

Συγκριτική μελέτη της αγγειογενετικής δραστηριότητας ελεύθερων μοσχευμάτων στην αποκατάσταση πειραματικού ελλείμματος ουρήθρας σε κονίκλους

ΣΚΟΠΟΣ Σκοπός αυτής της πειραματικής μελέτης ήταν η εκτίμηση της αγγειογενετικής δραστηριότητας ελεύθερου μοσχεύματος πόσθης, καθώς και μοσχευμάτων βλεννογόνου στόματος και ουροδόχου κύστης, στην αποκατάσταση ελλείμματος ουρήθρας σε κονίκλους. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Χρησιμοποιήθηκαν 28 αρσενικά, λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας, τα οποία χωρίστηκαν σε 4 ομάδες (Ο, Α, Β και Γ). Στις ομάδες Α, Β και Γ, στο κοιλιακό τμήμα της ουρήθρας δημιουργήθηκε έλλειμμα. Η βλάβη αποκαταστάθηκε με ουρηθροπλαστική τύπου onlay, χρησιμοποιώντας ελεύθερο μόσχευμα πόσθης στην ομάδα Α (n=6) και μοσχεύματα βλεννογόνου στόματος και ουροδόχου κύστης στις ομάδες Β (n=6) και Γ (n=6), αντίστοιχα. Στην ομάδα Ο (ομάδα ελέγχου, n=4) έγινε απλή ουρηθροτομή και σύγκλειση. Την 21η μετεγχειρητική ημέρα τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία. Η αγγειογενετική δραστηριότητα εξετάστηκε με τη βοήθεια της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου-τεχνικής αλκαλικής αντι-αλκαλικής φωσφατάσης (ΑΡΑΑΡ) και με τη χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος αντι-CD31. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση της δοκιμασίας one-way ANOVA. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Η μέση τιμή±SD της αγγειογένεσης ανά οπτικό πεδίο σε μεγέθυνση ×200 ήταν για την ομάδα Ο: 34,16±4,12, την ομάδα Α: 61,72±6,42, την ομάδα Β: 94,33±6,44 και την ομάδα Γ: 91,50±7,22. Η στατιστική ανάλυση έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ των ομάδων Α και Β, καθώς και μεταξύ των ομάδων Α και Γ (P<0,001). Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν βρέθηκε να υπάρχει μεταξύ των ομάδων Β και Γ (P>0,5). **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Η βιωσιμότητα των βλεννογονικών μοσχευμάτων στόματος και ουροδόχου κύστης στην αποκατάσταση ελλείμματος ουρήθρας αποδεικνύεται να είναι καλύτερη από αυτή του ελεύθερου μοσχεύματος πόσθης, λόγω της υψηλότερης αγγειογενετικής δραστηριότητας.

Η αποκατάσταση της ουρήθρας σε πολλές παθολογικές καταστάσεις, όπως σε στενώσεις οποιασδήποτε αιτιολογίας, στις τραυματικές βλάβες και κυρίως στον υποσπαδία, αποτελεί ένα από τα παλαιότερα προβλήματα στην Επανορθωτική Χειρουργική και μια από τις σοβαρότερες προκλήσεις για το χειρουργό, ο οποίος καλείται να τις αντιμετωπίσει.

Μια μεγάλη ποικιλία από ελεύθερα μοσχεύματα έχουν χρησιμοποιηθεί, τόσο πειραματικά όσο και κλινικά, στην αποκατάσταση ελλείμματος ουρήθρας. Σε αυτά περιλαμβάνονται ελεύθερο μόσχευμα πόσθης και ακροποσθίας,¹ δέρμα,² βλεννογόνος ουροδόχου κύστης και στόματος,^{3,4} κοινός ελυτροειδής χιτώνας,⁵ περιτόναιο,⁶ φλέβα,⁷ υποβλεννογόνιος χιτώνας λεπτού εντέρου,⁸ βλεννογόνος

Α. Καμπούρη,^{1,4}
Σ. Γαρδίκης,¹
Α. Γιατρομανωλάκη,²
Π. Υψηλιάντης,³
Σ. Μποταΐτης,³
Σ. Περεντέ,³
Ε. Ευσταθίου,³
Σ. Αντύπας,⁴
Α. Πολιυχρονίδης,³
Ε. Συβρίδης,²
Κ. Σιμόπουλος^{1,3}

¹Παιδοχειρουργική Κλινική,
²Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής,
³Β' Χειρουργική Κλινική και Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Αλεξανδρούπολη,
⁴Α' Παιδοχειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο Παιδών Αθήνας «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

A comparative study in angiogenic activity in free grafts after urethral reconstruction in rabbits

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αγγειογένεση
Βλεννογόνος ουροδόχου κύστης
Βλεννογόνος στόματος
Δέρμα πόσθης
Έλλειμμα ουρήθρας
Κόνικλος
Μόσχευμα

Έπαινος
Έπαθλο «Σωτήρης Παπασταμάτης» 2004

παχές εντέρου⁹ και σκωληκοειδής απόφυσ. ¹⁰ Έχουν επίσης περιγραφεί αυτόλογα μοςχεύματα από κυτταροκαλλιέργεια ουρηθρικού επιθηλίου¹¹ και στρώματος κολλαγόνου στερούμενου κυττάρων.¹² Το γεγονός ότι έχουν περιγραφεί τόσο διαφορετικοί τύποι μοςχευμάτων υποδηλώνει ότι δεν έχει βρεθεί μέχρι σήμερα το ιδανικό μόσχευμα για την αποκατάσταση των ελλειμμάτων ουρήθρας.¹³

Στην κλινική πράξη, τα ελεύθερα μοςχεύματα που συνήθως χρησιμοποιούνται για την αποκατάσταση ελλείμματος ουρήθρας είναι η πόσθη, η ακροποσθία, καθώς και οι βλεννογόνοι στόματος και ουροδόχου κύστης.¹⁴

Αυτή η πειραματική μελέτη σχεδιάστηκε με σκοπό να εξετάσει την αγγειογενετική δραστηριότητα ελεύθερων μοςχευμάτων πόσθης, βλεννογόνου στόματος και βλεννογόνου ουροδόχου κύστης. Χρησιμοποιήθηκε ως πειραματικό μοντέλο ο κόνικλος, γιατί η ανατομία του πέους του προσομοιάζει με αυτή του ανθρώπου, ενώ το μέγεθός του είναι ικανοποιητικό για πειραματικούς χειρισμούς.¹⁵

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Ζώα

Χρησιμοποιήθηκαν 28 αρσενικά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας, ηλικίας 6 μηνών, βάρους 3,8–4,2 kg. Ο σταβλισμός γινόταν ξεχωριστά για κάθε κόνικλο σε συρμάτινα κλουβιά κάτω από ρυθμιζόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία δωματίου 20±2 °C, σχετική υγρασία 50–60%, φωτισμός ελεγχόμενος από χρονοδιακόπτη, έτσι ώστε να υπάρχει 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι). Στα ζώα χορηγούνταν ημερησίως 125 g ισορροπημένη τροφή για κόνικλους (#51 EL.VI.Z, Ελλάδα) και νερό κατά βούληση.

Όλα τα πειραματόζωα παρέμεναν νηστικά 24 ώρες πριν από το πείραμα, ενώ ήταν ελεύθερη η λήψη νερού μέχρι 3 ώρες πριν από την έναρξη του πειράματος.

Πειραματικός σχεδιασμός

Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε τέσσερις ομάδες (Ο, Α, Β και Γ). Στις ομάδες Α, Β και Γ δημιουργήθηκε έλλειμμα ουρήθρας, το οποίο αποκαταστάθηκε με ελεύθερο μόσχευμα πόσθης (ομάδα Α, n=6), με μόσχευμα βλεννογόνου στόματος (ομάδα Β, n=6) και με μόσχευμα βλεννογόνου ουροδόχου κύστης (ομάδα Γ, n=6). Στην ομάδα Ο (ομάδα ελέγχου, n=4), έγινε απλή ουρηθροτομή και σύγκλειση. Όλα τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία την 21η μετεγχειρητική ημέρα. Τα πένε αφαιρούνταν από τη ρίζα τους και τα παρασκευάσματα στέλνονταν για εκτί-

μηση της αγγειογενετικής δραστηριότητας με ανοσοϊστοχημική μέθοδο.

Το πειραματικό αυτό πρωτόκολλο είχε άδεια (Τ/1926-1/11/01) από την επιτροπή της Κτηνιατρικής Υπηρεσίας της περιοχής, σύμφωνα με τους Ν. 1197/81 και Γ.Δ. 160/91 και ήταν συμβατό με τις διατάξεις της Ευρωπαϊκής Ένωσης 86/609/ΕΕ.

Αναισθησία

Τα ζώα υποβλήθηκαν σε προνάρκωση με υδροχλωρική ξυλαζίνη (Rompum 2%, 5 mg/kg ενδομυϊκά) και ατροπίνη (0,04 mg/kg ενδομυϊκά). Μετά από 20 min, η γενική αναισθησία εγκαταστάθηκε με έγχυση υδροχλωρικής κεταμίνης (Ketaset 10%, 50 mg/kg ενδομυϊκά). Η αναισθησία διατηρήθηκε είτε με επαναληπτικές δόσεις κεταμίνης (ομάδες Ο και Α) είτε με έγχυση ισοφλουρανίου (0,5–1% σε οξυγόνο), μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση (ομάδες Β και Γ). Στη δεύτερη περίπτωση, χρησιμοποιήθηκε συσκευή χορήγησης εισπνευστικής αναισθησίας-αναπνευστήρας πίεσης (ADS 1000 Veterinary Anesthesia Delivery System/Engler, Florida USA), που λειτουργούσε σε ανοικτό κύκλωμα. Παρέχονταν 12 L αναισθητικού μίγματος ανά min, 30 αναπνοές/min, 15 cmH₂O (PIP) και -2 cmH₂O υποβοηθούμενη αναπνοή.

Χειρουργική τεχνική

Τα κουνέλια τοποθετούνταν σε ύπτια θέση και η αποστείρωση του χειρουργικού πεδίου γινόταν με τη χρήση ρονιδονε-iodine 10%. Μετά τον καθετηριασμό της ουρήθρας με ουροκαθετήρα 10 Fr, ετίθετο στερεωτικό ράμμα 3,0 μετάξι ατραυματικό επί της βαλάνου, ώστε το πέος να βρίσκεται σε έλξη. Με τομή κατά μήκος του κοιλιακού τμήματος του πέους παρασκευάζονταν η ουρήθρα. Ακολουθούσε αφαίρεση τμήματος ουρήθρας διαστάσεων 0,5×1,0 cm (περίπου 1/3 της διαμέτρου της) στις ομάδες Α, Β και Γ και σε απόσταση περίπου 3 cm από το έξω στόμιο της ουρήθρας. Στην ομάδα Ο έγινε απλή ουρηθροτομή και σύγκλειση με συνεχόμενη ραφή 7-0 vicryl.

Η τεχνική λήψης των μοςχευμάτων από την πόσθη, τη στοματική κοιλότητα και την ουροδόχο κύστη γινόταν ως εξής: Στα ζώα όπου χρησιμοποιήθηκε μόσχευμα από πόσθη (ομάδα Α), το μόσχευμα ελήφθη από το δέρμα της ραχιαίας επιφάνειας του πέους. Στην ομάδα Β ελήφθη μόσχευμα ολικού πάχους από το βλεννογόνο του εσωτερικού τμήματος της παρειάς, χρησιμοποιώντας νυστέρι και οξυαίχμο ψαλίδι. Το τραύμα που δημιουργήθηκε στο σημείο αυτό συγκλείστηκε με μεμονωμένες ραφές, 5-0 vicryl. Στην ομάδα Γ, το κοιλιακό τοίχωμα αποστειρώθηκε με ρονιδονε-iodine 10%. Η ουροδόχος κύστη αποκαλύφθηκε μέσω εγκάρσιας τομής, αφού διαχωρίστηκε ο εξωστήρας μυς. Τέσσερα στηρικτικά ράμματα από 6-0 vicryl τοποθετήθηκαν στις γωνίες του εκτεθειμένου βλεννογονικού τμήματος. Το απομονωμένο αυτό τμήμα του βλεννογόνου της κύστης αφαιρέθηκε και το τραύμα κλείστηκε με συνεχόμενη

ραφή με 5-0 vicryl, ενώ το δέρμα συμπλησιάζονταν με μεμονωμένες ραφές, 3-0 vicryl.

Τα μοσχεύματα τοποθετούνταν σε ξύλινη σπάτουλα για να διαταθούν και αφαιρείτο η ενδεχομένη υπέρχρηστος περίσσεια υποδόριου συνδετικού ιστού. Στη συνέχεια, τοποθετούνταν πάνω στο έλλειμμα ουρήθρας με τρόπο onlay και ακολουθούσε συρραφή με συνεχόμενη ραφή, 7-0 vicryl. Πολλαπλά, μη απορροφήσιμα μεμονωμένα ράμματα, 7-0 prolene, τοποθετήθηκαν στα όρια της ραφής για σήμανση της περιοχής του μοσχεύματος. Η σύγκλιση γινόταν σε δύο στρώματα με μεμονωμένες ραφές (πρώτο στρώμα: υποδόριο με 7-0 vicryl, δεύτερο στρώμα: δέρμα με 6-0 vicryl).

Μετεχειρητική πορεία

Σε όλα τα ζώα μετεχειρητικά τοποθετήθηκε κολάρο τύπου Elizabeth για 7 ημέρες, για την αποφυγή αυτοτραυματισμού της χειρουργημένης περιοχής και της αυτοαφαίρεσης του καθετήρα. Στα ζώα χορηγήθηκε αντιβίωση (κεφταζιμίνη 10 mg/kg/12 ώρες ενδομυϊκά), η οποία διεκόπητο μέχρι την αφαίρεση του ουροκαθετήρα την 7η μετεχειρητική ημέρα.

Την 21η μετεχειρητική ημέρα, όλα τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία με υπερδοσολογία ισοφλουρανίου με μάσκα. Τα πένε αφαιρούνταν από τη ρίζα τους και τοποθετούνταν σε διάλυμα φορμαλδεΐδης 10%.

Ανοσοϊστοχημεία

Η αγγειογενετική δραστηριότητα εξετάστηκε σε ιστούς παραφίνης με τη βοήθεια της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου-τεχνικής αλκαλικής φωσφατάσης αντι-αλκαλικής φωσφατάσης (ΑΡΑΑΡ) και τη χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος CD31. Οι τομές αποπαραφινώθηκαν, ενυδατώθηκαν και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με διάλυμα πρωτεάσης τύπου XXIV για 20 min σε 37 °C. Το πρωτοπαθές αντίσωμα CD31 (Dako, Denmark, 1:50) εφαρμόστηκε στις τομές για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Οι τομές ξεπλύθηκαν με TBS και εφαρμόστηκε το δευτεροπαθές αντίσωμα rabbit anti-mouse antibody (1:50) για 30 min, ακολουθούμενο από το σύμπλεγμα ΑΡΑΑΡ (1:1), επίσης για 30 min. Τα δύο στάδια επαναλήφθηκαν για 10 min το καθένα. Η μέθοδος ολοκληρώθηκε με επώαση των τομών σε διάλυμα New Fuchsin για 20 min.

Η εκτίμηση της αγγειακής πυκνότητας πραγματοποιήθηκε στα όρια φυσιολογικού ιστού-μοσχεύματος, σε τρεις περιοχές υψηλής νεοαγγείωσης σε μεγέθυνση $\times 200$. Το τελικό αποτέλεσμα ήταν ο μέσος όρος των τιμών των τριών επιλεγόμενων πεδίων. Η μέτρηση συμπεριελάμβανε μόνο νεοαγγειακές δομές με σαφή αυλό, ενώ μεμονωμένα ενδοθηλιακά κύτταρα εξαιρέθηκαν από τις μετρήσεις. Το πρωτοπαθές αντίσωμα CD31 εκφραζόταν επίσης σε υποπληθυσμό λεμφοκυττάρων και ο βαθμός της λεμφοκυτταρικής αυτής αντίδρασης εκτιμήθηκε στα εξεταζόμενα δείγματα.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSSv.11 (SPSS Inc). Η κανονικότητα ελέγχθηκε με τις δοκιμασίες Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk. Η πολλαπλή σύγκριση των τιμών έγινε με τη δοκιμασία one-way ANOVA. Όλα τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσες τιμές \pm σταθερή απόκλιση (SD). Η μέση τιμή κρίνεται στατιστικά σημαντική στο επίπεδο $P < 0,05$.

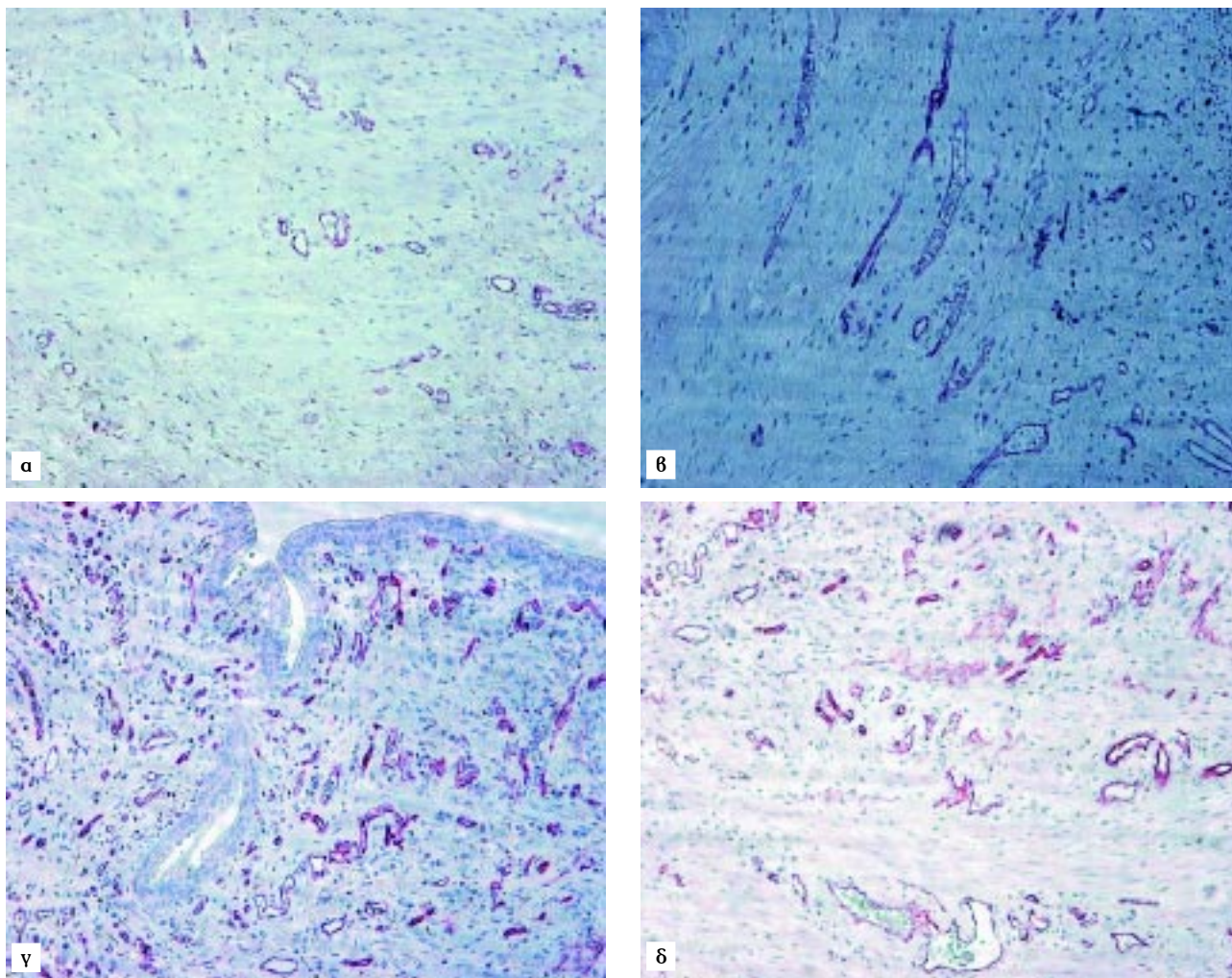
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλα τα ζώα επιβίωσαν στην προγραμματισμένη περίοδο ζωής τους χωρίς σημεία λοίμωξης ή εμφάνισης άλλων επιπλοκών, όπως ανάπτυξης ουρηθροδερματικών συριγγίων, στενώσεων, διάσπασης τραύματος κ.λπ. Μακροσκοπικά, οι αυλοί κάθε ουρήθρας είχαν διάμετρο 3,5–4,5 mm και δεν παρουσίαζαν μεταξύ τους μακροσκοπικές διαφορές, αν και είχαν τοποθετηθεί διαφορετικοί τύποι μοσχευμάτων. Η μέση τιμή \pm SD της αγγειογενετικής δραστηριότητας στην περιοχή που δεχόταν το μόσχευμα, όπως αυτή μετρήθηκε από την προαναφερόμενη μέθοδο ανοσοϊστοχημείας στις 4 ομάδες, ήταν: Ομάδα Ο: $34,16 \pm 4,12$, ομάδα Α: $61,72 \pm 6,42$, ομάδα Β: $94,33 \pm 6,44$, ομάδα Γ: $91,50 \pm 27,94$ (εικ. 1).

Η στατιστική ανάλυση έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων Ο και Α, Β, και Γ ($P < 0,001$) και ανάμεσα στις ομάδες Α, Β και Γ ($P < 0,001$). Αντίθετα, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ($P = 0,896$) μεταξύ των ομάδων Β και Γ (εικ. 2). Τα αποτελέσματα ερμηνεύτηκαν ως εξής: Ο βαθμός της αγγειογενετικής δραστηριότητας των μοσχευμάτων από βλεννογόνο στόματος και ουροδόχου κύστης είναι υψηλότερος από αυτόν του ελεύθερου μοσχεύματος πόσθης, ενώ είναι παρόμοιος μεταξύ μοσχευμάτων βλεννογόνου ουροδόχου κύστης και στόματος.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο όρος αγγειογένεση χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1935 από τον Herting, προκειμένου να περιγράψει το σχηματισμό νέων αγγείων στον πλακούντα και ορίζεται ως ο σχηματισμός νέων τριχοειδικών αγγείων από προϋπάρχοντα τριχοειδή. Διαδραματίζει έναν ουσιαστικό ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρύου, στον αναπαραγωγικό κύκλο των θηλέων, σε παθήσεις όπως ο καρκίνος, η ψωρίαση, η αρθρίτιδα, η διαβητική αμφιβλοστροειδοπάθεια, καθώς και στην επουλωση των τραυμάτων. Η διαδικασία της αγγειογένεσης αρχίζει με την

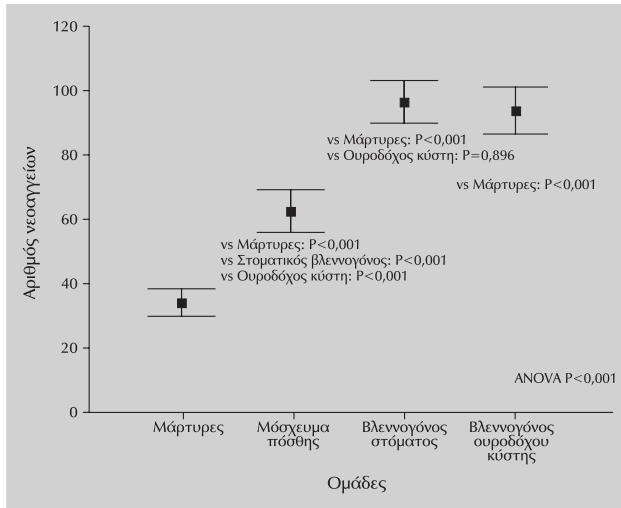


Εικόνα 1. Μικροαγγειακή πυκνότητα των ομάδων Ο, Α, Β και Γ. (α) Απλή σύγκλιση. (β) Ελεύθερο μόσχευμα πόσθης. (γ) Μόσχευμα βλεννογόνου στόματος. (δ) Μόσχευμα βλεννογόνου ουροδόχου κύστης. Ανοσοϊστοχημική μέθοδος-τεχνική αλκαλικής αντι-αλκαλικής φωσφατάσης (ΑΡΑΑΡ)-μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CD31.

παραγωγή και απελευθέρωση αγγειογενετικών παραγόντων (bFGF, VEGF). Οι παράγοντες αυτοί δεσμεύονται από ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούνται και παράγουν πρωτεολυτικά ένζυμα (matrix metalloproteinases MMPs, urokinase plasminogen activator Ura και κολλαγενάση τύπου 4), τα οποία επιφέρουν πρωτεολυτική αποδόμηση της βασικής μεμβράνης των αγγείων και της παρακείμενης εξωκυττάριας ουσίας. Τα ενδοθηλιακά αυτά κύτταρα πολλαπλασιάζονται με γοργούς ρυθμούς και σχηματίζουν μικρές εκβλαστήσεις στα τοιχώματα των τριχοειδών και των φλεβιδίων. Ακολουθεί μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, με σχηματισμό μικρών συμπαγών αγγειακών βλαστών. Οι ενδοθηλιακές αυτές εκβλαστήσεις διαφοροποιούνται, σχηματίζοντας σωληνώδεις δομές και νέες βασικές μεμβράνες. Από τη διαδοχι-

κή αυτή συνένωση διαμορφώνεται στην περιοχή νέο δίκτυο αιμοφόρων τριχοειδών αγγείων. Το κύριο ερέθισμα για την ενεργοποίηση της διαδικασίας της νεοαγγειογένεσης είναι η υποξία, η οποία προάγει την παραγωγή και απελευθέρωση των αγγειογενετικών παραγόντων, που διαχέονται στους γύρω ιστούς.^{16,17}

Είναι κοινά αποδεκτό ότι ο μισχωτός κρημνός από δέρμα πόσθης ή ακροποσθίας έχει τα καλύτερα αποτελέσματα για την επανόρθωση βλαβών (ελλείμματα, στενώσεις) της ουρήθρας. Στις περιπτώσεις όμως εκείνες όπου η δημιουργία μισχωτού κρημνού δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί, απαιτείται η χρήση ελεύθερου μοσχεύματος. Θεωρητικά, το ιδανικό μόσχευμα πρέπει να πληροί 4 κριτήρια: (α) να είναι εύκολα διαθέσιμο, (β) να επιθηλιοποιείται, (γ) ωστόσο ξεκινήσει και ολοκληρωθεί η διεργασία της επιθηλιοποίησης πρέπει να παρέχει στεγανό-



Εικόνα 2. Ιστόγραμμα στο οποίο συνοψίζονται το εύρος και οι μέσες τιμές±σταθερή απόκλιση του αριθμού των νεοαγγείων στις 4 ομάδες, καθώς και η μεταξύ των ομάδων ύπαρξη ή όχι στατιστικά σημαντικής διαφοράς (P στατιστικά σημαντικό στο επίπεδο <0,05).

τητα μεταξύ του αυλού της νεοουρήθρας και των περιουρηθρικών ιστών για την αποφυγή της διαβροχής των περιβαλλόντων ιστών από ούρα, με συνέπεια πιθανές επιπλοκές (φλεγμονή, συρίγγια, διάσπαση κ.λπ.) και (δ) κυρίως πρέπει να διεγείρει τη νεοαγγειογένεση, ώστε να αυξάνεται η πιθανότητα επιβίωσης του μοσχεύματος.^{18,19}

Ένα ελεύθερο μόσχευμα τις πρώτες 24–48 ώρες τρέφεται με διαπίδυση ορού από τους παρακείμενους ιστούς. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα αρχίζει η διαδικασία της νεοαγγειογένεσης, της οποίας η αγγειογενετική δραστηριότητα φθάνει στο μέγιστο βαθμό περίπου στις 7 ημέρες.²⁰ Είναι γενικά αποδεκτό από την κλινική εμπειρία ότι ο βαθμός αγγείωσης της περιοχής απ' όπου λαμβάνεται το μόσχευμα, το πάχος της βασικής μεμβράνης του, καθώς και ο βαθμός αγγείωσης της περιοχής η οποία θα δεχθεί το μόσχευμα, επηρεάζουν τη βιωσιμότητα.²¹ Αυτή, με τη σειρά της, εξαρτάται από την επαναγγείωση του μοσχεύματος, η οποία επιτυγχάνεται με τη διαδικασία της νεοαγγειογένεσης.^{17,20} Οι Wessels et al ανακοίνωσαν ότι τα ελεύθερα μοσχεύματα που τοποθετούνται στην πείκη ουρήθρα είναι περισσότερο πιθανό να αποτύχουν, συγκρινόμενα με τα μοσχεύματα που τοποθετούνται στη βολβώδη ουρήθρα, λόγω πτωχότερης αιμάτωσης της περιοχής.²² Οι Duchett et al, χρησιμοποιώντας ιστολογική εξέταση και ανοσοϊστοχημική μέθοδο, εξέτασαν και συνέκριναν το πάχος της βασικής μεμβράνης (lamina propria), καθώς και την αγγείωση των μοσχευμάτων βλεννογόνου στόματος, βλεννογόνου ουροδόχου κύστης και ελεύθερου μοσχεύματος πόσθης, στον άνθρωπο. Ανέφεραν ότι το μόσχευμα από

βλεννογόνο στόματος παρουσιάζει μεγαλύτερο βαθμό αγγείωση από το δέρμα πόσθης και το βλεννογόνο ουροδόχου κύστης και ότι η βασική του μεμβράνη εμφανίζει το μικρότερο πάχος σε σχέση με τα άλλα δύο μοσχεύματα. Απέδωσαν τα καλά κλινικά αποτελέσματα της χρήσης του βλεννογόνου στόματος στην κατασκευή νεοουρήθρας στον υποσπαδία σε αυτές τις δύο ιδιότητες του συγκεκριμένου βλεννογόνου.²³

Μολονότι η μελέτη αυτή είναι πειραματική, ωστόσο, βασιζόμενοι στο γεγονός ότι η ιστολογική δομή δέρματος πόσθης και βλεννογόνων στόματος και ουροδόχου κύστης στον κόνικλο προσομοιάζουν με εκείνη του ανθρώπου,^{15,26} μας επιτρέπει να συμπεράνουμε ότι τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν μερικώς την από τους Duchett et al προαναφερθείσα αναφορά,²³ καθώς οι βλεννογόνοι στόματος και ουροδόχου κύστης παρουσίασαν παρόμοια αγγειογενετική δραστηριότητα. Επίσης, τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τα αναφερόμενα από άλλους συγγραφείς ότι το δέρμα της γεννητικής περιοχής είναι το καταλληλότερο ελεύθερο μόσχευμα για την αποκατάσταση ελλειμμάτων ουρήθρας.^{18,24,25}

Η συγκεκριμένη πειραματική μελέτη είναι η πρώτη στη βιβλιογραφία η οποία εξετάζει την αγγειογενετική δραστηριότητα μοσχευμάτων και ιδιαίτερα στην αποκατάσταση ελλείμματος ουρήθρας. Όλες οι άλλες βιβλιογραφικές αναφορές, για την καταλληλότητα των μοσχευμάτων, προέρχονται είτε από την κλινική εμπειρία των συγγραφέων είτε από την ιστολογική ή ανοσοϊστοχημική εξέταση των μοσχευμάτων μεμονωμένα και όχι από την αγγειογενετική συμπεριφορά του μοσχεύματος, καθώς και της περιοχής υποδοχής του.²³

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αγγειογενετική δραστηριότητα μεταξύ των μοσχευμάτων του στοματικού βλεννογόνου είναι παρόμοια με αυτή του βλεννογόνου της ουροδόχου κύστης. Πρακτικά, η τεχνική λήψης του μοσχεύματος από το βλεννογόνο του στόματος πραγματοποιείται πιο εύκολα²¹ σε σύγκριση με τη λήψη μοσχεύματος από την ουροδόχο κύστη, που απαιτεί κυστεοτομή.¹³

Η σχετικά μικρή αγγειογενετική δραστηριότητα που παρουσίασε η ομάδα Ο μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η πτώση της τοπικής πίεσης του οξυγόνου (υποξία) στην περιοχή των τραυματισμένων ιστών ήταν μικρότερου βαθμού, με συνέπεια τη μείωση της πυκνότητας της νεοαγγειογένεσης. Οι υπόλοιπες ομάδες εμφάνισαν μεγαλύτερο βαθμό αγγειογενετική δραστηριότητα επειδή το έλλειμμα ουρήθρας αποκαταστάθηκε με τη χρήση ελεύθερων υποξαιμικών μοσχευμάτων, με συνέπεια ο βαθμός υποξίας να είναι μεγαλύτερος.¹⁷

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης μας συνηγορούν σαφώς υπέρ της άποψης ότι η βιωσιμότητα των μοσχευμάτων από βλεννογόνο στόματος και βλεννογόνο ουροδόχου κύστης είναι καλύτερη από την αντίστοιχη του ελεύθερου μοσχεύματος πόσθης, λόγω

υψηλότερης αγγειογενετικής δραστηριότητας. Επίσης, μόσχευμα εκλογής αναδεικνύεται ο στοματικός βλεννογόνος, που αν και παρουσίασε την ίδια αγγειογενετική δραστηριότητα με αυτή της ουροδόχου κύστης, υπερέχει ως προς την ευκολία της χειρουργικής τεχνικής.

ABSTRACT

A comparative study in angiogenic activity in free grafts after urethral reconstruction in rabbits

E. KAMPOURI,^{1,4} S. GARDIKIS,¹ A. GIATROMANOLAKI,² P. IPSILANTIS,³ S. BOTAITIS,³ S. PERENTE,³
E. EFSTATHIOU,¹ S. ANTYPAS,⁴ A. POLYCHRONIDIS,³ E. SIVRIDIS,² C. SIMOPOULOS^{1,3}

¹Department of Pediatric Surgery, ²Department of Pathology, ³2nd Department of Surgery and Laboratory of Experimental Surgery, Democritus University of Thrace, Medical School, University Hospital of Alexandroupolis, Alexandroupolis, ⁴1st Department of Pediatric Surgery, "Aghia Sophia" Children's Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2004, 21(6):556-562

OBJECTIVE To determine whether the use of the free penile skin or mucosal grafts from bladder or buccal regions would be more suitable for urethral reconstruction in an animal model, as expressed by the study of angiogenic activity. **METHOD** Twenty-eight male, white New Zealand rabbits were randomly divided into four groups (O, A, B, and C). Urethrotomy and simple closure was performed in group O (controls, n=4). A ventral urethral defect was created in the other groups. The defect was repaired in an onlay fashion using free penile graft in group A (n=6), buccal mucosal graft in group B (n=6), and bladder mucosal graft in group C (n=6). On the 21st post-operative day, the animals were euthanized. The angiogenic activity was assessed by immunohistochemical methods, using the anti-CD31 MoAb and the APAAP procedures. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA test. **RESULTS** The means±SD of angiogenesis in the optical field at an enlargement ×200 was: group O 34.16±4.12, group A 61.72±6.42, group B 94.33±6.44, group C 91.50±7.22. The statistical analysis showed statistically significant differences (P<0.001) between groups A and B and groups A and C but no statistical difference (P=0.896) between groups B and C. **CONCLUSIONS** The viability of mucosal grafts from buccal or bladder regions proved better than free penile graft, because of higher angiogenic activity.

Key words: Angiogenesis, Bladder mucosa, Buccal mucosa, Free penile graft, Graft, Rabbit, Urethral defect

Βιβλιογραφία

- HENDREN WH, HORTON CE. Experience with 1-stage repair of hypospadias and chordee using free grafts of prepuce. *J Urol* 1988, 140:1259-1264
- GASCHIGNARD N, PRUNET D, VASSE N, BUZELIN JM, BOUCHOT O. Skin graft urethroplasty. *Prog Urol* 1999, 9:112-117
- MOLLARD P, MOURIQUAND PDE, BRINGEON G. Repair of hypospadias using a bladder mucosal graft in 76 patients. *J Urol* 1989, 131:1140-1142
- DUCKETT JW, COPLEN D, EWALT D, BASKIN LS. Buccal mucosa in urethral reconstruction. *J Urol* 1995, 153:1660
- SNOW BW, CARTWRIGHT PC. Tunica vaginalis urethroplasty. *Urology* 1992, 40:442-445
- NANNI L, VALLSCIANI S, FADDA G, PERRELLI L. Free peritoneal grafts for patch urethroplasty in male rabbits. *J Urol* 2001, 165:578-580
- KAHVECI R, KAHVECI Z, SIRMALI S, OZCAN M. Urethral reconstruction with autologous vein graft: an experimental study. *Br J Plast Surg* 1995, 48:500-503
- KROPP BP, LUDLOW JK, SPICER D, RIPPY MK, BADYLAK SF, ADAMS MC ET AL. Rabbit urethral regeneration using small intestinal submucosa onlay grafts. *Urology* 1998, 52:138-142
- XU YM, QIAO Y, SA YL, ZHANG J, ZHANG HZ, ZHANG XR ET AL. One-stage urethral reconstruction using colonic mucosa graft: an experimental and clinical study. *World J Gastroenterol* 2003, 9:381-384
- KOSHIMA I, INAGAWA K, OKUYAMA N, MORIGUCHI T. Free vascularized appendix transfer for reconstruction of penile urethras with severe fibrosis. *Plast Reconstr Surg* 1999, 103:964-969

11. ROMAGNOLI G, DE LUCA M, FARANDA F, FRANZI AT, CACEDD R. One-step treatment of proximal hypospadias by the autologous graft of cultured urethral epithelium. *J Urol* 1993, 150:1204
12. CHEN F, YOO JJ, ATALA A. Acellular collagen matrix as a possible "off the shelf" biomaterial for urethral repair. *Urology* 1999, 54:407–410
13. OZGOK Y, OZGUR TAN M, KILCILER M, TAHMAZ L, ERDURAN D. Use of bladder mucosal graft for urethral reconstruction. *Int J Urol* 2000, 7:355–360
14. DUCKETT JW, BASKIN LS. Hypospadias. In: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG (eds) *Pediatric surgery*. MO, Mosby, St. Louis, 1998:1761–1781
15. BARON R, PAVAUX S, BLAN PS, SUQ P. Genitourinary system. In: Baron R, Pavaux S, Blan PS, Suq P (eds) *Atlas of rabbit anatomy*. Masson, Paris, 1973:86–88
16. GIATROMANOLAKI A, KOUKOURAKIS M. Tumor angiogenesis. *Iatriki* 1998, 73:484–490
17. SIVRIDIS E, GIATROMANOLAKI A. Angiogenesis, angiogenic factors and cancer: new targets, new prospectives. *Hellen Oncol* 2000, 36:73–80
18. CALDAMONE AA, EDSTROM LE, KOYLE MA, RABINOWITZ R, HULBERT WC. Buccal mucosal grafts for urethral reconstruction. *Urology* 1998, 5:15–19
19. HUBNER W, RURKA I, PORPACZY P, MIKO I. Autologous everted vein graft for repairing long-section urethral defects. *Urol Res* 1991, 19:131–134
20. FOLKMAN J. Clinical applications of research on angiogenesis. *Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. N Engl J Med* 1995, 333:1757–1763
21. MCGREGOR I. A free skin grafts. In: *Fundamental techniques of plastic surgery and their surgical applications*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1975:58–63
22. WESSELLS H, McANINCH JW. Use of free grafts in urethral stricture reconstruction. *J Urol* 1996, 155:1912–1915
23. DUCKETT JW, COPLEN D, EWALT D, BASKIN LS. Buccal mucosal urethral replacement. *J Urol* 1995, 153:1660–1663
24. AHMED S, GOUGH DCS. Buccal mucosal graft for secondary hypospadias repair and urethral replacement. *Br J Urol* 1997, 80:328–330
25. YERKES EB, ADAMS MC, MILLER DA, BROCK JW. Coronal cuff: a problem site for buccal mucosal grafts. *J Urol* 1999, 162:1442–1444
26. McLAUGHLIN CA, CHIASSON RB. Genitourinary system. In: McLaughlin CA, Chiasson RB (eds) *Laboratory anatomy of the rabbit*. McGraw-Hill, New York, 1990:30–33, 67–68, 96–98

Corresponding author:

E. Kambouri, 7–9 Vizienu str., GR-111 41 Athens, Greece