

T. C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

DENEYSEL MİKROCERRAHİ REPLANTASYON
MODELİ KULLANILARAK AMPUTE PARÇANIN
YAŞAYABİLİRLİĞİ AÇISINDAN STANDART RİNGER
LAKTAT ÇÖZELTİSİ İLE UW SOLÜSYONUNUN
ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Ali ÜÇKAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Yalçın AKIN

İZMİR – 2010

TEŞEKKÜR

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince ve bu tezin hazırlanmasında bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum, her türlü desteği ve birikimini esirgemeyen, yetişmemde tecrübelerinden yararlandığım, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Yalçın AKIN başta olmak üzere değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ecmel SONGÜR'e, Sayın Prof. Dr. Tahir GÜRLER'e, Sayın Prof. Dr. Mehmet ALPER'e, Sayın Prof. Dr. Z. Cüneyt ÖZEK'e, Sayın Doç. Dr. Ufuk BİLKAY'a, birlikte çalıştığım ve hiçbir zaman yardım ve desteklerini esirgemeyen çok sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Övünç AKDEMİR, Dr. Candan MEZİLİ, Dr. Hakan TEYMUR, Dr. Mircafer SEYİDOV, Dr. Ersin GÜR'e ve klinik hemşire ve personeline içten teşekkürü borç bilirim.

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum, tezimin tasarlanma ve geliştirilme aşamasındaki yoğun gayretlerini hiçbir zaman unutamayacağım kliniğimiz uzmanı Sayın Op. Dr. Yiğit Ö. TİFTİKCİOĞLU'na, tezimin bilimsel içeriğinin hazırlanmasındaki desteğinden dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Gülnur SEVİN'e, histopatolojik değerlendirmeleri gerçekleştiren Sayın Doç. Dr. Deniz NART'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca yetişmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan değerli anne ve babama, çok sevgili kardeşlerime, tanıştığım günden beri bana her konuda destek olan sevgili eşim Op. Dr. Burcu ÜÇKAN'a, zorlu geçen son yılımı varlığıyla en güzel günlerime dönüştüren kızım Bilge'ye sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ali ÜÇKAN

Ocak 2010, Bornova

İÇİNDEKİLER

1- ÖZET	1
2- GİRİŞ ve AMAÇ	3
3- GENEL BİLGİLER	
3.1 Mikrocerrahinin Tarihçesi	5
3.2 Replantasyon ve Revaskularizasyon	7
3.3 İskemi – Reperfüzyon Hasarı	9
3.4. Kritik İskemi Süresi	9
3.5 Ampute Parçanın Muhafaza ve Transportu	10
3.6 Ringer Laktat Çözeltisi İçeriği ve Özellikleri	11
3.7 University of Wisconsin Çözeltisi İçeriği ve Özellikleri	11
4- GEREÇ ve YÖNTEM	
4.1 Etik Kurul Onayı	14
4.2 Deney Hayvanları ve Deneyin Yapıldığı Ortam	14
4.3 Deney Grupları	14
4.4 Cerrahi Model	15
4.5 Değerlendirme	23
4.6 Histopatolojik Değerlendirme	24
4.7 İstatistiksel Değerlendirme	24
5- BULGULAR	25
6- TARTIŞMA	34
7- SONUÇ	41
8- ABSTRACT	42
9- KAYNAKLAR	44

SEMBOLLER ve KISALTMALAR

UW	:	University of Wisconsin
UWS	:	University of Wisconsin Solüsyonu
RL	:	Ringer Laktat
SF	:	Serum Fizyolojik
°C	:	Santigrat-Derece
HE	:	Hematoksilen Eozin
PMNL	:	Polimorf nükleer lökosit
HES	:	Hydroxy-Ethyl Starch
EÜ	:	Ege Üniversitesi
ATP	:	Adenosine-Tri-Phosphate
LDH	:	Laktat Dehidrojenaz
KİS	:	Kritik İskemi Süresi
VEGF	:	Vascular Growth Factor
VEGF	:	Vascular Endotelial Growth Factor

1. ÖZET

Uzuv kayıpları ciddi psikolojik, sosyal ve fonksiyonel kayıpları da beraberinde getirmektedir. Ülkemizde sağlıklı istatistiksel veriler bulunmamakla birlikte bu tip yaralanmaların sıklığı son yıllarda iş sağlığı konusundaki gelişmelere rağmen hala yüksek seviyelerdedir. Son 45 yıldır, mikrocerrahinin keşfiyle her seviyeden uzuv amputasyonlarının replantasyonları mümkün hale gelmiştir^{1,2}. Uzuv amputasyonlarının yeterli tedavisi üçüncü basamak sağlık hizmeti veren sağlık kurumlarında yapılabilmektedir, bu nedenle amputasyonlu olgunun ve ampute parçanın uygun merkeze replante edilebilir şekilde ulaştırılması çok önemli bir faktördür. Replantasyona kadar geçen süre kadar ampute parçanın ulaştırılma şekli de replantasyon başarısını etkilemektedir.

Yapılan literatür taramalarında konvansiyonel olarak tariflenen buzlu Ringer Laktat (RL) veya izotonik sodyum klorür (SF) çözeltisine^{1,3} alternatif bir yöntem araştırılmamış ve tariflenmemiştir. Gerek insan sağlığını ve sosyal hayatını gerekse de iş gücü kaybını etkileyen uzuv kayıplarını azaltmak, replantasyon başarısını arttırabilmek için güncel ve alternatif yöntemlerin bilimsel kurallara uygun olarak araştırılarak ortaya konması amaçlanmıştır.

Uzuv amputasyonlarının replantasyon başarısında etkili bir faktör olan soğuk iskemiye bağlı meydana gelen kayıpları azaltmak ve kritik iskemi süresini uzatmak için klasik yöntemle alternatif olarak solid organ transplantasyonlarında Ege Üniversitesi (EÜ) Organ Nakli Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde ve dünyada yaygın kullanılan, altın standart olarak kabul edilen organ muhafaza çözeltilerden UWS⁴⁻⁶ (University of Wisconsin Solüsyonu) alternatif muhafaza ve transport çözeltisi olarak seçilerek toplam 20 Sprague-Dawley sıçan üzerinde standart yöntemle olan etkinliği araştırılmıştır.

Bu amaçla randomize kontrol grubu ve deney grubundaki sıçan sağ alt ekstremiteleri ketamin ve xylasine kombine genel anestezisi altında deneysel modele uygun olarak^{7,8} ampute edilerek kontrol grubunda ampute parça konvansiyonel yöntemle uygun olarak RL çözeltisi ile, çalışma grubunda ise UWS ile ıslatılmış gazlı beze sarılıp her iki grupta da steril poşet içinde buzlu su içeren izoleli kapta ortalama +4°C de kritik iskemi süresi olarak 10 saat bekletildikten sonra femoral arter ve ven anastomozları mikrocerrahi olarak gerçekleştirilerek replantasyon tamamlanmıştır. Kemik fiksasyonları ve kas-deri onarımı da uygulanmıştır. Replantasyon sonrası uzuv dolaşimleri takip edilerek 3. gün sonunda uzuvlar yeniden ampute

edilerek iskemi ve reperfüzyon sonrası değerlendirme için histopatolojik incelemeye tabii tutulmuşlardır.

Kontrol grubunda bir denekte replantasyon sonrası venöz geçiş izlenemediği için çalışmaya dahil edilmedi. Bunun dışında kontrol ve çalışma gruplarında tüm anastomozların replantasyon sonrası patent olduğu izlendi.

Histopatolojik olarak nekroz, polimorfonükleer lökosit, lenfosit, ödem, kollajen yoğunluğu, fibroblast proliferasyonu ve damar yoğunluğu parametreleri değerlendirilerek skorlandırıldı.

Elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye tabii tutulduğunda çalışma grubundaki histopatolojik skor kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu. Parametreler tek tek ele alındığında ise damar yoğunluğu açısından kontrol grubunda anlamlı olarak vaskülerite artışı olduğu sonucuna ulaşıldı.

Bu bilgiler ışığında, ampute parçanın mikrocerrahi olarak replantasyonu öncesi muhafaza ve transport şeklinin replantasyon başarısı üzerine etkisinin bilinen bir gerçektir. Replantasyon başarısını arttırabilmek için deneysel olarak çalıştığımız alternatif çözelti ile replantasyon sonrası klinik ve histopatolojik olarak geleneksel yöntemle oranla başarılı sonuçlar elde ettik.

Replantasyon başarısını arttırmak için soğuk muhafaza çözeltisi olarak UW çözeltisinin kullanılmasının yararlı olabileceğini, bu konuda daha ileri çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Uzuv kayıpları ciddi psikolojik, sosyal ve fonksiyonel kayıpları da beraberinde getirmektedir. Amputasyonlar kesilme, çarpışma, ezilme ve bunların kombinasyonlarına bağlı olarak oluşmaktadır. Herhangi bir yerde oluşabilmesine rağmen sıklıkla iş yerinde veya evde meydana gelmektedir. Çocuklarda bildirilen amputasyon vakaları genellikle araba, oda kapıları ve egzersiz ekipmanlarına bağlı oluşmaktadır. Erişkinlerde ise testere, bıçak ve her türlü elektrikli iş aletine bağlı olarak meydana gelmektedir. İş kazaları multifaktöryeldir ve demografik özellikleri sürekli olarak değişmektedir çünkü yeni iş emniyeti ekipmanları geliştirilmekte ve eski ekipmanlar önceki kazalara bağlı olarak adapte edilmektedir.

Ülkemizde sağlıklı istatistiksel veriler bulunmamakla birlikte bu tip yaralanmaların sıklığı son yıllarda iş sağlığı konusundaki gelişmelere rağmen halen yüksek seviyelerdedir.

Malt ve McKhann tarafından 1962 yılında gerçekleştirilen, üst kol amputasyonunun ilk başarılı replantasyonunu takiben, Komatsu ve Tamai 1968'de ampute bir başparmağı replante etmişlerdir¹. Bu tarihten itibaren büyük hastanelerde replantasyon ekipleri organize olmuş ve mikrocerrahi plastik cerrahların ve el cerrahlarının eğitimlerinin bir parçası haline gelmiş, böylelikle elektif mikrocerrahi ile serbest doku nakillerinin gelişimine öncelik etmişlerdir.

Uzuv amputasyonlarının yeterli tedavisi üçüncü basamak sağlık hizmeti veren sağlık kurumlarında yapılabilmektedir, bu nedenle amputasyonlu olgunun ve ampute parçanın uygun merkeze replante edilebilir şekilde ulaştırılması çok önemli bir faktördür. Replantasyon başarısını etkileyen faktörlerden iskemi süresi, ilk tanımlanan faktörlerdendir. Ampute parçada iskemiye en duyarlı doku kastır ve oda sıcaklığında 6 saatten sonra geri dönüşsüz değişiklikler oluşur¹. Parmaklar kas içermedikleri için iskemiye toleransları daha uzundur. Çoklu parmak amputasyonu olan bazı olgularda 33 saatlik sıcak ve 94 saatlik soğuk iskemi süresini takiben başarılı replantasyonlar bildirilmiştir¹.

Replantasyona kadar geçen süre kadar ampute parçanın ulaştırılma şekli de replantasyon başarısını etkilemektedir. Kas içermeyen ampute parmak için oda sıcaklığında 6 saat olan kritik iskemi süresi parçanın soğutulmasıyla 30 saate kadar uzatılabilmektedir⁹. Genel olarak kas dokusu içeren proksimal seviye amputasyonlarda soğutma yapılarak 4 saat,

kas içermeyen parmak gibi yapılarda ise ortalama 24 saat boyunca parçanın canlı muhafaza edilebildiği bildirilmektedir¹⁰. Soğutmanın yanında ampute parçanın kurumasına izin verilmemesi, kontaminasyonun azaltılması ve engellenmesi de muhafaza ve transport için önemlidir. Ampute parçanın kurumasını engellemek, hücrelerin tonusunu korumak amacıyla RL veya SF çözeltileriyle muhafaza edilmesi, maserasyonu önlemek için parçanın direkt olarak çözelti içinde bekletilmemesi, çözelti ile ıslatılmış steril gazlı beze sarılması önerilmektedir^{1,9}.

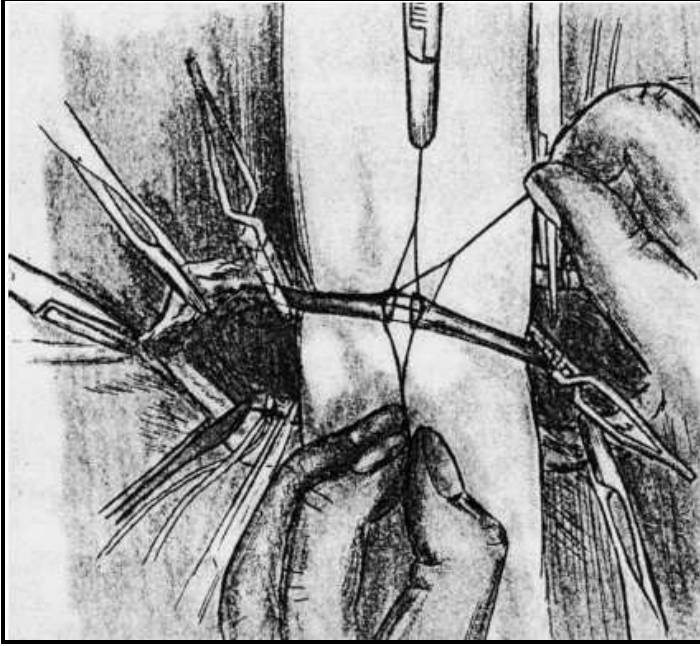
Tüm sağlık merkezlerinde replantasyon yapılamamaktadır. Replantasyon uygulanabilen merkezler özelleşmiş merkezlerdir ve ampute parçanın replantasyon merkezine uygun şekilde ve kısa sürede ulaştırılması gerekmektedir. Özellikle çoklu amputasyonlarda bu süre çok kritik bir önem kazanmaktadır, zira ilk replantasyon süresi boyunca diğer ampute parçaların iskemi süresi uzamakta ve replantasyona elverişli olamayacak duruma gelebilmektedir.

Biz bu çalışmamızda, uzuv amputasyonlarında replantasyon başarısında etkili bir faktör olan soğuk iskemiye bağlı meydana gelen kayıpları azaltmak ve kritik iskemi süresini uzatmak için geleneksel yöntemle alternatif ampute parça muhafaza çözeltilisinin etkisini araştırdık.

3. GENEL BİLGİLER

3.1 Mikrocerrahinin Tarihçesi

Mikrocerrahinin tarihi 1902 yılında damar anastomozunda trianguler metodunu tarifleyen Alexis Carrel ile başlar. Alexis Carrel'in Claude Guthrié ile birlikte yaptığı çalışmalar vasküler anastomoz ve organ nakli sahalarında çığır açmıştır^{11,12}. Carrel çalışmalarına Pare'nin tekniğinden yola çıkarak başlamıştır. Carrel kullanılan magnezyum tüplere karşı ileri derecede yabancı cisim reaksiyonu oluştuğunu ve bu durumun tromboz riskini arttırdığını belirtmiştir. Bu durumun önüne geçmek amacıyla başlangıçta farklı stentler deneyen Carrel daha sonra stent kullanımı yerine 0, 120 ve 240 derecelere konulan üç askı dikişini kullanmış ve kendine ait triangulasyon tekniğini tarif etmiştir (Resim 1). Bu işlem için Carrel kendi üretimi olan ağzı lastik kılıf ile kaplı damar klempleri, pamuk ipliği ve ince iğnelerden dikiş materyalleri kullanmıştır.



Resim 1: Carrel tarafından vasküler uç uca anastomoz için tariflenen triangulasyon tekniği.

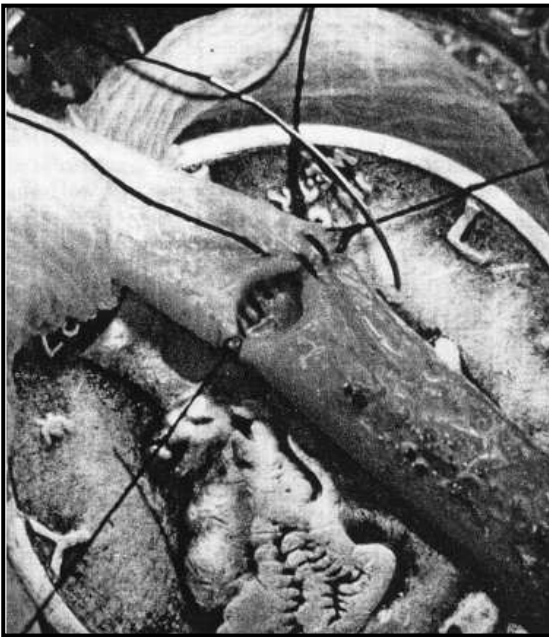
1908 yılında Carell ve C.C. Guthrie hayvan modelinde ilk başarılı alt ekstremitte replantasyonunu gerçekleştirmişler, bu çalışmadan yola çıkarak transplantasyon cerrahisi ve immünolojisi ile ilgili ilk fikirleri öne sürmüşlerdir. Carell damar anastomozu ve organ nakli ile ilgili bu çalışmalarınıyla 1911 yılında Nobel Tıp Ödülü'nü kazanmıştır. Nyken ilk kez

1921'de iç kulak ve kulak zarı operasyonlarında ilk kez mono oküler mikroskobu kullanmıştır¹³.

Mikrovasküler cerrahinin gelişiminde dönüm noktası 1961 yılında operasyon mikroskobunun Jacobson ve Suarez tarafından damar anastomozunda kullanılmasıdır¹⁴. Çalışmacılar 1,4 mm ye inen çaplardaki tavşan damarlarında 7/0 ipek dikiş ile % 100 anastomoz başarısı elde etmişlerdir (Resim 2 ve Resim 3).



Resim 2: Jacobson tarafından 1963 yılında kullanılan mikrocerrahi aletler.



Resim 3: Jacobson'un 7/0 ipek ile gerçekleştirdiği 3 mm çaplı damar anastomozu.

Mikrovasküler anastomoz terimi ilk defa Jacobson tarafından kullanılmıştır. 1962 yılında Malt ve McKhann, 1963 yılında Chen ve Chien ilk başarılı ön kol replantasyonu olgularını yayınlamışlardır¹⁵. 1964 yılında Nakayama, 1965 yılında Jurkiewicz ve Saidenberg serbest jejunum flebi ile özofagus onarımı olgularını bildirmişlerdir. Bunlar tarihteki ilk başarılı serbest flep uygulamaları olarak kabul edilir¹⁶. 1963 yılında Kleinert ve Kasdan her ne kadar başarısız olsa da loupe büyütmesi altında subtotal ampute bir başparmakta revaskülarizasyon deneyimlerini yayınlamışlardır¹⁷.

1964 yılında Buncke tavşan kulağında 1 mm çaplı damar anastomozu yaparak replantasyonlar gerçekleştirmiştir. Buncke aynı zamanda mikrovasküler anastomozda Nylon dikişi kullanan ilk çalışmacı olmuştur¹⁸.

Komatsu ve Tamai 1968 yılında ilk başarılı parmak replantasyonu olgularını yayınlamışlardır¹⁹. Bu tarihten itibaren büyük hastanelerde replantasyon ekipleri organize olmuş ve mikrocerrahi plastik cerrahların ve el cerrahlarının eğitimlerinin bir parçası haline gelmiş, böylelikle elektif mikrocerrahi ile serbest doku nakillerinin gelişimine öncelik etmişlerdir.

İlk mikrocerrahi sempozyumu 1968'de Yaşargil ve Donaghy tarafından düzenlenmiştir. Bu sempozyum daha sonra Microvascular Surgery: Report of the First Congress, October 6–7, 1966 adı altında yayınlanmıştır. Bu yayında mikrovasküler cerrahiye beş temel başlık altında toplanmıştır: 1. İpek, nylon, metalik malzemeler kullanılan sütür teknikleri, 2. Yapışkan maddeler kullanılması, 3. Mikrostapler kullanılması 4. Lazer kullanılması 5. Elektrokoaptasyon²⁰.

Mikrocerrahi birçok flep tipinin tanımlanması ile rekonstrüktif cerrahide çok geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Dünya çapındaki el, karın ön duvar ve larinks transplantasyonlarındaki başarılarının artması ile kompozit doku transplantasyonu rekonstrüktif mikrocerrahinin en önemli araştırma ve klinik uygulama alanı olmuştur.

İlerleyen immunsupressif tedavilerin uygulanması ile günümüzde ilk yüz nakli gerçekleşmiştir²¹.

3.2 Replantasyon ve Revaskülarizasyon

Replantasyon ve revaskülarizasyon acil el ve amputasyon cerrahisinin temel bileşenleri olmuşlardır. Replantasyon, ampute parçaların yerine takılma işlemidir.

Revaskularizasyon ise devaskularize veya neredeyse ampute parçanın dolaşımının yeniden sağlanmasıdır. Bu işlemler için, özellikle distal amputasyonlarda olmak üzere operasyon mikroskobu ve mikrocerrahi donanım gereklidir. Rekonstrüktif el cerrahisinde en zor operasyon ampute parçanın replantasyonu veya revaskularizasyonudur.

DeneySEL replantasyon ve transplantasyon cerrahisi 1900'lerin başında ortaya çıkmıştır. Carrel ve Guthrie köpek bacaklarında homogreft transplantasyon uygulamış ve 22 gün boyunca yaşatabilmişlerdir^{11,12}. 1960'ların başında ise malt ve McKhann midhumeral seviyeden bir kolu replante etmişlerdir²². Komatsu ve Tamai 1968 yılında ilk başarılı parmak replantasyonu olgularını yayınlamışlardır¹⁹. Bu tarihten itibaren büyük hastanelerde replantasyon ekipleri organize olmuş ve mikrocerrahi plastik cerrahların ve el cerrahlarının eğitimlerinin bir parçası haline gelmiştir.

Birçok cerrah, mikrocerrahi operasyonları yapmak üzere eğitim alsa da, replantasyon ve revaskularizasyon işlemleri en iyi şekilde mikrocerrahi merkezlerinde yapılmaktadır. Çünkü genellikle bu kompleks yaralanmalarla ilişkili perioperatif sorunlar da mevcuttur. En başarılı replantasyon ve revaskularizasyon bir takım işidir ve mikrocerrahi konusunda uzmanlaşmış bir merkezde yapılabilmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl ortalama yaklaşık 100.000 parmak amputasyonu meydana gelmektedir ve bunların yaklaşık %30'unun replantasyona uygun olduğu bildirilmektedir²³. Yıllık replantasyon sayısı bilinmemekle birlikte bu rakamın giderek daha daralan seçim kriterleri, iyileştirilen iş güvenliği önlemleri ve daha iyi tasarlanan iş makineleri nedeniyle azaldığı düşünülmektedir.

Uygun bir transportasyon, ampute parçanın gereksiz iskemik hasar almasını önlemede anahtar görevi görmektedir. Replantasyon cerrahları veya temsilcileri acil yardım personeliyle ilişki halinde olmalı ve ilgili hastanelerdeki yetkililer tarafından eğitici seminerler vererek muhafaza ve transportasyon protokolleri anlatılmalıdır.

Amputasyon olgusu öncelikle stabilize edilerek amputasyon güdüğü salinle nemlendirilmiş gaz ile gevşekçe sarılarak atele alınmalıdır. Mikrovasküler onarımı bozacağından hiçbir şekilde dijital blok ve benzeri sinir blokları yapılmamalıdır. Ampute parça nemli gazlı beze sarılarak su geçirmeyen bir kapta soğuk bir ortamda tutulmalıdır. Ampute parçanın donmasına engel olunmalıdır. Soğuk uygulamanın amacı sıcak iskeminin olumsuz etkilerinden korumak olmalıdır.

Amputasyonu takiben iskemi kritik hücre lizisini meydana getirdiğinde hücre ölümü geri dönüşüzdür. Geri dönüşsüz hücre ölümü öncesi reperfüzyon mümkündür. Geleneksel olarak parmaklar soğuk tutulduğunda 48 saate kadar, kas içeren seviyeden ampute parçalar ise 12 saate kadar başarılı olarak replante edilebilmektedir³.

3.3 İskemi - Reperfüzyon Hasarı

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Doku kanlanmasının ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir.

İskemi-reperfüzyon hasarı ise; iskemi sonrası damarsal akımın yeniden sağlanması ile meydana gelebilen ve iskeminin neden olduğu hasardan daha fazla doku hasarının oluşumunu tanımlamaktadır.

İskemik hasar ve reperfüzyon hasarı arasındaki fark, zayıflamaya bağlı hücre ölümüne karşılık, bombalama şeklinde hücre ölümüyle karakterizedir. İskemi; oksijen azalması, adenozin trifosfat (ATP) azalması, kalsiyum azalması ve hücre membranında fonksiyon bozukluğu gibi mekanizmalarla zayıflamaya bağlı ölümlere neden olur.

Reperfüzyon ise; serbest radikal oluşumuna bağlı olarak bu radikallerin sitotoksik etkisinden ve nötrofil respiratuar patlama (burst); hücre adezyon molekülerinin artışı ki nötrofil degranülasyonu ve diapedezine neden olmasından; ve lökosit, trombosit ve endotelial hücrelerden peptit ve medyatörlerin salınımına neden olmasıyla bombalama şeklinde ölümlere neden olur.

3.4 Kritik İskemi Süresi

Kritik iskemi süresi (KİS), bir dokunun dayanabildiği en fazla iskemi süresidir. Bu süre aşıldığında doku perfüzyonu yeniden sağlansa dahi doku hasarı kaçınılmazdır. Bu durumu pratikte daha iyi anlayabilmek için %50 olguda doku nekrozuna neden olan iskemi süresi anlamına gelen KİS50 kullanılır. Bu parametre ısı ve dokunun tipine bağımlı olarak değişkenlik gösterir. Sıcaklık azaldıkça dokular iskemiye daha fazla dayanmaktadır. Derinin iskemiye dayanıklılığı, kasta fazla iken kas dokusunun da kritik iskemi süresi yağ dokusundan yüksektir²⁴.

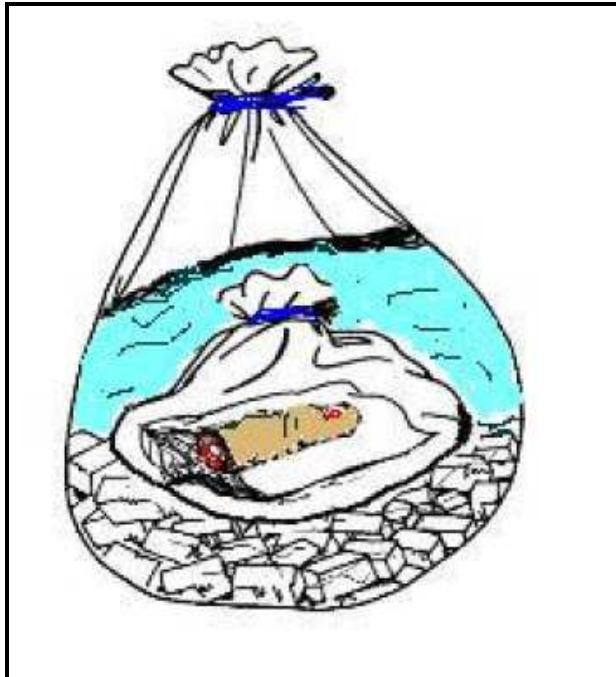
Reperfüzyon hasarında dokuda oluşan Oksijen radikalleri ve ürünleri nötrofiller için kemotaktik etki gösterir böylece nötrofil infiltrasyon ve adezyonu başlar. Paradoks halinde nötrofilde oksijen radikal oluşumunu tekrar artırır. En son basamak olarak endotel hasarlanmasına neden olup geri dönüşümsüz hasara yol açarlar²⁵⁻²⁷.

Bu nedenle flep yaşamını arttırmayı amaçlayan deneysel ve klinik yaklaşımlar hem iskeminin hem de reperfüzyonun etkilerini göz önünde bulundurmaları²⁴.

İnsanlardaki bütün canlı hücreler normal yaşam döngüleri içinde lipid peroksidasyonu gibi sistemlerde kullanılmaya üzere oksijen radikallerini oluştururlar. Fakat bu oluşan oksijen radikalleri iskemi-reperfüzyon hasarından farklı olarak hücreye zarar vermesini engelleyen antioksidan mekanizmalar mevcuttur.

3.5 Ampute Parçanın Muhafaza ve Transportu

Geleneksel olarak, ampute parçanın nispeten temiz ve ıslak bir beze sarılarak mümkünse soğutularak sağlık merkezine ulaştırılması önerilmektedir. Başvurulan ilk sağlık merkezinde ise ampute parça eğer kirliyse mekanik olarak temizlenerek kontaminasyon miktarının azaltılması ve sonrasında ringer laktat veya serum fizyolojik ile nemlendirilmiş steril gazlı eze sarılarak su geçirmez bir şekilde poşete konularak direkt olarak buzla temas etmeyecek şekilde buzlu suda (+4°C) replantasyon merkezine ulaştırılmalıdır (Resim 4).



Resim 4: Ampute parçanın muhafaza ve transport şekli.

Ampute parçanın muhafaza ve transport şekli için geleneksel yöntemlerin^{1,3} dışında alternatif bir yöntem literatürde tanımlanmamıştır.

3.6 Ringer Laktat Çözeltisi İçeriği ve Özellikleri

Ringer Çözeltisi (Ringer Salin) İngiliz fizyolog Sydney Ringer tarafından tariflenmiştir²⁸. Daha sonra Alexis Hartmann, çocuklardaki asidoz tedavisinde kullanılmak üzere modifiye ederek laktat eklemiştir. Bu nedenle aynı zamanda Hartmann Çözeltisi olarak da bilinmektedir.

Laktatlı Ringer veya Ringer Laktat (RL) çözeltisi kan ile izotonik yapıda ve intravenöz uygulanan kristalloid bir çözüldür. Veterinerlikte ayrıca subkutan olarak da uygulanabilmektedir. RL ekstraselüler sıvı kompozisyonu üzerine en az etkisi olan çözüldür. Bu çözüldü en fizyolojik kristalloiddir ve büyük hacimler gerektiği zaman ve ketoasidozda tercih edilmektedir. Ancak pratikte 24 saatte 2000 cc'nin üzerinde nadiren kullanılır, çünkü laktat karaciğerde Cori siklusu ile glukozu dönüştürken bikarbonat ortaya çıkar ve bu çok miktarda olursa metabolik alkalozu neden olabilir. Diyabetik hastalarda hiperglisemiye yol açabileceği için laktatlı çözüldüden kaçınılmalıdır.

1000 cc RL çözeltisi içeriğinde aşağıdakiler bulunmaktadır.

- 130 mEq Na = 130 mmol/L
- 109 mEq Cl = 109 mmol/L
- 28 mEq Laktat = 28 mmol/L
- 4 mEq K = 4 mmol/L
- 3 mEq Ca = 1,5 mmol/L

3.7 University of Wisconsin Solüsyonu İçeriği ve Özellikleri

Böbrek transplantasyonu alanında araştırmalar yapan Dr. Folkert O. Belzer 1975 yılında Wisconsin Üniversitesi'nde bir araştırma laboratuvarı kurmuştur. 1980'lerin sonunda bu laboratuvar University of Wisconsin Solüsyonu adında (UW) evrensel soğuk organ muhafaza solüsyonunu patentini almıştır²⁹ (Viaspan™; Belzer UW). Bu solüsyon insan organlarının transplantasyonu öncesi 48 saate kadar muhafazasına izin vermiştir.

UW solüsyonu karaciğer, böbrek ve pankreas transplantasyonu için geliştirilen bir muhafaza solüsyonudur. Renal ve hepatik mufahazada standart olarak değerlendirilmektedir. Böbrek ve karaciğerin iskemi süresini etkin bir biçimde uzatarak nakil bekleyen hastalara ulaştırılacak kadar bekletilmeyi mümkün kılmaktadır. UW solüsyonu ayrıca ince bağırsak ve kalp muhafaza solüsyonu olarak da başarılı bir biçimde kullanılmıştır.

Solüsyonun bileşimi karmaşıktır. Solüsyonun osmolalitesi 320 mmol/kg dır ve oda sıcaklığında pH derecesi 7,4'tür. İçeriği aşağıdakilerden oluşmaktadır.

- Sodyum 135 mmol/L
- Potasyum 35 mmol/L
- Magnezyum 5 mmol/L
- Laktobiyonat 100 mmol/L
- Fosfat 25 mmol/L
- Sülfat 5 mmol/L
- Rafinoz 30 mmol/L
- Adenozin 5 mmol/L
- Allopurinol 1 mmol/L
- Glutasyon 3 mmol/L
- Insulin 100 U/L
- Dekzametazon 8 mg/L
- Hidroksietil starch (HES) 50 g/L
- Bactrim 0.5 ml/L

Hipotermi, muhafazanın ayrılmaz bir parçası olmakla birlikte hipotermi ile indüklenen enzimatik olaylar iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarını arttırmaktadır. UWS, direkt etki ile olduğu kadar hipotermiye bağlı hücre hasarını da engellemektedir.

HES, hipotermi ile indüklenen endotelial hücrel şişmeyi azaltmaktadır. Ayrıca ilk organ yıkanmasında oluşan interstisyel ödemi de engellemektedir.

Laktobiyonat, solüsyonunun majör etkin bileşenidir. Çözünmeyen yapısı solüsyonun onkotik basıncını sağlamaktadır. Böylelikle solüsyonun hücre zarıyla dengesini geciktirerek hücrel ödem gelişmesini engellemektedir.

Potasyumun konsantrasyonu düşürülerek yıkama esnasında yüksek potasyumun etkisi olarak oluşan vazokonstrüktif etkisi de ortadan kaldırılmıştır.

Glutasyon, solüsyon içerisinde instabil bir haldedir ve eğer kullanımdan hemen önce eklenirse serbest oksijen radikal çöpçüsü olarak davranmaktadır. Adenozin ve allopurinol de bu işleve yardımcı olmaktadır. ATP rejenerasyonunu destekleyerek LDH salınımını baskılar.

Anaerobik glikolizisi engellemek için Raffinose ve insulin de solüsyon bileşiminde yer almaktadır.

Dekzametazon ile akut iskemi yanıtı azaltılarak antiinflamatuvar etki amaçlanmaktadır. Uzun dönemde ise ödem üzerine etkindir.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1 Etik Kurul Onayı

Çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındıktan sonra (23.10.2009 tarih, 2009–149 sayılı onay belgesi) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı ve Plastik Cerrahi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

4.2 Deney Hayvanları ve Deneyin Yapıldığı Ortam

Bu deneysel çalışmanın tüm aşamaları Ege Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı ve Plastik Cerrahi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma süresince 20 adet, ortalama 300 gram ağırlığında dişi Sprague Dawley tipi sıçan kullanıldı. Tüm cerrahi işlemler tek cerrah tarafından gerçekleştirildi. Anestezi için intraperitoneal 50 mg/kg Ketamine (Ketalar®, Pfizer Warner Lambert, Türkiye) ve analjezi ve sedasyon için ise 15 mg/kg Xylazine (Alfazyne®, Alfasan International B.V. Hollanda) kombine olarak kullanıldı. Sıçanların sağ uylukları ampute edilerek standart ortamda farklı solüsyonlarla muhafaza edilerek 10 saat sonra kemik ve kas fiksasyonu sonrası mikrocerrahi tekniğe uygun olarak femoral arter ve ven anastomozları mikroskop altında 10/0, 75 mikron ve 3 mm lik tek sütürler ile standart mikrocerrahi anastomoz tek cerrah tarafından yapıldı. Çalışma süresince sıçanlar sabit oda sıcaklığında, sınırsız su ve standart laboratuvar yemi sağlanarak bakıldı. Cerrahi operasyonlardan yaklaşık 6 saat önce beslenme kesildi.

4.3 Deney Grupları

20 adet sıçan randomize olarak kontrol ve çalışma grupları olmak üzere 2 gruba ayrıldı.

Kontrol Grubu (n=9): Uyluk seviyesinden ampute edilen parça steril gazlı beze sarılarak steril poşete konuldu. 10 cc. Ringer Laktat solüsyonu (Eczacıbaşı-Baxter, İstanbul) ile ıslatıldıktan sonra poşetin ağzı bağlanarak buzlu su içeren izoleli tanka yerleştirildi. 10. saat sonrası çıkarılarak mikrocerrahi replantasyon gerçekleştirildi.

Çalışma Grubu (n=10): Uyluk seviyesinden ampute edilen parça steril gazlı beze

sarılarak steril poşete konuldu. 10 cc. UW solüsyonu (ViaSpan, Fresenius Kabi GmbH, Hollanda) ile ıslatıldıktan sonra poşetin ağzı bağlanarak buzlu su içeren izoleli tanka yerleştirildi. 10. saat sonrası çıkarılarak mikrocerrahi replantasyon gerçekleştirildi.

4.4 Cerrahi Model

Sıçanlarda intraperitoneal 50 mg/kg Ketamin ve 15mg/kg Xylasin ile kombine anestezi-analjezi sağlandıktan sonra standart olarak sağ inguinal bölge ve uyluk ve abdominal bölgeyi içerecek şekilde çevresel olarak traş edildi. Cerrahi alan savlon ile silinerek antisepsi sağlandıktan sonra supin pozisyonda ve sağ alt ekstremitte ekstansiyona getirilecek şekilde operasyon masasına flaster ile tesbit edildi ve operasyona hazır hale getirildi (Resim 4).



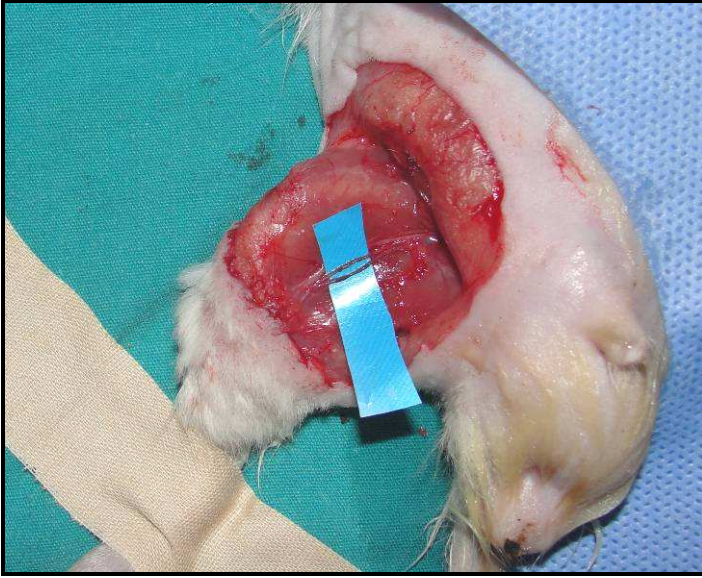
Resim 4 : Operasyona hazır hale getirilen denek.

Sağ oblik inguinal deri insizyonu ile girilerek panniculus carnosum geçildi ve inguinal yağ paketi laterale devrilip damar sinir paketine ulaşıldı (Resim 5).

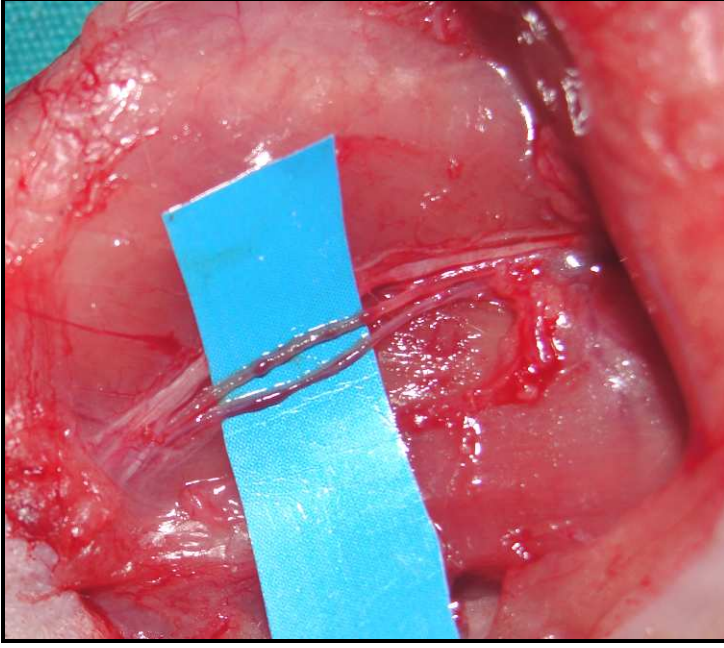


Resim 5: Femoral damar-sinir paketinin ortaya konması.

Mikroskop altında (Zeiss OpMi Vario) inguinal ligaman distalindeki femoral arter ve ven femoral sinirden ve çevresindeki dokular sıyrılmaya başlanarak femoral arter ve ven ortaya kondu (Resim 6 ve Resim 7).

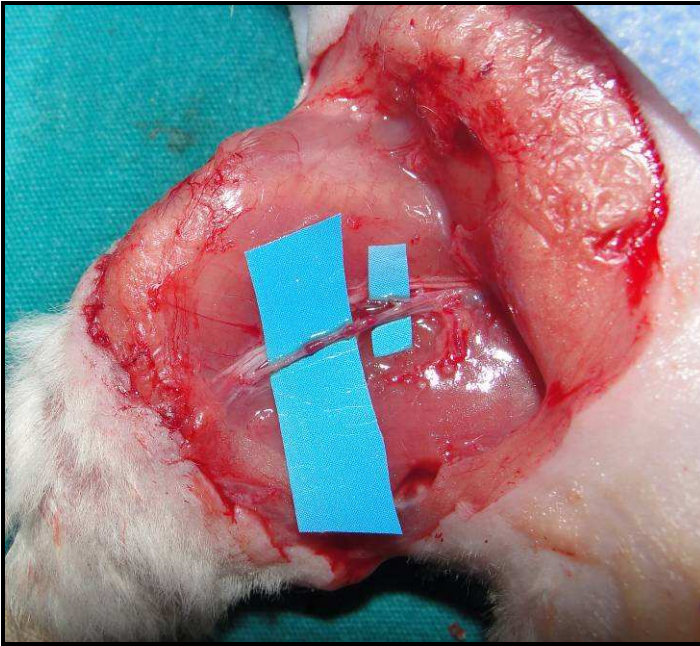


Resim 6: Çevre dokulardan ayrılmış sağ femoral arter ve ven.

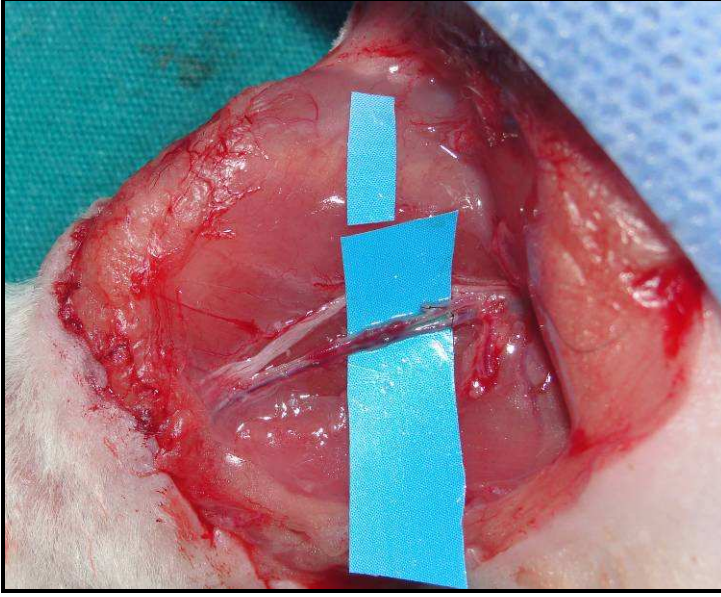


Resim 7: Sağ femoral arter ve ven, yakın görünüm.

Yine mikroskop altında femoral arter ve venin inguinal ligamana en yakın posterior dalları (Murphy Dalı) 9/0 nylon ile bağlanarak femoral arter ve ven tamamen serbestleştirildi ve adventisyalari minimal sıyrıldı (Resim 8 ve Resim 9).

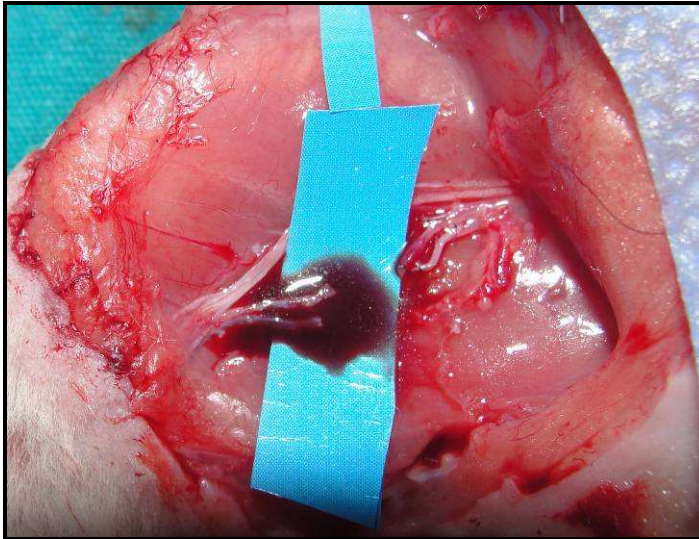


Resim 8: Femoral damarlara ait Murphy dallarının ortaya konması.



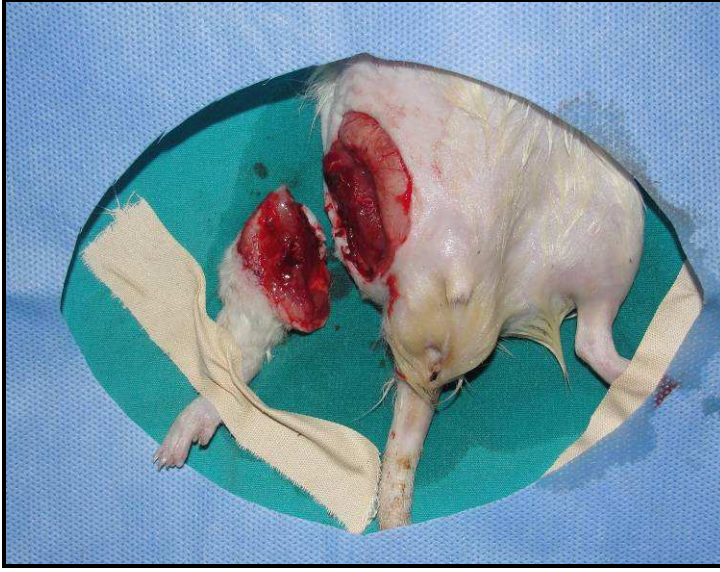
Resim 9: Murphy dallarının bağlanarak kesildikten sonra femoral damarlar.

Femoral arter ve ven Murphy dalını verdikten sonra yaklaşık 2-3 mm sonra 8/0 ipek ile bağlanarak kesildi (Resim 10).



Resim 10: Femoral arter ve venin proksimal uçtan bağlanarak kesilmiş hali.

Femoral arter ve ven kesildikten sonra makro olarak kesme makasıyla uyluk kasları, femoral sinir, femur kemiğini ve posterior deriyi içerecek şekilde total amputasyon tamamlanarak saat not edildi (Resim 11).



Resim 11: Sıçan sağ alt ekstremitesinin total ampute edilmiş görüntüsü.

Ampüte parça steril gazlı beze sarılarak steril poşete konuldu. Kontrol grubu için (n=9) 10 cc RL solüsyonu ve çalışma grubu için (n=10) 10 cc UW solüsyonu poşetin içine konuldu. Su geçirmeyecek şekilde poşetin ağzı sıkıca bağlandı (Resim 12).



Resim 12: Steril gazlı beze sarılarak ıslatılmış ampüte parçanın su geçirmez poşet içerisindeki görünümü.

Poşet ve içindeki ampute parça önceden hazırlanan buz ve su içeren izoleli kaba konularak kabın kapağı kapatıldı (Resim 13).



Resim 13: Buz ve su içeren izoleli kaba konulan ampute parça.

Güçük bölgesi serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra 4/0 Nylon ile over-and-over kontinü suture edilerek primer kapatıldı (Resim 14).

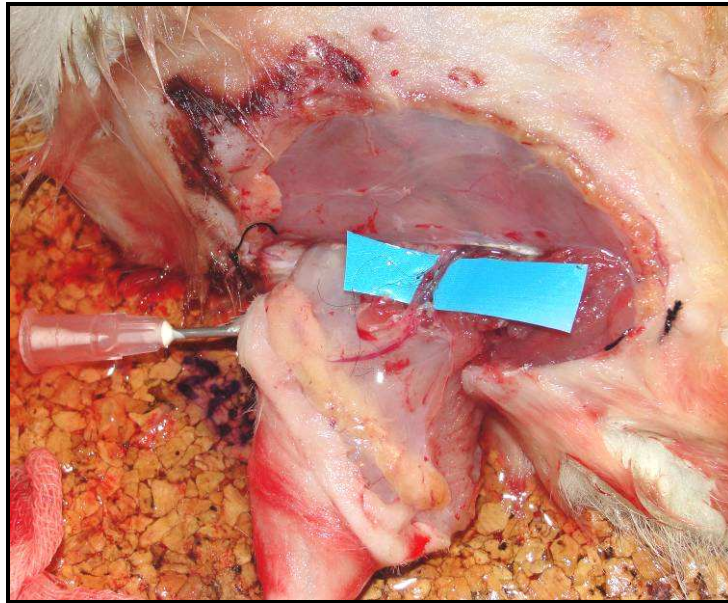


Resim 14: Güçük bölgesinin suture edildikten sonraki görünümü.

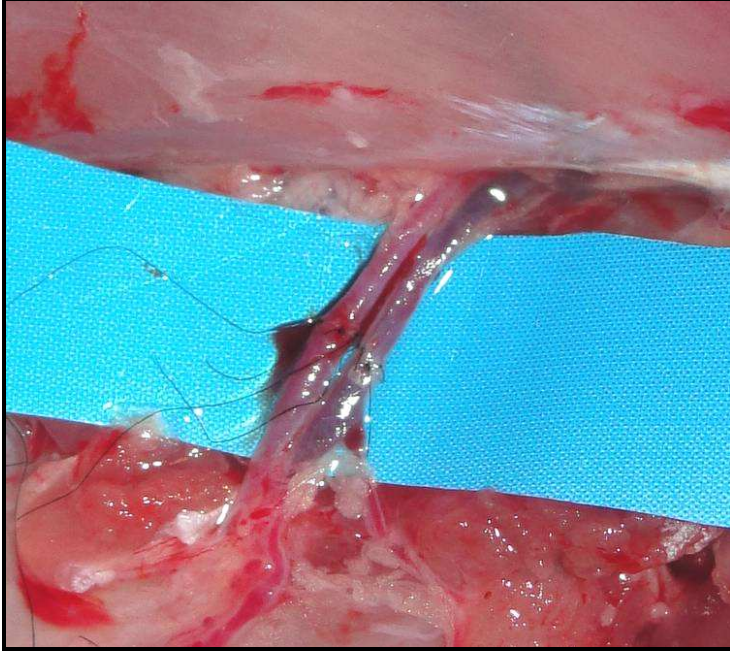
Amputasyon işlemi ortalama 20 dakika sürdü. Cerrahi işlem tamamlandıktan sonra sıçan kafesine tek kalacak şekilde konuldu. Kafası suya yakın olacak şekilde pozisyon verilerek sıcak ortamda tutuldu.

10. saat sonrası sıçana yeniden anestezi uygulanarak operasyon masasına tesbit edildi. Gündük hattı sütürleri alınarak bölge SF ile irrigate edildi ve hematoma ve fibrinler uzaklaştırıldı.

Femur kemiği ortalama olarak 3-4 milimetre segmental olarak ampute parçadan kısaltılarak anastomoz uçlarının gerginliğinin azaltılması amaçlandı. Enjektör iğnesi ucuyla femur kemik uçları fikse edildi. Daha sonra anterior ve posterior kas grupları 4/0 vikril ile horizontal matress sütür ile fikse edilerek anastomoz uçları yaklaştırıldı. Vasküler anastomozu femoral venden başlanarak mikro aproksimatör yardımıyla damar uçları anastomozu hazırlandı. Damar uçları mikro makas ile tazelenerek anastomoz alanına girecek adventisya temizlendi. Heparinize serum (10U/cc) ile irrigasyon uygulandı. Mikrocerrahi tekniğe uygun olarak iğne çapı 75 mikron, 3 mm lik 10/0 monofilaman nylon (Ethicon, İngiltere) sütür materyali ve separe dikiş tekniği ile anastomoz uygulandı. Mikroklemp açılarak ters dolun izlendikten sonra mikroklemp ile proksimal uç klempe edildi. Femoral arter aynı şekilde hazırlandıktan sonra anastomoz uygulandı. Klempler açılarak arter ve ven anastomoz patensleri izlendi. Sağma (milking) testi nazikçe uygulanarak dolun izlendi (Resim 15 ve Resim 16).



Resim 15 : Femoral arter ve ven anastomozu sonrası görünüm.



Resim 16: Anastomoz patensinin izlenmesi, yakın görünüm.

Sıçan ayak tabanı rengine pembeleşme izlendikten sonra deri 4/0 nylon ile kapatılarak replantasyon tamamlandı (Resim 17). Ortalama replantasyon süresi 84 dakika olarak ölçüldü.



Resim 17 : Replantasyonun tamamlanmış hali.

Replantasyon işlemi tamamlandıktan sonra sıçan kafesine yine kafası suya yakın olacak şekilde yerleştirilerek sıcak ortamda tutuldu. Anastomoz sonrası ilk 30 dakika her 5 dakikada bir, daha sonra ilk gün her iki saatte bir, 2. ve 3. gün ise 8 saatte bir olmak üzere bacak ve ayak tabanında dolaşım takip edildi.

4.5 Değerlendirme

Replantasyon sonrası 3. gün replante parçanın dolaşımı çıplak gözle izlenerek not edildi, yeniden anestezi verilerek operasyona hazırlandı. (Resim 18 ve Resim 19).



Resim 18: Replantasyon sonrası 3. günde kafes içerisindeki görünüm.



Resim 19: Replantasyon sonrası 3. gündeki görünüm.

Anestezi altında deri ve kas sütürleri alınarak replante parça yeniden ampute edilerek histopatolojik inceleme için %10 formalin içeren steril kaplara konulmuştur. Denekler intrakardiyak KCl enjeksiyonuyla sakrifiye edilerek çalışmanın cerrahi kısmı sonlandırılmıştır. Cerrahi çalışmanın bu bölümü ortalama olarak 10 dakika srmştir.

4.6 Histopatolojik Değerlendirme

Alınan örnekler % 10 formalinde 2 gün boyunca tespit edildikten sonra 3 gün boyunca kemik yapının da fiksasyonu amacıyla formik asitte bekletilerek parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan mikrotomla hazırlanan 4–5 mikronluk seri kesitler hematoxilen-eozin (HE) ile boyanarak yüksek güçlü ışık mikroskobunda (x100 ve x200'lük büyütmede) incelendi.

Ampute parçada meydana gelen 10 saatlik soğuk iskemi süresi ve reperfüzyon hasarını değerlendirmek üzere Modifiye Verhofstadt skorlamasına³⁰⁻³² göre örneklerde, polimorf nükleer lökosit(PMNL) ve lenfosit yoğunluğu, kapiller damar ve fibroblast proliferasyonu, ödem miktarı, kollajen yoğunluğu, nekroz olmak üzere yedi adet parametre göz önüne alınarak inceleme yapıldı. Her parametre için 0–3 arası bir skor verilerek toplam 21 puan üzerinden skorlama yapıldı.

4.7 İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 12.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) istatistik paket programı ile yapıldı. Kontrol ve çalışma gruplarına ait histopatolojik Modifiye Verhofstadt skalası skoru ve 5 ayrı parametre ayrı ayrı istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Değerlendirmede Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1 Vasküler Anastomoz Patensi

Her anastomoz sonrası anastomoz hattından kan geçişi ve sıçan alt ekstremitesindeki dolaşım kontrol edildi.

Kontrol grubunda (n=9) bir replantasyonda anastomoz sonrası venöz tromboza bağlı kan geçişi izlenmedi. Bu nedenle çalışmaya dâhil edilmedi.

Çalışma grubunda (n=10) tüm anastomozlarda geçiş izlendi.

Tüm gruplarda anestezi ve diğer nedenlere bağlı kaybedilen ya da 3 gün boyunca hangi nedene bağlı olursa olsun yaşatılamayan denekler de ayrıca çalışmaya dâhil edilmedi.

5.2 Dolaşımın Klinik Takibi

Anastomoz sonrası ilk 30 dakika her 5 dakikada bir, daha sonra ilk gün her iki saatte bir, 2. ve 3. gün ise 8 saatte bir olmak üzere bacak ve ayak tabanında dolaşım takibi yapıldı. Çalışmaya dâhil edilen 9 kontrol grubu ve 10 çalışma grubu denekte 3 gün boyunca dolaşım takibi yapılarak not edildi.

5.3 Histopatolojik Bulgular

Alınan örnekler % 10 formalinde 2 gün boyunca tespit edildikten sonra 3 gün boyunca kemik yapının da fiksasyonu amacıyla formik asitte bekletilerek parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan mikrotomla hazırlanan 4–5 mikronluk seri kesitler hematoksilin-eozin (HE) ile boyanarak yüksek güçlü ışık mikroskopunda (x100 ve x200'lük büyütmede) incelendi.

Ampute parçada meydana gelen 10 saatlik soğuk iskemi süresi ve reperfüzyon hasarını değerlendirmek üzere Modifiye Verhofstad skorlamasına²⁸⁻³⁰ göre, örneklerde polimorf nükleer lökosit (PMNL) ve lenfosit yoğunluğu, kapiller damar ve fibroblast proliferasyonu, ödem miktarı, kollajen yoğunluğu ve nekroz olmak üzere yedi adet parametre göz önüne alınarak skorlama yapıldı (Tablo 1).

Tablo 1: Modifiye Verhofstadt Skalası değerlendirme kriterleri.

Skor	Nekroz Yoğunluğu	PMNL	Lenfosit	Ödem	Kollajen yoğunluğu	Fibroblast proliferasyonu	Damar Yoğunluğu
0	Yok	Normal	Normal	Yok	Yok	Yok	Yok
1	Yüzeyel	Hafif	Hafif	Hafif	Hafif	Hafif	Hafif
2	Belirgin	Belirgin	Belirgin	Belirgin	Belirgin	Belirgin	Belirgin
3	Masif	Masif	Masif	Yoğun	Yoğun	Yoğun	Yoğun

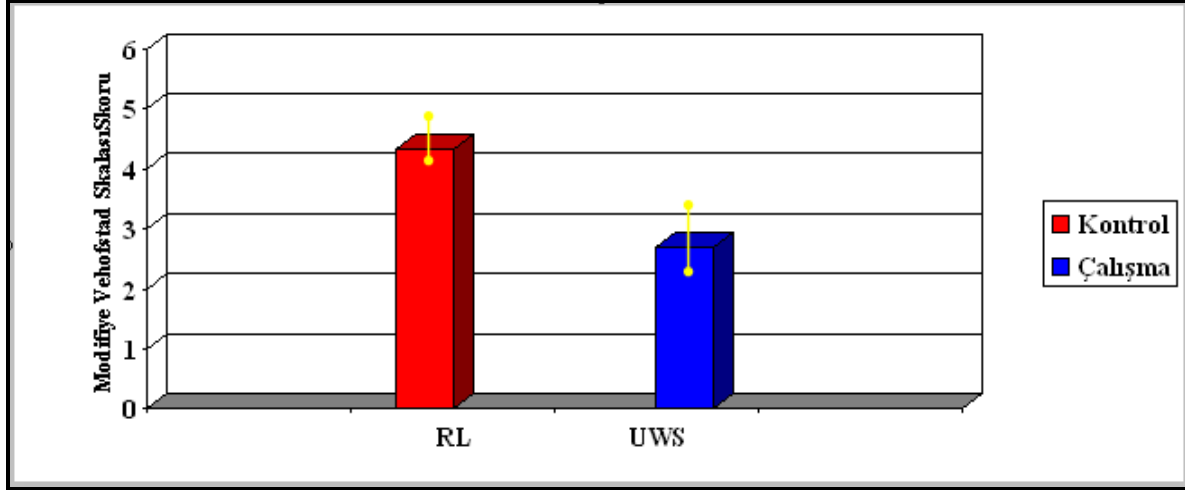
Skorlamalar tek patoloğ tarafından yapıldı. Preparatlar rastgele seçilerek değerlendirildi. Kontrol ve çalışma grubundan elde edilen preparatların histopatolojik değerlendirme sonuçları Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2: Modifiye Verhofstadt Skalası'na göre kontrol ve çalışma grubuna ait histopatolojik veriler.

Denek No	Nekroz		PMNL		Lenfosit		Ödem		Kollajen Y.		Fibroblast P.		Damar Y.		Skor	
	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma	Kontrol	Çalışma
1	3	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	5	1
2	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	4	1
3	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	4	3
4	1	0	1	2	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	4	3
5	1	1	1	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3	4
6	1	2	2	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	5	4
7	0	0	1	1	1	0	1	2	0	0	0	0	1	1	4	4
8	2	0	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	6	2
9	0	1	2	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	4	3
10	-	1	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-	2
Ortalama	1,11	0,50	1,11	0,74	0,22	0	1	1	0	0	0	0	0,89	0,4	4,33	2,7

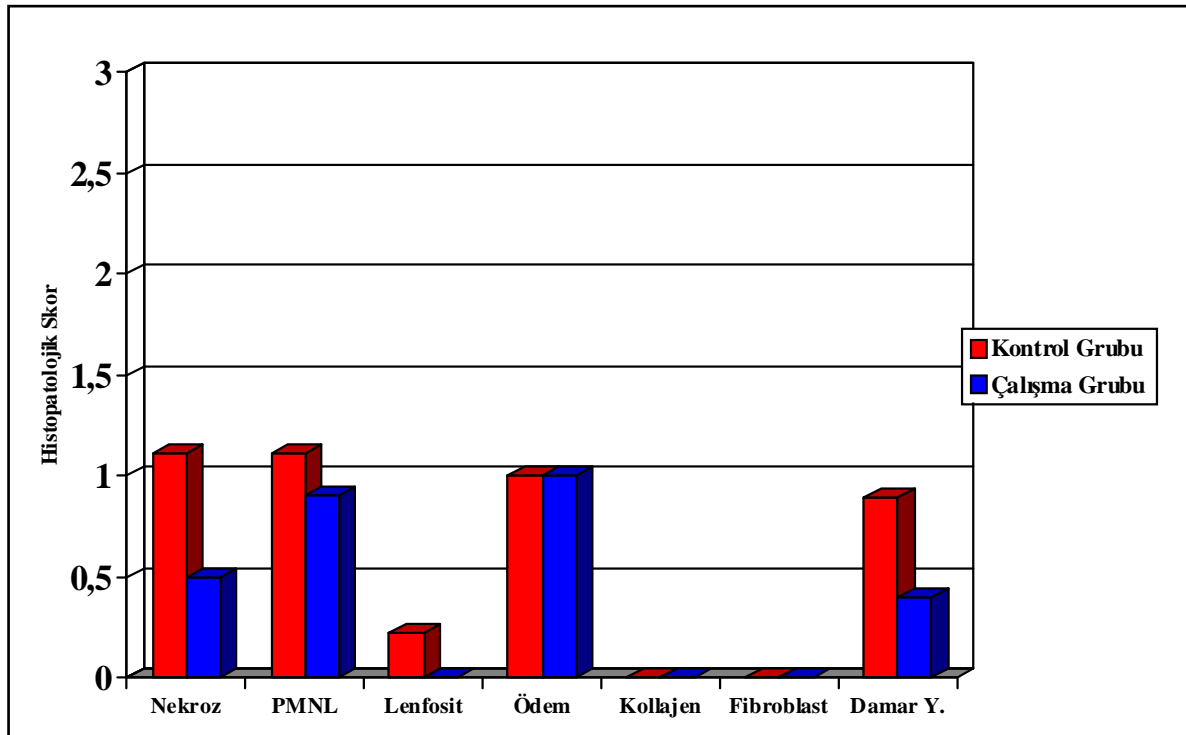
Modifiye Verhofstadt Skalası'na göre skorlanan kontrol grubu ortalaması $4,33 \pm 0,87$ iken çalışma grubunda bu skor ortalaması $2,70 \pm 1,15$ olarak bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 3: Kontrol ve çalışma gruplarının skorlama ortalamaları.



Modifiye Verhofstadt Skalası ile değerlendirilen 7 kriter Tablo 4'de ayrı ayrı incelenmiştir.

Tablo 4: Nekroz, PMNL, Lenfosit, Ödem, Kollajen Yoğunluğu, Fibroblast Proliferasyonu ve Damar Yoğunluğu Skorları



Kontrol ve çalışma grubunda yapılan histopatolojik incelemede kollajen yoğunluğu ve fibroblast proliferasyonu açısından bir bulguya rastlanmadı. Bu nedenle bu kriterler istatistiksel çalışmaya alınmadı.

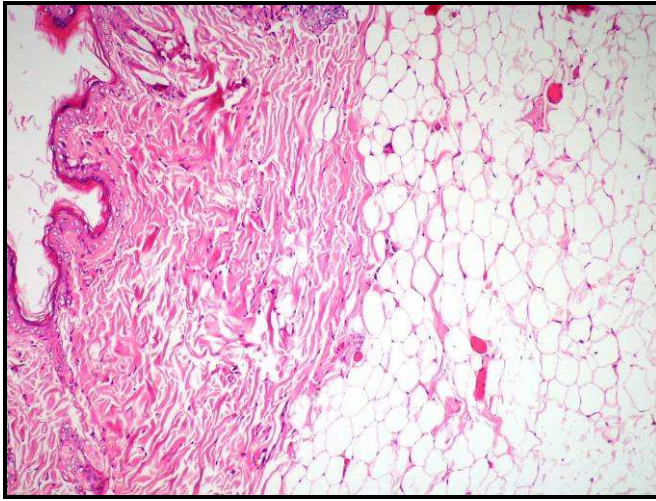
Nekroz değerlendirmesinde kontrol grubu ortalaması $1,11\pm0,93$, çalışma grubu ortalaması ise $0,50\pm0,71$ olarak bulundu.

PMNL açısından kontrol grubu skoru ortalaması $1,11\pm0,78$ iken çalışma grubunda $0,90\pm0,74$ olarak bulundu.

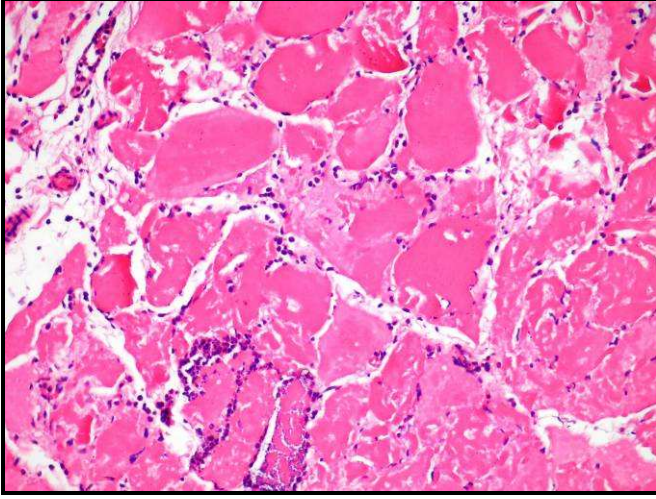
Lenfosit skoru kontrol grubunda $0,22\pm0,44$ iken çalışma grubunda $0,00$ olarak bulundu.

Kontrol ve çalışma gruplarının hemen tümünde hafif seviyede ödem izlendi. Kontrol grubu skoru ortalaması $1,00\pm0,00$, çalışma grubu ortalaması ise $1,00\pm0,47$ olarak bulundu. Çalışma grubundaki bir denekte belirgin ödem izlendi.

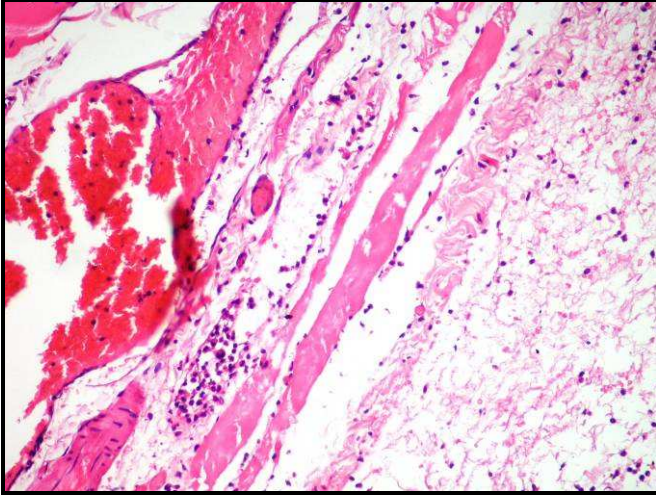
Damar yoğunluğu açısından kontrol grubu skorlaması ortalaması $0,89\pm0,33$ çalışma grubunun ortalaması ise $0,40\pm0,52$ olarak bulundu.



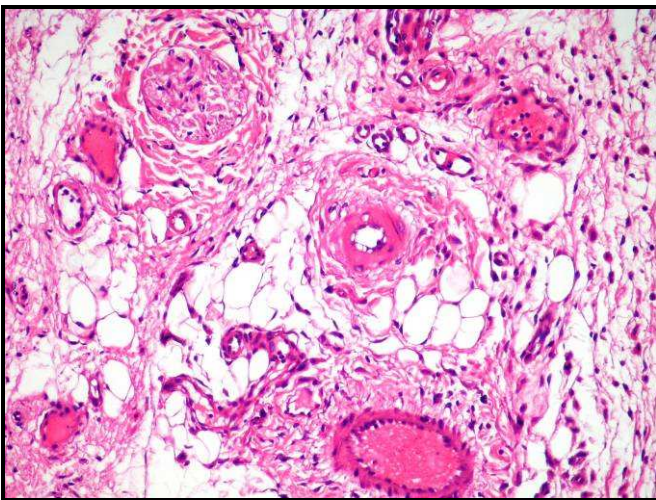
Resim 20: Hafif derecede ödem ile birlikte normal sınırlarda deri, derialtı ve yağ dokusunun histolojik görünümü (x100 büyütme, HE).



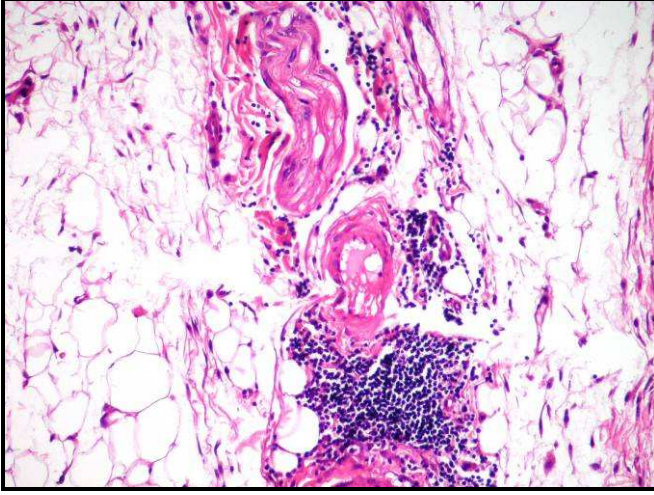
Resim 21: Kas dokusunda belirgin nekroz ve PMNL infiltrasyonu (x100 büyütme, HE).



Resim 22: Belirgin ödem ve PMNL infiltrasyonu (x100 büyütme, HE).



Resim 23: Vasküler yapılarda artış, konjesyon, PMNL ve lenfosit infiltrasyonu.



Resim 24: Yağ dokusunda artmış lenfosit popülasyonu (x100 büyütme, HE).

5.4 İstatistiksel Bulgular

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 12.0 (SPSS, Inc. Chicago, IL) istatistik paket programı ile yapıldı. Değerlendirmede Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

Gruplar arası Modifiye Verhofstadt Skorları mukayese edilmiştir.

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol	9	13,67	123,00
	Çalışma	10	6,70	67,00
	Total	19		

Test Statistics ^b

	Skor
Mann-Whitney U	12,000
Wilcoxon W	67,000
Z	-2,817
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,006 ^a

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Grup

Gruplar arası skor karşılaştırıldığında “p” değeri 0,005 olarak anlamlı bulunmuştur.

Nekroz, PMNL, lenfosit, ödem ve damar yoğunluğu parametreleri gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Ranks

	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekroz	Kontrol	9	12,00	108,00
	Çalışma	10	8,20	82,00
	Total	19		
PMNL	Kontrol	9	10,78	97,00
	Çalışma	10	9,30	93,00
	Total	19		
Lenfosit	Kontrol	9	11,11	100,00
	Çalışma	10	9,00	90,00
	Total	19		
Ödem	Kontrol	9	10,00	90,00
	Çalışma	10	10,00	100,00
	Total	19		
Damar Yoğ.	Kontrol	9	12,44	112,00
	Çalışma	10	7,80	78,00
	Total	19		

Test Statistics ^b

	Nekroz	PMNL	Lenfosit	Ödem	Damar Yoğunluğu
Mann-Whitney U	27,000	38,000	35,000	45,000	23,000
Wilcoxon W	82,000	93,000	90,000	100,000	78,000
Z	-1,592	-,616	-1,534	,000	-2,147
Asymp. Sig. (2-tailed)	,111	,538	,125	1,000	,032
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,156 ^a	,604 ^a	,447 ^a	1,000 ^a	,079 ^a

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: Grup

Bu parametreler arasında Damar Yoğunluğu parametresi açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur.

6. TARTIŞMA

Günümüzde iş kazaları ve artan araç içi ve araç dışı kazalar sonucu vücut uzuvlarının kopması çok sık karşılaşılan ve hastayı sakat bırakacak derecede ciddi morbiditeye yol açan önemli bir sorundur. Son yirmi yıllık sürede cerrahi teknik ve kullanılan ekipmanda büyük gelişmeler yaşanmıştır. Günümüzde ampute bir parçanın laboratuvar koşullarında hemen replantasyonu hemen hemen % 100 başarı ile mümkündür. Dolayısıyla klinik başarıyı etkileyen faktörler arasında hala cerrahi teknik ve ekipman hassasiyetinden bahsedilebilirse de bunlar yeterli düzeydedir denilebilir. Başarısız replantasyon cerrahisinde en önemli sebep yaralanmanın şekli ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır. Yaralanma şeklini değiştirmek mümkün olmadığı için iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak klinik başarıyı arttırmak için izlenebilecek en verimli yol gibi görünmektedir. İskemi-reperfüzyon hasarının miktarı ampute parçanın sıcak ve soğuk iskemi süresi ve saklanma koşulları ile ilgilidir.

Birçok cerrah, mikrocerrahi operasyonları yapmak üzere eğitim alsa da, replantasyon ve revaskülarizasyon işlemleri en iyi şekilde mikrocerrahi merkezlerinde yapılmaktadır. Çünkü genellikle bu kompleks yaralanmalarla ilişkili perioperatif sorunlar da mevcuttur. Replantasyon ve revaskülarizasyon bir takım işidir ve en başarılı olarak mikrocerrahi konusunda uzmanlaşmış merkezlerde yapılabilmektedir. Ampute parça ve hastanın bu merkezlere ulaştırılması özellikle ülkemiz gibi bu tür merkezlerin yaygın olmadığı, daha çok büyük şehirlerde mevcut olduğu bölgelerde zamanla yarış haline gelmektedir. Bu tür yaralanmalar genelde iş kazası olduğundan eşlik eden yaralanma veya çoklu amputasyonlar da nadir olmamaktadır. Bu durumlarda replantasyona kadar geçen süre direkt olarak uzuv kaybıyla ilişkili hale gelmektedir.

Amputasyonu takiben, iskemik hasar kritik hücre lizisini meydana getirdiğinde hücre ölümü geri dönüşsüzdür. Kritik iskemi süresi aşıldığında doku perfüzyonu yeniden sağlansa dahi doku hasarı kaçınılmazdır. Geri dönüşsüz hücre ölümü öncesi reperfüzyon mümkündür. Reperfüzyon ise iki yüzü keskin kılıçtır. İskemi sonrası damarsal akımın yeniden sağlanması ile meydana gelebilen ve iskeminin neden olduğu hasardan daha fazla doku hasarının oluşabilir ki buna iskemi-reperfüzyon hasarı denmektedir. İskemi - Reperfüzyon hasarındaki bilinen temel mekanizma iskemi sonrası reperfüzyon olduğunda dokulara oksijenin ulaşması ile serbest oksijen radikallerinin oluşmasıdır. Serbest radikaller dış halkasında eşitlenmemiş

bir elektron bulunan atom veya moleküllerdir. Hücresel solunum ile moleküler oksijenin %98'i suya yıkılırken %2'si süper oksit radikaline dönüşerek ortadan kalkar. Bu toksik molekül mikro saniyeler içerisinde süper oksit dismutaz tarafından suya indirgenir. Normalde oluşan serbest radikallerden organizma, süperoksit dismutaz veya katalaz gibi intraselüler enzimler aracılığıyla korunur. İskemi sırasında anaerobik metabolizma fonksiyonları çalışmaya başlar. Hücrenin asidik hale gelmesiyle membran sistemleri bozulur ve kalsiyum ile katyonlar hücre içine girerler. Aynı zamanda adenozin trifosfat (ATP), inozin ve hipoksantine indirgenir³³. Reperfüzyon sırasında, hipoksantin kalsiyumun etkisiyle moleküler oksijenden serbest oksijen radikallerine yıkılır. Oluşan serbest oksijen radikalleri, hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonunu oluştururlar³⁴. Lipid peroksidasyonunun artması malondialdehitin birikmesine, ödeme, hücre şişmesine neden olur. Bunun sonucunda DNA zincirinde kırılma hücre ölümü meydana gelmektedir³⁵. Reperfüzyon hasarında polimorf nükleer lökosit aktivasyonun aktif rol oynadığı gösterilmiştir³⁶. Bununla birlikte, post-iskemik doku hasarında serbest radikal reaksiyonlarındaki artışla birlikte antioksidan savunma sisteminin yetersizliğinin de söz konusu olup olmadığı tartışılmaktadır³⁷⁻³⁹.

İskemik hasar ve reperfüzyon hasarı arasındaki fark, zayıflamaya bağlı hücre ölümüne karşılık, toplu hücresel ölümlerle karakterizedir. İskemi; oksijen azalması, adenozin trifosfat (ATP) azalması, kalsiyum azalması ve hücre membranında fonksiyon bozukluğu gibi mekanizmalarla zayıflamaya bağlı ölümlere neden olur. Reperfüzyon ise; serbest radikal oluşumuna bağlı olarak bu radikallerin sitotoksik etkisinden ve nötrofil respiratuar patlama (burst); hücre adezyon molekülerinin artışı ki nötrofil degranülasyonu ve diapedezine neden olmasından ve lökosit, trombosit ve endotelial hücrelerden peptit ve medyatörlerin salınımına neden olmasıyla toplu hücre ölümlerine neden olur.

Replantasyon başarısını etkileyen faktörler arasında; amputasyon şekli, seviyesi, ampute parçanın ve hastanın durumu, replantasyona kadar geçen süre, eşlik eden diğer durumlar gibi manipüle edemeyeceğimiz etkenler olduğu kadar operasyon tekniği ve kalitesi, ampute parçanın muhafaza ve transport şekli, post-operatif bakım ve medikasyon gibi manipüle edilebilir ve iyileştirilebilir faktörler de bulunmaktadır. Uygun bir muhafaza ve transportasyon, ampute parçanın gereksiz iskemik hasar almasını önlemede anahtar görevi görmektedir. Amputasyondan reperfüzyona kadar geçen sürede meydana gelen iskemik hasarın ve reperfüzyon sonrası meydana gelen iskemi-reperfüzyon hasarının asgariye indirilmesiyle replantasyon başarısı arttırılabilir.

Hipotermik muhafaza, klasik olarak, kas hücrelerinde iskemi aracılı biyokimyasal hasarı yavaşlatmakta ve ATP seviyelerinin korunmasına yardımcı olmaktadır¹⁰. Böylelikle soğuk muhafaza ile iskemik hasar azaltılabilmekte ve kritik iskemi süresi uzatılabilmektedir. Her ne kadar iskemi-reperfüzyon hasarının erken döneminde uygulanan lokal hafif soğuk (28-35°C) koruyucu medyatörlerin salınmasına yol açsa da⁴⁰⁻⁴⁴, diğer yandan soğuk muhafaza hipotermisine (+4°C) bağlı hücrel metabolik olaylar etkilenmekte ve sekonder hasarlar da ortaya çıkmaktadır. Hipotermi ile etkilenen hücrel metabolik olaylar Tablo 5'te sunulmuştur⁴⁵.

Tablo 5: Hipotermi ile etkilenen hücrel metabolik olaylar.

Etkilenen Yol	Meydana Gelen Olaylar
Plazma membranı Na ⁺ - K ⁺ ATPaz	Hücrel şişme, sitozolik K ⁺ kaybı sitozolik Na ⁺ artışına sebep olur, Na ⁺ -Ca ⁺⁺ değişimi sonucu sitozolik Ca ⁺⁺ artar
Mitokondriyal membran Adenin nükleotid translokaz inhibisyonu – Ca ⁺⁺ akışı	Sitozolik serbest Ca ⁺⁺ artışı, mitokondriyal membran stabilizasyonu kaybı sonucu permeabilite değişiklikleri.
Endoplazmik retikulum membranında Ca ⁺⁺ geçişi blokağı	Sitozolik Ca ⁺⁺ artar
Hücre iskeleti	Şekil değişikliklerine yol açan bozukluklar, endotelial hücre yer değişiklikleri
Proton Metabolizması	H ⁺ glikolize bağlı olarak artar, ATP hidrolizi ve metabolizma kaybı meydana gelir.

Yapılan literatür taramasında geleneksel olarak tariflenen RL¹ ile soğuk muhafaza dışında herhangi alternatif bir yöntem tariflenmediği görülmüştür. Oysaki solid organ transplantasyonlarında kullanılan muhafaza solüsyonları çeşit ve birbirleri üstünlükleri açısından literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur⁴⁶⁻⁵⁵ ve bu konudaki bilimsel gelişmeler hızla devam etmektedir. UW çözeltisi plastik cerrahinin uğraş alanlarından flep yaşayabilirliği

ve iskemi-reperfüzyon hasarı konusunda da araştırılmıştır⁵⁶. Bu konudaki eksikliği gidermek üzere çalışmamızı planladık. Bu çalışmada, soğuk muhafaza ile saklanan ampute parça üzerinde oluşan hipotermi, iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmayı amaçlayarak, muhafaza solüsyonu olarak replantasyon sonrası yaşayabilirliğini arttırmak üzere geleneksel yöntemden farklı olarak viseral organ transplantasyonlarında altın standart olarak kabul edilen UWS kullandık. Kontrol grubunda ise (n=9) muhafaza solüsyonu olarak geleneksel olarak tariflenen RL olarak seçtik.

Her iki grup için standart sıçanlar seçilerek standart besleme ve bakım uygulandı. Cerrahi işlemler tek araştırmacı tarafından standart anestezi yöntemi ve aynı mikrocerrahi ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirildi. Ampute parça sadece solüsyonu farklı olacak şekilde 10 saat boyunca soğukta muhafaza edilerek aynı sıçana replante edildi. Çalışma süresince başarılı replantasyon uygulanamayan, klinik takibinde ek sorunlar meydana gelen ve kaybedilen sıçanlar çalışmaya dâhil edilmedi.

Replante edilen sıçan arka bacakları 3. günün sonunda histopatolojik incelemeye alınmak üzere toplandı. Ampute edilen sıçan arka bacakları üzerinde oluşan soğuk, iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarlarının etkilerini incelemek üzere Modifiye Verhofstadt Skalası²⁸⁻³⁰, na ait 7 parametre (Nekroz yoğunluğu, PMNL yoğunluğu, Lenfosit yoğunluğu, Ödem seviyesi, Fibroblast proliferasyonu seviyesi, Kollajen yoğunluğu ve Damarlanma yoğunluğu) seçilerek örnekler skorlandırıldı. Her parametre için 0-3 arası bir skor verilerek toplam 21 puan üzerinden skora yapıldı. Kollajen ve fibroblast proliferasyonu yoğunluğu parametreleri açısından tüm örneklerde skora yapılacak bir değişiklik izlenmediği için bu parametreler istatistiksel hesaplamalara dâhil edilmedi.

RL ile soğuk muhafaza edilen kontrol (n=9) grubunda Modifiye Verhofstadt skoru ortalaması 4,33 bulunurken UW solüsyonu ile soğuk muhafaza edilen grupta (n=10) bu değer daha düşük bir değer olan 2.70 olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak bu fark anlamlı bulundu ($p<0,05$). Gerek hipotermik hasara, gerekse de iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı meydana gelen hücresel değişikliklerin bütününe histopatolojik değerlendirilmesi sonucunda UW solüsyonunun ampute parçanın soğuk muhafazasında geleneksel RL solüsyonuna göre daha az hücresel hasara yol açtığını, replante edilen parçanın daha yaşayabilir bulunduğunu deneysel mikrocerrahi replantasyon modelinde göstermiş bulunmaktayız. RL ve UW solüsyonları içerikleri Tablo 6'da gösterilmektedir.

Tablo 6: RL ve UW solüsyonlarının içerikleri

İçerik	RL	UWS
Potasyum	4 mmol/L	35 mmol/L
Sodyum	130 mmol/L	135 mmol/L
Kalsiyum	1,5 mmol/L	-
Klor	109 mmol/L	-
Laktat	28 mmol/L	-
Magnezyum	-	5 mmol/L
Laktobiyonat	-	100 mmol/L
Fosfat	-	25 mmol/L
Sülfat	-	5 mmol/L
Rafinoz	-	30 mmol/L
Adenozin	-	5 mmol/L
Allopurinol	-	1 mmol/L
Glutatyon	-	3 mmol/L
Insulin	-	100 U/L
Dekzametazon	-	8 mg/L
HES	-	50 gr/L

RL solüsyonu en fizyolojik kristalloid solüsyondur ve ekstraselüler sıvı kompozisyonu üzerine en az etkisi olan solüsyondur. Bu açıdan ampute parçanın muhafazasında etkilidir. İçerdiği laktat karaciğerde Cori siklusunu ile glukoza dönüşürken bikarbonat ortaya çıkar, bu nedenle asidoz tedavisinde kullanılmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında anaerobik metabolizma fonksiyonları çalışmaya başlar. Hücrenin asidik hale gelmesiyle membran sistemleri bozulur ve kalsiyum ile katyonlar hücre içine girerler. Ancak RL solüsyonunun bu asidoza etkisi olabilmesi için karaciğerde metabolize edilmesi gereklidir, oysaki ampute parça muhafazasında muhafaza solüsyonu ampute parçayı korumaktadır, sistemik dolaşıma katılmamaktadır. Bu nedenle RL solüsyonunun ampute parça iskemik hasarında meydana gelen hücresel asidoza pozitif bir etkisi olmamaktadır.

UW solüsyonu karaciğer, böbrek ve pankreas transplantasyonu için geliştirilen bir muhafaza solüsyonudur. Renal ve hepatik mufahazada standart olarak değerlendirilmektedir. Böbrek ve karaciğerin iskemi süresini etkin bir biçimde uzatarak nakil bekleyen hastalara

ulaştırılacak kadar bekletilmeyi mümkün kılmaktadır. UW solüsyonu ayrıca ince bağırsak ve kalp muhafaza solüsyonu olarak da başarılı bir biçimde kullanılmıştır.

Laktobiyonat, solüsyonunun majör etkin bileşenidir. Çözünmeyen yapısı solüsyonun onkotik basıncını sağlamaktadır. Böylelikle solüsyonun hücre zarıyla dengesini geciktirerek hücrel ödem gelişmesini engellemektedir. Yüksek potasyum konsantrasyonu vazokonstriksiyon yapabileceği için potasyumun konsantrasyonu benzer yıkama solüsyonlarına göre düşüktür. Glutasyon, solüsyon içerisinde instabil bir haldedir ve serbest oksijen radikal çöpçüsü olarak davranarak iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmaktadır. Adenozin ve Allopurinol de bu işleve benzer şekilde yardımcı olmaktadır. Böylelikle ATP rejenerasyonu desteklenerek LDH salınımını baskılanır. Steroid yapıdaki Dekzametazon ile iskeminin akut dönemindeki şoka bağlı medyatör salınımları, ani hücre ölümü ve inflamasyon baskılanmakta, uzun dönemde ödem üzerine etkinlik sağlanarak hücrel hasar azaltılmaktadır. İskemi sürecinin bir parçası olan anaerobik glikolizisi ve metabolitlerini engellemek için Rafinoz ve insulin de solüsyon bileşiminde yer almaktadır. Hipotermi, soğuk muhafazanın ayrılmaz bir parçası olmakla birlikte hipotermi ile indüklenen enzimatik olaylar iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarını artırmaktadır. UWS, direkt etki ile olduğu kadar hipotermiye bağlı hücre hasarını da içerdiği bu maddelerle engellemektedir.

Parametre skorları ayrı ayrı olarak gruplar arası karşılaştırıldı.

Nekroz yoğunluğu ortalaması kontrol grubunda 1,11 (yüzeysel-belirgin nekroz) iken çalışma grubunda 0,50 (nekroz yok-yüzeysel nekroz) olarak bulundu. Nekroz yoğunluğu skoru ortalamasında yaklaşık %55'lik bir azalma izlendi. UW solüsyonu ile soğuk muhafaza edilen örneklerde, nekroz yoğunluğunun belirgin olarak azaldığı izlendi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p < 0,05$). Nekroz, soğuk ve iskemi-reperfüzyon hasarının önemli bir bulgusu olmakla birlikte tek başına bu kompleks metabolik olayların bir işaretçisi değildir. Hücrel hasar sonucu kompozit yapıdaki ampute parçada her hücrede ve organelde farklı bulgular oluşmaktadır. Ampute parça kas, deri ve integuman, yağ, lenfatik doku, vasküler yapılar, kemik, kemik iliği, bağ dokusu vb. kompozit yapılardan oluşmaktadır. Her dokunun iskemiye yanıtı ve dayanıklılığı farklı olacaktır. Kas dokusu hipoksiye en dayanıksız dokudur, oda sıcaklığında 6 saatten sonra geri dönüşsüz hasar meydana gelir¹. Bu nedenle, histopatolojik değerlendirmede muskuler yapıdaki nekroz yoğunluğu skorlamada belirleyici olmuştur.

Yine PMNL yoğunluğu skoru ortalaması kontrol grubunda 1,11 iken çalışma grubunda 0,74 olarak elde edildi. Reperfüzyon hasarında polimorf nükleer lökosit

aktivasyonun aktif rol oynadığı gösterilmiştir⁴¹. Lenfosit yoğunluğu skorlarında ise bu değerler kontrol ve çalışma grubu için sırasıyla 0,22 ve 0,00 olarak bulundu. PMNL yoğunluğundaki yaklaşık %33'lük bu azalma ve çalışma grubunda lenfosit yoğunluğunda bir artışın izlenmemesi, çalışma grubunda görülen nekroz yoğunluğunun düşük olmasına, dolayısıyla iskemi-reperfüzyon hasarının daha düşük olmasına ve bu nedenle inflamasyonunun daha az olduğuna işaret ettiğini düşündürmekle birlikte gruplar arasında bu parametreler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p<0,05$).

Ödem parametresi skor ortalaması kontrol ve çalışma grubunda bir değişiklik göstermeyerek 1,00 (hafif ödem) olarak bulundu. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma anlamlı bulunmadı.

Damar yoğunluğu skoru ortalaması kontrol grubunda 0,89 iken çalışma grubunda bu değer 0,40'a düştüğü izlendi. Damarlanma artışının iskemi-reperfüzyon veya başka bir etkene bağlı oluşan hasardan sonra meydana gelen inflamasyon ve salınan VGF, VEGF gibi faktörlere bağlı olduğu bilinmektedir. Kontrol grubundaki bu artışın meydana gelen hasarın ve inflamasyonunun daha fazla olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Gruplar arası bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$).

Sonuç olarak, histopatolojik açıdan incelenen 5 parametrenin tümünde çalışma grubunda ortalama skor daha düşük bulunmuştur. UW solüsyonu kullanılarak yapılan soğuk muhafazada RL solüsyonuna kıyasla daha düşük nekroz yoğunluğu, PMNL ve lenfosit infiltrasyonu, kollajen ve fibroblast yoğunlukları ve damarlanma artışı bulunmuştur. Ödem yoğunluğu her iki grupta da benzerdir. İstatistiksel olarak ise bu parametrelerden damarlanma artışında anlamlı bir düşme saptanmakla birlikte, soğuk hasarı ve iskemi-reperfüzyon hasarını asıl yansıtan toplam skor açısından istatistiksel olarak de oldukça belirgin bir "p" değeri (0,005) ($p<0,05$ anlamlı) bulunmuştur.

Bu bulguların ışığında UW solüsyonunun ampute parçanın soğuk muhafazasında RL solüsyonuna oranla replantasyon sonrası ampute parçanın yaşayabilirliği üzerinde belirgin olumlu etkileri olduğunu düşünmekteyiz.

7. SONUÇ

Başarısız replantasyon cerrahisinde en önemli sebep yaralanmanın şekli ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır. Yaralanma şeklini değiştirmek mümkün olmadığı için iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak klinik başarıyı arttırmak için izlenebilecek en verimli yol gibi görünmektedir. İskemi-reperfüzyon hasarının miktarı ampute parçanın sıcak ve soğuk iskemi süresi ve saklanma koşulları ile ilgilidir.

Bu çalışmada, soğuk muhafaza ile saklanan ampute parça üzerinde oluşan hipotermi, iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmayı amaçlayarak, muhafaza solüsyonu olarak replantasyon sonrası yaşayabilirliğini arttırmak üzere geleneksel yöntemden farklı olarak viseral organ transplantasyonlarında altın standart olarak kabul edilen UWS kullandık.

Yaptığımız çalışmanın sağladığı bulguların ışığında, UW solüsyonunun ampute parçanın soğuk muhafazasında RL solüsyonuna oranla replantasyon sonrası ampute parçanın yaşayabilirliği üzerinde belirgin olumlu etkileri olduğu sonucuna vardık.

Bu veriler ışığında, replantasyon başarısını arttırmak için, soğuk muhafaza solüsyonu olarak UW solüsyonunun kullanılmasının yararlı olabileceğini ve bu konuda daha ileri çalışmalar yapılması gerektiği sonucuna vardık. Yapılacak geniş kapsamlı çalışmaların sonucunda, UW solüsyonunun birinci basamak sağlık kuruluşlarında, acil servislerde ve ambulanslarda hazır bulundurularak, ampute parçanın mikrocerrahi merkezine ulaştırılmasıyla uzuv kayıplarında azalma sağlanabileceğini düşünmekteyiz.

8. ABSTRACT

An amputation is the removal of an extremity or appendage from the body. Loss of an extremity results severe phsychological and functional difficulties.

Replantation of completely amputated digits has been a medical reality since 1968, when Komatsu and Tamai first reported successful replantation of a completely amputated thumb¹⁶. Amputation of digits is common. Approximately 100,000 digital amputations occur per year in the US. Of these, an estimated 30% are suitable for replantation²³. The exact number of replantations performed yearly is unknown.

Following amputation, cell death is irreversible if ischemia produces critical cell lysis. Prior to irreversible cell death, reperfusion is possible. Time from injury to reperfusion and salvage depends upon the type of tissue involved and the temperature and the preservation condition of the injured part.

Traditionally, the amputated part is preserved in a gauze moistened with lactated Ringer solution¹ or saline, placed in a dry plastic bag in another bag with ice mixed with water at +4°C in temperature to prevent frostbite of the amputated part. The gauze and plastic prevent the tissue from coming into direct contact with the ice. This method is preferred to immersion or wrapping in a moist dressing to avoid maceration.

We have seen that no other preservation and transportation method to promote ischemia time has been studied in literature. We investigated an alternative preservation solution – UWS^{2,3} (University of Wisconsin Solution), a solid organ preservation solution, for amputated part to lengthen critical ischemia time of the amputated part and the success of replantation.

We designed a study of two randomized groups of rats. 20 rats are divided into control group (n=9) and study group (n=10). In control group, the hind limbs of the rats were amputated and preserved in standard traditional method for 10 hours. In the study group the hind limbs were preserved in UW-moistened gauze instead. All the hind limbs were then replanted back using femoral artery and vein anastomoses under operation microscope.

The rats and the replanted parts were monitored for 3 days. The hind limbs were re-amputated on 3rd day after replantation for histopathological study to reveal the effects of ischemia and reperfusion.

All the replantations except one in control group survived which was excluded. A total of 19 specimens were studied for histopathological changes to determine the total injury by means of necrosis level, PMNL, lymphocyte, edema, vascularity, fibroblast and collagen densities.

Statistical data revealed that study group has significantly low injury score than control group. The viability of the replanted part is improved in the UW solution group.

As a result, in order to improve the replantation success, UW solution can be used an alternative cold preservation solution for amputated part. Further studies should be done for the future of microsurgical replantation surgery.

9. KAYNAKLAR

1. Grabb and Smith's Plastic Surgery, Fifth Edition, 1997 Lippincott-Raven
2. Tamai S. History of microsurgery. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Dec;124(6 Suppl):e282-94.
3. Mathes Plastic Surgery Second Edition, Volume VII, 2006, Elsevier
4. Frenkel SE, Furukawa RD, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Tumiati LC. Prolonged preservation with UW Solution. *J Surg Res.* 1991 Apr;50(4):330-4.
5. Mangus RS, Tector AJ, Fridell JA, Kazimi M, Hollinger E, Vianna RM. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution and University of Wisconsin solution in intestinal and multivisceral transplantation. *Transplantation.* 2008 Jul 27;86(2):298-302.
6. F. Mühlbacher F. Langera C. Mittermayera Preservation solutions for transplantation *Transplantation Proceedings* Volume 31, Issue 5, August 1999, p.2069-2070
7. Ad-El DD, Harper A, Hoffman LA. Digital replantation teaching model in rats. *Microsurgery.* 2000;20(1):42-4.
8. Deneysel Mikrocerrahi, Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakil Modelleri. 1. Baskı. Mehmet Bayramiçli. 2005. A4 Ofset Matbaacılık
9. Alexandros E. Beris, Marios G. Lykissas, Anastasios V. Korompilias, Gregory I. Mitsionis, Marios D. Vekris, Ioannis P. Kostas-Agnantis. Digit and hand replantation, *Arch Orthop Trauma Surg*, DOI 10.1007/s00402-009-1021-7
10. Eckert, P., Schnackerz, K. Ischemic tolerance of human skeletal muscle *Ann. Plast. Surg.* 26: 77, 1991
11. Carrel A. The operative technique of vascular anastomosis and transplantation of organs. *Lyon Med.* 98: 859, 1902.
12. Carrel A. Guthrie C. C. Anastomosis of blood vessels by the patch method and transplantation of the kidney. *JAMA.* 47: 1648, 1906b.
13. Nyken, C. O. The otomicroscope and microsurgery, 1921-1971. *Acta Otolaryngol* 73: 453, 1972
14. Jacobson J. H, Suarez E. L. Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum.* 11: 243, 1960

15. Chen C. W. Chien Y. C. PAo Y. S. Salvage of the forearm following complete traumatic amputation. Report of a case. *Chin Med J.* 82: 632, 1963
16. Seidenberg B, Hurwitt Es. Immediate reconstruction of the cervical esophagus by a revascularized isolated jejunal segment. *Surg Forum.* 1958;9:413–6.
17. Klainert, H. E. And Kasdan, M. L. Salvage of devascularised upper extremities, studies on small vessel anastomosis. *Clin Orthop*, 29:29
18. Buncke H. J. Jr, Schulz W.P. Total ear replantation in the rabbit using microminiature vascular anastomosis. *Br J Plast Surg.* 19: 15, 1966
19. Komatsu S., Tamai S., Successful replantation of a completely cut-off thumb: Case Report. *Plast Reconstr Surg.* 42: 374, 1968
20. Donaghy RMP, Yasargil MG, eds. *Microvascular Surgery: Report of the First Micro-
Angiational Conference.* October 6–7, 1966, 1st ed. St. Louis, MO: CV Mosby; 1967.
21. Devauchelle B, Badet L, Lengele B, Morelon E, Testelin S, Michallet M, D’hauthuille C, Dubernard JM. First human face allograft: early report. *Lancet.* 2006 Jul 15;368(9531):203-9
22. Malt RA, McKhann C. Replantation of a severed arm. *JAMA* 1964;189:716
23. Dec W. A meta-analysis of success rates for digit replantation. *Tech Hand Up Extrem Surg.* Sep 2006;10(3):124-9.
24. Kerrigan CL, Stotland MA: Ischemia reperfusion injury: A review, *Microsurgery* 14:165, 1993
25. Guté DC, Ishida T, Yarimizu K, et al. Inflammatory responses to ischaemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998;179:169–187.
26. Zamboni WA, Stephenson LL, Roth AC, et al. Ischemia–reperfusion injury in skeletal muscle: CD-18 dependent neutrophil–endothelial adhesion and arteriolar vasoconstriction. *Plast Reconstr Surg* 1997;99:2002–2007.
27. Lee C, Kerrigan CL, Picard–Ami LA. Cyclophosphamide induced neutropenia: effect on postischemic skin-flap survival. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:1092–1097.
28. S. Ringer: Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. *Journal of Physiology, Cambridge*, 1880-1882, 3: 380-393.
29. Hoffman B, Sollinger H, Kalayoglu M, Belzer FO. Use of UW solution for kidney transplantation. *Transplantation.* 1988 Aug;46(2):338-9
30. Verhofstad MH, Lange WP, van der Laak JA, et al. Microscopic analysis of anastomotic healing in the intestine of normal and diabetic rats. *Dis Colon Rectum.* 2001;44:423–431.

31. Hasanoglu A, Erkan S, Temel S , Urhan M.K, Güler O. Effect of sildenafil citrate on healing of colonic anastomoses. *Turkish Medical Journal* 2007, 1:66-75.
32. Ozer I, Ulas M, Ercan M, Ozogul YB, Zengin N, Bostanci EB, Ozel U, Bilgihan A, Akoglu M. The effects of duration of CO2 pneumoperitoneum on colonic anastomosis. *J Invest Surg.* 2008 Jul-Aug;21(4):177-81.
33. Ihnken K, Beyersdorf F, Winkelmann BR, Mitrev Z, Unkelbach U. Experimental application of controlled limb reperfusion after incomplete ischaemia. *Br J Surg.* 1996 Jun;83(6):803-9
34. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derived free radicals. *Arch Surg* 1991;126:104-5
35. Kasprzak KS. Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis. *Free Radical Biology & Medicine* 2002;32(10):958-967.
36. Hearse DJ. Ischemia, reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1990 Aug;4 Suppl 4:767-76.
37. Aebi K, Satoshi Y, Kogure K. Strong attenuation of ischemic and postischemic brain edema in rats by a novel free radical scavenger. *Stroke*, 1988; 19: 480-5.
38. Leibovitz BE, Siegel BV. Aspects of free radical reactions in biological systems. *Aging J Gerontol*, 1980; 35:45-56.
39. Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*, 1985; 312:159-163.
40. Mowlavi A, Neumeister MW, Wilhelmi BJ, Song YH, Suchy H, Russell RC. Local hypothermia during early reperfusion protects skeletal muscle from ischemia-reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg* 2003;111:242-50.
41. Canevari L, Console A, Tendi EA, Clark JB, Bates TE. Effect of postischaemic hypothermia on the mitochondrial damage induced by ischaemia and reperfusion in the gerbil. *Brain Res* 1999;817:241-5.
42. Duan M, Li D, Xu J. Effects of selective head cooling on brain cell membrane activity during postischemic reperfusion. *Chin Med J* 1996;109:463-6.
43. Laptok AR, Corbett RJ, Sterett R, Burns DK, Garcia D, Tollefsbol G. Modest hypothermia provides partial neuroprotection when used for immediate resuscitation after brain ischemia. *Pediatr Res* 1997;42:17-23.
44. Huang FP, Zhou LF, Yang GY. The effect of extending mild hypothermia on focal cerebral ischemia and reperfusion in the rat. *Neurol Res* 1998;20:57-62.
45. Transplantation, Leo C. Ginns, A. Benedict Cosimi, Peter J. Morris, Blackwell Science, 1999

46. Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*, 1985; 312:159-163.
47. Fischer JH, Jeschkeit S. Effectivity of freshly prepared or refreshed solutions for heart preservation versus commercial EuroCollins, Bretschneider's HTK or University of Wisconsin solution. *Transplantation*. 1995 May 15;59(9):1259-62.
48. Mühlbacher F, Langer F, Mittermayer C. Preservation solutions for transplantation. *Transplant Proc*. 1999 Aug;31(5):2069-70.
49. Hachida M, Ookado A, Nonoyama M, Koyanagi H. Effect of HTK solution for myocardial preservation. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1996 Jun;37(3):269-74.
50. Uhlmann D, Armann B, Ludwig S, Escher E, Pietsch UC, Tannapfel A, Teupser D, Hauss J, Witzigmann H. Comparison of Celsior and UW solution in experimental pancreas preservation. *J Surg Res*. 2002 Jun 15;105(2):173-80.
51. Donato MT, Serralta A, Jiménez N, Pérez G, Castell JV, Mir J, Gómez-Lechón MJ. Liver grafts preserved in Celsior solution as source of hepatocytes for drug metabolism studies: comparison with surgical liver biopsies. *Drug Metab Dispos*. 2005 Jan;33(1):108-14. Epub 2004 Sep 24
52. Rayya F, Harms J, Martin AP, Bartels M, Hauss J, Fangmann J. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution and University of Wisconsin solution in adult liver transplantation. *Transplant Proc*. 2008 May;40(4):891-4
53. Polyak MM, Grosche A. Comparison of Vasosol and University of Wisconsin solutions on early kidney function after 24 hours of cold ischemia in a canine autotransplantation model. *J Surg Res*. 2008 Dec;150(2):255-60.
54. Illouz S, Nakamura T, Webb M, Thava B, Bikchandani J, Robertson G, Lloyd D, Berry D, Wada H, Dennison A. Comparison of University of Wisconsin and ET-Kyoto preservation solutions for the cryopreservation of primary human hepatocytes. *Transplant Proc*. 2008 Jun;40(5):1706-9.
55. Domański L, Sulikowski T, Romanowski M, Safranow K, Pawlik A, Jakubowska K, Dziejewski V, Wiśniewska M, Domański M, Chlubek D, Olszewska M, Ciechanowski K. The effect of preservation solutions UW and EC on purine concentration in rat kidney. *Ann Acad Med Stetin*. 2008;54(1):53-9
56. Alper M, Ozek C, Erdem O, Denk M, Colen L. B., Prewitt R. Effects of University of Wisconsin and lactated Ringer's solution to ischemia-reperfusion injury in isolated cremaster flap.