

Yabancı Cisim Doku Reaksiyonu ve Mast Hücre Sayısı: Deneysel Bir Çalışma*

*Foreign Body Reaction and Mast Cell Counts: An Experimental Study**

Fulya Çakalağaoğlu¹
Dilaver Demirel³

Sina Ercan²
Mustafa Yüksel²

İclal Gürses¹
Sevgi Küllü¹

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Altunizade-İstanbul

¹Patoloji Anabilim Dalı

²Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

³GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Bölümü

Özet: Mast hücreleri yuvarlak, oval şekilli bazofil granüllerden zengin hücrelerdir. Bu hücrelerin fibrotik hastalıkların ilerlemesinde, yara iyileşmesinde hücre dışı matrisin yeniden yapılanmasında önemli rol oynadıkları bildirilmektedir. Bu çalışma diafragma cerrahisinde kullanılan eriyen ve erimeyen iplik materyallerine karşı oluşan doku yanıtı ve mast hücre sayısını araştırmak için yapılmıştır. Bu çalışmada her biri 12 wistar sıçandan oluşan 4 grup bulunmaktadır. İlk üç grupta 4/0 multiflaman emilemez ipek, multiflaman emilebilir vicrly ve monoflaman emilebilir polidioxan dikiş materyali olarak kullanılmıştır. Dördüncü grup kontrol grubudur. Her denekte diyafragma 1,5 cm kesilip her gruba ait özel dikiş materyali 4 adet U şeklinde dikiş yapılmıştır. 90 gün izlem sonrası her grupta sutur yerleri rastgele histopatolojik inceleme için çıkarılmıştır. Histopatolojik incelemede tüm gruplar Sewell doku reaksiyon dereceleri ve mast hücre sayıları ile karşılaştırılmıştır. Doku reaksiyon farklılıkları istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur. Ortalama mast hücre sayısı kontrol grubunda 1.3, ipek grubunda 2.3, vicrly grubunda 4.3, Polidioxan grubunda 4.5 dir.

Anahtar Sözcükler: Doku reaksiyonu, mast hücresi, sıçan

* Bu çalışma XIV. Ulusal Patoloji Kongresi (1999 Kuşadası) nde poster olarak sunulmuştur.

Summary: Mast cells are ovoid to spindle-shaped, rich in basophilic granules. These cells are believed to play roles in the remodeling of extracellular matrix during wound healing and the progression of fibrotic diseases. This controlled experimental study was planned and performed to investigate the tissue reactions and mast cell counts using synthetic absorbable sutures in place of nonabsorbable ones in diaphragmatic surgery. Twenty in each, 350-400 wistar rats were included in four groups. In this study, 4/0 multifilament nonabsorbable silk, multifilament absorbable vicrly; monofilament absorbable polydioxanone were used as group specific suture materials. The fourth one was control group. Following the excision of a 1,5 cm. strip from diaphragms, the incisions were repaired by putting 4 interrupted "U" stiches with the group specific suture materials. After a 90-day observation period, each group of rats was randomized for histopathologic examinations. On histopathologic evaluations, all groups sections were compared with "Sewell Tissue Reactivity Scores" and mast cell counts. Differences in tissue reponse around the knots between these materials proved to be highly significant statistically. The average number of mast cell was 1.3 in control group, 2.5 in silk group, 4.3 in vicrly group, 4.5 in polydioxanone group.

Key Words: Tissue reaction, mast cell, rat

* Presented in the XIV National Pathology Congress (1999-Kuşadası)

Mast hücreleri kemik iliğinden derive olan hücrelerdir (1). Mast hücre granüllerinde çeşitli kimyasal mediatörler bulunmaktadır. Ayrıca mast hücreleri ikincil mediatörler olan prostaglandin, lökotrien ve trombosit aktive edici faktör sekrete ederler (1-6). Son çalışmalarda mast hücrelerinin fibrotik prosesinde rol oynadığı, fibroblast ve mast hücreleri arasındaki etkileşimin fibrosis için gerekli olduğu gösterilmiştir (1,7-10).

1950 li yıllardan beri cerrahi sahalarda sentetik emilebilir dikiş materyallerini içeren çalışmalara hız verilmiştir(2-7). Bu dikiş materyalleri poly-L-lactide, dixon, vicryl, polydioxanone (PDS) vb.dir. İdeal suture tanımı yapılırken yeterli dayanıklılık, ele iyi oturması, atılan düğümün iyi tutması, iyi bağlanabilirlik, makul sınırlarda doku reaksiyonu oluşturma, alerjik doku reaksiyonuna yol açmaması, enfeksiyon riskini arttırmaması ve doku iyileşmesi tamamlandığında tamamen emilmesi, ön plana çıkan özelliklerdir(3-4). Bu özellikleri bünyesinde toplayan ideal suture materyaline ulaşmak amacıyla doğal ve sentetik sayısız filaman geliştirilmiş ve denenmiştir.

Cerrahi travma ve ameliyat sırasında kullanılan her türlü yabancı materyal, özellikle dikiş materyalleri doku reaksiyonu oluştururlar. Akut inflamasyonda doku içerisine sıvı ve proteinlerin sızmasından ortaya çıkan ödem özellikle nötrofillerin göçü en önemli olaydır. Kronik dönemde ise lenfosit ve histiosit varlığı dikkati çekmektedir. Kronik inflamasyonun histomorfolojisi ve süresi bir çok faktör tarafından etkilenmektedir (1).

Bu çalışma da emilebilir (vicryl, PDS), emilemez (ipek) farklı suture materyallerine karşı kronik dönemde görülen yangısal cevabın sıçanlarda Sewell indeksi ile değerlendirilmesi ve bu sonuçların fibrozis ve kronik dönem iyileşme de rolü olduğu düşünülen mast hücreleri ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmamızda Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından sağlanan 350-400 gr. ağırlığındaki Sprague-Dawley türü genç erişkin albino sıçanlar kullanıldı. Gruplar şu şekilde oluşturuldu: multiflaman polyglactin 910 (vicryl); monoflaman polydioxanone (PDS); Emilmeyen dikiş olarak da ipek (Mersilk)

multiflaman (Resim1). Bütün dikiş materyalleri 4/0 standardında ve Ethicon Inc. Summerville, NJ tarafından üretilmiştir. Dördüncü grup ise herhangi bir dikiş materyali kullanılmayan kontrol (shem) grubudur. Farelerin ağırlığı 350-400 gr. arasında değişmektedir.

Denekler uyutulmadan önce tartılarak 50mg/kg cefazolin sodyum i.m olarak uygulanmıştır. Denekler eter inhalasyonu ile uyutulmuştur. Deneklerin batin tüyleri jilet ile traş edilerek, sol subkutan insizyonu takiben cilt, ciltaltı, batin duvarı kas tabakası ve periton keskin diseksiyonla geçilerek batına girilmiştir. Daha sonra diyafram ortaya konulmuştur. Bir penset yardımı ile kubbesinden tutularak çekilen sol hemidiyaframa horizontal planda 2,5 cm.lik dir doku parçası dışarı taşacak şekilde bir klemp konulmuştur. Klempin üzerinden dışarıya taşan doku parçası bisturi ile kesilmiştir. Gruba özgü dikiş materyali klempin altından dört adet separe "U" dikiş konularak klempin anterior kenarından bağlanmıştır. Daha sonra karın duvarı ve deri kapatılmıştır. Shem grubundaki deneklerde ise sadece yukarıda tanımlanan şekilde laparotomiler yapılmıştır.

Cerrahi işlemin tamamlanmasından sonra denekler grup ve denek numaralarına göre kulaklarına çentik ve kesikler konulmak suretiyle işaretlenerek ısıtıcı lamba altında uyanmak üzere beşli gruplar halinde standart kafeslere konularak Marmara Üniversitesi Hayvan Laboratuvarında sakrifikasyon dönemine kadar bakılıp, beslenmiştir. Bu dönem içinde vicryl kümesinden bir, PDS kümesinden iki denek exitus olmuştur.

Üç ay sonra deneklere eski insizyonları üzerinden laparotomi yapılarak batına girilmiş ve sakrifiye edilmiştir. Bu sırada tüm gruplarda ve kontrol grubunda bir olguda karaciğer diyafram arasında sıkı yapışıklık olduğu görülmüştür. Suture alanları insize edilmiştir.

Alınan anastomoz hattı kesitleri %10 formalin ile 24 saat fikse edilip, doku işlemlerinden geçirilmiştir. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında elde edilen kesitler Hematoxylin-Eosin ve mast hücre sayımı için Toluidin Blue boyası (TBB) ile boyanarak ışık mikroskobu düzeyinde değerlendirilmiştir. Kesitlerde yangısal hücreler "Sewell" indeksine (Tablo I) göre değerlendirilmiştir (2,4-6). Sewell indeksi doku reaksiyonlarını semikantitatif değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Buna göre inflamasyon çapı

mikrometre ile ölçülmekte, birim alandaki yangısal hücreler ışık mikroskobu ile sayılarak Tablo I'de gösterildiği gibi derecelendirilmektedir (2).TBB boyanan lamlarda mast hücresi birim alanda sayılmıştır. Ayrıca yangısal reaksiyon çapı Samba İmage Analyzer ile ölçülmüştür.

Sonuçlar istatistiksel olarak Ki kare testi ile değerlendirilmiştir.

Tablo I. Sewell doku reaksiyonu derecelendirilmesinde kullanılan özellikler.

Özellikler	Derece
Yangısal reaksiyon çapı	1-8
Yangısal alandaki Hücrelerin sayısı	
Nötrofil	1-8
Lenfosit	1-8
Histiosit	1-8
Fibroblast	1-8
Dev Hücre	1-8
Eosinofiller	1-8
Her büyük büyütme alanında izlenen hücre sayısı	Derece
1-5	1
6-15	2
16-20	3
21-35	4
36-50	5
51-100	6
101-150	7
>150	8
Yangısal yanıt çapı(mm)	Derece
≤ 0.1	1
0.11-0.13	2
0.14-0.20	3
0.21-0.40	4
0.41-0.80	5
0.81-1.20	6
1.21-1.60	7
>1.60	8

Bulgular

Denek ve kontrol kümesinin Sewell indeksine göre değerlendirilmesi sonuçları Tablo II'de gösterilmiştir. Buna göre yangısal reaksiyon çapı kontrol grubunun 1 mm iken, ipek grubunun 3.5 mm, PDS grubunun 3.7 mm ve Vicrly grubunun ise 3.2 mm dir.

Kontrol grubu ve denek grubumuzun mast hücre sayımı dökümleri Tablo III'de gösterilmiştir

Tablo II. Sewell derecelendirilmesine göre kümelerin değerlendirilmesi.

Küme	Ort.Çap .	Nöt.	Len.	Eos	His	Dev H.	Fib.
Kontrol	1	1	1	1	1	1	1
İpek	3.5	1.1	1.2	3.5	1	2.9	2
PDS	3.7	1.3	1	2.8	1	2.1	3.1
Vicrly	3.2	1.4	1.1	2.6	1.1	2.2	3.2

Ort Çap: Sewell indeksine göre ortalama çap derecelendirilmesi, Nöt. Nötrofil lökosit derecesi, Len. Lenfosit derecesi, Eos: Eosinofil lökosit derecesi, His: Histiosit sayısı derecesi, Dev H: Dev hücre sayısı derecesi, Fib.: Fibroblast sayısı derecesi.

Tablo III. Deneklerin mast hücre sayısı açısından değerlendirilmesi.

Küme	Ortalama Mast Hücre Sayısı
Kontrol	1.3
İpek	2.5
PDS	4.3
Vicrly	4.5

Yangısal yanıt açısından yapılan istatistiksel değerlendirmelerde ipek grubu ile vicrly ve PDS grupları arasında anlamlı sonuçlar bulunmuştur ($p<0.001$).

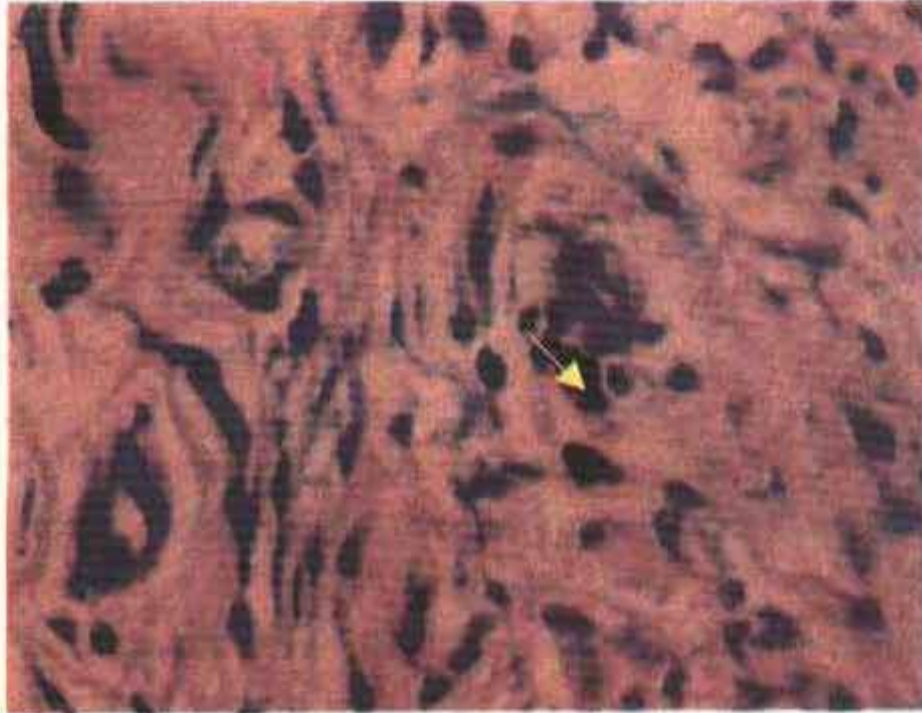
İpek grubunda eosinofillerin artmış sayıda olduğu dikkati çekmektedir. Fakat sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Mast hücre sayısı kontrol grubu ile çalışma grubu karşılaştırıldığında sonuçlar anlamlı bulunmuştur ($P<0.01$) (Resim 2-3). Emilebilir gruplar olan Vicrly ile PDS ile emilemez grup olan ipek grubu arasında mast hücre sayısı ve fibroblast sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur ($P<0.05$). Fakat vicrl ve PDS arasında mast hücre sayısı açısından anlamlı fark görülmemiştir.

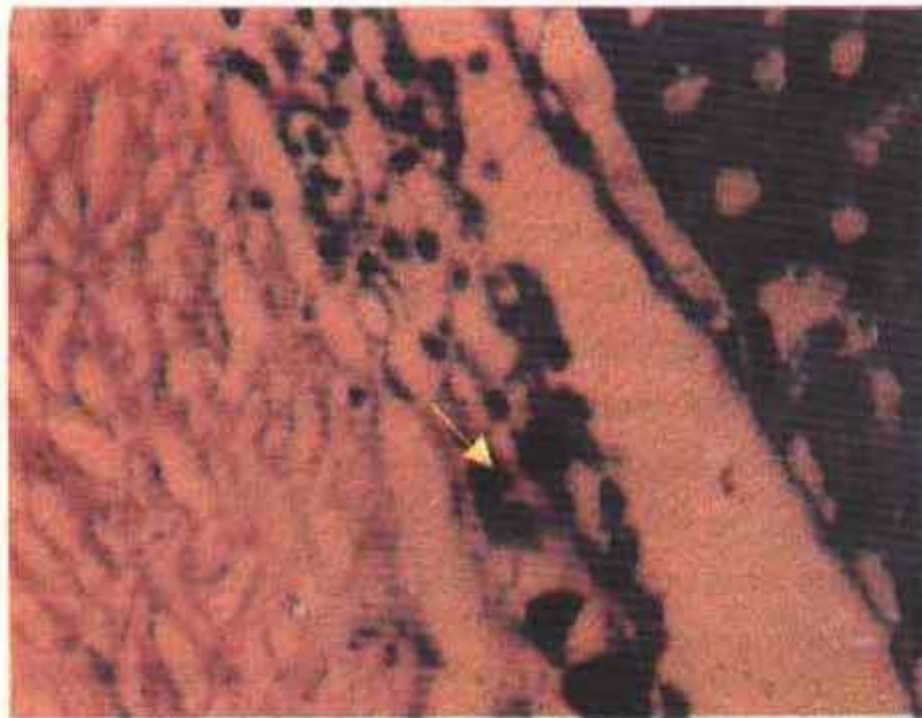
Mast hücre sayısı ile diğer hücreler arasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmemiştir.



Resim 1. İpek kümesi emilemez dikiş materyalleri (I-313, HXE, 200X).



Resim 2. Vicrly kümesi mast hücreleri (V-233, Toluidin mavisi, 40X).



Resim 3. İpek kümesi mast hücreleri (I-315, Toluidin mavisi, 100X).

Tartışma

Fibroblastlar mast hücre büyüme faktörlerini salgılamaktadır. Yine fibroblastlar pulmoner fibrosisde basic fibroblast büyüme faktör (bFGF) sekrete eden hücreler olarak tanımlanmışlardır (1, 9-10).

Mast hücre granül sentezinin fibroblastlara bağımlı olduğu bilinmektedir (1). Bu bilgiler ile mast hücrelerinin lenfositler ile kronik inflamasyon ve fibrosis aşamasında aktif rol oynadıkları düşünülmektedir. Qu ve arkadaşları pulmoner fibrosisde mast hücrelerinin fibroblast growth faktör sentezinde esas kaynak olduğunu göstermişlerdir (10). Yine böbrek IgA nefropatisi ile ilgili çalışmalarda da mast hücrelerinin intertisyel fibrosis de rol oynadıkları Ehara ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (3).

Bu çalışmada fare diyaframlarında emilen -emilmeyen sutur materyallerine karşı doku reaksiyonu sewell indeksi ile ve mast hücre sayısı kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu konuda daha önce yapılmış olan herhangi bir kaynak, taramalarımızda bulunmamıştır. Sewell indeksi semikantitatif değerlendirme olmakla birlikte bugün için doku reaksiyonlarını değerlendirmede en çok kullanılan bir yöntemdir (2,4-6).

Bizim çalışmamızda da Sewell indeksine göre denek gruplarımız kontrol grubumuz ile karşılaştırıldığında yangısal cevap derecesi açısından anlamlı fark görülmüştür.

Çalışma grubumuz içinde emilemez dikiş materyali olan ipek grubu ile emilebilir vicryl ve PDS arasında anlamlı fark görülmüştür ($P<0.05$). Çalışma grubumuz içinde mast hücre sayısı ile fibroblast sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Çalışmamızda cerrahi kesilerde emilemez ipek dikiş materyalleri yerine vicryl veya PDS gibi emilebilir dikiş materyallerinin kullanımının, doku reaksiyonu fibrozis-mast hücresi açısından daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma bu konuda yapılmış ilk deneysel çalışma olması nedeniyle geniş serili insan çalışmaları ile desteklenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbin's Pathologic Basis of Disease, Sixth Ed, New York: WB Saunders 1999; 89-110.
2. Van Rijssel EJC, Brand R, Admiraal C, Smit I, Trimbos B. Tissue reaction and surgical knots: The effect of suture size, knot configuration, and knot volume. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 64-68.
3. Ehara T, Shigematsu H. Contribution of mast cells to the tubulointerstitial lesions in IgA nephritis. *Kidney Intern* 1998; 54: 1675-83.
4. Van Rijssel EJC, Trimbos JB, Costa A da, Fleuren GJ, Brand R. Assessment of tissue reaction at suture knots; an adaptation of Sewell' s scoring system. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1988; 27: 165-72.
5. Postlethwait RW, Willigan DA, Alex W. Ulin. Human tissue reaction to sutures. *Ann Surg* 1975; 181(vol2) : 144-48.
6. Riddick DH, DeGrazia CT, Maenza RM. Comparison of polyglactin and polyglycolic acid sutures in reproductive tissue. *Fertil Steril* 1977; 28: 1220-25.
7. Claman HN. On scleroderma. Mast cells, endothelial cells and fibroblasts. *JAMA* 1989; 262: 1206-1209.
8. Qu Z, Liebler JM, Powers MR et all. Mast cells are a major source of basic fibroblast growth factor in chronic inflammation and cutaneous hemangiom. *Am J Pathol* 1995; 147: 564-73.
9. Craig SS, Deblois G, Schwartz LB. Mast cells in human keloid.small intestine and lung by an immunoperoxidase technique using a murine monoclonal antibody against tryptase. *Am J Pathol* 1986; 124: 428-35.
10. Schulman ES. The role of mast cells in inflammatory responses in the lung. *Crit Rev Immunol* 1993; 131: 35-70.

Yazışma Adresi:

Dr. Fulya Çakalağaoğlu
Kalfa çeşme sokak Validebağ sitesi 1.Blok Daire 7
81020 Koşuyolu-İstanbul
Tel: 0216 3271905 (iş), 0216 3268585 (ev).
Fax: 0216 327 19 05
e-mail: fulya@netone.com.tr