

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI



AMNİYON MEMBRANI YARDIMLI SAFRA KANAL ANASTOMOZU

Dr. Vasif MAMMADOV

(UZMANLIK TEZİ)

Tez Yöneticisi: DOÇ. DR. Ahmet BİÇER

İZMİR, 2023

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

AMNİYON MEMBRANI YARDIMLI SAFRA KANAL ANASTOMOZU

Dr. Vasif MAMMADOV

(UZMANLIK TEZİ)

Tez Yöneticisi: DOÇ. DR. Ahmet BİÇER

İZMİR, 2023

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresinde benden desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini her zaman bize aktarmaya çalışarak geleceğimizi şekillendirmemize yardımcı olan, bize yol gösteren Sayın Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Tahir GÜRLER'e,

Bu tezin hazırlanmasında bana destek olan, her zaman bir ağabey gibi arkamda olan, hakkını ödeyemeyeceğim, cerrahi açıdan gelişmemde çok büyük emeği olan Sayın Doç. Dr. Ahmet BİÇER'e

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimleriyle eğitimime katkıda bulunan, desteklerini her zaman bize hissettiren, beraber çalışmış olmaktan hep gurur duyacağım çok saygı değer hocalarım Sayın Prof. Dr. Zeyyat Cüneyt ÖZEK'e, Sayın Prof. Dr. Ufuk BİLKAY'a, Sayın Prof. Dr. Yiğit Özer TİFTİKÇİOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bana asistanlık dönemimde hep ağabeyim gibi davranan, beraber girdiğimiz vakalardan çok şey öğrendiğim, bize hep rol model olan, cerrahi nosyona sahiplenmemizde büyük emeği geçen Sayın Doç. Dr. Ersin GÜR'e,

Tez çalışmamda benden yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL'e, Araştırma Görevlisi Cansın ŞİRİN'e,

Deneyler sırasında bana hep yardımcı olan Vet. Hek. Fahri Emrah SOYLU'a ve Vet. Tek. Özge SARI TURGUT'a,

Birlikte çalışmaktan büyük zevk ve gurur duyduğum asistan ağabeylerim ve kardeşlerime ve tüm klinik hemşire, teknisyen ve personeline,

Büyük fedakarlıkta bulunarak beni bugünlere getiren, hayatımın her aşamasında bana destek olan aileme

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	3
ÖZET	6
TABLolar DİZİNİ	7
ŞEKİLLER DİZİNİ	8
KISALTMALAR LİSTESİ.....	9
1. GİRİŞ.....	10
2. GENEL BİLGİLER.....	12
2.1.1. İnsanda karaciğer fizyolojisi	12
2.1.2. İnsanda safra kanal sistemi ve fizyolojisi.....	12
2.2.1. Karaciğer naklinin tarihi.....	13
2.2.2.1. Sıçanların deneysel karaciğer nakil modellerinde kullanılması.....	13
2.2.2.2. Sıçan hepatobiliyer sisteminin anatomisi ve fizyolojisi	14
2.2.2.3. Sıçan karaciğer nakil modelleri.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. Etik Kurul Onayı	22
3.2. Deney Hayvanları ve Deney Modelinin Yapıldığı Ortam.....	22
3.3. Kullanılan Gereçler	22
3.3.1. Kimyasallar.....	22
3.3.2. Alet ve Cihazlar	23
3.3.3. Amnion Membranının Hazırlanması.....	24
3.4. Yöntem	26
3.4.1. Deney Grupları	26
3.4.2. Cerrahi model.....	27
3.4.3. Histolojik Doku Takip Yöntemi ve Histolojik Analizler	32
4. BULGULAR.....	35
4.1. Postoperatif izlem dönemine ait bulgular.....	35
4.2. Histolojik Bulgular	35

4.2.1. Hematoksilen- Eosin Boyama Mikroskop Görüntüleri.....	35
4.2.2. Mikroskopik Değerlendirme	36
4.2.2.1. Kontrol Grubu:.....	36
4.2.2.2. Anastomoz Grubu:.....	36
4.2.2.3. Deney Grubu	36
4.3. Postop Yedinci Gün Cerrahi Eksplorasyon Bulguları	37
4.3.1. Kontrol grubu	37
4.3.2. Anastomoz grubu.....	37
4.3.3. Deney grubu (Anastomoz + Amniyon membranı):	39
4.4. Çalışmanın istatistik analizi	42
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ.....	50
7.ABSTRACT	51
8. KAYNAKÇA	52
9. EKLER.....	55

ÖZET

Karaciğer naklinin gerçekleştirilebilmesi ile birlikte siroz karaciğer yetmezliğinin ölümcül son evresi olmaktan çıkmıştır. Karaciğer nakil cerrahisi yaygınlaştıkça onunla ilgili çeşitli komplikasyonlar da gelişmiştir. Bunlardan en yaygın olarak görülenlerden biri de safra kanal anastomozuyla ilgili gelişen komplikasyonlardır. Bu komplikasyonlar hem ek morbiditeye sebep olmakta hem de hastanın hastanede yatış süresini uzatarak karaciğer nakli sonrası iyileşme ve rehabilitasyon sürecini sekteye uğratmaktadır.

Çalışmamızın amacı karaciğer nakli başta olmakla safra kanal anastomozu gerektirecek birçok farklı klinik senaryoda kullanılabilecek basit bir cerrahi teknik ortaya koymaktır. Bu amaç doğrultusunda 30 adet Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılarak bir deney tasarlandı. Bunlardan 8'i kontrol grubunda olarak sadece ortak safra kanalı diseksiyonu yapılarak kanal ortaya konmuş, sonrasında ek cerrahi girişim yapılmadan batın ve deri kapatılmıştır. 11 hayvan anastomoz grubuna alınarak ortak safra kanalı en geniş çaplı yerinden kesildikten sonra mikrocerrahi tekniğine uygun olarak uç-uca sütür ile anastomoz gerçekleştirilmiştir. 11 hayvan ise deney grubuna alınarak ortak safra kanalı kesildikten sonra uç-uca mikrocerrahi yöntemine uygun olarak sütür ile anastomoz edildikten sonra etrafına amniyon membranı sarılmıştır. Amniyon membranının anastomoz patensi üzerine etkilerini ortaya koymak amaçlı postop birinci haftada genel anestezi altında anastomoz distalinden kontrast madde verilerek radyolojik olarak anastomoz patensi gösterilmiş ve karaciğerdeki histolojik değişiklikleri göstermek amaçlı sıçan karaciğeri rezeke edilerek histolojik incelemeye verilmiştir.

Sonuçta postop birinci haftada gerçekleştirilmiş olan eksplorasyon neticesinde makroskopik ve radyolojik olarak anastomoz ve deney grubu arasında fark saptanmamasına rağmen, mikroskopik olarak deney grubuna ait karaciğer materyallerinde total Verhofstadt skorunda anlamlı derecede bir fark saptanmıştır. Buna göre amniyon sarılı safra anastomozu yapılan grubun karaciğer kesitlerinde doku enflamasyonu anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Çalışmamız klinik olarak önemli sonuçları olmasına rağmen literatürde ihmal edilen bir alana ışık tutmaktadır. Deney modelimizin gelecekte bu alanda yapılacak olan çalışmalara öncülük etmesi ve literatürdeki boşluğu doldurarak klinik uygulamaların önünü açacağı düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Safra kanalları; Karaciğer nakli; Amniyon; Safra; Fibrozis

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Işık mikroskobu için doku takip şeması	32
Tablo 2: Hematoksilen&Eozin boyama protokolü.....	34
Tablo 3: Çalışmanın histolojik ve makroskopik bulguları	42



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Sıçan hepatobiliyer sisteminin makroskopik anatomisi	14
Şekil 2:Safra kanalının duodenuma implantasyonu	16
Şekil 3:PV anastomozu için cuff'ın hazırlanması	17
Şekil 4:“Cuff tekniği” ile PV anastomozu	18
Şekil 5:OKT’de kullanılan ven, arter ve OSK onarım tekniklerinin şematik görünümü	19
Şekil 6:İnhaler olarak indüksiyon anestezisinin verildiği gaz odası	22
Şekil 7:Sıçan kafesleri	22
Şekil 8:Mikrocerrahi aletler seti ve kullanılan suture materyalleri	25
Şekil 9:DeneySEL mikrocerrahi aletleri	25
Şekil 10:Lup	25
Şekil 11:Operasyon salonunun genel görünüşü	26
Şekil 12:Karın bölgesi tıraş edildikten sonra yapılan cerrahi çizim	27
Şekil 13: Deri insizyonu sonrası ortaya çıkan karın kasları	28
Şekil 14:Ortak safra kanalının küt diseksiyonla ekspozisyonu	28
Şekil 15:Ortak safra kanalının mikroskop altındaki görüntüsü	29
Şekil 16:Ortak safra kanal anastomozu	29
Şekil 17:Anastomoz etrafına sarılmış amniyon membranı	30
Şekil 18:Amniyon membranına atılan tutucu sutureler	30
Şekil 19:Deri sutureasyonu	31
Şekil 20:Ortak safra kanalı kanülasyonu	32
Şekil 21:Deney gruplarının farklı büyütmelemlerde Hematoksilen&Eozin boyamaları	35
Şekil 22:İyileşmiş deri sutureasyonu.....	37
Şekil 23:Kontrol grubu postop normal makroskopik görünüm	37
Şekil 24:Ortak safra kanalının fibrozisi	38
Şekil 25:Anastomoz kaçığına bağlı batıncı kontrast madde görüntüsü	38
Şekil 26: Normal görünümde karaciğer ve ortak safra kanalı	39
Şekil 27: Ortak safra kanalı ve karaciğerde fibrotik görünüm	40
Şekil 28: Patent ortak safra kanal anastomozu radyolojik görüntüsü	40
Şekil 29:Tıkanmış ortak safra kanalı anastomozunun radyolojik görüntüsü	41
Şekil 30: Total Verhofstadt skoru analizi	44

KISALTMALAR LİSTESİ

OKT: Ortotopik karaciğer transplantasyonu

HA: Hepatik arter

SHVC: Suprahepatik vena kava

IHVC: Infrahepatik vena kava

PV: Portal ven

OSK: Ortak safra kanalı

PTHK: Perkutantranshepatikkolanjiografi

ERCP: Endoskopik retrogradkolanjiopankreatikografi

ark. : Arkadaşları

hd: Hepatik duktus

CP: Kaudat lobun kaudat proses

PP : Kaudat lobun papiller prosesi

eso : Özefagus

pc : pankreas

pd : pankreatik duktus

duo : duodenum

dup : duodenal papilla

RML : Sağ medial lob

RLL : Sağ lateral lob

LLL : Sol lateral lob

LML: Sol medial lob

a.gd: arteriagastroduodenalis

a.hes: arteriahepaticasinistra

a.hed:arteriahepaticadextra

a.he: arteriahepaticacommunis

a.hep: arteriahepaticapropria

1. GİRİŞ

Safra kavramı hakkında bilgilerimiz antik Yunan zamanlarına ve Hipokrat'a dayanmaktadır. O zamanlar hakim olan hümoral patoloji teorisine göre safranın içinde bulunduğu dört temel sıvı arasındaki dengesizlikler hastalıkların oluşmasına sebebiyet vermektedir.(1) Bu görüşün uzun asırlar boyunca batı tıbbında hakim olmasının yanısıra, safra hakkındaki bilgilerimiz de evrilmiştir. 19. Yüzyılda Carl von Rokitansky safranın karaciğerde üretildiğini, safra kesesinde depolandığını ve bağırsaklarda yağların emülsifikasyonundan sorumlu olduğunu tarif etmiştir. Sıçanların anatomik ve fizyolojik çalışmalar için deney hayvan modeli olarak kullanılması da yine 19. Yüzyıla dayanmaktadır. O zamanlarda Claude Bernard ilk kez karaciğerin sadece safra üretmekten değil aynı zamanda iç salgılar aracılığıyla kan glüköz düzeyinin regülasyonundan da sorumlu olduğunu ileri sürmüştür.(2) 20. Yüzyılın başlarındaysa sıçanlardaki deneyler sonucu safra kanal sisteminin anatomi ve fizyolojisi ortaya konmuştur. Daha sonrasında sıçanlarda gerçekleştirilen karaciğer nakli ile beraber sıçan karaciğer ve safra kanal anatomi ve fizyoloji çalışmaları büyük ivme kazanmıştır. Bu sadece cerrahi tekniklerin gelişmesine değil, aynı zamanda immünsüpresif ilaçların geliştirilmesi ve test edilmesi de dahil olmakla tıbbın başka alanlarının da ilerlemesine yol açmıştır.

Sıçan karaciğer ve safra kanal yapısının insaninkine benzerliği, sıçanların ucuz ve kolay elde edilebilirliği, majör cerrahi sonrası hayatta kalma oranlarının diğer deney hayvanlarına göre daha yüksek olmasını göz önünde bulundurursak, sıçanların karaciğer nakil modelleri ve safra kanal anastomoz modelleri çalışmalarının merkezinde yer alan deney hayvanı olması hiç de şaşırtıcı değildir.

Karaciğerin en önemli ekzokrin salgısı olan safranın bağırsaklara iletilmesi safra kanalları aracılığıyla gerçekleşmektedir. Çeşitli karaciğer nakil modellerinde safranın karaciğerden bağırsaklara atılabilmesi için safra kanal anastomozları gerçekleştirilmektedir. Safra kanallarının çapının küçük olması, safranın safra kanallarında düşük akım hızıyla akması nedeniyle postoperatif dönemde safra kanal anastomozlarıyla ilgili bir sıra komplikasyonlarla karşılaşmaktadır. Bu nedenle safra kanal anastomozu patensini artıracak yöntemlerin karaciğer nakil cerrahisi başta olmakla postoperatif dönemdeki komplikasyonları azaltacağı, hastaların hastanede yatış süresini kısaltacağı, ameliyat sonrası bakımla ilgili sağlık giderlerinin azaltacağı aşıkardır.

Amniyon membranı plastik cerrahide ve diğer tıp dallarında uzun yıllardan beridir anti-inflamatuar, anti-fibrotik özellikleri, büyüme faktörleriyle zengin olması nedenli araştırma konusu olmuştur.(3) Daha önce kliniğimizde damar anastomozu patensi üzerine

etkileri araştırılmış, yüz güldürücü sonuçlar elde edilmesi sonucunda amniyon membranının safra kanal anastomozu patensi üzerine etkilerinin araştırılmasına karar verilmiştir.(4)

Çalışmamızda sıçan ortak safra kanal anastomozu etrafına amniyon membranının rulo şeklinde sarılmasının anastomoz patensine etkisi araştırılmıştır. Deneyden bir hafta sonra genel anestezi altında operasyon bölgesi tekrar açılarak ortak safra kanalı makroskopik olarak incelenmiş, ortak safra kanalına radyopak madde verilerek anastomozun patensi radyolojik olarak değerlendirilmiştir. Sıçanın karaciğeri histolojik inceleme amaçlı alındıktan sonra sakrifiye edilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.1. İnsanda karaciğer fizyolojisi

Karaciğer insanın en büyük iç organı olmakla birlikte hem hormon senteziyle endokrin işlev, hem de hepatositlerden sürekli olarak safra salgılamasıyla ekzokrin salgı bezi işlevi görmektedir. Bu iki işlevi de yerine getirebilmek için özelleşmiş hücreleri mevcuttur. Bunun yanı sıra karaciğerin ilaç detoksifikasyonu ve metabolizması, vitamin metabolizmasında, kan şekeri düzeyinin düzenlenmesi, yağ metabolizması gibi süreçlerde merkezi rolü vardır. Karaciğerin işlevsel birimi lobüldür. Karaciğer lobülleri altıgen şeklinde birimler olarak dizilmiştir. Bu altıgenlerin köşelerini portal triadlar oluşturmakla, merkezinde santral ven yer almaktadır. Portal triad yapısı hepatik arter, portal ven ve hepatik safra kanalını içermektedir. Hepatik arter ve portal venden gelen kan akımı altıgen yapısının köşelerinden merkeze doğru, safra akımı ise merkezden altıgenin köşelerine doğru olmaktadır.(5) Hepatositler bu altıgen konfigürasyonda yerleşim yerlerine göre üç zona ayrılmıştır. Birinci zondaki hepatositler periportal alanlarda yerleşerek en iyi şekilde perfüze olmaktadır. Üçüncü zondaki hepatositler ise altıgen lobül yapısının merkezine yakın yerde yerleşmektedir. Birinci ve üçüncü zon hepatositler arasındaysa ikinci zon yerleşmektedir.(6)

2.1.2. İnsanda safra kanal sistemi ve fizyolojisi

Safra insanda karaciğerde sentezlenmekte, hepatik safra kanallarıyla safra kesesine taşınarak depolanmakta ve duodenuma pankreatik kanal ile beraber ampulla Vateri aracılığıyla boşalmaktadır. Safra kanalları karaciğerde çok sayıda küçük kanalikül şeklinde başlayarak gittikçe birleşmekte, en sonunda sağ ve sol hepatik kanalı oluşturmakta, sonrasında onlar da birleşerek ortak hepatik kanalı oluşturmaktadır. Ortak hepatik kanal safra kesesinden safranın boşalmasını sağlayan sistik kanal ile birleşmekte ve koledok kanalını oluşturmaktadır. Koledok kanalının ucunda safra salınımını fiziksel olarak denetleyen bir sfinkter mekanizması bulunur (Oddi sfinkteri). Eğer Oddi sfinkteri kasılıysa safra retrograd olarak geri giderek safra kesesinde birikmektedir.(7)

Duodenuma boşalan safra emulsifikasyon ile yağların sindiriminde, yağ ve yağda çözünen vitaminlerin emiliminde, bilirubin ve kolesterolün atılmasında, alkali içeriği sayesinde mideden gelen asidik pH'ın nötralize edilmesinde görev almaktadır.

Safra %95'i su olmakla birlikte, suda çözülmüş halde bulunan safra asitleri, bilirubin, fosfolipid, kolesterol, aminoasit, enzimler, vitamin, eksojen ilaçlar ve çevresel toksinler içermektedir. Safranın içeriğini oluşturan yapı taşlarının konsantrasyonunun değişmesi safranın akışkanlığının değişmesine sebep olmaktadır. Safra çamurunun

oluşmasının mekanizması tam olarak aydınlatılmamışsa da safradaki kolesterol içeriğinin artması ve fosfolipid içeriğinin azalmasının etken olabileceği düşünülmektedir.

2.2.1. Karaciğer naklinin tarihi

Çeşitli sebeplerden dolayı meydana gelen karaciğer yetmezliğinin son evresi olan sirozlu hastalara karaciğer nakli uygulanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde erişkinlerde karaciğer naklinin en sık sebebi non-alkolik steatohepatozdur. Çocuklarda ise en sık sebebi primer biliyer sirozdur. İlk kez 1958’de Francis Moore köpeklerde karaciğer naklini tanımladıktan sonra, 1963’te Starzl insanda karaciğer naklini gerçekleştirmiştir. Lakin karaciğer nakli yapılan ilk beş hastadan hiçbiri 23 günden fazla yaşayamamıştır. Daha sonrasında anti-lenfositik serum, siklosporin ve takrolimus gibi immünsüpresif ajanların kullanımıyla beraber başarılı karaciğer nakilleri gerçekleştirilmiştir.(8) Günümüzde dünyada birçok ülkede karaciğer yetmezliğinin etkili tedavi seçeneği olarak yaygın şekilde uygulanmaktadır. Karaciğer nakli hem bütün organ şeklinde, hem de parsiyel olarak transplante edilebilir.(9) Parsiyel transplantasyon hem canlı donörden, hem de kadavradan iki farklı kişiye nakil için olanak tanımaktadır.

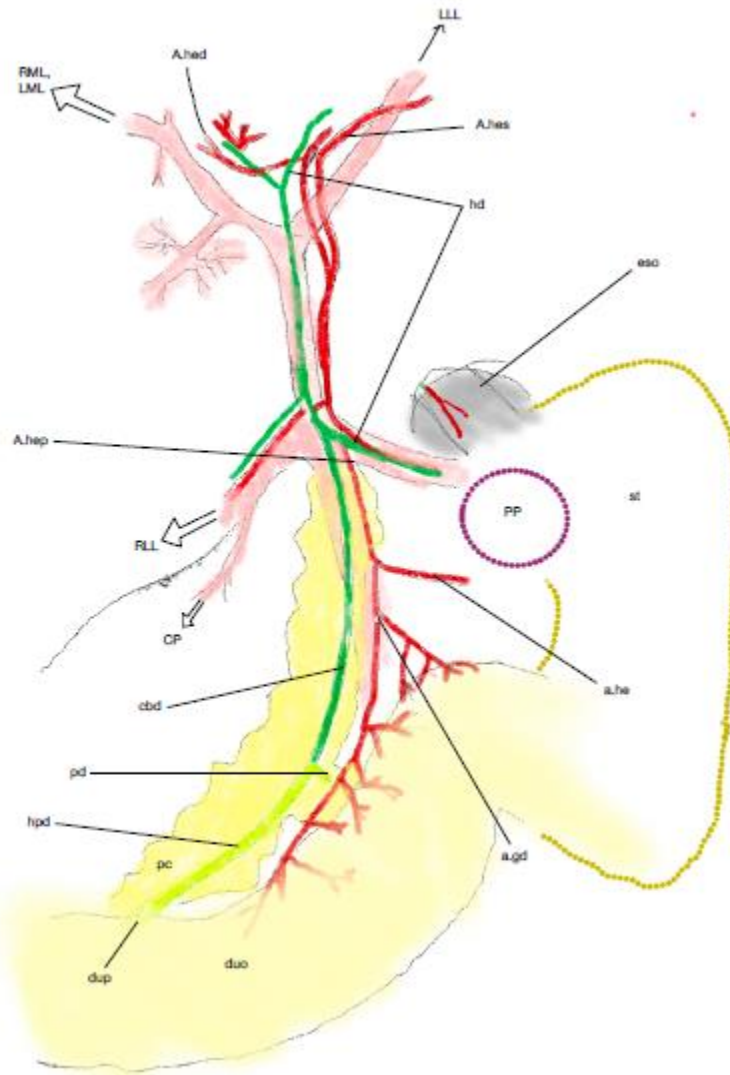
2.2.2.1. Sıçanların deneysel karaciğer nakil modellerinde kullanılması

Deneysel karaciğer nakil modeli ilk kez köpeklerde gerçekleştirildikten sonra insanda da uygulanmasına rağmen sıçanlarda 1973 yılına kadar yapılamadı. Bunun sebeplerini sıralayacak olursak sıçanların görece köpek ve domuz gibi memelilere göre daha küçük boyutta olması ve bundan kaynaklı anhepatik periyoda toleransının düşük olması sayılabilir. Mikrocerrahi tekniğinin gelişmesi, önceki başarısız karaciğer nakil modellerinden çıkarılan dersler ve sıçan hemodinamik dolaşımının daha iyi kavranması ile beraber sıçanlarda da karaciğer nakil modelleri gerçekleştirilmeğe başlanmıştır.

Hem insanla sıçan fizyolojisi arasındaki büyük benzerlik, hem de sıçanların kolayca üretilbilir ve ucuz olması nedeni karaciğer nakil modelleri için deneysel hayvan çalışmaları tasarlanmasında sıçanlara yönelimin artmasına sebep olmuştur. Aynı soydan gelen sıçanların kendi aralarında çiftleştirilmesi sonucu elde edilen hayvanlar arasında sinjenik nakillerin gerçekleştirilebilmesi immünsüpresif ajanlar kullanılmadan cerrahi tekniklerin araştırılmasına olanak tanımaktadır. Görece küçük damar yapılarında çalışıldığı için mikrocerrahi pratiğinin gelişmesi açısından deneyi gerçekleştiren cerrahların becerilerinin geliştirilmesine fayda sağlamaktadır. Allojenik nakil modellerindeyse, immünsüpresif ajanların etkilerinin araştırılması yapılabilmektedir. Tüm bunlar ister cerrahi teknik, isterse de immünmodülatör ajanların araştırılması için sıçanları uygun deney hayvanı yapmaktadır.

2.2.2.2. Sıçan hepatobiliyer sisteminin anatomisi ve fizyolojisi

Sıçan karaciğeri beş lobdan oluşmaktadır: sağ lateral, sağ medial, sol lateral, sol medial ve kaudat loblar. Sıçanda safra kesesi ve sistik kanal tamamen bulunmaz.(10) Portal ven ve hepatik arter dalları karaciğer içerisinde büyük oranda safra kanallarını takip eder. Hepatik kanallar birleşerek en sonunda ekstrahepatik ortak safra kanalını oluşturarak tüm safra bu kanal aracılığıyla duodenuma boşalır. Ortak safra kanalının etrafını çoklu sayıda pankreas lobları sarar.(10) Pankreatik kanal duktusları duodenum duvarına çok uzak yerden dallanır ve uzun bir hepatikopankreatik duktus mevcuttur.(11) (Şekil 1)



Şekil 1:Sıçan hepatobiliyer sisteminin makroskobik anatomisi

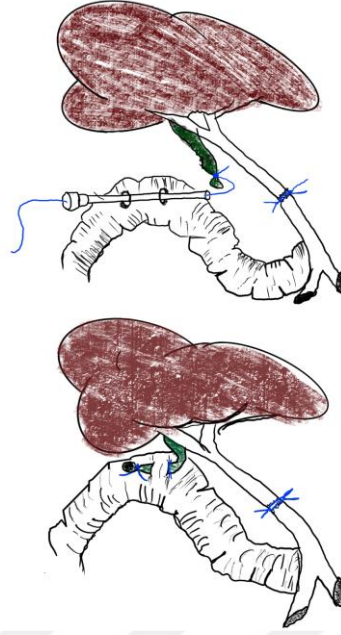
(Kısaltmalar için ilgili bölüme bakınız)

İnsanda karaciğerin dolaşımının %75'i portal ven, %25'i ise hepatik arter aracılığıyla sağlanmaktadır. Sıçanda ise portal ven ve hepatik arterin karaciğer dolaşımına katkısı %50'dir. Sıçanda ortak safra kanalının dolaşımını büyük oranda hepatik arter dalları ve etrafındaki pankreas lobları sağlamaktadır. Hepatik arter revaskülarizasyonu yapılmayan karaciğer nakil modellerinde ortak safra kanalının tamamen diseke edilerek etrafını saran pankreastan serbestlenmesi onun dolaşımını bozarak safra kanal rekonstrüksiyon başarısını düşürdüğü bilinmektedir.(10) İnsandan farklı olarak sıçanlarda İnfierior Vena Cava (IVC) karaciğerin içerisinden geçmektedir. Karaciğerin venöz dönüşünü sağlayan hepatik venler de karaciğerin içerisinden geçen IVC'ye dökülmektedir.(12) Karaciğeri üst sınırından terk eden Suprahepatik Vena Cava (SHVC) çok kısa seyrettikten sonra diyaframı delerek toraks boşluğuna geçmektedir. (13)

2.2.2.3. Sıçan karaciğer nakil modelleri

Sıçan karaciğer nakil modelleri beş yapının başarılı şekilde onarılmasına dayanmaktadır: SHVC, İnfrahepatik Vena Cava (IHVC), portal ven(PV), ortak safra kanalı (OSK), hepatik arter (HA). Bunlardan sadece hepatik arter rekonstrükte edilmeyebilir, ama diğer üç venin ve bir adet ortak safra kanalının rekonstrüksiyonu elzemdir.(13) Karaciğerin kan akımının yarısı portal venden karşılandığı için sıçanlar hepatik arter rekonstrüksiyonu yapılmaksızın gerçekleştirilen nakilleri tolere edebilmektedirler. Ama hepatik arter rekonstrüksiyonunun sıçanda karaciğer nakli sonrası görülebilecek komplikasyonları azalttığı, greft sağkalımını arttırdığı, hayvanın sağkalımını arttırdığı bilinmektedir. Greft ve hayvan sağkalımı üzerine etkilerinden ziyade ortak safra kanalının dolaşımından da sorumludur.(14) OSK rekonstrüksiyonunun karaciğer naklinin "Aşıl topuğu" olduğunu ve gerçekleştirilen karaciğer nakilleri sonrası en sık meydana gelen komplikasyonların safra kanalıyla ilgili olduğunu göz önünde bulundurursak, HA rekonstrüksiyonunun büyük öneme sahip olduğunu görmekteyiz.

İlk olarak 1973 yılında Lee ve ark. sıçanda başarılı karaciğer naklini gerçekleştirdiler. Bu modelde tüm anastomozlar mikrocerrahi sütür tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Yaşanabilecek hemodinamik sorunları önlemek amaçlı ekstrakorporeal porto-juguler şant kullanılmıştır. Arter rekonstrüksiyonu amaçlı donör sıçanın aortası alıcı sıçanın aortasına uç-yan anastomoz tekniği kullanılarak anastomoz edilmiştir. Donör safra kanalı ise duodenuma iğne yardımıyla implante edilmiştir. (Şekil 2) Bildirilen ilk sıçan karaciğer nakli modelinde splanknik konjesyonu önlemek amaçlı yapılan şantın elzem olduğu, şant trombozunun, hava embolisinin, kanamanın fatal komplikasyonlar olduğu bildirilmiştir.(15)



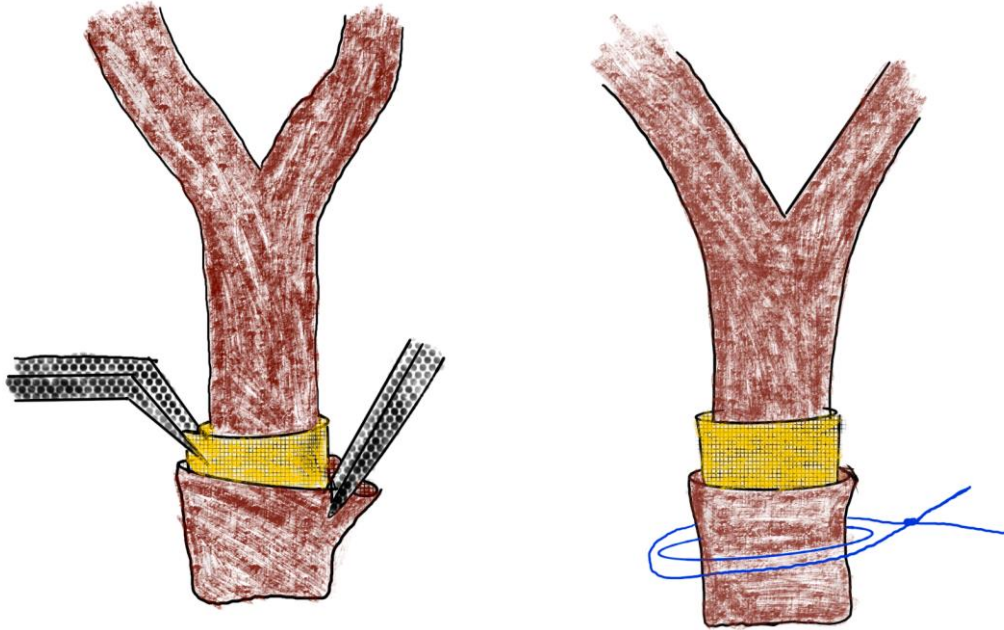
Şekil 2:Safra kanalının duodenuma implantasyonu

Sıçanın anhepatik döneme olan toleransının düşük olduğu, hem de uzun süren splanknik konjesyonun fatal sonuçlar doğurduğu bilinmektedir. İlk tarif edilen sıçanda ortotopik karaciğer transplantasyon (OKT) modelindeki tüm anastomozların mikrocerrahi sütür tekniğine uygun olarak yapıldığını dikkate alırsak, başarılı anastomoz tekniğine sahip cerrahlar için bile tekniğin uygulanabilmesi bir hayli zordur. Sıçanın anhepatik periyodu 25 dk. gibi çok kısa bir süreliğine tolere edebildiği literatürde bir çok yayında bildirilmiştir.(13,16,17) Bu sadece mikrocerrahi sütür ile damar anastomozu uygulayan bir cerrahın PV, SHVC, IHVC anastomozlarını 25 dakikayı geçmeyecek şekilde gerçekleştirmesi gerektiği anlamına gelmektedir. Çok tecrübeli mikrocerrahlar için bile bu süre oldukça zorlayıcıdır. Bu süreyi uzatmak amaçlı bildirilen ilk OKT modelinde portojuguler şant kullanılmıştır.(16)

Lee 1975 yılında iki yıl önceki tekniğini modifiye ederek daha kolay uygulanabilir bir OKT modeli sunmuştur. Bu modelde karaciğer rearterializasyonunu elimine etmiştir, greft implantasyonu zamanı önceki tekniğinden farklı olarak IHVC anastomozundan önce PV anastomozunu gerçekleştirerek portosistemik şant gerekliliğini ortadan kaldırmıştır.(18) PV anastomozu daha erken yapıldığı için hem karaciğer perfüzyonu daha erken sağlanarak anhepatik zamanı kısaltmış, hem de portosistemik şantı gereksiz kılmıştır. Bu şekilde

operasyon süresini azaltarak uzun dönem sağkalımı ve ameliyat başarısını arttırmış, hem de cerrahlar için daha kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir teknik tarifi yapmıştır.

Kamada ve ark. 1979 yılında PV onarımı için manşet tekniğini (Şekil 3) ve OSK onarımı için teleskop tekniğini tanımlayarak karaciğer nakil modelini bir hayli basitleştirerek bu operasyonu daha uygulanabilir kılmıştır. SHVC ve IHVC için ise mikrocerrahi kontinü dikiş tekniğini kullanmıştır. Rearterializasyon yapılmamıştır.(14)

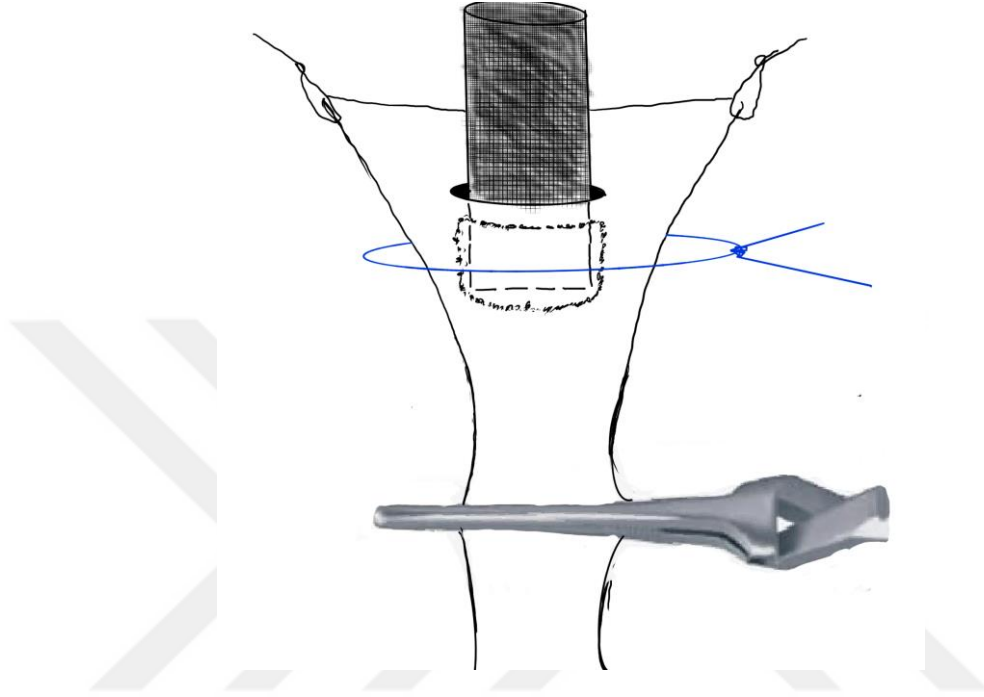


Şekil 3:PV anastomozu için manşetin hazırlanması

Manşet tekniğinde 0.4 cm uzunluğunda polietilen tüp (6FG, dış çapı 2.1 mm, Portex Ltd.) verici PV'e dışarıdan üzerine geçirilerek damar ucu evertte edilir. Evertte edilen damar etrafına sirküferensiyel 6/0 ipek sütün geçirilerek sabitlenir, bu yolla donör PV manşet hazırlığı yapılmış olur. Donör PV manşeti alıcı PV'nin ön duvarından açılan venotomi insizyonundan alıcı portal venin içerisine geçirilerek etrafı tekrardan 6/0 ipek sütün ile sirküferensiyel olarak sarılarak sabitlenir.

Damarın ucu manşet üzerine evertte edilerek damar anastomozu sırasında manşetin alıcı damar endoteli ile temasının önlenmesi amaçlanmaktadır. Bildiğimiz üzere koagülasyon kaskadının inhibisyonu için pürüzsüz bir endotel devamlılığının sağlanması elzemdir. Bu şekilde evertte edilen damar segmentinin endoteli alıcı PV endoteli ile temas edecek şekilde yerleştirildiği

için pıhtılaşma önlenmiş olur. Bir diğer önemli nokta PV anastomozu zamanı hava embolisinin önlenmesi amaçlı lümenin serum fizyolojik (SF) ile yıkanması gereklidir.(16,17) Aksi takdirde karaciğerde lobe nekroz gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilirdiği bildirilmiştir.(19) Bu yöntemle Kamada ve ark. PV anastomozu süresini dört dakikaya düşürdüklerini bildirmişlerdir.

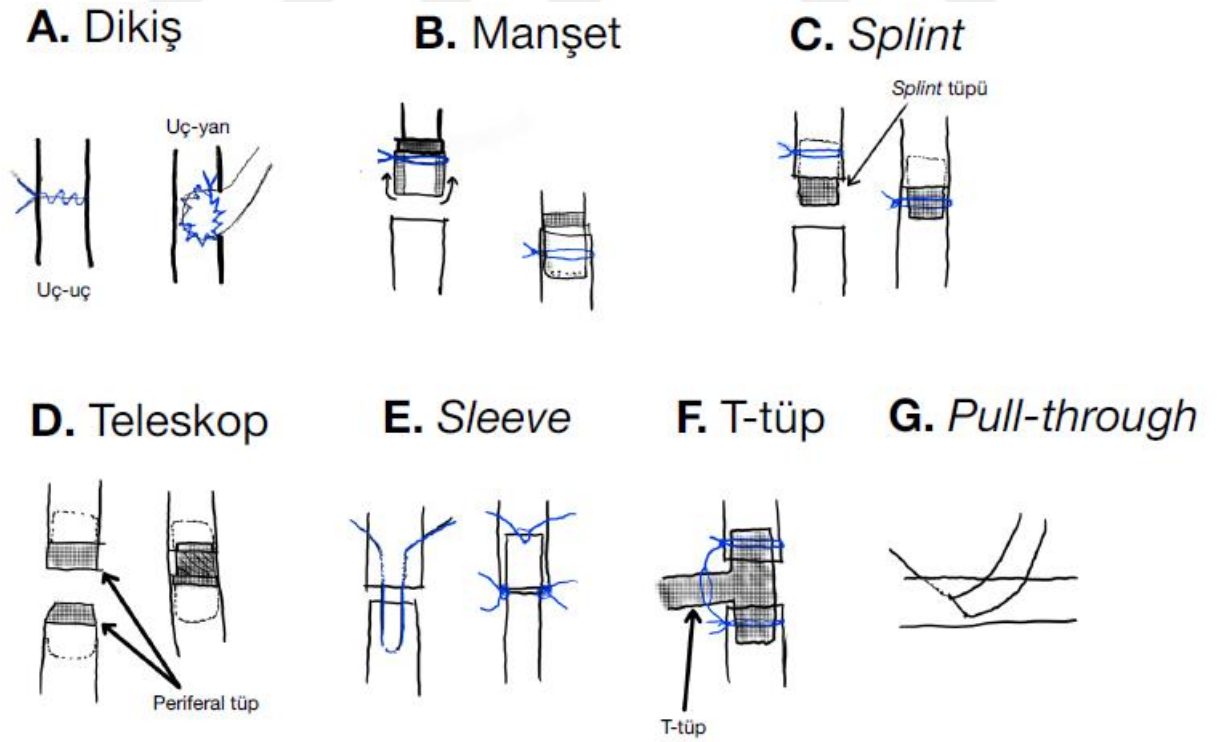


Şekil 4: Manşet tekniği ile PV anastomozu

Kamada ve ark. 1983 yılında eski tekniğini modifiye ederek IHVC rekonstrüksiyonu amacıyla da manşet tekniğini kullanmıştır. “İki manşet” tekniği diye isimlendirilen bu yöntem sonradan birçok deneysel karaciğer nakil modeli için temel oluşturmuştur. Anastomoz sırasında manşet kullanımı anastomoz süresini azaltarak, anhepatik periyodu belirgin şekilde azaltmış, sıçanın OKT sırasında hemodinamik kollapsa girerek kaybedilmesini azaltmış, mikrocerrahi tecrübesi ve becerisi az olan uygulayıcılar için de karaciğer naklini gerçekleştirilebilir bir cerrahi model haline getirmiştir. Tüm bu teknik basitleştirmelerle birlikte sıçanda OKT modelinin öğrenilerek öngörülebilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilebilmesi için bu cerrahinin yaklaşık 50 kez yapılması gerektiği bildirilmiştir.(13)

Miyata ve ark. 1980 yılında “Üç manşet” tekniği ile OKT gerçekleştirdi. Bu zaman PV ve IHVC yanı sıra, SHVC da manşet ile rekonstrükte edildi. Manşet kullanımına bağlı olası trombozu engellemek amaçlı manşet boyutunun iyi ayarlanması gerekmektedir, çok uzun

veya çok kısa manşetler tromboza sebep olabileceği için manşet yerleştirildikten sonra uçları tıraşlanarak (*trimming*) ayarlanmalıdır.(19) SHVC karaciğeri terk ettikten sonra diyaframı delerek toraks boşluğuna geçtiği için çoğu zaman bu durumda manşet yerleştirilebilmesi için yeterli segment bulunmamaktadır. Bu durumda SHVC donörde toraks içine kadar takip edilerek manşet yerleştirilmesine izin verecek şekilde daha uzun damar segmenti elde edilmeğe çalışılmaktadır.(17) Bir diğer zorlayıcı nokta ise SHVC toraks içine kadar takip edilince damar duvarı frajilleşmekte ve damar çapı daralmaktadır.(16) Lakin bu zaman karaciğer alıcıya yerleştirilip SHVC onarımı yapıldığı zaman damarda kıvrılmaya sebep olabilmektedir. Bu nedenle SHVC'nin manşet yöntemi ile rekonstrüksiyonu literatürde tartışma konusu olarak kalmıştır. Bazı araştırmacılar manşet yöntemi ile SHVC onarımı yapsalar da, bir çok diğer araştırmacı SHVC onarımı için mikrosütür yöntemini tercih etmiştir.(9) Her ne kadar manşet kullanımı damar anastomoz süresini kısaltsa da, bu yöntemin kullanılması da belli bir öğrenme eğrisine sahiptir. Manşetin düzgün boyutta yerleştirilmesi, kullanılması ve bundan kaynaklanabilecek komplikasyonların önüne geçilebilmesi tecrübe gerektirmektedir. Tecrübeli mikrocerrahlar SHVC onarımını kısa bir damar segmenti kalsa bile mikrosütür tekniği ile onarabildikleri için bunu cuff kullanımına tercih edebilmektedirler.(16)



Şekil 5: OKT'de kullanılan ven, arter ve OSK onarım tekniklerinin şematik görünümü

Manşet yardımcı anastomoz tekniklerinin başarısı OKT’de görüldükten sonra anastomoz süresini kısaltmak ve anastomozları daha kolay icra etmek amaçlı splint yöntemi, teleskop yöntemi ve bunun gibi bir sıra farklı yöntemler de geliştirilerek sıçanda OKT modelleri çeşitli modifikasyonlarla birlikte çok çeşitli bir yelpazeye sahip oldu. Ayrıca literatürde uygun boyutta ve dizilimde manşet hazırlanması ile ilgili yayınlar da mevcuttur. Örneğin manşet yerleştirilip damar ucu evert edildikten sonra sirküferensiyel sütür ile sabitlenmesi için tek oluklu manşetin çok oluklulara nazaran daha üstün olduğu bildirilmiştir. (20)

Bunlardan yaygın olarak kullanılan splint (stent) yönteminde splint (stent) donörün damarına ve ortak safra kanalına yerleştirildikten sonra greft alıcı sahaya implante edilince aynı splint alıcının venine veya safra kanalına yerleştirilerek damar veya safra kanalında kanın veya safranın geçişi sağlanmış olmaktadır. Daha sonra splintin çıkmaması veya yerinden kaymaması amaçlı sirküferensiyel olarak sütür ile splint etrafına sabitlenme işlemi yapılmaktadır. Splint yöntemi OSK onarımında yaygın olarak kullanılmakla birlikte, HA, PV, SHVC ve IHVC rekonstrüksiyonu amaçlı da kullanılmıştır.

Splint (stent) yöntemi kullanıldığı zaman damar endotelinin splint ile temasının endotel devamlılığının bozulması nedeni trombozu tetikleyeceği düşünülmektedir. Bu durum tekniğin en büyük sakıncası olarak görülmektedir. Bunun önüne geçmek için splintin ven ile kaplandıktan sonra kullanıldığı bir modifikasyon geliştirilmiştir.(21)

SHVC rekonstrüksiyonunun OKT cerrahisinin en zorlayıcı anastomozu olduğu bilinmektedir. Standard manşet tekniğinin diyafram altında uygulanmasının zorlayıcı olduğundan magnetik manşet yardımcı anastomoz (magnomoz) yöntemi geliştirilmiştir. (22)

Manşet yönteminin bir diğer modifikasyonuna örnek verecek olursak, damar çevresindeki tutucu halkaların anastomoz zamanı karşılıklı getirilerek kilitlemesine dayalı geliştirilmiş bir sistem olan “*quick-linker*” sistemini sayabiliriz. (23)

PV, IHVC anastomozu için geliştirilen hibrid bir yöntem olan “mikrodikiş-geçici stent” tekniğinden bahsedecek olursak, bu da geçici olarak yerleştirilen splint sonrası anastomoz sırasında ven arka duvarı dikilmekte, ön duvarın sütürleri atılmadan önce geçici olarak yerleştirilen stent çıkarılmakta ve ön duvar dikilerek anastomoz tamamlanmaktadır. (24)

HA anastomozu yapılmadan da OKT gerçekleştirilebiliyor olsa da, HA rekonstrüksiyonunun greft sağkalımı ve sıçanların sağ kalımı üzerine olumlu etkileri bilinmektedir.(14) Bundan başka greft arteriyalizasyonu uzun dönemde safra kanal hasarının oluşmasını engellediği ve nakledilen karaciğerin dolaşımını iyileştirmektedir.(9,14,25,26) Bunun yanı sıra HA rekonstrüksiyonu yapılan OKT modelleri insan karaciğer nakillerini daha iyi simüle ettiği ve fizyolojik olarak daha çok benzediği için de önemlidir. Her ne kadar Lee’nin bildirdiği ilk sıçan OKT modelinde donör aortu alıcı aortuna uç-yan anastomoz edilmiş olsa da, ondan

sonra HA rekonstrüksiyonu için çok çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlere örnek verecek olursak, uç-uca ve uç-yan mikrodikişle yapılan anastomozları, manşet yöntemi ile yapılan anastomozları, stent kullanımını, “*sleeve*” anastomoz tekniğini ve teleskop yöntemini sayabiliriz.(27) (**Şekil 5**) Donör arter olarak ise aorta, çölyak arter, a. hepatica communis ve a. hepatica propria sayabiliriz. Alıcı arter olarak ise aorta, sağ renal arter, a. hepatica communis, a. hepatica propria ve çölyak arterin kullanıldığı bilinmektedir.(28)



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Deneysel cerrahi modelimiz, Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayının alınmasından sonra, (30/11/2022 tarih, 2022-074 sayılı onay belgesi) E.Ü. Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.

3.2. Deneysel Hayvanları ve Deneysel Modelinin Yapıldığı Ortam

Deneysel hayvan çalışmamız Ege Üniversite Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde olmuştur. Deneyde 30 adet, 250-300 gram ağırlıkta dişi-erkek Wistar-Albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Aynı pedigriden olan ve beraber kafeste kalan sıçanlar aynı gün opera edilerek postop dönemde de birlikte takip edilmiştir. Standart laboratuvar diyeti ile beslenerek, su alımları serbest olarak ayarlandı. Oda sıcaklığı 24 ± 1 °C derecede tutularak, deney süresince uygun şekilde uygun ışık almaları sağlanan bir ortamda 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü içinde ve günde bir kez temizlenen kafeslerde tutuldular. Yem ve suları *ad libitum* olarak verildi, altlık olarak talaş kullanıldı. Araştırmacılar laboratuvarı günün her saatinde kullanabildikleri için kontrol ve bakımları sürekli yapılabilir. Operasyonlar aynı cerrah tarafından yapıldı.



Şekil 6: İnhaler olarak indüksiyon anestesizinin verildiği gaz odası



Şekil 7: Sıçan kafesleri

3.3. Kullanılan Gereçler

3.3.1. Kimyasallar

- Batikon
- Etil alkol
- Ketamin

- Ksilazin
- Meloksikam
- Oksijen gaz formu
- İzofluran
- Synulox
- Amniyon membranı

3.3.2. Alet ve Cihazlar

- Hassas-ölçer terazi (Mettler Toledo, ABD)
- X-Ray Cihazı
- Derin dondurucu (*Sanyo ultra low*)
- Cerrahi Mikroskop (Zeiss)
- Tıraş jileti
- Enjektör
- Hipofix
- Steril tampon
- Steril örtü
- Steril ve steril olmayan eldiven
- Işık kaynağı
- Adson penset
- De Bakey penset
- Kesme makası
- Sünger
- Stapler
- Pamuk
- Metzenbaum disseksiyon makası
- Portegü
- Mikromakas
- Mikropenset
- 3.5x büyütmeli lup (Xenosys)
- 4/0Ethilon suture materyali
- 9/0 ve 10/0 suture
- İğne

- Ataç
- Fotoğraf çekebilme özelliği olan cep telefonu
- Papiks
- Eozin
- Işık mikroskobu
- Amonyum solüsyonu
- Hemotoksilen solüsyonu
- Parafin
- Xylol
- Tıraş makinesi
- Monopolar koterizasyon cihazı
- Bipolar koterizasyon cihazı

3.3.3. Amniyon Membranının Hazırlanması

Ameliyattan önce donörlere Hepatit B, Hepatit C ve HIV taraması yapıldı. İnsan amniyon membranı plasentadan ayrılarak serum fizyolojik içerisine yerleştirildi. Koriyon tabakası temizlendi. Amniyon membranı nitrosellölöz membranlarla kesilerek 100 mm'lik steril Petri kablarına (ThermoScientific, Waltham, MA) koyuldu. Hücre kültürü kabına (ThermoScientific, Waltham, MA) yerleştirilmeden önce uygun şekilde gerildi. Hazırlanmış amniyon membranı 40mM EDTA (Sigma, St. Louis, MO) ile 120 dakika boyunca işlem gördü. Amniyon membranı epiteli mekanik olarak çıkarıldı ve DMEM-F12 (Sigma, St. Louis, MO) solüsyonu ile 37°C, 90% nem oranı ve 5% CO₂ altında inkübatörde bir gece boyunca işlem gördü.



Şekil 8: Mikrocerrahi aletler seti ve kullanılan sütür materyalleri



Şekil 9: Deneysel mikrocerrahi aletleri



Şekil 10: Lup



Şekil 11: Operasyon salonunun genel görünüşü

3.4. Yöntem

3.4.1. Deney Grupları

30 adet Wistar-Albino cinsi sıçan, randomize olarak kontrol grubunda sekiz, anastomoz ve deney gruplarında 11 olmakla üç gruba ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu olup, sıçanlarda deri ve kas insizyonu sonrası ortak safra kanalı diseke edilerek ortaya konuldu, kanala ek bir cerrahi müdahale yapılmadan kas ve deri katmanlarına uygun olarak kapatılarak operasyon sonlandırılmıştır.

Grup 2:Anastomoz grubu olup, sıçanlarda deri ve kas insizyonu sonrası ortak safra kanalı diseke edilerek ortaya konulmuştur. Ortak safra kanalı en geniş çapa sahip olduğu yerden düz bir şekilde kesilerek 9/0 naylon (Ethilon®, Ethicon™, ABD) sütün ile tekrar anastomoz gerçekleştirilmiştir. Kas ve deri katman katmanlarına uygun olarak kapatılarak operasyon sonlandırılmıştır.

Grup 3:Deney grubu olup, sıçanlarda deri ve kas insizyonu sonrası ortak safra kanalı diseke edilerek ortaya konulmuştur. Ortak safra kanalı en geniş çapa sahip olduğu yerden düz

bir şekilde kesilmiş, ardından 9/0 naylon (Ethilon®, Ethicon™, ABD)sütür ile tekrar anastomozedildikten sonra etrafına rulo şeklinde amniyon membranı sarılmıştır.

3.4.2. Cerrahi model

Genel anestezi amaçlı öncelikle induksiyon için gaz odasında inhaler isofluran 5 lt/dk'dan ve 8 lt/dk'dan oksijen gazı verildi. Sonrasında intraperitoneal 60 mg/kg Ketamine (Ketalar®, Pfizer Warner Lambert, Türkiye) ve sedasyon ve analjezik amaçlı 10 mg/kg Ksilazin (Alfazyne®, Alfasan International B.V. Hollanda) birlikte uygulandı. Operasyon boyunca gerektiğinde 3 lt/dk'dan İzofluran ve 5 lt/dk'dan oksijen gazı ile idame genel anestezi sağlandı.

Sonrasında karın bölgesi tıraş edilerek cerrahi insizyon planlanan hat renkli çizim kalemi ile işaretlendi. Preoperatif profilaktik antibiyotik olarak Synulox 20 mg/kg dozundan uygulandı.



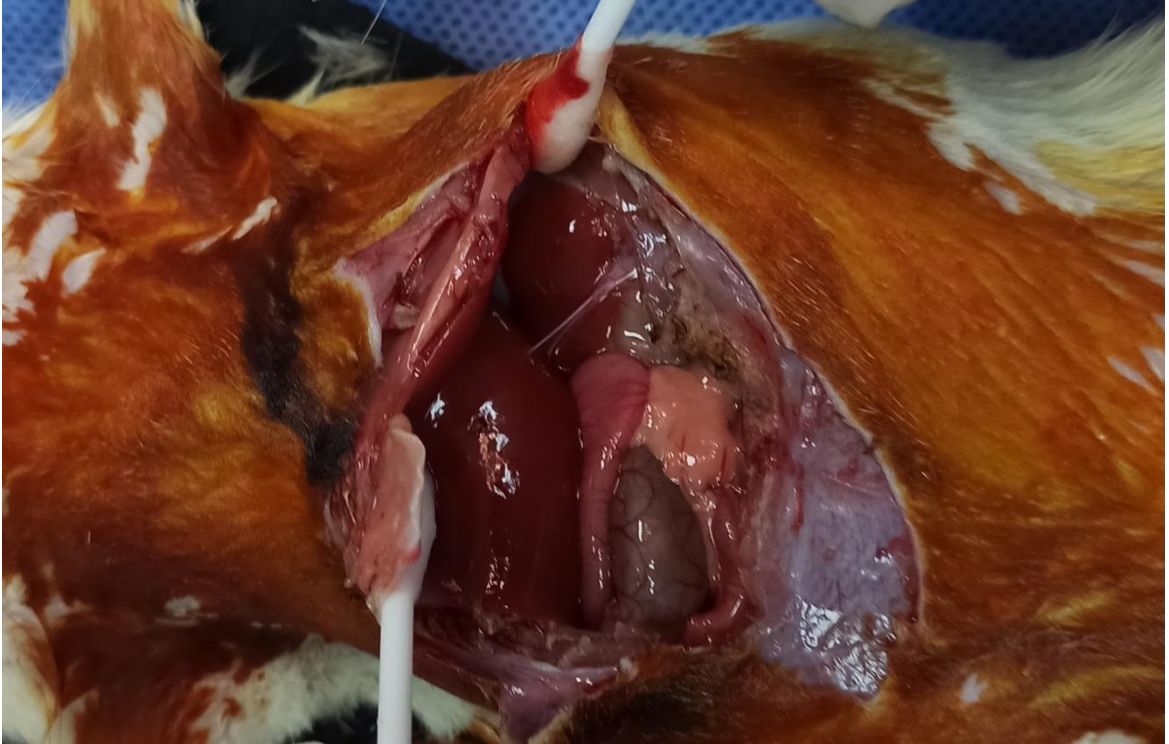
Şekil 12:Karın bölgesi tıraş edildikten sonra yapılan cerrahi çizim

Çizime uygun şekilde deri insizyonu yapılarak karın kaslarına ulaşıldı. Karın kasları koterize edilerek kesildi, karın boşluğuna ulaşıldı. Steril pamuk çubuklarının yardımıyla künt

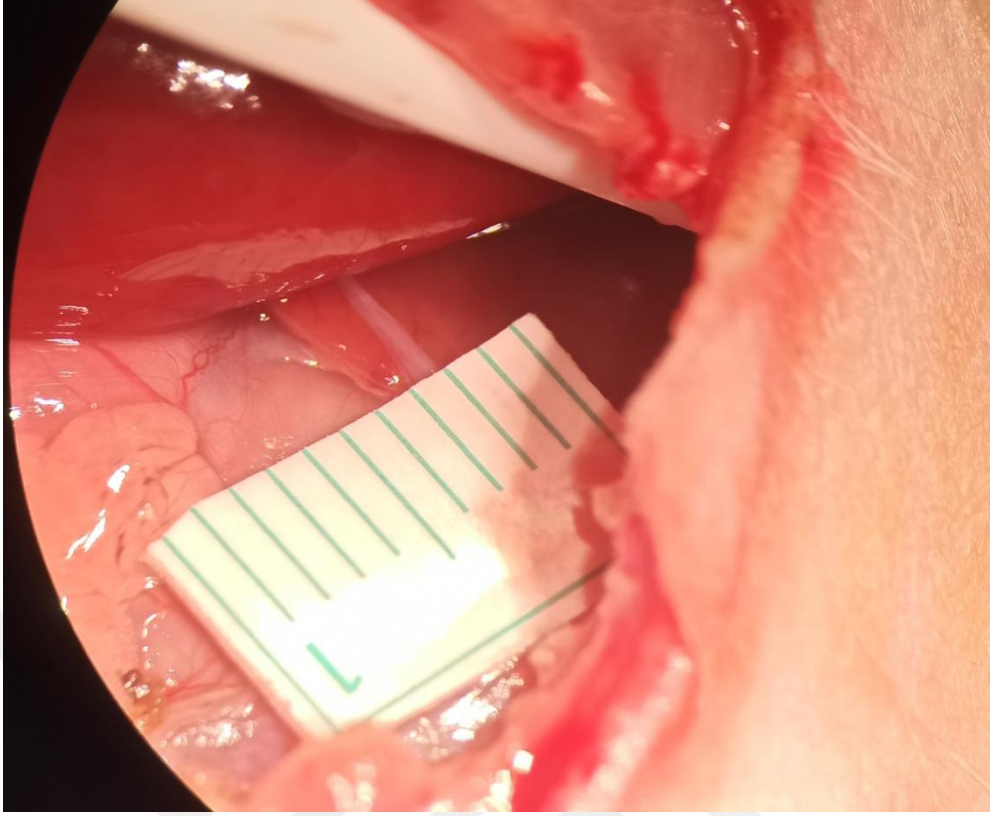
diseksiyonlarla karaciğerden başlayıp bağırsaklara doğru uzanan ortak safra kanalı ortaya konuldu. Kontrol grubunda bu aşamadan sonra ek bir cerrahi müdahale yapılmadan karın kasları ve derisi katmanlarına uygun olarak sütüre edilerek operasyon bölgesi kapatıldı.



Şekil 13: Deri insizyonu sonrası ortaya çıkan karın kasları



Şekil 14: Ortak safra kanalının küt diseksiyonla ortaya konması



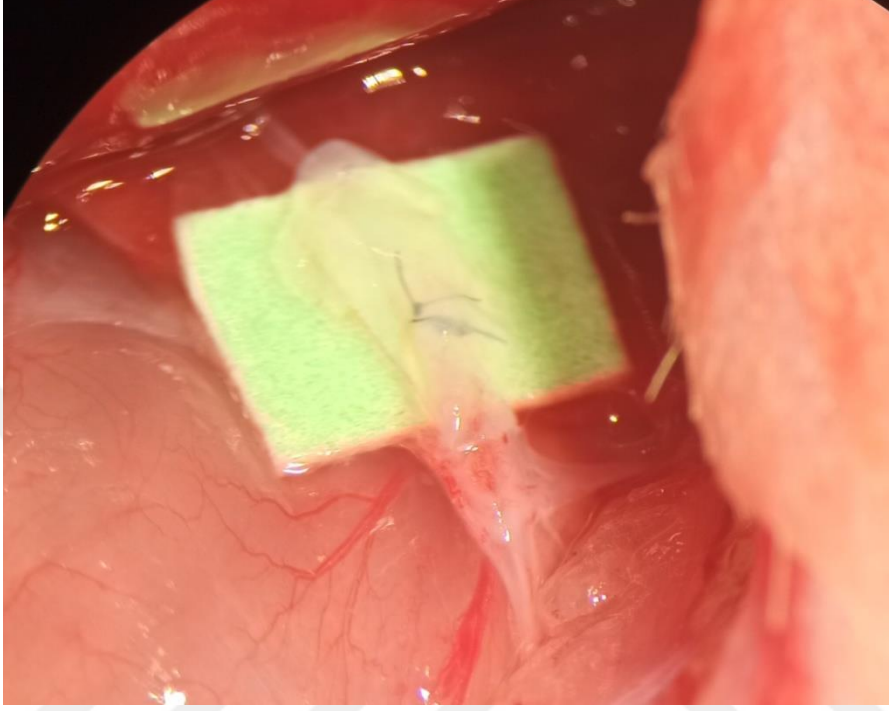
Şekil 15:Ortak safra kanalının mikroskop altındaki görüntüsü

Anastomoz ve deney grubunda ise, ortak safra kanalı en geniş çapa sahip olduğu yerden düz bir şekilde kesilerek dört adet 9/0 naylon suture ile tekrar anastomoz edildi.

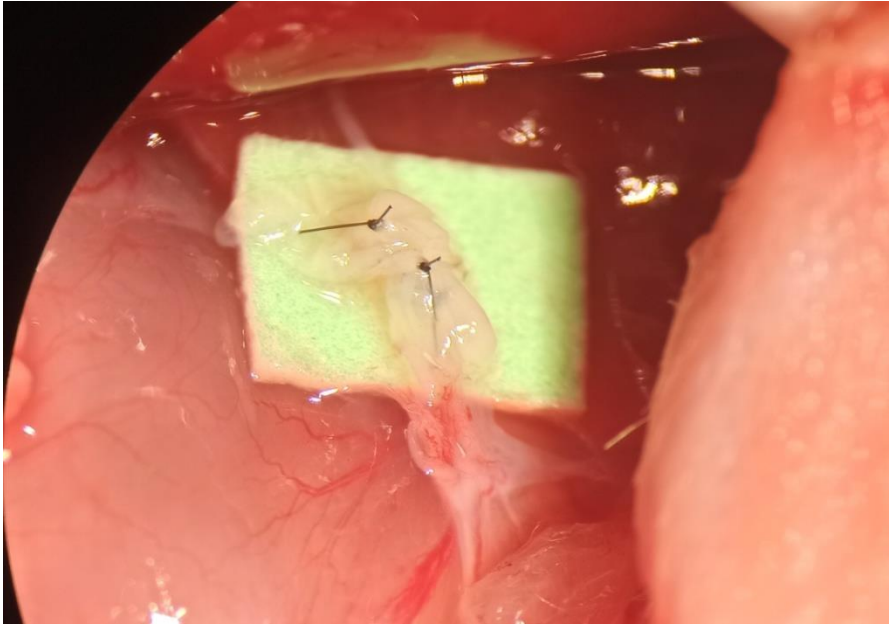


Şekil 16: Ortak safra kanal anastomozu

Anastomoz grubunda bu aşamadan sonra sıçan karın kası ve derisi suture edilerek operasyon sonlandırıldı. Deney grubunda ise anastomoz etrafına amniyon membranının epitel tabakası gelen yüzü rulo şeklinde sarıldı. Amniyon membranının operasyon sonrasında yer değiştirmemesi için bir veya iki adet mikro suture ile membran kendi içerisinde dikildi.



Şekil 17: Anastomoz etrafına sarılmış amniyon membranı



Şekil 18: Amniyon membranına atılan tutucu sutureler

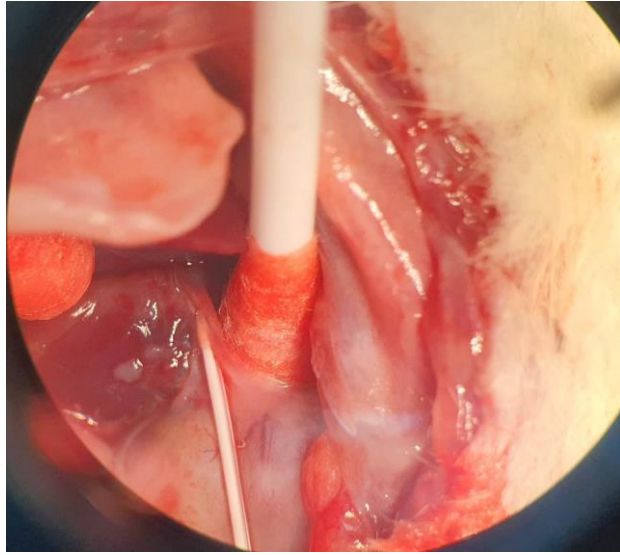
Bu aşamadan sonra deney grubunda da kas ve deri sütüre edildi. İnsizyon hattı batikonla silindi. Genel anesteziden uyanma süreleri beklendikten sonra sıçanlar kafeslerine yerleştirildi.



Şekil 19: Deri sütürasyonu

Postop dönemde ilk dört gün boyunca intramusküler profilaktik antibiyotik (Synulox 20mg/kg) ve subkutan analjezik (Meloksikam 1mg/kg) uygulandı. Postop dönem boyunca sıçanlar 12 saatlik gündüz ve gece siklusları ayarlanan odalarda *ad libitum* su ve laboratuvar yemi ile beslenecek şekilde talaş altlığı olan kafeslerde takip edildi. Gözlem süresi boyunca enfeksiyon, herni, hematoma gibi cerrahi yara yeri ile ilgili komplikasyonlar açısından takipleri yapıldı. Postop yedinci günde deney hayvanlarına genel anestezi verilerek eski insizyon hattından girildi, ortak safra kanal anastomozu ve operasyon bölgesi eksplore edilerek makroskopik olarak mikroskop altında incelendi. Karaciğer ve ortak safra kanalı çevresindeki cerrahi alanla ilgili değişiklikler kaydedildi. Anastomoz hattının distalinden intrakanüler şekilde, retrograd olarak radyopak madde (Omnipaque) verilerek ilgili bölgenin X-Ray görüntüsü alınarak anastomozun patensi radyolojik olarak da değerlendirildi. Ardından deney hayvanının karaciğeri histolojik inceleme için alınarak servikal dislokasyonla sıçanlar kurbanı edildi. Kurbanı edilen sıçanlar kırmızı tıbbi atık torbalarına koyularak Ege Üniversitesi'nin ilgili bölümlerinde bertaraf edilmesi sağlandı.

Alınan karaciğer örnekleri daha sonradan yapılacak olan histolojik inceleme amaçlı formol dolu kaplara alınarak saklandı.



Şekil 20: Ortak safra kanalı kanülasyonu

3.4.3. Histolojik Doku Takip Yöntemi ve Histolojik Analizler

Uygulama süresinin sonunda kurban edilen deneklerden alınan karaciğer dokuları rutin histolojik doku takip işlemlerinden geçirilip parafinde bloklama yapılmıştır. Leica RM2145 mikrotomda alınan 5 µm'lik kesitler alınıp Hematoksilen&Eozin ile boyanarak ışık mikroskobu ile incelenerek veriler elde edilmiştir (Olympus BX-51 ışık mikroskobu, Olympus DP72 kamera).

Doku Takibi

Işık Mikroskobu İçin Takip

Tablo 1. Işık mikroskobu için doku takip şeması.		
Uygulama	İşlem	Süre
Dehidratasyon Aşaması	%80 Alkol	45 dk.
	%95 Alkol	45 dk.
	%96 Alkol	45 dk.
	%100 Alkol	45 dk.
Şeffaflaşma Aşaması	Ksilol	10-15 dk.
Parafine Gömme Aşaması	Parafin I	30 dk.
	Parafin II	30 dk.

Işık Mikroskopu İçin Kesit Alma:

Dokular bloklama işleminden sonra oda sıcaklığında bir gün bekletildi ve kesit alma işlemine başlamadan bir saat önce buzdolabında +4°C'de muhafaza edildi. Dokulardan işık mikroskopik incelemeler için Leica RM 2145 mikrotomda 5 µm'lik kesitler alındı. 37°C su banyosunda kesitlerin açılması sağlanarak polilizinli lamlar üzerine doku kesitleri aktarıldı.

Histokimyasal Yöntem**Deparafinizasyon İşlemi:**

Işık mikroskopik görüntülemeler için tüm boyamalardan önce etüvde 57°C bir saat boyunca bekletilerek dokuların deparafinizasyonu sağlandı. Etüvden çıkan preparatlar soğuduktan sonra bir gece ksilolde bekletildi.

Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi:

Deparafinize preparatlara aşağıdaki tabloda olduğu gibi işlem basamakları uygulanarak Hematoksilen&Eozin boyama işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 2:Hematoksilen&Eozin boyama protokolü	
İşlem Basamakları	Süre
%100 Alkol	2 dk.
%100 Alkol	2 dk.
%95 Alkol	2 dk.
%80 Alkol	2 dk.
Distile Su	5 dk.
Hematoksilen	1 dk. 10 sn.
Akarsu	Çalkalama işlemi
Asit Alkol	3-10 defa çalkalanarak ile diferansiye olması sağlanır. (Diferansiyasyon işlemine mikroskop altında kontrol edilerek devam edilir.)
Akarsu	Çalkalama işlemi
Amonyaklı Su	Preparatlar parlak mavi renk oluncaya kadar bu işleme devam edilir.
Akarsu	Çalkalama işlemi
Distile Su	1 dk. yıkama
Eozin	1 dk. 10 sn.
%95 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma
%100 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma
%100 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma

Bu işlemler sonrasında preparatlar 30 dakika ksilolde bekletildikten sonra entellan yardımıyla kapatılmış ve görüntülemeye hazır hale gelmiştir.

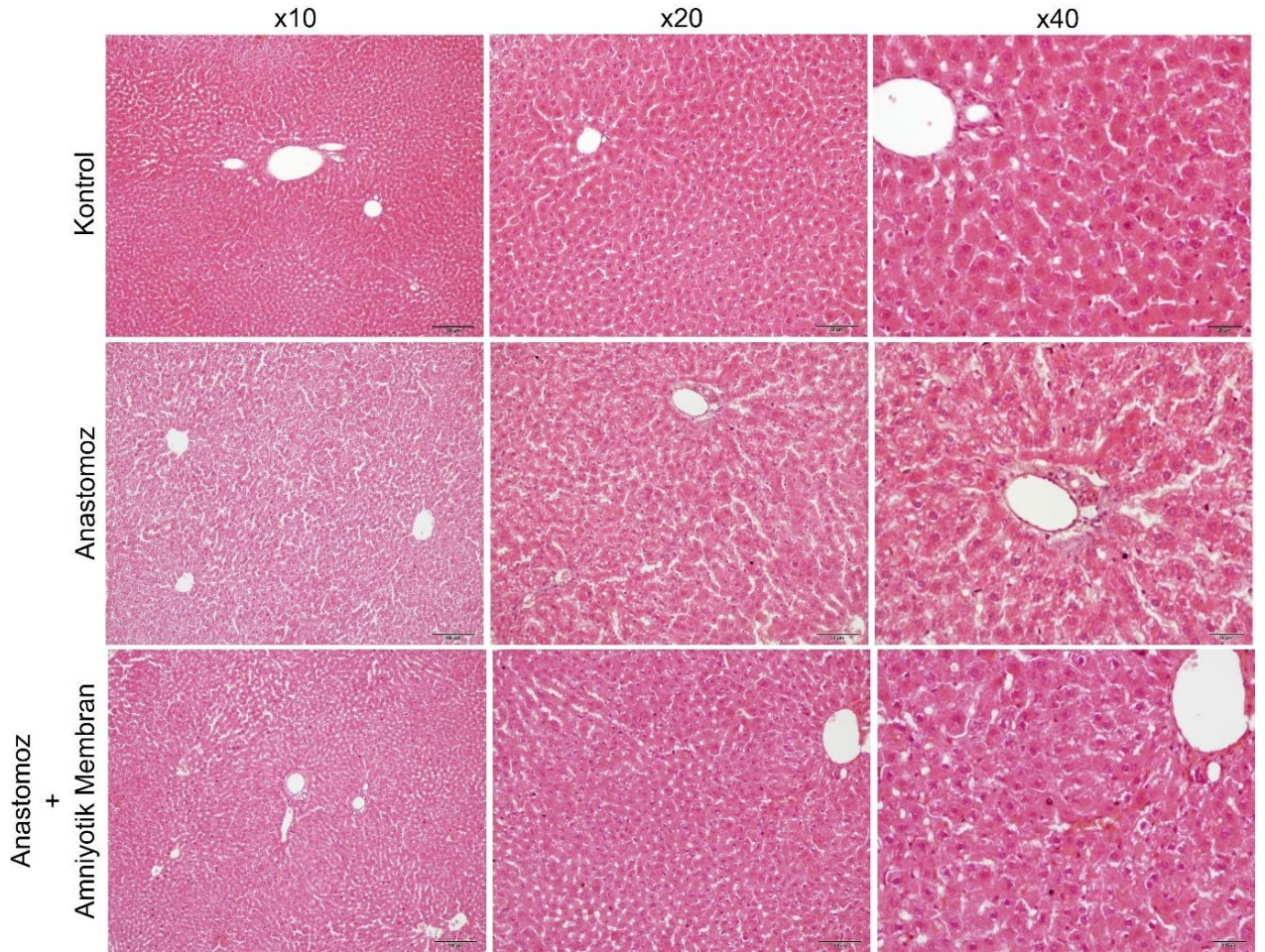
Uygulanan protokol sonrasında elde edilen sonuçlar: Nükleus: Mavi, Sitoplazma: Pembe.

4. BULGULAR

4.1. Postoperatif izlem dönemine ait bulgular: Sıçanlar postoperatif dönemde yedi gün boyunca aktiviteleri, beslenme durumları ve cerrahi yara yeri ile ilgili komplikasyonlar açısından takip edildi. Her üç gruptaki sıçanların postoperatif dönemde aktiviteleri ve beslenmesi açısından fark görülmedi. Her üç gruptaki sıçanlarda yara yeri enfeksiyonu, dehissans, abdominal herni gibi komplikasyonlar yaşanmadı.

4.2 Histolojik Bulgular

4.2.1. Hematoksilen- Eosin Boyama Mikroskop Görüntüleri



Şekil 21:Deney gruplarının farklı büyütmelerde Hematoksilen&Eozin boyamaları

4.2.2.Mikroskopik Değerlendirme

4.2.2.1. Kontrol Grubu: Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik yapısı incelendiğinde tüm bulguların normal karaciğer yapısında olduğu saptandı. Dıştan sıkı bir bağ dokusu yapısı olan Glisson kapsülü ile sarılı organda klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşen vena centralis yapısı gözlemlenmiştir. Vena centralis'ten ışımsal olarak çıkan Remark kordonları ışımsal tarzda yerleşmiş hepatosit hücrelerinden oluştuğu saptandı. Hepatosit hücrelerinin laterallerindeki sinüzoidler normal histolojik yapıda görüldü. Sinüzoid endotel hücreleri ve hepatositler arasındaki periportal aralıklar (Disse aralığı) barındırdıkları görüldü. Portal hepatik triad yapısında içerisindeki A. Hepaticusinterlobularis, V. interlobularis ve Ductusbiliferi'nin normal histolojik yapıda olduğu görüldü.

4.2.2.2. Anastomoz Grubu:Anastomoz grubuna ait karaciğerin histolojik yapısı incelendiğinde; dıştan sıkı bir bağ dokusu yapısı olan Glisson kapsülü ile sarılı organda klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşen Vena centralis yapısı gözlemlenmiştir. Vena centralis'in kontrol grubuna kıyasla kontraksiyona uğradığı olduğu görülmüştür. Vena centralis duvarını döşeyen endotel hücrelerinde silinme varlığı saptandı. Hepatosit kordonlarının arasındaki sinüzoidlerin kontrol grubuna kıyasla dilate olduğu görüldü. Ayrıca Disse aralığında da dilatasyon olduğu saptandı. Bu da orta seviyede ödem yönünde değerlendirildi. Portal hepatik triad yapısında A. hepaticus interlobularis, V. interlobularis ve Ductus biliferi yapılarında orta dereceli dilatasyon olduğu görüldü.

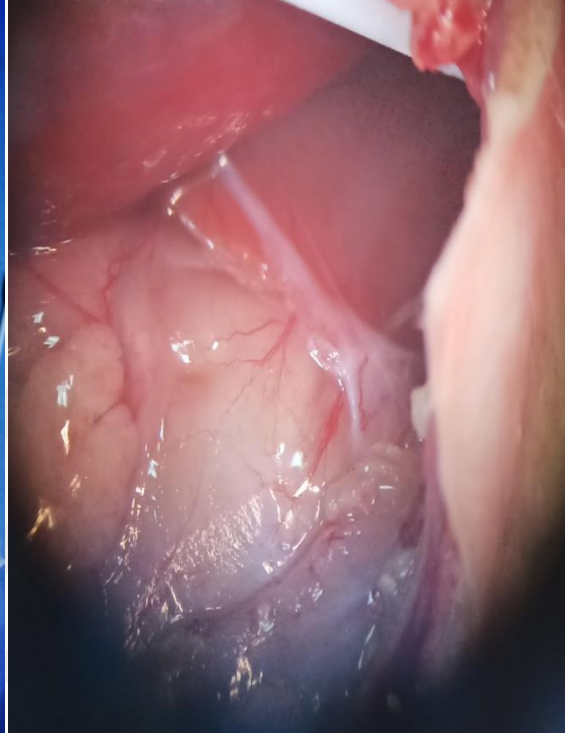
4.2.2.3. Deney Grubu: Anastomoz+Amniyotik membran grubuna ait karaciğerin histolojik yapısı incelendiğinde; Dıştan sıkı bir bağ dokusu yapısı olan Glisson kapsülü ile sarılı organda klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşen Vena centralis yapısı gözlemlenmiştir. Vena centralis yapısının anastomoz grubundan ziyade kontrol grubuna benzediği damar çapının da kontrol yakın olduğu saptandı. Sinüzoidler ve Disse aralığında ise dilatasyonun devam ettiği görüldü. Fakat bu dilatasyon seviyesinin Anatomoz grubundan çok kontrole yakın olduğu saptandı. Portal hepatik triad yapısında A. hepaticus interlobularis, V. interlobularis ve Ductus biliferi yapısında minimal derece dilatasyon varlığı görüldü.

4.3. Postop Yedinci Gün Cerrahi Eksplorasyon Bulguları

4.3.1. Kontrol grubu: Kontrol grubundaki iki adet sıçanın deney yapıldığı zaman eksitus olduğu görüldü. Bu grupta bulunan altı adet sıçan postop yedinci günde genel anestezi altında eski insizyon hattından girilerek eksplöre edildi. Bu sıçanların hepsinde makroskobik olarak karaciğerin ve ortak safra kanalının normal görünümde olduğu gözlemlendi.

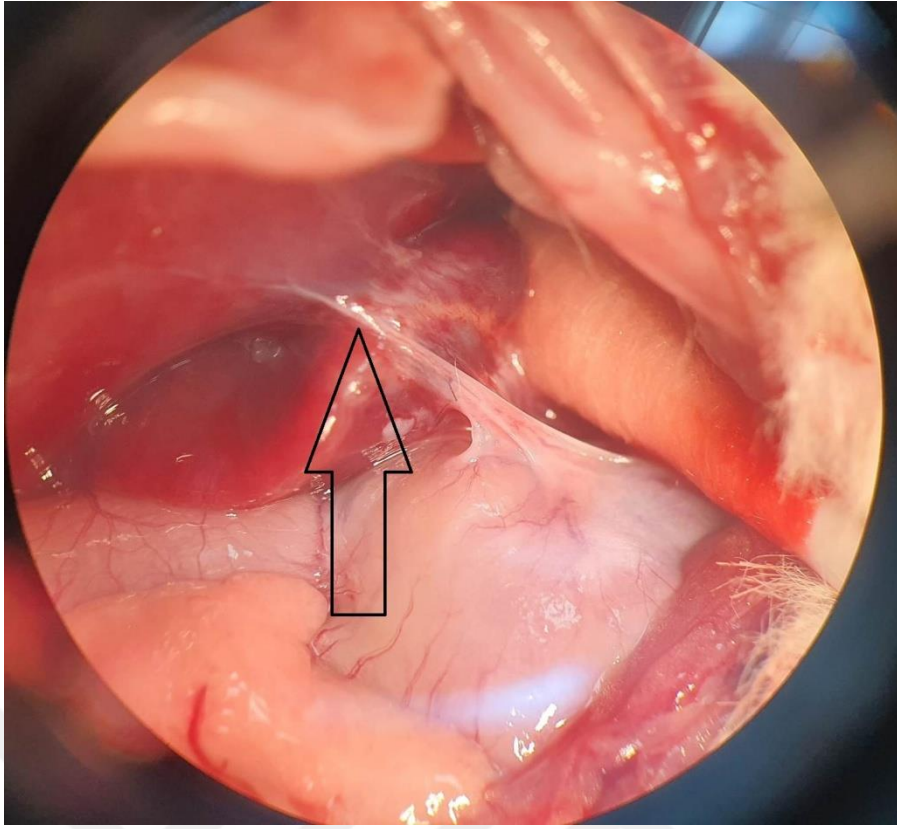


Şekil 22: İyileşmiş deri suturasyonu

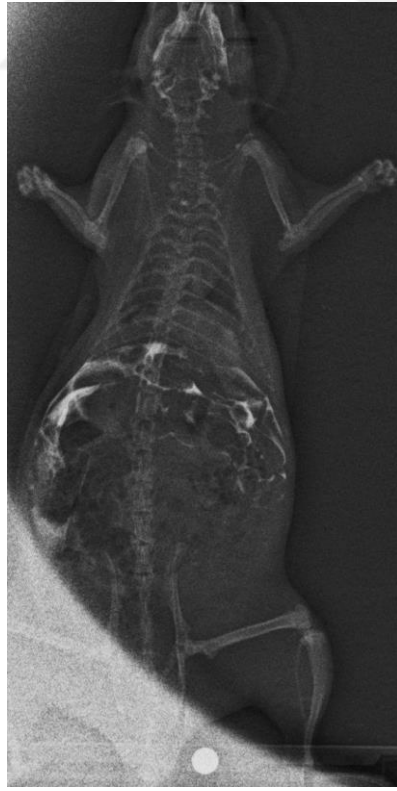


Şekil 23: Kontrol grubu postop normal makroskobik görünüm

4.3.2. Anastomoz grubu: Bu gruptaki 11 adet sıçan postop yedinci günde genel anestezi altında eski insizyon hattından girilerek eksplöre edildi. Sekiz sıçanda hem makroskobik olarak normal karaciğer ve ortak safra kanalı görüldü, hem de radyolojik olarak anastomozun patent olduğu saptandı. İki sıçanda ortak safra kanalının anastomoz proksimaline doğru fibrozise gitmiş olduğu görüldü. Bir sıçanda ise anastomozdan kaçak olmasına bağlı radyolojik olarak diffüz şekilde karın içinde kontrast madde izlendi. Toplamda bu gruptaki anastomoz başarısı 8/11 olarak saptandı.

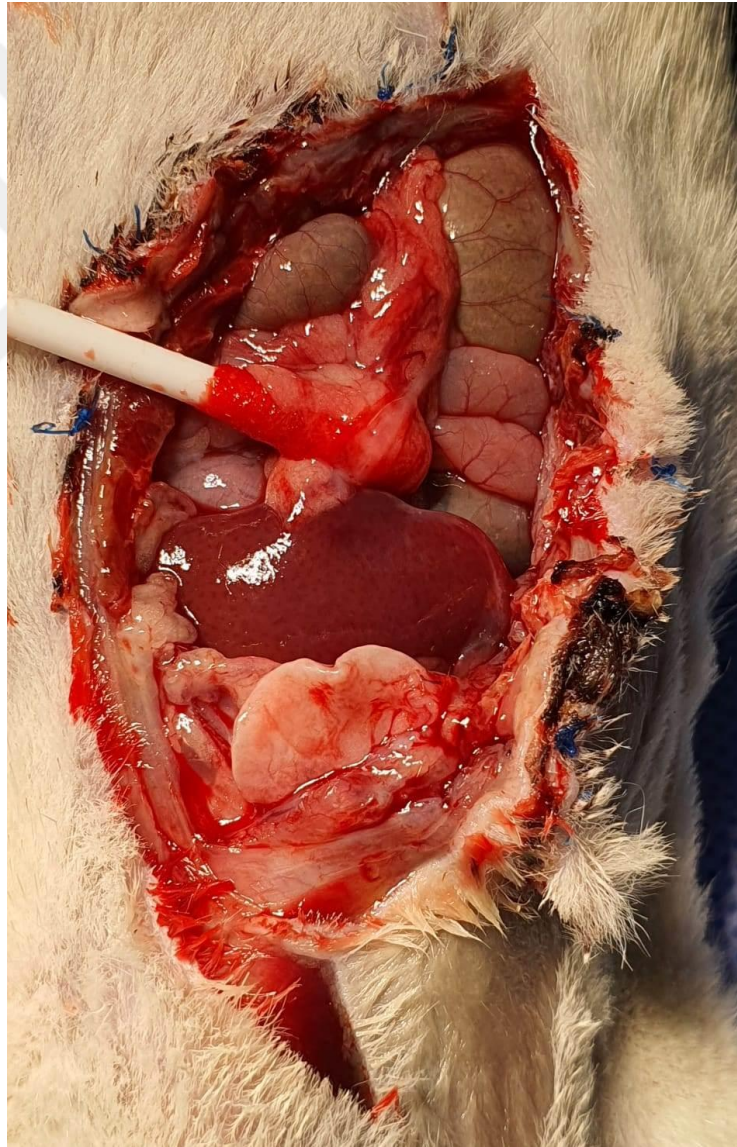


Şekil 24: Ortak safra kanalının fibrozisi

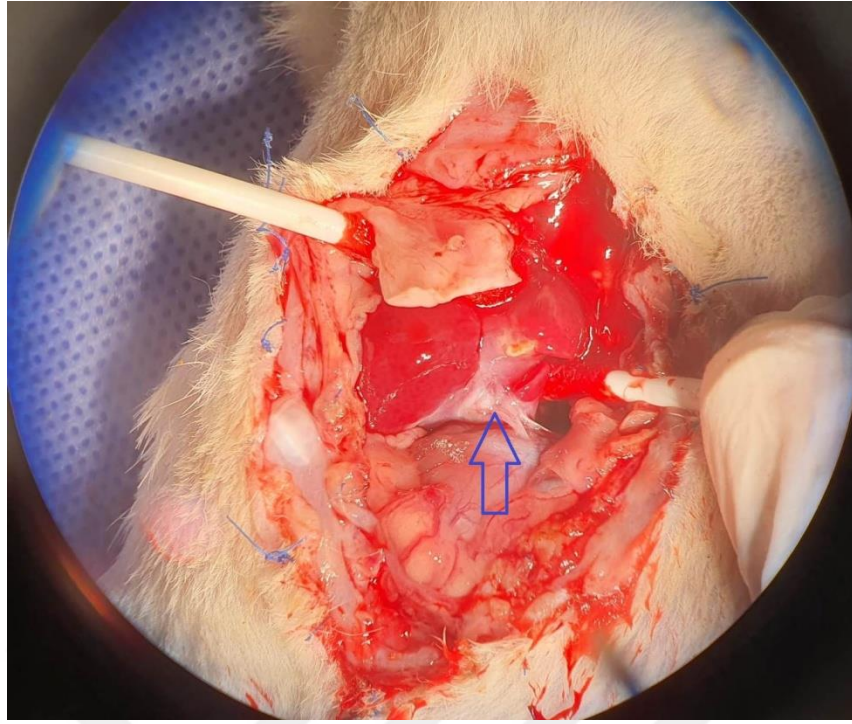


Şekil 25: Anastomoz kaçağına bağlı batınıçi kontrast madde görüntüsü

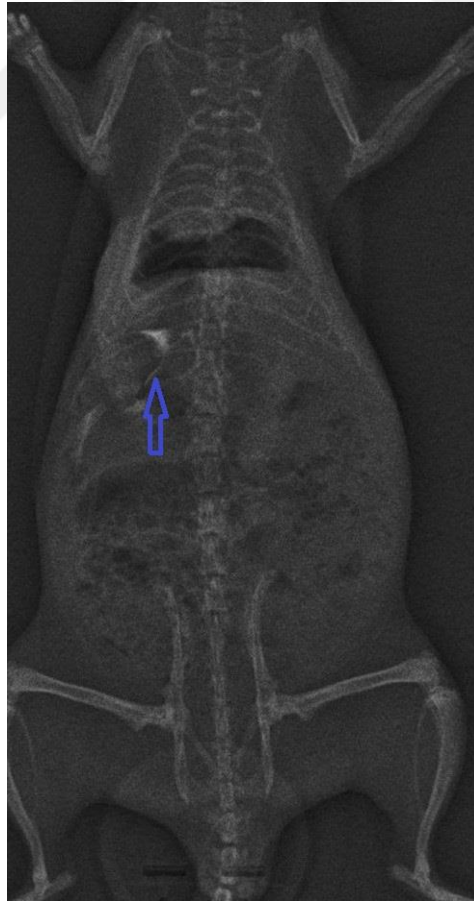
4.3.3. Deney grubu (Anastomoz + Amniyon membranı):Bu gruptaki 11 adet sıçan postop yedinci günde genel anestezi altında eski insizyon hattından girilerek eksplore edildi. Yedi sıçanda hem makroskobik olarak ortak safra kanalının ve karaciğerin normal görünümde olduğu görüldü, hem de ortak safra kanal kanülasyonu sonrası kontrast madde verilerek elde edilen X-ray grafilinde anastomozun patent olduğu görüldü. İki sıçanda makroskobik olarak ortak safra kanalında ve ortak safra kanalının karaciğerden çıkış yerine yakın karaciğerde fibrozis ve yapışıklıklar görüldü. Bir sıçanda radyolojik değerlendirmede anastomoz kaçığına bağlı batın içine kontrast madde kaçıışı izlendi. Bir sıçanda ise ortak safra kanal kanülasyonu sonrası kontrast madde verilerek elde edilen grafide anastomoz tıkanmasına bağlı anastomoz proksimaline kontrast maddenin geçemediği görüldü. Toplamda bu gruptaki anastomoz başarısı 7/11 olarak saptandı.



Şekil 26: Normal görünümde karaciğer ve ortak safra kanalı



Şekil 27: Ortak safra kanalı ve karaciğerde fibrotik görünüm



Şekil 28: Patent ortak safra kanal anastomozu radyolojik görüntüsü



Şekil 29: Tıkanmış ortak safra kanalı anastomozunun radyolojik görüntüsü

4.4. Çalışmanın istatistik analizi

Tablo 3: Çalışmanın histolojik ve makroskopik bulguları

Skor	İnflamasyon	Ödem	PMNL İnfiltrasyon	Sinüzoidal Dilatasyon	Fibrozis	Postoperatif Eksplorasyon
0	Yok	Yok	Normal sayı	Yok	Yok	Patent anastomoz
1	Hafif inflamasyon	Hafif	Hafif artış	Hafif dilatasyon	Hafif fibrozis	Tıkanıklık
2	Belirgin inflamasyon	Belirgin	Belirgin artış	Belirgin dilatasyon	Belirgin fibrozis	Kaçak
3	Yoğun inflamasyon	Yoğun	Yoğun infiltrasyon	Yoğun dilatasyon	Yoğun fibrozis	Fibrozis
Grup 1 Kontrol n:6						
Denek 1	1	0	0	0	1	0
Denek 2	0	1	1	0	0	0
Denek 3	1	0	0	1	0	0
Denek 4	0	1	0	1	0	0
Denek 5	0	0	1	0	0	0
Denek 6	0	0	1	1	1	0
Grup 2 Anastomoz n:11						
Denek 1	2	3	2	3	2	0
Denek 2	3	3	1	3	2	0
Denek 3	2	3	3	2	2	0
Denek 4	2	2	3	2	3	3
Denek 5	3	2	2	2	1	0
Denek 6	2	3	2	3	2	0
Denek 7	3	2	3	2	3	3
Denek 8	2	3	2	3	1	0
Denek 9	3	2	3	2	1	0
Denek 10	2	3	3	2	2	0
Denek 11	2	3	2	1	3	1
Grup 3 Anastomoz+Membran n:11						
Denek 1	2	3	2	3	1	0
Denek 2	2	1	3	2	2	0
Denek 3	1	2	2	2	1	0
Denek 4	3	2	2	1	3	3
Denek 5	2	1	1	1	2	2
Denek 6	1	3	1	2	1	0
Denek 7	3	2	3	1	2	1
Denek 8	1	2	2	2	1	0
Denek 9	1	3	2	2	1	0
Denek 10	2	1	1	3	2	3
Denek 11	1	2	1	2	1	0

SPSS© (v 22, SPSS, IBM Corp. 1989, Armonk, NY, ABD) üzerinde bir veri tabanı oluşturuldu. Veriler üzerinden yapılan tanımlayıcı istatistik sonrası ordinal yapıdaki histolojik değerlendirme (modifiye Verhofstadt skalası) verilerinin dağılımında kontrol ve deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı fark olup olmadığı araştırıldı. Bunun yanında sakrifikasyon öncesi anastomozun gros incelenmesi ile gözlenen veriler nominal olarak sınıflandırılarak gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark olup olmadığı araştırıldı.

Buna göre histolojik enflamasyon skoru Grup 1 (Kontrol grubu) için ortanca 0 (iqr: 1), Grup 2 (Sadece anastomoz deney grubu) için ortanca 2 (iqr: 1), Grup 3 (Anastomoz ve amniyotik membran deney grubu) için 2 (iqr: 2) idi. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunması üzerine (Kruskal-Wallis test, $p < 0.001$) yapılan ikili gruplar arası seri post-hoc

Mann-Whitney testleri Bonferroni düzeltmeleri sonrası Grup 1 ve 2 arasında ($p<0.001$) ve Grup 1 ve 3 arasında ($p=0.003$) istatistiki olarak anlamlı farklar bulundu. Bununla birlikte deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.042$).

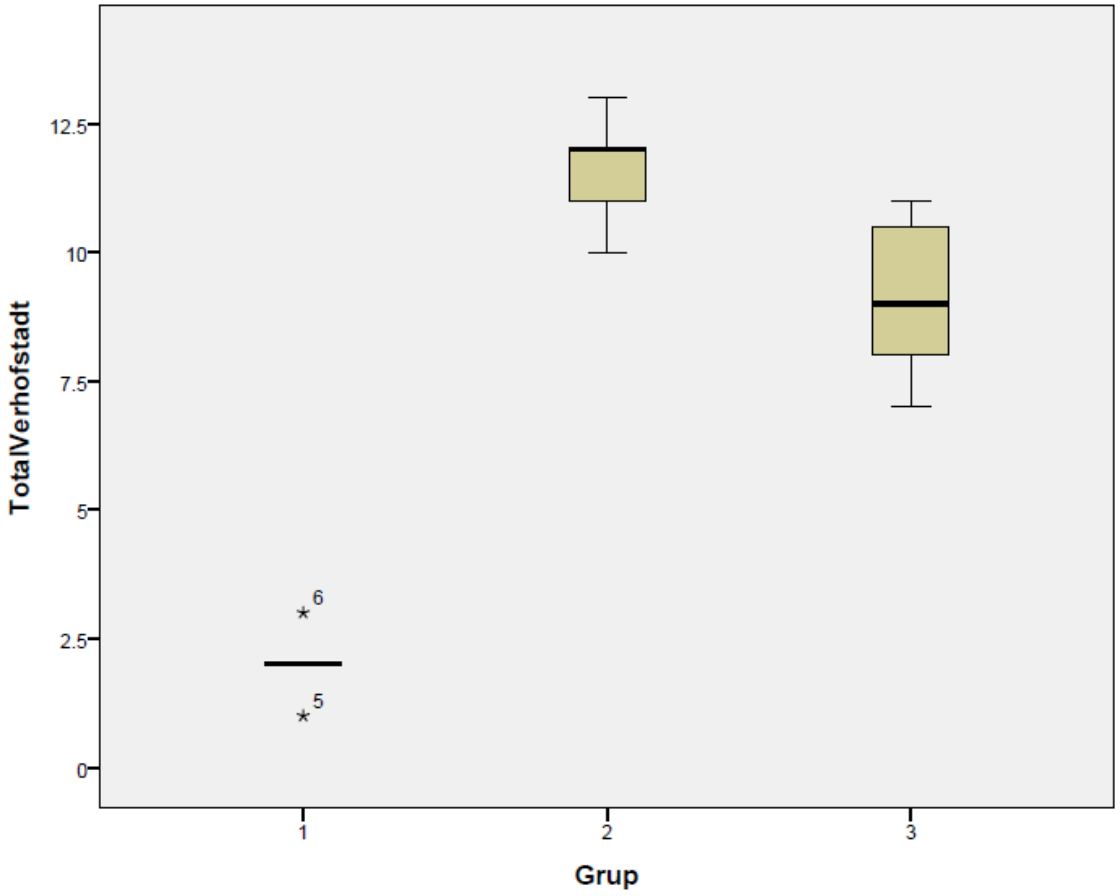
Ödem skoru Grup 1 (Kontrol grubu) için ortanca 0 (iqr: 1), Grup 2 (Sadece anastomoz deney grubu) için ortanca 3 (iqr: 1), Grup 3 (Anastomoz ve amniyotik membran deney grubu) için 2 (iqr: 2) idi. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunması üzerine (Kruskal-Wallis test, $p<0.001$) yapılan ikili gruplar arası seri post-hoc Mann-Whitney testleri Bonferroni düzeltmeleri sonrası Grup 1 ve 2 arasında ($p<0.001$) ve Grup 1 ve 3 arasında ($p=0.002$) istatistiki olarak anlamlı farklar bulundu. Bununla birlikte deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.044$).

PMNL infiltrasyon skoru Grup 1 (Kontrol grubu) için ortanca 0-1 (iqr: 1), Grup 2 (Sadece anastomoz deney grubu) için ortanca 2 (iqr: 2), Grup 3 (Anastomoz ve amniyon membranı deney grubu) için 2 (iqr: 1) idi. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunması üzerine (Kruskal-Wallis test, $p=0.001$) yapılan ikili gruplar arası seri post-hoc Mann-Whitney testleri Bonferroni düzeltmeleri sonrası Grup 1 ve 2 arasında ($p=0.001$) ve Grup 1 ve 3 arasında ($p=0.004$) istatistiki olarak anlamlı farklar bulundu. Bununla birlikte deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.090$).

Sinüzoidal dilatasyon skoru Grup 1 (Kontrol grubu) için ortanca 0-1 (iqr: 1), Grup 2 (Sadece anastomoz deney grubu) için ortanca 2 (iqr: 1), Grup 3 (Anastomoz ve amniyon membranı deney grubu) için 2 (iqr: 1) idi. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunması üzerine (Kruskal-Wallis test, $p=0.001$) yapılan ikili gruplar arası seri post-hoc Mann-Whitney testleri Bonferroni düzeltmeleri sonrası Grup 1 ve 2 arasında ($p=0.001$) ve Grup 1 ve 3 arasında ($p=0.003$) istatistiki olarak anlamlı farklar bulundu. Bununla birlikte deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.216$).

Fibrozis skoru Grup 1 (Kontrol grubu) için ortanca 0 (iqr: 1), Grup 2 (Sadece anastomoz deney grubu) için ortanca 2 (iqr: 2), Grup 3 (Anastomoz ve amniyon membranı deney grubu) için 1 (iqr: 1) idi. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunması üzerine (Kruskal-Wallis test, $p=0.002$) yapılan ikili gruplar arası seri post-hoc Mann-Whitney testleri Bonferroni düzeltmeleri sonrası Grup 1 ve 2 arasında ($p=0.002$) ve Grup 1 ve 3 arasında ($p=0.004$) istatistiki olarak anlamlı farklar bulundu. Bununla birlikte deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.156$).

Total Verhofstadt skoru Grup 1 (Kontrol grubu) için ortanca 2 (iqr: 1), Grup 2 (Sadece anastomoz deney grubu) için ortanca 12 (iqr: 1), Grup 3 (Anastomoz ve amniyon membranı deney grubu) için 9 (iqr: 3) idi. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunması üzerine (Kruskal-Wallis test, $p=0.001$) yapılan ikili gruplar arası seri post-hoc Mann-Whitney testleri Bonferroni düzeltmeleri sonrası Grup 1 ve 2 arasında ($p=0.001$) ve Grup 1 ve 3 arasında ($p=0.001$) istatistiki olarak anlamlı farklar bulundu. Total Verhofstadt skoru deney grupları arasında da anlamlı olarak farklıydı ($p<0.001$).



Şekil 30: Total Verhofstadt skoru analizi

5. TARTIŞMA

Safra kanal onarımının karaciğer nakillerinin “Aşıl topuğu” olduğu uzun zamandır bilinmektedir.(16) İnsan karaciğer nakilleri sonrası safra yollarıyla ilgili çok sık komplikasyon gelişmekte ve bu komplikasyonların morbiditeye sebep olup hastane yatış sürelerini arttırmaktadırlar.

Sıçanda OKT modellerinde safra kanal rekonstrüksiyonu çeşitli yöntemlerle yapılmıştır. İlk olarak Lee ve ark. tarafından gerçekleştirilmiş olan sıçan karaciğer nakli modelinde OSK duodenuma implante edilmiştir.(18) OSK güdük ucundan mikrosütürler geçilmiş, daha sonra duodenumdan geçen iğne kılavuz olarak kullanılarak mikrosütürlürden çekilerek OSK bağırsak içerisine implante edilmiştir. Bu yöntemle yapılan OSK rekonstrüksiyonlarında bağırsak duvarının bütünlüğü bozulduğu için kontaminasyon meydana gelebilmekte, bu da asendan kolanjit gibi hayati komplikasyonlara neden olabilmektedir.(10) Bu komplikasyonlar nedeniyle sonraki araştırmacılar tarafından OSK implantasyonu (literatürde *pull-through* olarak da anılmaktadır) OKT modellerinde pek tercih edilmemiş olsa da amniyon membranı kullanımının antimikrobiyal özellikleri nedeniyle safra kanal implantasyonundan kaynaklanabilecek enfektif komplikasyonlar üzerine etkisi ileri araştırmaların konusu olabileceğini düşünmekteyiz.

Kamada ve ark.'ın 1979 yılında gerçekleştirmiş olduğu OKT modelinde teleskop yöntemi kullanılmıştır.(29) Bu modelde alıcı safra kanalına nispeten büyük, verici safra kanalına nispeten küçük bir manşet yerleştirildikten sonra bu manşetler karşılıklı olarak iç içe geçirilerek OSK rekonstrüksiyonu yapılmıştır. Bu yöntemde manşet çaplarının iyi ayarlanması gerekmektedir. Büyük manşetler safra kanalı duvarına bası sonucu yırtılmalara sebep olabilmektedir, küçük manşetler ise safra akışında tıkanıklıklara neden olabilmektedirler.

PV ve IVC onarımı zamanı kullanılan manşet yönteminden dolayı yabancı cisim reaksiyonu, tromboz, stenoz, immünolojik reaksiyonlar gibi bir sıra komplikasyonlar yaşandığı bilinmektedir. Bunun önüne geçmek için Kitakado ve ark. biyoçözünür manşet kullanımını önermiştir. (30)

Zimmerman ve ark. 1979 yılında OSK rekonstrüksiyonu amaçlı splint yöntemini geliştirdiler. (31) Bu yöntemde donör safra kanalına geçirilerek sirküferensiyel bir dikiş ile sabitlenen stentin (Teflon tüp 7 mm uzunluğunda iç çapı 0.9 mm, 22G) diğer ucu alıcı safra kanalına

geçirilerek alıcı tarafında sirküferensiyel dikiş ile sabitlenmektedir. Alıcı ve verici tarafındaki sirküferensiyel dikişlerin uzun uçları kendi içinde düğümlenerek stentin kayması engellenmeğe çalışılmıştır. Ampulla Vateri korunduğu için bu yolla asendan kolanjit riskini azalttığı ileri sürülmüştür. (32) Bundan başka safra kanal onarımının üzerine yara yeri iyileşmesini hızlandırmak ve komplikasyonları azaltmak amaçlı periton sarıldığı bildirilmiştir.(16,21) OSK dolaşımının kanalın skeletonize edilip onarım için hazırlandıktan sonra sekteye uğradığı bilinmektedir. Amniyon membranının vaskülarizasyonu uyarıcı özelliğinin burada da faydalı olabileceğini savunmaktayız. Stentin hazırlanması aşamasında kateterin makasla kesilmesi halinde stent uçlarının pürüzsüz olmayacağı ve kaba kenarlarının safra kanalında endotel hasarı yapacağı için safra trombusüne neden olacağı, bunun da safra kanal komplikasyonlarına ve nihayetinde hayvanın ölümüne sebebiyet vereceği bilinmektedir.

(20) Bu nedenle OSK rekonstrüksiyonunun stent yardımıyla yapılması durumunda daha düzgün kesi için bistüri kullanılması önerilmektedir. Bundan başka yabancı materyelin kanalda uzun süre kalmasına bağlı yabancı cisim reaksiyonuna sebep olmasının veya malign transformasyona yol açmasının önüne geçilmesi için biyo-çözünür safra kanal stentleri üzerine çalışmalar da mevcuttur.(33)

Engeman ve ark. tarafından 1982 yılında PV ve IHVC rekonstrüksiyonunda çok yaygın olarak kullanılan manşet yöntemi OSK rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır. (28)

Mikrocerrahi sütür tekniği ile yapılan OSK anastomozlarında postop dönemde inflamasyon ve striktürlerin birinci ayda birinci haftaya göre daha yüksek olmaktadır.(10) Bizim çalışmamızda sadece postop birinci hafta gibi erken dönem sonuçlar incelendiğinden elde ettiğimiz bulgular uzun dönem klinik sonuçları tam yansıtmayabilir.

Sıçanda OKT cerrahisinin başarılı şekilde sonuçlanması için en önemli etken anhepatik periyodun süresinin kısaltılmasıdır. Bunun için de PV, IHVC ve SHVC

rekonstrüksiyonlarının 25 dakikanın altında gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Sıçanda OKT modelleri geliştirilirken bunun üzerinde çok durulmuş, anhepatik periyodu kısaltmak amaçlı

çeşitli anastomoz yöntemleri geliştirilmiştir. Stent, manşet ve s. yardımcı araçların

kullanılmasının PV, SHVC ve IHVC rekonstrüksiyonunda elzem olduğunu kabul ediyoruz,

ama OSK rekonstrüksiyonunun stent, manşet gibi materyaller yardımıyla gerçekleştirilmesi

zamanı ortaya çıkabilecek safra kanalında tıkanıklık, kaçak ve fibrozis gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilmesi bilinmektedir. Bundan dolayı OSK rekonstrüksiyonunun mikrocerrahi

sütür tekniği ile yapılması sıçanın anhepatik periyodunu etkilemeden normal fizyolojiyi daha

iyi taklit ederek insan karaciğer nakil modelleri için daha uygun bir temel oluşturacaktır.

Safranın sütür materyalleri üzerine bir etkisinin olmadığı bilinmektedir.(10)

İnsanda safra kanal darlıklarının tedavisinde ister ERCP (Endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi), isterse de PTHK (Perkutan transhepatik kolanjiografi) yardımıyla çeşitli plastik stentler yerleştirilerek safra kanal darlıkları tedavi edilmektedir. Postop dönemde semptomlar görülmeyince ve klinik tablo düzelince, kısacası stentler işlevini gördükten sonra onların çıkarılması gerekmektedir.(33) Aksi takdirde plastik stentlerin uzun süre kalması sonucu plastik üzerinde safra kalıntıları birikerek safra taşlarına ve kolanjite sebep olmaktadır.(34) Metal stentler ise yabancı cisim reaksiyonuna neden olarak stent içerisinde doku büyümesini tetiklemektedir.(35) Bundan başka stent migrasyonu ile ilgili komplikasyonlar arasında kolesistit, kanama, gastrointestinal sisteme geçip kolon divertikülünü tıkaması gibi olaylar sayılabilir.(36,37) Biyo-çözünür olmayan stentlerin insanda neden olduğu komplikasyonları göz önünde bulundurarak sıçan OKT modellerinde OSK rekonstrüksiyonu için çeşitli materyaller kullanılmıyorsa mikrocerrahi sütür tekniği ile yapılacak anastomozların daha güvenilir olabileceğini düşünmekteyiz.

Sıçanda OSK dolaşımını sağlayan esas kaynaklar kanalı duodenuma kadar boylu boyunca birkaç parçacık şeklinde saran pankreas ve HA'dır. OSK onarımı sırasında anastomoza izin verecek düzeyde pankreas parçalarının disseke edilerek sıyrılması gerekmektedir. Hele bir de HA rekonstrüksiyonu yapılmadan gerçekleştirilen OKT modellerinde OSK dolaşımı sekteye uğramaktadır. Bunun engellenmesi için omentum veya periton gibi yapılar onarılan kanalın etrafına sarılarak OSK dolaşımının desteklenmesi amaçlanmaktadır. Her ne kadar literatürde vurgulanmayan veya araştırılmayan bir nokta da olsa, özellikle de OSK dolaşımının azalmasına sebep olan diğer faktörlerle bir araya geldiğinde, sıçan safra kanalına yerleştirilen stentlerin ince kanal duvarına mekanik bası sonucu kanal duvarının iskemisine katkı sağlayabilir.

Sıçan OKT modelinde başarıyı arttırmak amaçlı OSK rekonstrüksiyonu sırasında atılacak her adımın kanal dolaşımını gözetmesi gerekmektedir. Bu nedenle OSK onarımı zamanı safra kanalının onu çevreleyen pankreastan olabildiğince az disseke edilmesi, gereksiz diseksiyondan kaçılması, HA rekonstrüksiyonu yapılması ve mikrocerrahi sütür tekniği ile safra kanal onarımının gerçekleştirilmesi gerektiğini savunmaktayız. Yapmış olduğumuz çalışmada amniyon membranının sadece kaçak önleyecek etkisini değil, aynı zamanda vaskülarizasyonu artırıcı etkisini de kullanmayı hedeflemekteyiz.

Amniyon membranı sezeryan doğum sonrası görevini tamamlayan plasentadan elde edilen bir maddedir. Plasenta koryon ve amniyon membranından oluşmaktadır. Amniyon membranı da kendi içerisinde sünger tabaka, fibroblast tabaka, kompakt tabaka, bazal membran ve epitel tabakasından oluşmaktadır. (3,38) Amniyon membranı insan mezenşimal stromal kök hücreleri ve insan amniyon epiteli kök hücreleri gibi bir çok pluripotent kök hücreleri içinde

bulundurmaktadır. Bu kök hücreleri pluripotent olmasının yanı sıra düşük immün-uyarıcılık ve tümörjenisite özelliğine sahip olabilir. (39) Amniyon membranı bunun dışında anti-inflamatuar, anti-skar ve anti-bakteriyel özellikler taşımaktadır.(3,40)

Amniyon membranının insanda dural defekt, miyelomeningosel, bronşiyal anastomoz dehissansı, timpanik membran hasarı, oronazal fistül, faringokutanöz fistül, anal fistül, hipospadias, vezikovajinal fistül, üretrovajinal fistül ve pankreatojejunal anastomoz gibi iç organ patolojilerinde kullanıldığı bildirilmiştir.(41,42) Amniyon membranı bir çok farklı disiplinde karmaşık, çözülmesi zor engelleri aşmak amaçlı kullanılmaktadır.

Vücutta farklı yapıların anastomozu sonrasında anastomozla ilgili genel komplikasyonlar olan tıkanma, kaçak gibi sorunlarla karşılaşabilmektedir. Bu ister damar anastomozu, ister pankreatikojejunal anastomoz, isterse de safra kanal anastomozu olsun. Amniyon membranının yukarıda sıralanan avantajlarını göz önüne alırsak onun anastomoz patensini arttırmak amaçlı kullanılmasına da şaşırılmamalıdır. Daha öncesinde damar anastomozu etrafına sarılan amniyon membranının kullanılmasıyla daha az dikiş ile patent damar anastomozu gerçekleştirilebileceği deneysel çalışmada gösterilmiştir.(4) Koyun eksternaljuguler veninde rulo haline getirilen amniyon membranının vasküler konduit olarak da kullanılabileceğine dair çalışma da mevcuttur.(43)Sıçanlarda gerçekleştirilen başka bir çalışmada vaz deferans anastomozu etrafına sarılan amniyon membranının işlem başarısını arttırdığı gösterilmiştir.(44)Kolon anastomozu etrafına sarılan amniyon membranının peritoneal sepsisi önlediği, sadece sütür ile anastomoz tekniğine nazaran daha güvenli olduğu bildirilmiştir.(45)

Plastik cerrahide yanık yarısında, diyabetik ayakta, kronik vasküler ülser, toksik epidermal nekroliz ve hipertrofik skar tedavisinde amniyon membranı kullanımı bilinmektedir. (3)

Bu kullanım alanlarının yanı sıra doku mühendisliği ile üretime elverişli olması nedeniyle deselülerize edilmiş formları rejenere olacak hücreler için kalıp oluşturduğundan özellikle oftalmolojide greft olarak yaygın kullanılmaktadır.(38) Amniyon membranının bazal membran tabakasındaki ekstraselüler komponentler doku mühendisliği ile hücre ekimi için elverişli ve uygun kalıpların oluşturulmasına katkı sağlar.(46)

Literatürde sıçan ortotopik karaciğer nakil modellerinde ortak safra kanalı rekonstrüksiyonu için herhangi bir yabancı materyal kullanılmadan sütür ile mikrocerrahi uç uca anastomoz tekniğinin ihmal edildiği veya araştırmacılar tarafından tercih edilmediği görülmektedir.

Yabancı materyallere bağlı oluşan komplikasyonları da göz önünde bulundurursak bunun gereksiz olduğunu görürüz. (9,19,36)

Amniyon membranının karaciğerin etrafına sarılmasının safra kanal ligasyonu ile oluşturulan karaciğer fibrozis modelinde antifibrotik özelliği sayesinde fibrozisi azalttığı

gösterilmiştir.(40,47) Tüm bu bilgiler ışığında hem anastomoz ile ilgili komplikasyonların önlenmesinde, hem de karaciğerde ve operasyon bölgesinde geçirilmiş cerrahiye bağlı oluşabilecek fibrozisin engellenmesi amaçlı safra kanal anastomozlarının amniyon membranı yardımıyla gerçekleştirilmesini savunmaktayız.



6. SONUÇ

Karaciğer nakli sonrası en sık karşılaşılan problemlerden biri olan safra kanal anastomozunun başarısını artırarak bununla ilgili komplikasyonların önlenebileceği açıktır. Sadece erken dönemde değil, geç dönemde de ortaya çıkan safra yollarından kaynaklı sinsi komplikasyonlar ciddi morbiditeye sebep olmaktadır. Amniyon membranı yardımcı safra kanal anastomoz tekniği ister sıçanda deneysel ortotopik karaciğer transplantasyonu modellerinde, isterse de klinik uygulamalarda, amniyon membranının kolay elde edilebilmesi ve elverişli biyolojik özellikleri göz önüne alındığında rahatlıkla kullanılabilir. Gelecekte amniyon membranı yardımıyla yapılacak olan safra kanal anastomoz modelleri ile ilgili çalışmaların literatürdeki bu boşluğu dolduracağını ve insanlarda da kullanımını yaygınlaştırarak rutin klinik pratiğimizin bir parçası olacağı kanaatindeyiz.



7.ABSTRACT

With the introduction of liver transplantation, cirrhosis is no longer the fatal end-stage of liver failure. As liver transplant surgery became widespread, various complications related to it has risen. Complications related to bile duct anastomosis are relatively common. These complications not only cause additional morbidity but also prolong the hospitalization period of the patient, hindering the recovery and rehabilitation process after liver transplantation. The aim of our study is to introduce a surgical technique that can be used in many different clinical scenarios requiring bile duct anastomosis including liver transplantation. For this purpose, an experiment was designed using 30 Wistar-Albino rats. Eight of them were in the sham operation control group, in which only the common bile duct dissection and exposition were done without any additional surgical intervention. 11 animals were included in the anastomosis (control) group; in which after the common bile duct was cut at its widest point, anastomosis was performed with an end-to-end microsurgery anastomosis technique with nylon sutures. 11 animals were included in the experimental group; in which after the common bile duct was cut, an end-to-end anastomosis was made with microsurgical anastomosis and amniotic membrane wrapped around. To reveal the effects of the amniotic membrane on anastomosis patency, it was demonstrated radiologically by administering contrast material from the distal to the anastomosis under general anesthesia at the postoperative first week and animals' livers were removed to show the histological findings. As a result, although there was no difference between the anastomosis and the experimental group macroscopically and radiologically at the exploration performed at the postoperative first week, a significant difference was found in the total Verhofstadt score in the liver materials of the experimental group microscopically. Although there are many clinical implications, this topic could not get enough amount of attention from researchers. Our study sheds light on a neglected area in literature. We think, in the future our experimental model will guide the studies to be done in this field and will contribute to the literature which could lead to clinical applications.

Keywords: Bile ducts; Liver Transplantations; Amnion; Bile; Fibrosis

8. KAYNAKÇA

1. A Reconstruction of the Hippocratic Humoral Theory of Health Author (s): W . Balzer and A . Eleftheriadis Source : Journal for General Philosophy of Science / Zeitschrift für allgemeine Published by : Springer Stable URL : [http://www.jstor.org/stable/25.2010;22\(2\):207-27](http://www.jstor.org/stable/25.2010;22(2):207-27).
2. Lippi D, Caleri D, Bucalossi A, Rotella CM. The role of liver in glucose homeostasis in type 2 diabetes: The modernity of claudes bernard's studies. *Diabetes Metab Rev.* 1994;10(1):63-74.
3. Munoz-Torres JR, Martínez-González SB, Lozano-Luján AD, Martínez-Vázquez MC, Velasco-Elizondo P, Garza-Veloz I, et al. Biological properties and surgical applications of the human amniotic membrane. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;10(January):1-20.
4. Ercin BS, Bicer A, Yigitturk G, Cinar C, Cavusoglu T, Uyanikgil Y, et al. Who needs extra time? Amniotic membrane wrapped pauci-suture model for rapid anastomoses *. *J Plast Surg Hand Surg [Internet].* 2019;53(2):89-96. Available from: <https://doi.org/10.1080/2000656X.2018.1550419>
5. Willatts SM. The liver. *Curr Anaesth Crit Care.* 1990;1(4):195.
6. Lamers WH, Hilberts A, Furt E, Smith J, Jonges GN, van Noorden CJF, et al. Hepatic enzymic zonation: A reevaluation of the concept of the liver acinus. *Hepatology.* 1989;10(1):72-6.
7. Strazzabosco M, Fabris L. Functional anatomy of normal bile ducts. *Anat Rec.* 2008;291(6):653-60.
8. Meirelles Júnior RF erreir., Salvalaggio P, Rezende MB run. de, Evangelista AS, Guardia BD ell., Matiello CE duard. L, et al. Liver transplantation: history, outcomes and perspectives. *Einstein (Sao Paulo).* 2015;13(1):149-52.
9. Nagai K, Yagi S, Uemoto S, Tolba RH. Surgical procedures for a rat model of partial orthotopic liver transplantation with hepatic arterial reconstruction. *J Vis Exp.* 2013;(73):1-14.
10. Chansorn C, Lineaweaver WC, Tonken H, Zhang F, Campagna-Pinto D, Newlin L, et al. Primary common bile duct anastomosis in the rat using microsurgical techniques. *Microsurgery.* 1994;15(12):857-64.
11. Higashiyama H, Uemura M, Igarashi H, Kurohmaru M, Kanai-Azuma M, Kanai Y. Anatomy and development of the extrahepatic biliary system in mouse and rat: a perspective on the evolutionary loss of the gallbladder. *J Anat.* 2018;232(1):134-45.
12. Kogure K, Ishizaki M, Nemoto M, Kuwano H, Makuuchi M. A comparative study of the anatomy of rat and human livers. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 1999;6(2):171-5.
13. Hori T, Nguyen JH, Zhao X, Ogura Y, Hata T, Yagi S, et al. Comprehensive and innovative techniques for liver transplantation in rats: A surgical guide. *World J Gastroenterol.* 2010;16(25):3120-32.
14. Howden B, Jablonski P, Grossman H, Marshall VC. The importance of the hepatic artery in rat liver transplantation. Vol. 47, *Transplantation.* 1989. p. 428-31.
15. Zhonghua C, Suisheng X. A new technique of orthotopic liver transplantation in the rat. Vol. 3, *Acta Academiae Medicinae Wuhan.* 1983. p. 143-6.
16. Delrivière L, Gibbs P, Kobayashi E, Goto S, Kamada N, Gianello P. Technical details for safer venous and biliary anastomoses for liver transplantation in the rat. *Microsurgery.* 1998;18(1):12-8.
17. Management D, Dissection P. Detailed Modified Technique for Safer Harvesting and. *Liver.* 1998;
18. Lee S, Charters AC, Orloff MJ. Simplified technic for orthotopic liver transplantation in the rat. *Am J Surg.* 1975;130(1):38-40.
19. Miyata M, Fischer JH, Fuhs M, Isselhard W, Kasai Y. A simple method for orthotopic

- liver transplantation in the rat: Cuff technique for three vascular anastomoses. Vol. 30, Transplantation. 1980. p. 335–8.
20. Wang H, Li C, Xu H, Hu J, Zhang A, Ye S, et al. Precise Reconstruction of Veins and Bile Ducts in Rat Liver Transplantation. *Cell Biochem Biophys*. 2014;68(1):55–65.
 21. Tan F, Chen Z, Zhao Y, Liang T, Li J, Wei J. Novel technique for suprahepatic vena cava reconstruction in rat orthotopic liver transplantation. *Microsurgery*. 2005;25(7):556–60.
 22. Yang L, Lu J, Wang Y, Zhang M, Shi Y, Wei S, et al. A rat model of orthotopic liver transplantation using a novel magnetic anastomosis technique for suprahepatic vena cava reconstruction. *J Vis Exp*. 2018;2018(133):1–7.
 23. Oldani G, Maestri M, Gaspari A, Lillo E, Angelastri G, Matteo Lenti L, et al. A Novel Technique for Rat Liver Transplantation Using Quick Linker System: A Preliminary Result. *J Surg Res*. 2008;149(2):303–9.
 24. Marni A, Ferrero ME. A four-technique comparative study of orthotopic liver transplantation in the rat. *Am J Surg*. 1988;156(3):209–13.
 25. Tawadrous MN, Zimmermann A, Zhang XY, Wheatley AM. Persistence of impaired hepatic microcirculation after nonarterialized liver transplantation in the rat. *Microcirculation*. 2002;9(5):363–75.
 26. impact of arterialization on microcirculation.pdf.
 27. Kashfi A, Mehrabi A, Pahlavan PS, Schemmer P, Gutt CN, Friess H, et al. A review of various techniques of orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplant Proc*. 2005;37(1):185–8.
 28. Los UMDECDE. No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析Title.
 29. N Kamada RYC. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation* [Internet]. 1979; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/377595/>
 30. Kitakado Y, Tanaka K, Asonuma K, Uemoto S. A New Bioabsorbable Material for Rat Orthotopic Liver Transplantation. 1991;366–70.
 31. F A Zimmermann, D J White, J M Gokel RYC. Orthotopic liver transplantation in rats. Prolonging of survival time of allotransplants using cyclosporin A in an acute rejection model. *Chir Forum Exp Klin Forsch* [Internet]. 1979; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/378595/>
 32. Spiegel HU, Palmes D. Surgical techniques of orthotopic rat liver transplantation. *J Invest Surg*. 1998;11(2):83–96.
 33. Song G, Zhao HQ, Liu Q, Fan Z. Bioactive Materials A review on biodegradable biliary stents : materials and future trends. *Bioact Mater* [Internet]. 2022;17(December 2021):488–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.01.017>
 34. Sohn SH, Park JH, Kim KH, Kim TN. Complications and management of forgotten long-term biliary stents. *World J Gastroenterol*. 2017;23(4):622–8.
 35. Lam R, Muniraj T. Fully covered metal biliary stents: A review of the literature. *World J Gastroenterol*. 2021;27(38):6357–73.
 36. Kundu R, Pleskow D. Biliary and Pancreatic Stents: Complications and Management. *Tech Gastrointest Endosc*. 2007;9(2):125–34.
 37. Mittal A, Hossain A, Amer K, Khrais A, Verma S. A Novel Case of Biliary Stent Migration Causing Sigmoid Diverticula Entrapment. 2023;15(5):14–6.
 38. Arrizabalaga JH, Nollert MU. Human Amniotic Membrane: A Versatile Scaffold for Tissue Engineering. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018;4(7):2226–36.
 39. Qiu C, Ge Z, Cui W, Yu L, Li J. Human amniotic epithelial stem cells: A promising seed cell for clinical applications. *Int J Mol Sci*. 2020;21(20):1–26.
 40. Mamede KM, Sant’Anna LB. Antifibrotic effects of total or partial application of

- amniotic membrane in hepatic fibrosis. *An Acad Bras Cienc.* 2019;91(3):1–14.
41. Maljaars LP, Bendaoud S, Kastelein AW, Guler Z, Hooijmans CR, Roovers JPWR. Application of amniotic membranes in reconstructive surgery of internal organs—A systematic review and meta-analysis. *J Tissue Eng Regen Med.* 2022;16(12):1069–90.
 42. Frigerio I, Bannone E, Trojan D, Montagner G, Bergamaschi G, Butturini G. Implantation of amniotic membrane over pancreatic anastomosis after pancreaticoduodenectomy: report of the first case. *J Surg Case Reports.* 2019;2019(5):1–3.
 43. Peirovi H, Rezvani N, Hajinasrollah M, Mohammadi SS, Niknejad H. Implantation of amniotic membrane as a vascular substitute in the external jugular vein of juvenile sheep. *J Vasc Surg [Internet].* 2012;56(4):1098–104. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2012.02.036>
 44. Demir S, Ertürk A, Zengin M, Yildiz D, Karahan S, Şenel E. Contribution of amniotic membrane to the healing of iatrogenic vas deferens injury. *Turkish J Med Sci.* 2021;51(3):1564–71.
 45. Uludag M, Citgez B, Ozkaya O, Yetkin G, Ozcan O, Polat N, et al. Effects of amniotic membrane on the healing of primary colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of secondary peritonitis in rats. *Int J Colorectal Dis.* 2009;24(5):559–67.
 46. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, Ahmadiani A, Ghanavi J, Seifalian AM. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cells Mater.* 2008;15:88–99.
 47. Sant’Anna LB, Brito FS, Barja PR, Nicodemo MC. Long-term effects of human amniotic membrane in a rat model of biliary fibrosis. *Brazilian J Med Biol Res.* 2017;50(7):1–12.

9. EKLER

Etik Kurul Onay Belgesi

EGE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

SAYI: 2022-074 30.11.2022
KONU: Onay

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda “**AMNİON MEMBRANI YARDIMLI SAFRA KANAL ANASTOMOZU**” isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Yürütücü: Doç. Dr. Ahmet BİÇER, EÜTF Plastik ve Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD
Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL, EÜTF Histoloji-Embriyoloji AD
Arş. Gör. Dr. Vasif MAMMADOV, EÜTF Plastik ve Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD
Dok. Öğr. Cansın ŞİRİN, EÜTF Histoloji-Embriyoloji AD

Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda 30 adet Wistar Albino sıçan deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurumumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.