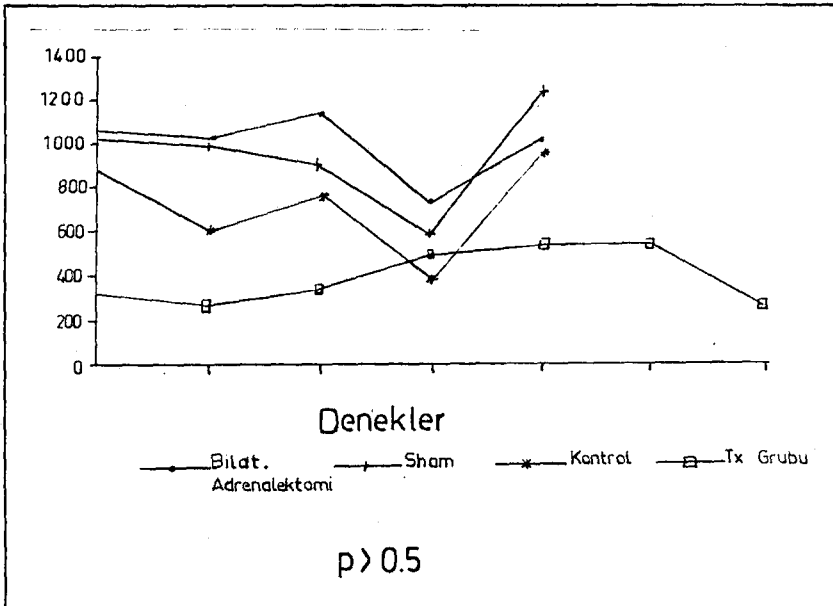
2.A) Kortikosteron değerleri :

Ön çalışmada da saptandığı gibi 3 grup arasındaki kortikosteron değerleri anlamlı bir farklılık göstermiyordu. Bilateral adrenalectomi uygulanan grupta ortalama kortikosteron değeri 587 ng/ml , Sham grubunda 795 ng/ml ve kontrol grubunda 610 ng/ml idi (Tablo :2).

Transplantasyon (Tx.) grubundan alınan kan örnekleri de ortalama kortikosteron düzeyinin 402 ng/ml olduğunu gösteriyordu.

Transplantasyon grubuna ait kortikosteron değerleri diğer 3 gruptaki değerler ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil :6).

Şekil : 6 Grupların kortikosteron değerlerinin (ng/ml) karşılaştırılması.



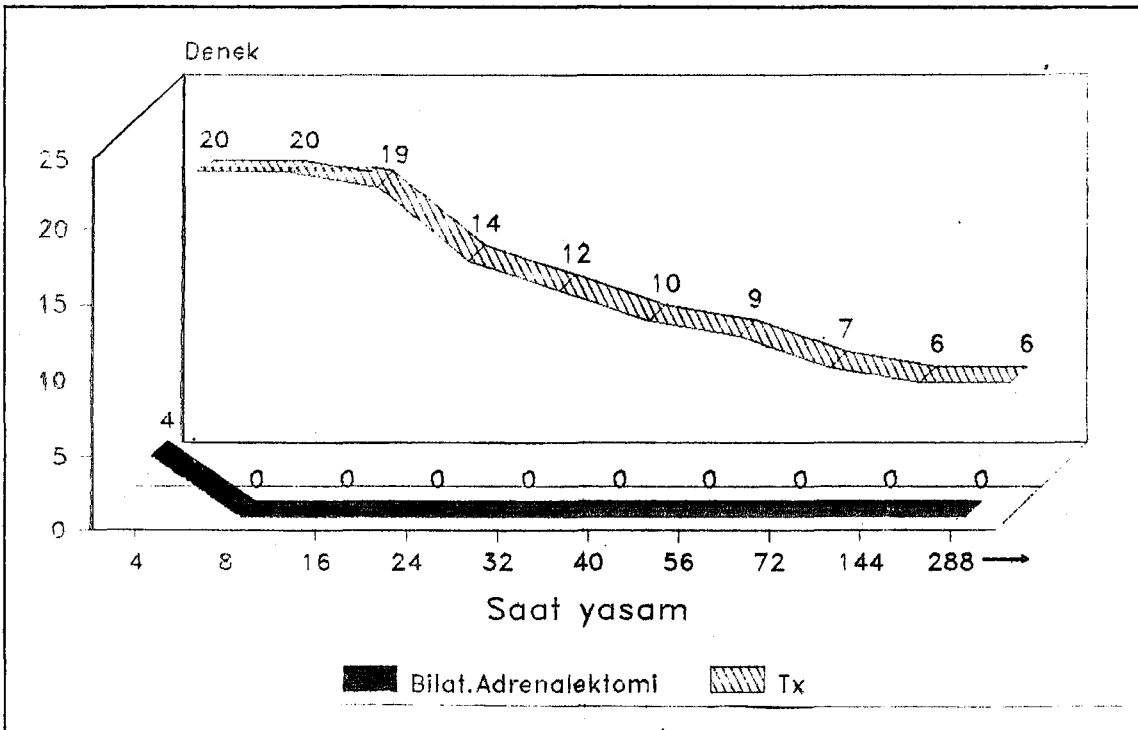
2. B) Sağkalım süreleri :

Bilateral adrenalectomi yapılan sıçanlar ön çalışmamızda da saptadığımız gibi postoperatif ilk 8 saat içinde ölmektedir(Şekil :7).

Ancak çalışma grubunda , ikinci aşamadan sonraki sağkalım süreleri incelendiğinde hiç bir sıçanın postoperatif ilk 8 saat içinde ölmediği görüldü. Deney grubu ile ön çalışmadaki bilateral adrenalectomi uygulanan grubun sağkalım süreleri arasında anlamlı bir fark vardı(Şekil: 7).

Deney grubundaki sıçanların %30'u (20 sıçandan 6'sı) yaşama devam ettiler ve histolojik inceleme için postoperatif 16. gün sakrifiye edildiler.

Şekil : 7 Ön çalışma ve deney grubundaki (Tx.) sıçanların sağkalım sürelerinin karşılaştırılması.



TARTIŞMA

Fötal doku ve organ transplantasyonları ile ilgili 70'li yılların başından beri yapılan yoğun deneysel çalışmaların ilk meyvesi, 1980 yılı başlarında beyin cerrahları tarafından Parkinson'lu hastalara uygulanan fötal greft transplantasyonu ile alınmıştır (11-14).

Özellikle erken dönemdeki genç hastalarda başarılı sonuçların alınması, geleneksel tedavi yöntemlerinin çaresiz kaldığı durumlarda bir çok klinisyeni fötal dokulardan yararlanma düşüncesine götürmüştür.

Primer adrenal gland neoplazisi sonucu bilateral adrenal glandları alınmış ve ototransplantasyonun mümkün olmadığı durumlarda acaba fötal adrenal greft kullanımı bir çözüm olabilir mi ?

Bu soruya cevap aramak amacıyla yaptığımız deneysel çalışmanın literatür taramasında, fötal greftlerin alıcıda gelişmeleri, red olayı, antijenik özellikler, neovaskülarizasyon ile ilgili bir çok detaylı yayın olmasına karşın fötal greftlerin alıcıda fonksiyonel olup olmadıklarına dair yapılmış bir çalışmaya rastlayamadık (6-8,10,26,27).

Adrenal gland, fötal hayatta iki farklı yapıdan orijin alır. Korteksin gelişimi mesodermden, medullanın ise neural crest'den gelen hücreler yoluyla olur.

Medulla korteks hücreleri tarafından çepeçevre kuşatılır

ve sekretuvar hücrelerin gelişimi başlar. Bu gelişim fö-
tal hayatın 5.ayına kadar bağımsız iken 5. aydan itiba-
ren ACTH'nın kontrolüne girer. Fötal adrenal korteksin
fötusa oranı, erişkin korteksinin erişkine olan oranın-
dan 10-20 kat daha büyüktür. Ancak bu durum zamanla geri-
ler ve doğumla birlikte korteks regresyona uğrayarak ağır-
lığının yaklaşık 1/3'ü kadar daha ufak bir hale gelir (28,
29).

Fötal greft transplantasyonu ile ilgili yapılan çalış-
malarda araştırmacılar fötal dokuları alıcının farklı yer-
lerine(uyluk bölgesi kasları-omentum-böbrek kapsülü altı)
transplante etmişlerdir(26,27,30,31).

Fötal adrenal greftlerle ilgili çalışmaların öncüsü olan
Foglia böbrek kapsülü altını, Trammer ise omentumu tercih
etmiştir (26,27).

Biz çalışmamızda fötal dokuları gömmek için omentumu kullan-
dık. Bundan gayemiz, diğer dokuları mümkün olduğunca az
travmatize etmek ve ek bir ensizyon kullanmamak idi.

Reeksplorasyon aşamasında omentuma gömdüğümüz greftleri
1. aşamada yerleştirmiş olduğumuz 6/0 proleninde yardımcı-
la hiç bir zorluk çekmeden kolayca bulduk.

Foglia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada,fötal greft-
lerin immünkompetan alıcıda sağkalımları incelenmiş ve
fötal adrenal greftlerin erişkin dişi sıçanlara transplante
edildiklerinde red olayına rastlamadıkları bildirilmiştir.
Bu çalışmada fötal greftler transplantasyondan 20-30 gün

sonra 26 kat büyüme göstermiştir (26).

Benzer bir çalışma Trammer ve arkadaşları tarafından yapılmış ve bu çalışmanın sonuçları da fötal greftlerin transplantasyondan 4 hafta sonra yaklaşık 4 mm çap ve 28,5 mg ağırlığa ulaştıkları şeklinde bildirilmiştir(27).

Bizim çalışmamız bu bulgular ile uyumludur.

Çalışmamızda red olayına rastlanmamış ve fötal greftler transplantasyondan sonra geçen 6 hafta süre içinde ortalama 2,67mg' dan 40,6 mg'a varan bir ağırlık artışı göstermiştir.

Işık mikroskobu ile yapılan incelemede erişkin ve fötal adrenal glandların medullası, kortekse ait zona glomerulosa-zona fasciculata ve zona reticularis tabakaları ayırt edilmiştir.

Deney grubunda da adrenal kortekse ait yapısal bütünlük korunmuş iken medullaya ait hücrelere rastlanmamıştır.

Bu durum diğer araştırmacılar tarafından da tesbit edilmiştir. Transplante edilen greftin merkezinde yeterli beslenmenin olmaması ve medullaya ait hücrelerin iskemi nedeniyle haraplanması olayın sorumlusu olarak gösterilmiştir(8, 26,35). Neovaskülarizasyonun oluşması ile medulladan boşalan yeri periferden gelen kortekse ait hücreler doldurur (35). Ancak medullanın olmaması, tek başına ölüm nedeni değildir. Çünkü, Zuckerkandl organı ve neural crest'den gelişen diğer hücrelerden sekrete edilen katekolaminler yaşam faaliyetinin devamını sağlar (2,3).

Medullanın da gelişebilmesi için transplantasyon tekniğinin-

de yapılacak, ekstre hazırlamak veya ortadan geçen kesitler yapmak gibi değişiklikler uygun olabilir.

İlerideki çalışmada bu sorunun da çözümüne çalışılacaktır.

Yukarıda bahsi geçen deneysel çalışmalarda alıcı sıçanlara transplantasyon öncesi herhangi bir müdahale yapılmamıştır (30-34). Yani transplantasyon yapılan alıcı sıçanlar kendi adrenal glandlarını da beraberinde taşımaktaydılar.

Bizim çalışmamızın diğer çalışmaların tümünden farkı, alıcı hayvanları tamamen transplante edilen fötal dokuya bağımlı kılmak idi.

Bunun için fötal adrenal gland transplante edeceğimiz alıcı sıçanların adrenal glandlarını aşamalı olarak çıkarttık. Sol adrenalektomi esnasında fötal greft transplantasyonunu gerçekleştirdik. Fötal greftin gelişmesi için gerekli 6 haftayı bekledikten sonra da sağ adrenalektomi uyguladık. Bundan gayemiz tamamen adrenalektomize sıçanların erken dönemde ölmelerine mani olmaktı.

Nitekim bilateral adrenalektomi yaptığımız sıçanlar erken dönemde(ilk 8 saat) ölmüştü. Eğer biz transplantasyon yaptığımız sıçanlarda daha uzun bir sağkalım süresi elde edebilirsek bunun fonksiyon yönünden anlamlı olabileceğini düşündük.

Ayrıca elimizdeki imkanlarla ölçebildiğimiz kortikosteron

seviyesi ile de bu bulgular arasında bir ilişki olup olmadığını tesbite çalıştık.

Ancak 4 grupta da ölçümlerini yaptığımız kortikosteron değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulamadık.

Bunun nedeni, travmaya karşı verilen endokrin cevabın her bireyde kendine özgü olması ile açıklanabilir(2,3).

Zaten sıçanların operasyonlar esnasında salgıladıkları kortikosteron miktarı her birinde farklı olmaktadır. Bu ise her grubun kendi içinde bile değişik sonuçlar vermesini doğurmaktadır.

Deney grubundaki sağlıklı sürelerine baktığımızda sıçanların hiç birinin erken dönemde (ilk 8 saat) ölmedikleri görülmektedir.

1 sıçan postoperatif 10. saatte, 5 sıçan 2.günde, 6 sıçan 3.günde, 1 sıçan 4.günde ve 1 sıçan da 6.günde ölmüştür. Kalan 6 sıçan ise yaşamaya devam etmiştir. Bu 6 sıçan reeksplorasyon için 16. gün kurban edilmişlerdir.

Bu bulguların ışığında, bizim uyguladığımız teknikle bilateral adrenalectomize sıçanlarda fetal greftin sağlıklı süresini müsbet yönde etkilediği tesbit edilmiştir.

Bu ise bize, fetal greftin şöyle ya da böyle bir fonksiyon yaptığı izlenimini vermiştir.

Bu fonksiyonun türü ve derecesi ise daha ileri araştırmalara muhtaçtır.

Bu çalışmanın devamı olarak;

A-) Medulla tabakasının da gelişmesine uygun bir tekniğın yerleştirilmesi,

B-) Daha detaylı hormon ölçümleri yaparak greft fonksiyonlarının irdelenmesi,

gibi hususların aydınlatılması gereklidir.

SONUÇ

Sıçanlarda bilateral adrenalectomi ve fötal adrenal gland transplantasyonunun sonuçlarını araştırdığımız bu çalışmanın morfolojik bulguları :

Fötal greftlerin hiçbirinde red olayı gözlenmemiş, hepsi tutmuştur.

Fötal greftler 6 hafta içinde ortalama 2,67 mg dan 40,6 mg a çıkan bir ağırlık artışı göstermiştir.

Greftlerin boyları 1,83 mm den 4,3 mm ye , enleri ise 1,4 mm den 2,6 mm ye ulaşmıştır.

Histolojik incelemede, kortikal yapıda btnlgn korunmuş olduğu saptanmıştır. Kortekse ait zona glomerulosa-zona fasciculata ve zona reticularis ayırdedilmiştir, fakat medullaya ait hücrelere rastlanmamıştır.

Fizyolojik bulgular:

Sıçanların kortikosteron değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sağkalım süreleri ise deney grubu ve bilateral adrenalectomi uygulanan sıçanların oluşturduğu grupta çok farklıdır. Bilateral adrenalectomi uygulanan sıçanlar erken dönemde (ilk 8 saat) ldkleri halde deney grubunda erken dönemde hiç ölen sıçan olmamıştır.

Sonuç olarak bu da bizim, greftlerin fonksiyonel oldukları şeklinde bir izlenim elde etmemize vesile olmuştur.

Fonksiyonun türü ve derecesinin ortaya konulması, daha ileri çalışmalara muhtaçtır.

ÖZET

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi A.B.D. araştırma laboratuvarında toplam 54 sıçan üzerinde yapılan deneysel çalışmada, sıçanlarda aşamalı olarak uygulanan bilateral adrenalektomi ve fötal adrenal greft transplantasyonunun morfolojik ve fizyolojik sonuçları araştırıldı.

Ön çalışmada, bilateral adrenalektomi grubu, Sham prosedürü uygulanan grup ve kontrol grubu arasında sağkalım süreleri açısından anlamlı bir farklılık saptandı.

Buna göre, bilateral adrenalektomi uygulanan sıçanlar erken dönemde (ilk 8 saat) öldüler. Diğer iki grupta ise, Sham grubundaki bir sıçan hariç, erken dönemde ölen olmadı. Her üç gruptaki kortikosteron değerleri arasında anlamlı bir fark yoktu.

Deney grubunda sıçanlara önce sol adrenalektomi ve aynı seansta fötal adrenal gland transplantasyonu (1.aşama) yapıldı. Bundan 6 hafta sonra da sıçanların sağ adrenal glandları çıkarıldı(2.aşama).

Bilateral total adrenalektomi yapılan ve yalnızca fötal grefte bağımlı kalan bu sıçanlarda erken dönemde hiç ölen olmadı. Sıçanların kortikosteron değerleri ölçüldüğünde, diğer 3 gruptaki değerler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü.

Takibe alınan sıçanlar öldükleri gün reeksplere edildiler. Yaşamaya devam eden 6 sıçan (%30) postoperatif 16. gün sakrifiye edildi.

Reeksplorasyonda fötal greftlerin tutmuş oldukları ve erişkin adrenal gland boyutlarına yakın bir büyüme gösterdikleri saptandı. Histolojik inceleme fötal greftlerin gelişmiş olduklarını ortaya koydu. Kortekse ait 3 tabaka zona glomerulosa-zona fasciculata -zona reticularis ayırd edildi, ancak medullaya ait hücrelere rastlanmadı.

Deney grubu ve bilateral adrenalectomi uygulanan gruptaki sıçanların sağkalım süreleri arasında görülen fark, transplante edilen greftlerin fonksiyonel oldukları izlenimini doğurdu.

KAYNAKLAR

1. Cerilli GJ : Organ transplantation and replacement.
J.B.Lippincott Company Philadelphia London Mexico
St Louis Sao Paulo Sydney 1988.
2. Welch KJ, Randolph JG, Ravitch MM, O'Neill JA, Rowe MI:
Pediatric Surgery Year Book Medical Publishers
345- 375 , 1986.
3. Schwartz SI : Principles of Surgery
Mc-Graw-Hill Book Company , 1983.
4. Türel Ö: Organ transplantasyonları
Nobel Tıp Kitabevi , İstanbul - 1985.
5. Güvenç H, Salman T, Sürmen E, Çelik A, Altuğ T :
Accessory enteral nutrition : Is it possible?
XII. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi, Kuşadası - 1992
6. Zinzar SN, Leitina BI, Tumyan BG, Svetmoldavsky GJ:
Very large organ like structures formed by syngeneic
fetal alimentary tract transplanted as a whole or in
parts. Rev Eur Etudes Clin et Biol. 16 : 455, 1971.
7. Deutsch AA, Arensman R, Levey R, Folkman J:
The effect of antilymphocyte serum on fetal rat

- intestine transplanted as free subcutaneous homografts. *J Ped Surg* 9:29 , 1974.
8. Barakat T and Harrison RG : The capacity of fetal and neonatal renal tissues to regenerate and differentiate in a heterotopic allogeneic subcutaneous tissue site in the rat. *J Anat* 3:393-407 , 1971.
 9. Birch J and Branemark PJ : The vascularisation of a free full thickness skin graft. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* 3:1-10 ,1969.
 10. Kirkwood KJ, Billington WD : Expression of serologically detectable H-2 antigens on midgestation mouse embryonic tissues. *J Embryol Exp Morph* 61:207-219 , 1981.
 11. Madrazo I, Bourland RF, Solis FO, Aquilera M, Cuevas C, Zamorano C, Morelos A, Magallon E, Sagahun GG: Fetal homotransplants (Ventral mesencephalon and adrenal tissue) to the striatum of parkinsonian subjects . *Arch Neurol* 47: 1281-1285 , 1990.
 12. Madrazo I, Leon V, Torres C, et al. : Transplantation of fetal substantia nigra and adrenal medulla to caudate nucleus in two patients with parkinsonian's disease. *N Engl J Med* 318: 51-55 , 1988.
 13. Sladek JR, Gash DM : Nerve cell grafting in Parkinson

- 's disease . J Neurosurg 68: 337-351 , 1988.
14. Brundin P: Towards a transplantation therapy for Parkinson's diseases. Lund , Sweden : Lund University Thesis 1988.
 15. Hardy JD : Surgical management of Cushing's syndrome with emphasis on adrenal autotransplantation . Ann Surg 188 : 3 , 291-307 , 1978.
 16. Glenn F, Horwith M, Peterson RE: Total adrenalectomy and Cushing's disease . Ann Surg 175 : 948 , 1972.
 17. Oliveira LA, Coronho V, Fernandes AD, et al. : Treatment of recurrent Cushing's disease after bilateral total adrenalectomy and autografting of the adrenal gland. AMB , Rev Assoc Med Brasil 22 : 223 , 1976.
 18. Orth DN and Little GW : Results of treatment in 108 patients with Cushing's syndrome. N Engl J Med 285 : 243 , 1971.
 19. Kaplan NM and Shires GT : Apparent cure of Cushing's disease by bilateral adrenalectomy and autotransplantation . Am J Med 53: 377 , 1972 .
 20. Zieleniewski J, Stapor K: Late results of bilateral

adrenalectomy and implantation of a part of the adrenal cortex in Cushing's syndrome .

Polish Endocrinol 23: 324 , 1972 .

21. Nelson DH, Sprunt JG and Mims MRB: Plasma ACTH determination in 58 patients before or after adrenalectomy for Cushing's syndrome . J Clin Endocrinol 26 : 722 , 1966.
22. Thomas JM , Robert GD, Gordon HW and John PC : Nelson's syndrome: Frequency , prognosis and effect of prior pituitary irradiation. Ann Int Med 85 : 731-734 , 1976.
23. Hardy JD : Autotransplantation of adrenal remnant to thigh in Cushing's disease . JAMA 185:2 , 1963.
24. Ibbertson HK and O'Brien KP : Adrenal autografts in treatment of Cushing's disease . Brit Med J 2 : 703 , 1962.
25. Scott HWJ , Foster JH , Rhamy RK et al. : Surgical management of adrenocortical tumors with Cushing's Syndrome . Ann Surg 173: 892 , 1971.
26. Foglia RP, Quaglia ML, Preta JD, Donahoe PK : Can fetal and newborn allografts survive in an

- immunocompetent host? J Ped Surg
21 : 7 608 - 612 , 1986.
27. Trammer A, Kellnar ST, W ilsch U: Transplantation
of fetal adrenal glands in rats . Congress of the
5th Pediatric Research , Berlin - 1991.
28. Kayalı H: İnsan Embriyolojisi . Evrim Basım Yayım
Dağıtım İstanbul - 1989.
29. Moore KL: The Developing Human . WB Saundres Co.
1988.
30. Guttman FM, Nguyen LT, Laberge JM et al. :
Fetal rat intestinal transplantation : Cryopreserva-
tion and Cyclosporine-A . J Ped Surg 20:747-753 ,
1985.
31. Zinzar SN, Svet-Moldavsky GJ , Karmanova NV :
Nonimmune and immune surveillance . I:Growth of tum-
ors and normal fetal tissues grafted into newborn
mice. J Natl Cancer Inst 57: 47-55 , 1976.
32. Sandra C, Mandel T, and Mandel TE : Fetal pig panc-
reas : Preparation and assessment of tissue for
transplantation and its in vivo development and fun-
ction in athymic (nude) mice . Transplantation
49 : 571-581 , 1990.

33. Sutherland DER, Moudry KC : Clinical pancreas and islet transplantation . Transplant Proc 19 : 113 , 1987.
34. Ricordi C, Lacy PE: Renal subcapsular xenotransplantation of purified porcine islets. Transplantation 44 : 721 , 1987.
35. Engeland WC : Adrenal transplantation and pituitary adrenal function. Am Phy Society -1849- 1986.