

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI



**POLİSAKKARİT BAZLI JEL ORTAMINDA
KOLAYLAŞTIRILMIŞ MİKROVASKÜLER
ANASTOMOZ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HASAN KÖMÜRCÜ

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. HAKAN ARSLAN**

İSTANBUL-2019

TEŞEKKÜR

İhtisas hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, hekimliğin doğrularını öğrendiğim, üzerimde emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Oğuz ÇETİNKALE, Prof. Dr. Yağmur AYDIN, Prof. Dr. Arif TÜRKMEN, Doç. Dr. Hakan ARSLAN, Doç. Dr. Semih BAĞHAKİ ve Uzm. Dr. Anıl DEMİRÖZ'e sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

İhtisas hayatım boyunca uyarı ve tavsiyeleriyle gelişimime katkı sunan tez danışmanı hocam Doç. Dr. Hakan ARSLAN'a, tez çalışması için yaptığı katkılardan ötürü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Övgü AYDIN'a, tezimde kullandığım materyalin üretiminde ve geliştirilmesinde beraber emek verdiğimiz İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde görevli Prof. Dr. Fatma Seniha GÜNER'e, doktora öğrencileri Yük. Müh. Banu KOCAAĞA ve Yük. Müh. Tuğçe İNAN'a, tezimin yapılmasında benimle birlikte emeği geçen çalışma arkadaşlarım Dr. Shamil SULEYMANOV'a, Dr. Uğur ÇELİK'e, tüm ihtisasım boyunca kader birliği yaptığım çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Tuğba Feryal YILDIZ'a, Dr. Mehmet Beşir ÖNER'e, Dr. Başak DAĞHAN'a, Dr. Koray TEMİZ'e, Dr. Fatih ÇINAR'a, Dr. Servet Yekta AYDIN'a, Dr. Mehmet GÜR'e, katkı ve desteğini esirgemeyen Marmara Üniversitesi Plastik Cerrahi Anabilim Dalı'nda görevli Dr. Mehmet CÖMERT'e, sunduğu katkılardan ötürü Dr. Eda KAYA'ya, Stj. Dr. Osman ACUN'a, Plastik Cerrahi hemşire ve personeline, kapatılan Yanık Ünitesi hemşire ve personeline, ameliyathane hemşire ve personeline ve İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Anabilim Dalı Laboratuvarı çalışanlarına sonsuz teşekkür ederim. Eğitim sürem boyunca bilgi ve görgülerinden faydalandığım Uzm. Dr. Gülsüm ÇEBİ'ye, Uzm. Dr. Mirza Fırat ÇEVİRME'ye, Uzm. Dr. Uğur ŞAHİN'e, Uzm. Dr. Müge Anıl YALÇIN'a, Uzm. Dr. Mehmet Fatih OKYAY'a, Uzm. Dr. Royal KHANKİSHİYEV'e teşekkürlerimi sunarım.

İhtisas hayatım boyunca sevgi ve desteklerini hep arkamda hissettiğim, moral ve motivasyonumu borçlu olduğum sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Hasan KÖMÜRCÜ

İstanbul 2019



**Bu alışma İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
BİRİMİ tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33261**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
RESİM LİSTESİ	vii
GRAFİK LİSTESİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Mikrocerrahinin Tanımı ve Tarihçesi	1
1.2. Damar Anastomozunda İyileşme ve Karşılaşılan Zorluklar	2
1.3. Mikrovasküler Anastomozlarda Yenilikçi Malzeme ve Yöntemler	5
1.3.1. Pin-Halka Sistemi	5
1.3.2. Stapler ve Klip	7
1.3.3. Doku Yapıştırıcılar	8
1.3.4. Termal-Lazer Enerjisi	9
1.3.5. Stent ve Tüpler	9
1.4. Yenilikçi Malzeme ve Yöntemlerin Dezavantajları	9
1.5. Pektin Hakkında Genel Bilgiler	10
2. GEREÇ VE YÖNTEM	14
2.1. Cerrahi Teknik	15
2.2. Patens Testleri ve Örneklerin Alınması	19
2.3. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme	21
2.4. İstatistiksel İnceleme	22

3. BULGULAR	24
3.1. Anastomoz Patenslerinin Karşılaştırılması	25
3.2. Anastomoz Sürelerinin Karşılaştırılması	26
3.3. Sütür Sayılarının Karşılaştırılması	26
3.4. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal İnceleme.....	27
3.4.1. Dev Hücre Sayılarının Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	27
3.4.2. CD 68(+) Hücre Sayılarının Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	28
3.4.3. Lümen Genişliği Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	29
3.4.4. Duvar Kalınlığı Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	30
3.4.5. Histiyoit Skorlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması	31
3.4.6. Fibrozis Skorlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	32
4. TARTIŞMA.....	33
5. SONUÇ	56
6. KAYNAKLAR.....	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Deney ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi	14
Tablo 2: Deney ve Kontrol Gruplarının Anastomoz Süresi, Sütür Sayısı ve Histopatolojik Değerlendirmelerinin Karşılaştırılması.....	24
Tablo 3: Deney ve Kontrol Gruplarının Histiyosit ve Fibrozis Skorlarının Karşılaştırılması	25
Tablo 4: Deney ve Kontrol Gruplarında Anastomoz Patens Verileri.....	25



RESİM LİSTESİ

Resim 1: 120° Eşit Aralıklı 3 Sütürle Başlanan Triangulasyon Tekniği	1
Resim 2: Primatta Ayaktan Ele Parmak Transferi	2
Resim 3: Damar Lümeni Dilatasyonu	4
Resim 4: İskemi Reperfüzyon Hasarı Reaksiyonları	4
Resim 5: Unilink Sistem (Coupler Device)	6
Resim 6: VCS (Vascular Clipping System) Aplikatörü	7
Resim 7: VCS ile Yapılan Damar Anastomozu.....	8
Resim 8: Pektinin Kimyasal Yapısı	11
Resim 9: Yumurta Kutusu Yapısı	11
Resim 10: Arteriotomi Öncesi Femoral Arter. Femoral arter, damar sinir paketinden diseke edildikten sonra, arka planda kağıt cetvel ile arter çapının yaklaşık 0.6-0.7 mm olduğu gösterilmiştir.	16
Resim 11: Kontrol Grubunda Arteriotomi Sonrası Damar Uçlarının Pozisyonu	17
Resim 12: Kontrol Grubunda Arteriotomi Sonrası Damar Ağzının Kollapsı	17
Resim 13: Deney Grubunda Arteriotomi Sonrası Damar Uçları. Deney grubunda jel ortamında lümen kollapsının olmadığı ve damarın yerçekimsiz ortamda sabit kaldığı görülmektedir.	18
Resim 14: Deney Grubunda Sütür Atılması. Damar uçlarında kollaps olmadığı için sütür atılması sırasında arka duvar kontrolü daha kolay yapılmaktadır.	18
Resim 15: Jel Ortamda Anastomoz Esnasında Görünüm.....	19
Resim 16: Patens Kayıt Düzeneği	20
Resim 17: Patens Testlerinin Kayıt Altına Alınması.....	20
Resim 18: Titanyum Klips ile Yapılan Anastomoz Sonrası Lümente Darlık.....	36
Resim 19: Anastomoz Ortamına Önce Pektin, Ardından Kalsiyum Klorür Eklenmesi. 41	
Resim 20: Pektin Kalsiyum Klorür 3 Boyutlu Jel Matris Yapısı	41

Resim 21: Sıçan Femoral Arterin Milimetrik Skala Üzerinde Görüntüsü Çalışmamızda anastomozlar sıçan femoral arteri üzerinde yapılmış olup, damar çapları 0.6-0.8 mm aralığında ölçülmüştür (Crownjun Micro Scale).	43
Resim 22: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Deney Grubu x100.....	45
Resim 23: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Deney Grubu x400.....	45
Resim 24: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Kontrol Grubu x100.....	46
Resim 25: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Kontrol Grubu x400.....	46
Resim 26: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Deney Grubu x100.....	47
Resim 27: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Deney Grubu x400.....	47
Resim 28: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x100.....	48
Resim 29: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x400.....	48
Resim 30: CD 68 Antikor Boyama 6. Hafta Deney Grubu x400	52
Resim 31: CD 68 Antikor Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x400	52
Resim 32: Retikülin Boyama 1. Hafta Deney Grubu x400	54
Resim 33: Retikülin Boyama 1. Hafta Kontrol Grubu x400	54
Resim 34: Retikülin Boyama 6. Hafta Deney Grubu x400	55
Resim 35: Retikülin Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x400	55

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Deney ve Kontrol Gruplarında Anastomoz Sürelerinin Karşılaştırılması.....	26
Grafik 2: Deney ve Kontrol Gruplarında Sütür Sayılarının Karşılaştırılması	26
Grafik 3: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Dev Hücre Sayılarının Karşılaştırılması	27
Grafik 4: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta CD 68(+) Hücre Sayılarının Karşılaştırılması	28
Grafik 5: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Lümen Genişliğinin Karşılaştırılması	29
Grafik 6: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Duvar Kalınlığının Karşılaştırılması	30
Grafik 7: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Histiyosit Skorlarının Karşılaştırılması	31
Grafik 8: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Fibrozis Skorlarının Karşılaştırılması	32

ÖZET

POLİSAKKARİT BAZLI JEL ORTAMINDA KOLAYLAŞTIRILMIŞ MİKROVASKÜLER ANASTOMOZ

Amaç: Mikrocerrahi damar anastomozunda altın standart yöntem geleneksel sütür anastomozudur. Geleneksel sütür anastomozu teknik olarak zor, tecrübe gerektiren ve zaman alıcı bir yöntemdir. Bu çalışmanın amacı, geleneksel sütür anastomozunun yeni bir bakış açısıyla pektin kalsiyum klorür jel ortamında daha kolay ve hızlı yapılmasıdır.

Yöntemler: 24 adet erkek Sprague Dawley sıçan 2 gruba ayrılmıştır. Tüm gruplarda sağ femoral arterde uç-uca sütür anastomozu yapılmıştır. Deney grubunda, arteriyotomi öncesi anastomoz ortamına pektin kalsiyum klorür jel enjeksiyonu yapılmıştır. Kontrol grubunda bu enjeksiyon yapılmamıştır. Anastomoz süreleri ölçülmüş, sütür sayıları kaydedilmiştir. Anastomozdan hemen sonra ve histolojik örnekler alınmadan hemen önce patens testleri yapılmıştır. Gruplar kendi aralarında 1. ve 6. hafta sakrifiye edilmek üzere 2 alt gruba ayrılmıştır. Doku örneklerinde dev hücre sayısı, CD 68(+) hücre sayısı, lümen genişliği, duvar kalınlığı, inflamasyon ve fibrozis değerlendirmeleri yapılmıştır.

Bulgular: Her iki grupta anastomoz patens oranları 8/11 (%72) olarak bulunmuştur. Anastomoz süreleri deney grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,001$). CD 68(+) hücre sayısı 6. hafta deney grubunda 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,009$). Histiyosit skorları 1. hafta deney grubunda, 1. hafta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). Fibrozis skorları 1. hafta deney grubunda, 1. hafta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,006$).

Sonuçlar: Pektin kalsiyum klorür 3 boyutlu jel ortamı mikrocerrahi damar anastomozunun daha hızlı yapılmasını sağlamıştır. İki grupta patens oranlarının aynı olması jelin trombozu artırmadığını düşündürmüştür. Ancak jel kullanımının damar duvarında inflamasyonu artırdığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikrocerrahi, Mikrovasküler anastomoz, Pektin

ABSTRACT

FACILITATED MICROVASCULAR ANASTOMOSIS IN POLYSACCHARIDE BASED GEL ENVIRONMENT

Background: Conventional suture technique is the gold standart method in microvascular anastomosis. This is a technically hard method, which is also time consuming and requires experience. The aim of this study is to simplify and facilitate conventional suture technique with a new perspective by using pectin calcium chloride.

Methods: 24 Sprague-Dawley rats were divided into two groups. In all groups, right femoral artery end-to-end anastomosis was performed. In the experimental group, pectin calcium chloride gel was injected into anastomosis field before arteriotomy. This injection wasn't performed in the control group. Groups were divided into two subgroups between themselves as to be sacrificed in the first and sixth weeks. Anastomosis time was measured, suture numbers were recorded. Patency tests were performed both after anastomosis and just before collecting histological samples. Giant cell numbers, CD 68(+) cell numbers, lumen width, wall thickness, inflammation and fibrosis were evaluated.

Results: Anastomosis patency rates were 8/11 (%72) in both groups. Anastomosis time was found significantly lower in the experimental group than in the control group ($p < 0,001$). In the sixth week subgroups, CD 68(+) cell numbers significantly higher in the experimental group than in the control group ($p < 0,05$). In the first week subgroups, histiocyte scores in the experimental group, was significantly higher than in the control group ($p < 0,05$). In the first week subgroups, fibrosis scores in the experimental group, was significantly higher than in the control group ($p < 0,05$).

Conclusions: Pectin calcium chloride 3 dimensional gel environment, has enabled anastomosis to be performed more rapidly. The same patency rates in both groups suggest that it doesn't increase thrombosis. However, it was observed that using of this gel, resulted in increased vessel wall inflammation.

Keywords: Microsurgery, Microvascular anastomosis, Pectin

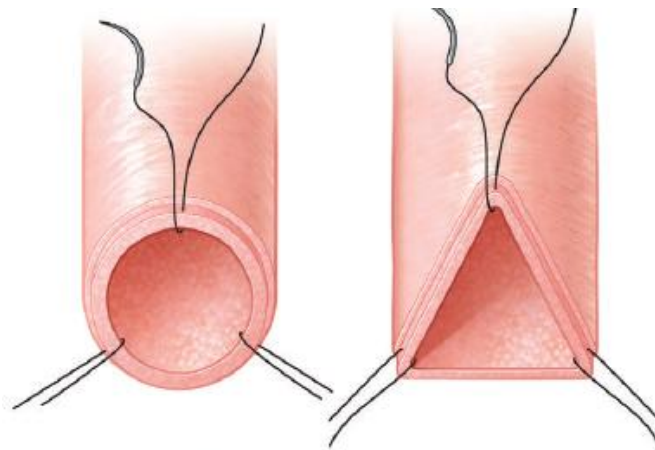
1. GİRİŞ

1.1. Mikrocerrahinin Tanımı ve Tarihçesi

Mikrocerrahi; gelişmiş diploskoplarla büyütme, özel hassas aletler kullanımı ve farklı operasyon tekniklerinin kombinasyonundan oluşan bir cerrahi disiplindir. Bu teknikler primer olarak küçük kan damarlarının anastomozunda ve sinirlerin koaptasyonunda kullanılır.

Mikrocerrahi damar anastomozu, 1-2 mm çaplı damarların mikrodikişler ile optik büyütme altında birbirine dikilmesi işlemidir. Mikroskopların gelişmesi, tekniğin ve aletlerin iyileştirilmesi, görüntüleme yöntemlerinin ilerlemesiyle süpermikrocerrahi olarak adlandırılan, çapı 0.8 mm'nin altındaki damarların anastomozu mümkün hale gelmiştir (1).

Halowell, 1759 yılında ilk kez kısmi brakial arter yaralanmasını onarmıştır (2). Tam anlamıyla damar anastomozu ilk kez Vladimirovic Eck tarafından köpeklerde portal ven-vena cava inferior arasında ve uç-yan anastomoz tekniğiyle yapılmıştır. 1897 yılında Murphy, femoral arteri uç-uca anastomoz yaparak insanda başarılı olan ilk damar anastomozunu yapmıştır (3). Alexis Carrel, 1902 yılında geliştirdiği triangulasyon tekniğiyle yeni bir ufuk açmış, 1912 yılında damar anastomozu, organ ve kan damarı nakline sunduğu katkılarla Nobel Ödülü kazanmıştır (Resim 1).



Resim 1: 120° Eşit Aralıklı 3 Sütürle Başlanan Triangulasyon Tekniği

(Wei, F.C., Tay, S.K.L. 2013. Principles and techniques of microvascular surgery 599. Plastic Surgery 3rd Edition Volume 6. Neligan P.C. Elsevier kaynağından alıntıdır.)

1960 yılında Jacobson ve Suarez tarafından binokuler mikroskop, çapı 1 mm'ye kadar olan damar anastomozlarında kullanılmış ve böylece mikroskop, mikrocerrahi sahnesindeki yerini almıştır (4,5). Buradan itibaren mikroskop; periferik sinir cerrahisi, plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile deneysel çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (6–8).

1962 yılında ilk kez; tren kazasında kopan bir kol Malt ve Mckhan tarafından yerine dikilmiştir (9). 1965 yılında ilk kez kopan bir parmak Komatsu ve Tamai tarafından yerine dikilmiştir (2). Modern rekonstrüktif mikrocerrahinin kurucusu olarak kabul edilen Amerikan plastik cerrah Harry J. Buncke, 1966 yılında çapı yaklaşık 1 mm damarlarda başarılı anastomozlarla primatta ayaktan ele parmak transferini başarmıştır (10) , (Resim 2).



Resim 2: Primatta Ayaktan Ele Parmak Transferi

(Buncke ve arkadaşlarının “Immediate Nicoladoni procedure in the rhesus monkey, or hallux-to-hand transplantation, utilising microminiature vascular anastomoses” Br. J. Plast. Surg., 1966. yayımından alınmıştır.)

1.2. Damar Anastomozunda İyileşme ve Karşılaşılan Zorluklar

Mikrocerrahi damar anastomozu teknik olarak oldukça zor ve zaman alıcıdır. Bu nedenle eğitim, sabır ve beceri gerektirir (11,12). Başarılı bir damar anastomozu sonrası iyileşme süreci hemen başlar, 7. günde endotelizasyon tamamlanır ve 3. ay sonunda yabancı cisim reaksiyonu son bulur (13). Bu sürecin en kritik basamağı endotelizasyonun tamamlanmasıdır ve şöyle özetlenebilir:

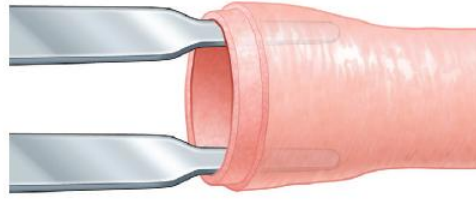
Damar anastomozunu takiben dakikalar içerisinde trombositler, subintimal yapıların ekspoz olduğu alanlarda yoğunlaşarak hasarlı endotel yüzeyini kaplar. Bundan dakikalar sonra fibrin tıkaç oluşumu başlar ve endotel defektini kapatır. 24. saatte fibrin tıkaç kalınlaşır ve stabil hale gelir. 3. günden itibaren, intakt endotel yüzeyinden kan akımına paralel uzanacak şekilde endotel proliferasyonu başlar, sütür delikleri ve anastomoz hattındaki fibrin iskeletin üzerini örter. 5. gün sonunda psödointima formasyonu oluşur ve bu endotel kan akımına paralel uzanımı ve zayıf hücrelerarası bağlantıları ile tanınır. 7-8. günlerde endotelizasyon tamamlanır ve iç bakışta normal endotele yakın bir görünüm alır (14–16). Bu nedenle damar anastomozu sonrası ilk 3-5 gün tromboz açısından oldukça kritiktir.

Damar anastomozu sonrası anastomoz başarısızlığına neden olan en sık problem tromboza bağlı damarın tıkanmasıdır (17,18). Tromboz, sıklıkla operasyondan sonraki 48 saat içinde gözlenir ve venöz tromboz, arteriyel trombozdan daha sıktır (18). Tromboza neden olan teknik faktörler, damar ağızlarının karşılıklı düzgün hizalanamaması, damar duvarlarının birbirine yapışma meyli nedeniyle dikişlerin doğru yerlere yerleştirilememesi, tekrarlayan dikiş denemeleri sonucunda oluşan iyatrojenik intima hasarı, çok fazla sayıda ve çok sıkı dikiş konulması, dikiş aralıklarının eşit olmaması ve gergin damar onarımıdır (19,20). Günümüzde, rekonstrüktif mikrovasküler cerrahi serbest doku nakli, replantasyon ve transplantasyon ameliyatlarında %90'ın üzerinde başarı oranı ile uygulanmaktadır (18,21,22).

Damar anastomozunda altın standart yöntem geleneksel sütür anastomozudur. Bu durumun birçok sebebi vardır. En önemli sebepleri sütür yönteminin maliyetinin ucuz olması, yıllardır kullanılagelmesi ile tekniğin oturmuş olması, çap ve duvar uyumsuzluğu gibi sorunların üstesinden gelmesi, esnekliğini kaybetmiş, radyoterapi görmüş sert damar uçlarında kullanılabilmesidir (23–25).

Geleneksel sütür anastomozunun bazı dezavantajları bulunmaktadır:

1- Venlerde daha bariz olmak üzere, klemp uygulanması sonrası lümen kollaps (büzüşme) olmaktadır. Atılan dikişin arka duvardan geçme riskini önlemek için damar lümenine mikropenset sokularak ön ve arka duvar birbirinden uzaklaştırılır, damar lümeni görünür hale getirilir (Resim 3). Bu işlemin tekrar edilmesi damarı travmatize edebilir (12,23,26).

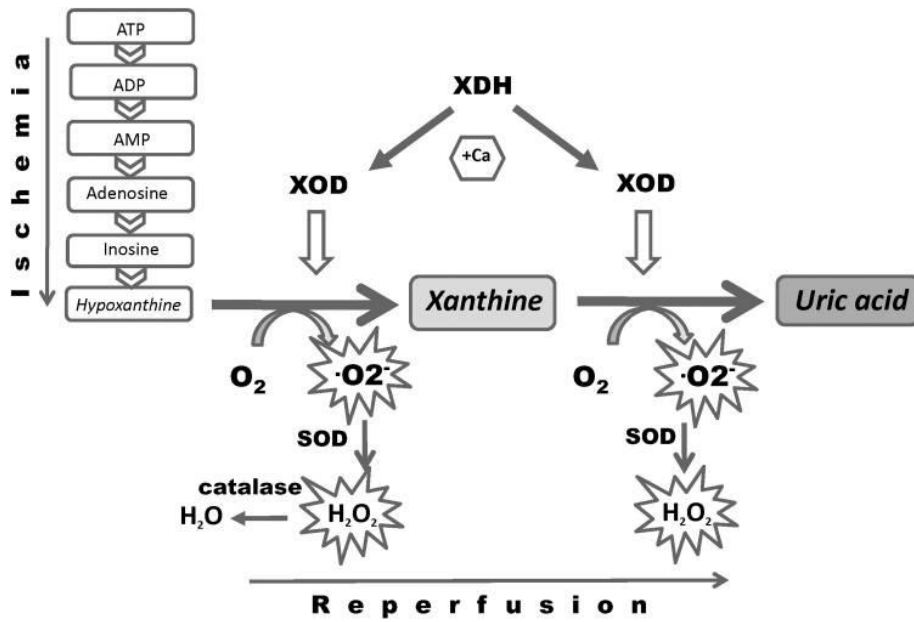


Resim 3: Damar Lümeni Dilatasyonu

(Wei, F.C., Tay, S.K.L. 2013. Principles and techniques of microvascular surgery 598. Plastic Surgery 3rd Edition Volume 6. Neligan P.C. Elsevier kaynağından alınmıştır.)

2- Tespit dikişleri yardımıyla traksiyona alınınca damar duvarında yırtılma şeklinde hasar oluşabilir (19,26).

3- Geleneksel yöntem zaman alıcıdır (23,24,27). Mikrocerrahi süresince dokular belirli bir süre için iskemi altında kalırlar. Anastomoz süresinin uzun olması, iskemi süresini artıracığından dolayı, iskemi reperfüzyon hasarı ile yakın ilişkilidir. Kas dokusu başta olmak üzere, dokular iskemiye duyarlıdır (28,29). Uzayan iskemi sonrası ATP'nin anaerobik metaboliti olan hipoksantin düzeyi artar. Reperfüzyonda bu hipoksantin ile oksijenin tepkimeye girmesi sonrasında oluşan oksijen radikalleri ve artan sitozolik Ca^{+2} düzeyleri endotel hasarına, damar duvarı geçirgenliğinin artmasına ve doku hasarına neden olur (30,31), (Resim 4).



Resim 4: İskemi Reperfüzyon Hasarı Reaksiyonları

(C. Lehner ve arkadaşları "Oxidative Stress and Blood–Brain Barrier Dysfunction Under Particular Consideration of Matrix Metalloproteinases," Antioxid. Redox Signal., 2011. yayınından alınmıştır.)

4- Damar ağızlarının her defasında birbirine yaklaştırılması veya doğru pozisyonda tutulması için mikroaletler kullanılarak tutulması damar iç ve dış dokularına hasar verebilir.

5- Operasyon sahasına sızan kan ve doku sıvıları anastomoz sahasında birikir, anastomoz bölgesinin cerrahi gazlarla veya aspiratörlerle temizlenmesi gerekir.

6- Operasyon sırasında damarların spazmı (büzüşmesi) ortaya çıkabilir. Tam olarak nedeni bilinmese de mikrocerrahi operasyonlarında yaklaşık %5-10 sıklığında görülmektedir (32). Uzamış vazospazm, intimal hasara sebep olur, 2 saatten uzun sürerse endotel tabakasının kaybıyla sonuçlanır (19). Bu nedenle diseksiyon sonrası topikal lidokain veya papaverin uygulanır. Yine operasyon sırasında damar ve çevre dokular açıkta kaldığından dolayı kuruma meydana gelir (33). Bunun için fizyolojik sıvılarla devamlı yıkama yapmak gerekir. Bu hareketler cerrahın optik büyütme altında dikkatini dağıtabilir, yerleşimini bozabilir.

7- Kullanılan mikrodikişin serbest ucu, dikiş atarken dokulara yapışabilir, gömülebilir. Bu durum ipi çekerken farkedilmezse ip kopabilir, damar yırtılabilir. Ayrıca ipin serbest ucunu tutarken damar uçları gerilerek yırtılabilir.

8- Cerrahi tecrübe gerektirir (33).

Bu dezavantajları ortadan kaldıracak yenilikçi malzeme ve yöntemler, uzun yıllardır birçok mikrocerrahi çalışmaya konu olmuştur.

1.3. Mikrovasküler Anastomozlarda Yenilikçi Malzeme ve Yöntemler

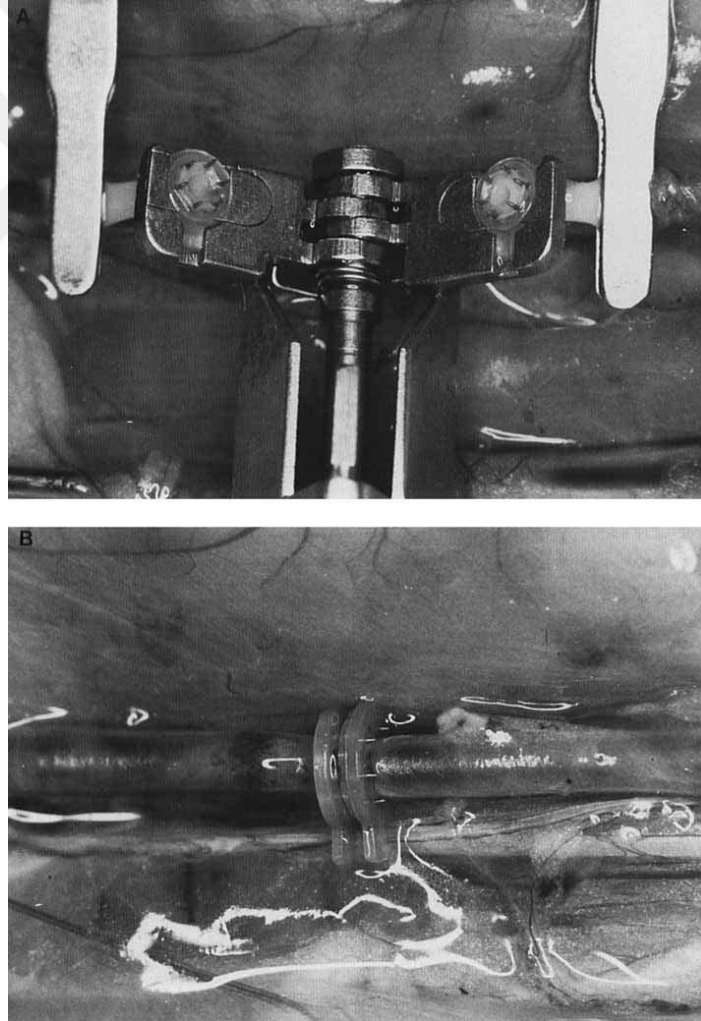
1.3.1. Pin-Halka Sistemi

1962 yılında Nakayema ve arkadaşları çift metal halka ve bunları birbirine kenetleyen pinlerden oluşan kalıcı damar içi implantı tanımlamışlardır (34). 1986 yılında Östrup ve Berggren pin-halka sistemi adaptasyonundan oluşan Unilink Sistem (3M, St. Paul MN, USA) veya bağlayıcı cihaz olarak bilinen sistemi geliştirmiştir (35). Bu malzeme, iki adet polietilen halka ve üzerlerindeki eşit aralıklı paslanmaz çelik pin ve delikler ile bu pin-halka sisteminin karşılıklı kenetlenmesini sağlayan cihazdır (Resim 5). Anastomoz bölgesinde intima hasarı yapmamakta, uç-uca ve uç-yan

anastomoza imkan tanımakta ve anastomoz patensi oranları %100' lere kadar çıkmaktadır (36–38). Jandali ve arkadaşları ardışık 1000 meme rekonstrüksiyon vakasında bu sistemi kullanmış; 2-6 dakika arası anastomoz süresi ve %99.4 patens oranı bildirmişlerdir (39).

Operasyon sahasında kalıcı, sert halka olmaması için emilebilir Unilink sistem geliştirilmiş ve anastomoz patens oranları deneysel çalışmalarda %92.8 - %100, klinik çalışmalarda %95 olarak bildirilmiştir (40,41).

Bağlayıcı cihaz, anastomoz kolaylaştırıcı yöntem ve malzemeler arasında klinikte en sık kullanılan malzemedir. Ön planda ven anastomozlarında kullanılmaktadır.

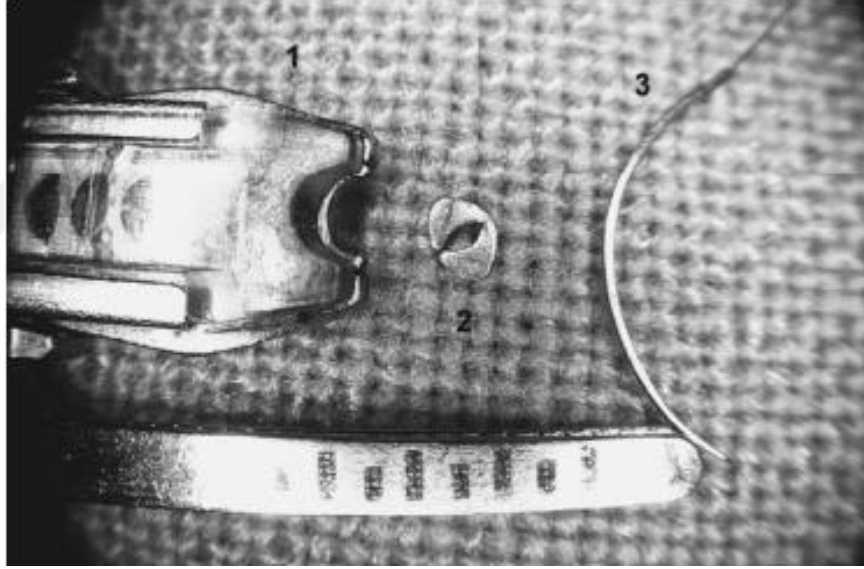


Resim 5: Unilink Sistem (Coupler Device)

(R. W. Gilbert ve arkadaşları "Strength of microvascular anastomoses: Comparison between the unilink anastomotic system and sutures," Microsurgery, 1989 yayınından alınmıştır.)

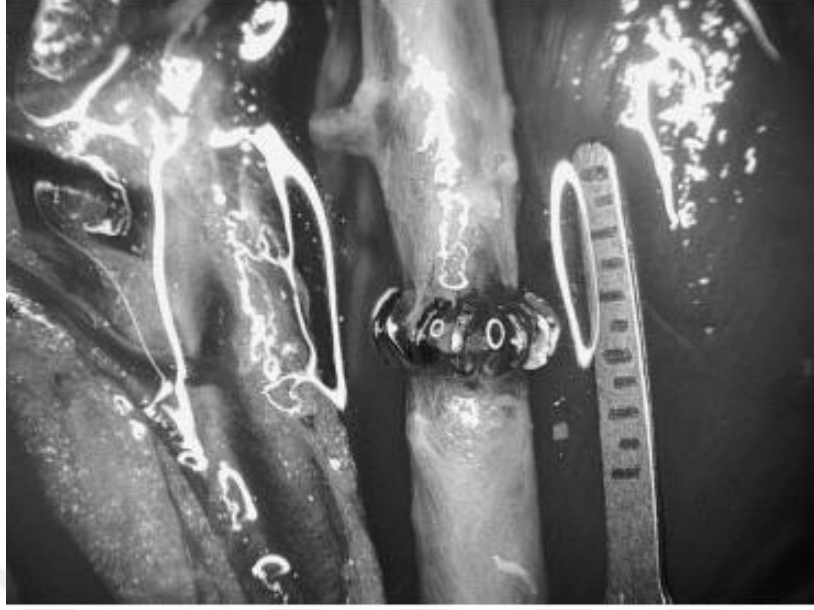
1.3.2. Stapler ve Klip

Damar anastomozunda stapler kullanımı ilk olarak 1953 yılında Bikfalvi ve Dubecz tarafından hayvan modeli üzerinde gerçekleştirilmiştir (42). 1980'li yıllarda Kirsch ve arkadaşları tarafından geliştirilen VCS (Vascular Clipping System) oldukça popülerize olmuş, 1992 yılında yeni metod olarak yayınlanmıştır (43). Bu malzeme, aplikatör yardımıyla uygulanan klip sistemidir (Resim 6). Kullanımında genellikle 180° aralıklarla iki askı sütürü konulur. Ardından, eversiyon forsepsleri ile damar uçları hizalanır. Sonra titanyum klipsler yardımı ile damar anastomozu yapılır (Resim 7). Yamamoto ve arkadaşları bu yöntemi klinik olarak kullanmış, ortalama 12 dakika operasyon süresi bildirmişlerdir (44). Cope ve arkadaşları 153 vakalılık seride %100 patens oranı bildirmişlerdir (45). VCS, pahalı olması ve kullanımını kısıtlayan nedenlerden ötürü klinik kullanımda yeterli popüleriteyi kazanamamıştır.



Resim 6: VCS (Vascular Clipping System) Aplikatörü

(M. Klöppel ve arkadaşları, "Comparison of experimental microvascular end-to-end anastomosis via VCS®-Clips versus conventional suture technique in an animal model," J. Reconstr. Microsurg, 2007. yayınından alınmıştır.)



Resim 7: VCS ile Yapılan Damar Anastomozu

(M. Klöppel ve arkadaşları, "Comparison of experimental microvascular end-to-end anastomosis via VCS®-Clips versus conventional suture technique in an animal model," J. Reconstr. Microsurg, 2007. yayınından alınmıştır.)

1.3.3. Doku Yapıştırıcılar

Doku yapıştırıcılar, fibrin yapıştırıcılar ve siyanoakrilatlar olarak iki ana gruba ayrılır. Fibrin yapıştırıcılar koagülasyon kaskadının son basamağını taklit eden 2 bileşenden oluşur. Siyanoakrilatlar ise akrilik asidin sentetik türevleridir.

Siyanoakrilatların anastomozda kullanımı, 1960'lı yıllarda deneysel çalışmalarla başlamış ve ciddi toksisite bulguları göstermiştir (46). Son dönemde 2-oktil siyanoakrilat formu ile toksisitesi azaltılmış ve cilt kesilerinde topikal kullanım için FDA onayı almıştır. Geleneksel sütür anastomozu ile benzer patens oranları elde edildiği deneysel çalışmalar mevcuttur (47). Klinik kullanıma geçmemiştir.

Damar anastomozunda fibrin yapıştırıcı kullanımı, ilk kez 1977 yılında Pearl ve arkadaşları tarafından bildirilmiş ve sonra yapılan çalışmalarda, patens oranlarını azaltmadığı ve anastomoz süresini kısalttığı gösterilmiştir (48,49). Bu yapıştırıcının kullanım sırasında damar lümenine girme endişesi, bunun sonucunda anastomoz başarısızlığı, allerjik reaksiyon ve ölümcül anaflaksi kaygıları nedeniyle yeterli popüleriteyi kazanamamıştır (50–52).

1.3.4. Termal-Lazer Enerjisi

Nd-Yag, karbondioksit, argon ve daha güncel olarak diod lazerler damar anastomozunda kullanılmış ve %100' lere varan patens oranları elde edilmiştir (53–56). Özellikle damar gerim gücünde zayıflama yapması ve termal hasara neden olması nedeniyle yeterli popülariteyi kazanamamıştır.

1.3.5. Stent ve Tüpler

Anastomozda stent kullanımı neredeyse damar anastomozu kadar eskidir. İlk kez Abbe tarafından deneysel olarak intraluminal cam tüp uç-uca anastomozda kullanılmıştır (57). Daha sonra birçok deneysel çalışma yapılmakla birlikte, 1994 yılında Moskovitz ve arkadaşları 0.3-0.8 mm çap aralığında, gliserid bazlı, emilebilir stentleri deneysel olarak kullanmışlar, patens oranlarını düşük, anevrizma oranlarını yüksek olarak bildirmişlerdir (58). Son yıllarda stent teknolojisinin oldukça gelişmesiyle, ince metal stentler deneysel çalışmalarda damar anastomozunda kullanılmışlardır (11,59).

Poloxamer 407, düşük sıcaklıkta sıvı, vücut sıcaklığında katı forma geçerek ters termosensitivite gösteren bir polimer olup, intravasküler stent olarak bu gruba dahil edilebilir (60,61). Legoo™ markasıyla ticari formu bulunmaktadır. Önce anastomoz sırasında kanama kontrolü amaçlı klemp yerine kullanılmıştır. Daha sonra aynı özelliklerinden faydalanılarak uygun hizalama sonrası doku yapıştırıcılarla damar anastomozu yapılmıştır (62,63).

1.4. Yenilikçi Malzeme ve Yöntemlerin Dezavantajları

Damar anastomozunu kolaylaştırmak amaçlı yapılan tüm yeni malzeme ve yöntemlerin hiçbirisi klinikte geleneksel sütür anastomozunun yerini alamamıştır. Buna sebep olan bazı dezavantajlar vardır:

- 1- Hemen hemen tüm yöntemler arter anastomozu üzerine yoğunlaşmıştır.
- 2- Çap ve duvar kalınlığı uyumsuzluğuna yönelik çözüm sunamamaktadır. Klinik pratikte çap uyumsuzluğu çok önemlidir. Çalışılan yeni yöntemler en önemli problemlerden olan çap uyumsuzluğuna bir çözüm bulabilmiş değildir.
- 3- Lazer ve mikrostant gibi çoğu yenilikçi yöntemler yüksek maliyetlidir.

- 4- 1 mm ve altındaki çaplara sahip damarlarda uygulanabilen çalışmalar yok denecek kadar azdır.
- 5- Deneysel olarak kullanılan ve faydalı olduğu savunulan birçok yöntem ve malzeme klinik kullanıma girememiştir.
- 6- Doku yapıştırıcı, lazer, stapler gibi yöntemlerin kullanılması için hizalama yapılması amaçlı geleneksel yöntemle atılan 2 veya 3 askı sütürüne ihtiyaç vardır. Yani birçok yenilik, geleneksel sütür yönteminden faydalanmaktadır.
- 7- Damar uçlarının everte edilebilmesi için sağlıklı, esnek damar uçları gerekmektedir, bu nedenle radyoterapi, vaskülit, diyabet gibi damar sağlığını etkileyen durumlarda kullanışlı değildir.

Geleneksel sütür anastomozu halen altın standart yöntemdir. En sık kullanılan ve en geçerli yöntem olan bu tekniğin, iyileştirilmeye, dezavantajlarının ortadan kaldırılmasına ihtiyacı vardır. Çalışmamız, bu çerçevede ışığında geleneksel sütür anastomozunda damarların kollaps olması, anastomozun zaman alıcı olması, tecrübe gerektirmesi gibi sorunları ortadan kaldırmayı, halen en sık kullanılan bu yöntemi daha iyi hale getirmeyi hedeflemiştir. Bu çalışmada, damar içi veya damar ağzına uygulanan diğer anastomoz kolaylaştırıcı yöntemlerden farklı bir tasarım ve bakış açısı planlanmıştır. Tüm diğer yöntemlerden farklı olarak ilk kez anastomozun 3 boyutlu jel ortamında yapılması planlanmıştır. Enjekte edilecek jelin, enjekte edildiği bölgede küçük damarlar etrafında 3 boyutlu jel ortamı sağlayacak şekilde dağılımı gerekmektedir. Bu nedenle, biyouyumlu ve biyobozunur olması, toksik olmaması, maliyeti düşük olması nedeniyle pektin kalsiyum klorür jel tercih edilmiştir.

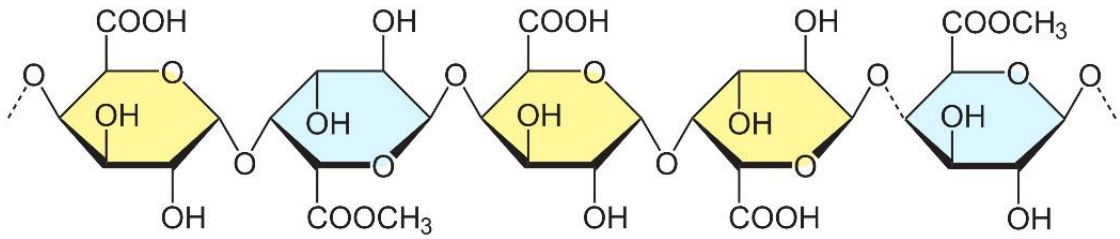
1.5. Pektin Hakkında Genel Bilgiler

Polisakkaritler, monosakkaritlerin glikozidik bağlarla birbirine bağlanması sonucu oluşan yüksek molekül ağırlıklı karbonhidratlardır. Doğal polimerler olarak hayvanlarda ve bitkilerde bulunurlar (64).

Polisakkaritler, kimyasal yapılarına göre homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler olarak ikiye ayrılırlar. Homopolisakkaritler, yapılarında tek tür monosakkarit içerirken, heteropolisakkaritler ise birden fazla çeşit monosakkarit içerirler. Çalışmamızda kullanılan pektin bir heteropolisakkarittir (65).

Pektin, kara bitkilerinin hücre duvarında bulunur ve ön planda gıda endüstrisinde jelleşme ajanı olarak kullanılır (64,66). Temel olarak alfa (1,4) bağlı D-galakturonik asit ve daha az olacak şekilde arabinoz, ramnoz gibi çeşitli nötral şekerlerden oluşur. Galakturonik asit, pektinin yaklaşık %70'ini oluşturur. Galakturonik asidin esterifikasyon derecesine göre düşük metoksilli (LM Pektin) veya yüksek metoksilli (HM Pektin) olarak ikiye ayrılırlar (64,67).

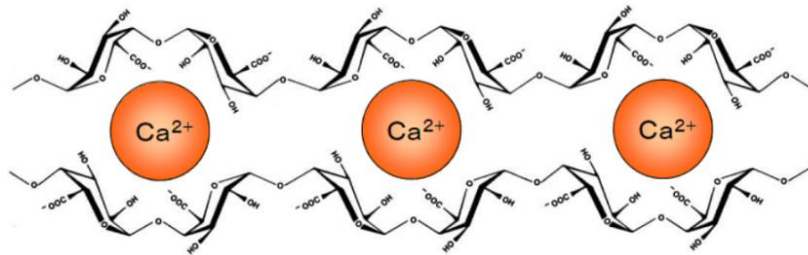
Resim 8, yapısında hidroksil grupları (-OH), karboksilik asit grupları (-COOH) ve metil ester (-COOCH₃) içeren pektin zincirini göstermektedir.



Resim 8: Pektinin Kimyasal Yapısı

(<https://www.silvateam.com/en/products-and-services/food-ingredients/pectin/what-pectin.html> internet sitesinden alınmıştır.)

LM pektin, Fe⁺², Ca⁺², Zn⁺² gibi divalent kationlar ile jelleşerek yumurta kutusu (egg box) yapısını oluşturmaktadır, yumurta kutusu yapısı hidrojen bağları ve Van Der Waals etkileşimleri sayesinde komşu pektin zincirleri ile daha stabil hale gelmektedir (68) (Resim 9). Çalışmamızda LM Pektin, divalent kalsiyum (Ca⁺²) iyonları jel haline getirilerek kullanılmıştır.



Resim 9: Yumurta Kutusu Yapısı

(<http://sansho.co.jp/en/find/polysaccharide/pectin/> internet sitesinden alınmıştır.)

Biyouyumlu, biyobozunur olması ve toksik olmaması nedeniyle farmasötik alanda, gıda endüstrisinde, besin ekstralarında, kozmetik sanayide yaygın olarak kullanılmaktadır (64). Farmasötik olarak pektin, lokal kanamalarda, kan kolesterol seviyesini düşürmede, bakterisidal ve yara iyileştirici etkisi nedeniyle yara örtülerinde kullanılmaktadır (69,70). Gastrointestinal sistemde kolon hedefli kontrollü ilaç salımı sağlayacak pektin temelli ilaç taşıma sistemleri geliştirilmiştir (71).

Pektin temelli yara örtüleri ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Pektinin hidrofilik yapısı yara sıvısının uzaklaştırılmasına imkan sağlamakta, asidik ortam yaratması nedeniyle bakterilere karşı bariyer oluşmasına yardımcı olmaktadır (64). Pektin temelli yara örtüleri CombiDERM®, Granuflex®, Hydrocoll® ve CitruGel® ticari isimleriyle piyasada yer almaktadır. Çalışma kapsamında pektin jel sentezini gerçekleştiren İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği'ndeki araştırma grubunun pektin bazlı yara örtüleri üzerine proje ve yayınları bulunmaktadır. Teofilin model ilacı ile kontrollü salım gerçekleştirdikleri yara örtüsüne yönelik pektin temelli jel filmlerin karakterizasyon çalışmaları, ilaç salım performansları, hücre kültür ve yara iyileşmesi testleri yapılmış ve yayınlanmıştır (72). Aynı zamanda grubun teofilin yüklü, zeolit içeren LM pektin hidrojelin yara iyileşmesi ile ilgili bir başka çalışması Journal of Applied Polymer Science (Wiley) dergisinde yayınlanmış, çalışmada in vitro hücre canlılığı testi ve in vitro hücre kültürü ve yara iyileşme testleri yapılmıştır. Primer insan dermal fibroblast hücreleri (ATCC) üzerinde yapılan WST-1 hücre çoğalması deney sonuçlarına göre, pektin jel sitotoksik özellik göstermemektedir (73).

Çalışmamızda pektin bazlı jel mikrocerrahi anastomoz alanında kullanılacağı için, pektinin intravenöz kullanımdaki etkileri önem kazanmaktadır. Literatürde pektinin intravenöz uygulamaları ile ilgili çalışmalar da bildirilmiştir. Profilaksizde ve şok durumundaki hastaların tedavisinde çeşitli konsantrasyonlardaki pektin çözeltileri kullanılmış; plazma hacmindeki etkisi fizyolojik serum ile karşılaştırılmıştır (74,75).

Çalışmamızda, ilaç sanayi, gıda endüstrisi, yara örtüsü gibi alanlarda kullanılan pektin, kalsiyum klorür ile oluşturduğu jel kıvamından faydalanılarak mikrocerrahi anastomoz öncesi anastomoz sahasına enjekte edilmiştir. Bu enjeksiyonla;

- 1) Jelin sadece intravasküler değil, hem intravasküler hem de perivasküler bölgeye dağılarak 3 boyutlu matris halini alması,

- 2) Damar uçlarının bu 3 boyutlu matris ortamında mikroskop görüntü alanından uzaklaşmadan anastomoza en uygun konumda sabit kalması,
- 3) Klemp konulduktan sonra damar uçlarında meydana gelen pozisyon kaybının önlenmesi,
- 4) Klemp konulduktan sonra meydana gelen kollapsın önlenerek dikiş geçerken arka duvar kontrolünün daha kolay sağlanması,
- 5) Arka duvar kontrolü amaçlı damar lümenine mikroalet sokularak yapılan manevraların ve travmanın azaltılması,
- 6) Tüm bu kolaylıklar sayesinde geleneksel sütür anastomozunun daha hızlı yapılması ve tecrübe gereksiniminin azalması

amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma öncesi İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan etik kurul onayı alınmış ve çalışma boyunca hayvan deneyleeri araştırma protokollerine sadık kalınmıştır. Çalışma ve deney hayvanlarının bakımı İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Çalışmamızda ağırlıkları $\sim 280 \pm 40$ gr arasında değişen 24 adet erkek 8-9 haftalık Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Çalışma boyunca sıçanlar her kafeste bir hayvan olacak şekilde 21-22° C oda sıcaklığında, 12 saat gündüz / 12 saat gece fotoperiyodunda muhafaza edilmiştir. %18-20 protein içeren pellet sıçan yemi ve içme suyu sağlanan 24 adet polikarbonat kafeste tutulmuştur. Çalışma süresince hepsi cerrahi işlem dolaylı olmak üzere iki denek kaybedilmiştir. Çalışma 22 adet hayvanla tamamlanmıştır.

Sıçanlar, deney grubu (n=12) ve kontrol grubu (n=12) olarak rastgele iki gruba ayrılmıştır. Deney ve kontrol grupları kendi aralarında 1. ve 6. haftada sakrifiye edilmek üzere rastgele ikişer alt gruba ayrılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Deney ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

KONTROL GRUBU	n=12 Geleneksel Sütür Anastomozu Yapılan Grup
1. HAFTA	n=6 1. Hafta Sakrifiye Edilen Grup
6. HAFTA	n=6 6. Hafta Sakrifiye Edilen Grup
DENEY GRUBU	n=12 Jel Ortamında Sütür Anastomozu Yapılan Grup
1. HAFTA	n=6 1. Hafta Sakrifiye Edilen Grup
6. HAFTA	n=6 6. Hafta Sakrifiye Edilen Grup

Çalışmanın histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeleri İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Çalışma temel olarak 5 aşamadan oluşmaktadır:

- ✓ Deney ve Kontrol Gruplarında Sıçan Femoral Arterin Diseksiyonu ve Anastomozu
- ✓ 1. Hafta Gruplarının Patens Kontrolü, Örneklerin Alınması ve Sakrifikasyonu
- ✓ 6.Hafta Gruplarının Patens Kontrolü, Örneklerin Alınması ve Sakrifikasyonu
- ✓ Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme
- ✓ İstatistiksel Değerlendirme

Denekler çalışma öncesinde tartma işlemine tabi tutularak çalışmanın ağırlık kriteri olan $\sim 280 \pm 40$ gr ile uygunlukları kontrol edilmiştir. Deney sonuna dek sağ kalan sıçanlarda deney boyunca genel durumları ile ilgili bir probleme rastlanmamıştır.

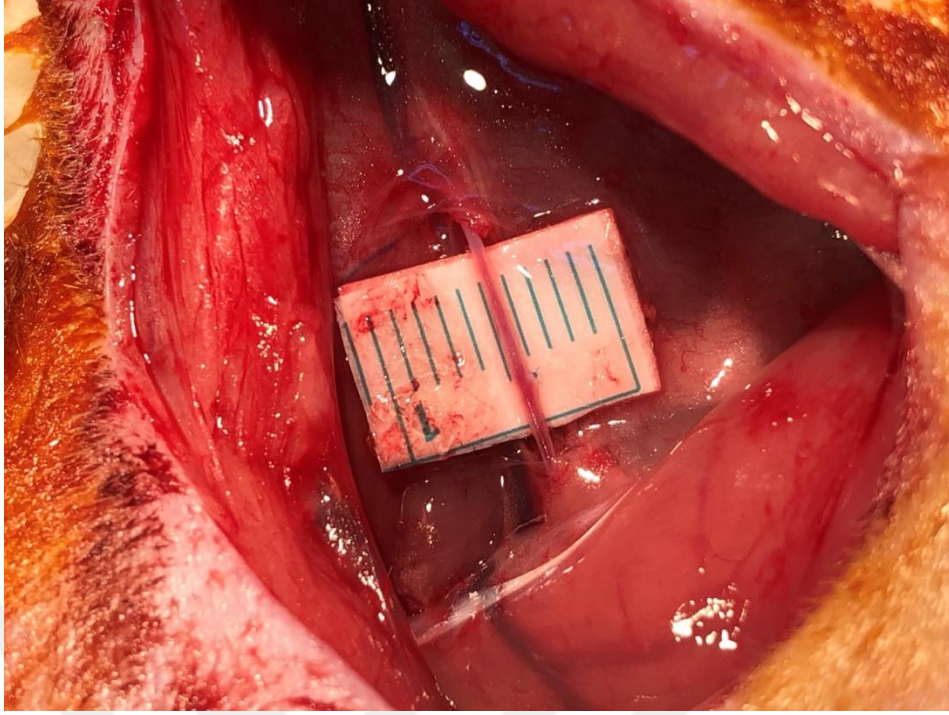
Çalışmada Herbstreith & Fox KG ticari marka pektin kullanılmış, pektin ve kalsiyum klorür çözeltileri deiyonize su ile hazırlanmıştır. Çözeltiler UV ışınla sterilize edilmiştir.

2.1. Cerrahi Teknik

Çalışmaya ilk olarak infrarenal aort anastomozu planı ile başlanmış, fakat diseksiyonun zorluğu ve denekler için ciddi morbidite oluşturacağı düşüncesiyle anastomozun femoral arter üzerinde yapılmasına karar verilmiştir.

Cerrahi öncesi sıçanlara genel anestezi için 30-35 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin karışımı karın içi zerk edilmiştir. Lokal asepsi kurallarına uygun olarak cerrahi alan olan kasık bölgesi tıraşlanmış ve povidon iyot ile temizlenmiştir. Cerrahi profilaksi amaçlı işlem öncesi tek doz cilt altı 150 mg/kg ampisilin + sulbaktam enjekte edilmiştir.

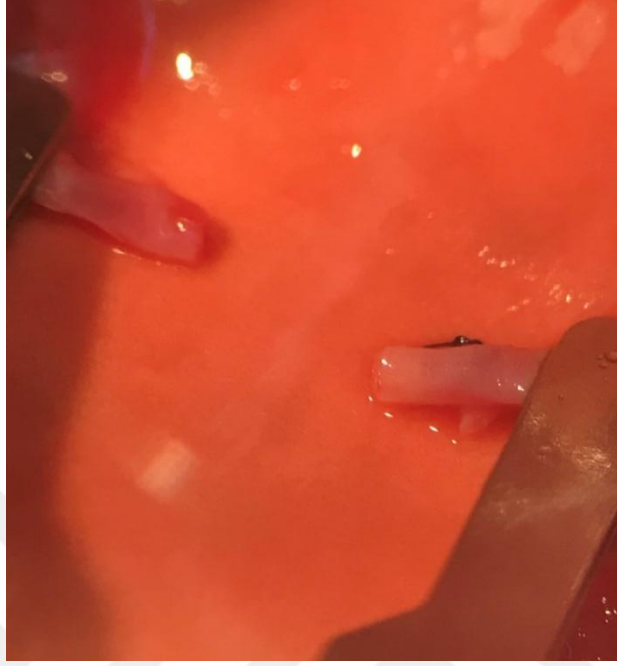
İnguinal kıvrım üzerinden yapılan insizyonun ardından inguinal yağ yastıkçığı geçilerek inguinal ligamanın hemen distalinde femoral damar-sinir paketi ortaya konmuştur. Alt abdominal kaslar mediale alınıp ekarte edilmiştir. Bu aşamadan sonra diseksiyona Inc SXP-1B marka mikroskopla devam edilmiştir. Femoral arter x10 büyütme altında femoral damar-sinir paketinden insizyon hattı boyunca diseke edilmiştir (Resim 11). Femoral arterin süperfisyal epigastrik dalı 9.0 poliamide non-absorbable (Doğsan Dylon) sütür ile bağlanmıştır (Resim 10).



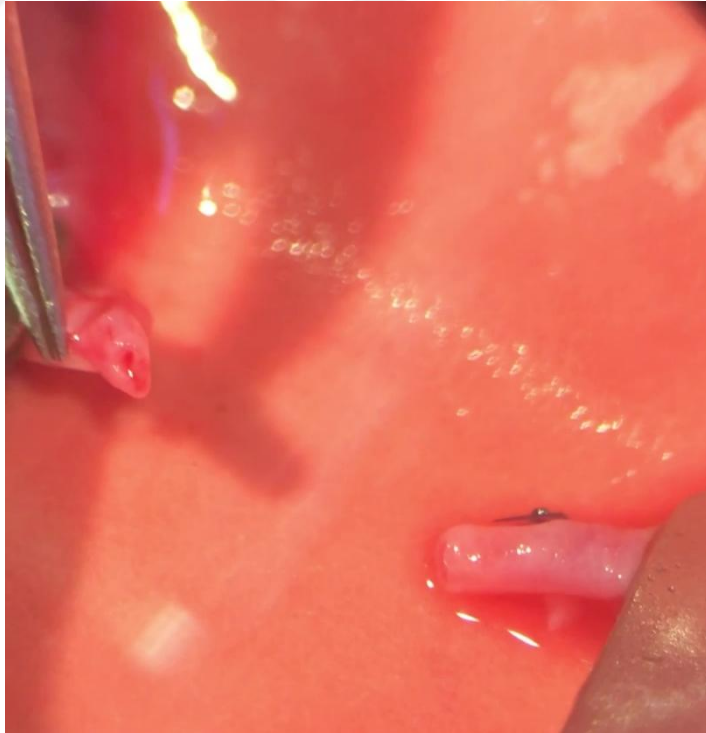
Resim 10: Arteriotomi Öncesi Femoral Arter. Femoral arter, damar sinir paketinden diseke edildikten sonra, arka planda kağıt cetvel ile arter çapının yaklaşık 0.6-0.7 mm olduğu gösterilmiştir.

Bağlama işleminin ardından damar aproksimatörü konulmuş, x16 büyütme altında adventisya diseksiyonu yapılmıştır. Deney grubunda 26 G enjektör yardımıyla 0.1 ml pektin ve 0.1 ml kalsiyum klorür sırayla damar çevresi ve dış yüzeyi dahil olmak üzere anastomoz sahasını kaplayacak şekilde ortama enjekte edilmiştir. Kontrol grubunda ortama herhangi bir enjeksiyon yapılmamıştır. Ardından mikromakas yardımıyla arteriotomi yapılmıştır (Resim 11, Resim 12, Resim 13). Aproksimatör klemp uçları aplikatör penset yardımıyla yaklaştırılmıştır. Anastomoz öncesi dilatasyon penseti ile damar lümeni dilatasyonu yapılmıştır. Anastomoz x16 büyütme altında yapılmıştır (Resim 14, Resim 15). Anastomozda 9.0 poliamid non-absorbable (Doğsan Dylan) suture kullanılmıştır. Anastomoz sonrası önce distal daha sonra proksimal klempler açılmıştır. Klemplerin gevşetilmesi sonrası nemli steril gazla hafif tampon uygulanmıştır. Anastomoz süresi ilk suturenden damar klemplerinin açılmasına kadar olan süre olarak hesaplanmıştır. Sızıntı olduğu durumlarda klempler tekrar uygulanarak sızıntının olduğu açıklıklara ilave dikişler konulmuştur. Böyle durumlarda bu süre anastomoz süresine ilave edilmiştir. Tüm sıçanların anastomoz süresi kaydedilmiştir.

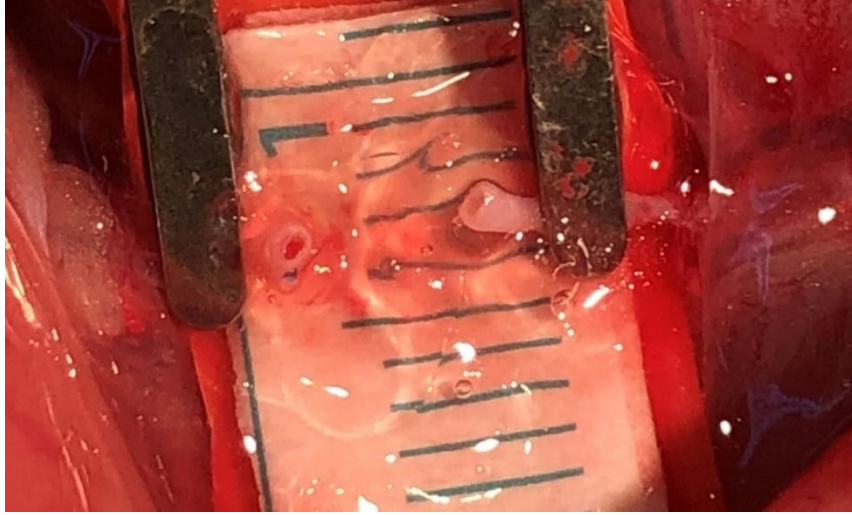
Distale kan akımı olup olmadığı inspeksiyonla ve Acland tarafından tariflenen “boşalt-yeniden doldur” testi (empty-refill test) ile değerlendirilmiştir (76).



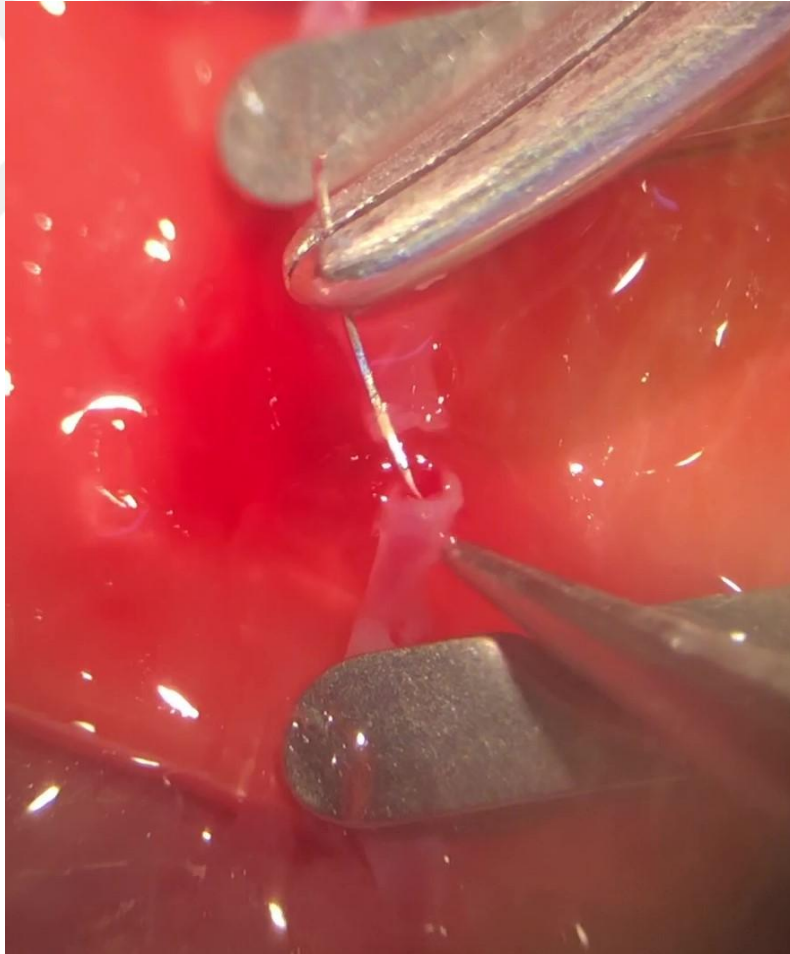
Resim 11: Kontrol Grubunda Arteriotomi Sonrası Damar Uçlarının Pozisyonu



Resim 12: Kontrol Grubunda Arteriotomi Sonrası Damar Ağzının Kollapsı



Resim 13: Deney Grubunda Arteriotomi Sonrası Damar Uçları. Deney grubunda jel ortamında lümen kollapsının olmadığı ve damarın yerçekimsiz ortamda sabit kaldığı görülmektedir.



Resim 14: Deney Grubunda Sütür Atılması. Damar uçlarında kollaps olmadığı için sütür atılması sırasında arka duvar kontrolü daha kolay yapılmaktadır.



Resim 15: Jel Ortamda Anastomoz Esnasında Görünüm

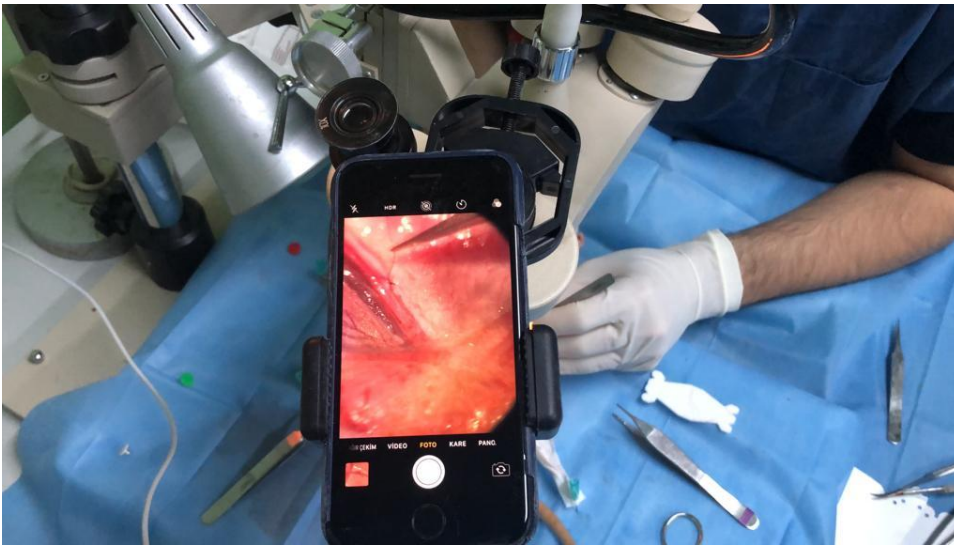
2.2. Patens Testleri ve Örneklerin Alınması

Uzun dönem değerlendirme amaçlı patens testinin yapılması için mikroskop asistan dürbününe telefon-teleskop sabitleyici düzenek kurulmuş ve telefon kamerası ile patens testleri kayıt altına alınmıştır (Resim 16, Resim 17). Cerrahi öncesi sıçanlara genel anestezi için 30-35 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin karışımı karın içi zerk edilmiştir. Lokal asepsi kurallarına uygun olarak cerrahi alan povidon iyot ile temizlenmiştir. Ardından eski insizyondan girilerek operasyon sahası ortaya konmuştur. Diseksiyon ve patens testi sonrasında, anastomoz hattı ve bu hattan her iki yöne yaklaşık 0,5 cm sağlıklı damar segmenti örnekleri histolojik ve immunohistokimyasal değerlendirme amacıyla alınmıştır.

Ardından denekler 150 mg/kg yüksek doz pentobarbital enjeksiyonu ile sakrifiye edilmiştir. Ötenazi uygulanan hayvanlar, İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarı tıbbi atık toplama sistemine uygun şekilde kırmızı tıbbi atık poşetlerinde uzaklaştırılmıştır.



Resim 16: Patens Kayıt Düzenegi



Resim 17: Patens Testlerinin Kayıt Altına Alınması

2.3. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Toplanan materyaller öncelikle %10'luk formaldehit solüsyon içeren önceden numaralandırılmış kaplara yerleştirilerek histopatolojik inceleme için uygun muhafazaya alınmıştır.

Formaldehit solüsyonu içerisindeki dokuların tamamı uzun aksları boyunca ikiye bölünüp ayrı ayrı kasetlenerek takip cihazına yerleştirilmiştir. Parafinize olmuş dokulardan bloklama işlemi gerçekleştirilerek parafin bloklardan ikişer mikronluk seri kesitler lama alınmıştır. İmmunohistokimyasal inceleme için kesit alınan lamalar elektrostatik pozitif yüklüdür.

Seri kesitler sırasıyla;

1. kesit Hematoksilen & Eozin
2. kesit Retikülin
3. kesit CD34
4. kesit CD 68

olacak şekilde histopatolojik ve immunohistokimyasal boyamalar için ayrılmıştır.

Dokular onar dakika sürelerle ksilol içerisinde bekletilerek deparafinize edilmiştir. Deparafinize edilmiş dokular hidrasyon amacıyla sırasıyla saf alkol, %95'lik alkol, %80'lik alkol ve %70'lik alkolden onar dakika süreyle geçirilmiştir. Dokular Meyer Hematoksilen'e alınıp on dakika boyunca tutulmuştur. Hematoksilenden çıkarılan dokular akan su altında yaklaşık olarak 5-10 dakika boyunca yıkanmıştır. Dokular eozine daldırılıp bir dakika boyunca tutulmuştur. Fazla eozini uzaklaştırmak için sırasıyla %70'lik, %80'lik, %95'lik ve saf alkolden geçirilmiştir. İlk 3 alkole dokular daldırılıp çıkarılırken saf alkolde on dakika tutulmuştur. Çıkış ksilolü ve kapatma aşamalarından sonra dokular kurumaya bırakılmıştır.

Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma da dahil olmak üzere tüm immunohistokimyasal boyama işlemleri otomatik immunohistokimya boyama cihazında (VENTANA Benchmark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) gerçekleştirilmiştir. İşlem için cihaza uygun biyotinsiz HRP multimer bazlı hidrojen peroksit substrat ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren hazır kit (Ventana) kullanılmıştır.

CD 68 ve CD 34 antikoruna kullanıma hazır gelmiştir. Zıt boyamaları boyama cihazında hematoksin ve mavileştirici solüsyonla tamamlanıp dehidratasyon ve ksilen aşamalarından sonra işlem sonlandırılmıştır.

Hematoksin-Eozin boyalı kesitlerde yapılan histiyosit skorlamasında, 1 büyük büyütme alanında histiyositlerin tüm hücrelere oranı %0-%10 aralığı için 1, %10-%40 aralığı için için 2, %40 ve daha fazlası olması durumunda 3 olarak skorlanmıştır. Aynı kesitlerde anastomoz bölgesinde, farklı zamanlarda iki ayrı patolog tarafından 1 büyük büyütme alanı (x400) başına düşen çok çekirdekli dev hücre sayımı yapılmıştır.

Retikülin boyalı kesitlerde yapılan fibrozis skorlamasında, boyanan alanı olmayan kesitler için 0, boyanan alanı %0-%30 için 1, %30-60 aralığı için 2, >%60 için 3 olarak skorlanmıştır.

Aynı kesitlerde lümen genişliği ve duvar kalınlığı oküler mikrometre ile ölçülmüştür. Tromboz olan vakalar lümen genişliği ve duvar kalınlığı incelemesinin dışında tutulmuştur.

CD34 yaygın olarak bilinen hematopoetik kök hücre ve endotel hücrelerinden eksprese edilir. Bu glikoprotein endotelial marker olarak kullanılır (77,78). Çalışmamızda CD34 antikoruna ile boyalı preparatlarda endotelizasyonu göstermek amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan CD34 antikoruna ile boyama yapılamamıştır.

CD 68 monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerde eksprese edilen, hücre yüzeyi ve lizozom membranlarında bulunan bir glikoproteindir (79,80). CD 68 antikor boyamayla anastomoz bölgesinde, 1 büyük büyütme alanı (x400) başına düşen CD 68 pozitif hücre sayımı yapılmıştır. 6. hafta kontrol gruplarında 1 deneğe ait kesitte teknik nedenlerden ötürü CD 68 değerlendirmesi yapılamamıştır.

Değerlendirmede OLYMPUS marka BX53F model ışık mikroskobu kullanılmıştır.

2.4. İstatistiksel İnceleme

Çalışmamızda verilerin istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) programının 22.0 versiyonu kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistiklerinde sürekli değişkenler için ortalama değer, standart sapma,

ortanca, minimum ve maksimum değerler, kesikli değişkenler için ise sayı ve yüzde değerleri hesaplanmıştır.

Başlangıç analizleri olarak normal dağılımın değerlendirilmesinde Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılmıştır. İki grup arası karşılaştırmalarda nonparametrik verilerde Mann Whitney U, Fisher'in kesin testi, eğitimde ki-kare testleri kullanılmıştır.

Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilerek $p < 0,05$ istatistiksel anlamlılık olarak tanımlanmıştır.



3. BULGULAR

Çalışma sırasında kontrol grubundan 1 hayvan cerrahi ilişkili postop anestezi komplikasyonlarından eks olmuştur. Bu deneğin anastomoz süresi ve sütür sayısı istatistiklere dahil edilmiştir. Deney grubundan 1 hayvan perop komplikasyonlardan ötürü anastomoz tamamlanmadan eks olmuş, bu deneğin anastomoz süresi ve sütür sayısı istatistiklere dahil edilmemiştir.

Tablo 2: Deney ve Kontrol Gruplarının Anastomoz Süresi, Sütür Sayısı ve Histopatolojik Değerlendirmelerinin Karşılaştırılması

Anastomoz Süresi (sn)	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum	p değeri
Deney	687,2	89,17	672	581	818	<0,001
Kontrol	947,8	80,14	929	855	1133	
Sütür Sayısı						
Deney	6,1	0,30	6	6	7	0,104
Kontrol	6,5	0,52	6,5	6	7	
Alan Başı Dev Hücre						
Deney 1. hafta	4,78	3,06	3,98	2,05	10,55	0,201
Kontrol 1. hafta	2,78	0,68	2,50	2,25	3,88	
Deney 6. hafta	2,45	0,58	2,25	1,75	3,20	0,055
Kontrol 6. hafta	1,67	0,49	1,63	1,05	2,30	
Alan Başı CD 68+ Hücre						
Deney 1. hafta	22,87	13,53	24,70	6,00	44,00	0,855
Kontrol 1. hafta	25,33	6,59	23,20	19,00	34,00	
Deney 6. hafta	18,82	6,80	21,60	10,00	26,00	0,009
Kontrol 6. hafta	6,53	2,47	6,00	4,00	10,00	
Lümen Genişliği						
Deney 1. hafta	0,55	0,05	0,57	0,49	0,58	0,372
Kontrol 1. hafta	0,59	0,14	0,62	0,41	0,73	
Deney 6. hafta	0,62	0,06	0,6	0,57	0,71	0,327
Kontrol 6. hafta	0,58	0,07	0,57	0,5	0,67	
Duvar Kalınlığı						
Deney 1. hafta	0,21	0,03	0,22	0,18	0,23	1
Kontrol 1. hafta	0,22	0,03	0,21	0,2	0,26	
Deney 6. hafta	0,17	0,04	0,18	0,13	0,22	0,462
Kontrol 6. hafta	0,15	0,05	0,15	0,09	0,2	

Tablo 3: Deney ve Kontrol Gruplarının Histiyosit ve Fibrozis Skorlarının Karşılaştırılması

Histiyosit Skoru	0		1		2		3		Toplam		p değeri
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
Deney Grubu 1. Hafta	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	6	100,00%	6	100,00%	0,002* *Eğimde ki-kare
Kontrol Grubu 1. Hafta	0	0,00%	4	80,00 %	1	20,00%	0	0	5	100,00%	
Toplam	0	0,00%	4	36,40%	1	9,10%	6	54,50%	11	100,00%	
Deney Grubu 6. Hafta	0	0,00%	1	20,00%	4	80,00%	0	0	5	100,00%	0,242* *Fisher'in kesin testi
Kontrol Grubu 6. Hafta	0	0,00%	4	66,70%	2	33,30%	0	0	6	100,00%	
Toplam	0	0,00%	5	45,50%	6	54,50%	0	0	11	100,00%	
Fibrozis Skoru	0		1		2		3		Toplam		
Deney Grubu 1. Hafta	0	0,00%	1	16,70%	2	33,30%	3	50,00%	6	100,00%	0,006* *Eğimde ki-kare
Kontrol Grubu 1. Hafta	4	80,00%	1	20,00%	0	0,00%	0	0,00%	5	100,00%	
Toplam	4	36,40%	2	18,20%	2	18,20%	3	27,30%	11	100,00%	
Deney Grubu 6. Hafta	1	20,00%	4	80,00%	0	0,00%	0	0,00%	5	100,00%	0,080* *Fisher'in kesin testi
Kontrol Grubu 6. Hafta	5	83,30%	1	16,70%	0	0,00%	0	0,00%	6	100,00%	
Toplam	6	54,50%	5	45,50%	0	0,00%	0	0,00%	11	100,00%	

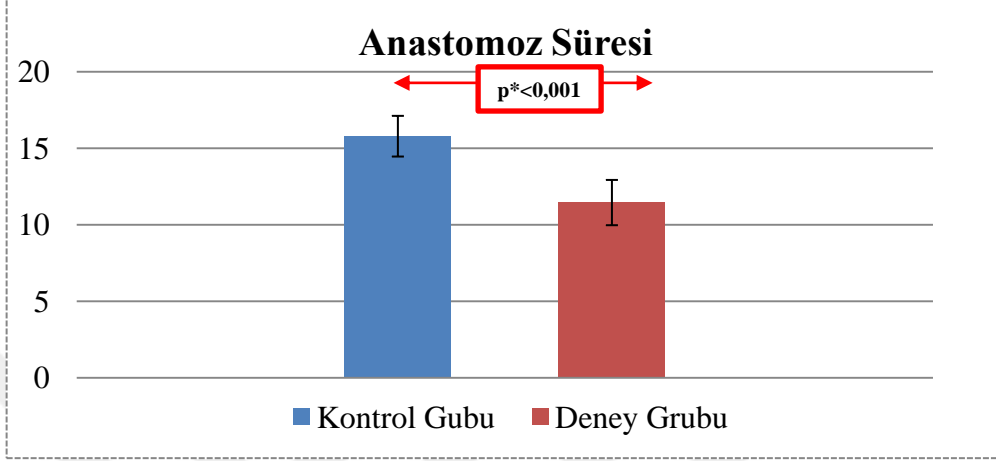
3.1. Anastomoz Patenslerinin Karşılaştırılması

Tablo 4: Deney ve Kontrol Gruplarında Anastomoz Patens Verileri

	Anastomoz Patens Testi		
	Patent	Tromboz	Toplam
	Sayı	Sayı	Sayı
Deney Grubu 1. Hafta	3	3	6
Deney Grubu 6. Hafta	5	0	5
Deney Grubu Toplam	8	3	11
Kontrol Grubu 1. Hafta	4	1	5
Kontrol Grubu 6. Hafta	4	2	6
Kontrol Grubu Toplam	8	3	11

Deney grubunda (n=11) ve kontrol grubunda (n=11) patens oranı 0,727 olup iki grup karşılaştırıldığında patens oranları arasında fark bulunmamaktadır.

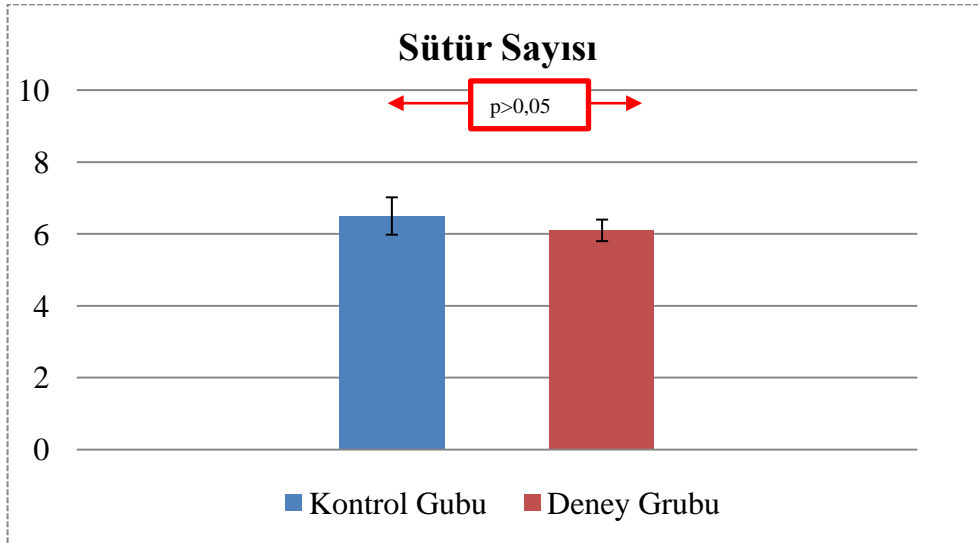
3.2. Anastomoz Sürelerinin Karşılaştırılması



Grafik 1: Deney ve Kontrol Gruplarında Anastomoz Sürelerinin Karşılaştırılması

Anastomoz süreleri deney grubunda 11.45 ± 1.48 dakika, kontrol grubunda 15.79 ± 1.33 dakika olarak ölçülmüştür. Kontrol grubuyla deney grubunun anastomoz sürelerini incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, deney grubunda anastomoz sürelerinin daha kısa olduğu gözlenmektedir ($p < 0,001$, Tablo 2, Grafik 1).

3.3. Sütür Sayılarının Karşılaştırılması

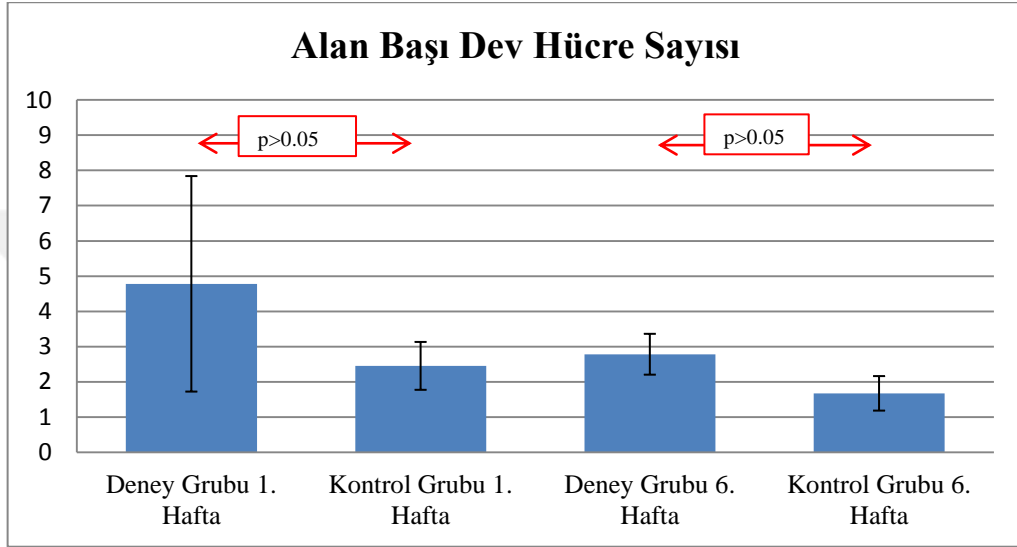


Grafik 2: Deney ve Kontrol Gruplarında Sütür Sayılarının Karşılaştırılması

Deney grubunda sütür sayısı ortalama 6.1 ± 0.30 , kontrol grubunda 6.50 ± 0.52 olup, kontrol grubuyla deney grubunun sütür sayıları incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,104$, Tablo 2, Grafik 2).

3.4. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal İnceleme

3.4.1. Dev Hücre Sayılarının Gruplar Arası Karşılaştırılması



Grafik 3: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Dev Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

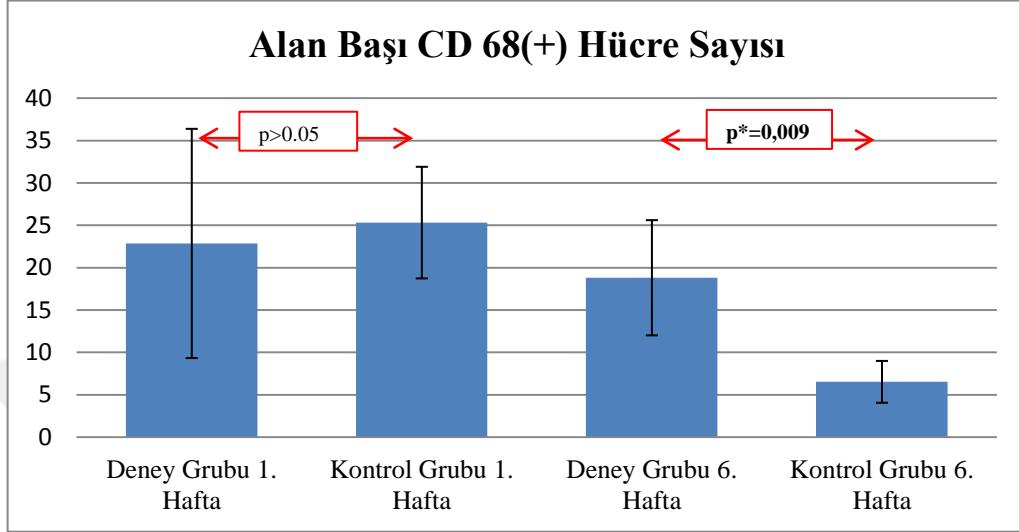
1. hafta histopatolojik değerlendirmelerinde anastomoz bölgesinde alan başına düşen dev hücre sayısı deney grubu 4.78 ± 3.06 , kontrol grubu 2.78 ± 0.68 olarak ölçülmüştür. 1. hafta sonuçları değerlendirildiğine deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,201$, Tablo 2, Grafik 3).

6. hafta değerlendirmelerinde bu sayı, deney grubunda 2.45 ± 0.58 , kontrol grubunda 1.67 ± 0.49 olarak bulunmuştur. 6. hafta sonuçları değerlendirildiğine deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,055$, Tablo 2, Grafik 3).

Deney grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında alan başına dev hücre sayısı açısından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,082$). Kontrol grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında alan başına dev hücre

sayısı açısından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, 1. hafta kesitlerinde dev hücre sayısı daha fazla bulunmuştur ($p=0,013$).

3.4.2. CD 68(+) Hücre Sayılarının Gruplar Arası Karşılaştırılması



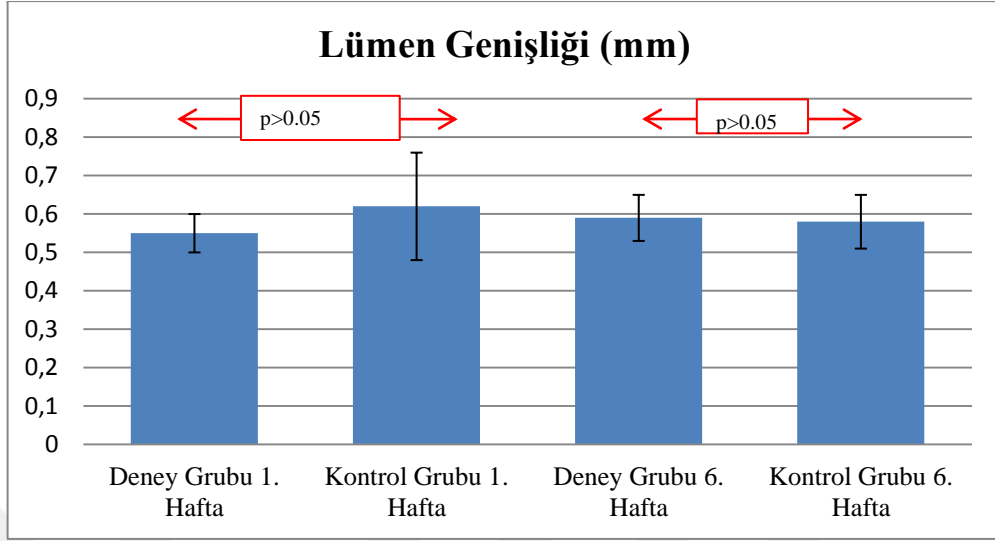
Grafik 4: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta CD 68(+) Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

Alan başına düşen CD 68 (+) hücre sayısı 1. hafta deney grubunda 22.87 ± 13.53 , kontrol grubunda 25.33 ± 6.59 olarak bulunmuştur. Deney ve kontrol grupları arasında 1. hafta sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,201$, Tablo 2, Grafik 4).

6. hafta değerlendirmelerinde alan başına düşen CD 68 (+) hücre sayısı deney grubunda 18.82 ± 6.80 , kontrol grubunda 6.53 ± 2.47 'dir. Deney ve kontrol grupları arasında 6. hafta sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, deney grubunda CD 68 (+) hücre sayısı daha fazladır ($p=0,009$, Tablo 2, Grafik 4).

Deney grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında alan başına CD 68 (+) hücre sayısı açısından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,584$). Kontrol grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında alan başına CD 68 (+) hücre sayısı açısından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, 1. hafta grubunun 6. haftaya göre alan başına CD 68 (+) hücre sayısının daha fazla olduğu görülmektedir ($p=0,009$).

3.4.3. Lümen Genişliği Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması



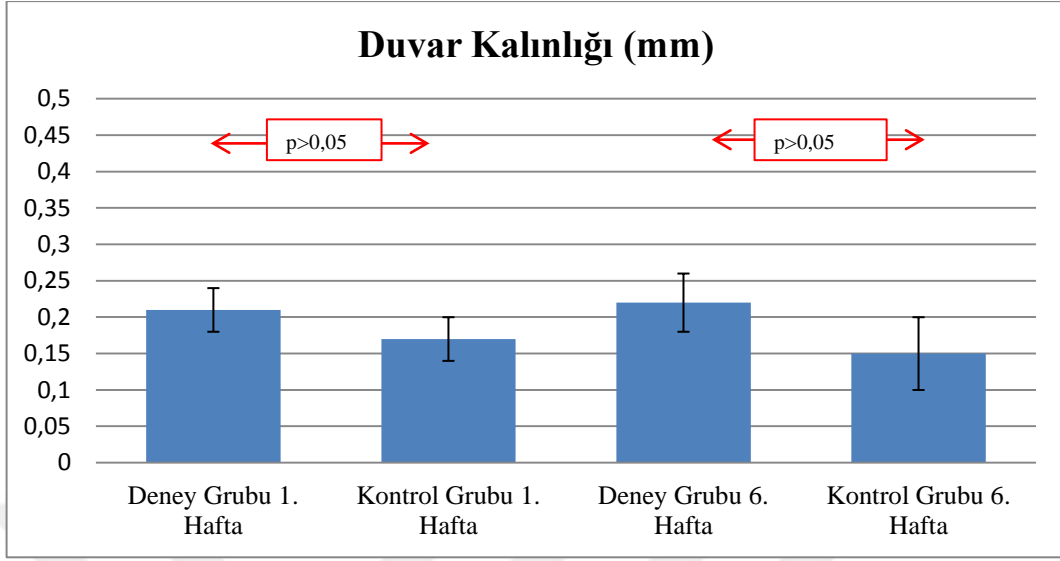
Grafik 5: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Lümen Genişliğinin Karşılaştırılması

Lümen genişliği 1. hafta değerleri deney ve kontrol grubu için sırasıyla 0.55 ± 0.05 mm ve 0.59 ± 0.14 mm olarak ölçülmüştür. Deney ve kontrol grupları arasında 1. hafta sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,372$, Tablo 2, Grafik 5).

Lümen genişliği 6. hafta değerleri deney ve kontrol grubu için sırasıyla 0.62 ± 0.06 mm ve 0.58 ± 0.07 mm olarak ölçülmüştür. Deney ve kontrol grupları arasında 6. hafta sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,327$, Tablo 2, Grafik 5).

Lümen genişliği analizinde 1. ve 6. hafta deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,097$). 1. ve 6. hafta kontrol grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,773$).

3.4.4. Duvar Kalınlığı Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması



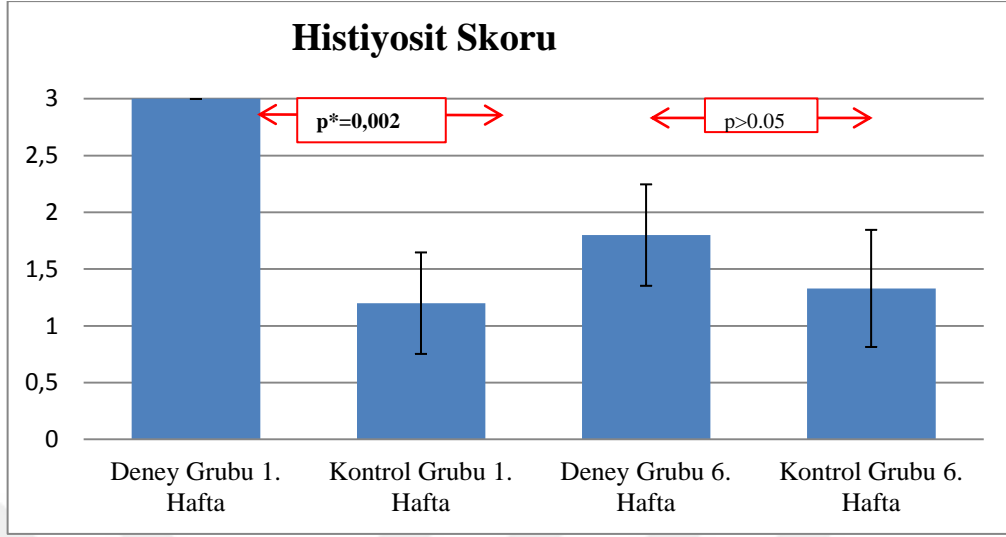
Grafik 6: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Duvar Kalınlığının Karşılaştırılması

Duvar kalınlığı 1. hafta değerleri deney ve kontrol grubu için sırasıyla 0.21 ± 0.03 mm ve 0.22 ± 0.03 mm olarak ölçülmüştür. Deney ve kontrol grupları arasında 1. hafta sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1$, Tablo 2, Grafik 6).

Duvar kalınlığı 6. hafta değerleri deney ve kontrol grubu için sırasıyla 0.17 ± 0.04 mm ve 0.15 ± 0.05 mm olarak ölçülmüştür. Deney ve kontrol grupları arasında 6. hafta sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,462$ Tablo 2, Grafik 6).

Duvar kalınlığı analizinde 1. ve 6. hafta deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,174$). 1. ve 6. hafta kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, 1. hafta kontrol grubunda 6. haftaya göre duvar kalınlığı daha fazla ölçülmüştür ($p=0,038$).

3.4.5. Histiyosit Skorlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması



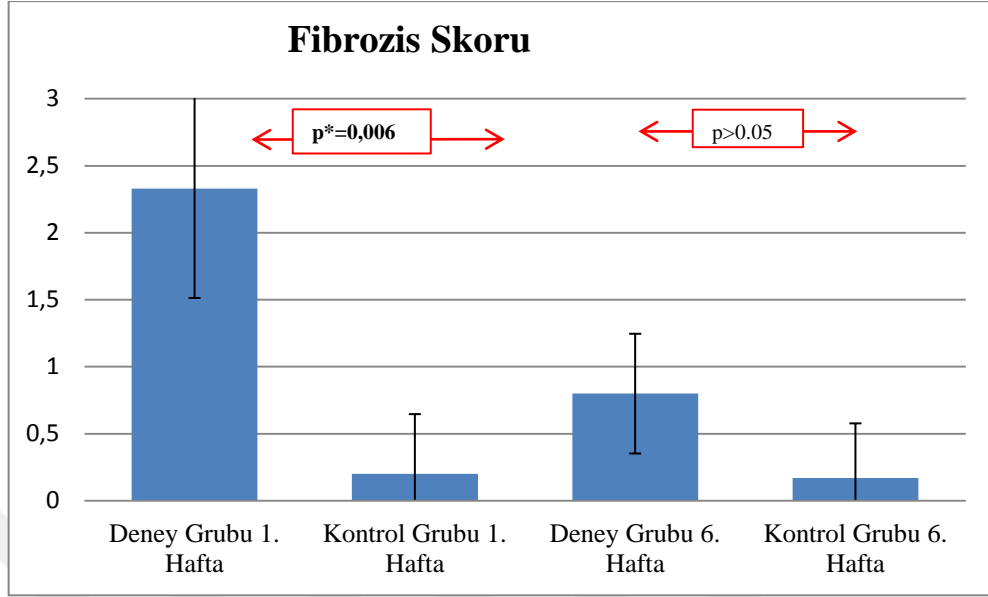
Grafik 7: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Histiyosit Skorlarının Karşılaştırılması

Histiyosit skorları karşılaştırıldığında 1. hafta örneklerinde deney grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmış olup, deney grubunda kontrol grubuna göre histiyosit skoru yüksek olguların daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0,002$, Tablo 3, Grafik 7).

6. hafta örnekleri histiyosit skoru açısından değerlendirildiğinde deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,242$ Tablo 3, Grafik 7).

Deney grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında histiyosit skoru açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, 1. hafta örneklerinde 6. hafta örneklerine göre histiyosit yoğunluğu derecesi yüksek olguların daha sık olduğu gözlenmektedir ($p=0,004$). Kontrol grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında histiyosit skoru açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1,000$).

3.4.6. Fibrozis Skorlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması



Grafik 8: Deney ve Kontrol Gruplarında 1. ve 6. Hafta Fibrozis Skorlarının Karşılaştırılması

Fibrozis skorları karşılaştırıldığında 1. hafta örneklerinde deney grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, deney grubunda kontrol grubuna göre fibrozis yoğunluğu yüksek olguların daha sık olduğu gözlenmektedir (**p=0,006**, Tablo 3, Grafik 8).

6. hafta örnekleri, fibrozis skoru açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,080, Tablo 3, Grafik 8).

Deney grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında fibrozis skoru açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, 1. hafta deney grubunda 6. haftaya göre fibrozis skoru yüksek olguların daha sık olduğu gözlenmektedir (**p=0,014**). Kontrol grubu 1. ve 6. hafta örnekleri kendi aralarında fibrozis skoru açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=1,000).

4. TARTIŞMA

Kopan bir uzvun yerine dikilmesi, tümör, enfeksiyon veya travma sonrası oluşan doku defektlerinin tamiri, sinir felcinde kas-sinir gibi yapıların fonksiyonel restorasyonu, meme rekonstrüksiyonu, mikrocerrahi damar anastomozunun kullanım alanlarından bazılarıdır (39,81–86). Mikrocerrahi damar anastomozunda büyütme altında çalışmak, buna uygun teknik ekipman, cerrahi alet ve personel desteği, bu konuda beceri ve bilgi sahibi cerrahi ekip olmazsa olmazlardır.

1897 yılında Murphy, femoral arteri uç-uca anastomoz yaparak insanda başarılı ilk damar anastomozunu yapmıştır (3). 1960 yılında Jacobson'un mikroskopu cerrahide kullanmasıyla başlayan, mikrocerrahi dikiş ve ekipmanların gelişmesi ve 1 mm çaplı damarlarda anastomoz yapılması ile devam eden süreçte modern rekonstrüktif mikrocerrahinin temelleri atılmıştır (4,5). Kopan uzuvların dikilmesi, serbest doku nakilleri ve ileri rekonstrüksiyon tekniklerini içeren flep modelleri tanımlanmaya başlanmıştır.

Günümüzde cerrahi ekipman ve teknik destek gelişmiş, sağlık alanında yatırımlar artmıştır. Mikroskop kullanımı yaygınlaşmış, temel ve ileri mikrocerrahi eğitimi giderek standart ve yaygın hale gelmiştir. Bu gelişmelerle birlikte mikrocerrahi damar anastomozu daha yaygın bir şekilde uygulanmaktadır.

Günümüzde başarılı bir serbest doku naklinin veya uzuv replantasyonunun kilit basamağı mikrovasküler anastomoz aşamasıdır. Damarda tromboz olması durumunda flep kaybedilir. Flep kaybının başlıca nedenleri cerrahi teknik, vazospazm, damarlarda ateroskleroz varlığı, travma, enfeksiyon veya radyasyonun etkilerine bağlı yumuşak doku hasarıdır (20). Teknik kusurlar arasında başlıcaları damar duvarlarının aynı hizaya getirilememesi, çap uyumsuzluğunun giderilememesi, iatrojenik damar hasarı ve arka duvardan dikiş geçilmesidir. Geleneksel sütür anastomozunun zaman alıcı olması, iskemi süresini uzatması ve uygulanması zor olması, plastik cerrahinin bu alandaki çalışmalarının yoğunlaşmasına ve uzun yıllardır farklı tekniklerin denenmesine neden olmuştur (39,48,54,59,63,87,88). Bu araştırmalar anastomozun daha az dikişle/dikişsiz ve/veya daha kısa sürede bitirilmesine odaklanmıştır.

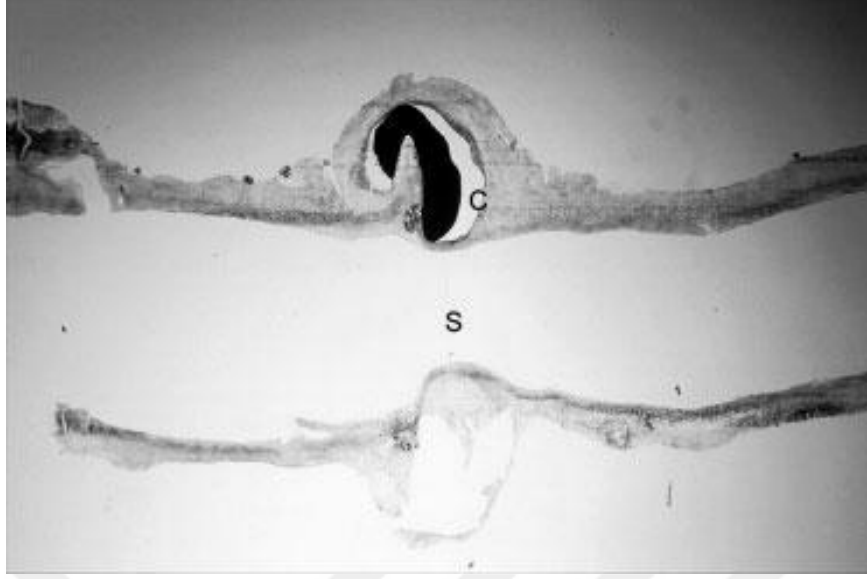
Tanımlanan tekniklerin kabul görmesi ve yaygınlaşması için en önemli koşullar tekniğin herkes tarafından kolay uygulanabilir olması ve eğer donanım veya ilaç gerektiriyorsa bunların kolay ulaşılabilir ve pratik kullanılabilir olmasıdır. İdeal anastomoz yönteminin öğrenmesi ve uygulaması kolay, iskemi süresi kısa, az travmatik ve patens oranı yüksek olmalıdır (89,90).

Anastomoz kolaylaştırıcı malzeme ve yöntemlerin en popüler olanı bağlayıcı cihaz (coupler device) olarak da bilinen Unilink Sistemi'dir. Bu cihaz, iki adet polietilen halka ve bu halkaların karşılıklı kenetlenmesini sağlayan cihazdan oluşur. Polietilen halkaların birbirine bakan yüzlerinde bu halkaların karşılıklı birleşmesini sağlayan pin ve delikler mevcuttur. Damar ağzları halkaların içinden geçirilip iğnelere tutturulur, iki halkanın birleşmesiyle anastomoz sağlanır. Anastomoz sonrası polietilen halka anastomoz bölgesinde kalmaktadır. Bu cihaz; damar uçlarının yumuşak ve esnek olduğu, çap uyumsuzluğunun minimal olduğu uç uca anastomozlarda iyi bir seçenektir (25). Hem arter hem venlerde kullanılabilir fakat ağırlıklı olarak ven anastomozlarında kullanılmaktadır (25). Geleneksel sütür anastomozuna göre daha basit, daha hızlı anastomoz sağlamaktadır (25,91,92). Jandali ve arkadaşları, 1000 vakalılık seride 2-6 dakika arası anastomoz süresi ile birlikte %99.4 patens oranı elde etmişlerdir (39). Öğrenmesi kolay ve etkili bir yöntem olmasına rağmen, kullanımını sınırlayan bazı durumlar mevcuttur. Arter anastomozu için; kalın duvarlı arterlerin anastomozunda, damarlar arası çap farkı oranı 1.5:1' den büyük olduğunda kontrendikedir. Yine arter anastomozunda geçirilmiş radyoterapi veya kalsifikasyon gibi durumlarda arter duvarı esnekliğini kaybettiği için yeterli eversiyon sağlanamaz ve kullanımı kontrendikedir. Devam eden radyoterapi, enfekte operasyon sahası, diyabet ve steroid tedavisinde de kontrendikedir (92). Ven anastomozu için de periferik vasküler hastalık, devam eden radyoterapi, enfekte operasyon sahası, kontrolsüz diyabet durumlarında kontrendikedir. 0.8 mm çaplı damarlarda kullanımı mümkün ve uygun ebatları bulunmaktadır. Fakat çapı 1.5 mm'den daha az olan damarlarda kullanıldığında tromboz oranını artırdığını gösteren ve kullanılmamasını tavsiye eden çalışmalar mevcuttur (92,93).

VCS (Vascular clipping system), Unilink Sistemi'nden sonra en popüler yöntemdir. Sistem; eversiyon forsepsleri, farklı ebatlarda titanyum klips ve bu klipslerin aplikatöründen oluşmaktadır. Klips konulmadan önce damar uçlarının everte edilmesi gereklidir. Bu amaçla değişken sayıda birkaç adet askı sütürü konulmaktadır. Yine

damar uçlarının everte edilebilmesi için damar uçları sağlıklı ve yumuşak olmalıdır. Kalıcı yabancı cisim olduğu için operasyon sahası temiz ve kontaminasyondan uzak olmalıdır (94). Bu yöntem; arter anastomozu, ven anastomozu ve by-pass cerrahisinde klinik olarak kullanıma girmiştir (44,87,95). Bu çalışmalarda hızlı operasyon süresi ve %100'e varan patens oranları bildirilmiştir (44,87,95). Klips, uygulanan bölgede penetre olmadığı için lümen girmez. Bu sayede intimal hasar yapmaz. Komori ve arkadaşları hayvan modeli çalışmalarında, VCS ile anastomoz yapılan deney gruplarında kontrol gruplarına göre intimal kalınlığın daha az olduğunu saptamışlardır (96). Bu yöntemde de tıpkı bağlayıcı cihaz gibi operasyon sahasında yabancı cisim kalması bir dezavantajdır. Ayrıca VCS donanımını uygulamadan önce hizalama ve eversiyon amaçlı cerrahin tercihinine göre 2-3 tane askı sütürü konulması gerekmektedir. VCS ile anastomoz yapan cerrahin bu yöntemle ilgili eğitim alması önerilmektedir (44,87,94). Anastomoz sonrası sızıntı varlığında, sızıntı olan bölgeyi onarım amaçlı kullanımı uygun değildir. Bu durumlarda geleneksel sütüre ihtiyaç olmaktadır. VCS sisteminin damar çaplarına göre boyutları olmakla birlikte 1 mm altındaki damarlar için uygun ticari formasyonu yoktur (44,87,97). Klips, damar uçlarına uygulandığında normal dikişe göre daha fazla doku ısırımı alır. Bu sebeple lümen daralmaya neden olabilir (98,99) (Resim 18). Bu daralma, 1.5 mm ve daha az çaplı, ince duvarlı damarlarda ciddi stenoz riski oluşturacağı için kullanımı uygun değildir (98,99) . Çapı 1.5 mm altı damarlarda kullanılamaması, anastomoz bölgesinde stenoz riski ve maliyetinin yüksek olması en önemli dezavantajlarıdır (98).

Klinik olarak VCS, Unilink sistem ve geleneksel sütür anastomozunu kıyaslayan bir çalışmada; Unilink sistem en hızlı damar anastomoz sürelerini verirken, VCS' nin de geleneksel yöntemle göre anastomoz süresini önemli ölçüde kısalttığı ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada, anastomoz patens oranları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (91).



Resim 18: Titanyum Klips ile Yapılan Anastomoz Sonrası Lümende Darlık

(Klöppel ve arkadaşlarının “Comparison of experimental microvascular end-to-end anastomosis via VCS®-Clips versus conventional suture technique in an animal model” J. Reconstr. Microsurg., 2007 yayınından alıntıdır.)

Damar anastomozunda; geleneksel sütün yerine denenen bir diğer teknik; lazer yardımlı anastomozdur. Bu teknik, karşılıklı damar uçlarının lazer enerjisi yardımıyla füzyonuyla sağlanmaktadır. Nd-Yag, karbondioksit, argon ve daha güncel olarak diod lazerler, deneysel çalışmalar ağırlıklı olmak üzere, damar anastomozunda kullanılmış ve %100' lere varan patens oranları elde edilmiştir (53–56). Yapılan çalışmalarda genellikle hizalama ve damar duvarı eversiyonu için sınırlı sayıda geleneksel mikrosütün konulduktan sonra sütünler arasında kalan bölgelere lazer atımları yapılmıştır (100–102). Lazer atımı sonrası damar duvarı füzyonunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Düzgün hizalanmış damar uçlarında, termal enerji sonrası media tabakasındaki kollajenlerin karşılıklı fiziksel ve kimyasal bağlar oluşturduğu düşünölmektedir (101,103). Geleneksel yöntemeye göre bazı göz alıcı avantajları vardır. Bunlardan ilki daha az yabancı cisim reaksiyonu, diğeri operasyon süresinin azalmasıdır (104–109). Bununla birlikte çok sayıda dezavantajı vardır. Lazer enerjisiyle anastomoz daha çok laboratuvar koşullarında denenmiş ve klinik uygulamalar için henüz kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunun belirli nedenleri vardır. Öncelikle lazer kullanımıyla yüksek anevrizma oranları bildirilmiştir (100,110). Bunun nedeni lazerin yapıştırıcı etkisinin kan basıncı ve gerim kuvvetlerine karşı yetersiz kalmasıdır (100,102,110). Bu, lazer yardımlı anastomozun önemli bir komplikasyonudur

(104,106,111,112). Diğeri, yapılan histolojik incelemelerde damar duvarında termal hasar görölmesidir (104). Bu termal etki elastik lamina hasarına, dolayısıyla damar duvarı sertliğini kaybetmesine neden olarak gerim gücünün azalmasına ve anevrizmaya neden olmaktadır. Güncel çalışmalar gerim gücünde önemli ilerlemeler sağlandığını gösterse de, Leclere ve arkadaşları 27 vakalık klinik seride %96.6 başarı oranı ile birlikte 1 vakada anastomoz rüptürü ve 3 vakada cerrahi gerektiren hematom bildirmişlerdir (113). Bu komplikasyonlar, gerim gücünün az olmasıyla ilişkili olabilir. Lazer enerjisiyle anastomozun klinik kullanımı çok sınırlıdır. Maliyeti yüksektir. Operasyon sırasında kurulum gerektirmektedir. Sağlam dokularda meydana gelebilecek termal hasar da önemli bir dezavantajdır.

Doku yapıştırıcılar, damar anastomozunda kullanılan bir diğer sütür dışı yöntemdir. Uygulanabilmesi için anastomoz yapılacak damar uçları düzgün hizalanmalıdır. Bu hizalanma, stent yardımıyla veya 2-3 askı sütürüyle sağlanır. Daha sonra yapıştırıcının anastomoz bölgesine zerk edilmesiyle anastomoz yapılır. Başlıca fibrin yapıştırıcı ve siyanoakrilatlar bu amaçla kullanılır.

Fibrin yapıştırıcılar, adhesiv etkilerini hızlı bir şekilde ve vücudun doğal yollarını taklit ederek gösterirler. Bu yönleriyle sentetik yapıştırıcılara karşı avantajlıdırlar. Islak ortamlarda istenilen düzeyde etkilerini gösterirler. Uygulanmalarından üç hafta sonra hafif bir kronik iltihabi yanıt bırakarak tamamen elimine olurlar. Dokuya karşı herhangi bir toksik etkileri yoktur ve yabancı cisim reaksiyonu oluşturmazlar (49,114). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, deney ve kontrol grupları arasında patens oranları benzer bulunmuş, anastomoz süreleri deney grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (49,115). Aynı klinik çalışmalarda, fibrin grubunda daha az yabancı cisim reaksiyonu gözlenmiştir (49,115). Fibrin yapıştırıcı kullanımı ile ilgili en önemli çekinceler anevrizma gelişimi ve trombüs oluşumu riskidir. Fibrin yapıştırıcıların damar anastomozunda tek başlarına kullanımında anastomoz hattında yeterli direnci sağlayamadığı, bunun da anevrizma gelişimini artırdığı düşünölmektedir (116,117). Fibrin, yüksek oranda trombojenik bir maddedir ve fibrin polimeri kan ürünlerinden elde edilir. İdeal anastomozda lümen içinde antikoagölün etkinlik beklenirken, lümen dışında sızıntı ve kanama olmaması, yani koagölün hâkimiyet beklenir. Kullanılan fibrin yapıştırıcının damar içine sızması trombozla sonuçlanabilir. Bu konuyla ilgili fibrin yapıştırıcının sağlam damarlarda ve

anastomozlarda trombüs oluşturduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur (118,119). Bu dezavantajlarından ötürü yeteri kadar popülarite kazanamamıştır.

Siyanoakrilatlar, akrilik asidin sentetik türevleridir ve damar anastomozunda deneysel olarak kullanılan diğer doku yapıştırıcısıdır. Metil 2-siyanoakrilat ile yapılan çalışmalarda, düşük patens oranı ile birlikte fusiform dilatasyon ve damar duvarı nekrozu gibi ciddi toksisite bulguları görülmüştür (46,120). Butil siyanoakrilat ile yapılan çalışmalarda da damar duvarında incelme, fusiform dilatasyon, elastik laminada yırtılma ve distrofik kalsifikasyon bulguları gözlenmiştir (121). Daha sonra daha az toksik olarak tasarlanan 2-oktil siyanoakrilat (Dermabond™) cilt laserasyonlarında kullanım için FDA onayı almıştır (47). 2-oktil siyanoakrilat ile yapılan deneysel çalışmalarda geleneksel yöntemle benzer patens oranları elde edilmiş, daha kısa anastomoz süresi ve daha az yabancı cisim reaksiyonuna rastlanmıştır (47,122). Fakat ven anastomozunda kullanımı kollaps sorunundan ötürü mümkün olmamıştır (47). Bununla birlikte, siyanoakrilatlar, damar anastomozunda klinik kullanıma girememiştir.

Tüm doku yapıştırıcılarda, yapıştırıcının lümen içine girmesini engellemek için damar uçlarının tam anlamıyla hizalanması gereklidir. Bu yöntemle yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda; damar uçlarının karşılıklı hizalanması, geleneksel yöntem ile atılan sütürlerle veya stentlerle sağlanmaktadır (47–49,62,115).

Damar anastomozunda stent kullanımı, neredeyse sütür anastomozu kadar eski bir fikirdir (57). 1902 yılında Carrel emilebilir şeker stentleri tanımlasa da klinik kullanıma girmemiştir (25). Koroner arter hastalığının tedavisinde kullanılmasıyla gelişen mikrostentlerin damar anastomozunda kullanımı için deneysel çalışmalar mevcut olup, çalışmalar sıçan aort damarı üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda farklı yapıdaki genişleyebilir stentler, anastomoz sahası dışında periferik yoldan kateterle veya klemp sonrası anastomoz bölgesinde her iki damar ağzına yerleştirilerek damarın proksimal ve distal güdükleri arasında bağlantı sağlanıp kateter şişirilmiştir. Karşılıklı gelen damar uçlarına doku yapıştırıcı uygulanarak anastomoz sağlanmıştır (11,59). Periferik kateter yardımıyla anastomoz sahasına taşınan stentlerin kullanımı için, anastomoz hattının daha periferinden arteriotomi yapılması gerekir ve yapılan arteriotominin boyutuna göre tekrar onarım gerektirebilir. Ayrıca anastomoz öncesi klemp uygulanması sonrası damar çapı daralmakta, bununla orantılı olarak kullanılacak stent çapının anastomoz yapılacak damarın çapından daha küçük olması gerekmektedir.

Bu durum mevcut şartlarda 1 mm ve altı damarlarda kullanım için olası görünmemektedir. Damar çapı 2 mm olduğunda bile klemp sonrası bu 1 mm civarına inmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda mikrostentler, sıçan aort damarı anastomozunda denenmiştir (11,59). Ayrıca stent kullanımının farklı bir eğitim, ekipman ve beceri gerektirmesi ve maliyetinin oldukça yüksek oluşu diğer dezavantajlarıdır. Bu nedenlerle stent yardımcı anastomoz henüz klinik kullanıma girmemiştir.

Damar içi stentlerin en önemli kullanım alanı endovasküler girişimlerdir. Bu girişimler, sıklıkla tıkanan damarları tekrar açmak için yapılırsa da bazen de bir vasküler yatağı tıkamak için yapılır. Buna embolizasyon denir. Embolizasyon sırasında, sağlıklı vasküler yatağı embolizan ajandan korumak için veya toksik ilaçların dolaşıma katılmasını engellemek için kan akımını geçici olarak durdurmak gerekir. Bu tıkaçıcı ajan atravmatik olmalı, toksik ve trombojen olmamalıdır (123). Bu amaçla Raymond ve arkadaşları, Poloxamer 407 ile hayvan modellerinde geçici vasküler oklüzyon oluşturmuşlardır (123). Poloxamerler suda çözünebilen, orak hücreli anemi tedavisinde, ilaç salınımında, travmatik beyin hasarında klinik olarak kullanılan ve renal yolla atılan polimerlerdir (124–127). Toksik ve trombojenik değildir (123,128,129). Düşük sıcaklıkta sıvı, vücut sıcaklığında katı forma geçerek ters termosensitivite gösterirler (60,61). Bu sayede sıvı formda damar lümenine enjekte edilirken, damar içinde vücut sıcaklığında katı forma geçerler. Bu katı form sayesinde bir klemp gibi kan akımını geçici olarak durdururlar. Bu sayede anastomoz sırasında klemp görevi görürler. Enjeksiyon sonrasında 20 dakika içerisinde kendiliğinden, veya soğuk salin ile ortamın soğutulmasıyla hemen sıvı forma geçerek çözünürler (60,61). Poloxamer 407, FDA onaylı olarak LeGoo™ isimli ticari formuyla piyasada bulunmaktadır. By-pass cerrahisi ve mikrovasküler cerrahide kullanıldığı klinik çalışmalar da mevcuttur (61,130,131). Bu çalışmalarda damar içi LeGoo™ enjeksiyonu sonrası geleneksel sütür anastomozu yapılmıştır.

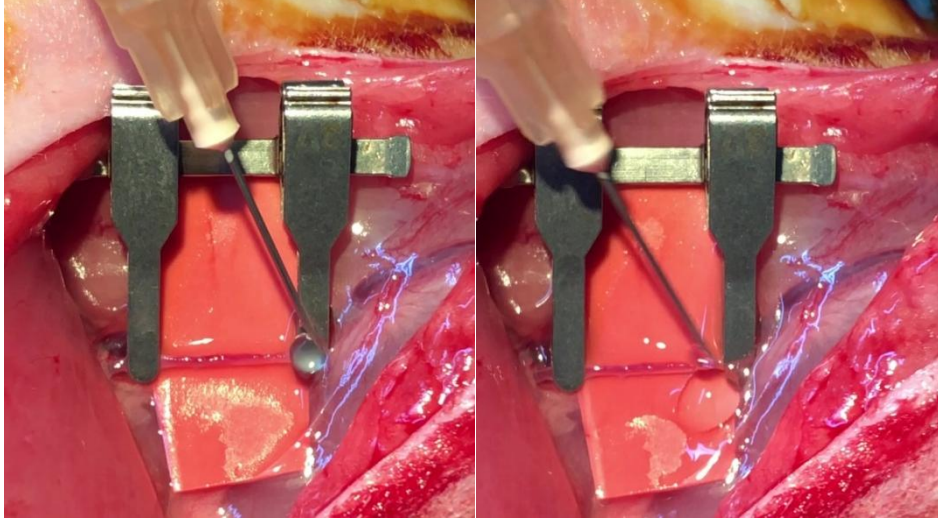
2011 yılında Chang ve arkadaşları, Poloxamer 407 ve siyanoakrilat doku yapıştırıcısı ile sıçan aort anastomozu yapmışlardır. İnvasküler poloxamer enjeksiyonu sonrası damar uçları karşılıklı getirilip siyanoakrilat doku yapıştırıcısı ile anastomoz tamamlanmıştır (62). Özer ve arkadaşları sıçan aort modelinde, Qassemeyar ve arkadaşları sıçan ana iliak arter modelinde poloxamer ve siyanoakrilat ile damar anastomozu çalışmaları yapmışlardır (63,132). Poloxamer ve siyanoakrilat ile

anastomoz üzerine yapılan çalışmalarda deney ve kontrol grupları arasında patens oranları arasında anlamlı bir fark bulunmazken, deney gruplarında anastomoz süreleri daha kısa, dev hücre sayısı ve inflamasyon daha az bulunmuştur (62,63,132). Bu avantajlarının yanında en önemli dezavantajı siyanoakrilatların henüz damar anastomozunda klinik kullanıma girmemiş olmasıdır. Ayrıca bu yöntem çap uyumsuzluğu durumunda elverişli değildir (132).

Literatürde anastomoz kolaylaştırıcı yöntemlerle yapılan deneysel çalışmaların büyük çoğunluğunu sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar oluşturmaktadır. Bu çalışmalar ağırlıklı olarak aort, juguler ven, karotis arter gibi çapları görece büyük olan damarlar üzerinde yoğunlaşmıştır (56,59,62,98,115,132). Çalışmamızda anastomozlar sıçan femoral arter üzerinde yapılmış olup, damar çapları 1 mm'nin altındadır. Çalışmamızda kullanılan pektin kalsiyum klorür jel küçük çaplı anastomozlarda etkili bir seçenek olabilir.

Literatürde anastomoz kolaylaştırıcı deneysel çalışmalarda, karşılaştırma kriterleri olarak patens oranları, anastomoz süreleri, suture sayıları, radyolojik görüntüleme, gerim gücü, histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme, elektron mikroskopik inceleme gibi yöntemlere başvurulmuştur (47,62,63,98,115,117,132,133). Çalışmamızda patens oranları, anastomoz süreleri, suture sayıları, histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme sonuçları karşılaştırılmıştır (Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4).

Çalışmamızda kullandığımız pektin kalsiyum klorür jel, biyobozunur olması, kollapsı önlemesi nedeniyle poloxamer 407 ile benzerlik göstermektedir. Poloxamer jel, şırınga veya kanül yardımıyla damar lümeni içine uygulanmaktadır (61,127). Böylece damar lümeni açık halde iken damar uçlarının karşılıklı hizalanması sağlanmıştır. Enjeksiyonun damar lümeni içine yapılması, damar çapı inceldikçe enjeksiyonun daha zor ve travmatik hale gelmesine sebep olabilir. Çalışmamızda adventisya diseksiyonu sonrası, önce 0.1 ml pektin, ardından 0.1 ml kalsiyum klorür lümen içine değil, anastomoz ortamına enjekte edilmiştir (Resim 19). Pektin kalsiyum klorür, anastomoz öncesi damar uçlarının pozisyon kaybını ve damarların kollapsını engelleyen 3 boyutlu jel matris halini almıştır (Resim 20).



Resim 19: Anastomoz Ortamına Önce Pektin, Ardından Kalsiyum Klorür Eklenmesi



Resim 20: Pektin Kalsiyum Klorür 3 Boyutlu Jel Matris Yapısı

Çalışmamızda 1. hafta ve 6. hafta alt gruplarında, histopatolojik inceleme için damar segmenti alınmadan hemen önce, boşalt-yeniden doldur testi ile patensler değerlendirilmiştir. Chang ve arkadaşları ile Özer ve arkadaşlarının çalışmalarında, damar patensleri radyolojik görüntüleme ile yapılmış, histopatolojik inceleme yapılan deneklerde farklı alt grup deneklerde değerlendirilmiştir (62,132). Qassemyar ve arkadaşları, damar patenslerini 15. gün sonunda boşalt-yeniden doldur testi ile değerlendirmişlerdir (63). Literatürde damar patenslerinin çalışmamızdaki gibi histopatolojik örnek alınmadan önce değerlendirildiği başka çalışmalar da mevcuttur

(47,114). Örneklerin 1. hafta ve 6. hafta alınması, kısa ve uzun dönem örneklerinin inflamasyon, lümen genişliği, stenoz gibi bu süre dilimlerinden etkilenen parametreler için hiç kuşkusuz önem arz etmektedir. Fakat damar anastomozunun tromboza bağlı tıkanması için kritik süreç 3-5 gündür. 5. günde psödointima formasyonu oluşur ve genellikle 7. günde endotelizasyon tamamlanır (14–16). Bu nedenle deney ve kontrol grupları patens karşılaştırmasında 1. ve 6. hafta alt gruplar olarak değil, tüm deney ve kontrol grupları birlikte değerlendirilmiştir. Deney ve kontrol gruplarında patens durumlarına bakıldığında her iki grupta da (n=11) 3'er denekte tromboz görülmüştür. Anastomoz patens oranı her iki grupta da %72.72 olup gruplar arasında fark bulunmamaktadır (Tablo 4). Chang ve arkadaşlarının çalışmasında patens oranları geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda %90.0 olarak bildirilmiştir (62). Qassemyar ve arkadaşlarının çalışmasında patens oranları geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda %90 olarak bildirilmiştir (63). Çalışmamızda kontrol grubundaki patens yüzdelerinin, bu çalışmalara göre daha düşük olmasının birkaç sebebi olabilir. Chang ve arkadaşları sıçan aort modeli üzerinde, Qassemyar ve arkadaşları, ana iliak arter modeli üzerinde anastomoz yapmışlardır. Bu damarlar, çalışmamızda kullanılan sıçan femoral artere göre daha büyük çaplı damarlardır. Padubidri ve arkadaşlarının sıçan femoral arterde fibrin glue ve geleneksel sütür anastomozunu kıyasladıkları çalışmalarında, geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda patens oranı %68.75 olarak bildirilmiştir (114). Yine Ang ve arkadaşlarının sıçan femoral arter üzerinde siyanoakrilat ve geleneksel sütür anastomozunu kıyasladıkları çalışmalarında, geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda patens oranı %85 olarak bildirilmiştir (47). Bu çalışmalardaki veriler, çalışmamızda patens oranlarının görece daha düşük olmasının anastomoz yapılan damarın çapı ile ilişkili olabileceği düşüncesini destekler niteliktedir.

Çalışmamızda sıçan femoral arter anastomoz süreleri, pektin kalsiyum klorür jel kullanılan deney grubunda 11.45 ± 1.48 dakika, kontrol grubunda 15.79 ± 1.33 dakika olarak ölçülmüştür (Tablo 2, Grafik 1). Chang ve arkadaşlarının çalışmasında anastomoz süresi geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda ortalama 47.3 ± 5 dakika olarak bildirilmiştir (62). Yine Özer ve arkadaşlarının çalışmasında anastomoz süresi geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda ortalama 35.5 ± 1.8 dakika olarak ölçülmüştür (132). Qassemyar ve arkadaşlarının çalışmasında

anastomoz süresi geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda ortalama 21.65 ± 2.96 dakika olarak ölçülmüştür (63). Poloxamer ve siyanoakrilat ile geleneksel sütür anastomozunu karşılaştıran bu çalışmalarda, poloxamer kullanılan deney gruplarında anastomoz süresinin anlamlı olarak kısaldığı belirtilmiştir. Çalışmamızda kontrol grubunda anastomoz süresinin Chang, Özer ve Qassemyar'ın çalışmalarındaki geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol gruplarına göre daha kısa olmasının nedeni, çalışılan damar modelinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Sıçan femoral arter çapı 0.6-0.8 mm arasındadır (Resim 21). Ang ve arkadaşlarının sıçan femoral arter üzerinde siyanoakrilat ve geleneksel sütür anastomozunu kıyasladıkları çalışmada, geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubu femoral arter anastomoz süreleri ortalama 17.35 dakika olarak bildirilmiştir (47). Bu veri, farklı damarlarda yapılan anastomozların anastomoz süresini değiştirdiğini destekler niteliktedir. Çalışmamızda deney grubunda kontrol grubuna göre anastomoz sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir kısalma saptanmıştır ($p < 0,001$, Tablo 2, Grafik 1). Bu veri, pektin kalsiyum klorür jel ortamında daha hızlı ve kolay anastomoz yapıldığı düşüncesini destekler niteliktedir.

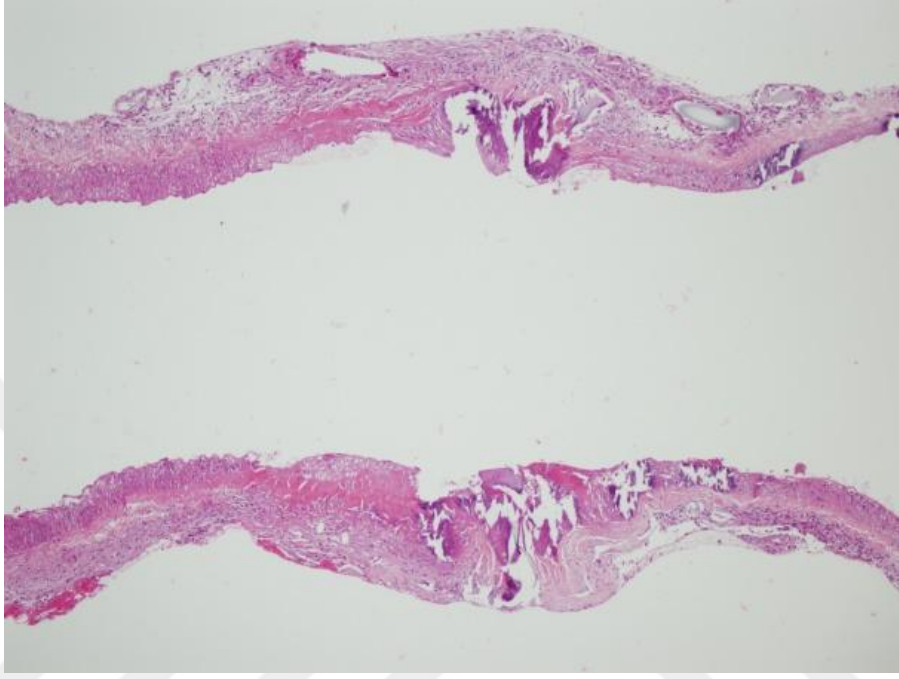


Resim 21: Sıçan Femoral Arterin Milimetrik Skala Üzerinde Görüntüsü
Çalışmamızda anastomozlar sıçan femoral arteri üzerinde yapılmış olup, damar çapları 0.6-0.8 mm aralığında ölçülmüştür (Crownjun Micro Scale).

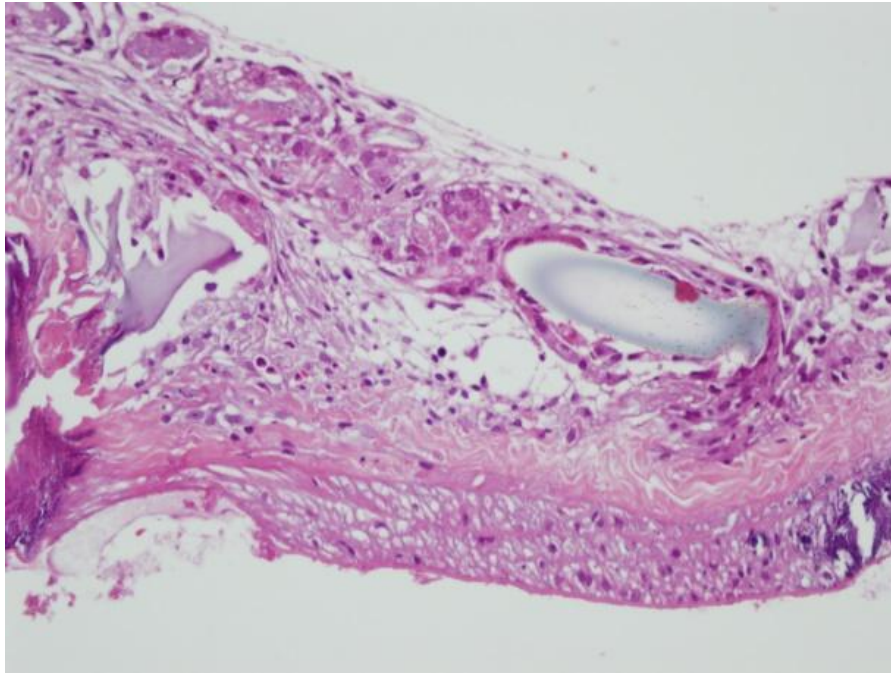
Çalışmamızda deney ve kontrol gruplarında damar anastomozunda atılan sütür sayıları kıyaslandığında deney grubunda sütür sayısı ortalama 6.1 ± 0.30 , kontrol grubunda 6.50 ± 0.52 değerleri elde edilmiştir ($p>0,05$, Tablo 2, Grafik 2). VCS, doku yapıştırıcı gibi anastomoz kolaylaştırıcı malzemelerin kullanımında damar uçlarının hizalanması amacıyla 2-3 adet geleneksel sütür konulmaktadır. Sütür sayısı, bu yöntemlerle yapılan bazı çalışmalarda vurgulanan bir parametredir (47,49,98). Çalışmamızda sütür sayıları ve anastomoz süreleri sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, sütür sayısında anlamlı bir azalma olmadan anastomoz sürelerinde kısalma olduğu görülmektedir.

Histopatolojik incelemede çok çekirdekli dev hücreler, anastomoz bölgesinde sütüre veya kullanılan malzemeye karşı gelişen yabancı cisim reaksiyonunu gösterir (47,62,98,132). Yapılan çalışmalarda genellikle yabancı cisim reaksiyonu ve dev hücre sayıları kıyaslanırken kabaca var veya yok, az veya çok diye kategorize edilmiştir (47,63,98,114,115,132,133). Chang ve arkadaşlarının çalışmasında, anastomoz bölgesindeki çok çekirdekli dev hücre sayıları, iki ayrı patolog tarafından farklı zamanlarda sayılarak ortalamaları alınmıştır. Bu parametre, 1. hafta, 6. hafta ve 1. yıl alt gruplarında deney ve kontrol grupları arasında kıyaslanmıştır. Bu sayımlarda 1 büyük büyütme alanı başına düşen dev hücre sayısı 1. hafta deney grubunda 6.3 ± 1.1 , geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda 9.2 ± 1.3 olarak bildirilmiştir. Aynı sayım 6. haftada deney ve kontrol grupları için sırasıyla 9.0 ± 2.1 , 2.5 ± 0.7 olarak bildirilmiştir. 1. hafta değerlerinde anlamlı bir fark saptanmazken, 6. hafta değerleri deney grubunda anlamlı olarak daha az bulunmuştur (62). Çalışmamızda dev hücre sayımı, Chang ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde deney ve kontrol grupları ve bu gruplar kendi aralarında 1. ve 6. hafta alt gruplara ayrılarak yapılmıştır. Yine değerlendirmeler iki ayrı patolog tarafından farklı zamanlarda yapılmış ve ortalamaları alınmıştır. Çalışmamızda 1. hafta histopatolojik değerlendirmelerinde, anastomoz bölgesinde 1 büyük büyütme alanı başına düşen dev hücre sayısı, deney grubunda 4.78 ± 3.06 , kontrol grubu $2.78 \pm 0,68$ olarak ölçülmüştür (Tablo 2, Resim 22-25). 6. hafta değerlendirmelerinde bu sayı deney grubunda 2.45 ± 0.58 , kontrol grubunda 1.67 ± 0.49 olarak bulunmuştur (Tablo 2, Resim 26-29). 1. hafta ve 6. hafta sonuçları kendi aralarında değerlendirildiğinde deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$, Tablo 2, Grafik 3). Çalışmamızda hem deney hem de kontrol

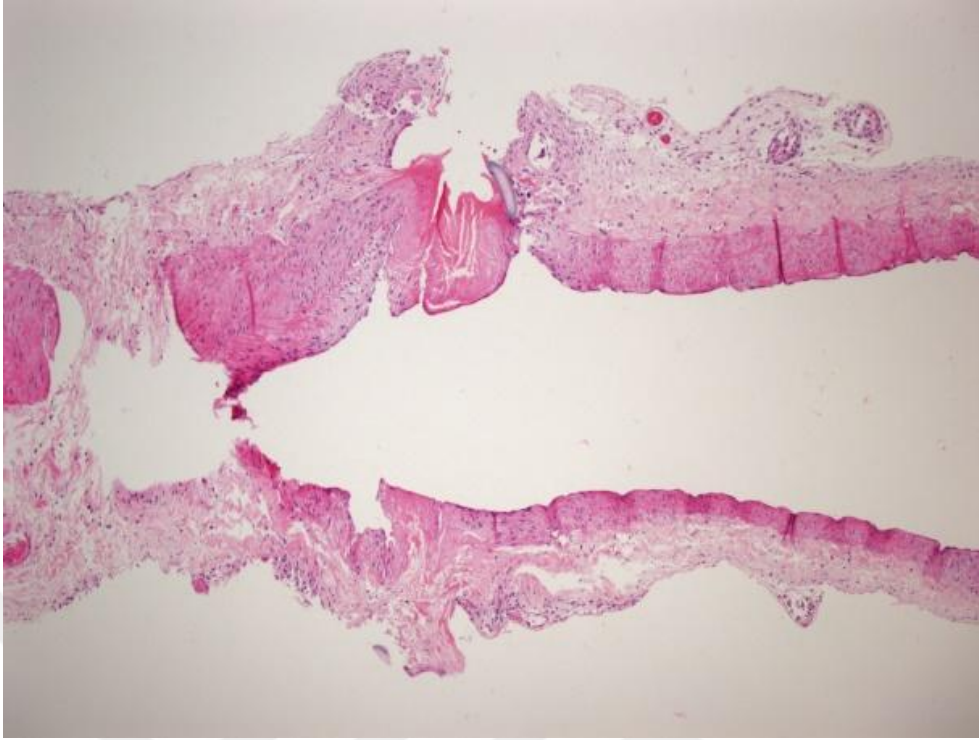
gruplarında sütür anastomozu yapılmış, deney grubu anastomozları pektin kalsiyum klorür jel ortamında yapılmıştır. Bu sonuçlar, pektin ve sütür birlikte kullanıldığında oluşan yabancı cisim reaksiyonun, sadece sütüre karşı gelişen yabancı cisim reaksiyonuna göre anlamlı bir artış gstermediğni destekler niteliktedir.



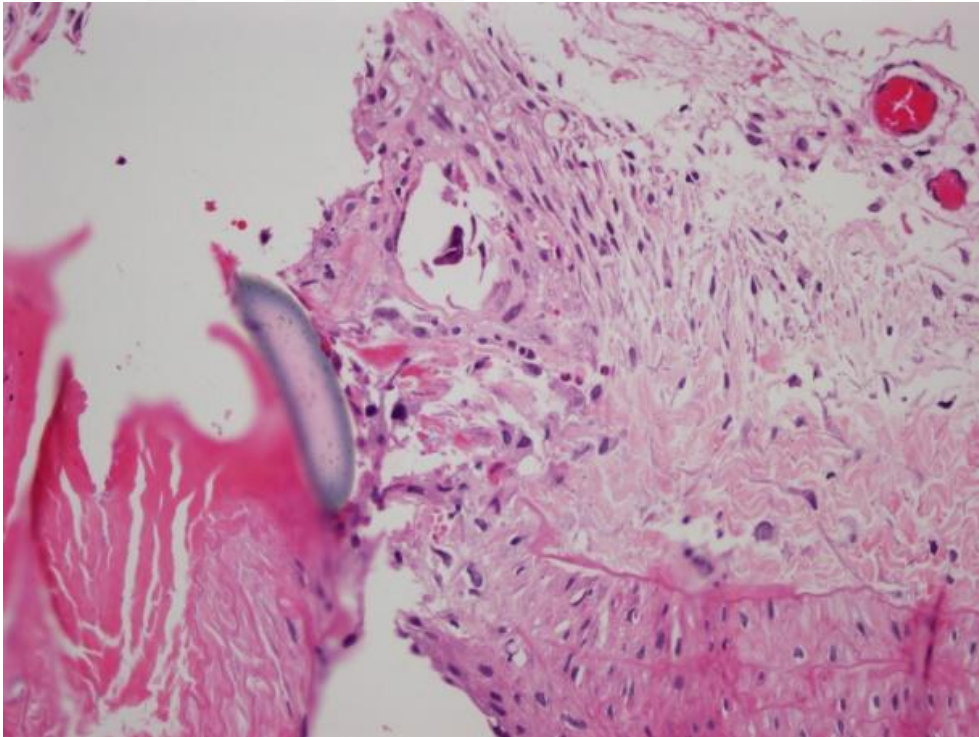
Resim 22: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Deney Grubu x100



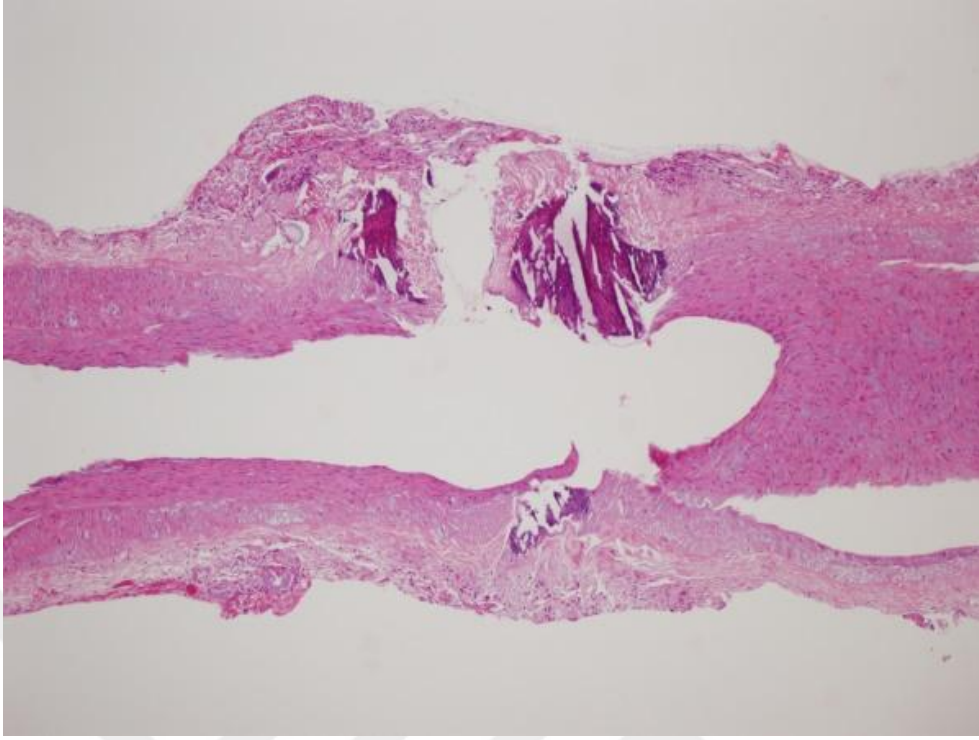
Resim 23: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Deney Grubu x400



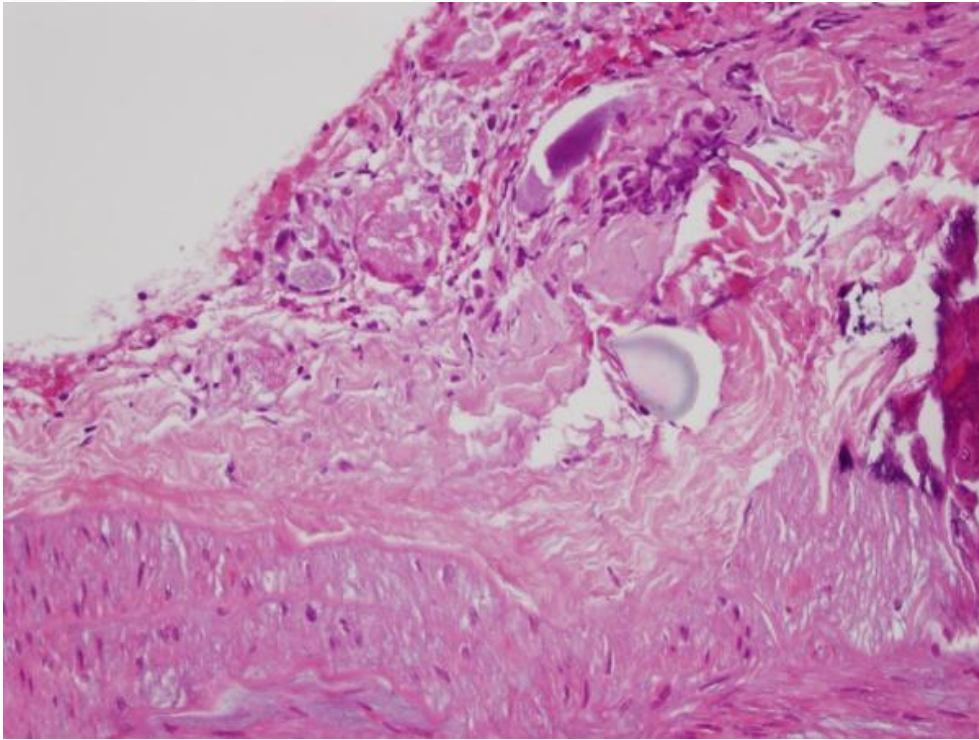
Resim 24: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Kontrol Grubu x100



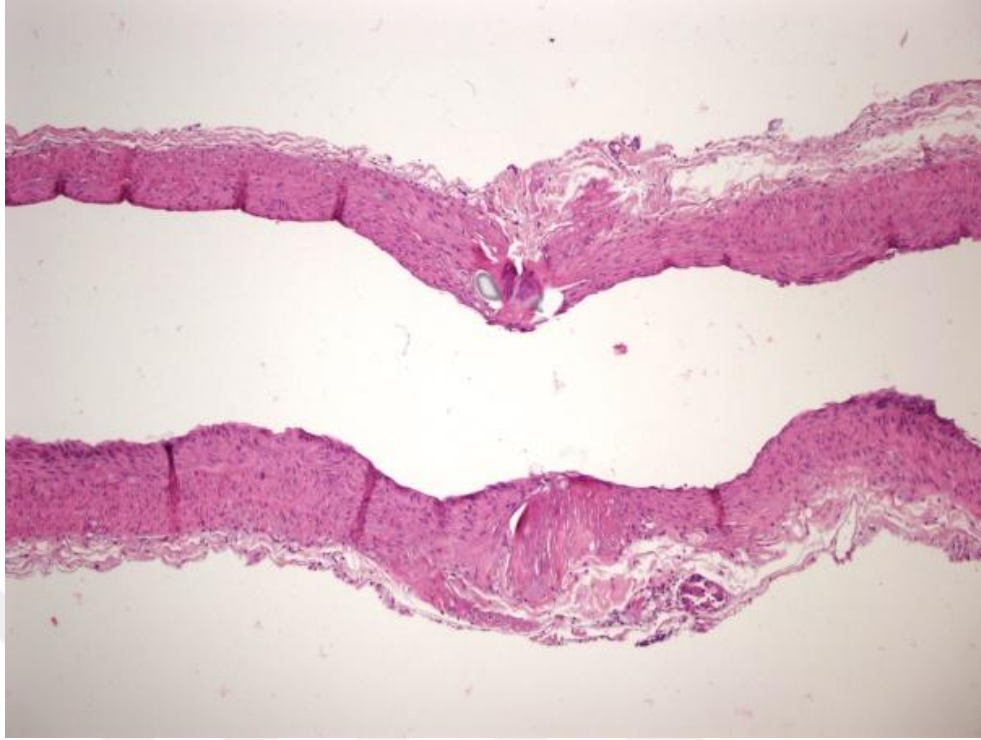
Resim 25: Hematoksilen & Eozin Boyama 1. Hafta Kontrol Grubu x400



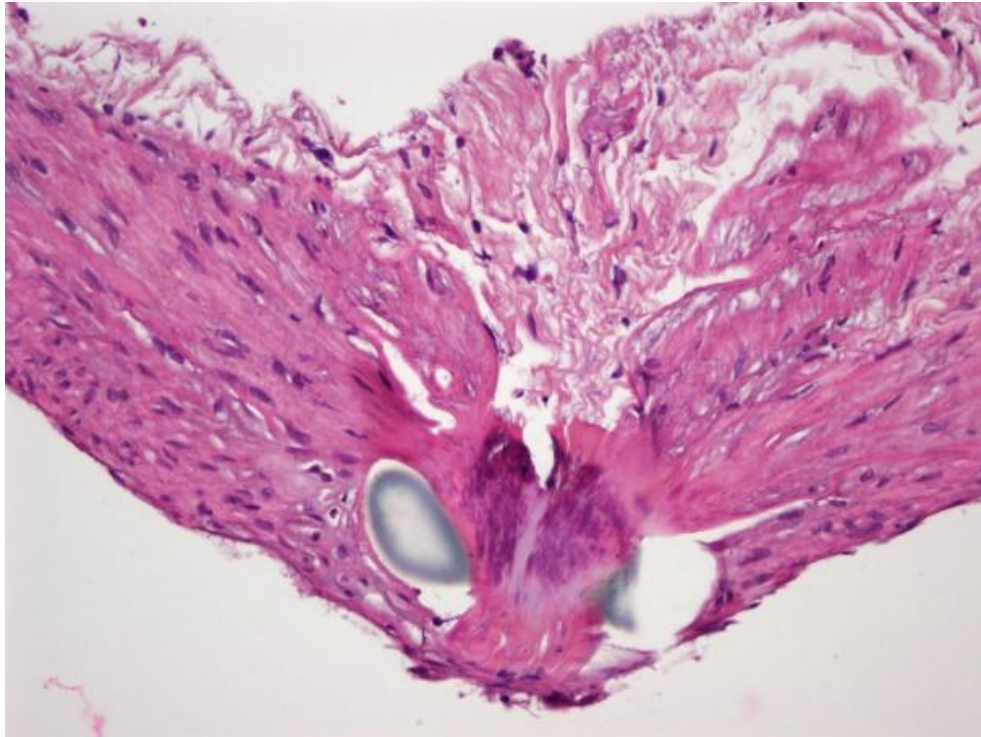
Resim 26: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Deney Grubu x100



Resim 27: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Deney Grubu x400



Resim 28: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x100



Resim 29: Hematoksilen & Eozin Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x400

Çalışmamızda karşılaştırılan diğer histopatolojik inceleme parametreleri anastomoz bölgesinde lümen genişliği ve duvar kalınlığıdır. Ölçümler oküler mikrometre ile yapılmıştır. Anastomoz bölgesinde damar duvarı kalınlığı normale göre hafifçe artar. İntimal hiperplazi, tunika mediadaki fokal nekrozlar, inflamasyondan dolayı kalınlığı artan adventisya tabakası buna sebep olur. Özellikle erken dönemde myofibroblastlar ve makrofajların da etkisiyle ortaya çıkan intimal hiperplazi lümeneye doğru meydana gelen bir genişlemedir. İntimal hiperplazi, damar duvarındaki inflamasyon ve kalınlaşma, hafifçe luminal stenoza yol açar (26,98).

Çalışmamızda 1. hafta lümen genişliği değerleri deney ve kontrol grubunda sırasıyla ortalama 0.55 ± 0.05 mm ve 0.59 ± 0.14 mm olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 2, Grafik 5). 6. hafta değerleri deney ve kontrol gruplarında sırasıyla 0.62 ± 0.06 mm ve 0.58 ± 0.07 mm olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 2, Grafik 5). Literatürde Özer ve arkadaşlarının çalışmasında lümen genişliği histopatolojik yöntemle ölçülmüştür. Çalışmada 1. hafta değerleri geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda 465.0 ± 4.0 µm, poloxamer kullanılan deney grubunda 474.0 ± 6.1 µm olarak ölçülmüştür. 6. hafta değerleri geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda 570.0 ± 1.414 µm, poloxamer kullanılan deney grubunda 575.0 ± 1.581 µm olarak ölçülmüştür. Lümen genişliği geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda, deney gruplarına göre anlamlı olarak daha dar bulunmuştur (132). Çalışmamızda bulunan sonuçlar, Özer ve arkadaşlarının çalışmasıyla kıyaslandığında çalışmamızdaki değerlerin hafifçe daha yüksek olduğu görülmektedir. Özer ve arkadaşları, sıçan aort modelinde anastomoz yapmış olup, çalışmada damar çapları 1.1 mm olarak verilmiştir (132). Lümen çaplarındaki bu uyumsuzluğun nedeni, longitudinal kesit alınımındaki teknik farklılıklardan kaynaklanabilir.

Çalışmamızda duvar kalınlığı değerleri 1. hafta örneklerinde deney ve kontrol grubu için sırasıyla 0.21 ± 0.03 mm ve 0.22 ± 0.03 mm olarak ölçülmüştür. 1. hafta sonuçları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 2, Grafik 6). Duvar kalınlığı 6. hafta değerleri deney ve kontrol grubu için sırasıyla 0.17 ± 0.04 mm ve 0.15 ± 0.05 mm olarak ölçülmüştür. 6. hafta sonuçları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 2, Grafik 6). Özer ve arkadaşlarının çalışmasında,

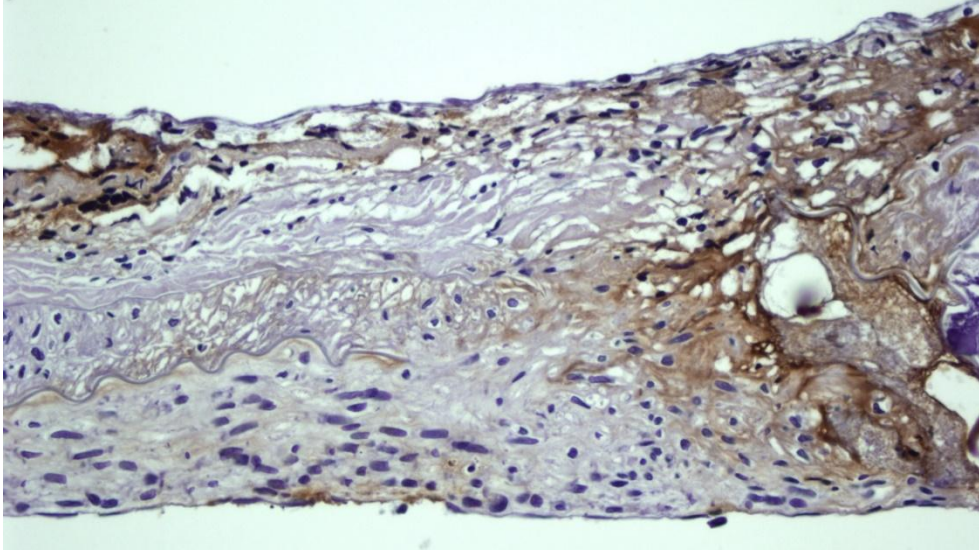
geleneksel sütür anastomozu yapılan kontrol grubunda duvar kalınlığı değerleri, deney gruplarına göre anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. 1. hafta değerleri kontrol grubunda $140.0 \pm 2.748 \mu\text{m}$, poloxamer grubunda $122.0 \pm 1.247 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Yine 6. hafta değerleri kontrol grubunda $120.0 \pm 2.000 \mu\text{m}$, poloxamer grubunda $90.0 \pm 1.581 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür (132). Çalışmamızda bulunan sonuçlar, Özer ve arkadaşlarının çalışmasıyla kıyaslandığında çalışmamızdaki değerlerin daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızda ölçüm, intima, media ve adventisya tabakalarının tamamını alacak şekilde yapılmıştır. Bu sayede inflamasyonla kalınlaşan adventisya tabakası da ölçüme katılmıştır. Bu durum çalışmamızda duvar kalınlığı değerlerinin daha yüksek bulunmasının bir sebebi olabilir.

Çalışmamızda duvar kalınlığı ve lümen genişliği ölçümlerinde 1. hafta ve 6. hafta sonuçları, anastomoz ortamına eklenen pektin kalsiyum klorürün damar duvarı kalınlığını artıracak inflamasyon artışına neden olmadığı, lümeninde de daralmaya yol açmadığını destekler niteliktedir.

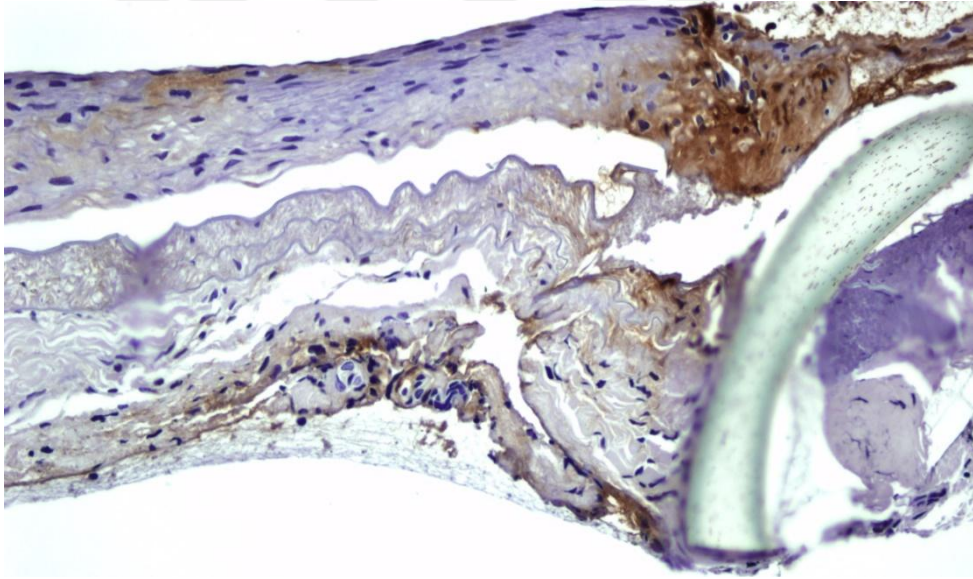
Çalışmamızda CD 68 (makrofaj belirteci) antikor boyamayla immunohistokimyasal inceleme yapılmış, 1 büyük büyütme alanı başına düşen CD 68(+) hücre sayısı 1. hafta örneklerinde deney grubunda 22.87 ± 13.53 , kontrol grubunda 25.33 ± 6.59 olarak bulunmuştur ($p>0,05$, Tablo 2, Grafik 4). 6. hafta örneklerinde bu sayı deney grubunda 18.82 ± 6.80 kontrol grubunda 6.53 ± 2.47 'dir ($p=0,009$, Tablo 2, Grafik 4). 6. hafta örneklerinde CD 68 hücre sayısının deney grubunda anlamlı şekilde fazla olduğu görülmüştür (Resim 30-31). Chang ve arkadaşlarının çalışmasında 6. hafta örneklerinde alan başına düşen CD 68(+) hücre sayısı deney grubunda 26.75 ± 10.4 , kontrol grubunda 95.75 ± 5.7 olarak bildirilmiştir (62). Çalışmamızda bulunan değerler, Chang ve arkadaşlarının çalışmasıyla kıyaslanınca farklılıklar göstermektedir. Bu farklılık, değerlendiren patolog, antikor boyama teknik ve malzemeleri ile anastomoz yapılan damarların farklı olmasından kaynaklanabilir. Çalışmamızda CD 68(+) hücrelerin deney grubunda 6. hafta örneklerindeki anlamlı fazlalığı, inflamasyonun pektin kullanılan grupta daha uzun süre sebat ettiğini göstermektedir.

Markov ve arkadaşları, 2019 yılında yaptıkları çalışmada pektin hidrojelin subkutan implantasyonu sonrası inflamatuvar yanıtta meydana gelen değişimleri incelemişlerdir (134). Sıçan dorsumunda açılan insizyon, kontrol grubunda direkt sütüre

edilmiş, deney gruplarında %1 ve %4 pektin hidrojel implante edilmiştir. İmlante edilen pektinler histopatolojik inceleme amaçlı gün sayısına göre alt gruplar oluşturularak yeni bir operasyonla çıkarılmıştır. Histopatolojik görüntülerde %4 pektin implante edilen deney grubunda, 3. günden itibaren inflamatuvar hücrelerin arttığı, 8. günde makrofaj, plazma hücreleri, fibroblastlarda artış olduğunu göstermişlerdir. Yine %1 pektin implante edilen deney grubunda inflamatuvar hücre artışı gösterilmiş, bu artışın %4 pektin grubuna göre daha az olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada %1 ve %4 pektin enjekte edilen gruplarda, çıkarılan jel implant yüzeyinde hücre sayımı yapılmıştır. Sonuçlar 8. günde implantın çıkarıldığı %1 pektin grubunda ortalama 110 ± 20 hücre/100 mm², %4 pektin grubunda 125 ± 20 hücre/100 mm², 21. günde %1 pektin degrade olurken, %4 pektin grubunda 184 ± 40 hücre/100 mm² olarak bildirilmiştir. Aynı gruplarda alınan kan örneklerinde yapılan lökosit sayımlarında kontrol grubunda 3. günde lökosit sayısı en yüksek düzeye ulaşmış, azalarak 21. günde normal seviyelere gelmiştir. %1 pektin grubunda artış devam ederek 8. günde pik yapmış, 21. günde kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur. %4 pektin grubunda artış 3. günden itibaren başlayarak 21. güne kadar devam etmiş ve 21. günde diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur (134). Bu sonuç, çalışmamızdaki verilerle birlikte değerlendirildiğinde, pektinin inflamatuvar yanıtta bir artışa sebep olabileceğini destekler niteliktedir.



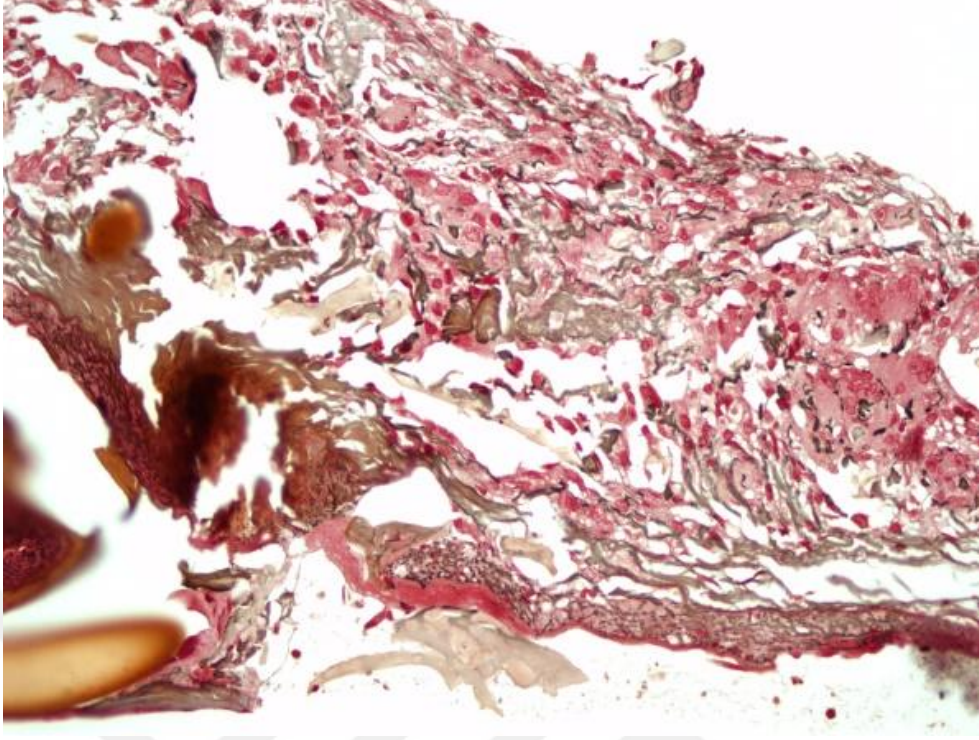
Resim 30: CD 68 Antikor Boyama 6. Hafta Denedey Grubu x400



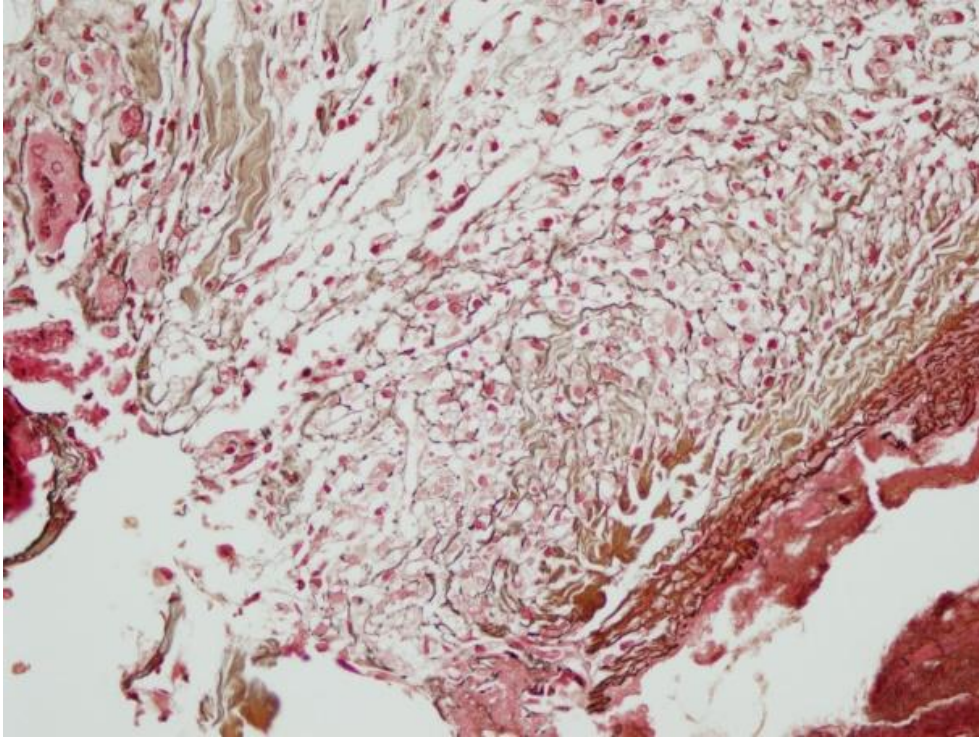
Resim 31: CD 68 Antikor Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x400

Çalışmamızda gruplar arası inflamasyonun karşılaştırması amacıyla yapılan başka bir değerlendirme histiyosit skorlamasıdır. Chang ve arkadaşlarının çalışması ile, Özer ve arkadaşlarının çalışmasında anastomoz bölgesinde 1 büyük büyütme alanı başına düşen inflamatuvar hücre sayımı yapılmıştır (62,132). Çalışmamızda kullanılan skorlama yöntemi hücre sayımına göre daha az spesifik olmakla birlikte, inflamasyon yoğunluğu açısından önemli verilere ulaşmamızı sağlamıştır. Hem 1. hafta, hem de 6. hafta değerlerinde histiyosit skorları yüksek olguların deney grubunda daha fazla olduğu görülmüş, bu artış 1. hafta kesitleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı, 6. hafta kesitleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0,002$, $p>0,05$, Tablo 3, Grafik 7). Histiyosit skorlarında deney gruplarındaki yüksekliği, kullanılan pektin kalsiyum klorür jelin, anastomoz bölgesinde inflamatuvar hücre artışına neden olabileceğini göstermektedir. Markov ve arkadaşlarının çalışması bu düşünceyi destekler niteliktedir. Çalışmada, subkutan %1 ve %4 pektin implante edilen gruplarda, kontrol grubuna göre jel yüzeyinde artan inflamatuvar hücreler histopatolojik örneklerle gösterilmiştir. Aynı çalışmada jel yüzeyinde yapılan hücre sayımlarında, pektin konsantrasyonu arttıkça jel implant yüzeyine yapışan inflamatuvar hücrelerin arttığı gösterilmiştir (134).

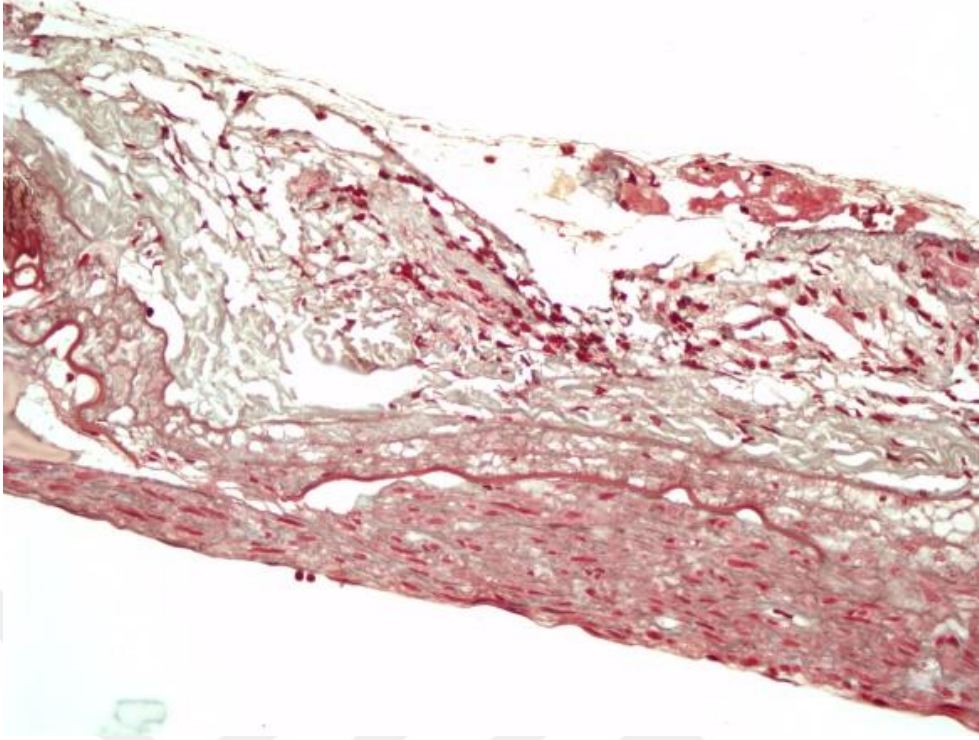
Çalışmamızda gruplar arası fibrozis karşılaştırması amacıyla retikülin boyasıyla fibrozis skorlaması yapılmıştır. Hem 1. hafta, hem de 6. hafta kesitlerinde fibrozis skorları yüksek olguların deney grubunda daha fazla olduğu görülmüştür. Bu artış 1. hafta kesitleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı, 6. hafta kesitleri karşılaştırıldığında deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0,006$, $p>0,05$, Tablo 3, Grafik 8, Resim 32-35). Chang ve arkadaşlarının çalışmasında poloxamer kullanılan deney grubunda fibrozis derecesinin geleneksel sütür yöntemine göre daha az olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda pektin kalsiyum klorür jel kullanılan deney grubu 1. ve 6. hafta kesitlerinde fibrozis skorlarındaki artış dikkat çekmektedir. Markov ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada, pektin enjeksiyonu sonrası artan inflamasyona ve fibroblastların da dahil olduğu inflamatuvar hücrelere vurgu yapmıştır (134). Fibroblastların da içinde bulunduğu inflamatuvar hücre artışı çalışmamızda deney grubu 1. ve 6. hafta kesitlerinde artan fibrozisin sebebi olabilir.



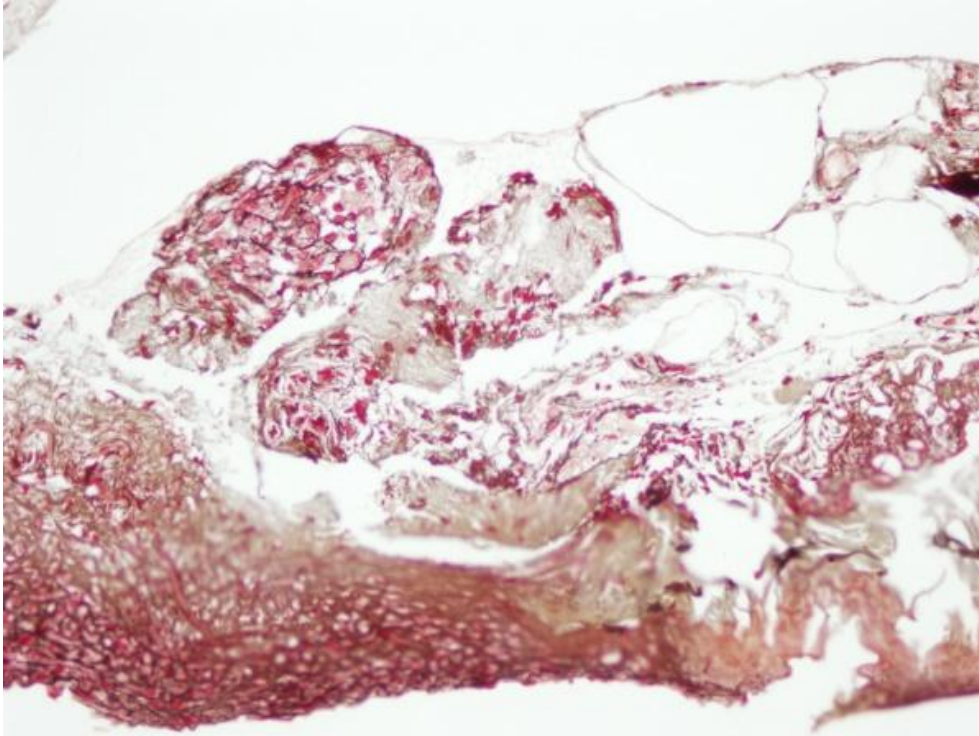
Resim 32: Retikülin Boyama 1. Hafta Deney Grubu x400



Resim 33: Retikülin Boyama 1. Hafta Kontrol Grubu x400



Resim 34: Retikülin Boyama 6. Hafta Deney Grubu x400



Resim 35: Retikülin Boyama 6. Hafta Kontrol Grubu x400

5. SONUÇ

Damar anastomozunda altın standart yöntem geleneksel sütün anastomozudur. Tüm yenilikçi malzeme ve yöntemler beraberinde maliyet, kullanım zorluğu getirmektedir. Ayrıca malzeme veya yöntemi kullanmak için eğitim alınması gerekebilir. Operasyon sahasında yabancı cisim kalabilir, malzemenin kullanımına dair komplikasyonlar olabilir. Çalışmamızda bunlar göz önünde bulundurulmuş, geleneksel yöntemden vazgeçmeden geleneksel yöntemi kolaylaştıracak, klemp takılan damar uçlarının kollabe olmasını ve pozisyon kaybetmesini engelleyecek bir teknik hedeflenmiştir.

Çalışmamızda, damar anastomozunda altın standart yöntemin geleneksel sütün anastomozu olduğunu temel alarak, geleneksel yöntemi kolaylaştırmayı hedefledik. Ortama enjekte edilen pektin kalsiyum klorür jel;

- 1- Klemp arasında kalan her iki damar ucu çevresine dağılarak, 3 boyutlu jel matris yapısıyla damar uçlarını, cerrahın lümeni görebileceği, böylece dikişi kolay ve kontrollü geçebileceği pozisyonda tutmuştur.
- 2- Damar lümeninde kollapsı engellemiş ve lümeni açık tutmuştur.
- 3- Daha az alet hareketi ve manipülasyonla işlem yapılmasını sağlamıştır. Bu hareketlerin en önemlisi lümen içine mikropenset sokularak, ön ve arka duvarı birbirinden uzaklaştırıp, arka duvar geçişinin engellenmesidir. Pektin kullanılan grupta bu travmatik harekete gerek kalmamıştır.
- 4- Sütün atılması sırasında damar lümeni açık kalmış, böylece sürekli arka duvar geçişi kontrolü yapılmasına gerek kalmamıştır.
- 5- Geleneksel yöntemle patens oranları aynı bulunmuştur.
- 6- Anastomoz süresini anlamlı derecede kısaltmıştır.
- 7- İnflamasyon değerlerinde artışa neden olmuştur.

6. KAYNAKLAR

1. Hong JP (Jp), Song S, Suh HSP. Supermicrosurgery: Principles and applications. *Journal of Surgical Oncology*. 2018; 118(5):832-839.
2. Tamai S. History of microsurgery from the beginning until the end of the 1970s. In: *Microsurgery*. 1993;14(1):6-13.
3. Yao JST. The first arterial anastomosis in a human by John B. Murphy: The 100th anniversary. *Cardiovasc Surg*. 1997; Dec;5(6):553-6.
4. Kriss TC, Kriss VM. History of the operating microscope: From magnifying glass to microneurosurgery. *Neurosurgery*. 1998; Apr;42(4):899-907; discussion 907-8.
5. JH, Jacobson, EL S. Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum*. 1960; 11:243-5.
6. JW S. Microsurgery of Peripheral Nerves. *Plast Reconstr Surg*. 1964; Apr;33:317-29.
7. Kurze T. Microtechniques in neurological surgery. *Clin Neurosurg*. 1964; 11:128-37.
8. Schulz WP, Schulz WP, Buncke HJ. Experimental digital amputation and reimplantation. *Plast Reconstr Surg*. 1965; Jul;36:62-70.
9. Malt RA, Mckhann CF. Replantation of Severed Arms. *JAMA J Am Med Assoc*. 1964; Sep 7;189:716-22.
10. Buncke HJ, Buncke CM, Schulz WP. Immediate Nicoladoni procedure in the rhesus monkey, or hallux-to-hand transplantation, utilising microminiature vascular anastomoses. *Br J Plast Surg*. 1966; Oct;19(4):332-7.
11. Bauer F, Fichter AM, Loeffelbein DJ, Wolff KD, Schütz K, Mücke T. Microvascular anastomosis using modified micro-stents: A pilot in vivo study. *J Cranio-Maxillofacial Surg*. 2015; Mar;43(2):204-7.
12. Frederick JW, Sweeny L, Carroll WR, Rosenthal EL. Microvascular anastomotic coupler assessment in head and neck reconstruction. *Otolaryngol - Head Neck Surg (United States)*. 2013;149(1):67-70.

13. Lidman D, Daniel RK. The normal healing process of microvascular anastomoses. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1981;15(2):103–10.
14. Isogai N, Kamiishi H, Chichibu S. Re- endothelialization stages at the microvascular anastomosis. *Microsurgery.* 1988; 9(2):87-94.
15. Gelderman PW, Berendsen W. Re-endothelialization of microvascular carotid end-to-side anastomosis in the rat. *J Neurosurg.* 1979; Dec;51(6):785-95.
16. Harashina T, Fujino T, Watanabe S. The intimal healing of microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg.* 1976; Nov;58(5):608-13.
17. Shaughness G, Blackburn C, Ballestín A, Akelina Y, Ascherman JA. Predicting Thrombosis Formation in 1-mm-Diameter Arterial Anastomoses with Transit-Time Ultrasound Technology. *Plast Reconstr Surg.* 2017; Jun;139(6):1400-1405.
18. Novakovic D, Patel RS, Goldstein DP, Gullane PJ. Salvage of failed free flaps used in head and neck reconstruction. *Head & neck oncology.* 2009; Aug 21;1:33.
19. Thurston JB, Buncke HJ, Chater NL, Weinstein PR. A scanning electron microscopy study of micro-arterial damage and repair. *Plast Reconstr Surg.* 1976; Feb;57(2):197-203.
20. Dotson RJN, Bishop AT, Wood MB, Schroeder A. End-to-end versus end-to-side arterial anastomosis patency in microvascular surgery. *Microsurgery.* 1998; 18(2):125-8.
21. Hidalgo DA, Disa JJ, Cordeiro PG, Hu QY. A review of 716 consecutive free flaps for oncologic surgical defects: Refinement in donor-site selection and technique. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1998; Sep;102(3):722-32; discussion 733-4.
22. Kroll SS, Schusterman MA, Reece GP, Miller MJ, Evans GRD, Robb GL, et al. Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg.* 1996; Dec;98(7):1230-3.
23. Murugan S, John RR, Krihnakumar Raja VB, Mohan A, Bhanumurthy L. A Comparative Study on Microvascular Anastomosis of Vascularised Free Fibular Flap with Couplers and Suturing in Mandibular Reconstruction. *J Maxillofac*

- Oral Surg. 2016; Sep;15(3):363-366.
24. Gether DJ, Day AT, Rana K, Richmon JD. Salvage arterial anastomosis using a microvascular coupler in head and neck free flap reconstruction. *Laryngoscope*. 2017; Mar;127(3):642-644.
 25. Zeebregts CJ, Heijmen RH, Van Den Dungen JJ, Van Schilfgaarde R. Non-suture methods of vascular anastomosis. *British Journal of Surgery*. 2003; Mar;90(3):261-71.
 26. Lidman D, Lyczakowski T, Daniel RK. The morphology and patency of arterial and venous microvascular anastomoses throughout the first post-operative year. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1984; 18(2):187-92.
 27. Frederick JW, Sweeny L, Carroll WR, Rosenthal EL. Microvascular anastomotic coupler assessment in head and neck reconstruction. *Otolaryngol - Head Neck Surg (United States)*. 2013; Jul;149(1):67-70.
 28. Wolff KD, Stiller D. Ischemia tolerance of free-muscle flaps: An nmr-spectroscopic study in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1993; Mar;91(3):485-91.
 29. Douglas B, Weinberg H, Song Y, Silverman DG. Beneficial effects of ibuprofen on experimental microvascular free flaps: Pharmacologic alteration of the no-reflow phenomenon. *Plast Reconstr Surg*. 1987; Mar;79(3):366-74.
 30. McCord JM. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc*. 1987; May 15;46(7):2402-6.
 31. Lehner C, Gehwolf R, Tempfer H, Krizbai I, Hennig B, Bauer H-C, et al. Oxidative Stress and Blood–Brain Barrier Dysfunction Under Particular Consideration of Matrix Metalloproteinases. *Antioxid Redox Signal*. 2011; Sep 1;15(5):1305-23.
 32. Vargas CR, Iorio ML, Lee BT. A systematic review of topical vasodilators for the treatment of intraoperative vasospasm in reconstructive microsurgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2015; Aug;136(2):411-22.
 33. Siemionow MZ. 2015. 5-6. *Plastic and Reconstructive surgery: Experimental Models and Research Designs*, Springer.
 34. K, Nakayama, K, Yamamoto, T T. A new simple apparatus for anastomosis of

- small vessels. Preliminary report. *J Int Coll Surg.* 1962;38:12–26.
35. Ostrup LT, Berggren A. The UNILINK instrument system for fast and safe microvascular anastomosis. *Ann Plast Surg.* 1986; Dec;17(6):521-5.
 36. DeLacure MD, Wong RS, Markowitz BL, Kobayashi MR, Ahn CY, Shedd DP, et al. Clinical experience with a microvascular anastomotic device in head and neck reconstruction. *Am J Surg.* 1995; Nov;170(5):521-3.
 37. DeLacure MD, Kuriakose MA, Spies AL. Clinical experience in end-to-side venous anastomoses with a microvascular anastomotic coupling device in head and neck reconstruction. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg.* 1999; Aug;125(8):869-72.
 38. Gilbert RW, Ragnarsson R, Berggren A, Östrup L. Strength of microvascular anastomoses: Comparison between the unilink anastomotic system and sutures. *Microsurgery.* 1989; 10(1):40-6.
 39. Jandali S, Wu LC, Vega SJ, Kovach SJ, Serletti JM. 1000 consecutive venous anastomoses using the microvascular anastomotic coupler in breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2010; Mar;125(3):792-8.
 40. Joji S, Muneshige H, Ikuta Y. Experimental study of mechanical microvascular anastomosis with new biodegradable ring device. *Br J Plast Surg.* 1999; Oct;52(7):559-64.
 41. Daniel RK, Olding M. An absorbable anastomotic device for microvascular surgery: Experimental studies. *Plast Reconstr Surg.* 1984; Sep;74(3):329-36.
 42. Bikfalvi A, Dubecz S. Observations in animal experiments with mechanised vessel suture. *J Int Chir.* 1953;5:481–96.
 43. Kirsch WM, Yong Hua Zhu, Hardesty RA, Chapolini R. A new method for microvascular anastomosis: Report of experimental and clinical research. In: *American Surgeon.* 1992; Dec;58(12):722-7.
 44. Yamamoto N, Nakai H, Satoh Y, Oshima Y. Clinical application of a nonpenetrating microvascular stapling device for vascularized free tissue transfer. *Ann Plast Surg.* 1999; Jan;42(1):49-55.
 45. Cope C, Lee K, Stern H, Pennington D. Use of the vascular closure staple clip

- applier for microvascular anastomosis in free-flap surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2000; Jul;106(1):107-10.
46. Goetz RH, Weissberg D, Hoppenstein R. Vascular necrosis caused by application of methyl 2-cyanoacrylate (Eastman 910 monomer): 7-month follow up in dogs. *Ann Surg.* 1966; Feb;163(2):242-8.
 47. Ang ESW, Tan KC, Tan LHC, Ng RTH, Song IC. 2-Octylcyanoacrylate-assisted microvascular anastomosis: Comparison with a conventional suture technique in rat femoral arteries. *J Reconstr Microsurg.* 2001; Apr;17(3):193-201.
 48. Han S, Kim S, Kim W. Microvascular anastomosis with minimal suture and fibrin glue: Experimental and clinical study. *Microsurgery.* 1998;18(5):306-11.
 49. Cho AB, Wei TH, Torres LR, Júnior RM, Rugiero GM, Aita MA. Fibrin glue application in microvascular anastomosis: Comparative study of two free flaps series. *Microsurgery.* 2009; 29(1):24-8.
 50. Berguer R, Staerkel RL, Moore EE, Moore FA, Galloway WB, Mockus MB. Fatal reaction to the use of fibrin glue in deep hepatic wounds: case reports. *J Trauma.* 1991; Mar;31(3):408-11.
 51. Mitsuhashi H, Horiguchi Y, Saitoh J, Saitoh K, Fukuda H, Hirabayashi Y, et al. An anaphylactic reaction to topical fibrin glue. *Anesthesiology.* 1994; Oct;81(4):1074-7.
 52. Milde LN. An Anaphylactic Reaction to Fibrin Glue. *Anesth Analg.* 2006; Nov;69(5):684-6.
 53. Jain KK. Sutureless microvascular anastomosis using a neodymium- yag laser. *Microsurgery.* 1980; May-Jun;1(6):436-9.
 54. Kiyoshige Y, Tsuchida H, Hamasaki M, Takayanagi M, Watanabe Y. CO₂ Laser-Assisted Microvascular Anastomosis: Biomechanical Studies and Clinical Applications . *J Reconstr Microsurg.* 1991; Jul;7(3):225-30; discussion 231-2.
 55. Godlewski G, Pradal P, Rouy S, Charras A, Dautzat M, Lan O, et al. Microvascular carotid end-to-end anastomosis with the Argon laser. *World J Surg.* 1986; Oct;10(5):829-33.
 56. Leclère FMP, Schoofs M, Auger F, Buys B, Mordon SR. Blood flow assessment

- with magnetic resonance imaging after 1.9 μm diode laser-assisted microvascular anastomosis. *Lasers Surg Med.* 2011; Dec;56(6):540-7.
57. Abbe R. The surgery of the hand. *NY MED J.* 1894;14:33–9.
 58. Moskovitz MJ, Bass L, Zhang L, Siebert JW. Microvascular Anastomoses Utilizing New Intravascular Stents. *Ann Plast Surg.* 1994; Jun;32(6):612-8.
 59. Saegusa N, Sarukawa S, Ohta K, Takamatsu K, Watanabe M, Sugino T, et al. Sutureless microvascular anastomosis assisted by an expandable shape-memory alloy stent. *PLoS One.* 2017; Jul 24;12(7).
 60. Shalhoub J, Thapar A, Davies AH. The use of reverse thermosensitive polymer (LeGoo) for temporary vessel occlusion in clampless peripheral vascular surgery. *Vasc Endovascular Surg.* 2011; Jul;45(5):422-5.
 61. Kretz B, Steinmetz E, Brenot R, Bouchot O. First results of clampless distal anastomosis in peripheral vascular bypass with LeGoo, a thermoreversible polymer. *J Vasc Surg.* 2012; Jun;55(6):1821-5.
 62. Chang EI, Galvez MG, Glotzbach JP, Hamou CD, El-Ftesi S, Rappleye CT, et al. Vascular anastomosis using controlled phase transitions in poloxamer gels. *Nat Med.* 2011; Aug 28;17(9):1147-52.
 63. Qassemyar Q, Michel G. A new method of sutureless microvascular anastomoses using a thermosensitive poloxamer and cyanoacrylate: An experimental study. *Microsurgery.* 2015; May;35(4):315-9.
 64. Noreen A, Nazli Z i. H, Akram J, Rasul I, Mansha A, Yaqoob N, et al. Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2017; Aug;101:254-272.
 65. Aspinall GO, 1983. *The Polysaccharides.* 1st Edition. Academic Press.
 66. Andrade Souto-Maior JF, Reis AV, Pedreiroa LN, Cavalcanti OA. Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: Preparation and physicochemical characterization. *Polym Int.* 2010; January: Volume 59 :127-135.
 67. Matia-Merino L, Lau K, Dickinson E. Effects of low-methoxyl amidated pectin

- and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. *Food Hydrocoll.* 2004; 18(2):271-281.
68. Braccini I, Pérez S. Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: The egg-box model revisited. *Biomacromolecules.* 2001; 2,4, 1089-1096.
 69. Li C, Nie H, Chen Y, Xiang ZY, Li J Bin. Amide pectin: A carrier material for colon-targeted controlled drug release. *J Appl Polym Sci.* 2016; 133(29):43697.
 70. Liu L, Fishman ML, Hicks KB. Pectin in controlled drug delivery – a review. *Cellulose. Biomaterials.* 2003; Aug;24(19):3333-43.
 71. Turkoglu M, Ugurlu T. In vitro evaluation of pectin-HPMC compression coated 5-aminosalicylic acid tablets for colonic delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* 2002; Jan;53(1):65-73.
 72. Güner OZ, Cam C, Arabacioglu-Kocaaga B, Batirel S, Güner FS. Theophylline-loaded pectin-based hydrogels. I. Effect of medium pH and preparation conditions on drug release profile. *J Appl Polym Sci.* 2018; 135(38):46731.
 73. Kocaaga B, Kurkcuoglu O, Tatlier M, Batirel S, Güner FS. Low-methoxyl pectin–zeolite hydrogels controlling drug release promote in vitro wound healing. *J Appl Polym Sci.* 2019;136, 47640.
 74. McClure RD, Warren KW, Fallis LS. Intravenous Pectin Solution in the Prophylaxis and Treatment of Shock. *Can Med Assoc J.* 1944;51:206–10.
 75. Jacobson SD, Smyth CJ. Plasma Volume Changes Following the Intravenous Injection of Pectin and Physiologic Saline in Man. *Exp Biol Med.* 1941;50(2):218–20.
 76. Acland RD. *Microsurgery practice manual.* CV Mosby Co, St. Louis, MO, 1979.
 77. Pusztaszeri MP, Seelentag W, Bosman FT. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem.* 2006; Apr;54(4):385-95.
 78. Deliu IC, Neagoe CD, Beznă M, Genunche-Dumitrescu AV, Toma SC, Ungureanu BS, et al. Correlations between endothelial cell markers CD31, CD34 and CD105 in colorectal carcinoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2016;57(3):1025-1030.

79. Kunisch E, Fuhrmann R, Roth A, Winter R, Lungershausen W, Kinne RW. Macrophage specificity of three anti-CD68 monoclonal antibodies (KP1, EBM11, and PGM1) widely used for immunohistochemistry and flow cytometry. *Ann Rheum Dis.* 2004; Jul;63(7):774-84.
80. Ferenbach D, Hughes J. Macrophages and dendritic cells: What is the difference? *Kidney International.* 2008; Jul;74(1):5-7.
81. Wong JKF, Lin CH, Chang NJ, Chen HC, Lin YT, Hsu CC. Digital revascularization and replantation using the wide-awake hand surgery technique. *J Hand Surg Eur Vol.* 2017; Jul;42(6):621-625.
82. Xu H, Gao C, Tao Y, Yang X, Shang W, Song K. Reconstruction of anterior mandible and mouth floor using the myofascial iliac crest free flap after tumor resection. *Ann Plast Surg.* 2019; Apr;82(4):411-414.
83. Cristóbal L, Linder S, Lopez B, Mani M, Rodríguez-Lorenzo A. Free anterolateral thigh flap and masseter nerve transfer for reconstruction of extensive periauricular defects: Surgical technique and clinical outcomes. *Microsurgery.* 2017; Sep;37(6):479-486.
84. Azouz SM, Castel NA, Vijayasekaran A, Rebecca AM, Lettieri SC. Lower-limb reconstruction with chimeric flaps: The quad flap *. *Microsurgery.* 2019; Feb;39(2):182-187.
85. Cardenas-Mejia A, Covarrubias-Ramirez JV, Bello-Margolis A, Rozen S. Double innervated free functional muscle transfer for facial reanimation. *J Plast Surg Hand Surg.* 2015; Jun;49(3):183-8.
86. Baker PA, Watson SB. Functional gracilis flap in thenar reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2007; ;60(7):828-34.
87. Cope C, Lee K, Stern H, Pennington D. Use of the vascular closure staple clip applier for microvascular anastomosis in free-flap surgery. Vol. 106, *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2000; Jul;106(1):107-10.
88. Zhao YZ, Lv HF, Lu CT, Chen LJ, Lin M, Zhang M, Jiang X, Shen XT, Jin RR, Cai J, Tian XQ, Wong HL. Evaluation of a Novel Thermosensitive Heparin-Poloxamer Hydrogel for Improving Vascular Anastomosis Quality and Safety in

- a Rabbit Model. PLoS One. 2013; Aug 27;8(8):e73178.
89. Alghoul MS, Gordon CR, Yetman R, Buncke GM, Siemionow M, Afifi AM, et al. From simple interrupted to complex spiral: A systematic review of various suture techniques for microvascular anastomoses. *Microsurgery*. 2011; Jan;31(1):72-80.
 90. Wain RAJ, Hammond D, McPhillips M, Whitty JPM, Ahmed W. 2016. Microvascular anastomoses: Suture and non-suture methods. *Surgical Tools and Medical Devices, Second Edition*. Waqar A., Jackson M.J. Springer.
 91. Zeebregts C, Acosta R, Bölander L, Jakobsson O, Van Schilfgaardé R. Clinical experience with non-penetrating vascular clips in free-flap reconstructions. *Br J Plast Surg*. 2002; Mar;55(2):105-10.
 92. Spector JA, Draper LB, Levine JP, Ahn CY. Routine use of microvascular coupling device for arterial anastomosis in breast reconstruction. *Ann Plast Surg*. 2006; Apr;56(4):365-8.
 93. Hanson SE, Mitchell MB, Palivela N, Peng SA, Feng L, Largo RD, et al. Smaller Diameter Anastomotic Coupling Devices Have Higher Rates of Venous Thrombosis in Microvascular Free Tissue Transfer. *Plast Reconstr Surg*. 2017; Sep;142(3):418e-419e.
 94. Kirsch WM, Gupta S, Zhu YH. Sutureless vascular anastomosis: The VCS® clip. *Cardiovasc Surg*. 2001; Dec;9(6):523-5.
 95. Nataf P, Kirsch W, Hill AC, Anton T, Zhu YH, Ramadan R, et al. Nonpenetrating clips for coronary anastomosis. *Ann Thorac Surg*. 1997; Jun;63(6 Suppl):S135-7.
 96. Komori K, Shoji T, Furuyama T, Yonemitsu Y, Mori E, Yamaoka T, et al. Non-penetrating vascular clips anastomosis inhibited intimal thickening under poor runoff conditions in canine autogenous vein grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2001; Mar;21(3):241-7.
 97. Pauli S, Lauwers P, Van Hee R, Discart R. Stapled versus hand-sewn vascular anastomoses. An experimental study in the rabbit[1] S. Pauli, P. Lauwers, R. Van Hee, and R. Discart, “Stapled versus hand-sewn vascular anastomoses. An

- experimental study in the rabbit,” *Eur Surg Res.* 2000; 32(1):39-42.
98. Klöppel M, Tudor C, Kovacs L, Papadopoulos NA, Höhnke C, Himsl I, et al. Comparison of experimental microvascular end-to-end anastomosis via VCS®-Clips versus conventional suture technique in an animal model. *J Reconstr Microsurg.* 2007; Jan;23(1):45-9.
 99. Max Findlay J, Megyesi JF. Carotid arteriotomy closure using a vascular clip system. *Neurosurgery.* 1998; Mar;42(3):550-3; discussion 553-4.
 100. Quigley MR, Bailes JE, Kwaan HC, Vidovich D, Nora P, Cerullo LJ. Laser-assisted end-to-side anastomosis. *J Reconstr Microsurg.* 1987; Jul;3(4):277-9.
 101. Nakamura T, Fukui A, Maeda M, Kugai M, Inada Y, Teramoto N, et al. Microvascular Anastomoses Using an Nd-Yag Laser. *J Reconstr Microsurg.* 2000; Oct;16(7):577-84.
 102. Ruiz-Razura A, Lan M, Cohen BE. The laser-assisted end-to-side microvascular anastomosis. *Plast Reconstr Surg.* 1989; Mar;83(3):511-7.
 103. White RA, Kopchok GE, Donayre CE, Peng S - K, Fujitani RM, White GH, et al. Mechanism of tissue fusion in argon laser- welded vein- artery anastomoses. *Lasers Surg Med.* 1988; 8(1):83-9.
 104. Jing Tang, Guilhem Godlewski SR. Mechanism of aneurysm formation after 830 nm diode laser assisted microarterial anastomosis. *J Clin laser Med.* 1997;15(4):175–9.
 105. White RA, Kopchok G, Donayre C, White G, Lyons R, Fujitani R, et al. Argon laser-welded arteriovenous anastomoses. *J Vasc Surg.* 1987; Nov;6(5):447-53.
 106. McCarthy WJ, Hartz RS, Yao JST, Sotturrai VS, Kwaan HC, Michaelis LL. Vascular anastomoses with laser energy. *J Vasc Surg.* 1986; an;3(1):32-41.
 107. Godlewski G, Rouy S, Tang J, Dauzat M, Chambettaz F, Salathé R. Scanning Electron Microscopy of Microarterial Anastomoses with a Diode Laser: Comparison With Conventional Manual Suture. *J Reconstr Microsurg.* 1995; Jan;11(1):37-41; discussion 42.
 108. Chikamatsu E, Sakurai T, Nishikimi N, Yano T, Nimura Y. Comparison of laser vascular welding, interrupted sutures, and continuous sutures in growing vascular

- anastomoses. *Lasers Surg Med.* 1995; 16(1):34-40.
109. Tang J, Godlewski G, Rouy S, Dauzat M, Juan J - M, Chambettaz F, et al. Microarterial anastomosis using a noncontact diode laser versus a control study. *Lasers Surg Med.* 1994; 14(3):229-37.
 110. McCarthy WJ, LoCicero J, Hartz RS YJ. Patency of laser-assisted anastomoses in small vessels: one-year follow-up. *Surgery.* 1987;102(2):319–26.
 111. Chow JWM, Flemming AFS. Laser assisted microvascular anastomoses: A histological study. *Lasers Med Sci.* 1990; Sep 5(3): 281–287.
 112. Flemming AFS, Bown SG, Colles MJ, Brough MD. Comparison of laser- assisted and conventionally sutured microvascular anastomoses by bursting pressure: A reanalysis and further studies. *Microsurgery.* 1990; 11(1):25-33.
 113. Leclère FMP, Schoofs M, Buys B, Mordon SR. Outcomes after 1.9- μ m diode laser-assisted anastomosis in reconstructive microsurgery: Results in 27 patients. *Plast Reconstr Surg.* 2010; Apr;125(4):1167-75.
 114. Padubidri AN, Browne E, Kononov A. Fibrin glue-assisted end-to-side anastomosis of rat femoral vessels: comparison with conventional suture method. *Ann Plast Surg.* 1996; Jul;37(1):41-7.
 115. Sacak B, Tosun U, Egemen O, Sakiz D, Ugurlu K. Microvascular anastomosis using fibrin glue and venous cuff in rat carotid artery. *J Plast Surg Hand Surg.* 2015; Apr;49(2):72-6.
 116. Sagi A, Yu HL, Ferder M, Gordon MJ, Strauch B. No suture microanastomosis using vicryl rings and fibrin adhesive system: An unsuccessful attempt. *Plast Reconstr Surg.* 1987; May;79(5):776-7.
 117. Flahiff C, Feldman D, Saltz R, Huang S. Mechanical properties of fibrin adhesives for blood vessel anastomosis. *J Biomed Mater Res.* 1992; Apr;26(4):481-91.
 118. Dascombe WH, Dumanian G, Hong C, Heil B V., Labadie K, Hessel B, et al. Application of thrombin based fibrin glue and non-thrombin based batroxobin glue on intact human blood vessels: Evidence for transmural thrombin activity.

- Thromb Haemost. 1997; Aug;78(2):947-51.
119. Marek CA, Amiss LR, Morgan RF, Spotnitz WD, Drake DB. Acute thrombogenic effects of fibrin sealant on microvascular anastomoses in a rat model. *Ann Plast Surg.* 1998; Oct;41(4):415-9.
 120. Hoppenstein R, Weissberg D, Goetz RH. Fusiform Dilatation and Thrombosis of Arteries Following the Application of Methyl 2-Cyanoacrylate (Eastman 910 Monomer). *J Neurosurg.* 2009; Dec;23(6):556-64.
 121. Green AR, Milling MAP, Green ART. Butylcyanoacrylate adhesives in microvascular surgery: An experimental pilot study. *J Reconstr Microsurg.* 1986; Jan;2(2):103-5.
 122. Hall WW, Wrye SW, Banducci DR, Ehrlich P. Microvascular anastomosis using 2-octyl cyanoacrylate in the rat femoral artery. *Ann Plast Surg.* 2000; May;44(5):508-11.
 123. Raymond J, Metcalfe A, Salazkin I, Schwarz A. Temporary vascular occlusion with poloxamer 407. *Biomaterials.* 2004; Aug;25(18):3983-9.
 124. Orringer EP, Ataga KI, Casella JF, Koshy M, Adams-Graves P, Luchtman-Jones L, et al. Purified poloxamer 188 for treatment of acute vaso-occlusive crisis of sickle cell disease: A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc.* 2001; Nov 7;286(17):2099-106.
 125. Grindel JM, Jaworski T, Piraner O, Emanuele RM, Balasubramanian M. Distribution, metabolism, and excretion of a novel surface-active agent, purified poloxamer 188, in rats, dogs, and humans. *J Pharm Sci.* 2002; Sep;91(9):1936-47.
 126. Serbest G, Horwitz J, Jost M, Barbee K. Mechanisms of cell death and neuroprotection by poloxamer 188 after mechanical trauma. *FASEB J.* 2005; Feb;20(2):308-10.
 127. Davis CR, Travis Rappleye C, Than PA, Rodrigues M, Findlay MW, Bishop SN, et al. Sutureless Microsurgical Anastomosis Using an Optimized Thermoreversible Intravascular Poloxamer Stent. In: *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2016; Feb;137(2):546-56.

128. Manchio J V., Litchfield CR, Zeheb R, Bryan DJ. Evaluation of a novel reverse thermosensitive polymer for use in microvascular surgery. *J Reconstr Microsurg.* 2009; Jan;25(1):69-76.
129. Bouchot O, Aubin MC, Carrier M, Cohn WE, Perrault LP. Temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction in epicardial coronary arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; Nov;132(5):1144-9.
130. San Norberto EM, Taylor JH, Carrera S, Vaquero C. Intraoperative embolization with poloxamer 407 during surgical resection of a carotid body tumor. *J Vasc Surg.* 2012; Dec;56(6):1782-5.
131. Giessler GA, Fischborn GT, Schmidt AB. Clampless anastomosis with an intraluminal thermosensitive gel: First application in reconstructive microsurgery and literature review. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2012; Jan;65(1):100-5.
132. Özer F, Nişancı M, Taş Ç, Rajadas J, Alhan D, Bozkurt Y, et al. Sutureless microvascular anastomosis with the aid of heparin loaded poloxamer 407. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2017; Feb;70(2):267-273.
133. Ong YS, Yap K, Ang ESW, Tan KC, Ng RTH, Song IC. 2-Octylcyanoacrylate-assisted microvascular anastomosis in a rat model: Long-term biomechanical properties and histological changes. *Microsurgery.* 2004; 24(4):304-8.
134. Markov PA, Khramova DS, Shumikhin K V., Nikitina IR, Beloserev VS, Martinson EA, et al. Mechanical properties of the pectin hydrogels and inflammation response to their subcutaneous implantation. *J Biomed Mater Res - Part A.* 2019; Sep;107(9):2088-2098.