



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL PROF. DR. CEMİL TAŞÇIOĞLU ŞEHİR HASTANESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHI KLİNİĞİ

SIÇAN FEMORAL ARTER MİKROVASKÜLER
ANASTOMOZ MODELİNDE GLUTATYON VE
N-ASETİLSİSTEİN'İN PERİVASKÜLER
İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Burak Yılmaz

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL - 2024



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL PROF. DR. CEMİL TAŞÇIOĞLU ŞEHİR HASTANESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHI KLİNİĞİ

SIÇAN FEMORAL ARTER MİKROVASKÜLER
ANASTOMOZ MODELİNDE GLUTATYON VE
N-ASETİLSİSTEİN'İN PERİVASKÜLER
İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Burak Yılmaz

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi İlker ÜSÇETİN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL - 2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde engin tecrübesinden yararlandığım, yetişmemde sonsuz emekleri olan, üstün cerrahi yeteneğinin yanı sıra etik değerlerini ve iyi kalbini kendime örnek aldığım, desteğini her zaman arkamda hissettiğim başasistanım Op. Dr. İlker Üşçetin'e

Asistanlığım boyunca cerrahi bilgi ve tecrübesine her zaman saygı duyduğum, birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Özlem Çolak'a

Sonsuz teorik bilgisi ve cerrahi yeteneğiyle beraber çalışmaktan keyif aldığım, bilgiyi paylaşma arzusuna hayran olduğum ve alçakgönüllülüğünü kendime örnek aldığım değerli hocam Doç. Dr. Bilge Kağan Aysal'a

Berber çalışma fırsatına erişebildiğim için kendimi her zaman şanslı hissettiğim, ablam ve uzmanım Op. Dr. Tuğçe Yasak Par'a

Asistanlığımın başından beri destek gördüğüm, bildiğim birçok şeyi bana öğreten, birlikte pek çok vaka yapma şansına eriştiğim, her birinin bana ayrı ayrı büyük katkıları olan Op. Dr. Ayça Ergan Şahin'e, Op. Dr. Mert Canlı'ya, Op. Dr. Selman Taşkın'a ve Op. Dr. Semih Tiber Menteşe'ye

Tecrübelerini ve bilgisini benimle sabırla paylaşarak beni her zaman destekleyen abim Op. Dr. Batıbey Batmacı'ya

Sakinliği ve yetkinliğiyle bana her zaman güven veren, çalıştığım her an desteğini sabırla sunan abim Op. Dr. Harun Erbek'e

Her koşulda yanımda olarak benden desteğini, engin bilgisini ve zamanını hiç esirgemeyen, beraber çalıştığım için kendimi çok şanslı hissettiğim abim Op. Dr. Türkay Gökeri'ye

Çalışkanlığı, disiplini ve bilgisiyle beraber çalıştığımız her anda beni destekleyerek yalnız bırakmayan abim Op. Dr. Emre Gunenc'e

Titiz, disiplinli ve gayretli kişiliğiyle beraber çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum Dr. Zeynep Öykü Gürel'e

Azmi ve çalışkanlığıyla birlikte mutlulukla çalıştığım Dr. Mahir Gökbulut'a

Birlikte keyifle çalıştığım Dr. Poyraz Düzgün'e, Dr. Günay Güldoğan'a, Dr. Caner Ali İlhan'a ve deneysel çalışmamızda emek veren Dr. Nurgül Bayrak'a

Tezimin deneysel aşamasında yardımını esirgemeyen Acıbadem Üniversitesi'ne

Fedakarlığıyla ve sonsuz sevgisiyle hep yanımda olan annem Huriye Yılmaz'a, babam Harun Yılmaz'a ve sevgili kardeşim Burcu Yılmaz'a

Uzmanlık eğitimim boyunca karşılaştığım tüm zorluklarda yanımda olan, hayatımı yaşanabilir kılan sevgili eşim Zeynep Karadaş Yılmaz'a

İsmini sayamadığım ve bu süreçte yanımda olan tüm asistan, hemşire ve çalışma arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimle....

Dr. Burak Yılmaz
İstanbul-2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Mikrocerrahi Anastomozun Tarihçesi ve Tekniği.....	4
2.1.1. Mikrocerrahinin Tarihçesi.....	4
2.1.2. Mikrocerrahi Teknik	6
2.2. Damarın Yapısı ve Histolojisi	12
2.2.1. Tunika İntima	12
2.2.2. Tunika Media	12
2.2.3. Tunika Adventisya	13
2.3. Mikrovasküler Anastomoz İyileşmesi.....	14
2.3.1. Platelet Agregasyon Evresi	14
2.3.2. Fibrin Ağı Evresi.....	14
2.3.3. Göç Evresi.....	15
2.3.4. İntimal Kapanma Evresi.....	15
2.3.5. Tunika Mediada Meydana Gelen Değişiklikler	15
2.3.6. Tunika Adventisyada Meydana Gelen Değişiklikler	16
2.4. N-Asetil Sistein (NAC)	16
2.5. Glutasyon (GSH)	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Deney Hayvan Modelinin Oluşturulması.....	20
3.1.1. Cerrahi Prosedür ve Deney Grupları	20
3.2. İlaç Uygulamaları	27
3.3. Deneyin Sonlandırılması ve Histopatolojik Örneklenme.....	27

3.4. Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi	28
3.4.1. Klinik Değerlendirme	28
3.4.2. Histopatolojik Değerlendirme	28
3.4.3. İstatistiksel Değerlendirme	28
4. BULGULAR	30
4.1. Histopatolojik Bulgular	31
4.1.1. Perivasküler İnflamasyon	31
4.1.2. Adventisyal İnflamasyon	33
4.1.3. Adventisyal Fibrosis	36
4.1.4. Medial Nekroz	37
4.1.5. İntimal Hiperplazi	38
4.1.6. Endotel Bütünlüğü	39
4.1.7. Trombüs Formasyonu	40
4.2. Klinik Bulgular	42
4.2.1. Anastomoz Patensi	42
4.2.2. Klemp Süresi	43
4.2.3. Sıçanların Ağırlığı	43
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ	51
7. KAYNAKÇA	52
8. ÖZGEÇMİŞ	59
9. EKLER	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	: Adenozin Difosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
G6PD	: Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GCS	: Gama-glutamilsistein Sentetaz
GSH	: Glutasyon (Redükte)
GSSG	: Glutasyon Di Sülfid (Oksitlenmiş)
NAC	: N-Asetil Sistein
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NF- κB	: Nuclear Factor kappa B
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TNF-α	: Tumor Nekrosis Factor- α
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Parametreler Maksimum, Minimum ve Medyan Değerleri.....	31
Tablo 2: Gruplar Arasında Klinik ve Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması ...	35
Tablo 3: Patens Saptanan ve Saptanmayan Deneklerin Bulgularının Karşılaştırılması	44
Tablo 4: Endotel Bütünlüğü Olan ve Olmayan Gruplar Arasında Klemp Süresi Değerleri	45



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Damarın Yanlış Olarak Tam Kat Tutulması	7
Şekil 2: Diseksiyonu Tamamlanmış Femoral Arter	7
Şekil 3: Yetersiz Adventisya Temizliği	8
Şekil 4: Damar Ucunun Dilatasyonu	9
Şekil 5: Damarın İçine Penset ile Girilmesi	10
Şekil 6: Karşı Duvardan Dikişin Geçilmesi.....	10
Şekil 7: “Uplift” Testi.....	11
Şekil 8: Küçük Arter ve Venin Tabakaları	13
Şekil 9: N-Asetil Sisteinin Kimyasal Yapısı	17
Şekil 10: Glutasyonun Kimyasal Yapısı	18
Şekil 11: Deneğin Panoya Tespit Edilmesi	21
Şekil 12: Cerrahi Alan Temizliği ve İnsizyon	22
Şekil 13: Ekartörlerin Yerleştirilmesi	23
Şekil 14: Deneyde Kullanılan Mikroskop	24
Şekil 15: Murphy Dalının Bağlanması	25
Şekil 16: Tamamen Diseke Edilmiş Femoral Arterin Fon Üzerine Alınması.....	25
Şekil 17: Tamamlanmış Anastomozun Görünümü.....	26
Şekil 18: Gruplar Arası Perivasküler İnflamasyon Oranları.....	32
Şekil 19: Şiddetli Derecede Perivasküler İnflamasyon Örnek Preparatı, HE,100x...32	
Şekil 20: Hafif Derecede Perivasküler İnflamasyon Örnek Preparatı, HE, 200.....33	
Şekil 21: Adventisyal İnflamasyon Dereceleri	33
Şekil 22: Şiddetli Derecede Adventisyal İnflamasyon Örnek Preparatı, HE,400x ...34	
Şekil 23: Hafif Derecede Adventisyal İnflamasyon Örnek Preparatı, HE, 200x34	
Şekil 24: Orta Derecede Adventisyal Fibrozis Örnek Preparatı, HE, 400x.....36	
Şekil 25: Adventisyal Fibrozis İzlenmeyen Preparat Örneği, HE, 200x	36
Şekil 26: Gruplar Arasında Medial Nekroz Görülme Oranları	37
Şekil 27: Medial Nekroz Olan Preparat Örneği HE, 200x	37
Şekil 28: Medial Nekroz Olmayan Preparat Örneği, HE, 100x	38
Şekil 29: Orta Derecede İntimal Hiperplazi ve Trombüs Örnek Preparatı, HE, 200x	38

Şekil 30: İntimal Hiperplazi İzlenmeyen Örnek Preparatı, HE, 200x	39
Şekil 31: Endotel Bütünlüğü Sağlanma Oranları.....	39
Şekil 32: Endotel Bütünlüğü Olmayan Preparat Örneği, HE, 100x	40
Şekil 33: Endotel Bütünlüğü Olan Preparat Örneği, HE, 100x	40
Şekil 34: Gruplar Arasında Trombüs Oranları	41
Şekil 35: Trombüs Mevcut Olan Preparat Örneği, HE, 100x.....	41
Şekil 36: Trombüs Mevcut Olmayan Preparat Örneği, HE, 200x.....	42
Şekil 37: Gruplarda Patens Oranları	43



ÖZET

SIÇAN FEMORAL ARTER MİKROVASKÜLER ANASTOMOZ MODELİNDE GLUTATYON VE N-ASETİLSİSTEİN'İN PERİVASKÜLER İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİ

Giriş: Mikrovasküler anastomoz plastik cerrahi pratiğinde sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Mikrovasküler anastomoz sonrası anastomoz başarısının artırılması amacıyla birçok madde mikrovasküler anastomoz modelleri üzerinde denenmiştir. Glutatyon(GSH) ve N-Asetil sistein(NAC)'in flep sağkalımında, oksidatif stres ve endotel fonksiyonları üzerinde olumlu etkilerini gösteren literatür çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmada Glutatyon ve N-Asetil Sisteinin mikrovasküler anastomoz sonrasında damar patensi, trombüs formasyonu, damar duvarı ve perivasküler alandaki etkileri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza yaşları 4 ile 6 ay arasında değişim gösteren 200-350 g ağırlığında Wistar - Albino tipi dişi sıçanlar dahil edildi. İstatistiksel güç analizi yapılması sonrasında 24 adet sıçan her grupta rastgele 8 adet sıçan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Sıçanların sağ femoral arter kesisi oluşturuldu. Takiben aralıklı basit dikişler kullanılarak mikrovasküler anastomoz gerçekleştirildi. Operasyon sonrasındaki 7. günde sıçanlar tekrar opere edilerek anastomoz patensleri değerlendirildi ve histopatolojik örneklerin alınmasını takiben sakrifiye edildi. Histopatolojik olarak perivasküler inflamasyon, adventisyal inflamasyon, adventisyal fibrozis, medial nekroz, intimal hiperplazi, endotel bütünlüğü ve intimal hiperplazi değerlendirildi.

Bulgular: Perivasküler inflamasyon, adventisyal inflamasyon NAC + GSH verilen grupta anlamlı olarak daha az bulundu. Endotel bütünlüğünün NAC + GSH verilen grupta anlamlı olarak daha iyi sağlandığı gözlemlendi. Medial nekroz NAC + GSH verilen grupta anlamlı olarak daha az saptandı. Adventisyal fibrozis, intimal hiperplazi ve trombüs varlığı gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Patens oranı, klemp süresi ve deneklerin ağırlıkları arasında anlamlı farklılık bulunmadı.

Patens mevcut olan deneklerde trombüs oranı anlamlı olarak düşük saptandı. Patens mevcut olan deneklerde medial nekroz ve perivasküler inflamasyon anlamlı olarak daha az bulundu.

Sonuç: Bu bulgular, Glutasyon ve N-Asetil sisteinin antioksidan ve sitoprotektif etkileri sayesinde anastomoz hattında daha az inflamasyon ve daha hızlı endotelizasyon sağlanabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamız, klinikte sık kullanılan NAC ve Glutasyonun mikrovasküler anastomoz etkileri üzerine yapılacak klinik veya deneysel çalışmalarda araştırmacılara bir fikir sağlayabilir.

Anahtar Sözcükler: Glutasyon (GSH), N-Asetil sistein (NAC), Mikrovasküler Anastomoz

ABSTRACT

Aim: Microvascular anastomosis is a frequently used technique in plastic surgery practice. Many substances have been tested on microvascular anastomosis models to increase anastomosis success after microvascular anastomosis. There are literature studies showing the positive effects of glutathione (GSH) and N-Acetyl cysteine (NAC) on flap survival, oxidative stress and endothelial functions. In this study, the effects of Glutathione and N-Acetyl Cysteine on vascular patency, thrombus formation, vascular wall and perivascular area after microvascular anastomosis were examined.

Materials and Methods: Wistar - Albino type female rats weighing 200-350 g, aged between 4 and 6 months, were included in our study. After statistical power analysis, 24 rats were randomly divided into three groups, with eight rats in each group. The right femoral artery of the rats was used. Subsequently, microvascular anastomosis was performed using simple interrupted sutures. On the 7th day after the operation, the rats were operated again, their anastomosis patency was evaluated, and they were sacrificed following the collection of histopathological samples. In histopathological evaluation perivascular inflammation, adventitial inflammation, adventitial fibrosis, medial necrosis, intimal hyperplasia, endothelial integrity and intimal hyperplasia were evaluated.

Results: Perivascular inflammation and adventitial inflammation were significantly less in the NAC + GSH administered group. Endothelial integrity was achieved significantly better in the NAC + GSH administered group. Medial necrosis was detected significantly less in the NAC + GSH administered group. The presence of adventitial fibrosis, intimal hyperplasia and thrombus did not show any significant difference between the groups. There was no significant difference between the patency rate, clamp duration and weights of the subjects. The thrombus rate was significantly lower in subjects with patency. Medial necrosis and perivascular inflammation were significantly less in subjects with patency.

Conclusion: It has been suggested that glutathione and N-Acetyl cysteine may provide less inflammation and faster reendothelialization in the anastomosis, thanks to their antioxidant and cytoprotective effects. This study may provide an idea to researchers in future clinical or experimental studies on microvascular anastomosis using NAC and Glutathione, which are frequently used in the clinical practice.

Key words: Glutathione (GSH), N-Acetyl cysteine (NAC), Microvascular Anastomosis



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüz plastik cerrahi disiplinde mikrovasküler cerrahi yöntemlerin kullanımı klinik bir gereklilik olarak varlığını sürdürmektedir. Ameliyat mikroskobu ve özel mikrovasküler cerrahi aletlerin kullanımı sayesinde hem serbest doku nakilleri yapılabilmekte hem de damar ve sinir yaralanmaları onarılarak tedavi edilebilmektedir(1). Fakat mikrovasküler ameliyatların başarılı olarak gerçekleştirilebilmesi için özel ekipmanların yanında bu ekipmanların kullanımını da içeren özel cerrahi teknikleri uygulama becerisi gerekmekte ve mikrocerrahi teknik becerileri kazanmak için yoğun ve zahmetli bir eğitim süreci geçirilmektedir. Bu nedenle mikrocerrahi tekniğinin geliştirilmesi, daha hızlı ve daha hatasız şekilde uygulanması üzerine çalışmalar devam etmektedir(2,3).

Mikrocerrahi teknikte yaşanan gelişmeler sonucunda serbest doku nakli %90 ve daha üzerindeki oranlarda başarı ile yapılabilir duruma gelmiştir. Süpermikrocerrahi ve 'perforatör perforatöre serbest doku nakli' kavramları günümüzde gelişmeye devam etmekte, bu sayede distal parmak amputasyonları, lenfödem gibi hastalıklar tedavi edilebilmekte ve kişiselleştirilmiş ve daha az morbiditeye yol açan rekonstrüksiyon seçenekleri ortaya konabilmektedir(4,5).

Teknik ilerlemeler ile mikrovasküler cerrahide anastomoz başarısı yüksek oranda arttırılmış olsa da travmatik amputasyonların tedavi başarısı travmaya bağlı nedenlere göre yine yüksek oranda değişkenlik göstermektedir(6). Aynı zamanda travmatik amputasyon sonucu hastaya veya amputatın durumuna göre replantasyona uygunluk değerlendirilmesi ve replantasyonun mümkün olan en kısa zamanda gerçekleştirilmesi kritik önem arz etmektedir(7).

Mikrocerrahi anastomozlar esnasında karşılaşılabilecek sorunlardan bir diğeri de aterosklerotik damarlardır. Özellikle ileri seviyede ateroskleroz mikrovasküler anastomoz başarısını etkileyebilir(8). Her mikrovasküler anastomozda olduğu gibi aterosklerotik damarların intraoperatif manipülasyonlarında dikkatli ve nazik davranılmalıdır. Aterosklerotik damarların anastomoza hazırlanması esnasında aterosklerotik plaklar yalancı lümen formasyonu oluşturabilir veya plak üzerindeki düzensizlikler lümen içine flep şeklinde uzanarak tromboza neden olabilir. Bu nedenle arter giyotin tarzında değil,

yavaşça sirkumferansiyel olarak kesilmeli, arteryel uçların düzgün olduğu ve lümen içine sarkan intimal fleplerin olmadığı teyit edilmelidir. Mikrovasküler klempler kullanılacaksa, aterosklerotik olmayan damar segmentlerinde, plak formasyonlarını yırtmayacak şekilde yerleştirilmelidir(9). Ateroskleroz nedeniyle elastikiyet kaybeden arterlerin endotelial hasara daha yatkın olduğu ve endotelial hasarın trombüse ve oklüzyona neden olduğu unutulmamalıdır(10).

N-Asetil sistein (NAC), L-sistein amino asitinin bir türevi olan sentetik bir madde olup Glutasyon (GSH) öncülüdür. Ayrıca NAC, Sülfidril grubu sayesinde direkt olarak antioksidan etki de gösterebilmektedir(11). N-Asetil sistein kullanımı kardiyovasküler hastalıklar, asetaminofen ile ilişkili karaciğer toksisitesi ve metal toksisiteleri, mukolitik etki istenen respiratuar hastalıklar, HIV enfeksiyonları, kanser ve sigara içiciliği gibi birçok konuda araştırılmıştır(12). Spesifik olmasa da DNA modifikasyonu ve çoklu moleküler etki mekanizmaları ile NAC, endotelial disfonksiyon, inflamasyon, fibrosis ve kırıkta erozyonu gibi patolojik durumlarda terapötik değere sahiptir(13–17).

Glutasyon, N-asetil sistein gibi antioksidan özellikli bir molekül olup, gama-glutamil-sisteinil-glisin şeklinde kimyasal olarak ifade edilebilir. Genel olarak glutasyon nükleofilik reaksiyonları düzenleyerek antitoksik özellikler gösterebilir. Direkt olarak veya glutasyon peroksidaz enzimine kofaktör olarak antioksidan özellik gösterebilir ve proteinlerin sistein kalıntılarına disülfid bağlarıyla bağlanarak modülatör özellik gösterebilir(18). Özellikle bazı malignitelerde glutasyon ve analogları ile modülasyon çalışmaları devam etmektedir(19). Ek olarak glutasyonun kistik fibrosiste epitel hasarını önlemeye yardımcı olduğunu gösteren ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında faydalı olabileceğini gösteren klinik çalışmaları da mevcuttur(20,21).

Mikrocerrahi onarım veya rekonstrüksiyon gerektiren acil ve elektif operasyonlar günümüz plastik ve rekonstrüktif cerrahi koşullarında devam ettiği sürece bu alanda yapılan çalışmalar da çeşitlenmeye devam edecektir. Bu çalışmalar ışığında ise mikrocerrahi operasyonlarının komplikasyonları azalarak başarı oranları daha da yükselebilecektir.

Çalışmamızda sıçan femoral arter kesisi onarımında N-Asetil sisteinin ve N-Asetil sistein ile Glutasyonun vasküler anastomoz iyileşme süreçlerine etkisi

araştırılacaktır. Çalışmamızın amacı N-Asetil sisteinin ve glutatyonun erken dönemde mikrovasküler anastomoz hattında ve perivasküler alanda daha az inflamasyon ve daha iyi endotel fonksiyonu sağlayarak daha iyi iyileşen stabil bir anastomoz hattı sağlayabileceğini göstermektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. MİKROCERRAHİ ANASTOMOZUN TARİHÇESİ VE TEKNİĞİ

2.1.1. Mikrocerrahinin Tarihçesi

Mikrocerrahi terimi uygulanması için 3 'M' gerektiren (mikroskop, mikro-alet, mikrosütür) cerrahi teknikleri tanımlamak için kullanılmaktadır(22). Bu gereksinimler nedeniyle modern mikrocerrahinin kökenleri 19. yüzyılın sonlarına ve 20. yüzyılın başına dayanmaktadır. Alexis Carrel, 1902 yılında triangulasyon metodu ile uç uca anastomoz tekniğini tanımlayarak 1912 yılında Nobel ödülü almıştır(23). Takip eden yıl Höpfner köpekte deneysel uzuv replantasyonu üzerine çalışmıştır(24). Guthrie ve Carrel tanımladıkları anastomoz yöntemleri ile hayvan modelinde başarılı alt ekstremitte replantasyonu gerçekleştirmişlerdir. Hayvan modelleri üzerinde viseral transplantasyon çalışmaları da yapmışlardır(25). Bu öncü çalışmalar intraoperatif magnifikasyon ve antikoagülasyondan önce gerçekleştirildiğinden mikrocerrahi çalışmalarına temel oluşturmuştur.

1920'lerin başlarında Nysten ve Holmgren tarafından cerrahi mikroskop kullanımı tariflenmiştir. Böylece Avrupa'nın çeşitli merkezlerinde göz ve kulak cerrahisi alanlarında cerrahi mikroskoplar kullanılmaya başlamıştır(26,27).

1960 yılında Jacobson ve Suarez cerrahi mikroskop kullanarak ilk başarılı damar anastomozunu 3 mm boyutunda bir damarda 7-0 örgülü ipek dikiş kullanarak gerçekleştirdiler. Dr. Jacobson'a bir meslektaşı köpek karotis arterindeki periarteryal sinirleri nasıl bloklayacağını sorunca, Jacobson karotis arteri ve çevresindeki sinirleri kesip arteri tekrar onarmaya çalışmış ancak başarılı olamamıştır. Daha sonra otoskopi için kullanılan mikroskobu magnifikasyon için kullanarak başarılı anastomoz yapmayı başarmıştır. Ayrıca Jacobson mikrovasküler cerrahi için gerekli olan çift vasküler klemp tasarımını yapıp kullanmıştır(28,29).

1964'te Kleinert ve Kasdan subtotal ampute başparmak revaskülarizasyonunu gerçekleştirdiler(30). 27 Temmuz 1965 tarihinde ise Tamai ve Komatsu metakarpofalangeal eklem seviyesinden total ampute olan başparmak replantasyonunu 2 volar arter ve 2 dorsal ven anastomozu yaparak gerçekleştirdiler. Bu operasyon sırasında parmak replantasyonu için daha küçük mikrovasküler klempelerin çok faydalı

olacağını fark ettiler ve daha sonra kendi mikrovasküler klemp tasarımlarını yaptılar(31).

1967 yılının kasım ayında dünyanın ilk mikrocerrahi paneli Amerikan Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Topluluğu'nun yıllık toplantısı sırasında New York şehrinde yapıldı. Bu toplantıda Harry Buncke tavşan kulağı deneysel replantasyon modelini ve rhesus maymununda ayaktan ele parmak transfer modelini sunmuştur. James Smith periferik sinir onarım metodlarını, John Cobbet ayak başparmağından el başparmağına transfer vakasını, Tamai ise 1965 yılında yaptığı ilk başarılı el başparmak replantasyonu vakasını sunmuştur(1).

1972 yılında Harii ve arkadaşları yaptıkları temporal skalp serbest flebiyle ilk klinik serbest cilt flebini bildirdiler(32). 1973 yılında ise Daniel ve Taylor tarafından ilk kasık flebi yapılmıştır ve literatürde zaman zaman ilk kutanöz serbest flep olarak bu yayın da refere edilmiştir(33). Yine 1973 yılında Çin'de pektoralis majör serbest kas flebi bildirilirken, Harii ve arkadaşları tarafından da fasyal paralizi reanimasyonu için serbest grasilis kas flebi kullanımı raporlanmıştır(34,35).

1980'lerde yeni flep dizaynları ve mevcut fleplerin modifikasyonları tanımlanmaya devam etmiştir. Skapular flep, fibula osteokutan flebi ve peroneal flep gibi modifikasyonlar tanımlanarak kompozit doku transferleri yaygın kullanılabilir hale gelmiştir(36–38). Marko Godina tarafından ekstremiteler yaralanmalarında erken dönem debridman ve mikrovasküler rekonstrüksiyon seçenekleri 532 hastalık geniş bir seri ile gösterilmiştir(39). 1989 yılında Koshima ve Soeda'nın derin inferior epigastrik arter perforatör flebini tanımlamasıyla çeşitli cilt perforatörleri üzerinden serbest cilt flebi tasarımları başlamıştır(40).

21. yüzyılın başına geldiğinde, mikrocerrahinin evriminin artık otojen transplantasyondan allojen transplantasyona doğru yol aldığını görmek mümkündür. Üst ekstremiteler ve el replantasyonlarının başarısı, el cerrahlarını ve mikrocerrahları allojen transplantasyonlar için cesaretlendirse de yaşamı tehdit edici bir organ eksikliğine yönelik olmayan el ve üst ekstremiteler transplantasyonlarındaki ömür boyu immünsüpresyon durumu hala çelişkiler barındırmaktadır. İlk üst ekstremiteler transplantasyon prosedürü 1998 yılında Lyon, Fransa'da Dubernard ve ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir fakat birkaç yıl sonra ampute edilmiştir. İkinci prosedür ise 1999 yılında Louisville, Kentucky'de Jones ve arkadaşları tarafından

gerçekleştirilmiştir ve yoğun fizik tedavi ve immünsüpresyon sayesinde hastanın birinci yıl takiplerinde proteziyle yapamadığı aktiviteleri yapabildiği raporlanmıştır(41). İlk parsiyel yüz allotransplantasyonu ise 2005 yılında Dubernard, Devauchelle ve ekibi tarafından Fransa’da başarıyla tamamlanmıştır(42).

Türkiye’de ilk mikrocerrahi operasyonları Ayan Gülgönen ve ekibi tarafından 1978 yılında gerçekleştirilmiş ve ilk başarılı 5. parmak replantasyonu yapılmıştır (43). 1981 ve 1985 yılları arasında Gülgönen ve ekibi toplam 472 subtotal/total travmatik parmak amputasyonu, 172 el bileği seviyesi ve proksimalinde subtotal/total travmatik üst ekstremité amputasyonu tedavi ettiklerini bildirmişlerdir(44). Ayhan Numanoğlu’nun yaptığı tavşan femoral arteri anastomoz modelinde uç-uca anastomoz için optimal dikiş sayısını araştırdığı çalışması 1983 yılında yayınlanmıştır ve Türkiye’den yayınlanan ilk mikrovasküler deneysel araştırma olma özelliğini taşımaktadır(45).

2.1.2. Mikrocerrahi Teknik

İlk tariflenen ve günümüzde hala birçok merkezde yaygın olarak kullanılan basit aralıklı dikiş tekniği mikrovasküler anastomoz için nispeten kolay öğrenilen ve doğru uygulandığında yüksek başarı oranına sahip bir tekniktir. Bu nedenle mikrovasküler anastomoz üzerine yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılmakta ve yeni anastomoz teknikleri çalışmalarında da karşılaştırma unsuru olarak genellikle basit aralıklı dikiş seçilmektedir(46).

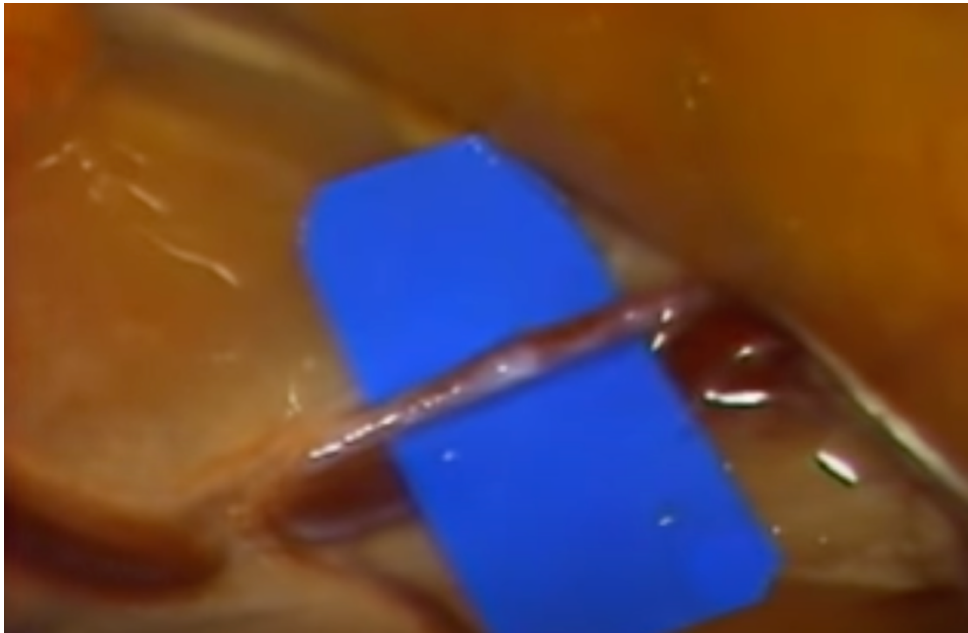
Anastomoz yapılacak damar künt uçlu mikro makas diseksiyonu ile ortaya konulur. Damar hazırlığı esnasında damarı penset ile tam kat tutmaktan kaçınılmalıdır. (Şekil 1) Damarın tam kat tutulması endotel hasarına ve tromboza yol açabilir. Perivasküler kılıf dikkatle diseke edilerek femoral arter görüldüğünde, damar manipülasyonu için sadece damarın adventisyasından tutulmalıdır.



Şekil 2: Damarın Yanlış Olarak Tam Kat Tutulması

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)

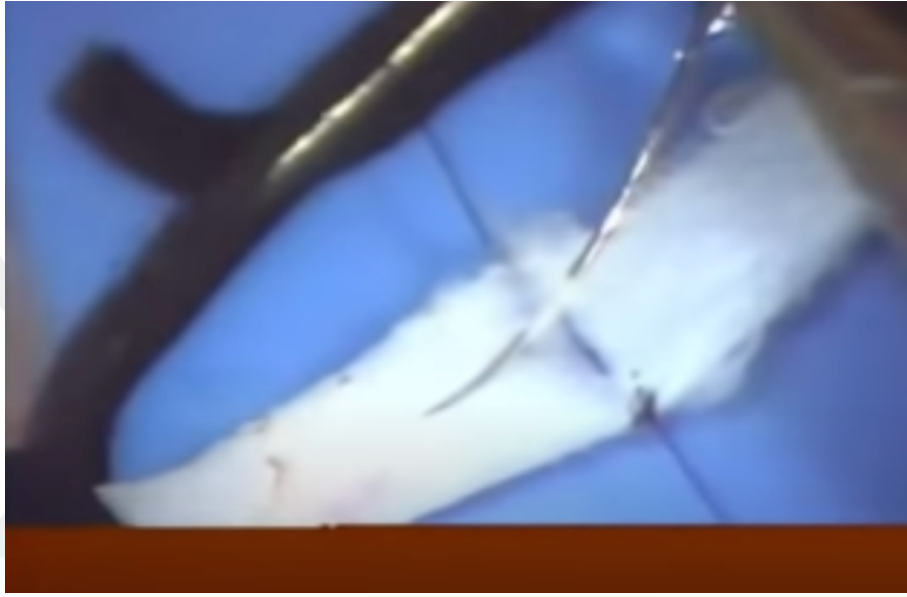
Damarın ortaya konmasının ardından damarın 360 derece manipülasyonuna engel olan dallar damar duvarına 1-2 mm mesafe bırakılarak bağlanır ve kesilir. Mikroskop altında görüşü kolaylaştırmak için koyu bir arka plan hazırlanan damarın altına yerleştirilir ve diseksiyon tamamlanır. (Şekil 2)



Şekil 2: Diseksiyonu Tamamlanmış Femoral Arter

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)

Mikrovasküler klemp yerleştirilerek damar uzun aksına dik olacak şekilde keskin ve düz bir adventisya makası ile ayrılır. Damar uçları içerisinde kalan kan heparinli serum fizyolojik ile yıkanarak tamamen çıkartılır. Damar uçlarının dikiş yerleştirilmesi esnasında daha iyi görülebilmesi ve adventisyanın anastomoz hattından içeri girmesini engellemek için damar uçlarından sarkan adventisyanın temizlenmesi gerekir. Yetersiz adventisya temizliği anastomoz esnasında zorluk yaratır. (Şekil 3)

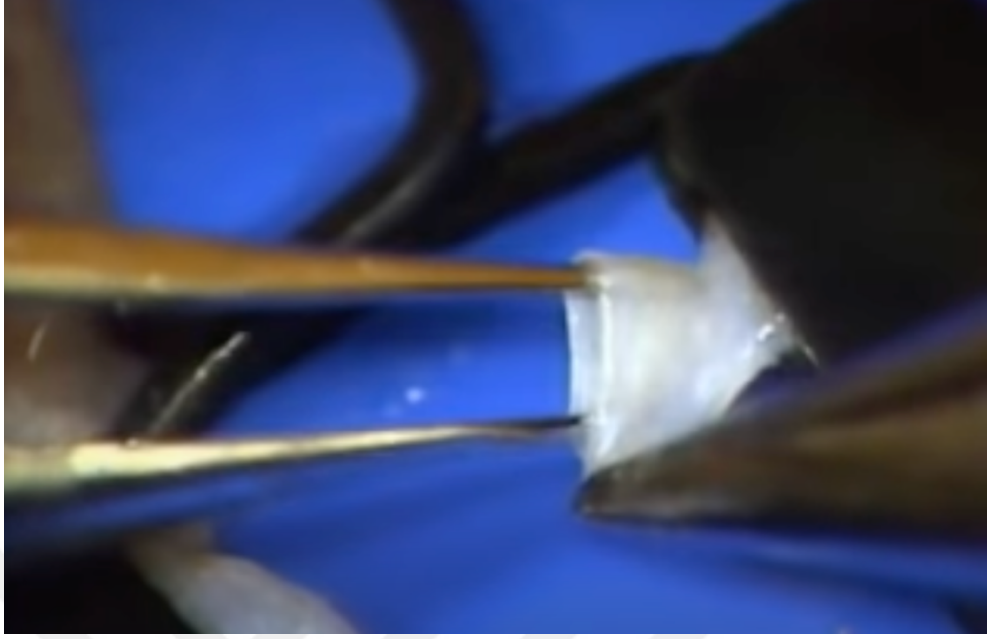


Şekil 3: Yetersiz Adventisya Temizliği

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)

Adventisya temizliği esnasında keskin, düz ve ince uçlu adventisya makası kullanılır. Damar ucundan tutulan adventisya damar uzun aksına paralel olarak nazikçe çekilerek çepeçevre kesilir. Adventisya temizliğinin damar uçlarından adventisya sarkmayacak kadar ve keskin diseksiyon ile yapılmasının künt şekilde ayrılmasına kıyasla endotel kaybını azalttığı ve daha iyi akış sağladığına yönelik çalışmalar mevcuttur(47,48).

Damarın spazmını engellemek için damar uçları lidokain, papaverin veya verapamil gibi farmakolojik ajanlarla yıkanabilir. Hem dikiş konulacak alanın genişletilmesi hem de anastomoz hattındaki sempatik aktivite ve düz kas kasılmasını inhibe etmek için damar uçları dilate edilir(49). Damar dilatasyonu uçları atravmatik yuvarlak uçlu dilatör pensetin yardımı dilate edilir. (Şekil 4)

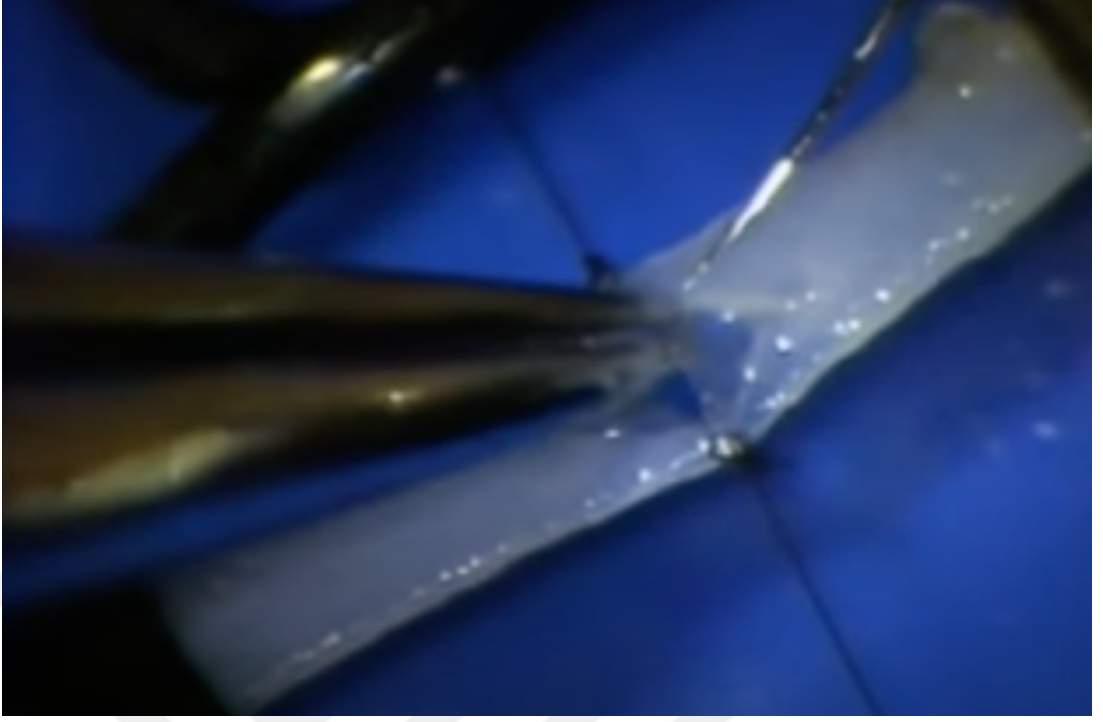


Şekil 4: Damar Ucunun Dilatasyonu

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)

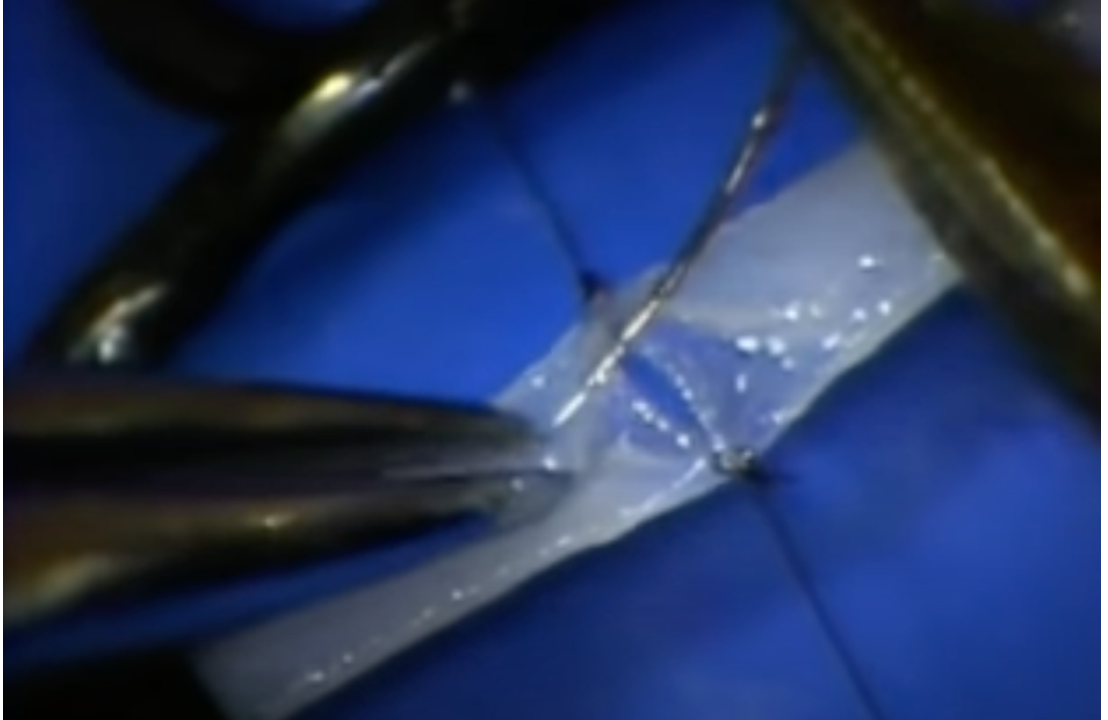
Damar uçlarının hazırlanmasının ardından vasküler klemp uçları gerginlik olmayacak ve damar uçları üst üste binmeyecek şekilde yaklaştırılır. Damar sirküler olarak iki eşit parça halinde düşünülerek 0 ve 180 derecelik dikişler karşılıklı olarak yerleştirilir. Böylelikle damar ön ve arka yüz olarak 2 eşit semisirküler alana bölünmüş olur. Bu aşamadan sonra dikişler konulurken arka duvardan dikiş geçmemek için penset damarın içine yerleştirilip açılarak kolaylık sağlanır. (Şekil 5) Karşı duvardan geçilirken kesi hattına dik geçmeyi ve yine arka duvardan geçmeyi önlemek için damar adventisyasından tutularak havaya kaldırılır ve karşı duvardan dikiş geçilir. (Şekil 6)

Tercihe göre sırasıyla ön veya arka yüzlere eşit aralıklı olarak 3 dikiş konulur. Son dikişlerin geçilmesi esnasında arka duvardan geçilmesini önlemek ve daha geniş çalışma alanı kazanmak için son konulan dikişler bağlanmadan bırakılıp dikiş geçme işlemleri bitirdikten sonra bağlanabilir. Bu dikişler bağlanmadan, alan serum fizyolojik ile yıkanarak anastomoz hattında yabancı madde kalmadığından emin olunur ve dikişler düz kare düğümler ile tek tek bağlanır.



Şekil 5: Damarın İçine Penset ile Girilmesi

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)



Şekil 6: Karşı Duvardan Dikişin Geçilmesi

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)

Arka duvardan dikiş geçilmediğinin ve yeterli sayıda dikiş konulduğunun teyidi sonrasında vasküler klemp açılır. Sızıntıları durdurmak amacıyla ıslak bir gaz veya inguinal yağ yastıkçığı anastomoz hattına nazikçe konulur. 1 dakika sonra anastomozun geçişi inspeksiyon ile değerlendirilir. Anastomozda geçişten şüphe duyulması halinde ‘Uplift’ testi uygulanır. Bu test anastomoz distalinin havaya kaldırılarak anastomozun akımının azaltılması ve bu noktadaki geçişin değerlendirilmesine dayanır. (Şekil 7)



Şekil 7: “Uplift” Testi

(Columbia University, Columbia Orthopedics, Rat Femoral Artery Anastomosis Training Video)

Eğer “Uplift” testinde geçişten şüphe duyulursa “Milking” testi yapılmalıdır. Bu test sırasında anastomoz distalinde bir forseps ile damar nazikçe tam kapanacak şekilde tutulur ve diğer forseps ile ilk forsepsin distalinden başlayıp distale doğru damar sağma hareketiyle damar boşaltılır. Takiben anastomoz distalindeki forseps serbest bırakılarak damarın doluşu gözlemlenerek akım net bir şekilde değerlendirilir. Fakat bu test damar için daha travmatik olduğundan nazikçe yapılmalı ve sıklıkla yapılmasından kaçınılmalıdır.

2.2. DAMARIN YAPISI VE HİSTOLOJİSİ

Damar yapısı genel olarak 3 tabakadan meydana gelmektedir. Bu tabakalar yerleşimlerine göre dıştan içe tunika adventisya, tunika media ve tunika intima olarak isimlendirilir.

2.2.1. Tunika İntima

Tunika intima, en iç kısmında özelleşmiş bir epitel yapısı olan endotel tabakasını içerir. Endotelin altında ise bazal membran ve gevşek bağ dokusu bulunmaktadır. Orta büyüklükteki arterlerde, intima tabakasında ince bir elastin katmanı olan internal elastik lamina da bulunur. İnternal elastik laminada bulunan delikler sayesinde damarın dış tabakalarına difüzyon daha iyi sağlanır.

Vasküler endotel hücreleri skuamöz, poligonal ve damar akış yönüne paralel olarak uzamış uzun hücreler olarak gelişirler. Endotel tabakası kan akışı için non-trombojenik bir yüzey oluşturmasının yanında, bazal laminasıyla beraber kan ve ekstraselüler sıvı arasında iki yönlü geçişi aktif olarak modüle eder. Endotel aynı zamanda inflamasyon ve lokal immun cevapları regüle etme fonksiyonuna da sahiptir.

Çeşitli şartlar altında endotelyal hücreler VEGF sekresyonları ile yeni kapiller yataklar oluşmasını ve arteriollerden yeni damar dalları çıkmasını sağlayabilir(50).

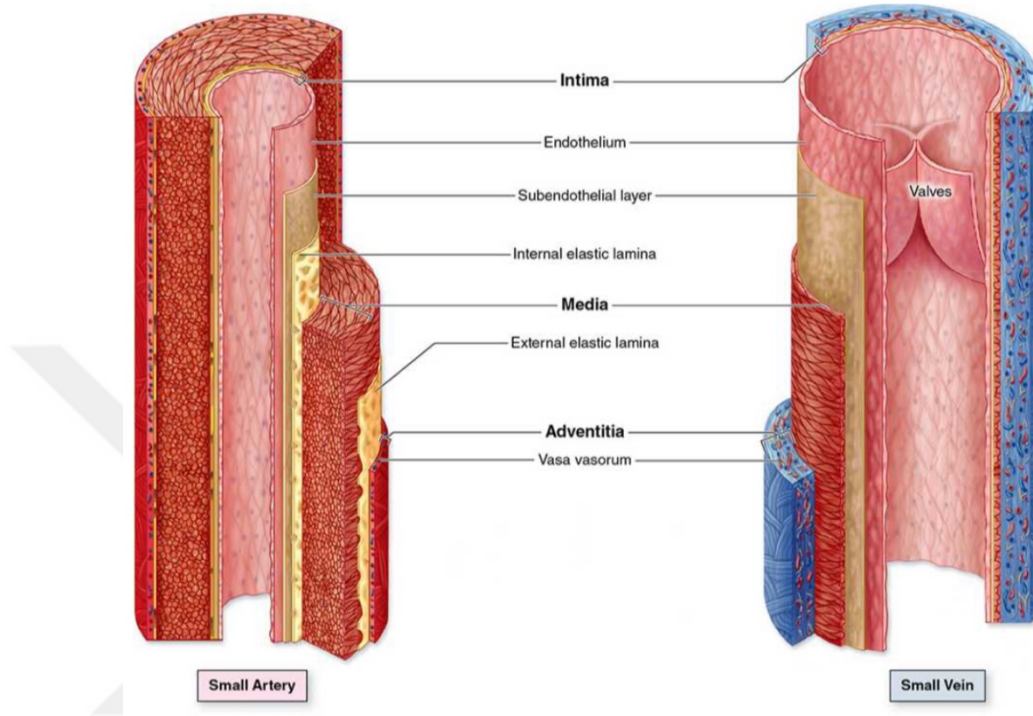
2.2.2. Tunika Media

Tunika media damarın orta kısmında bulunan ve düz kas hücreleri tarafından oluşturulan tabakadır. Bu düz kas hücrelerinin arasında yine bu hücreler tarafından sentezlenen elastik fibriller, elastik laminalar, proteoglikanlar ve retinaküler lifler bulunur. Arterlerde bu tabaka daha belirgin olarak görülür ve bu tabakayı en dış tabakadan ayıran eksternal elastik lamina bulunur. (Şekil 8)

Bu tabakadaki elastik fibriller sayesinde damarın basınç altında genişlemesi mümkün olmaktadır. Bu ekstraselüler doku destek ünitelerinin farklı miktarlarda ve farklı oryantasyonlarda bulunması sayesinde damarlar farklı metabolizma ve farklı fiziksel dayanımlar gösterebilmektedir(51).

Boyutu 1 mm ve 0.1 mm arasında olan küçük arterlerde bu tabakada 3 ile 10 katman olarak düz kas hücreleri bulunmaktadır. Daha küçük arteriollerde bu 1-2 katmana kadar düşmektedir. Boyutu 1 mm ve 10 mm arasında olan musküler arterlerde

bu katman çok fazla sayıda ve elastik fibriller azdır. Boyutu 10 mm'den büyük elastik arterlerde ise yine çok sayıda düz kas hücre katmanları arasında bol elastik lamina görülebilmektedir.



Şekil 8: Küçük Arter ve Venin Tabakaları
(Junqueira's Basic Histology, Text and Atlas, 17th Ed)

2.2.3. Tunika Adventisya

Tunika adventisya tabakası en dışta yer alan tabakadır. Bu tabakada damarın uzun aksına paralel olarak düzenlenmiş tip 1 kollajen ve elastik fibriller yoğun olarak bulunmaktadır. Arterlerde bu tabaka tunika mediaya göre daha kalın, venlerde ise daha incedir. Orta ve büyük venlerde bu tabakada düz kas hücrelerine rastlamak mümkündür.

1 mm ve 0.1 mm arasında çapa sahip küçük arterlerde bu tabakada damarı besleyen damarlar yani vazo vazorumlar bulunmaz iken orta ve büyük arterlerde bu tabakada vazo vazorumlar görünür. Vazo vazorum adı verilen ve damar adventisyasında bulunan bu damarlar difüzyon ile beslenemeyecek kalınlıktaki adventisya ve media tabakalarının beslenmesinden sorumludur. Venlerde arterlere nazaran daha çok sayıda bulunurlar(52).

Adventisya tabakasının bir diğer özelliği ise damarların çevre dokularla integrasyonunu sağlaması ve nervi vazorum adı verilen sinirleri de bulundurmasıdır. Bu sinirler yardımıyla damarların tonusu düzenlenir. Damarların düz kas aktivasyonunun düzenlenmesi ile lokal kan basıncı düzenlenmektedir(53).

Tunika adventisyanın diğer damar tabakalarına göre daha gevşek bağ dokusu içermesi, anatomik ve histolojik çalışmalar ve klinik uygulamalar esnasında bu tabakanın diseksiyonunun daha kolay yapılabilmesini sağlamaktadır. Düz kas hücrelerinden oluşan tunika medianın hemen dışında başlayan ve bazen tunika eksterna olarak da adlandırılabilen daha sıkı bağ dokusundan oluşan kısmı ise damara zarar vermeden kolaylıkla ayrılabilir(52).

2.3. MİKROVASKÜLER ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ

Hasar görmemiş damarda, kesintiye uğramamış endotel tabakası kanın hücresel elemanlarının subendotelial dokular ile temasını engelleyerek pürüzsüz bir yüzey oluşturur. Damar bütünlüğünün bozulması ile kan elemanları subendotelial dokular ile teması geçerler. Bu temas sonrasında hem endotelden hem de trombositlerden salgılanan ADP, prostoglandinler, 5-hidroksitriptamin gibi mediatörler ile trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyon başlatılır(54).

Hasarın hemen sonrasında onarımı yapılmış olan damarın erken dönemde re-endotelizasyon fazları ise hücre bazında histopatolojik değişiklikler göz önüne alınarak 4 evreye ayrılarak incelenebilir(55):

2.3.1. Platelet Agregasyon Evresi

Anastomozdan hemen sonra başlayan bu faz anastomozun tamamlanmasından yaklaşık 1 dakika sonra başlar. Dikişlerin geçtiği bölgede internal elastik lamina ve tunika media tabakası kan elemanları temasına açık hale gelir. Dikişlerin bağlanırken oluşturduğu endotel hasarı nedeniyle açığa çıkan subendotelial tabakada platelet agregasyonu en yoğun seviyede görülür.

2.3.2. Fibrin Ağı Evresi

Fibrin ağının oluşumu operasyondan sonra yaklaşık 5. dakikada başlamakta ve 3-4 gün boyunca devam etmektedir. İğne delikleri ve traksiyon nedeniyle açığa çıkan

subintimal tabakaları dolduran trombosit ve eritrosit tıkaçına fibrin de katılarak bu alanlardaki defekt doldurulur. 24 saat sonra fibrin iplikleri kalınlaşıp birbirleriyle bağlanarak ağ oluşturmaya başlarlar. Bu fibrin ağı sayesinde eritrosit ve trombositlerin üstü kapatılır. Bu evrenin sonunda artık fibrin ağı hasarlı endotel uçlarına mühürlenerek endotelin oluşması için gerekli yatağı oluşturmuş olur.

2.3.3. Göç Evresi

Bu evrede endotelin yara kenarlarından başlayarak fibrin ağ üzerine konumlandığı görülür. Operasyondan 48 saat sonra başlayan bu süreç genel olarak 6. günde tamamlanır. Endotelyal hücreler kan akımına paralel olacak şekilde fibrin ağ üzerine dizilim gösterirler. Bu göç esnasında endotelyal hücreler immatür şekillerde ve birbirleri ile zayıf kontakt halinde bulunurlar.

2.3.4. İntimal Kapanma Evresi

Kalın fibrin ağının ve sütür tabanının tamamen endotelize olduğu aşamadır. 4. veya 5. günlerde başlayarak 7. günde tamamlanır. Bazı beyaz kan hücreleri endotelle beraber izlenebilse de trombositlere artık nadiren rastlanır. Bu evrenin sonunda elektron mikroskopisinde normal endotelden yaralı endoteli ayırmak güçleşir(56).

Endotel rejenarasyonu sırasında bu hücrelerin sağlam endotel kenarından başlayarak yürüdüğü, düz kas hücrelerinin transformasyonu ile endotelin oluştuğu veya serbest kan dolaşımından gelen multipotent kök hücrelerin endoteli oluşturduğu gibi farklı teoriler ortaya atılmıştır. Bu teorilere yönelik çalışmalar farklı bilim insanları tarafından da yapılmıştır. Günümüzde endotelin kenarlardan başlayarak ilerlediği, serbest kan dolaşımında bulunan hücrelerin ve damarın tunika media katmanındaki düz kas hücrelerinin bu sürece destek verdiği görüşü daha çok kabul görmektedir(57–61).

2.3.5. Tunika Mediada Meydana Gelen Değişiklikler

Tunika mediadaki kas hücrelerinin hipoksiye endotelden daha dayanıklı olmalarından dolayı bu hücreler 2 saatten kısa süren mikrovasküler klemp sürelerinde hayatta kalabilmektedir(62). Mikrovasküler klemp uygulanan noktalarda basıncın

metrekareye 30 gramdan daha fazla olduğu durumlarda tunika mediada bulunan düz kas hücreleri basıya bağlı nekroza gidebilmektedir(63).

Mikrovasküler anastomoz esnasında uygulanan dikiş nedeniyle tunika media tabakası özellikle anastomoz hattındaki dikiş arasında nekroza uğrar. Bu nekroz kas hücrelerinin çekirdeklerinin kaybolması ve hücre yapısının bozulması ile karakterizedir ve hyalin dejenerasyon olarak adlandırılır. Damarı çevresel olarak saran kas hücrelerinin nekroza uğraması ile damar sirküler şeklini kaybederek romboid şekilde iyileşir. Eğer tunika mediada tamamen atrofi varsa yerini subintimal hiperplazi doldurmaktadır(64).

2.3.6. Tunika Adventisyada Meydana Gelen Değişiklikler

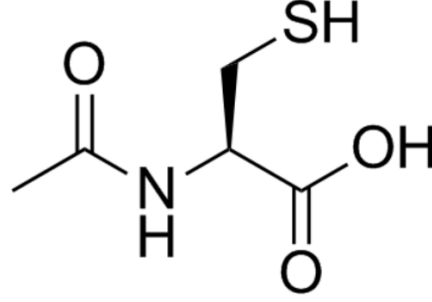
Diseksiyon nedeniyle tunika adventisya tabakasının histolojik değerlendirilmesi zor olsa da en yoğun inflamasyon cevabına bu tabakada rastlanılmaktadır. Mikro dikişlerin düğümleri ve dikişlerin serbest uçları bu tabakada inceleme esnasında görülebilmektedir. 7-10. günlerde makrofajların oluşturduğu dev hücreli granülom formasyonuna rastlanır. Bu inflamasyon ilerleyen günlerde azalsa da bazı sütür materyallerinin etrafında yabancı cisim granülomlarına rastlanabilir(64). Eriyebilen sütür kullanılan bir çalışmada 8. ay gibi uzun dönem sonuçlarda adventisyadaki inflamasyonun emilebilen sütür etrafında çok azaldığı, fakat anastomoz patensinde ve akut iyileşme evrelerinde belirgin fark olmadığı gösterilmiştir(65).

Damar anastomozu sırasında en çok manipüle edilen ve çoğu zaman diseksiyonla uzaklaştırılan adventisya tabakasındaki değişiklikler tekniğe bağımlı olarak değişmektedir. Daha az adventisya diseksiyonu yapıldığında intimal ve adventisyal inflamasyon geliştiği fakat damar çevresinde daha çok fibrozis olduğu görülmüştür. Ayrıca, bazı onarımlardan sonra görülebilen anevrizma ve mikroanevrizma gelişimlerinin adventisya kalınlığı ile ilgi olabileceği bildirilmiştir(66).

2.4. N-ASETİL SİSTEİN (NAC)

N-Asetil sistein, sistein aminoasitinin asetilenmiş bir prekürsörüdür. (Şekil 9) Aaron Leonard Sheffner tarafından bulunarak patent başvurusu yapılmış ve 1963

yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bir şirket adına patentlenmiştir. Günümüzde hala aynı endikasyon ile de kullanılan bu bileşik 1960'lı yıllarda ilk olarak mukolitik olarak keşfedilmiştir(67).



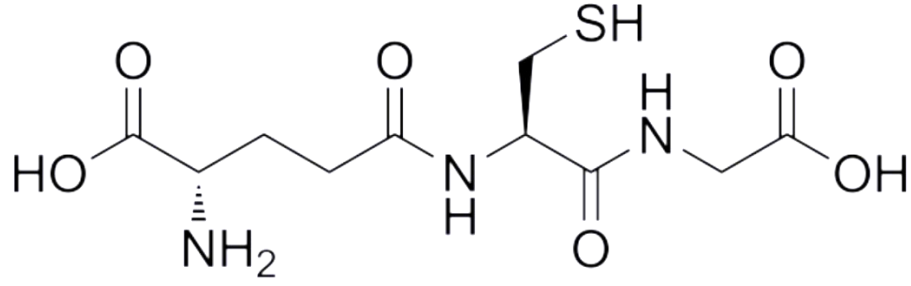
Şekil 9: N-Asetil Sisteinin Kimyasal Yapısı

NAC gibi tiyol grubu içeren ajanlar hücre içindeki reaktif oksijen ürünlerini indirgerler. Reaktif oksijen ürünleri ise lipit, protein ve DNA gibi yapıları oksitleyerek hücre hasarına neden olur. N-Asetil sistein, tiyol grubu içeren bir bileşik olmasına rağmen serbest oksijen süperoksitleri, hidrojen peroksit ve peroksinitrit ile direkt olarak reaksiyona girme hızı diğer tiyol bileşiklerine göre daha düşüktür(68).

N-Asetil sisteinin antioksidan ve parasetamol zehirlenmesindeki etkilerini büyük oranda hücre içindeki GSH seviyesini yükselterek gösterdiği düşünülmektedir. Bir sistein prekürsörü olan NAC hücre membranından de-asetilasyonla sistein olarak hücre içine alınabilmekte ve bu sayede GSH sentezi için substrat oluşturabilmektedir(69).

2.5. GLUTATYON (GSH)

Glutatyon hayvanlarda, bitkilerde ve mikro organizmalarda hücre içinde yaygın olarak bulunan en önemli protein olmayan tiyol bileşiğidir. GSH bir İngiliz kimyacı olan Frederick Gowland Hopkins tarafından 1921 yılında izole edilmiştir. (Şekil 9) Glutatyonun hücre içindeki fonksiyonları ve bazı hemolitik anemilerdeki rolü 1960'larda anlaşılmaya başlanmıştır(70).



Şekil 10: Glutatyonun Kimyasal Yapısı

Glutatyonun hücre içi konsantrasyonları 0.5 – 10 mMol/L düzeylerinde olup bu miktar farklı hücrelerde değişkenlik gösterir. Selüler glutatyonun %80 kadar büyük bir kısmı sitozolde bulunmakla beraber mitokondri ve peroksozomlarda da bulunmaktadır. Safra asidinde bir istisna olarak glutatyon düzeyleri hücre içi değerlerine yakın olsa da ekstraselüler alanda glutatyon intraselüler alana göre çok daha az bulunur. Glutatyondaki sistein rezidüsünden dolayı serbest radikaller ve reaktif oksijen/nitrojen ürünleri tarafından non-enzimatik olarak glutatyon (GSH), glutatyon disülfite (GSSG) dönüştürülür. Glutatyonun selüler konsantrasyonu malnütrisyon, oksidatif stres ve birçok patolojik durumda azalmıştır(71).

Glutatyonun hücre içindeki dengesi hücrenin antioksidan kapasitesini göstermekte önemli bir yere sahiptir. GSH/GSSG oranı normal fizyolojik şartlar altında 10'dan büyüktür. Normal şartlarda GSSG redüktaz enzimi ile NADPH varlığında net GSH kaybı olmadan GSH tekrar oluşabilir. Eğer oksidatif stres artarsa veya G6PD enzim eksikliği gibi hücrede NADPH dengesini bozan durumlar ortaya çıkarsa hücre içerisinde GSSG miktarı da artacaktır. Bu durumda hücreler aktif olarak GSSG sekresyonu yaparlar ve de novo GSH sentezi ihtiyacı önemli ölçüde artar(72).

Glutatyon sentezi glutamat, sistein ve glisinden 2 sitozolik enzimin arka arkaya katalizlediği bir reaksiyonla gerçekleşir. İlk olarak gama-glutamilsistein sentetaz (GCS) enzimi aracılığıyla glutamatın karboksil grubu ve sisteinin amino grubu arasında gama peptid bağlanması gerçekleşir. Bu aşama aynı zamanda glutatyonun de novo sentezi için hız kısıtlayıcı basamaktır. Bu bağ glutatyonun intraselüler peptidazlardan korunmasını sağlar. İkinci basamakta ise glutatyon sentetaz enzimi ile glisin bu moleküle katılarak glutatyon sentezlenir.

Glutasyon sentezinin regülasyonunda birçok faktör rol alır. Oksidatif stres, nitrozatif stres, inflamatuvar sitokinler, kanser, kemoterapi, iyonize radyasyon, GSH konjugasyonu, ağır metaller, insülin ve antioksidanlar GCS transkripsiyonunu ve aktivasyonu arttırmaktadır. Proteinden yetersiz beslenme, deksametazon, hiperglisemi ve GCS fosforilasyonu gibi durumlar GCS transkripsiyonu ve aktivitesini düşürmektedir(73). Sistein, glisin ve glutamat ise glutasyon sentezinde önemli amino asitler olduğundan bu aminoasitlerdeki veya prekürsörlerindeki eksiklikler hücre içi glutasyon seviyelerini düşürmektedir.

Glutasyonun rol oynadığı reaksiyonların başında şüphesiz hidroksil radikali, lipid peroksit radikali, peroksinitrit gibi serbest radikallerin ve reaktif oksijen ürünlerinin direkt veya indirekt olarak uzaklaştırılması gelir. Bu reaksiyonlar sonucunda GSH oksitlenerek GSSG oluşur. GSSG ise NADPH bağımlı glutasyon redüktaz ile GSH formuna tekrar dönüşür. Ek olarak hidrojen peroksit, selenyum içerikli glutasyon peroksidaz enzimi ile glutasyon bağımlı enzimatik reaksiyonlarla indirgenir(74).

GSH östrojen, melaninler, prostoglandinler gibi endojen metabolitlerle ve bromobenzen, asetaminofen gibi ksenobiyotiklerle glutasyon S-transferaz enzimi aracılığıyla inisiyasyon faz detoksifikasyon reaksiyonlarına katılır. Formaldehit gibi son derece toksik ve kanserojen bir bileşiğin formaldehit dehidrojenaz enzimiyle yıkılması sırasında ilgili enzime substratlık yapar(75).

Glutasyon hücre dışına taşıyıcı bağımlı kolaylaştırılmış mekanizma ile çıkabilmektedir. Plazma glutasyonu temel olarak karaciğerdeki sekresyondan kaynaklansa da bir miktar intestinal ve diyet kökenli GSH portal venöz plazmaya girebilmektedir. Glutasyon karaciğer hücrelerinden intakt olarak veya hücre zarının dış yüzeyindeki gama-glutamil-transpeptidaz aktivitesi sayesinde gama-glutamil-sistein olarak çıkabilir(76). GSH hücre dışından hücre içine taşınırken konsantrasyon gradyenti nedeniyle zorlukla taşınsa da gama-glutamil-sistein extrahepatik hücreler tarafından GSH sentezi için hücre içine alınabilir. Böbrek, akciğer ve bağırsaklar ise karaciğer kaynaklı glutasyonu başlıca tüketen organlardır(71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVAN MODELİNİN OLUŞTURULMASI

Çalışmamız “Helsinki Deklarasyonu Son Versiyonu” ve Klinik Uygulamalar Yönergesi’ne uygun şekilde Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu izni (Ek-1) dahilinde Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamıza yaşları 4 ile 6 ay arasında değişim gösteren 200-350g ağırlığında Wistar – Albino tipi dişi sıçanlar dahil edildi. İstatistiksel güç analizi yapılması sonrasında 24 adet sıçan her grupta rastgele sekiz adet sıçan olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Grup A kontrol grubu olarak belirlenirken Grup B’deki sıçanlara NAC tedavisi ve Grup C’deki sıçanlara NAC + GSH tedavisi uygulandı.

Deney süreci boyunca sıçanlar gruplar halinde ayrı kafeslerde ticari pellet şeklinde ad libitum yemlenerek ve standart su ihtiyaçları karşılanarak 21°C’de sabit oda sıcaklığında ve %45±10 nem düzeyinde tutuldu. Sıçanlar deney süresince gece gündüz döngüsünde bırakıldı.

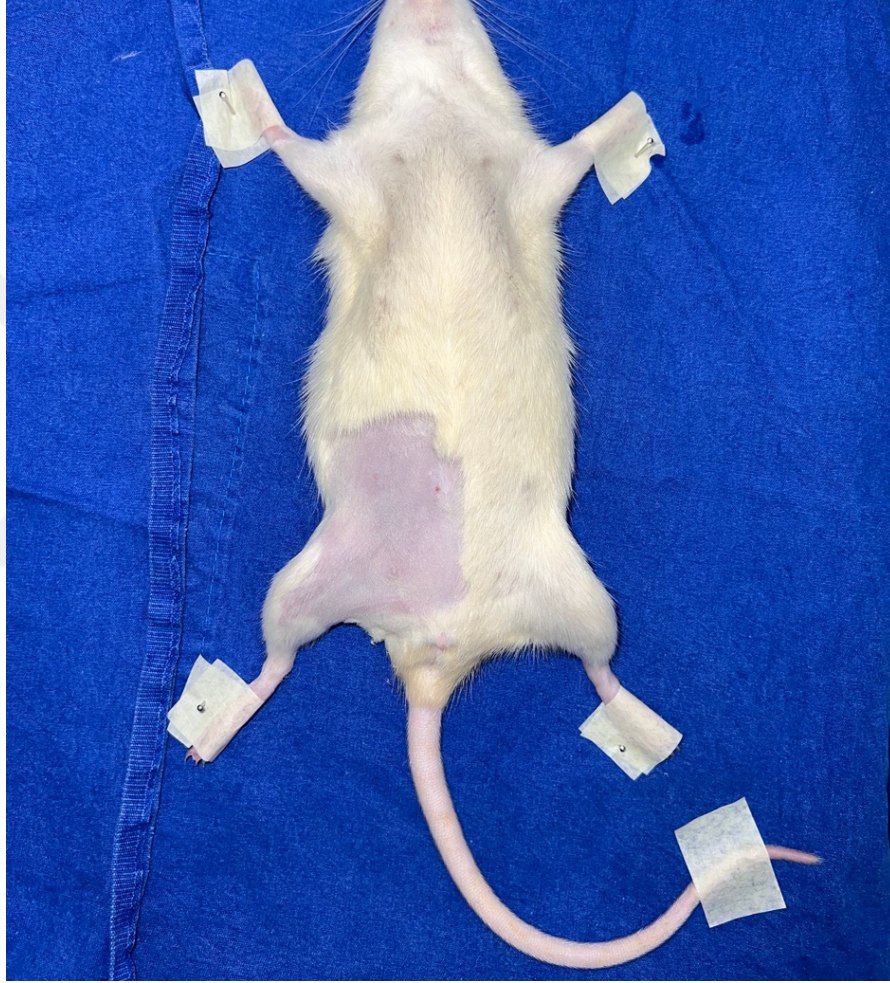
3.1.1. Cerrahi Prosedür ve Deney Grupları

3.1.1.1. Anestezi ve Hazırlık

Sıçanlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar®, Parke-Davis, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer AG, Leverkusen, Almanya) ile anestezi uygulandı. Genel anestezi sonrası sıçanların inguinal bölgesi tıraş bıçağı ile tıraşlanarak %10’luk povidon iyodin solüsyonu (Batticon®, Adeka İlaç Ltd Şti, Samsun, Türkiye) ile sterilizasyon sağlandı. Tüm cerrahi işlemler tek cerrah tarafından yapıldı.

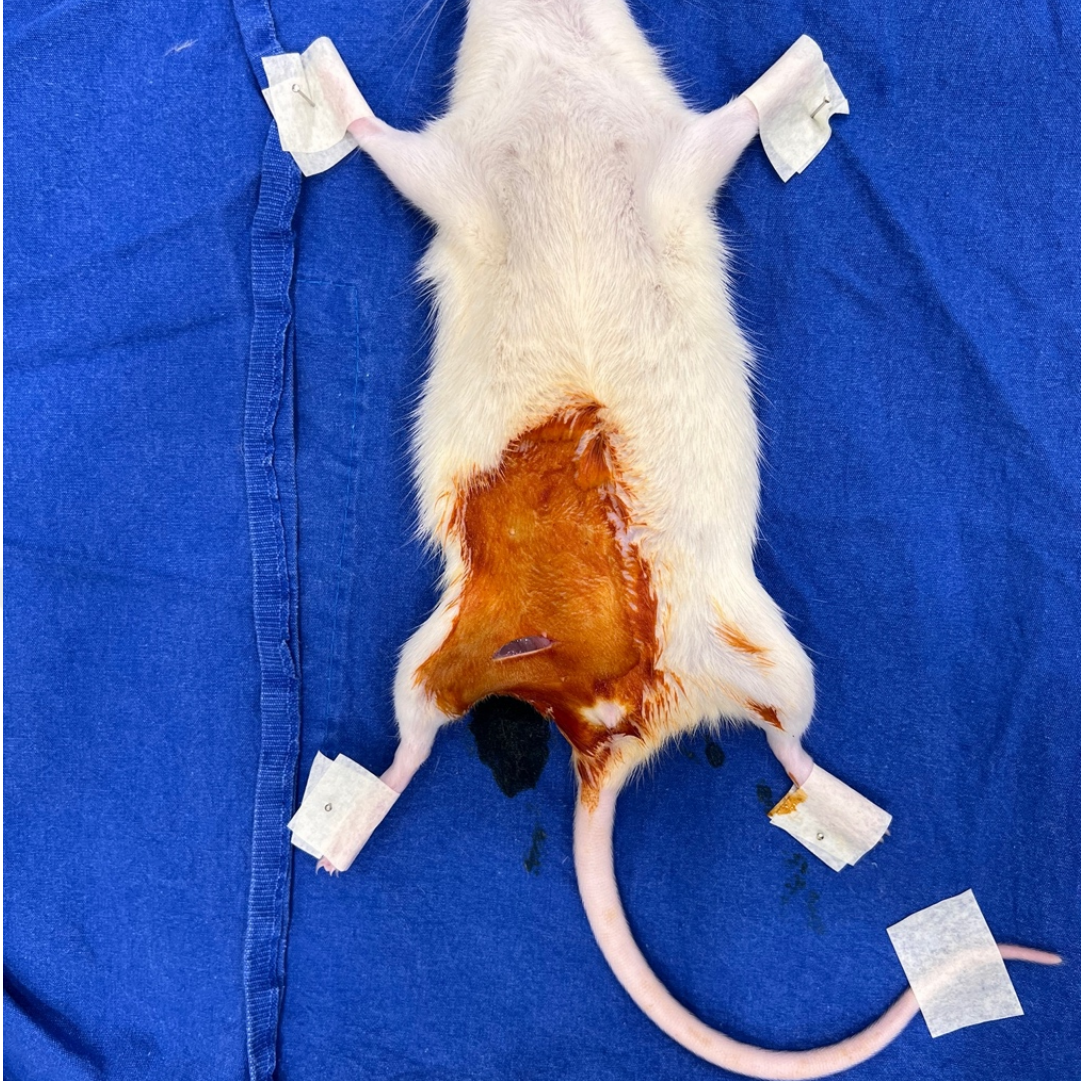
3.1.1.2. Mikrovasküler Anastomoz Modelinin Oluşturulması

Sıçanların tartılarak anesteziye alınmasını takiben sağ inguinal bölgeleri traş bıçağı ile traş edilerek cerrahi modeli oluşturmak üzere panoya alındı. Sağ inguinal bölge cerrahi erişimine uygun olacak şekilde pozisyon verilerek üst ve alt ekstremiteleri ve kuyruklarından bant ile panoya tespit sağlandı. (Şekil 11)



Şekil 11: Deneğin Panoya Tespit Edilmesi

Denekler panoya tespit edildikten sonra povidon-iyodin solüsyonu ile cerrahi alan temizliği sonrasında inguinal bölgeden yaklaşık 1,5 cm uzunluğundaki eksploratif insizyon yapıldı. (Şekil 12)



Şekil 12: Cerrahi Alan Temizliği ve İnsizyon

İnsizyon sonrasında inguinal yağ yastıkçığı görülerek inferior sınırından diseksiyona başlandı. İnguinal yağ yastıkçığı flebine giren damarlar korunarak süperolateral bazlı olacak şekilde infeiromedial ve inferolaterale doğru diseke edildi. Bu aşamada femoral damar ve sinirler görüldü ve ileri diseksiyona mikroskop altında devam edilmek üzere korundu. Takiben daha iyi cerrahi görüş alanı sağlamak amacıyla yağ yastıkçığı flebi ekartörün altında kalacak şekilde insizyonun süperolateral, süperomedial ve inferomedialine ekartörler yerleştirildi. (Şekil 13)



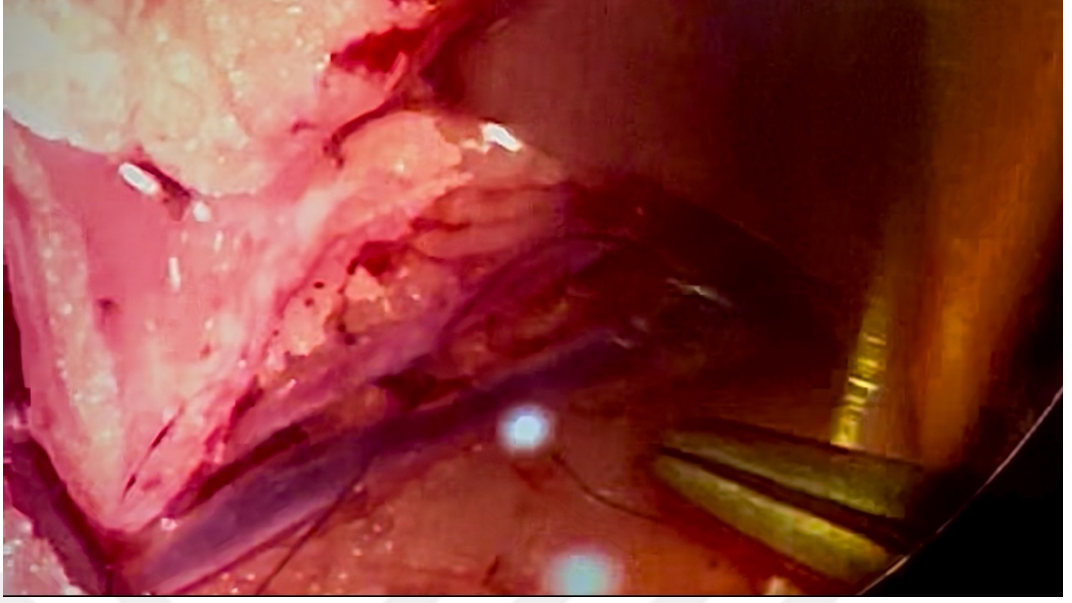
Şekil 13: Ekartörlerin Yerleştirilmesi

Eksplorasyonun bu aşamasından itibaren mikroskop altında çalışıldı. Deney sırasında ihtiyaç duyulan magnifikasyon için ZEISS OPMI® Pico (Carl Zeiss AG. Oberkochen, Almanya) mikroskop kullanıldı. Mikroskop için kamera eklentisi bulunmamakta idi ve manuel yükseklik ayarı ve manuel fokus ayarı içermekteydi. (Şekil 14)

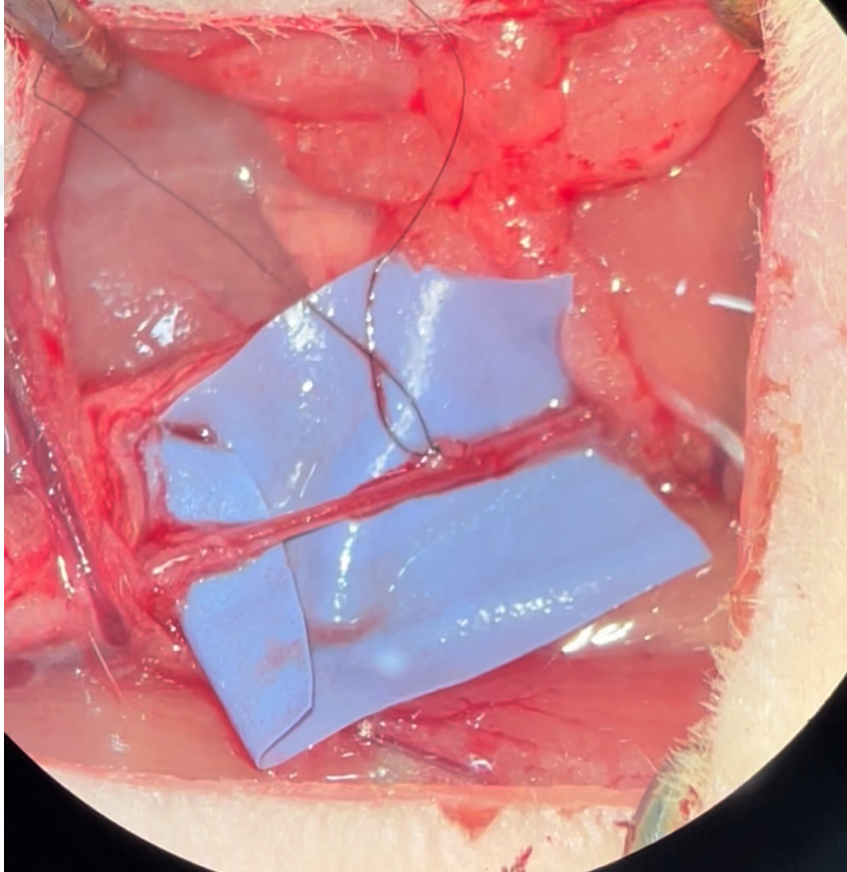


Şekil 14: Deneyde Kullanılan Mikroskop

Mikroskop magnifikasyon altında devam edilerek perivasküler kılıf görüldü. Femoral arter femoral ven ve femoral sinir arasında görülerek perivasküler kılıf keskin olarak diseke edildi. Femoral arter inguinal ligaman inferiorundan epigastrik damarlara dek femoral arter ve sinirden ayrıldı ve ortaya kondu. Bu aşamada arterin çepeçevre diseksiyonunu engelleyen damarın posterior yüzünden çıkan Murphy dalı proksimal ve distalinden bağlandı. (Şekil 15) Murphy dalının kesilerek arterin serbestlenmesinin ardından arter koyu renkli bir arka plan üzerine alınarak izole edildi. (Şekil 16)



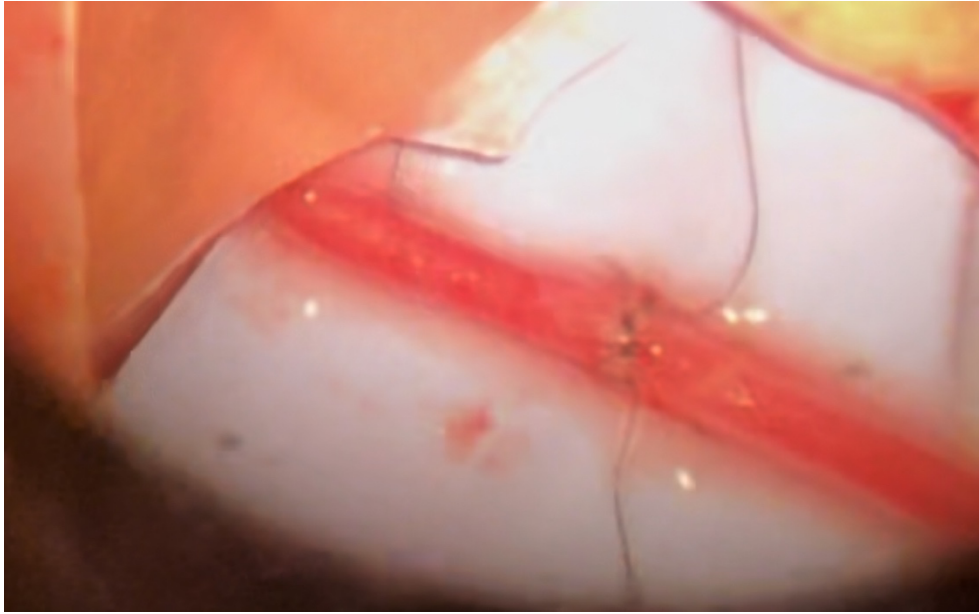
Şekil 15: Murphy Dalının Bağlanması



Şekil 16: Tamamen Diseke Edilmiş Femoral Arterin Fon Üzerine Alınması

Mikrovasküler ikili klemp yerleştirilerek klemp süresini ölçmek için kronometre başlatıldı. Mikrovasküler ikili klemp yerleştirilmesinin ardından Murphy dalı düz uçlu bir adventisya makasıyla eksize edilerek femoral arter kesildi. Damarın proksimal ve distal uçları 50 ml’de 1000 İÜ heparin içeren (Koparin®, flakon, Koçak Farma, İstanbul, Türkiye) heparinli serum fizyolojik solüsyonuyla yıkanarak damar uçları temizlendi. Damar spazmını engellemek için 10 ml’de 100 mg lidokain içeren (Aritmal®, ampul, Osel İlaç, İstanbul, Türkiye) lidokainli serum fizyolojik solüsyonu ile damar uçları yıkandı. Takiben damar uçlarından sarkan adventisya damar uzun aksına paralel olarak çekildi ve adventisya makası ile kesilerek uzaklaştırıldı. Damar uçları dilatatör yardımıyla normal çapının 1,5 katı olacak şekilde dilate edildi.

Anastomoz için 3/8 yuvarlak uçlu, iğne kalınlığı 100 µm, monoflaman polyamid 10/0 dikiş materyali (Daylon®, Doğan, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Damar uçları ikili mikrovasküler klemp ile yaklaştırılarak önce 0 ve sonra 180 dereceye uygun olacak şekilde 2 adet dikiş konularak başlandı. Bu dikişlerin yerleştirilmesinden sonra ön yüze eşit aralıklarla 3 dikiş daha yerleştirildi. Aproksimatör döndürülerek arka yüze de eşit aralıklı olacak şekilde 3 dikiş konuldu. Böylece tüm deneklerde 8 adet dikiş konularak mikrovasküler anastomoz tamamlandı. (Şekil 17)



Şekil 17: Tamamlanmış Anastomozun Görünümü

Anastomozun tamamlanmasının ardından mikrovasküler klempler açılarak kronometre durduruldu. Geçen süre her denek için dakika olarak kaydedildi. İnguinal yağ yastıkçığı flebi damarın üzerine nazikçe konuldu ve 1 dakika beklendi. Anastomoz sonrası görülen küçük sızıntılar tüm deneklerde 1 dakikalık bekleme süresinin ardından durdu. 1. ve 5. dakikalarda anastomoz distalinde yapılan uplift testi ile tüm anastomozların patent olduğu doğrulandı.

Cilt insizyonu 5/0 emilebilen sütür ile kapatılarak povidon-iyodin solüsyonu ile pansuman yapıldı ve cerrahi prosedür bitirildi.

3.2. İLAÇ UYGULAMALARI

Anastomozun tamamlanması ve 1. dakika patens değerlendirilmesinden hemen sonra enjeksiyonlar yardımcı uygulayıcı tarafından intraperitoneal olarak yapıldı. Kontrol grubuna 4 ml/kg dozunda serum fizyolojik, NAC grubuna 400 mg/kg dozunda N-Asetil sistein (Mucinac®, Ampul, Vem İlaç, İstanbul, Türkiye), NAC + GSH grubuna ise 400 mg/kg dozunda N-Asetil sistein (Mucinac®, Ampul, Vem İlaç, İstanbul, Türkiye) ve 400 mg/kg dozunda Glutatyon (TAD®, Flakon, Biomedica Foscoma, Ferentino, İtalya) tek doz olarak uygulandı.

Deney süresince ilk 3 gün olacak şekilde her deneğe post operatif enfeksiyon profilaksisi için 300 mg/kg sefazolin ve post operatif ağrı kontrolü için 10 mg/kg diklofenak intramusküler olarak uygulanmıştır.

3.3. DENEYİN SONLANDIRILMASI VE HİSTOPATOLOJİK ÖRNEKLEME

Postoperatif 7. günde denekler izofloran inhalasyonu ile genel anesteziye alındıktan sonra pozisyon verilerek panoya sabitlendi. Sağ inguinal bölgedeki eski insizyon skarından girilerek ilk operasyondakine benzer şekilde diseksiyon yapıldı. Mikroskop magnifikasyon altında anastomoz distalinde milking testi yapılarak distale akım geçişi değerlendirildi.

Akım değerlendirilmesi ile anastomoz patensi kontrol edildikten sonra femoral arter anastomoz hattını içerecek şekilde proksimalde inguinal ligaman seviyesinden ve distalde epigastrik arter seviyesinden kesilerek %10 formol çözültisine konuldu.

Histopatolojik örneklerin alınmasını takiben denekler anestezi altında servikal dislokasyon uygulanarak sakrifiye edildi.

3.4. DENEY SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

3.4.1. Klinik Değerlendirme

Deneklerin femoral arterleri örnekleme sırasında milking testi ile değerlendirilerek anastomoz patensi açısından patent ve non-patent olarak değerlendirilerek sonuçlar kaydedildi. Mikrovasküler klemp uygulanmasının ve anastomoz tamamlanarak mikrovasküler klempin açılışına kadar olan süre dakika olarak kronometre yardımıyla ölçülerek bu süre değerleri kaydedildi. Deneklerin kaydedilen preoperatif ağırlık değerleri istatistiksel analize dahil edildi.

3.4.2. Histopatolojik Değerlendirme

24 biyopsi materyali %10'luk formaldehit ile tespit edildi. Rutin takip işlemlerinden geçirilen dokulardan parafin bloklar hazırlandı. 4 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin eozin ile boyandı. Preparatlar Prof. Dr. Cemil Taşçıoğlu Şehir Hastanesi Patoloji Laboratuvarında patoloji uzmanı Doç. Dr. Özben Yalçın tarafından kör olarak değerlendirildi. Kesitlerde perivasküler inflamasyon, adventisyal inflamasyon, adventisyal fibrozis, medial nekroz, intimal hiperplazi, endotel bütünlüğü, trombüs formasyonu varlığı değerlendirildi. Perivasküler inflamasyon, adventisyal inflamasyon, adventisyal fibrozis, intimal hiperplazi (Yok=0, Hafif=1, Orta=2, Şiddetli=3) skorlandı. Medial nekroz, trombüs formasyonu, endotel bütünlüğü Var/Yok olarak değerlendirildi.

3.4.3. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan, en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov, shapiro-wilk test ile ölçüldü. Dağılımı normal olan nicel bağımsız verilerin analizinde ANOVA (Tukey test), bağımsız örneklem t test kullanıldı. Dağılımı normal olmayan nicel bağımsız verilerin analizinde mann-whitney u test kullanıldı. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare test koşulları

sağlanmadığında fischer test kullanıldı. Analizlerde SPSS 28.0 programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Çalışmamıza her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde toplam 24 sıçanın tamamından alınan örnekler histopatolojik incelemeye uygun bulunarak bu örneklerin inceleme sonuçları çalışmamıza dahil edilmiştir. Sıçan femoral arterinde mikrovasküler onarım gerçekleştirildikten sonra postoperatif 7. günde alınan femoral arter örneklerinin perivasküler inflamasyon, adventisyal inflamasyon, adventisyal fibrosis, medial nekroz, intimal hiperplazi, endotel bütünlüğü ve trombüs formasyonu değerlendirme sonuçları ve preperat örnekleri ayrı alt başlıklara ayrılarak sunuldu.

Klinik olarak değerlendirilen hayvanların ağırlığı, anastomoz patensi olup olmaması ve mikrovasküler klemp süresi incelenerek alt başlık halinde sunulmuştur.

Tablo 1: Parametreler Maksimum, Minimum ve Medyan Değerleri

	Min-Mak	Medyan	Ort.±ss/n-%
Ağırlık	222.0 - 329.0	265.5	265.1 ± 24.9
Klemp Süresi	20.0 - 31.0	24.0	24.5 ± 3.3
Perivasküler İnflamasyon	<%25: Hafif		11 45.8%
	%25-50: Orta		9 37.5%
	>%50: Şiddetli		4 16.7%
Adventisyal İnflamasyon	<%25: Hafif		10 41.7%
	%25-50: Orta		10 41.7%
	>%50: Şiddetli		4 16.7%
Adventisyal Fibrozis	(-)		17 70.8%
	Hafif		6 25.0%
	Orta		1 4.2%
Medial Nekroz	(-)		19 79.2%
	(+)		5 20.8%
İntimal Hiperplazi	0-1 Tabaka: Hafif		11 45.8%
	1-5 Tabaka: Orta		6 25.0%
	>5 Tabaka: Şiddetli		7 29.2%
Endotel Bütünlüğü	(-)		9 37.5%
	(+)		15 62.5%
Trombüs Varlığı	(-)		13 54.2%
	(+)		11 45.8%
Patens	(-)		7 29.2%
	(+)		17 70.8%
Grup	Grup A		8 33.3%
	Grup B		8 33.3%
	Grup C		8 33.3%

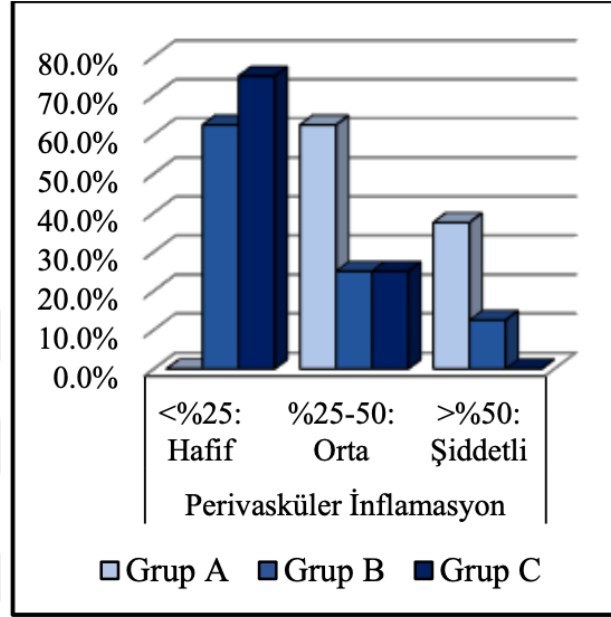
4.1. Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Perivasküler İnflamasyon

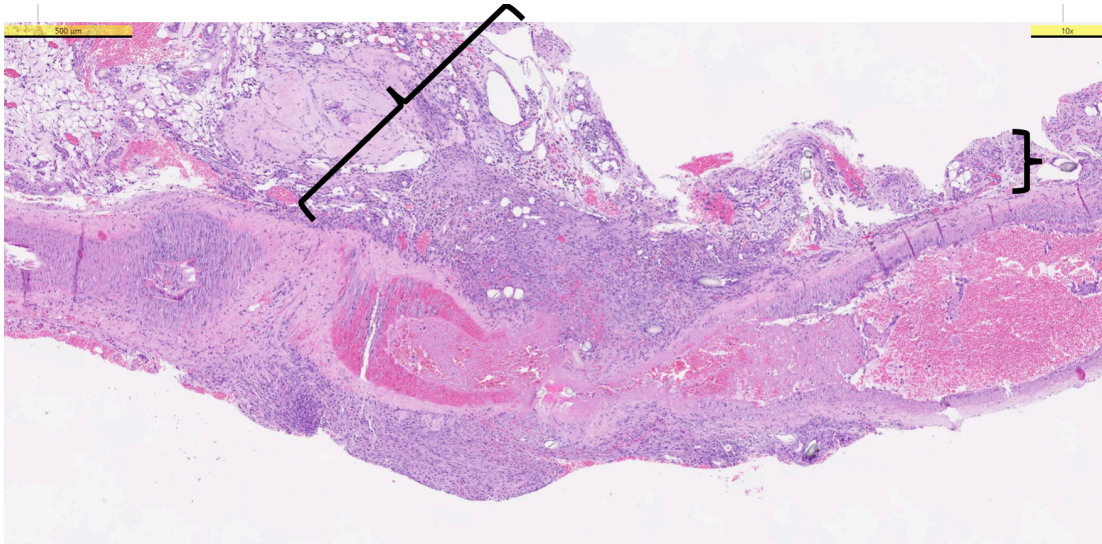
Kontrol grubunda deneklerin %37,5'inde şiddetli perivasküler inflamasyon bulguları, %62,5'inde ise orta derecede perivasküler inflamasyon kaydedildi. NAC grubunda ise deneklerin %12,5'inde şiddetli, %25'inde orta derecede, %62,5'inde ise hafif derecede perivasküler inflamasyon görüldü. NAC + GSH grubunda ise

deneklerin %25'inde orta derecede, geri kalan %75'inde ise hafif derecede perivasküler inflamasyon bulunmuştur.

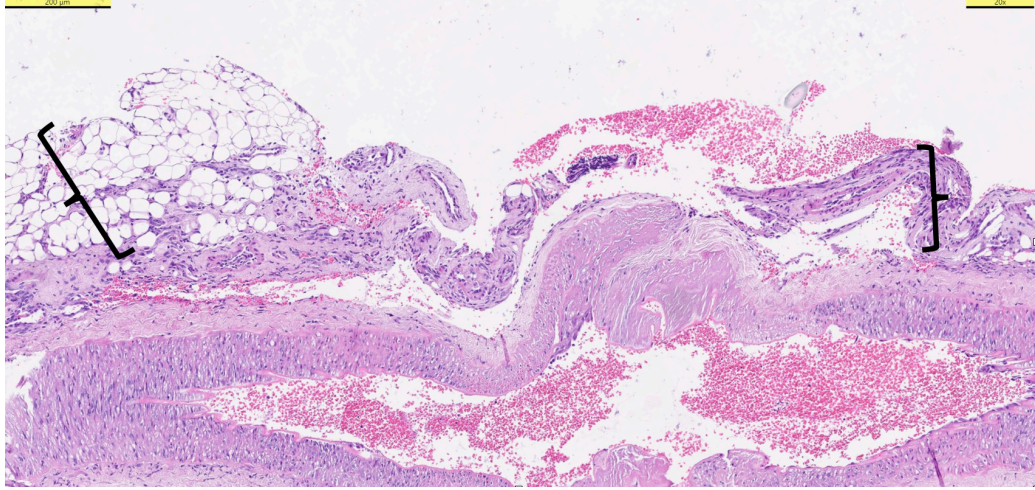
NAC ve NAC + GSH verilen gruplarda perivasküler inflamasyon kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşük bulunmuştur. NAC ve NAC + GSH verilen gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. (Tablo 2)



Şekil 18: Gruplar Arası Perivasküler İnflamasyon Oranları



Şekil 19: Şiddetli Derecede Perivasküler İnflamasyon Örnek Preparatı, HE, 100x

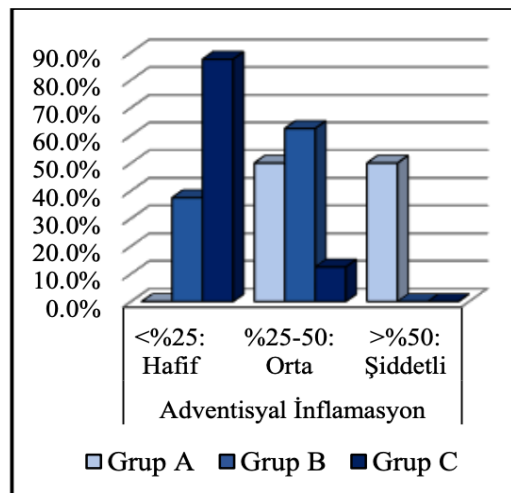


Şekil 20: Hafif Derecede Perivasküler İnflamasyon Örnek Preparatı, HE, 200x

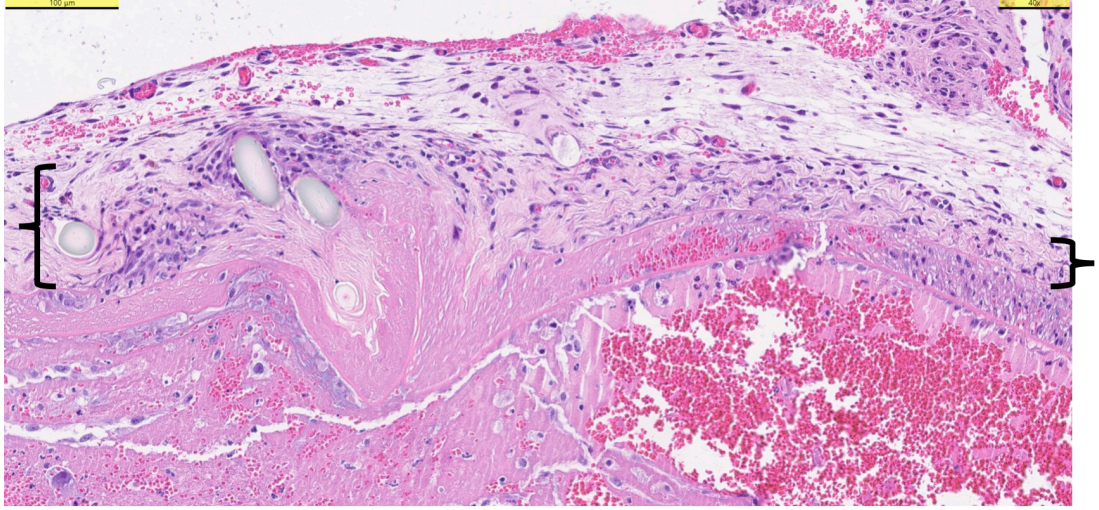
4.1.2. Adventisyal İnflamasyon

Kontrol grubunda deneklerin %50'sinde şiddetli ve geri kalan %50 denekte orta derecede adventisyal inflamasyon bulunmuştur. NAC grubunda deneklerin %62,5'inde orta derecede ve %37,5'inde hafif adventisyal inflamasyon görülmüştür. NAC + GSH grubunda ise deneklerin %12,5'inde orta derecede, %87,5'inde ise hafif adventisyal inflamasyon kaydedilmiştir. NAC ve NAC + GSH gruplarında şiddetli adventisyal inflamasyon izlenmemiştir. (Şekil 21)

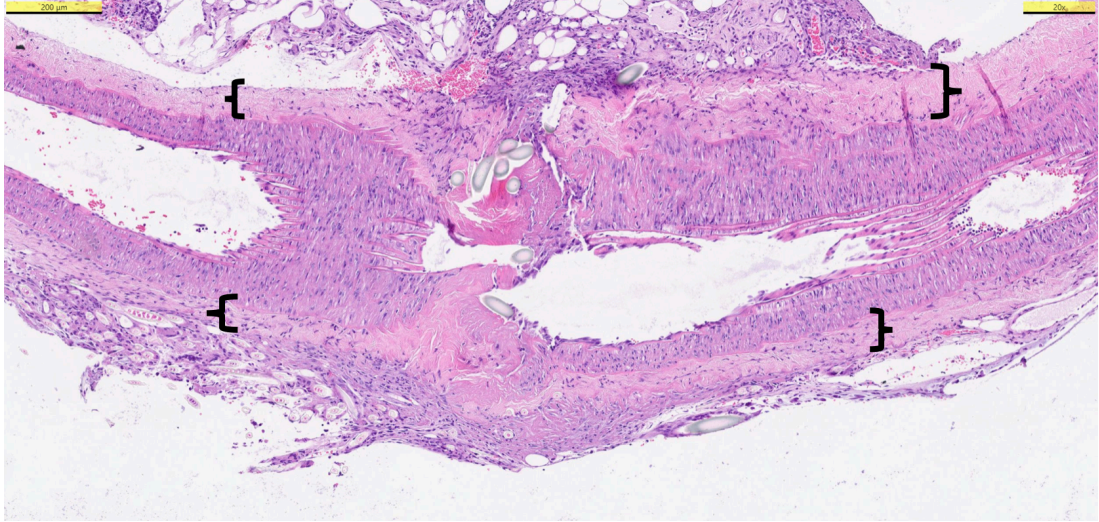
NAC + GSH verilen grupta hafif adventisyal inflamasyon oranı NAC verilen gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha fazla bulunmuştur. Kontrol grubu ve NAC grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 2)



Şekil 21: Adventisyal İnflamasyon Dereceleri



Şekil 22: Şiddetli Derecede Adventisyal İnflamasyon Örnek Preparatı, HE, 400x



Şekil 23: Hafif Derecede Adventisyal İnflamasyon Örnek Preparatı, HE, 200x

Tablo 2: Gruplar Arasında Klinik ve Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması

		¹ Grup A		² Grup B		³ Grup C		p
Ağırlık	Ort.±ss	270.3	± 34.7	253.0	± 12.5	272.0	± 20.7	0.251
	Medyan	267.5		253.5		272.0		
Klemp Süresi	Ort.±ss	23.8	± 1.8	23.9	± 3.4	25.9	± 4.1	0.358
	Medyan	23.5		23.0		25.5		
Perivasküler İnflamasyon								
<%25: Hafif	n-%	0 ²³	0.0%	5	62.5%	6	75.0%	p<0.05 ²
%25-50: Orta	n-%	5	62.5%	2	25.0%	2	25.0%	
>%50: Şiddetli	n-%	3	37.5%	1	12.5%	0	0.0%	
Adventisyal İnflamasyon								
<%25: Hafif	n-%	0 ³	0.0%	3 ³	37.5%	7	87.5%	p<0.05 ²
%25-50: Orta	n-%	4	50.0%	5	62.5%	1	12.5%	
>%50: Şiddetli	n-%	4	50.0%	0	0.0%	0	0.0%	
Adventisyal Fibrozis	(-) n-%	4	50.0%	5	62.5%	8	100.0%	0.073 ²
	Hafif n-%	3	37.5%	3	37.5%	0	0.0%	
	Orta n-%	1	12.5%	0	0.0%	0	0.0%	
Medial Nekroz	(-) n-%	4	50.0%	7	87.5%	8	100.0%	p<0.05 ²
	(+) n-%	4	50.0%	1	12.5%	0 ¹	0.0%	
İntimal Hiperplazi								
0-1 Tabaka: Hafif	n-%	4	50.0%	3	37.5%	4	50.0%	p>0.05 ²
1-5 Tabaka: Orta	n-%	1	12.5%	4	50.0%	1	12.5%	
>5 Tabaka: Şiddetli	n-%	3	37.5%	1	12.5%	3	37.5%	
Endotel Bütünlüğü	(-) n-%	6	75.0%	3	37.5%	0	0.0%	0.008 ²
	(+) n-%	2 ³	25.0%	5	62.5%	8	100.0%	
Trombüs Varlığı	(-) n-%	2	25.0%	6	75.0%	5	62.5%	p>0.05 ²
	(+) n-%	6	75.0%	2	25.0%	3	37.5%	
Patens	(-) n-%	3	37.5%	2	25.0%	2	25.0%	0.817 ²
	(+) n-%	6	2.5%	7	5.0%	7	5.0%	

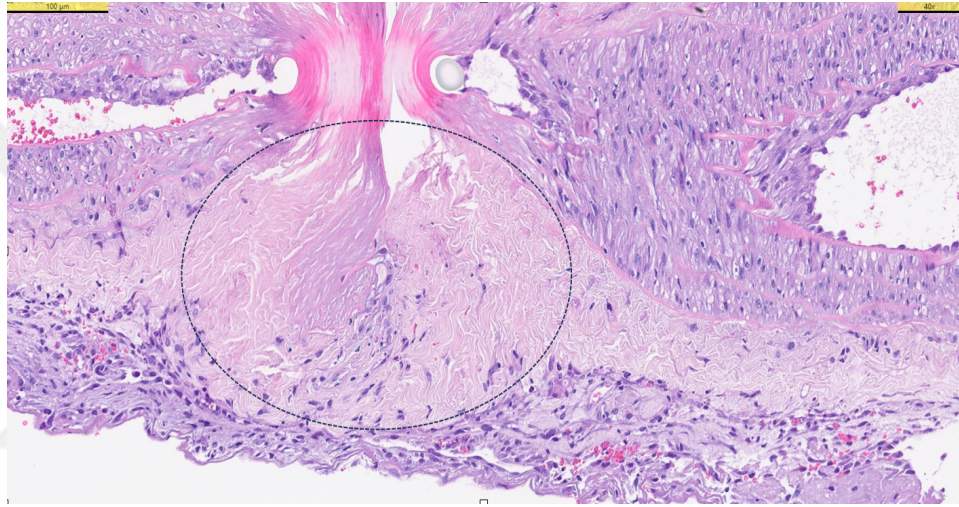
^A ANOVA / ^{X²} Ki-kare test (Fischer test)

¹ Grup A ile fark p<0.05, ² Grup B ile fark p<0.05, ³ Grup C ile fark p<0.05

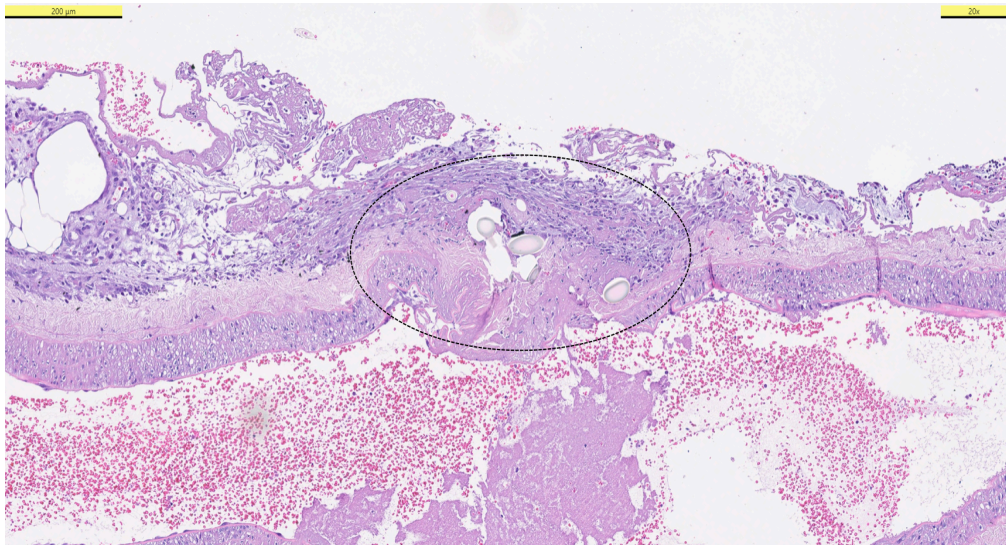
4.1.3. Adventisyal Fibrosis

Adventisyal fibrosis kontrol grubunda deneklerin %12,5'inde orta derecede, %37,5'inde hafif derecede bulunmuştur. Kontrol grubunda deneklerin %50'sinde ise Adventisyal fibrosis izlenmemiştir. NAC grubunda deneklerin %37,5'inde adventisyal fibrosis hafif derecede görülürken deneklerin %62,5'inde ise adventisyal fibrosis görülmemiştir. NAC + GSH verilen grupta ise adventisyal fibrosis görülmemiştir.

Gruplar arasında adventisyal fibrosis değerleri anlamlı farklılık göstermemiştir. (Tablo 2)



Şekil 24: Orta Derecede Adventisyal Fibrosis Örnek Preparatı, HE, 400x

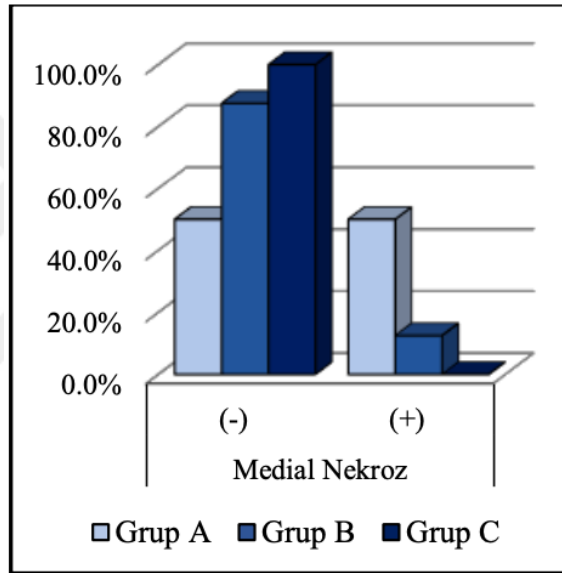


Şekil 25: Adventisyal Fibrosis İzlenmeyen Preparat Örneği, HE, 200x

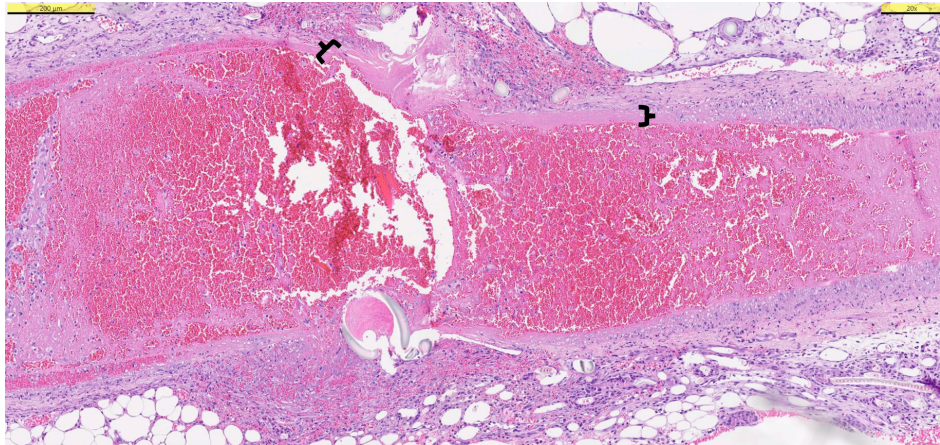
4.1.4. Medial Nekroz

Kontrol grubunda deneklerin %50'sinde medial nekroz saptanırken geri kalan deneklerde medial nekroz saptanmamıştır. NAC grubunda deneklerin %12,5'inde medial nekroz saptanırken deneklerin %87,5'inde medial nekroz saptanmadı. NAC + GSH grubunda ise medial nekroz görülmemiştir. (Şekil 25)

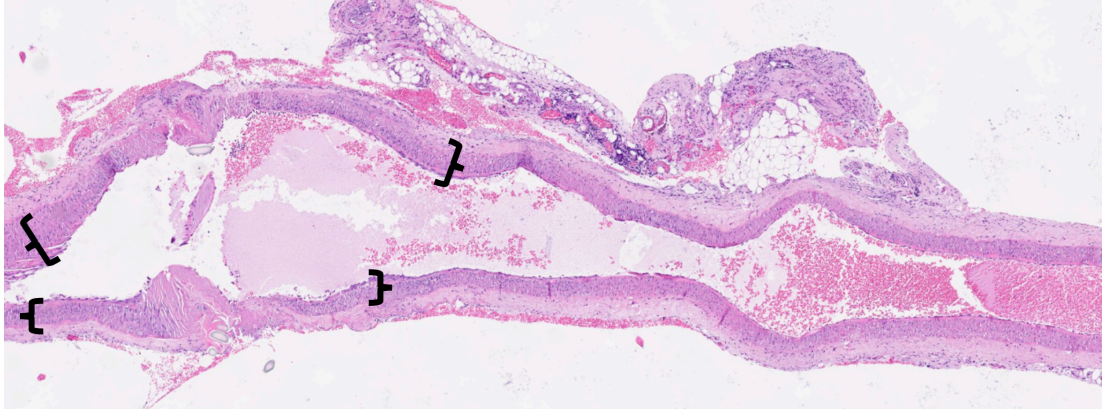
Kontrol grubunda medial nekroz varlığı NAC + GSH verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksek oranda görülmüştür. NAC verilen grupta ise kontrol grubuna ve NAC + GSH verilen gruba oranla anlamlı farklılık göstermemiştir. (Tablo 2)



Şekil 26: Gruplar arasında medial nekroz görülme oranları



Şekil 27: Medial Nekroz Olan Preparat Örneği HE, 200x

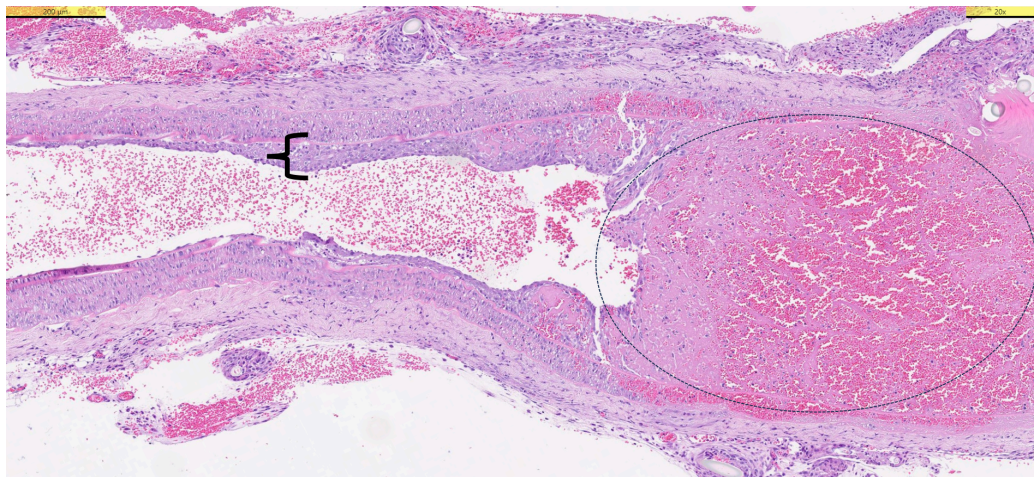


Şekil 28: Medial Nekroz Olmayan Preparat Örneği, HE, 100x

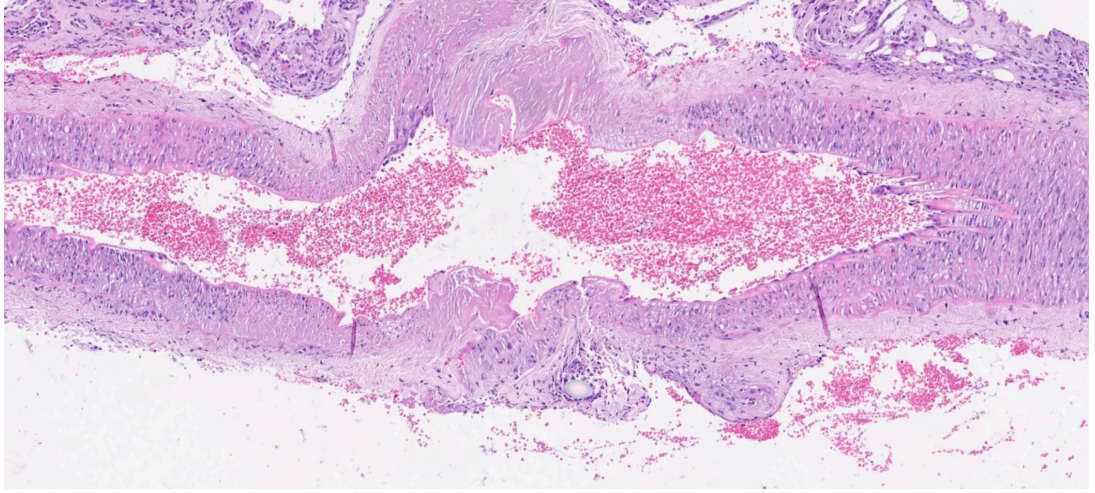
4.1.5. İntimal Hiperplazi

Kontrol grubunda intimal hiperplazi deneklerin %37,5'inde orta derecede, deneklerin %12,5'inde hafif derecede saptanırken deneklerin %50'sinde intimal hiperplazi saptanmamıştır. NAC verilen grupta deneklerin %12,5'inde orta derecede, deneklerin %50'sinde hafif derecede intimal hiperplazi görüldü ve deneklerin %37,5'inde ise intimal hiperplazi görülmeydi. NAC + GSH verilen grupta deneklerin %37,5'inde orta derecede, deneklerin %12,5'inde hafif derecede intimal hiperplazi görülürken deneklerin %50'sinde ise intimal hiperplazi görülmemiştir.

Kontrol grubu, NAC grubu ve NAC + GSH grubu arasında intimal hiperplazi oranları arasında anlamlı fark izlenmemiştir. (Tablo 2)



Şekil 29: Orta Derecede İntimal Hiperplazi ve Trombüs Örnek Preparatı, HE, 200x

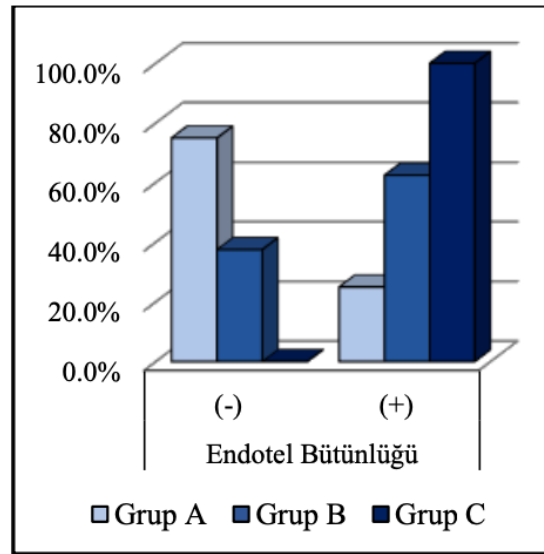


Şekil 30: İntimal Hiperplazi İzlenmeyen Örnek Preparatı, HE, 200x

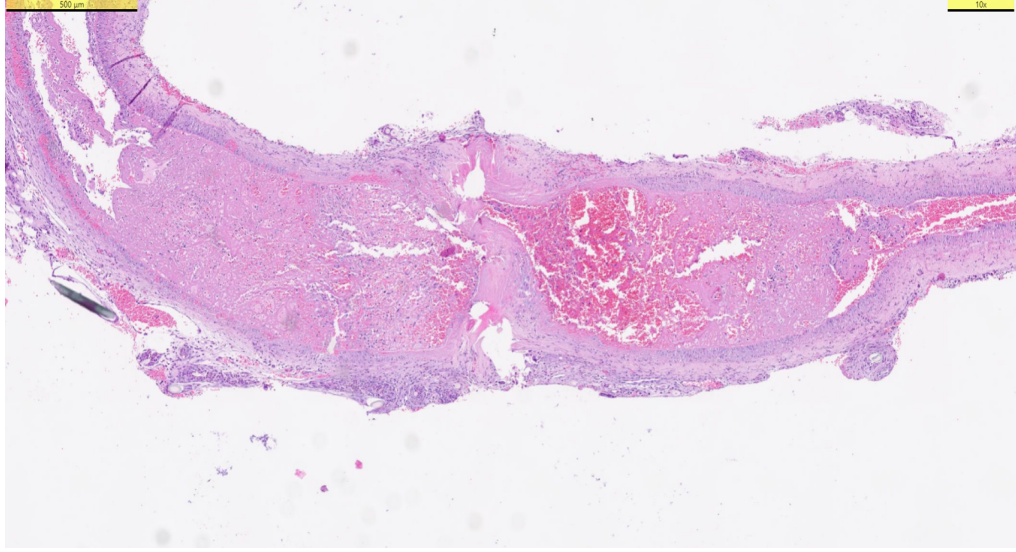
4.1.6. Endotel Bütünlüğü

Kontrol grubunda deneklerin %25'inde endotel bütünlüğü sağlanırken deneklerin %75'inde endotel bütünlüğünün sağlanamadığı görülmüştür. NAC verilen grupta deneklerin %62,5'inde endotel bütünlüğü sağlanabilmişken deneklerin %27,5'inde endotel bütünlüğü sağlanamamıştır. NAC + GSH verilen grupta ise deneklerin %100'ünde endotel bütünlüğü sağlanabildiği görülmüştür. (Şekil 30)

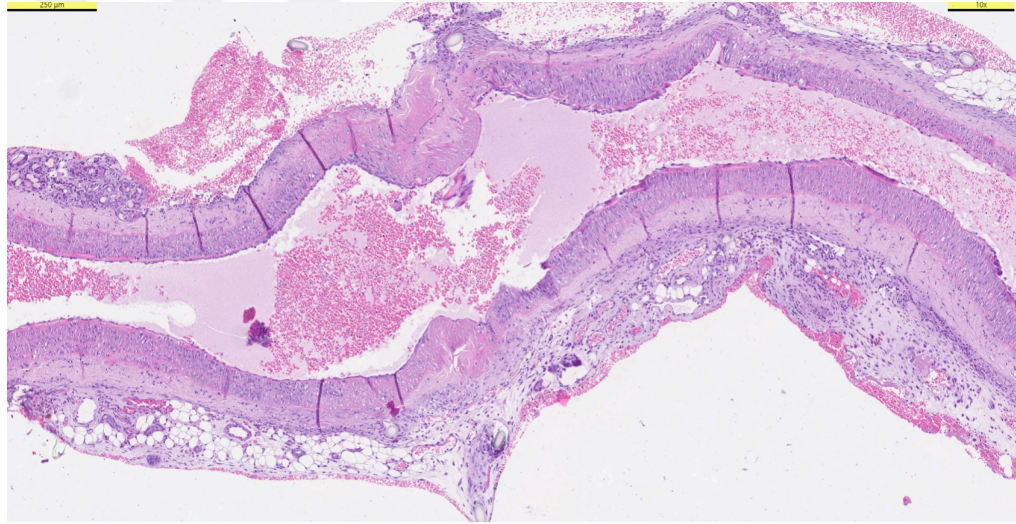
NAC + GSH verilen grupta endotel bütünlüğü kontrol grubuna ve NAC verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak yüksek oranda sağlanabilmiştir. (Tablo 2)



Şekil 31: Endotel Bütünlüğü Sağlanma Oranları



Şekil 32: Endotel Bütünlüğü Olmayan Preparat Örneği, HE, 100x

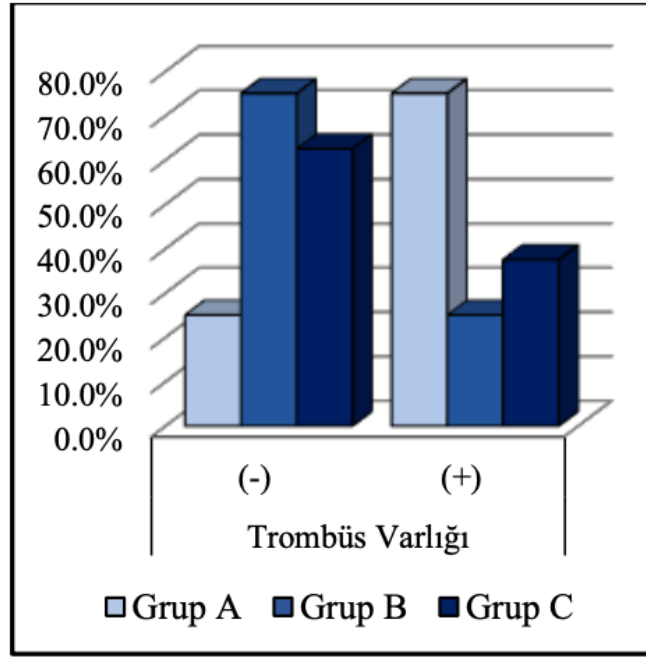


Şekil 33: Endotel Bütünlüğü Olan Preparat Örneği, HE, 100x

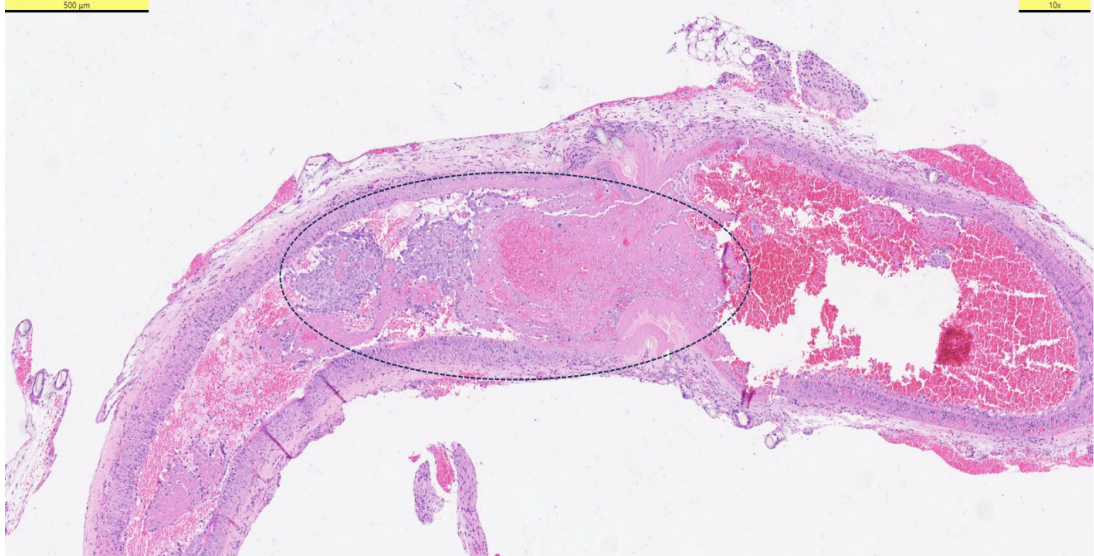
4.1.7. Trombüs Formasyonu

Kontrol grubunda deneklerin %75'inde trombüs mevcut iken deneklerin %25'inde trombüs saptanmadı. NAC verilen grupta deneklerin %25'inde trombüs saptanırken deneklerin %75'inde trombüs saptanmadı. NAC + GSH verilen grupta deneklerin %37,5'inde trombüs görülürken deneklerin %62,5'inde trombüs görülmemiştir. (Şekil 33)

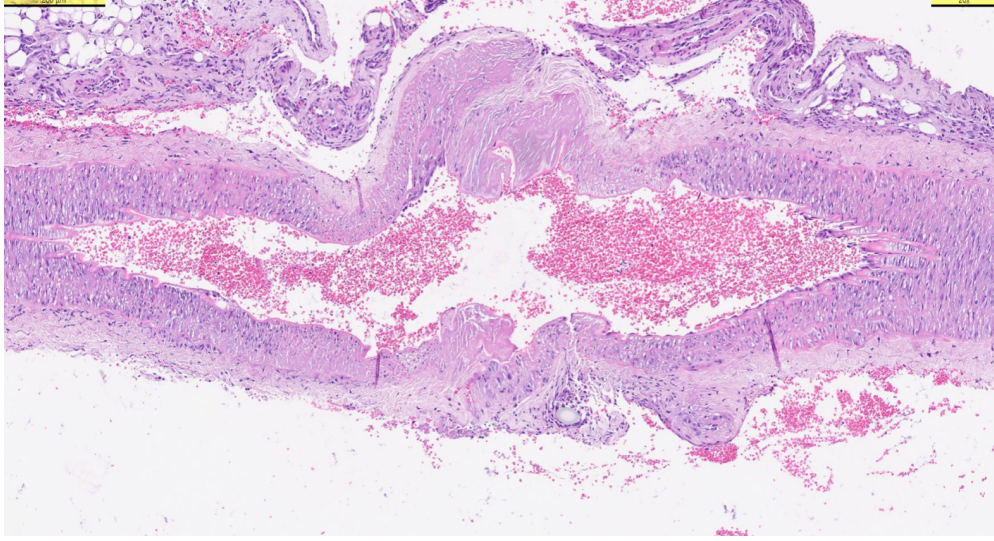
Kontrol grubu, NAC verilen grup ve NAC + GSH verilen grup arasında trombüs varlığı açısından istatistiki olarak anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 2)



Şekil 34: Gruplar arasında trombüs oranları



Şekil 35: Trombüs Mevcut Olan Preparat Örneği, HE, 100x



Şekil 36: Trombüs Mevcut Olmayan Preparat Örneği, HE, 200x

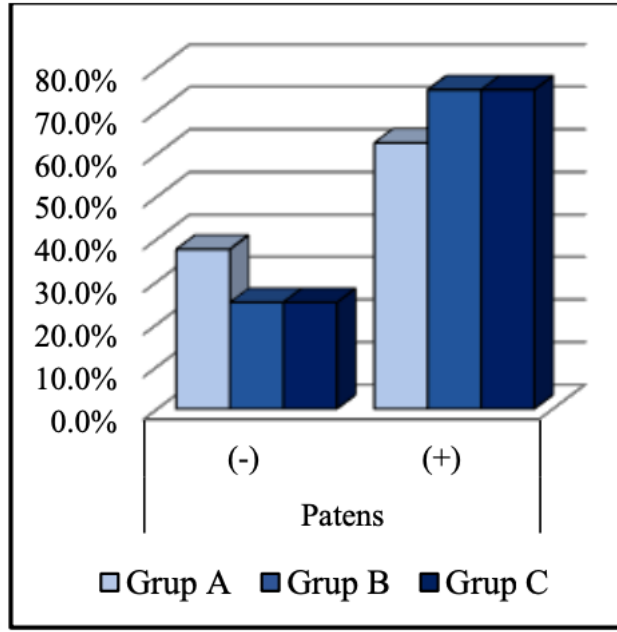
4.2. KLİNİK BULGULAR

4.2.1. Anastomoz Patensi

Kontrol grubunda deneklerin %67,5'inde anastomoz patensi mevcut iken deneklerin %37,5'inde anastomozlar patent değildi. NAC verilen grupta deneklerin %75'inde anastomozlar patent iken deneklerin %25'inde anastomozlar patent değildi. NAC + GSH verilen grupta deneklerin %75'inde anastomozlar patent bulunurken deneklerin %25'inde anastomozlar patent değildi. (Şekil 36)

Kontrol grubu, NAC grubu ve NAC + GSH grubunda anastomoz patensleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. (Tablo 2)

Anastomoz patensi mevcut olan deneklerde trombüs varlığı ve perivasküler inflamasyon non-patent olan deneklere göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşük bulunmuştur. Anastomoz patensi mevcut olan deneklerde non-patent anastomoz saptanan deneklere göre medial nekroz anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha az bulunmuştur. Anastomoz patensi olan ve olmayan denekler arasında klemp süresi, ağırlık, adventisyal inflamasyon, adventisyal fibrozis, intimal hiperplazi ve endotel bütünlüğü açısından anlamlı farklılık görülmemiştir. (Tablo 3)



Şekil 37: Graplarda Patens Oranları

4.2.2. Klemp Süresi

Kontrol grubunda ortalama klemp süresi ve standart sapma sırasıyla 23,8 dakika ve 1,8 dakika olarak kaydedildi. NAC verilen grupta bu değer 23,9 dakika ve 3,4 dakika olurken NAC + GSH verilen grupta ise sırasıyla 25,9 dakika ve 4,1 dakika olarak hesaplandı. Klemp süreleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (Tablo 2) Patens olan grup ve patens olmayan grup arasında klemp süreleri anlamlı bir farklılık göstermemiştir. (Tablo 3)

4.2.3. Sıçanların Ağırlığı

Kontrol grubunda sıçanların ortalama ağırlığı ve standart sapma sırasıyla 270,3g ve 34,7g olarak kaydedildi. NAC grubunda bu rakamlar sırasıyla 253g ve 12,5g olarak kaydedildi. NAC + GSH grubunda ise bu rakamlar sırasıyla 272g ve 20,7g olarak kaydedilmiştir. Gruplar arasında sıçanların ağırlıkları anlamlı farklılık göstermemiştir. (Tablo 2) Anastomoz patensi olan sıçanlar ve olmayan sıçanlar arasında ağırlıkları açısından anlamlı farklılık izlenmemiştir. (Tablo 3)

Tablo 3: Patens Saptanan ve Saptanmayan Deneklerin Bulgularının Karşılaştırılması

	Patens (-)		Patens (+)		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
Ağırlık	253.6 ± 20.1	252.0	269.8 ± 25.7	267.0	0.162 ^m
Klemp Süresi	25.1 ± 2.7	25.0	24.2 ± 3.5	22.0	0.547 ^t
Perivasküler İnflamasyon	<%25: Hafif	0	0.0%	11	64.7%
	%25-50: Orta	6	85.7%	3	17.6%
	>%50: Şiddetli	1	14.3%	3	17.6%
					0.004 X ²
Adventisyal İnflamasyon	<%25: Hafif	2	28.6%	8	47.1%
	%25-50: Orta	4	57.1%	6	35.3%
	>%50: Şiddetli	1	14.3%	3	17.6%
					0.404 X ²
Adventisyal Fibrozis	(-)	5	71.4%	12	70.6%
	Hafif	2	28.6%	4	23.5%
	Orta	0	0.0%	1	5.9%
Medial Nekroz	(-)	3	42.9%	16	94.1%
	(+)	4	57.1%	1	5.9%
İntimal Hiperplazi					
0-1 Tabaka: Hafif	2	28.6%	9	52.9%	
1-5 Tabaka: Orta	1	14.3%	5	29.4%	0.276 X ²
>5 Tabaka: Şiddetli	4	57.1%	3	17.6%	
Endotel Bütünlüğü	(-)	2	28.6%	7	41.2%
	(+)	5	71.4%	10	58.8%
Trombüs Varlığı	(-)	0	0.0%	13	76.5%
	(+)		100.0%	2	3.5%
					0.001 X ²

^t Bağımsız örneklem t test / ^m Mann-whitney u test / ^{X²} Ki-kare test (Fischer test)

Tablo 4: Endotel Bütünlüğü Olan ve Olmayan Gruplar Arasında Klemp Süresi Değerleri

	Endotel Bütünlüğü (-)		Endotel Bütünlüğü (+)		p
	Ort.±ss	Medyan	Ort.±ss	Medyan	
Klemp Süresi	24.0 ± 1.7	24.0	24.8 ± 3.9	23.0	0.903 ^m

^m Mann-whitney u test

5. TARTIŞMA

Mikrovasküler anastomoz diğer birçok disiplinle beraber plastik ve rekonstrüktif cerrahi alanında da pratikte sıklıkla kullanılan, öğrenmesi ve uygulaması zor bir tekniktir. Magnifikasyon altında çalışmayı ve mikrocerrahi aletleri kullanmayı öğrenmekle başlayan bu yolculukta başarılı olmak için mikrocerrahi tekniklerin klinikte doğru endikasyonlarla hatasız şekilde uygulanması gerekmektedir. Doğası gereği hassas çalışmanın ve detaylara dikkat etmenin çok önemli olduğu mikrocerrahi vasküler anastomozlarda başarının en önemli faktörünün kullanılan teknikler veya medikal tedavilerden daha çok cerrahın yetkinliğine bağlı olduğu görüşü kabul görmektedir(77). Çünkü mikrocerrahinin kendi içerisinde barındırdığı zorluklara ek olarak, uygulanması gereken hastalarda da genellikle yüksek enerjili, uzuv kaybı yaratan travmalar veya tedavisiz kalmış ileri evre maligniteler gibi patolojiler bulunmakta ve bu hastalar dezavantajlı hasta grupları arasında yer almaktadır.

Hatasız yapılmış bir mikrovasküler anastomoz sonrasında bile damar manipülasyonu sırasında meydana gelen endotel hasarı, iğne deliklerinden açığa çıkan subintimal dokular gibi nedenlerden dolayı trombüs gelişimi ve anastomozun tıkanması mümkündür. Anastomoz hattında oluşan trombüs formasyonu ve bu trombüsün anastomoz hattını kapatması mikrovasküler cerrahinin en önemli problemlerindendir ve anastomoz revizyonu için ek cerrahi girişimler gerektirir(78). Damarın çapı küçüldükçe de trombüs gelişimi ve başarısızlık oranları artmaktadır(79). Bu probleme bir çözüm olarak antiagregan ve antikoagülanlar klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ajanların bilinen risklerinden olan kanama artışı nedeniyle çoğu cerrah tarafından genellikle postoperatif dönemde ve dikkatle kullanılmaktadır(80). İntaoperatif olarak damar uçlarının lokal irrigasyonu için bir poliglikozaminoglikan olan ve klinik tecrübesi 50 yıldan fazla olan heparin sıklıkla kullanılmaktadır. Heparin ile irrigasyonun anastomoz başarısını arttırdığı gösterilmiştir(81). Çalışmamızda da lokal yıkama solüsyonu olarak mikrovasküler anastomozların rutin adımlarından biri haline gelmiş olan heparin kullanılmıştır.

Başarılı anastomozlar sonrasında bile kaçınılmaz olarak küçük miktarlarda da olsa oluşan trombüslerinin nedeni normalde non-tombojenik olan endotel tabakasının

bütünlüğünün bozulması ve hasarlanmasıdır. Trombüs aktivasyonu ile mikro sirkülasyon bozulmakta, vazokonstriksiyon, endotelial hücre ödemi, perivasküler alanlarda ödem, serbest oksijen radikallerinin oluşması ve bu radikallerin ekstrasvazasyonu görülmektedir(82). Bu sebeple hücre düzeyinde görülen bu hasarın azaltılması, endotel fonksiyonun ve bütünlüğünün en kısa sürede normale en yakın seviyelere getirilmesi için çalışmamızda NAC ve GSH kullanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda N-Asetil sisteinin GSH sentezini arttırdığı ve NO aracılı vazodilatasyonu arttığı görülmüştür(83). Ek olarak NAC platelet agregasyonunda inhibisyon yapan NO aktivitesini potansiyelize etmektedir(84). Yapılan başka bir çalışma ise in vitro olarak uygulandığında 3 mM-10 mM dozunda platelet agregasyonu inhibisyonu yapabileceğini göstermektedir(85). Çalışmamızda ise trombüs formasyonu oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamasa da kontrol grubunda %75 oranında olan trombüs formasyonu NAC grubunda %25 oranında görülürken NAC + GSH grubunda ise %37,5 oranında görülmüştür. (Tablo 2) Non-patent anastomozlarda trombüs formasyonu oluşumu ise patent anastomozlara oranla anlamlı olarak yüksek olarak bulundu. (Tablo 3)

Neointima formasyonu oluşum aşamasında NAC ve GSH bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B inhibisyonu aracılığı ile hasar sonrası endotel aktivasyonunu ve spesifik adezyon moleküllerinin sayısını arttırabilir(86). Tavşan karotis arteri anastomozu sonrası NAC tedavisi ile intimal hiperplazi azaltılarak lümen daralmasının önlenileceği gösterilmiştir(87). Başka bir çalışmada ise düşük GSH düzeyinin endotel disfonksiyonu ve renal fibrozis ile ilişkilendirilebileceği gösterilmiştir(88).

Çalışmamızda ise GSH ve NAC verilen grupta anlamlı olarak daha iyi endotel bütünlüğü sağlanmıştır. Kontrol grubunda %12,5 olan endotel bütünlüğü NAC grubunda %62,5 ve NAC + GSH grubunda ise 100% oranda sağlanabilmiştir. Anastomoz hattında endotel bütünlüğünün sağlanması daha az trombojenik maruziyet ve daha iyi akım paterninin oluşması ile tromboza daha az yatkın bir anastomoz hattı sağlayabilir. Mikrovasküler anastomoz cerrahisinde anastomoz ilişkili problemlerin çoğunun 7-10 günlük kritik sürenin içerisinde görülmekte ve bu süre endotel iyileşmesi ve bütünlüğünün tamamlandığı süre ile paralellik göstermektedir(89).

Daha geç dönemlerde ise anastomozların yeterli açıklığı sağlayamaması iyileşme sürecinde damar duvarındaki düz kas hücrelerinin istenilenden fazla

çoğalması ve subintimal hiperplazilere neden olmasına bağlanmaktadır. Kalp ve damar cerrahisi disipliniinde daha yaygın ve güncel bir sorun olmaya devam eden geç dönem anastomoz tıkanıklarında neointimal hiperplazi ve hızlanmış ateroskleroza bağlı tıkanıklıklar suçlanmaktadır(90). Çalışmamızın bir limitasyonu olarak da gösterilebilecek olan uzun dönem sonuçlar çalışmamızda incelenmemiştir. Çalışmamızda 7. gün sonundaki endotel katman sayısına göre sınıflandırılan intimal hiperplazi gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. (Tablo 2)

Damarın tunika mediasının büyük bölümünü oluşturan düz kas hücrelerinin mikrovasküler anastomoz hattında nekroza uğraması en yoğun olarak dikişlerin sıkıldığı bölgede görülmektedir. Teknik olarak hatasız yapılmış anastomozda bile tunika mediada distorsiyon görülmektedir. Bu mekanik distorsiyonun minimal düzeyde olması ve anastomoz hattındaki düz kas hücrelerinin proliferasyonu stabil bir anastomoz hattı için önemlidir(91). Düz kas hücre kültüründe NO aracılı hücre ölümünün araştırıldığı bir çalışmada glutatyonun NO aracılı apoptozu azalttığı gösterilmiştir(92). Çalışmamızda medial nekroz NAC + GSH verilen grupta diğer gruplara göre anlamlı olarak ($p<0.05$) daha az görülmüştür. (Tablo 2) Kontrol grubunda deneklerin %50'sinde medial nekroz saptanırken NAC grubunda bu oran %12,5 olmuştur. NAC + GSH grubunda ise medial nekroz görülmemiştir.

Damarın en dış tabakasını oluşturan tunika adventisya tabakası mikrocerrahi teknikler uygulanırken en çok manipüle edilen tabakadır. Damarın fizyolojik ihtiyaçlara cevap vermesini sağlayan kontrol mekanizmalarından olan nervi vasorumlar yine bu tabakada yerleşmişlerdir. Adventisyanın trombojenik ekstraselüler bağ doku liflerini içermesi nedeniyle de anastomoz hattında bulunması istenmemektedir. Bu sebep ile anastomoz hattından kesilerek uzaklaştırılması günümüz mikrocerrahi pratiğinde rutin bir adım olarak yerini almıştır. Anastomoz iyileşme süreçlerinde ise inflamasyonun en yoğun olarak adventisyada görülmesi bu nedenle şaşırtıcı değildir(64).

Travma ile aktive olan adventisyadaki fibroblastlar, perivasküler dokulardan inflamatuvar hücreleri çağırmak için proinflamatuvar sitokinler üretirler(93). Makrofajların bölgeye gelmesi ile proinflamatuvar sitokin yoğunluğu ve reaktif oksijen ürünlerinin miktarı artar. İdeal inflamasyon lokalize ve hafif şiddetli olmalıdır, uzamış

ve şiddetli inflamasyon oksidatif stres aracılı hasarla ilişkilidir. Böyle bir ortamda endotel fonksiyonları bozulacaktır(94).

Glutasyon ve N-Asetil sisteinin akut ve şiddetli inflamatuvar yanıtın olduğu bir hastalık olan septik şoktaki etkileri üzerine yapılan bir klinik çalışmada, yüksek dozda (75mg/kg/gün) GSH ve NAC verildiğinde istatistiksel olarak anlamlı biçimde peroksidatif stresin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca proinflamatuvar belirteçlerde iyileşme ve 10. gün takibinde daha az mortalite kaydedilmiştir(95). Septik şok üzerine yapılan güncel başka bir çalışmada da vitamin C, vitamin E, NAC ve melatoninin oksidatif stresi azaltmada kontrol grubuna göre başarılı olduğunu gösterilebilmiştir.(96).

Periferik arter hastalığında makro ve mikrosirkülasyon değerleri ve ağrısız yürüme mesafesinin araştırıldığı çift kör ve plasebo karşılaştırmalı bir klinik çalışmada intavenöz glutasyon tedavisinin plaseboya göre etkinliği gösterilmiştir. Daha uzun yürüme mesafesi ve daha iyi dolaşım parametrelerinin ölçümü egzersiz sırasında bu hastalarda ortaya çıkan iskemi hasarının GSH aracılığı ile azaltılabileceğini düşündürmüştür(97).

Çalışmamızda adventisyal ve perivasküler inflamasyon cevabının optimal seviyede tutulması için verilen NAC ve GSH ile şiddetli inflamasyon cevabının azaltılması amaçlanmıştır. Kontrol grubunda %50 oranında şiddetli ve %50 oranında orta derecede adventisyal inflamasyon bulunmuştur. NAC grubunda %62,5 oranında orta derecede ve %37,5 oranında hafif inflamasyon görülmüştür. NAC + GSH grubunda ise %12,5 oranında orta derecede, %87,5 oranında hafif adventisyal inflamasyon kaydedilmiştir. NAC ve NAC + GSH gruplarında şiddetli adventisyal inflamasyon izlenmemiştir. NAC + GSH verilen grupta NAC verilen gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük derecede adventisyal inflamasyon bulunmuştur. Adventisyal fibrozis ise gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. (Tablo 2)

Mikrovasküler anastomozlar sırasında adventisya gibi perivasküler dokular da geniş bir diseksiyona maruz kalmaktadırlar. Bu alandaki diseksiyon ise iyileşme sürecinde karşımıza inflamasyon ve fibrozis olarak çıkmaktadır. Genellikle yağ hücrelerinden ve bağ dokusundan oluşan perivasküler dokular damarda fizyolojik hemostasis sağlanmasında görevlidir. Perivasküler adipositler inflamatuvar uyaranlara

cevap verebilen, damar çevresindeki sempatik pleksus ile damar arasındaki iletişimi sağlayan özellikli endokrin hücrelerdir(98).

Perivasküler alanda obezite, metabolik sendrom, diyabet gibi nedenler ile artan inflamasyon kronik dönemde gelişen aterosklerozdan sorumlu tutulmaktadır(99). Pulmoner hipertansiyonda ise perivasküler alanda dengenin inflamasyon lehine bozulduğu izlenmiştir(100). Sistemik Sklerozise bağlı vasküler problemler ve dijital iskemilerde de perivasküler alanda inflamasyonun ve fibrozisin arttığı görülmüştür. Medikal tedaviye yanıtı olmayan olgularda bu fibrotik perivasküler alan ve adventisyanın eksizyonu ile periarteriyel sempatektomi cerrahi tedavi seçeneklerinden biri olarak kullanılmaktadır(101,102).

Çalışmamızda perivasküler inflamasyon NAC verilen grupta ve NAC + GSH verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. NAC ve NAC + GSH grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 2) Anastomoz patensi mevcut olan deneklerde perivasküler inflamasyon istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. (Tablo 3) Kontrol grubunda deneklerin %37,5'inde şiddetli inflamasyon bulguları, %62,5'inde ise orta derecede inflamasyon kaydedildi. NAC grubunda ise deneklerin %12,5'inde şiddetli, %25'inde orta derecede, %62,5'inde ise hafif derecede inflamasyon görüldü. NAC + GSH grubunda ise deneklerin %25'inde orta derecede, geri kalan %75'inde ise hafif derecede perivasküler inflamasyon bulunmuştur.

Çalışmamızda klinik değerlendirme sonuçlarından patens ve klemp süresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır. (Tablo 2) Anastomoz patensi kontrol grubunda %62,5 olarak kaydedildi. NAC ve NAC + GSH gruplarında patens oranı %75 idi.

Çalışmamızın limitasyonu olarak mikrovasküler anastomoz iyileşme safhasının sadece erken döneminde inceleme yapılmış olması nedeniyle daha uzun dönem sonuçlar değerlendirilememiştir. Kullanılan farmakolojik ajanlar tek sefer ve tek doz olarak kullanıldığından doz bağımlı etkileri değerlendirilememiştir. Doku veya kan örneklerinde biyokimyasal belirteçler çalışılmamıştır.

Çalışmamızın limitasyonları olmasına rağmen tüm bu veriler ışığında glutatyon ve N-Asetil sisteinin anastomoz iyileşmesinin akut dönemde önemli katkılar yaptığını söyleyebiliriz.

6. SONUÇ

Mikrovasküler anastomoz klinik pratikte sıklıkla kullanılması ve teknik olarak zorlayıcı olması nedeniyle tariflendiğinden beri üzerine birçok farklı açıdan eğilen klinik ve deneysel çalışmaları yapılmış olan, günümüzde de çalışmaları devam eden bir konudur. Bu konuyla ilgili birçok araştırma yapılmış olmasına rağmen anastomoz iyileşmesinde ve farmakolojik tedavisinde tam anlamıyla anlaşılammış ve görüş birliğine varılamamış noktalar mevcuttur.

Literatürde N-Asetil sisteinin mikrovasküler anastomoz iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerini gösteren az sayıda yayın olsa da glutatyon ve N-Asetil sisteinin mikrovasküler anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmamız bu iki ajanın beraber kullanıldığı ilk çalışmadır ve bu konuda muhtemel daha ileri araştırmalar için çalışmacılara bir fikir vermektedir.

7. KAYNAKÇA

1. Tamai S. History of Microsurgery—from the beginning until the end of the 1970s. *Microsurgery*. 1993 Jan 1;14(1):6–13.
2. Yi HS, Kim BS, Kim YS, Park JH, Kim HI, Chao AH, et al. What Is the Minimum Number of Sutures for Microvascular Anastomosis during Replantation? *Journal of Clinical Medicine* 2023, Vol 12, Page 2891. 2023 Apr 15;12(8):2891.
3. Schlechter B, Guyuron B. A Comparison of Different Suture Techniques for Microvascular Anastomosis. *Ann Plast Surg*. 1994;33(1):28–31.
4. Hong JP (Jp), Song S, Suh HSP. Supermicrosurgery: Principles and applications. *J Surg Oncol*. 2018 Oct 1;118(5):832–9.
5. Hong JP, Pak CJ, Suh HP. Supermicrosurgery in Lower Extremity Reconstruction. *Clin Plast Surg*. 2021 Apr 1;48(2):299–306.
6. Dec W. A meta-analysis of success rates for digit replantation. *Tech Hand Up Extrem Surg*. 2006 Sep;10(3):124–9.
7. Larson J V., Kung TA, Cederna PS, Sears ED, Urbanek MG, Langhals NB. Clinical factors associated with replantation after traumatic major upper extremity amputation. *Plast Reconstr Surg*. 2013 Oct;132(4):911–9.
8. Colen L, Musson A. Preoperative assessment of the peripheral vascular disease patient for free tissue transfers. *J Reconstr Microsurg*. 1987 Mar 8;4(1):1–11.
9. Chen HC, Coskunfirat OK, Özkan Ö, Mardini S, Cigna E, Salgado CJ, et al. Guidelines for the optimization of microsurgery in atherosclerotic patients. *Microsurgery*. 2006;26(5):356–62.
10. Pafitanis G, Kyprianou K, Chen HC. Microvascular anastomosis in atherosclerotic vessels: Technical challenges and recommendations. *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2021 Jul 1;74(7):1633–701.
11. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med*. 1989;6(6):593–7.
12. Kelly GS. Clinical Applications of N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review* ♦. 1998;3(2).
13. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci*. 2003 Jan 1;60(1):6–20.
14. Liu C, Liu H, Li Y, Wu Z, Zhu Y, Wang T, et al. N-acetylcysteine as an anti-oxidant and anti-inflammatory drug and its some clinical applications. *Central European Journal of Immunology*. 2012 Apr;37(1):57–66.
15. Sadowska AM. N-Acetylcysteine mucolysis in the management of chronic obstructive pulmonary disease. *Ther Adv Respir Dis*. 2012;6(3):127–35.

16. Baker WL, Anglade MW, Baker EL, White CM, Kluger J, Coleman CI. Use of N-acetylcysteine to reduce post-cardiothoracic surgery complications: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2009 Mar;35(3):521–7.
17. Millea PJ. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *Am Fam Physician*. 2009 Aug 1;80(3):265–9.
18. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol*. 2003 Oct 15;66(8):1499–503.
19. Wu JH, Batist G. Glutathione and glutathione analogues; Therapeutic potentials. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013 May 1;1830(5):3350–3.
20. Santacroce G, Gentile A, Soriano S, Novelli A, Lenti MV, Di Sabatino A. Glutathione: Pharmacological aspects and implications for clinical use in non-alcoholic fatty liver disease. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Mar 22;10:1124275.
21. Roum JH, Borok Z, McElvaney NG, Grimes GJ, Bokser AD, Buhl R, et al. Glutathione aerosol suppresses lung epithelial surface inflammatory cell-derived oxidants in cystic fibrosis. *J Appl Physiol*. 1999;87(1):438–43.
22. Mavrogenis AF, Markatos K, Saranteas T, Ignatiadis I, Spyridonos S, Bumbasirevic M, et al. The history of microsurgery. *European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*. 2019 Feb 4;29(2):247–54.
23. Carrel A. La technique opératoire des anastomoses vasculaires et de la transplantation des viscères. *Lyon Medical*; 1902.
24. Biemer E, Duspiva W. Klinische Mikrogefäßchirurgie. *Rekonstruktive Mikrogefäßchirurgie*. 1980;53–146.
25. Guthrie CC. Guthrie CC. *Blood Vessel Surgery and its Applications*. New York: Longmans, Green & Co; 1912.
26. Holmgren G. Holmgren G. Some experiences in surgery of otosclerosis. *Acta Otolaryngol*. 1923;5:460–466. In.
27. Carl Olof Nylen. Stahle J. Carl Olof Nylen (1892–1978): Den foerste att til- laempa otomikroskopi. *Sven Oenh-Tidskr*. 2005;3:44.
28. Jacobson JH, Suarez EL. Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum* 1960;11:243–245.
29. Jacobson J, Yasargil M, Donaghy RMP. The development of microsurgical technique and Microvascular Surgery: Report of First Conference, October 6–7, 1966, Mary Fletcher Hospital, Burlington, Vermont. *Stuttgart: Thieme*; 1967:4–14. In.
30. Kleinert HE, Kasdan ML. Anastomosis of digital vessels. *JKy Med Assoc*. 1965;63:106–108.
31. Komatsu S, Tamai S. Successful Replantation Of A Completely Cut-off Thumb. *Plast Reconstr Surg*. 1968;42(4):374–7.
32. Harii K, Ohmori K, Ohmori S. Successful clinical transfer of ten free flaps by microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg*. 1974;53(3):259–70.

33. Daniel RK, Taylor GI. Distant transfer of an island flap by microvascular anastomoses. A clinical technique. *Plast Reconstr Surg.* 1973;52(2):111–7.
34. Research Laboratory for Replantation of Severed Limb, Shanghai Sixth People's Hospital. Free muscle transplantation by microsurgical neurovascular anastomoses: Report of a case. *Chin Med J (Engl.)* 1976;2:47–50.
35. Harii K, Ohmori K, Torii S. Free gracilis muscle transplantation, with microvascular anastomoses for the treatment of facial paralysis. A preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1976;57(2):133–43.
36. Yoshimura M, Imura S, Shimamura K, Yamauchi S, Nomura S. Peroneal flap for reconstruction in the extremity: preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1984;74(3):402–9.
37. Chen Z -W, Yan W. The study and clinical application of the osteocutaneous flap of fibula. *Microsurgery.* 1983;4(1):11–6.
38. Gilbert A, Teot L. The free scapular flap. *Plast Reconstr Surg.* 1982;69(4):601–4.
39. Codina M, Lister G. Early microsurgical reconstruction of complex trauma of the extremities. *Plast Reconstr Surg.* 1986;78(3):285–92.
40. Koshima I, Soeda S. Inferior epigastric artery skin flaps without rectus abdominis muscle. *Br J Plast Surg [Internet].* 1989 [cited 2024 May 31];42(6):645–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2605399/>
41. Jones JW, Gruber SA, Barker JH, Breidenbach WC. Successful hand transplantation. One-year follow-up. Louisville Hand Transplant Team. *N Engl J Med.* 2000 Aug 17;343(7):468–73.
42. Devauchelle B, Badet L, Lengelé B, Morelon E, Testelin S, Michallet M, et al. First human face allograft: early report. *Lancet.* 2006 Jul 15;368(9531):203–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16844489/>
43. Gülgönen A. Replantasyonlar. Dahili ve Cerrahi Acil Hastalıklar, 3. Baskı. Fatih Gençlik Vakfı Matba işletmesi, İstanbul. 24:380392,1979. In.
44. Gülgönen A. Mikrocerrahi ve Üst Ekstremité Replantasyonları, Mezuniyet Sonrası Konferansları, El Cerrahi ve Rekonstrüksiyonu Derneği,3. El Cerrahi ve Rekonstrüksiyonu Kongresi, 1994. In.
45. Numanoğlu A, Aytemiz C. (1983) The determination of the optimal suture number during microarterial anastomosis: An experimental study (Abstract). *Plast Reconstr Surg* 71:587.
46. Radad K, El-Shazly M. Clinical and pathological assessment of different suture techniques for microvascular anastomosis in rat femoral artery. *J Vet Sci.* 2007;8(3):269.
47. Lohman R, Siemionow M, Rockwell WB, Lister GD. Acute adverse effects of blunt adventitial stripping. *Ann Plast Surg.* 1995;35(1):60–5.
48. Lohman R, Siemionow M, Lister G. Advantages of sharp adventitial dissection for microvascular anastomoses. *Ann Plast Surg.* 1998;40(6):577–85.
49. Bayramicli M. Deneysel Mikrocerrahi, Temel Araştırma Doku ve Organ Nakli Modelleri 2005 Argos İletişim, İstanbul.
50. Anthony L. Mescher. Junqueira's Basic Histology, Text and Atlas, 17th Ed. (2023) Chapter 11, McGraw Hill. In: 17th ed. 2023.

51. Jeong WS, Yun J, Lee TJ, Eom JS, Kim EK. Histologic comparison between the internal mammary artery and the deep inferior epigastric artery and clinical implications for microsurgical breast reconstruction. *J Plast Surg Hand Surg.* 2015 Aug 1;49(4):234–7.
52. Witter K, Tonar Z, Schöpfer H. How many Layers has the Adventitia? – Structure of the Arterial Tunica Externa Revisited. *Anat Histol Embryol.* 2017 Apr 1;46(2):110–20.
53. Cabrera Fischer EI, Bia D, Camus JM, Zó Y, De Forteza E, Armentano RL. Adventitia-dependent mechanical properties of brachiocephalic ovine arteries in in vivo and in vitro studies.
54. Hiller E. Basic Principles of Hemostasis. *Modern Hematology.* 2007 Nov 5;327–45.
55. Isogai N, Kamiishi H, Chichibu S. Re-endothelialization stages at the microvascular anastomosis. *Microsurgery.* 1988 Jan 1;9(2):87–92.
56. Servant JM, Ikuta Y, Harada Y. A scanning electron microscope study of microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg.* 1976;57(3):329–34.
57. Baumgartner JR, Spaet TH. Endothelial replacement in rabbit arteries. *Fed Proc.* 1970;9:710–8.
58. O'Neal RM, Jordan GL, Rabin ER, De Bakey ME, Halpert B. Cells grown on isolated intravascular dacron hub: An electron microscopic study. *Exp Mol Pathol.* 1964 Oct 1;3(5):403–12.
59. Nomura Y. The ultra-structure of the pseudointima lining synthetic arterial grafts in the canine aorta with special reference to the origin of the endothelial cell. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1970 Jul 1;11(4):282–91.
60. Florey HW, Greer SJ, Poole JC, Werthessen NT. The Pseudointima Lining Fabric Grafts of the Aorta. *Br J Exp Pathol.* 1961 Jun;42(3):236.
61. Poole JC, Cromwell SB, Benditt EP. Behavior of smooth muscle cells and formation of extracellular structures in the reaction of arterial walls to injury. *Am J Pathol.* 1971 Mar;62(3):391.
62. Morrison AD, Berwick L, Orci L, Winegrad AI. Morphology and metabolism of an aortic intima-media preparation in which an intact endothelium is preserved. *Journal of Clinical Investigation.* 1976;57(3):650.
63. Thurston BJ, Buncke HJ, Chater NL, Weinstein P. A scanning electron microscopy study of microarterial damage and repair. *Plast Reconstr Surg.* 1976;197–203.
64. Lidman D, Daniel RK. The Normal Healing Process of Microvascular Anastomoses. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1981;15(2):103–10.
65. Thomson SR, Gregory MA, Mars M, Natasen J, T. Naicker, L.W. Baker. Morphological aspects of microarterial anastomoses: a comparison of nylon with polydioxanone. *Br J Plast Surg.* 1995 Jan 1;48(3):165–71.
66. Ugurlu AM, Basat SO, Ceran F, Ozalp B, Berkoz O. The effects of limited adventitiectomy on vascular anastomosis: An experimental study in rats. *J Plast Surg Hand Surg.* 2017 Mar 4;51(2):129–35.
67. Sheffner AL. The reduction in vitro in viscosity of mucoprotein solutions by a new mucolytic agent, N-Acetyl-L-Cysteine. *Ann N Y Acad Sci.* 1963;106(2):298–310.

68. Samuni Y, Goldstein S, Dean OM, Berk M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013 Aug 1;1830(8):4117–29.
69. Rushworth GF, Megson IL. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. *Pharmacol Ther*. 2014 Feb 1;141(2):150–9.
70. Kosower NS, Kosower EM. The Glutathione Status of Cells. *Int Rev Cytol*. 1978 Jan 1;54(C):109–60.
71. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med*. 2009 Feb 1;30(1–2):42–59.
72. Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med*. 1999 Nov 1;27(9–10):922–35.
73. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2003 May 1;57(3–4):145–55.
74. Lei XG. In Vivo Antioxidant Role of Glutathione Peroxidase: Evidence from Knockout Mice. *Methods Enzymol*. 2002 Jan 1;347:213–25.
75. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 2002 Oct 1;18(10):872–9.
76. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *J Nutr*. 2004 Mar 1;134(3):489–92.
77. Zender CA, Clancy K, Thuener JE, Mannion K. Surgical outreach and microvascular surgery in developing countries. *Oral Oncol*. 2018 Jun 1;81:69–74.
78. Khouri, Roger K. M.D.; Cooley, Brian C.; Kunselman, Allen R. M.A.; Landis, Richard J. Ph.D.; Yeramian, Patrick M.D., Sc.D., Ph.D.; Ingram, Diane M.P.H.; Natarajan, Nirmala M.Sc.; Benes, Charles O. M.A.; Wallemark, Carl Ph.D. A Prospective Study of Microvascular Free-Flap Surgery and Outcome.
79. Jacobson JH. Microsurgery. *Curr Probl Surg*. 1971 Feb 1;8(2):1–56.
80. Askari M, Fisher C, Weniger FG, Bidic S, Lee WPA. Anticoagulation Therapy in Microsurgery: A Review. *J Hand Surg Am*. 2006 May 1;31(5):836–46.
81. Couteau C, Rem K, Guillier D, Moris V, Revol M, Cristofari S. Improving free-flap survival using intra-operative heparin: Ritualistic practice or evidence-base medicine? A systematic review. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*. 2018 Jun 1;63(3):e1–5.
82. Benazzo M, Casasco M, Bertino G, Occhini A, Casasco A. Early microscopic evidence for endothelial damage in arterial microanastomoses. *Eur J Plast Surg*. 2003 Feb 25;26(1):26–8.
83. Winniford MD, Kennedy PL, Wells PJ, Hillis LD. Potentiation of nitroglycerin-induced coronary dilatation by N-acetylcysteine. *Circulation*. 1986;73:138–42.
84. Chirkov YY, Horowitz JD. N-Acetylcysteine potentiates nitroglycerin-induced reversal of platelet aggregation. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1996;28:375–80.
85. L Pacchiarini, A Tua, G Grignani. In vitro effect of reduced glutathione on platelet function. *Haematologica*. 1996 Nov;81(6).

86. Hayashi K, Pu H, Tian J, et al. HIV-Tat protein induces P-glycoprotein expression in brain microvascular endothelial cells. *J Neurochem.* 2005;93:1231–41.
87. Kavala AA, Kuserli Y, Turkyilmaz S. Effect of N-acetylcysteine on intimal hyperplasia and endothelial proliferation in rabbit carotid artery anastomosis. *Arch Med Sci.* 2019;15(6):1576.
88. Espinosa-Díez C, Miguel V, Vallejo S, Sánchez FJ, Sandoval E, Blanco E, et al. Role of glutathione biosynthesis in endothelial dysfunction and fibrosis. *Redox Biol.* 2018 Apr 1;14:88–99.
89. Nightingale G, Fogdestam I, O'Brien BMC. Scanning electron microscope study of experimental microvascular anastomoses in the rabbit. *Br J Plast Surg.* 1980;33(2):283–98.
90. Harskamp RE, Lopes RD, Baisden CE, De Winter RJ, Alexander JH. Saphenous vein graft failure after coronary artery bypass surgery: Pathophysiology, management, and future directions. *Ann Surg.* 2013 May;257(5):824–33.
91. Baxter TJ, McC. O'brien B, Henderson PN, Bennett RC. The histopathology of small vessels following microvascular repair. *British Journal of Surgery.* 1972 Aug 1;59(8):617–22.
92. Zhao Z, Francis CE, Welch G, Loscalzo J, Ravid K. Reduced glutathione prevents nitric oxide-induced apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research.* 1997 Nov 27;1359(2):143–52.
93. Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2007 Sep 1;75(4):640–8.
94. Joffre J, Hellman J. Oxidative stress and endothelial dysfunction in sepsis and acute inflammation. *Antioxid Redox Signal.* 2021 Nov 20;35(15):1291–307.
95. Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR, Moraldi E, Cantini Q, Novelli G. The Effect of Glutathione and N-Acetylcysteine on Lipoperoxidative Damage in Patients with Early Septic Shock. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.16169903043>. 2012 Dec 14;161(6):1907–11.
96. Aisa-Álvarez A, Pérez-Torres I, Guarner-Lans V, Manzano-Pech L, Cruz-Soto R, Márquez-Velasco R, et al. Randomized Clinical Trial of Antioxidant Therapy Patients with Septic Shock and Organ Dysfunction in the ICU: SOFA Score Reduction by Improvement of the Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant System. *Cells* 2023, Vol 12, Page 1330. 2023 May 6;12(9):1330.
97. Arosio E, De Marchi S, Zannoni M, Prior M, Lechi A. Effect of glutathione infusion on leg arterial circulation, cutaneous microcirculation, and pain-free walking distance in patients with peripheral obstructive arterial disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Mayo Clin Proc.* 2002 Aug;77(8):754-9.
98. Kim HW, Belin de Chantemèle EJ, Weintraub NL. Perivascular Adipocytes in Vascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 Nov 1;39(11):2220–7.
99. Fitzgibbons TP, Czech MP. Epicardial and perivascular adipose tissues and their influence on cardiovascular disease: basic mechanisms and clinical associations. *J Am Heart Assoc.* 2014;3:e000582. doi: 10.1161/JAHA.113.000582.
100. Hu Y, Chi L, Kuebler WM, Goldenberg NM. Perivascular Inflammation in Pulmonary Arterial Hypertension. *Cells* 2020, Vol 9, Page 2338. 2020 Oct 22;9(11):2338.

101. Murata K, Omokawa S, Kobata Y, et al. Long-term follow-up of periarterial sympathectomy for chronic digital ischemia. *J Hand Surg Eur* Vol 2012; 37(8): 788–793.
102. Satteson ES, Chung MP, Chung LS, Chang J. Microvascular hand surgery for digital ischemia in scleroderma. <https://doi.org/10.1177/2397198319863565>. 2019 Jul 29;5(2):130–6.



