

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**FONDAPARİNUX, ENOXOPARİN VE HEPARİN'İN FEMORAL ARTER VE
VENDE TROMBOZ GELİŞMESİNİ ÖNLEMESİ ÜZERİNE ETKİNLİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILIMASI: DENEYSEL ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özgür AGDOĞAN

TRABZON - 2013

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**FONDAPARİNUX, ENOXOPARİN VE HEPARİN'İN FEMORAL ARTER VE
VENDE TROMBOZ GELİŞMESİNİ ÖNLEMESİ ÜZERİNE ETKİNLİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILIMASI: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**TO COMPARE THE EFFICIENCY OF FONDAPARINUX, ENOXOPARIN AND
HEPARIN PREVENTING THROMBOSIS IN FEMORAL ARTERY AND VEIN:
AN EXPERIMENTAL STUDY**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özgür AGDOĞAN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Muhammet URALOĞLU

Bu tez 2012/35 protokol numarası ile T.C. Karadeniz Teknik Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı tarafından onaylanmıştır.

TRABZON - 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Normal Damarlar.....	4
2.1.1. Boyut ve Yapısal Özelliklerine Göre Arterler Üç Temel Tipe Ayrırlırlar.....	5
2.2. Damar Duvarı Hücreleri ve Zedelenmeye Yanıtları.....	6
2.2.1. Endotel Hücreleri.....	6
2.2.2. Damar Düz Kas Hücreleri.....	7
2.2.3. İntimal Kalınlaşma: Damarda Zedelenmesine Karşı Kalıplaşmış Bir Yanıt.....	8
2.3. Hemostaz ve Tromboz.....	9
2.3.1. Normal Hemostaz.....	9
2.3.2. Endotel.....	11
2.3.3. Antitrombotik Özellikler.....	12
2.3.3.1. Antitrombotik Etkiler.....	12
2.3.3.2. Antikoagülan Etkiler.....	12
2.3.3.4. Fibrinolitik Özellikler.....	13
2.3.3.4. Protrombotik Özellikler.....	13
2.3.3.5. Trombositlerin ve Endotelin Birbiri ile Etkileşimi.....	13
2.4. Pıhtılaşma Zinciri.....	14
2.4.1. Yırtılan Damarda Kan Pıhtılaşması.....	14
2.4.2. Pıhtılaşma Mekanizması.....	14
2.4.2.1. Temel Teori.....	14
2.4.2.2. Genel Mekanizma.....	14

2.4.2.3. Pıhtı Oluşumunun Kısır Döngüsü	15
2.5. Pıhtılaşmanın Başlaması	15
2.5.1. Protrombin Aktivatörünün Yapımı	15
2.5.2. Pıhtılaşmanın Başlamasında Ekstresek Yol	16
2.5.3. Pıhtılaşmanın Başlamasında İntresek Yol.....	17
2.6. Tromboz	19
2.6.1. Patogenez	19
2.6.2. Endotel Hasarı.....	20
2.6.3. Normal Kan Akımındaki Değişiklikler	20
2.6.4. Hiperkoagülabilité.....	20
2.6.5. Trombüsün Seyri.....	21
2.6.6. Venöz ve Arteriyel Trombüs.....	21
2.6.7. Morfoloji	21
2.6.7.1. Arteriyel Trombüsler.....	21
2.6.7.2. Venöz Trombüsler.....	22
2.7. Koagülasyon Testleri.....	22
2.7.1. PT ve PTT	22
2.7.1.1. Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTT).....	22
2.7.1.2. Protrombin Zamanı (PT)	23
2.7.2. Fibrinojen	24
2.7.3. Tam Kan Sayımı	25
2.8. Antikoagülan İlaçlar	25
2.8.1. Heparin.....	25
2.8.1.1. Heparin'in Etki Mekanizması	26
2.8.2. Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin ve Türleri (DMAH)	26
2.8.2.1. Bu İlaçların Potansiyel Avantajları Şöyle Sıralanabilir	27
2.8.2.2. Heparin Kullanımının Komplikasyonları.....	28
2.8.3. Fondaparinuks	28
2.8.4. Dextran	29
2.8.4.1. Dextran Kullanımının Komplikasyonları.....	30
2.9. Mikrocerrahide Temel Kavramlar.....	30
2.9.1. Damar Yaralanması ve Rejenerasyonu	30
2.9.2. Pıhtılaşma Mekanizması	31
2.9.3. Hipoksi ve İskemiye Dokuların Yanıtı	32

2.9.4. No-Reflow Etkisi	33
2.9.5. İntimal Hasar Oluşturarak Anastomotik Tromboz Riskini Artıran Faktörler.....	33
2.9.6. Acland Testi	33
2.9.7. Vasküler Anastomoz Komplikasyonları ve Başarısızlık.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Standart Hazırlık	36
3.2. Anestezi Yöntemi	37
3.3. Deney Grupları.....	37
3.4. Deney Prosedürü (Hayvanlarda Yapılacak İşlemlerin Sırasıyla Tanımlanması).....	38
3.5. Vasküler Tromboz Modeli	43
3.6. Acland Testi ile Değerlendirme	45
3.7. Kan Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	45
3.8. Histopatolojik Değerlendirme	45
3.9. İstatistiksel Değerlendirme.....	46
4. BULGULAR	47
4.1. Acland Testi Sonuçları ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları.....	47
4.2. Kan Sonuçları ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları.....	54
4.3. Histopatolojik Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları.....	57
4.3.1. İntimal Kalınlaşma Alanlarına Göç Eden Myofibroblastlar	68
4.4. Perivasküler Kanama ve Hematom Değerlendirilmesi	68
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ.....	78
7. ÖZET	80
8. SUMMARY	82
9. KAYNAKLAR.....	84

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. LMWH, Fondaparinux ve İdraparinux'un Özelliklerinin Karşılaştırılması	29
Tablo 3.1. Deneyde Kullanılan Cerrahi Aletler, Malzemeler ve İlaçlar	36
Tablo 3.2. Deney Grupları	37
Tablo 4.1. Lokal Heparin Kan Değerleri	55
Tablo 4.2. Enoksoparin Kan Değerleri	55
Tablo 4.3. Fondaparinux Kan Değerleri.....	56
Tablo 4.4. Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile Yapılan Karşılaştırma Sonucu.....	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Damar Duvarı. A; bir muskuler arter enine kesiti. B; bir arter (A) ve komşu bir veni (V) gösteren histoloji; burada elastik lamina siyah boyanmıştır (ok arter elastik lamimasını göstermektedir.)	5
Şekil 2.2. Damar Zedelenmesine Verilen Sabit Yanıt	8
Şekil 2.3. Damar Hasarı Sonrası Lokal Nörohümöral Faktörler Geçici Bir Vazokonstrüksiyon Oluştururlar.....	9
Şekil 2.4. Primer Hemostatik Tıkaç Oluşur	10
Şekil 2.5. Trombositler Sıkıca Bir Araya Gelerek Kalıcı Sekonder Hemostatik Tıkaçı Oluştururlar.....	11
Şekil 2.6. Hasar Alanındaki Hemostatik Süreç Sınırlanır.....	11
Şekil 2.7. Pıhtılaşma Mekanizmasını Başlatan Ekstresek Yol.....	16
Şekil 2.8. Pıhtılaşma Mekanizmasını Başlatan İntresek Yol	18
Şekil 2.9. Trombozda Virchow Triadı	19
Şekil 2.10. Kanda Protrombin Konsantrasyonunun Protombin Zamanı ile İlişkisi.....	24
Şekil 2.11. Acland Testi.....	34
Şekil 3.1. Sağ Femoral Artere Trombüs Model	44
Şekil 3.2. Sol Femoral Vene Trombüs Modeli	44
Şekil 4.1. Trombüs Modeli Uygulanan Arterlerdeki Postop 20. Dakika Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları	48
Şekil 4.2. Trombüs Modeli Uygulanan Arterlerdeki Postop 72. Saat Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları	49
Şekil 4.3. Trombüs Modeli Uygulanan Venlerdeki Postop 20. Dakika Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları	50
Şekil 4.4. Trombüs Modeli Uygulanan Venlerdeki Postop 72. Saat Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları	51
Şekil 4.5. Arter-Ven Toplam Lümenlerinin Postop 20. Dakikada Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları.....	52
Şekil 4.6. Arter-Ven Toplam Lümenlerinin Postop 72. Saatte Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları.....	54
Şekil 4.7. Fenoral Arter Lümenlerinin Patent (Açık) ve Oklüzyon (Kapalı) Oranları	58

Şekil 4.8.	Fenoral Ven Lümenlerinin Patent (açık) ve Oklüzyon (Kapalı) Oranları	64
Şekil 4.9.	Arter-Ven Toplam Lümenlerinin Patent (Açık) ve Oklüzyon (Kapalı) Oranları	67

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 2.1. Acland Testi ve Uygulanması.....	34
Resim 3.1. Deneysel Tromboz Modeli İçin Uygulanan İlaçlar	39
Resim 3.2. Preop ve Postop İlaçların Uygulanması.....	39
Resim 3.3. Operasyon Mikroskobu ve Sütür Materyali.....	40
Resim 3.4. Sağ Femoral Arter ve Sol Femoral Ven İçin Operasyon Alanının Belirlenmesi ve İşaretlenmesi.....	40
Resim 3.5. Cilt İnsizyonlarının Yapılması.....	41
Resim 3.6. Femoral Fad Pad'inin Kaldırılması.....	41
Resim 3.7. Vasküler Yapının Açığa Çıkarılıp Artakalan Tahtasının Yerleştirilmesi.....	42
Resim 3.8. Tromboz Modelinin Uygulanması.....	42
Resim 3.9. Patent Vasküler Yapılar	42
Resim 3.10. Tromboze Vasküler Yapı.....	43
Resim 3.11. Cilt İnsizyonununun Kapatılması	43
Resim 3.12. Sağ Femoral Arter ve Sol Femoral Vene Vasküler Tromboz Modeli	44
Resim 4.1. HE X 400: Damar Duvarında Belirgin İntimal Kalınlaşma ve Lümende Trombüs Varlığı... Lokal Heparin Grubu Arterinde.....	59
Resim 4.2. HE X 200: Arter Duvarında İntimal Ve Medial Kalınlaşma Yanı Sıra Lümende % 60 Obstrüksiyona Neden Olan Trombüs Oluşumu... Lokal Heparin Grubu Arterinde.....	60
Resim 4.3. HE X 200: Arter Duvarında Kalınlaşma, Lümen Açık- Kısmen Daralmış... Lokal Heparin Grubu Arterinde.....	60
Resim 4.4. Alcian Blue X 400: Arter Duvarında İntimal Kalınlaşma Lümeninde Trombüs Oluşumu	61
Resim 4.5. Alcian Blue X 400: Arter Duvarında İntimal Kalınlaşma Lümeninde %40 Obstrüksiyona Neden Olan Trombüs Formasyonu	61
Resim 4.6. AB X 200: Arter Duvarında Kalınlaşma, Lümen Açık	62
Resim 4.7. Hematoksilen Eozin X 200: Arter Lümeninde Complet Obstrüksiyona Neden Olan Tromboz... Lokal Heparin Grubu Arterinde.....	62
Resim 4.8. HE X 100: Lümeni Tamamen Açık Arter Örneği. Damar Duvarında İntima ve Media Tabakalarında Kalınlaşma... Fondaparinux Grubu Arterinde	63

Resim 4.9.	HE X 40 : Lümeninde %70 Obstrüksiyona Neden Olan Tromboz Formasyonu... Lokal Heparin Grubu Ven	65
Resim 4.10.	HE X 100: Damar Lümeninde %70 Obstrüksiyona Neden Olan Tromboz... Fondaparinuxs Grubu Ven	65
Resim 4.11.	HE X 100: Damar Lümeninde Artefakt Nedeni ile Bir Kısmı İzlenebilen, %80-90 Obstrüksiyona Sebep Olan Trombüs Formasyonu... Fondaparinuxs Grubu Ven.....	66
Resim 4.12.	Postoperatif 20. Dakika.....	69
Resim 4.13.	Postoperatif 72. Saat	69

KISALTMALAR

VDKH	: Vasküler Düz Kas Hücresi
AIII	: Antitrombin III
aPTZ	: Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanı
aKZ	: Aktive Edilmiş Koagülasyon Zamanı
DMAH	: Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin
FEH	: Fraksiyone Edilmemiş Heparin
TFPI	: Tissue Pathway Factor Inhibitor
EH	: Endotel Hücreleri
DKH	: Düz Kas Hücreleri
ESM	: Ekstrasellüler Matriks
vWF	: von Willebrand Faktör
PT	: Protrombin zamanı
HGB	: Hemoglobin
INR	: International normalized ratio
PLT	: Platelet

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serbest flep aktarımlarında erken postoperatif dönemde trombozis oranı % 7-10' dur. Replantasyonlarda ise mikrocerrahi merkezlerinde profilaktik antitrombotik tedaviye rağmen % 10' dur. Profilaktik antitrombotik tedaviyi ihmal eden merkezlerde bu oran daha da yüksektir. Bu oran serbest fleplerde % 15 ve replantasyonlarda % 18' dir. Anastomoz alanında trombüsü önlemek için sistemik yada lokal solüsyonlara başvurulur. En iyi bilinen ve en sıklıkla başvuru alan antitrombotik ilaç, klinikte halen kullanılan anfraksiyonel heparindir (1,2,3). Standart heparin yada heparinize irrigasyon solüsyonları mikrovasküler cerrahide, vasküler reperfüzyonda ve sıklıkla intraoperatif olarak kullanılır (1,3,4).

Rekonstrüktif mikrocerrahide; vasküler travma, mikrovasküler transplantasyon ve replantasyondan sonra endotel kaybı, artmış tromboz ile ilişkilidir. Vasküler düz kas hücresi (VDKH) proliferasyonu; neointimal formasyona, stenoza ve vasküler oklüzyona neden olur. Mikrovasküler anastomozdan sonra replante yada transplante edilmiş dokunun yaşayabilirliğinin artması açısından, endotel hücre tabakasının hızlı ve tam rejenerasyonu klinik açıdan önemlidir (5).

Damar mikroanastomozundan sonra re-endotelizasyon kinetikleri tamamen anlaşılabilir değildir. Vasküler endotelial growth faktör (VEGF), vasküler permeabilite ve anjiyogeneziste vasküler regülasyonun en güçlü mediatörlerinden biridir (6,7,8,9,). Damar kesi ve yaralanmalarında ana hasar endotel tabakasındadır. Onarım sürecinde erken dönemde trombüs oluşarak anastomozu tıkayabileceği gibi geç dönemde intimal kalınlaşmaya bağlı damar stenozu oluşabilir. Damar anastomozu sonrası iyileşme sürecinde trombüs veya stenoz oluşumu replante edilmiş dokuların yaşamı için kritik öneme sahiptir (2,10). Damar hasarı sonrası onarım sürecinde intimal kalınlaşma tunika mediadaki VDKH'ların tunika intimala migrasyonu ve VDKH'ların proliferasyonu sonucu oluşur.

Mikrovasküler serbest flep naklinde birçok geniş seride flep kayıp oranları % 1-5 olarak rapor edilmiştir (10,11,12,13,14). Reeksplorasyon ve revizyon cerrahisinde vasküler trombozun % 50-85 olduğu görülmüştür. Serbest doku naklinde trombozun önlenmesi ve tedavi edilmesi için birçok ajani tartışılmaktadır (10).

Tromboz tanısı; eksternal (kutanöz) ve implante doppler USG, elektriksel impedans pletismografi, IV floreskein görüntüleme, kas kontraktilite testi, fotopletismografi, puls oksimetri, ısı monitörizasyonu ve transkutan O₂ monitörizasyonu gibi çeşitli flep monitörizasyon yöntemleri vardır (15). Bu teknikler kompleks, invaziv ve efektifler. Klinik gözlem, el doppler USG' si ve iğne batırma testi gibi konvansiyonel metodlar; daha kullanışlı ve uygulaması en basit yöntemlerdir (16).

Mikrovasküler anastomozda ven trombozu sık rastlanan bir komplikasyondur ve ciddi sonuçlar doğurur (17,18,19,20). Mikroanastomozdaki teknik zorluklar, ince damar duvar yapısı, yavaş akım, düşük kan basıncı da bu başarısızlıkta etkindir (21). Gelişen preoperatif teknikler, anestezi bakım, vazodilatatör ve antitrombotik ilaçlar, hemodilüzyon transplante dokuların yaşayabilirliğini arttırmıştır (17).

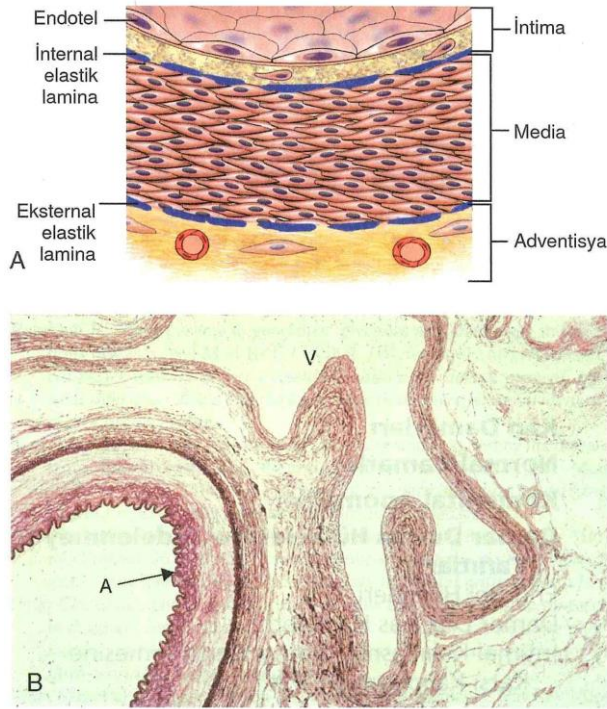
Plastik cerrahi ve mikrocerrahi yöntemlerinin gelişmesi üzerine serbest doku nakilleri, replantasyon ve transplantasyon önem kazanmıştır. Serbest doku nakilleri sırasında arter, ven ve sinir onarımları mikrocerrahi teknikleri kullanılarak yapılmaktadır. Vasküler anastomoz sırasında anastomoz hattında trombüs ve spazm sorunları ile karşılaşılabilir. Bu sorunları gidermek için operasyon sırasında bazı ilaçlar kullanılmaktadır. Elektif cerrahide serbest doku nakilleri yapmadan önce, transplantasyon cerrahisinde ve replantasyonlarda trombüsü engellemek için antikoagülanlar veya fibrinolitikler kullanılarak trombüs gelişmesi ve buna bağlı olarak vasküler oklüzyon önlenir. Bu deneysel çalışmamızdaki amacımız; anastomozdan önce kontrol grubuna lokal heparin, deney gruplarından birine düşük molekül ağırlıklı heparin olan enoxoparin, diğer gruba da yeni bir antikoagülan olan ve yan etkileri az olan fondaparinux verilerek trombüs gelişimini engelleyerek vasküler oklüzyonu engellemektir. Fondaparinux yeni bir ilaçtır ve daha önce vasküler anastomoz öncesinde ve sonrasında trombüs ve vasküler oklüzyonun engellenmesi amacı ile kullanılmamıştır. Acil ve elektif cerrahide trombüsün önlenmesi için görüş birliğine varılan bir tedavi protokülü mevcut değildir. Acil ve elektif mikrocerrahide lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinux' un trombüs gelişiminin engellenmesindeki etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Mikrovasküler

cerrahide yapılan antitrombotik veya fibrinolitik çalışmalarda elde edilen sonuçlar daha çok tavsiye niteliği taşımaktadır. Yeni yapılacak deneysel çalışmalara için ışık kaynağı niteliğindedir. Biz bu deneysel mikrocerrahi çalışmamızda ; antitrombotik tedaviye bir yenisini daha ekleyerek ileri çalışmalara için ve mikrovasküler anastomozlarda trombozun engellenmesine yönelik tedavi protokollerine katkı yapmayı amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Normal Damarlar

Endotel hücreleri (EH' leri) ve düz kas hücreleri (DKH' leri) damar duvarı hücrelerinin çoğunluğunu oluştururlar. Duvarın geri kalanı ise elastin, kollajen ve glikozaminoglikanları içeren ekstrasellüler matriksten (ESM) meydana gelir. Damar duvarları üç konsantrik tabaka şeklinde organize olmuştur; intima, media ve adventisya (**Şekil 2.1.**). Bunlar tüm damarlarda bir dereceye kadar mevcuttur. Ama büyük arter ve venlerde daha belirgindirler. Normal arterlerde intima, ince bir ECM katmanını örten tek katlı EH tabakasından oluşur. İntima mediadan internal elastik lamina denilen yoğun bir elastik membran ile ayrılır. Media ağırlıklı olarak DKH' leri ve ECM' ten oluşur; etrafı adventisyanın görece gevşek bağ dokusu, sinir lifleri ve küçük damarları ile çevrelenir. Eksternal elastik lamina bazı arterlerde mevcut olup media ile adventisya arasındaki geçişi belirler. İnternal elastik membrandaki fenestrasyonlar (delikler) aracılığıyla en içteki DKH' lerini oksijen ve besinleri damar lümeninden direk difüzyon yolu ile alırlar. Ancak, lümenin olan bu difüzyon büyük ve orta çaplı damarların dış medya tabakasındaki DKH' lerini beslemek için yetersizdir. Bu durumda, adventisyadaki küçük arterioller (vasa vasorum) medyanın dış % 50-65' nin gereksinimini karşılarlar (22,23).



Şekil 2.1. Damar Duvarı. A; bir muskuler arter enine kesiti. B; bir arter (A) ve komşu bir veni (V) gösteren histoloji; burada elastik lamina siyah boyanmıştır (ok arter elastik lamimasını göstermektedir.)

2.1.1. Boyut ve Yapısal Özelliklerine Göre Arterler Üç Temel Tipe Ayrırlılar

Büyük ve elastik arterler: Aorta ile onun büyük dalları ve pulmoner arterleri içerir. Bu arterlerde elastik lifler ile DKH' leri ardarda alternatif tabakalar şeklindedirler. Yüksek elastik lif içeriği nedeniyle media sistol sırasında genişler ve diyastol sırasında da damar duvarının elastik geri çekilimi kanı daha uçtaki damarlara doğru sürükler (22,23).

Orta boy veya musküler arterler: Aorttan köken alan koroner ve renal arterler gibi küçük dalları içerirler. Bu damarlarda media esas olarak DKH' lerinden oluşur. Elastin sadece internal ve eksternal elastik laminada bulunur. Damar boyutunun küçülmesiyle birlikte arter duvar kalınlığının azalmasına rağmen bu damarlarda duvar kalınlığının lümen çapına oranı aslında artar (22,23).

Küçük arterler ve arterioller: Organların interstisyel bağ dokusu içindeki damarlardır. Burada media tümüyle DKH' lerinden oluşur. Arterioller kan akımına karşı fizyolojik direncin düzenlenmesi için ana kontrol noktalarıdır. Arteriollerde kan akımının hem basıncı hem de hızı keskin olarak azalır ve akım pulsatilden ziyade devamlı hale gelir.

Bölgesel kan akımı ve kan basıncının düzenlenmesi lümen boyutunun DKH' lerinin kasılması ve gevşemesi sonucu lümen boyutunun değiştirilmesiyle sağlanır (22,23).

Kapillerler: Damarsal dallanmanın arteriollerden sonraki düzeyini temsil ederler. Bunlar yaklaşık olarak bir kırmızı kan hücresi çapında olup endotel hücre tabakası içerirler ancak media tabakaları yoktur. İnce duvarları ve yavaş akımları nedeniyle kan ve dokular arasında difüzyona uğrayabilen maddelerin hızlı değişimi için çok uygundur (22,23).

İnflamasyon durumunda damar dışına sıvı ve madde çıkışı ile lökosit göçü öncelikle postkapiller venüllerde oluşur. Karşılık gelen arterlere kıyasla venler daha büyük çapa, daha geniş lümen ve daha ince, daha az organize duvarlara sahiptirler. Bu yüzden venler genişlemeye, sıkışmaya, tümörler ve inflamatuvar süreçlerde kolaylıkla delinmeye daha yatkındır. Venöz basınç ve akım hızları çok düşüktür. Bu nedenle venöz kanın yer çekimine karşı akmak zorunda olduğu yerlerde, ters akım valvler ile önlenmektedir (22,23).

Lenfatikler: Fazla interstisyel sıvıyı drene eden, bu sıvıyı sonunda duktus torasikus aracılığıyla kana döndüren ince duvarlı, endotel ile döşeli kanallardır. Lenfatik akım aynı zamanda mononükleer iltihabi hücreleri içerir ve proteinlerin ev sahibidir. Lenfatikler lenf nodlarından geçerek periferik dokuların infeksiyonlar açısından sürekli örneklenmesi için de önemli bir yol oluştururlar. Ayrıca bu kanallar, mikropları ve tümör hücrelerini uzak bölgelerden lenf nodlarına ve sonunda sistemik dolaşıma taşıyarak hastalıkları yayabilirler (22,23).

2.2. Damar Duvarı Hücreleri ve Zedelenmeye Yanıtları

Kan damarları duvarlarının ana hücresel elemanları olarak EH' leri ve DKH' leri, damar biyolojisi ve patolojisinde merkezi rol oynarlar. Bu hücrelerin entegre fonksiyonları, damar yatağının hemodinamik ve biyokimyasal uyarılara uyumunda önemlidir (22).

2.2.1. Endotel Hücreleri

EH' leri tek hücre kalınlığında tüm damar yatağını döşeyen devamlı bir tabaka (endotelyum) oluştururlar. Damar duvarı homeostazı ile dolaşım fonksiyonunu sürdürmede çok önemlidirler. EH' leri von Willebrand faktörü için hücre içinde membranla çevrili depo organelleri olan Weibel-Palade cisimciklerini içerirler (22).

Damar endoteli sentez ve metabolizma özelliklerinden zengin çok işlevli bir dokudur. EH' leri nontrombojenik bir kan-doku arayüzeyi sağlarlar, damar direncini ayarlarlar, hormonları metabolize ederler, inflamasyonu düzenlerler ve başta DKH' leri olmak üzere diğer hücre tiplerinin büyümelerini etkilerler. Seçici geçirgen tek katlı bir tabaka olarak endotelyum, küçük ve büyük moleküllerin damar içine ve dışına taşınmasını kontrol eder. Çoğu bölgede endotel hücreleri arası bağlantılar aslında geçirgen değildir. Ancak sıkı EH bağlantıları hemodinamik faktörlerin ve/veya vazoaaktif ajanlar etkisi ile gevşeyebilir, komşu dokuların elektrolit ve proteinlerin baskınına uğramasıyla sonuçlanır. İnflamasyonda lökositler bile komşu EH' nin arasından süzülebilir (22).

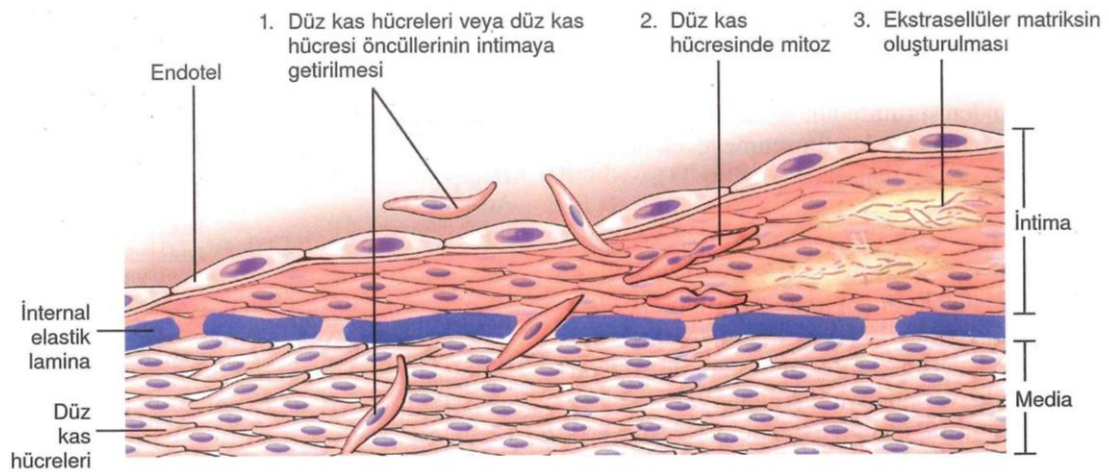
Endotel zedelenmesi trombozis, ateroskleroz ve hipertansif damar lezyonları gibi pek çok patolojide rol oynar. Örneğin, EH' nin ayrışması pıhtılaşmayı tetikler ve sonuçta DKH çoğalması görülür. Ancak yapısal olarak korunmuş EH' leri çeşitli uyarılara temel faaliyetlerini değiştirerek ve yeni özellikler oluşturarak cevap verebilirler. Endotelyal disfonksiyon EH' lerinin repertuarındaki böylesi geri dönüşlü değişiklikleri tanımlayan bir terimdir. Bu değişiklikler hemodinamik stresler ve lipit metabolitleri yanı sıra sitokinler ve bakteriyel ürünler tarafından da uyarılabilirler. Bazı değişiklikler hızlıdır (dakikalar içinde), geri dönüşlüdür ve yeni protein sentezinden bağımsızdır. Diğer değişiklikler yeni gen ekspresyonu ve protein sentezini gerektirir. Ortaya çıkmaları saatler hatta günler alabilir. Endotelyal disfonksiyonun sonuçları bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyon, hiperkoagülabilite durumları ve lökosit adezyonunu kapsar (22).

2.2.2. Damar Düz Kas Hücreleri

DKH'leri hem normal damar onarımı hem de ateroskleroz gibi patolojik süreçlerde rol alırlar. Stabil hücreler olarak DKH' leri uygun şekilde uyarıldıklarında çoğalma kapasitesine sahiptirler. Ayrıca ECM için kollajen, elastin ve proteoglikanları sentezleyebilirler ve büyüme faktörleri ile sitokinleri salgılayabilirler. Damar media tabakasının ana hücresel elemanı olarak DKH' leri fizyolojik veya farmakolojik uyarılara yanıt olarak oluşan vazokonstriksiyon veya dilatasyondan da sorumludurlar (22).

2.2.3. İntimal Kalınlaşma: Damarda Zedelenmesine Karşı Kalıplaşmış Bir Yanıt

Damar zedelenmesi (EH kaybı veya hatta sadece EH disfonksiyonu varlığında), DKH büyümesini ve eşlik eden matriks sentezini uyarır. Zedelenmiş damarlardaki iyileşme stabil hücrelerden oluşan herhangi bir dokunun zedelenmesi sonucu oluşan fizyolojik iyileşme süreci ile çok benzerdir. Endotel zedelenmesini takiben DKH'leri fibroblastların yarayı doldurmasına çok benzer şekilde bir neointima oluşturmak üzere intimaya göç ederler, çoğalırlar ve ECM sentezlerler (Şekil 2.2.). Bu neointimal yanıt, infeksiyon, inflamasyon, immün zedelenme, fiziksel travma veya toksik ajanlara maruziyet dahil her türde damar zedelenmesi veya disfonksiyonunda oluşur. Nitekim, intimal kalınlaşma aslında damar duvarının herhangi bir zedeleyici etkene verdiği kalıplaşmış bir yanıttır (22).



Şekil 2.2. Damar Zedelenmesine Verilen Sabit Yanıt

Bilinmelidirki; neointimal DKH'lerinin fenotipi medial DKH'lerinden farklıdır. Neointimal DKH'leri medial DKH'leri kadar kontrakte olamazlar, ancak bölünme kapasiteleri vardır. Aynı zamanda, kontraktil filamentler azalmışken, granüllü endoplazmik retikulum ve Golgi cisimciği gibi protein sentezinde görevli organeller de artmıştır (22).

Zamanla ve endotel tabakasının restorasyonu ve/veya normalleşmesi ile intimal DKH'leri nonproliferatif durumlarına dönebilirler. Ancak, bu noktada kalıplaşmış iyileşme yanıtı kalıcı olabilen intimal kalınlaşma ile sonuçlanmıştır. Israrcı veya

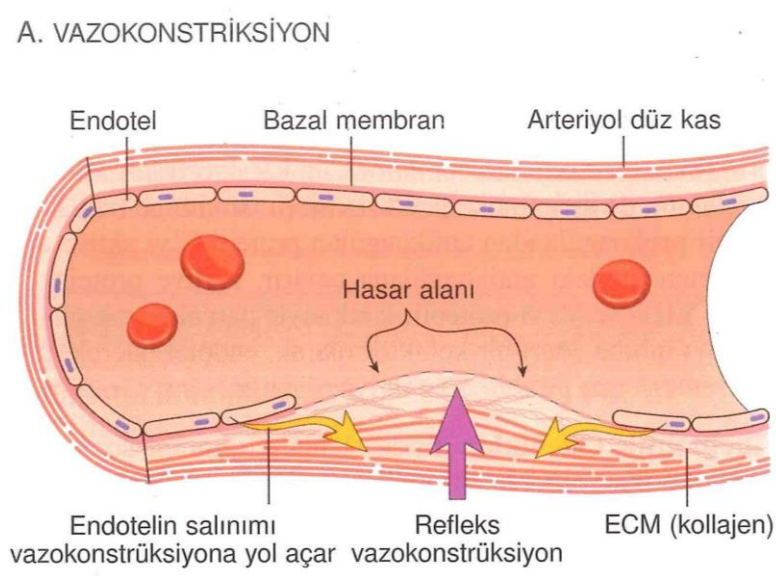
tekrarlayan saldırılarla oluşan aşırı kalınlaşma, küçük ve orta boydaki damarların stenozuna neden olarak aşağıya doğru doku perfüzyonunu bozabilir (22).

2.3. Hemostaz ve Tromboz

Normal hemostaz; normal damarlarda kanı sıvı halde pıhtısız durumda tutan, herhangi bir damar hasarında ise hasar yerinde hızla lokalize hemostatik tıkaç oluşturabilen oldukça hassas düzenlenmiş bir süreçtir. Hemostazın patolojik formu trombozdur. Bu durum hasarlanmamış damarlarda kan pıhtısı (trombüs) oluşumunu veya nispeten küçük bir hasardan sonra damarın trombotik tıkanmasını içerir. Hemostaz ve trombozun her ikisi de üç komponentle ilişkilidir; vasküler duvar, trombositler ve koagülasyon kaskadı (22).

2.3.1. Normal Hemostaz

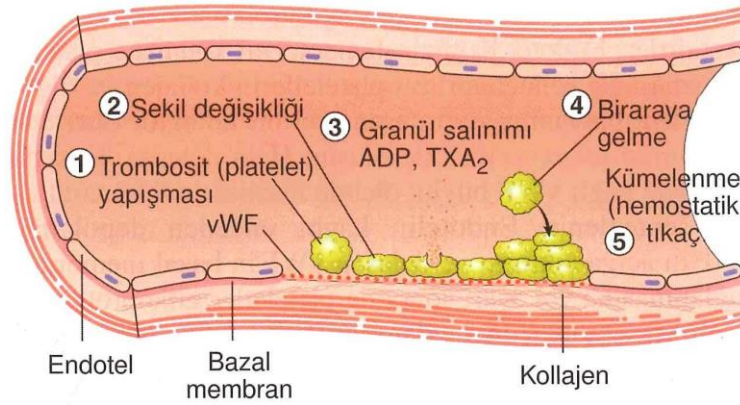
Başlangıç hasardan sonra çoğunlukla refleks nörolojik mekanizma ve endotelin (güçlü bir endotel kaynaklı vazokonstrüktör) gibi faktörlerin lokal sekresyonu ile kısa bir arteriyolar vazokonstrüksiyon periyodu oluşur. Etki geçicidir. Trombosit ve koagülasyon sistemleri aktive edilmeden kanama durdurulabilir **Şekil 2.3.** (22).



Şekil 2.3. Damar Hasarı Sonrası Lokal Nörohümöral Faktörler Geçici Bir Vazokonstrüksiyon Oluştururlar

Endotelyal hasar son derece trombojenik subendotelyal ekstraselüler matriksi açığa çıkarır, trombositlerin yapışması ve aktive olmasına yol açar. Trombositlerin aktivasyonu dramatik şekil değişikliği ve sekretuar granüllerin salınmasıyla sonuçlanır. Dakikalar içerisinde, salınan ürünler hemostatik tıkaç oluşturmak üzere ilave trombositleri olay yerine çeker. Bu primer hemostaz işlemidir **Şekil 2.4.** (22).

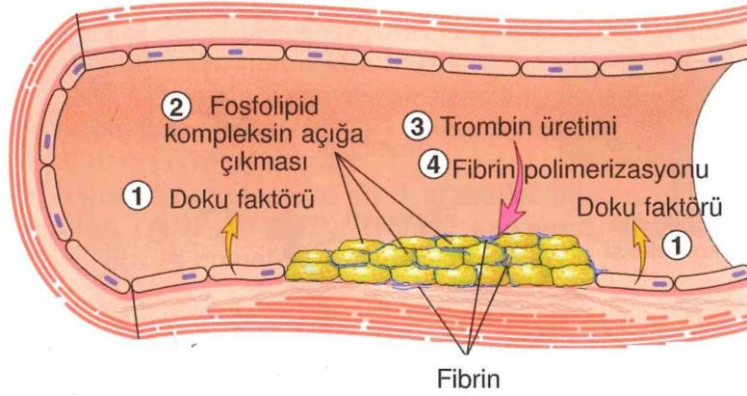
B. PRİMER HEMOSTAZ



Şekil 2.4. Primer Hemostatik Tıkaç Oluşur

Hasar yerinde doku faktörü de açığa çıkar. Faktör III ve tromboplastin olarak da bilinen doku faktörü, endotelden sentezlenen bir membranla çevrili bir prokoagülan glikoproteindir. Doku faktörünün faktör VII ile birleşmesi koagülasyon zincirini aktive eden, sonunda trombin oluşumu ile sonuçlanan *in vivo* yolda major role sahiptir. Trombin dolaşan fibrinojeni insolubl fibrine dönüştürür, bir fibrin ağı birikimi oluşturur. Trombin aynı zamanda daha fazla trombosit toplanması ve granül salınımını da uyarır. Bu sekonder hemostaz dönemi başlangıç platelet plağından daha uzun süre alır **Şekil 2.5.** (22).

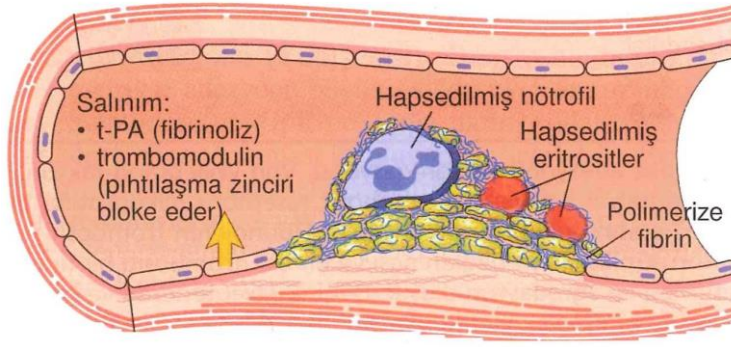
C. SEKONDER HEMOSTAZ



Şekil 2.5. Trombositler Sıkıca Bir Araya Gelerek Kalıcı Sekonder Hemostatik Tıkacı Oluştururlar

Polimerize fibrin ve trombosit kümeleri herhangi bir ek kanamayı önlemek için katı ve kalıcı bir tıkaç oluşturur. Bu evrede zıt düzenleyici mekanizmlar (örneğin doku plazminojen aktivatörü, t-Pa) hemostatik tıkaçın hasar yerine sınırlı kalması için harekete geçer **Şekil 2.6.** (22).

D. ANTİTROMBOTİK ZIT DÜZENLEME



Şekil 2.6. Hasar Alanındaki Hemostatik Süreç Sınırlanır

2.3.2. Endotel

Endotel hücreleri normal hemostazın birkaç (sıklıkla zıt) yönünü düzenler. Endotelial anti ve protrombotik aktiviteler arasındaki denge; trombüs oluşumu, ilerleme ve çözülme olup olmayacağını belirler. Temelde, endotel hücreleri antiplatelet, antikoagulan ve fibrinolitik özellikler sergilerken; zedelenme veya aktivasyondan sonra çok sayıda

prokoagulan aktivite sergileme kapasitesi de vardır. Ayrıca, endotel hücreleri; infeksiyöz ajanlar, hemodinamik faktörler, plazma medyatörleri ve en önemlisi sitokinler ile aktive edilebilirler (22).

2.3.3. Antitrombotik Özellikler

Endotel hücreleri birçok durumda platelet yapışma ve kümelenmesi ile koagülasyon faktörleri inhibisyonu ile ve pıhtıların erimesi ile kanın sıvı akışkanlığını sağlayan bir çevreyi devam ettirir (22).

2.3.3.1. Antitrombotik Etkiler

İntakt bir endotelyum, trombositler ile son derece trombojenik olan subendotelyal ekstraselüler matriks (ECM) arasındaki etkileşimi engeller. Aktive olmamış trombositler endotele yapışmaz. Bu endotel plazma membranına bağlı bir özelliktir. Eğer plateletler aktive olursa (örneğin fokal endotel hasarından sonra) çevredeki hasar görmemiş endotele yapışma endotelyal prostasiklin (PGI₂) ve nitrik oksit ile baskılanırlar. Bu medyatörler güçlü vazodilatatördür ve platelet agregasyonu inhibitörleridir. Endotel hücrelerinden sentezleri koagülasyon sırasında üretilen çeşitli faktörler, örneğin trombin ve sitokinler tarafından uyarılır. Endotel hücreleri aynı zamanda adenzin difosfataz salarak ADP' yi yıkar ve platelet kümelenmesini baskılar (22).

2.3.3.2. Antikoagulan Etkiler

Antikoagulan etkiler heparin benzeri moleküller ve trombomodülin ile düzenlenir. Heparin benzeri moleküller dolaylı olarak etki gösterir. Bunlar trombin, faktör Xa ve farklı diğer koagülasyon faktörlerini inaktive eden antitrombin III' ün kofaktörleridir. Trombomodülin de dolaylı olarak etki gösterir. Trombine bağlanarak bir prokoagulandan antikoagulan protein C' yi aktive etme yeteneğindeki antikoagülana çevirir. Aktive protein C faktör VIIIa ve Va' yı proteolitik etkisiyle parçalayarak pıhtılaşmayı inhibe eder. Bir kofaktör olarak, endotel hücrelerinden sentezlenen protein S' ye ihtiyacı vardır (22).

2.3.3.4. Fibrinolitik Özellikler

Endotel hücrelerinden sentezlenen doku plazminojen aktivatörü (t-PA) endotelial yüzeylerden fibrin birikintilerini temizlemek için fibrinolitik aktiviteyi uyarır (22).

2.3.3.4. Protrombotik Özellikler

Endotel hücreleri genellikle kan pıhtılaşmasını sınırlayıcı özellikler sergilerken; trombosit, koagülasyon proteinleri ve fibrinolitik sistemi etkileyerek protrombotik etki de gösterebilir. Endotel hasarı subendotelial kollajene platelet yapışması ile sonuçlanır. Bu plateletlerin kollajen ve diğer yüzeylere bağlanması için esansiyel bir kofaktör olan von Willibrand faktör (vWF) ile oluşur. Hem dolaşan hem de kollajene bağlı vWF büyük ölçüde normal endotel tarafından sentezlenir. Endotelin kaybı önceden depolanan vWF' in açığa çıkması ve dolaşan vWF' in bazal membrana bağlanmasına yol açar. Sonra da plateletler glikoprotein 1b (Gp1b) reseptörleri ile bağlanırlar (22).

Endotel hücreleri aynı zamanda sitokinler ve bakteri endotoksinleri tarafından da doku faktörü üretimi için uyarılır ki, bu daha sonra göreceğimiz gibi, doku faktörü pıhtılaşma sisteminin ekstrensek yolunu harekete geçirir. Endotel hücreleri aktive faktör IXa ve Xa' nın bağlanması ile bu koagülasyon faktörlerinin katalitik etkilerini artırır. Son olarak endotel hücreleri fibrinolizi baskılayan plazminojen aktivatör inhibitörlerini (PAIs) de salgılar (22).

2.3.3.5. Trombositlerin ve Endotelin Birbiri ile Etkileşimi

Trombositler ve endotelin karşılıklı etkileşiminin, pıhtı oluşumunda önemli rolü vardır. Endotel tarafından sentezlenen Prostoglandin I₂ (PGI₂) bir vazodilatatördür ve trombosit agregasyonunu inhibe eder. Oysa trombosit kökenli TXA₂ trombosit agregasyonunu aktive eder ve güçlü bir vazokonstriktördür. PGI₂ ve TXA₂' nin bu etkileri trombosit fonksiyonlarının düzenlenmesinde ince bir denge oluşturur. Normal şartlarda damar içinde trombositlerin agregasyonu önlenirken, oluşan bir endotel hasarı hemostatik tıkaç oluşumuna yol açar. Nitrik oksit de PGI₂ benzeri bir davranış göstererek, vazodilatasyon yapar ve trombosit agregasyonunu inhibe eder (22).

2.4. Pıhtılaşma Zinciri

2.4.1. Yırtılan Damarda Kan Pıhtılaşması

Hemostazın üçüncü mekanizması kan pıhtısı oluşumudur. Damar duvarı ağır biçimde hasarlanmışsa 15-20 saniye içinde pıhtı gelişmeye başlar. Hasarlanma hafifse pıhtılaşma 1-2 dakika içinde ortaya çıkar. Hasarlanan damar duvarı ve trombositlerden kaynaklanan aktivatör maddeler ve hasarlanan damar duvarına yapışan kan proteinleri pıhtılaşma sürecini başlatır (24).

Damarın yırtılmasından 3-6 dakika sonra, eğer damardaki delik çok geniş değilse, açıklığın tümü ya da damarın yırtılan ucu pıhtı ile dolar. Yirmi dakika ya da 1 saat sonra, pıhtı büzülür ve damarı daha da fazla kapatır (24).

2.4.2. Pıhtılaşma Mekanizması

2.4.2.1. Temel Teori

Kan ve dokularda kan pıhtılaşmasını etkileyen 50' den fazla önemli madde bulunmuştur. Bunların bazıları pıhtılaşmayı sağlar, bunlara prokoagülan denir. Diğerleri pıhtılaşmayı inhibe ederler, bunlara ise antikoagülan denmektedir. Kanın pıhtılaşp pıhtılaşmaması, bu iki grup madde arasındaki dengeye bağlıdır. Normalde antikoagülanlar baskındır ve kan pıhtılaşmaz. Ama bir damar zedelendiğinde hasarlanan alandaki prokoagülanlar 'uyarılarak' antikoagülanlara baskın hale gelirler ve pıhtı oluşur (24).

2.4.2.2. Genel Mekanizma

Pıhtılaşma 3 ana basamakta meydana gelir: **(1)** Damarın yırtılması ya da kanın kendisinin hasarlanmasına cevap olarak kanda bir düzineden fazla pıhtılaşma faktörünün rol oynadığı bir dizi kimyasal reaksiyonlar kompleksi meydana gelir. Net sonuç, aktive olan tüm maddelerin protrombin aktivatörü denen bir kompleks oluşturmasıdır. **(2)** Protrombin aktivatörü protrombinin trombine dönüşümünü katalizler. **(3)** Trombin bir enzim görevi yaparak fibrinojeni fibrin iplikçiklerine çevirir. Daha sonra fibrin iplikçikleri trombositler, kan hücreleri ve plazmayı da içine alarak pıhtıyı oluşturur (24).

2.4.2.3. Pıhtı Oluşumunun Kısır Döngüsü

Kan pıhtısı gelişmeye başlar başlamaz dakikalar içinde çevresindeki kana da yayılır. Yani, pıhtının kendisi bir kısır döngü oluşturarak (pozitif geribildirim) daha fazla pıhtılaşmaya neden olur. Bunun en önemli nedenlerinden biri trombinin proteolitik aktivitesinin fibrinojenin yanısıra diğer birçok pıhtılaşma faktörleri üzerinde etkili olmasıdır. Örneğin, trombin protrombin üzerine doğrudan proteolitik etki göstererek daha fazla trombin oluşmasına yol açar. Bu da protrombin aktivatörü oluşumunda sorumlu pıhtılaşma faktörleri üzerine etkindir. Kritik miktarda trombin oluştuğunda, daha fazla kanın pıhtılaşmasına ve daha fazla trombin meydana gelmesine yol açan bir kısır döngü gelişir. Böylece kan pıhtısı kanama durduruluncaya kadar büyümeye devam eder (24).

2.5. Pıhtılaşmanın Başlaması

2.5.1. Protrombin Aktivatörünün Yapımı

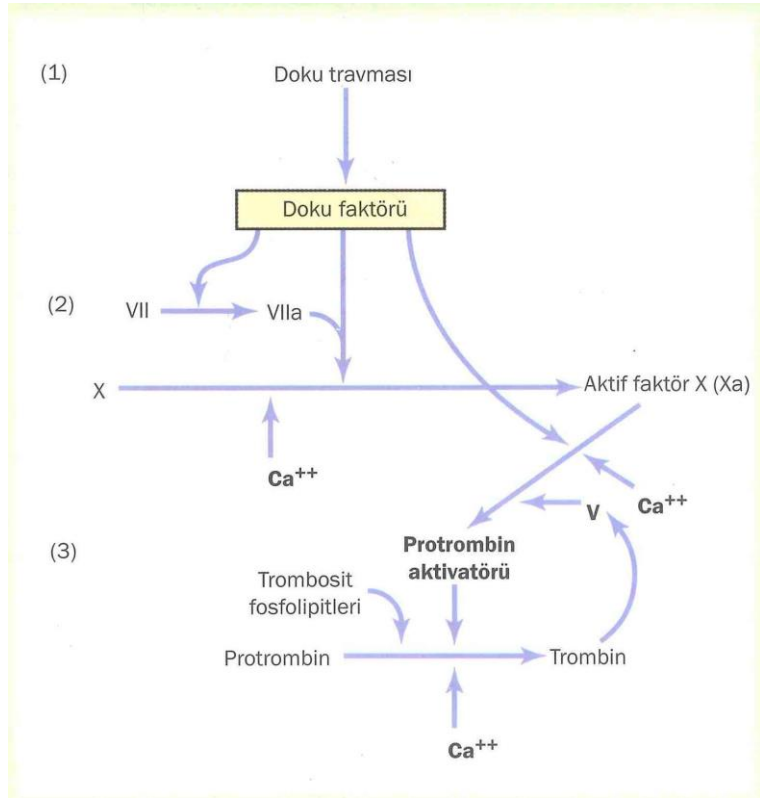
Pıhtılaşmayı başlatan mekanizmalar; damar duvarı ve komşu dokuların travmaya uğraması; kana travma olması ya da kanın, hasarlanmış endotel hücreleriyle veya kollajen ve kan damarı dışındaki diğer doku elemanlarıyla teması sonucu aktive olurlar. Her durumda, protrombin aktivatörü oluşumuna yol açarlar ve bu da protrombinin trombine dönüşümüne ve tüm diğer pıhtılaşma aşamalarının gelişmesine neden olur (24).

Protrombin aktivatörü gerçekte birbirleriyle sürekli etkileşim halinde olan iki yolla oluşturulur: Damar duvarı ve çevresindeki dokuların travmaya uğramasıyla başlayan ekstrinsek yol ve kanın kendi içinde başlayan intrinsek yol (24).

Hem ekstrinsek ve hem de intrinsek yolda pıhtılaşma faktörleri adı verilen bir seri farklı plazma proteinleri önemli rol oynar. Bunlar çoğunlukla proteolitik enzimlerin inaktif formlarıdır. Aktif formlarına dönüştüklerinde enzimatik etkileri ile pıhtılaşma işleminin seri reaksiyonlarına neden olurlar. (24).

2.5.2. Pıhtılaşmanın Başlamasında Ekstresek Yol

Protrombin aktivatörü oluşumunu başlatan ekstresek yol damar duvarı veya damar dışı dokuların travmaya uğraması ile aktive olur ve **Şekil 2.7.** de gösterilen aşamalar gerçekleşir.



Şekil 2.7. Pıhtılaşma Mekanizmasını Başlatan Ekstresek Yol

a-doku faktörünün serbestlenmesi: Travmatize dokudan doku faktörü ya da doku tromboplastini denilen çeşitli faktörlerin oluşturduğu bir bileşim serbestlenir. Bu faktör başlıca doku membrablarından gelen fosfolipitler ile önemli bir proteolitik enzim içeren bir lipoprotein kompleksinden oluşur.

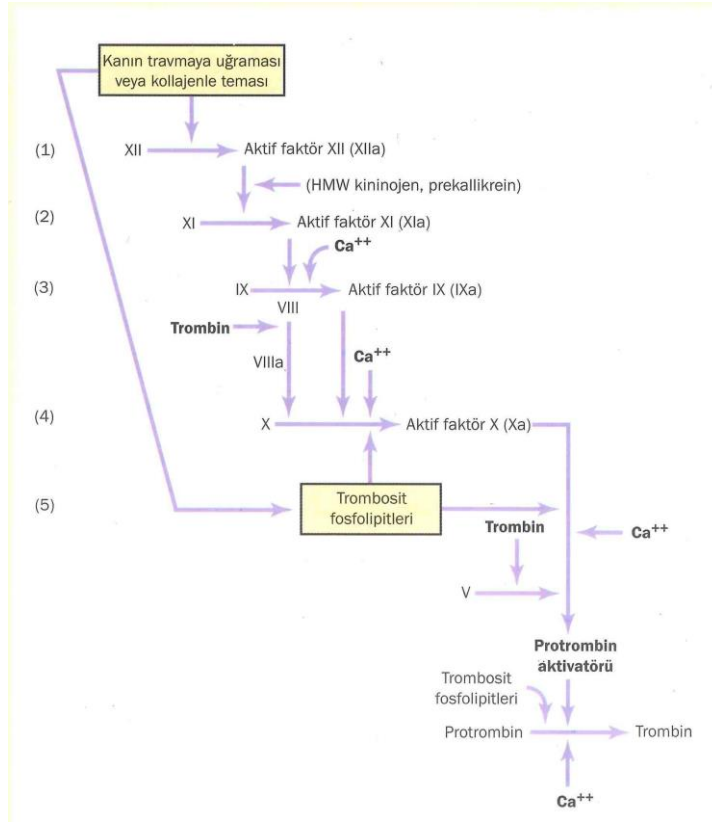
b-faktör X' un aktivasyonu-faktör VII ve doku faktörünün rolü: Doku faktörünün lipoprotein kompleksi koagülasyon faktörü VII ile kompleks oluşturur ve kalsiyum iyonları varlığında faktör X üzerine enzimatik etki göstererek aktif faktör X' u (Xa) oluşturur.

c-aktif faktör X' un protrombin oluşumu üzerine etkisi-faktör V' in rolü: Aktif faktör X hemen doku faktörünün parçası olan doku fosfolipitleriyle ya da trombositlerden serbestlenen fosfolipitlerle birlikte faktör V ile birleşerek protrombin aktivatörü denen

kompleksi oluşturur. Birkaç saniye içinde, kalsiyum iyonlarının (Ca^{++}) varlığında, bu protrombini trombine parçalar ve pıhtılaşma işlemi daha önce açıklandığı gibi devam eder. Başlangıçta, protrombin aktivatörü kompleksi içindeki faktör V inaktiftir; fakat pıhtılaşma işlemi ve trombin oluşumu başladığında, trombinin proteolitik etkisiyle faktör V aktive olur. Bu daha sonra protrombin aktivasyonunu güçlü bir şekilde hızlandırır. Böylece, son protrombin aktivatör kompleksinde, aktif faktör X protrombini trombine çeviren gerçek bir proteaz görevi yapar. Aktif faktör V, bu proteaz aktivitesini büyük ölçüde güçlendirir ve trombosit fosfolipitleri ise olayı daha da hızlandırır. İşlem bir kez başladıktan sonra, trombinin faktör V üzerinden, pozitif geribildirim etki ile, tüm olayı hızlandırdığına özellikle dikkat ediniz (24).

2.5.3. Pıhtılaşmanın Başlamasında İntrensek Yol

Protrombin oluşumunu ve dolayısıyla pıhtılaşmayı başlatan ikinci mekanizma kanın kendisinin travmaya uğraması veya kanın travmatize bir damar duvarındaki kollajenle temas sonucu başlar ve **Şekil 2.8.** de gösterilen aşağıdaki reaksiyonlar zinciri ile devam eder.



Şekil 2.8. Pıhtılaşma Mekanizmasını Başlatan İntrensek Yol

a-kanın travmaya uğraması: faktör XII'in aktivasyonuna ve trombosit fosfolipitlerinin serbestlenmesine neden olur. Kanın travmaya uğraması ya da damar duvarındaki kollajenle teması kanda iki önemli pıhtılaşma faktörünü değiştirir: faktör XII ve trombositler. Faktör XII kollajenle veya cam gibi ıslanabilir bir yüzeyle temas ettiğinde yeni bir moleküler şekil değişimi yaparak 'aktif faktör XII' denen proteolitik bir enzime dönüşür. Aynı zamanda, kanın travmaya uğraması, trombositlerin de kollajene veya ıslanabilir bir yüzeye yapışarak hasarlanmasına neden olur. Bunun sonucunda, daha sonraki pıhtılaşma reaksiyonlarında rol oynayan trombosit faktör 3 denen lipoproteini içeren trombosit fosfolipitleri ortama serbestlenir.

b-faktör XI'in aktivasyonu: aktif faktör XII Faktör XI' i enzimatik olarak aktive eder ki bu intrensek yolun ikinci aşamasıdır. Bu reaksiyon için ayrıca yüksek molekül ağırlıklı kininojene gereksinim vardır ve prekallikrein ile de reaksiyon hızlandırılır.

c-faktör IX'un aktif faktör XI tarafından aktivasyonu: aktif faktör XI sonra enzimatik etki ile faktör IX' u aktive eder.

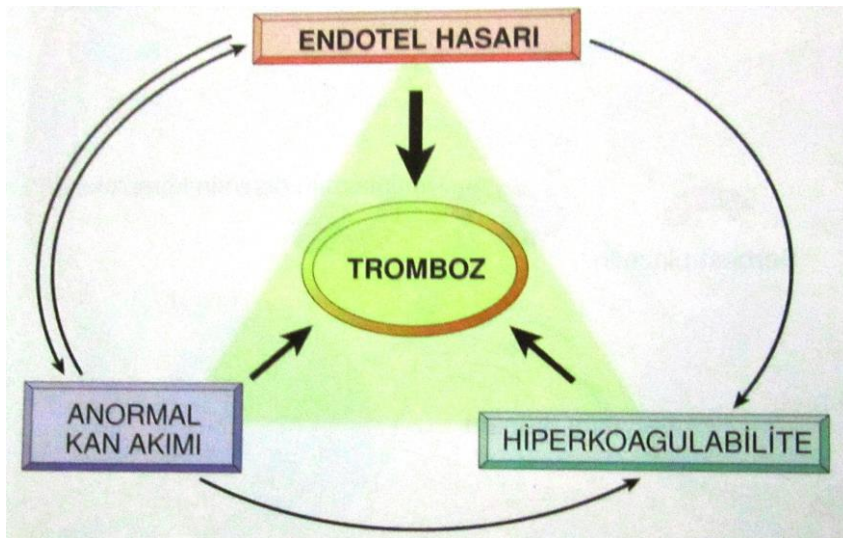
d-fktör X'un aktivasyonfaktör VIII' in rolü; aktif faktör XI, faktör VIII, trombosit fosfolipitleri ve travmatize trombositlerden salınan faktör 3 birlikte etki göstererek faktör X' u aktive ederler. Faktör VIII veya trombositlerin eksikliğinde bu aşamanın yetersiz olacağı açıktır.

Protrombin aktivatörü oluşumunda aktif faktör X' un etkisi-faktör V' in rolü; intrinsek yolun bu aşaması ekstrinsek yolun son aşamasının aynısıdır. Yani, aktif faktör X, faktör V ve trombosit veya doku fosfolipitleriyle birleşerek protrombin aktivatörü kompleksini oluşturur. Bunu takiben, protrombin aktivatörü saniyeler içinde protrombinin trombine parçalanmasını başlatır ve bu şekilde daha önce bahsedildiği gibi pıhtılaşma işleminin son basamakları harekete geçmiş olur (24).

2.6. Tromboz

2.6.1. Patogenez

Trombüs oluşumu üzerine Virchow triadı olarak adlandırılan üç primer etki vardır: endotel hasarı, kan akımının stazı veya türbülansı, kan hiperkoagulabilitesi **Şekil 2.9.** (22).



Şekil 2.9. Trombozda Virchow Triadı

2.6.2. Endotel Hasarı

Endotelyal kaybın kendisi tromboza yol açabileceğinden, endotel hasarı en baskın etkidir. Trombüsün, normalde yüksek kan akımı hızının adezyonu önleyerek veya koagülasyon faktörlerini seyrelterek pıhtılaşmayı önleyebildiği kalpte veya arteryel sistemde gelişmesi özellikle önemlidir. Endotelin fiziksel kaybı subendotelyal ekstraselüler matriksin açığa çıkması, trombositlerin yapışması, doku faktörünün salınımı ve PGI₂ ve plazminojen aktivatörlerinin lokal kaybına yol açar. Bunula birlikte tromboz gelişimine katkıda bulunmak için endotelin baskılanması veya fiziksel parçalanmasının gerekmediği bilinmelidir, endotelin antitrombotik ve protrombotik aktiviteleri arasındaki dinamik dengede herhangi bir düzensizlik lokal pıhtılaştırıcı olayları etkiler. Şöyleki, disfonksiyonel endotel prokoagülan faktörleri büyük ölçüde artırabilir veya daha az antikoagülan efektörler sentez edebilir (22).

2.6.3. Normal Kan Akımındaki Değişiklikler

Türbülans zıt akım ve lokal staz paketleri oluşumu, endotelyal hasar veya disfonksiyona yol açarak arteryel veya kardiyak trombüse katkıda bulunur. Staz venöz trombüs gelişimine majör katkı yapan faktördür. Normal kan akımı laminerdir. Trombositler damar lümeninde ortada akar. Daha yavaş hareket eden berrak plazma zonu ile endotelden ayrılır. Staz ve türbülans bundan dolayı; laminer akımı bozar ve plateletler ile endotelin temasını sağlar; taze akan kan ile aktive pıhtılaşma faktörlerinin dilüsyonunu önler; pıhtılaşma faktörleri inhibitörlerinin bölgeye akışını geciktirir ve trombüs oluşumuna izin verir; endotel hücre aktivasyonunu uyarır, lokal tromboza, lökosit adezyonuna vb. yol açar. Türbülans ve staz birçok klinik durumda tromboz oluşumuna katkı sağlar. (22).

2.6.4. Hiperkoagülabilité

Hiperkoagülabilité genellikle daha az sıklıkla trombotik durumlara katkı yapar ancak bu denklemde asla önemsiz bir bileşen değildir. Koagülasyon yolundaki bazı değişiklikler tromboza eğilim oluşturur ve primer (genetik) ve sekonder (edinsel) bozukluklar olarak ikiye ayrılır (22).

2.6.5. Trombüsün Seyri

Eğer hasta trombotik damar tıkanıklığının ani etkilerini atlattır ve yaşarsa, trombüs günler veya haftalar içinde aşağıdaki dört olayın bazı kombinasyonları ile sonuçlanır.

a-gelişme: trombüs ilave trombosit ve fibrin birikimi ile sonunda damar tıkanmasına yol açabilir.

b-embolizasyon: trombüsün kopması veya parçalanması ve dolaşımında başka bir yere taşınmasıdır.

c-erime: trombüsler fibrinolitik aktivite ile ortadan kaldırılırlar.

d-organizasyon ve rekanalizasyon: trombüs inflamasyon ve fibrozisi uyarır (organizasyon). Bunlar daha sonra rekanalize olur (akımın bir derece yeniden sağlanması) veya kalınlaşmış bir damar duvarının yapısı içinde kalabilirler (22).

2.6.6. Venöz ve Arteriyel Trombüs

Trombüsler önemlidir çünkü arter ve venlerin tıkanmasına yol açar ve embolinin potansiyel kaynağıdır. Trombüse ait hangi etkinin daha önemli olduğu trombüsün yerine bağlıdır. Venöz trombüs tıkanmanın distal kısmında ödem ve konjesyona yol açar, fakat en kötüsü akciğere embolizasyon kapasitesi ve ölüm nedeni olabilmesidir. Bunun aksine, arteriyel trombüs embolize olabilir hatta akım yönünde doku infarktüsüne neden olabilirken örneğin koroner ve serebral damarlar gibi kritik yerlerdeki vasküler tıkanmadaki rolü klinik olarak çok daha önemlidir (22).

2.6.7. Morfoloji

2.6.7.1. Arteriyel Trombüsler

Sıklıkla tıkaçıcıdır, platelet ve koagülasyon aktivasyonu ile oluşur, tipik olarak kırılabilir bir platelet, fibrin, eritrosit ve dejenere lökositler ağıdır. Arteriyel trombüsler sıklıkla aterosklerotik plağın üzerinde oluşmasına rağmen diğer vasküler hasarları (vaskülit, travma) da tutabilirler (22).

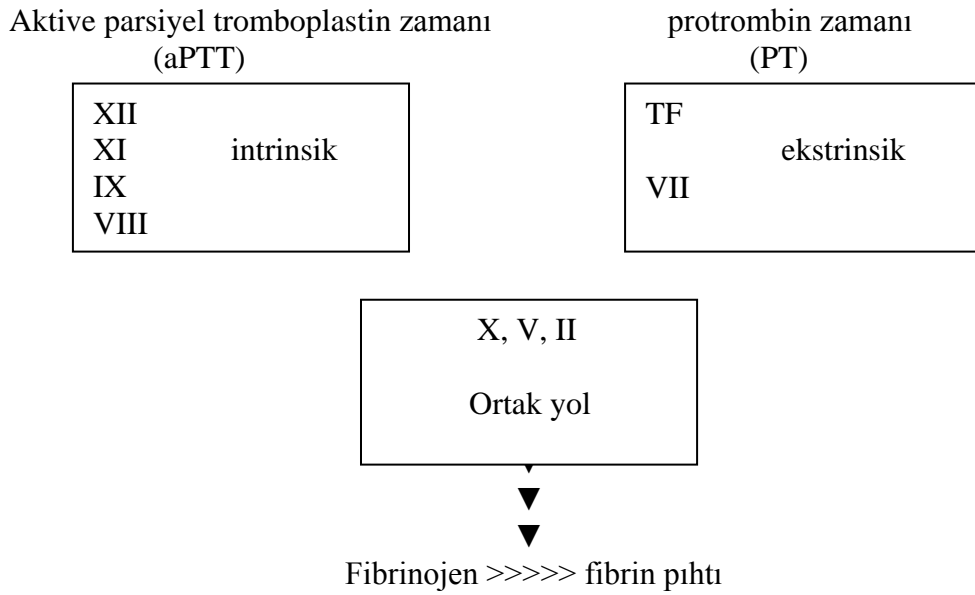
2.6.7.2. Venöz Trombüsler

Hemen her zaman tıkaçıcıdır ve trombüs lümende uzun bir kitle oluşturur; venöz tromboz büyük oranda koagülasyon kaskadı aktivasyonun sonucudur, trombositler sekonder bir rol oynarlar. Bu trombüsler hareketsiz venöz dolaşımında olduğundan çok daha fazla sayıda eritrosit içermeye eğilimlidir; bundan dolayı kırmızı veya staz trombüsü diye adlandırılır (22).

2.7. Koagülasyon Testleri

Bir çok test koagülasyon işleminin bütünlüğünü ve doğruluğunu değerlendirmek için geliştirilmiştir. Testler intrinsik koagülasyon yolunu (faktör XII, XI, X, IX, VIII, V, II ve I) ve ekstrinsik yolunu (faktör X, VII, V, II ve I) değerlendirenler olarak tanımlanabilir.

2.7.1. PT ve PTT



2.7.1.1. Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTT)

Tek aşamalı pıhtılaşma testidir. Pıhtılaşma bozukluklarını tarar. aPTT intrinsik sistemdeki tüm faktörleri (F1, II, V, VIII, IX, X, XI ve XII) test eder. Faktör VII aktivitesini ölçmez.

aPTT dikkat edilmesi gerekenler: Sitratl  t p,oda ısısında transport, vakum intakt olmak zorunda (kapağı açma), 12 saat stabil.

aPTT klinik önemi: aPTT işlemi heparin tedavisini takip etmek için, intrinsik sistem faktör eksikliklerini ve dolaşan antikoagülanları taramak için kullanılan bir yöntemdir. Test tüm pıhtılaşma faktörlerine hassastır (Faktör VII ve XIII hariç). Heparin laboratuvarda görülen aPTT uzamasının en sık nedenidir.

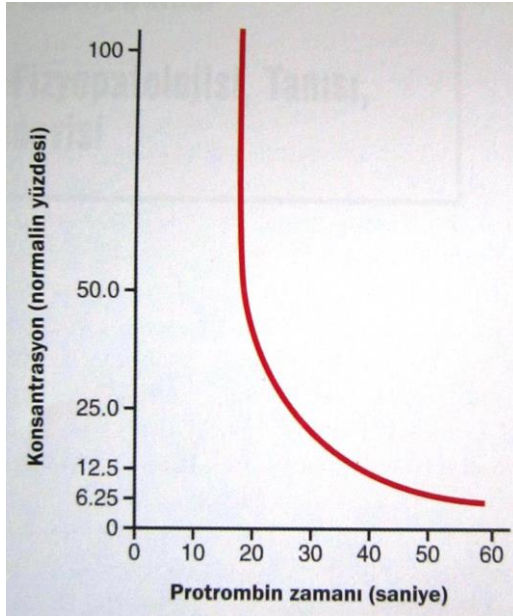
Heparin-aPTT: Heparin DVT, AMI veya trombozda kullanılır ve aPTT ile takip edilir. IV heparin injeksiyonu hemen antikoagülan etki gösterir. Hızlı antikoagülan etki istendiğinde tercih edilir. Çünkü heparin yarılanma ömrü 3 saattir. Bu nedenle aPTT heparin uygulamasından sonra 3 saatte ölçülür. Terapötik aralık normal düzeyin 2-2.5 katıdır.

2.7.1.2. Protrombin Zamanı (PT)

Kalsiyum-doku faktörü karışımına ilavesi ve tespit edilebilir bir pıhtı oluşumu arasında geçen zaman PT'dir. PT optimal konsantrasyonda doku ekstrakt varlığında plazma pıhtılaşma zamanını ölçer ve ekstrinsik pıhtılaşma sisteminin tüm eksikliğinin bir göstergesi olarak kullanılır.

Protrombin zamanı kandaki toplam protrombin miktarının bir göstergesidir. **Şekil 2.10.** protrombin konsantrasyonu ile protrombin zamanı arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Protrombin zamanının tayini için aşağıdaki işlemler yapılır:

Hastadan alınan kan hemen oksalatlanarak protrombinin trombine dönüşmesi engellenir. Daha sonra, büyük miktarda kalsiyum iyonu ve doku faktörü aniden oksalatlı kanla karıştırılır. Kalsiyum, oksalatın etkisini bloke eder ve doku faktörü de ektrensek yolla protrombinden trombin oluşmasını aktive eder. Pıhtılaşmanın olması için gereken zamana protrombin zamanı denir. Çünkü zamanın kısalığı protrombin konsantrasyonu ile belirlenmektedir. Normal protrombin zamanı yaklaşık 12 saniye kadardır (24).



Şekil 2.10. Kanda Protrombin Konsantrasyonunun Protombin Zamanı ile İlişkisi

2.7.2. Fibrinojen

Fibrinojen pıhtı oluşumu için gereklidir. Anormal PT, aPTT ve TT nedeninin araştırılmasında; DIK taraması; fibrin-fibrinolitik taramasında yapılır. Normal aralık 200-400 mg/dL (170-410 mg/dL), 50 mg/dL cerrahi sonrası kanamaya sebep olur. 700 mg/dL koroner arter ve SVH için risk faktörüdür. Heparin, kazanılmış hipofibrinojenemi nedenidir.

Plazmada 100-700 mg/dl miktarlarında bulunan yüksek molekül ağırlıklı (340000) bir proteindir. Fibrinojen karaciğerde yapılır ve karaciğer hastalıklarında protrombin konsantrasyonu gibi bazen fibrinojenin dolaşımdaki konsantrasyonu da azalır.

Büyük moleküler yapısı nedeniyle normalde az miktarda fibrinojen interstisyel sıvılara geçer. Fibrinojen koagülasyon işlemindeki esas faktörlerden biri olduğu için de interstisyel sıvı genellikle çok az pıhtılaşır ya da hiç pıhtılaşmaz. Ancak kapillerlerin permeabilitesi patolojik olarak artarsa fibrinojen pıhtılaşmaya yetecek miktarlarda doku sıvısı içine geçer ve plazma ve tam kanın pıhtılaşmasına benzer şekilde bu sıvılar da pıhtılaşır.

2.7.3. Tam Kan Sayımı

Tam kan sayımı temel tarama testidir. Bir çok kan parametresini tespit etmek için kullanılır: Hb düzeyi ve platelet sayısı gibi. Eritrosit morfolojisindeki anormalliğin (fragmentasyon) tespiti, DIC veya diğer mikroanjiopatilerin tanısında yardımcıdır. Anormal platelet morfolojisi PLT fonksiyon defektlerinin değerlendirmesinde faydalı olabilir.

2.8. Antikoagülan İlaçlar

Antikoagülan faktör etkinliğini artırarak ve pıhtılaşma faktörlerinin etkinliğini veya sentezini bozarak pıhtılaşma olayını inhibe eden ve böylece kanın koagülasyon yeteneğini azaltan ilaçlardır. Özellikle venöz trombusların oluşmasını önlerler. Arteriyel trombuslara karşı etkileri nispeten zayıftır.

2.8.1. Heparin

Mezbahalarda eti için kesilen sığırların akciğelerinden ve domuzların incebarsak mukozasından ekstraksiyon ve saflaştırma suretiyle elde edilen lineer zincir yapısında kompleks bir sülfatlanmış polisakkarid ve özel bir terimle glukozaminoglikandır. Hayvanlar aleminde mast hücreleri ve bazofil lokositlerin içindeki salgı granüllerinde bir proteine kovalent bağlanmış olarak bulunur. Bunun fonksiyonel önemi belli değildir ve sistemik masositosisli hastalar hariç plazmada fark edilebilir bir miktarda bulunmaz. Mast hücrelerinin salgıladığı heparin, ilaç olarak kullanılanlara göre daha büyük molekülüdür (60.000-100.000dalton). Vücutta heparin benzeri başka glukozaminoglikanlar bulunur. Bunlar çeşitli hücrelerin dış yüzüne ve mezenşimal dokuların matriksine yerleşmiş olan heparin sülfat ve dermatan sülfattır. Bu maddeler doğal olarak antikoagülan özellik göstermezler, fakat böyle bir potansiyele sahiptirler. İlaç olarak hazırlanan heparin, ekstraksiyon sırasında glukozamin zincirlerin kırılmaları sonucu oluşan 5.000 ile 30.000 dalton arasında değişen heparin fragmentlerinin heterojen bir karışımıdır. Molekülünde sülfat gruplarının yoğun olarak bulunuşu nedeniyle heparin güçlü bir anyonik maddedir ve vücutta oluşan en asidik madde olarak nitelendirilebilir. Bu özelliğinden dolayı heparin katyonik nitelikteki ilaçlarla veya protein ve diğer doğal maddelerle kolayca birleşip

kompleks yapabilir. Heparin preparatlarının etkinliği, elde edildiği kaynağa ve karısmıda bulunan oğelerin moleköl ağırlığına göre değişiklik gösterir. Sığır akciğeri kaynaklı heparini nötrale etmek için, köpek barsağı kaynaklı heparin için gerekenden daha çok protamin gerekir. Bunun nedeni sığır kaynaklı olanın, heparin yanında kondroitin gibi protamini bağlayan, fakat antikoagölün olmayan "bulaşık" içermesidir (25).

2.8.1.1. Heparin'in Etki Mekanizması

Heparinin antikoagölün etkisi hem *invivo*, hem de *invitro* koşullarda oluşur ve hemen ortaya çıkar. Bu etki esas olarak heparinin inaktif durumda bulunan ve karaciğer K vitaminine bağımlı olarak sentez edilen bir alfa iki globulin olan AIII' ü aktif duruma getirmesine dayanır. AIII' e heparin ko-faktörü adı da verilir. Plazmada 18-30mg/dl konsantrasyonunda bulunur ve yarılanma ömrü 24-36 saattir. Heparinin antikoagölün etkisine en fazla katkıda bulunan, trombin ve faktör Xa' nın inhibisyonudur. Heparin aktive ettiği AIII aracılığı ile trombinin fibrinojen üzerindeki hem doğrudan doğruya hem de aktif trombin oluşmasını azaltarak inhibe eder; sonuçta fibrinojenin fibrine dönüşmesi engellenmiş olur (25).

Heparin'in en önemli yan etkisi kanama yapmasıdır. Duyarlı kimselerde cilt altına injeksiyon yerinde nekroz yapabilir. Erken ve geç (klinik açıdan önemlidir ve 6 - 10 günden sonra gelişebilir.) tipte trombositopeni yapması sorun oluşturabilir. Hiperpotasemi, osteoporoz yapabilir. Heparin dozu, tam kanda aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ) ve aktive edilmiş koagölasyon zamanı (aKZ) testi ile izlenir. Piyasada bulunan heparin birkaç farklı hayvan dokusundan elde edilmiş ve oldukça saf bir formda hazırlanmıştır. Kilogram başına 0,5-1 miligram gibi düşük dozların enjeksiyonu normalde yaklaşık 6 dakika olan pıhtılaşma zamanını 30 dakika veya üzerine çıkarır. Heparin etkisi yaklaşık 1-4 saat sürer. Enjekte edilen heparin kanda heparinaz enzimi tarafından parçalanır.

2.8.2. Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin ve Türleri (DMAH)

Standard heparinin yararlılığını artırmak ve sakıncalarını azaltmak amacıyla 1980' lerde onun depolimerizasyonu suretiyle DMAH' ler yapılmıştır. Depolimerizasyon için kimyasal veya enzimatik yöntemler kullanılır. DMAH' ler standard heparin içindeki

polisakkarid moleküllerinin adı geçen yöntemlerle parçalanması sonucu oluşan kısa fragmentlerin bir karışımıdır. Antifaktör Xa etkinlikleri güçlü ve anti-faktör IIa (antitrombin) etkinlikleri daha düşüktür. Antifaktör Xa/anti-faktör IIa etkinlik oranı, standard heparin preparatında tanım gereği 1:1 olduğu halde, DMAH' lerde 4:1 ile 2:1 arasında değişir. DMAH' ler enoksoparin, fraksiyoparin, sertoparin, dalteparin, tinzaparin (25).

Düşük molekül ağırlıklı heparinin molekül ağırlığı yaklaşık 4.000-8.000 Dalton kadardır. Trombin ve Faktör Xa ile etkileşir, Tissue Pathway Factor Inhibitor (TFPI) salınmasını sağlar, etkisi Faktör Xa inhibisyonu üzerindedir. Daha etkin biyoyararlanımı, daha uzun yarı ömrü ve dozdan bağımsız renal klerensi sayesinde daha güvenilir bir antikoagülandır ve renal yetmezlik hariç laboratuvar takibine gerek yoktur. Trombositler üzerinde daha az inhibitör etkisi olduğundan, mikrovasküler permeabilityyi arttırmadığından ve damar duvarı ve trombositler arası etkileşimi daha az etkilediğinden dolayı standart unfraksiyone heparine oranla daha az kanamaya neden olur. Subkütan, intravenöz veya intraarteriyel olarak verilebilir ve laboratuvar takibine gerek yoktur.

DMAH olan Enoksaparin; fraksiyone edilmemiş heparin (FEH)' den kimyasal veya enzimatik depolarizasyon yoluyla elde edilir. Trombositlere bağlanma oranları düşük olduğundan trombositopeni olasılığı düşüktür. Enoksaparin' in molekül ağırlığı 4800 IU/mg olup, Xa/IIa oranı 3.3' tür. Bu ilaçların belirgin avantajı sabit dozda günde bir ya da iki kez yapılabilmesi ve laboratuvar takibi gerektirmemeleridir. Bu fraksiyon daha güçlü antitrombotik etkinlik gösterir. Hemorajik etkinliği ve antitrombotik etkinliği daha düşük, cilt altından biyoyararlanımı daha yüksek ve etki süresi daha uzundur. Trombin ve Faktör Xa ile etkileşir, Tissue Pathway Factor Inhibitor (TFPI) salınmasını sağlar; etkisi Faktör Xa inhibisyonu üzerindedir.

2.8.2.1. Bu İlaçların Potansiyel Avantajları Şöyle Sıralanabilir

Doza bağımlı etki ve öngörülebilir doz-yanıt ilişkisi, vücut ağırlığına göre doz tayini; laboratuvar (aPTT ölçümü) monitorizasyonu gerekliliği olmaması; subkütan uygulama (günde tek veya 2 kez); kullanıma hazır enjektör şeklinde kullanıma sunulmaları; ayaktan kullanılabilme olanağı; daha düşük HIT olasılığıdır.

2.8.2.2. Heparin Kullanımının Komplikasyonları

Kanama, heparinin en sık komplikasyonudur. Normal hemostatik mekanizmalar varlığında % 10-20; trombositopeni ve üremi varlığında % 50'dir.

2.8.3. Fondaparinux

Fondaparinux, tam sentetik, düşük ağırlıklı bir moleküldür. Aktif Faktör X (Xa)'nın sentetik ve selektif bir inhibitörüdür. Antitrombotik aktivitesi antitrombin III (AT III) aracılı Faktör Xa'nın selektif inhibisyonu ile sağlanır. AT III'e selektif olarak bağlanan fondaparinux, Faktör Xa'nın AT III ile nötralizasyonunu artırır (yaklaşık 300 kat). Faktör Xa'nın selektif nötralizasyonu, koagülasyon kaskadını bloke eder ve hem trombin oluşumunu hem de trombus gelişimini önler. Fondaparinux trombin (aktif Faktör II) inaktive etmez ve trombositler üzerine etkisi yoktur (26). Fondaparinux'un önerilen dozu, günde bir kez subkütan enjeksiyon yolu ile postoperatif olarak uygulanan 2,5 mg'dır.

Enoksaparin ile karşılaştırmalı yapılan bir çalışmada major kalça ve diz cerrahisi geçiren hastalarda, fondaparinux lehine VTE oranında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (27). PE'yi içeren semptomatik VTE'nin insidansı ise tedavi gruplarında anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Fondaparinux (Arixtra); antitrombotik molekülün yeni bir sınıfının ilkidir. Faktör Xa'nın sentetik selektif inhibitörüdür. 1728 Da' dur, pentasakkarittir. Fonksiyonel olarak daha potenttir (28,29). Sondaki anomerik yapıyı stabilize eden bir metil grup, plazma proteinlerine nonspesifik bağlanmasını engeller. AT için yüksek bir afinite gösterir. AT'ye bu tutunma hızlıdır, non-kovalenttir ve geri dönüşlüdür. Faktör Xa'yı spesifik olarak inhibe eder. Heparin grubu içinde otörler tarafından kategorize edilemedi fakat diğer antitrombotik ajanlar sınıfına konuldu (28,29).

Fondaparinux ile yapılan klinik çalışmalar; major ortopedik cerrahi sonrası venöz tromboembolizmin önlenmesinde fondaparinux; sistemik tromboembolik olayların tedavisinde fondaparinuxun etkinliği; akut arteriyel trombozun tedavisinde fondaparinux çalışılmıştır (29).

Fondaparinuxun yarılanma ömrü 15-20 saat olup doz bağımlı değildir (30,31). Metabolize edilmez ve klerensi derhal böbrek tarafından (30,32). Renal yetmezlikli

hastalarda doz ayarlamaları zorunludur. Renal yetmezliği olan hastalarda kullanılmamalıdır. Lakin fondaparinuxun plasentaya geçişi gözlenmedi (30,33)

Fondaparinux, heparinin indüklediği trombositopenili hastalar için uygun bir antikoagülandır (30,34)

Ne fondaparinux ne de idraparinux; heparinin antidotu olan protamin sülfattan etkilenir. Eğer kontrolsüz bir kanama görülürse rekombinant faktör VIIa gibi bir prokagülan faydalı olabilir. Ama rekombinant faktör VIIa, tüm hastalar için temin edilemez, pahalıdır ve trombotik komplikasyonları indükleyebilir (30,32,35,36).

Fondaparinux, arteryel trombozun ve venöz tromboembolizmin tedavisinde, önlenmesinde tavsiye edilebilir.

Aşağıdaki tabloda (**Tablo 2.1.**) LMWH, fondaparinux ve idraparinux'un özellikleri karşılaştırılmıştır (37).

Tablo 2.1. LMWH, Fondaparinux ve İdraparinux'un Özelliklerinin Karşılaştırılması

Özellik	LMWH	Fondaparinux	İdraparinux
Uygulama yolu	sc	sc	sc
biyoyararlanım	% 80-90	% 100	% 100
Yarı ömrü	4	17	80
hedef	Faktör Xa ve trombin	Faktör Xa	Faktör Xa
Renal klerens	evet	evet	evet
Protamin sülfat ile nötralizasyon	parsiyel	hayır	hayır

2.8.4. Dextran

Hem plazma genişletici hem de antikoagülan etkileri vardır. Dextran 70 (70.000 Dalton) ve Dextran 40 (40.000 Dalton) olarak iki formu vardır. Trombositlerin agregasyon ve adhezyonunu azaltarak kanam zamanını uzatır. Dextranın von Willebrand Faktör (vWF)'e bağlanarak bir kompleks oluşturduğu gösterilmiştir. Preoperatif 500 ml verilmesini takiben postoperatif dönemde günde 500-1000 ml verilir. Dextran venöz ve arteriyel emboli profilaksisinde kullanılır ve DMAH ile profilaksi arasında anlamlı bir fark yoktur.

Glukoz altgrubunun bir bileşimi olan makromoleküldür, polisakkarittir. Damar duvarındaki elektrokoagulabiliteyi artırır. Volüm genişletici, antitrombotik ve

antifibrinotiktir. Trombosit adezyonunu azaltır. RBC agregasyonunu azaltır, fleksibilitesini arttırır.

2.8.4.1. Dextran Kullanımının Komplikasyonları

Kanamaya neden olabilir. Kan grupları ve ‘cross-match’ ile etkileşebilir. Volüm fazlasına neden olabilir, bu nedenle günlük total kan volümünün %10 undan fazlası verilmemelidir. Allerjik reaksiyonlara %1 oranında neden olabilir, %0,1 den az oranda anafilaksiye neden olur. Bu tür komplikasyonlar Dextran 70 kullanımında daha fazla görülür. Renal hasar, anaflaktik şok, konjestif kalp yetmezliği, MI, pulmoner ödem, plevral efüzyon ve pnömoniye nende olabilir.

2.9. Mikrocerrahide Temel Kavramlar

2.9.1. Damar Yaralanması ve Rejenerasyonu

Mikrovasküler anastomozlar damar duvarındaki endotel ve subendotelde hasar oluşturur. Ancak endoteldeki bu hasarın tromboz gelişiminde önemli bir rolü yoktur. Diğer yandan subendotelin kan akımı ile temas etmesi trombüs oluşumunun ilk basamağı olan trombosit agregasyonuna nende olur. Media ve adventisyada bulunan kollajen, trombosit agregasyonunu stimüle eder. Weinstein’ e göre intimal devamlılığı sağlayan tam kat sütürler trombosit agregasyonunu ve anastomotik kanamayı en az provoke eden yöntemdir. Harashina ise tam kat yaklaştırma ile adventisyal sütürler ile yaklaştırmanın damar anastomozunun başarısını etkilemediğini göstermiştir. Damar duvarının iyileşmesi sırasında ilk 5 günde bir psödointima oluşur. Birinci ve ikinci haftalar arasında ise yeni endotel anastomoz bölgesini kapatır. Elastik ve müsküler tabakalar yaralanma öncesi durumlarına nadiren dönerler. Anastomoz sırasında bir sıra trombosit çıplak endoteli örter. Media tabakası ekspozе değilse ve lümen yaralanması yoksa bu trombositler yavaşça kaybolurlar. Trombositler damar lümeni içerisindeki ekspozе sütürlere karşı çok az afinite gösterirler. Bir anastomoz bölgesinde trombüs formasyonu için kritik zaman ilk 3-5 gündür.

Endotelyal rejenerasyon mekanizması subendotelyal yapılarda mekanik yaralanma olup olmamasına bağlıdır. Sadece endotelyal hasar varsa rejenerasyon çevre dokulardan

olmakta ve 7-10 günde tamamlanmaktadır. Elastik ve musküler tabakalardaki rejenerasyon endoteldeki kadar olmaz.

Küçük damarlardaki dessikasyon, endotelial tabakanın tamamen kaybına ve diffüz trombosit agregasyonuna neden olur. Bu nedenle ekspoze damarlar nemli tutulmalıdır. Uzun süreli vazospazm da endotelial ayrılmaya neden olur. Xylocain' in optimum spazmolitik ve antispazmotik etkisi en iyi % 20 konsantrasyonda görülür.

Mikrovasküler klipslere bağlı endotelial hasar klips basıncına bağlıdır. Eğri ve açık klipsler düz klipslere göre daha çok hasara neden olurlar. Damar hasarı oluşturmamak için klips basıncı 30 gr/mm²'den düşük olmalıdır.

Damar duvarındaki en belirgin hasar kullanılan iğne ile sütür tekniğine bağlı oluşur. Büyük iğne ve damar duvarından oblik geçilmesi major endotelial laserasyona, subendotelin ekspoze olmasına ve trombosit agregasyonunun indüklenmesine neden olur. Sütürler arasında eşit mesafe olmaması andotelial gap' e, distorsiyona ve konstriksiyona neden olur. Gevşek bağlanan sütürler subendotelial elemanların kan akımı ile temasına aşırı anastomotik kanamaya ve trombosit plaklarının oluşumuna neden olur.

Mikrovasküler anastomozların başarısız olmasının en önemli nedeni anastomozun yaralanma zonu ve içinde yapılmış olmasıdır. Diğer önemli bir neden de anastomoz bölgesinin hematoma bağlı kompresyon altında kalmasıdır.

Mikrovasküler cerrahi sırasında vazospazmın önlenmesi için topikal lidokain kullanılır.

2.9.2. Pıhtılaşma Mekanizması

Trombositler hasar görmemiş intimaya yapışmazlar. Ancak ekspoze olan kollajen trombosit agregasyonunu tetikler. Trombositler aktive olduktan sonra degranüle olurlar ve böylece daha çok trombositin bölgeye gelmesini sağlarlar. Buna agregasyon denir. Aktive olan trombositler fibrinojenden fibrin dönüşümünü sağlar.. Trombositler alfa ve densa granülleri içerirler. Alfa granüller; von Willebrand faktörü ve fibrinojen içerirler. Densa granüller; ADP, Ca ve serotonin içerirler.

Pıhtılaşma mekanizmasının pek çok basamağı farmakolojik olarak manipüle edilerek trombosit agregasyonu önlenebilir. Heparin; antitrombin-3 aktivitesini artırarak trombini inaktive eder. Trombosit adezyonunu azaltmakta; fibrinojenin fibrine dönüşmesine de engel olmaktadır.

Bir selektif tromboksan sentetaz ve trombosit agregasyon inhibitörü olan dazmagrel ile yapılan tedavilerde anastomoz patensinde sınırlı bir başarı elde edilmiştir. Bu da trombosit agregasyonu olmadan da fibrin trombus oluşturabildiğini göstermektedir.

Heparin serbest fleplerde devamlı infüzyon şeklinde verilmektedir. Bazı araştırmacılar komplikasyon gelişmemiş vakalarda heparinin anastomoz patensi üzerinde etkili olmadığını, üstelik kanama riskini artırdığını savunurlar.

İntraoperatif olarak 0,1 mm dozda (325 mg'lık tablete karşılık geliyor.) verildiğinde aspirinin anastomoz bölgesinde trombosit agregasyonunun başlamasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkisini endotelial siklooksijenaz yolundaki tromboksan-A₂'yi bloke ederek göstermektedir. Aspirin çok düşük dozlarda bile potent bir vazodilatatör ve trombosit inhibitörü olan prostasiklin salınımını inhibe etmektedir. Ancak prostasiklinin kendisi topikal bir ajan olarak kullanıldığında etkili değildir.

Dekstran 40000 (dekstran-40) ve 70000 (dekstran-70) molekül ağırlığına sahip bir polisakkarittir. Önceleri bir volüm genişletici olarak kullanılmış. Daha sonra antitrombosit ve antifibrin etkisi olduğu da görülmüş. Dekstranın trombosit adezyonunu azaltıcı etkisi iki mekanizma ile açıklanmaktadır: Trombosit yüzeyindeki **negatif elektrik yükünü** artırarak; trombosit agregasyonuna ve damar duvarındaki kollajene yapışmayı kolaylaştıran **von Willebrand faktörünü** inaktive ederek gösterir.

Streptokinaz ve ürokinaz gibi proteolitik enzimlerin tromboze damarlarda bir litik ajan olarak kullanımları denenmiş ve özellikle travmatize damarlarda mikrovasküler trombozun önlenmesinde etkili oldukları saptanmış. **Streptokinaz** (C grubu beta hemolitik streptokoklar) ve **ürokinaz** (insan böbrek hücreleri) her ikisi de plazminojeni spesifik fibrinolitik bir enzim olan plazmine dönüştürürler.

Tissue plazminojen aktivatör (Tpa) insan vasküler endotel hücrelerinde sentezlenir ve plazminojeni aktive ederek plazmine dönüşümünü sağlar.

2.9.3. Hipoksi ve İskemiye Dokuların Yanıtı

Deri ve subkutan dokular, anoksiye karşı rölatif olarak direçlidirler; intraselüler pH değişiklikleri 24h kadar reversibldir. Deri ve subkutan dokularda sıcak iskemi süresi 6 saat, soğuk iskemi süresi 12 saat, kas dokusunda 3 saat ve 8 saattir. Fibroblast, kondroblast ve osteoblasttan zengin konnektif dokular rölatif olarak iskemiye direçlidirler. Periferik

sinirlerde iskemiye en duyarlı bölge nöromüsküler bölgelerdir. Soğutma, tüm dokularda iskemiye toleransı artırır.

2.9.4. No-Reflow Etkisi

Bazı organlarda iskemiden sonra anastomoz yapılmasına rağmen reperfüzyon başlamaz. Buna 'no-reflow fenomeni' denir. Vasküler endoteldeki hücrelerin şişmesi, intravasküler trombosit agregasyonu ve intravasküler sıvının interstisiyel bölüme sızması neden olarak gösterilmektedir. Bu hipotez klinik gözlemlerle de uyumludur. Anastomoz sağlandıktan sonra mükemmel olan kan akımı daha sonra yavaşlar ve düşük akım intravasküler tromboz ve flep iskemisine neden olur. Fibrinolitik aktivite ile sıcak iskemi süresi arasında ters orantı vardır. Sıcak iskemi süresi arttıkça fibrinolitik aktivite azalır. Fibrinolitikteki en büyük azalma sıcak iskeminin 0-6. saatleri arasında olur.

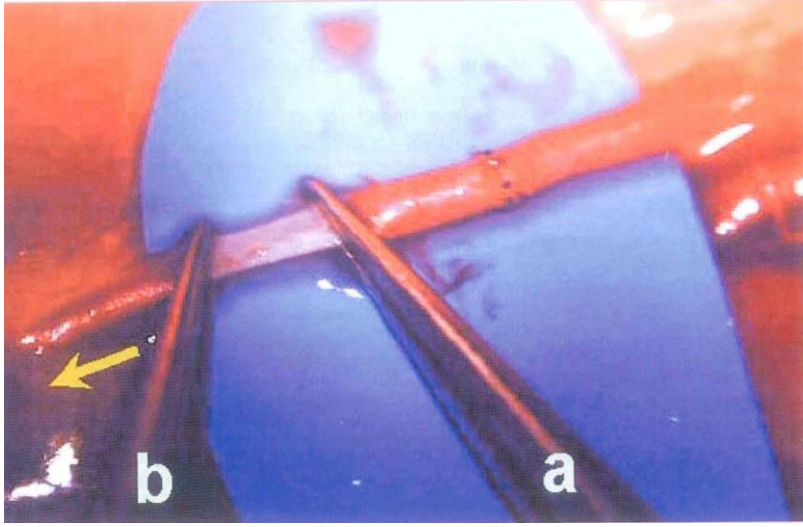
Mikrovasküler anastomozun başarısız olmasının en önemli nedeni endotelial hasardır. Bu hasar subendotelial kollajenin ekspozit olmasına ve trombositlerin buraya yapışmasına neden olur. Yapışan trombositler yeterince büyük bir kitle oluşturunca fibrin depolanmasına neden olur. Bu da vazospazm, stenoz ve damarın trombozuna neden olur. Anastomoz bölgesindeki akım miktarı kritik düzeyin altına düştüğü zaman ise flep başarısız olur.

2.9.5. İntimal Hasar Oluşturarak Anastomotik Tromboz Riskini Artıran Faktörler

Damarın kaba disseksiyonu, damarların kuruması, damara yakın koter kullanımı, uzamış vazospazm, 30 gr\mm²'den daha yüksek basınçlı vasküler klips uygulaması, büyük iğne kullanımı, tekrarlayan iğne darbeleri, parsiyel kalınlıkta geçilen sütürler, sütürlerin eşit aralıklarda olmaması, gevşek sütür, aşırı derecede gergin sütür, çok sayıda sütür atılması, sütür hattında gerginlik.

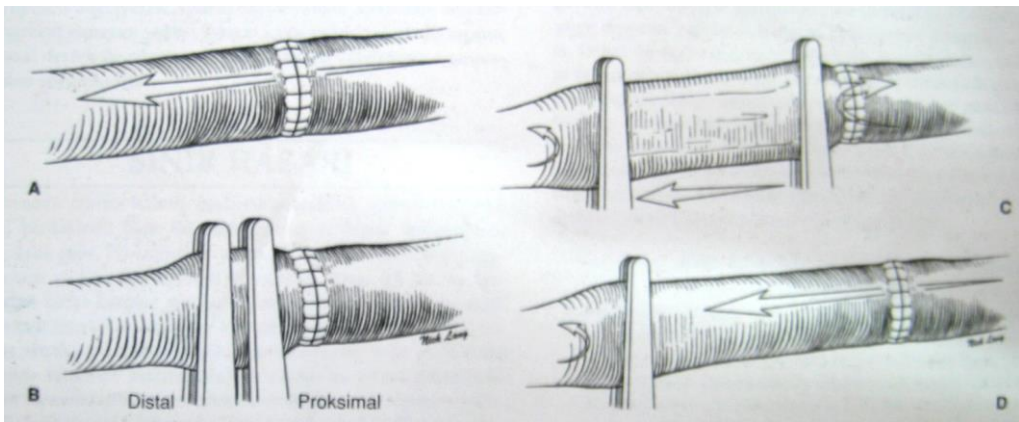
2.9.6. Acland Testi

Anastomoz boyunca vasküler antegrad kan akımını doğrulamak için uygulanan manevradır **Resim 2.1.** ve **Şekil 2.11.**



Resim 2.1. Acland Testi ve Uygulanması

Anastomozdan geçen kan akımından emin olunamadığında başvurulan 'sağma testi' travmatik bir işlemdir. Kan akımı yönüne göre anastomozun birkaç milimetre aşağısından 'a' penseti ile kan akımı kesilir. 'b' penseti ile 'a' pensetinin hemen aşağısından damarı kavrayıp lümendeki kanı aşağı yönde boşaltacak şekilde sağlar. 7-8 mm' lik bir damar segmentini sağarak boşalttıktan sonra 'b' penseti aşağı yönden gelen kan akımını engelleyecek kadar bir basınçla tutulur. Şimdi iki penset arasında lümeni boş bir damar segmenti bulunmaktadır. Artık 'a' penseti açılıp anastomoz yönünden gelen kanın boş lümeni doldurması izlenir. 'a' penseti açıldığında lümen hemen doluyor ve damar çeperi geriliyorsa anastomozdan normal akım geçiyordur. Lümen hiç dolmuyor yada çok yavaş ve isteksiz doluyorsa anastomozdan geçişte bir sorun olduğu düşünülmelidir (38).



Şekil 2.11. Acland Testi

2.9.7. Vasküler Anastomoz Komplikasyonları ve Başarısızlık

a-hastaya ait faktörler; temel arter hastalığı, enfeksiyon, sigara, HT, iyileşme komplikasyonları (hematom, seroma)

b-materyal faktörler; greft defekti, sütür bozulması, protez greft-arterial duvar uyuşmazlığı

c-teknik faktörler; yetersiz sütür, aşırı gerilim, eklem hareketi, endarterektomi, kötü planlama, yaralanma bölgesine anastomoz yapılması, pedikül üzerine eksternal bası, hematoma, torsiyon.

d-farmakoterapi; mikrovasküler cerrahide sağlanacak başarıya katkıda bulunması amacıyla preoperatif, operatif ve postoperatif dönemlerde tromboz gelişimini önlemeye yönelik profilaktik ve terapötik çok çeşitli ajanlar kullanılmıştır.

e-anastomoz hattında kanama; iğne deliğinde kanama ve sütür hattında kanama olabilir. Mikrocerrahide kanama vasküler pedikül etrafında, damarlara bası yapacağından dolayı istenmez. Diffüz kanamaya lokal fibrinolitik aktivitenin artması neden olabilir (39). Kanama zamanı; anastomoz alanından klempler kaldırıldıktan sonra kronometre ile kaçağın ne kadar sürdüğü kaydedilerek tespit edilir (40).

f-anastomoz hattında psödoanevrizma; nadir bir komplikasyondur. Rüptüre olup kanamaya neden olabilir. Postop ilk haftada görülür. Sıklıkla postop 9. ve 18. günler arasında görülür. İnsidansı bilinmiyor. Anevrizma rezekt edilip ya primer yada greft ile onarılmalıdır.

g-anastomoz hattında trombus; insidansı, %3,2-15' dir. Arteriyel ve venöz trombozların görülme zamanı hakkında net bir görüş birliği oluşmamıştır. Tedavi; anastomoz hattının eksizyon ve revizyonu, kateter trombektomi ve farmakolojik trombolizis.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Standart Hazırlık

Bu çalışma 14.11.2012 tarih ve 2012/35 protokol no' lu etik kurul kararı ile Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Cerrahi Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan ratlar bu merkezden temin edildi. Ratların izlemi, ratlara yapılan tüm girişimler yine bu merkezde gerçekleştirildi. Çalışmamızda 30 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Ortalama ağırlıkları 350-400 gram idi. Ratların bakımı ve beslenmesi merkez çalışanları tarafından sağlandı. Deneyde kullanılan cerrahi aletler, malzemeler ve ilaçlar **Tablo 3.1.**'de gösterilmiştir.

Denekler 21 ± 1 °C ısıda, 12 saat karartılıp 12 saat aydınlatılan ve % 50-60 oranında nemlendirilen bir ortamda tutuldular. Deney gününe kadar sıçanların beslenmesinde standart pellet yem ve şehir içme suyu kullanıldı.

Tablo 3.1. Deneyde Kullanılan Cerrahi Aletler, Malzemeler ve İlaçlar

- Portegü, Penset, Doku Makası, Ekartör, İp Makası	- Inami Deca – 21 Operation Microscope
- Mikro Portegü, Mikro Penset, Eğri Uçlu Mikro Penset Mikro Makas, Mikro Disseksiyon Makası, Dilatatör, Buldog, Aproksimatör	- Ketamin (Ketamin Hidroklorid), Rompun (Xylazine Hidroklorid)
- 4/0 Prolen, 10/0 Ethilon	- Serum Fizyolojik, Betadin Solüsyon(Povidon-iyod)
- Cerrahi Eldiven, Marker, Furacyn Pomad	- Lokal Heparin (Heparine Sodique, Panpharma, 25000 U.I./5 ml), Enoxoparin (Enoxoparine Sodium, Clexane, 0,2 ml anti-Xa IU), Fondaparinux (Fondaparinux Sodium, Arixtra, 2,5 mg/0,5 ml)
- İnsülin Enjektörü, 5 cc' lik ve 10 cc' lik Enjektörler	
- Steril Delikli Yeşil	

3.2. Anestezi Yöntemi

İntramüsküler ketalar (Ketamin Hidroklorid 50 mg/kg) ve Rompun (Xylazine Hidroklorid 5mg/kg) kullanıldı. Her iki ajan da aynı enjektöre çekilerek intraperitoneal (İP) olarak verildi.

3.3. Deney Grupları

1 kontrol grubu ve 2 deney grubu olmak üzere toplam 3 grup mevcuttur. Her grupta 10' ar adet rat olmak üzere toplam 30 rat ile çalışıldı. **Tablo 3.2.**'de deney grupları belirtilmiştir.

Tablo 3.2. Deney Grupları

Gruplar	Sistemik Tedavi	Lokal tedavi	İlacın Veriliş Yolu
a-kontrol grubu (n:10)	yok	100 IU/ml heparin, intraoperatif uygulandı.	lokal
b-I. deney grubu (n:10)	günlük 150 IU/ml (0.5 mg/kg) enoxoparin, preoperatif 2 gün ve postoperatif 2 gün uygulandı.	yok	subkutan
c-II. deney grubu (n:10)	günlük 0,2 mg/kg fondaparinux, preoperatif 2 gün ve postoperatif 2 gün uygulandı..	yok	subkutan

Kontrol grubu (n: 10): 2 gün süre ile günlük 1 cc izotonik insülin enjektörü ile subkutan verilecektir. Trombüs modeli yapıldığı sırada 100 IU/ml lokal heparin solüsyonu ile irrije edilecektir. Trombüs modeli uygulandıktan sonra da 2 gün süre ile günlük 1 cc izotonik insülin enjektörü ile subkutan verilecektir.

1. deney grubu (n: 10): 2 gün süre ile günlük 150 IU/ml (0.5 mg/kg) enoxoparin subkutan verilecektir. Trombüs modeli uygulandıktan sonra da 2 gün süre ile günlük 150 IU/ml enoxoparin subkutan verilecektir.

2. deney grubu (n: 10): 2 gün süre ile günlük 0,2 mg/kg fondaparinux subkutan verilecektir. Trombüs modeli uygulandıktan sonra da 2 gün süre ile günlük 0,2 mg/kg fondaparinux subkutan verilecektir.

3.gün her üç gruba da damarsal tromboz modeli uygulanacaktır.

3.4. Deney Prosedürü (Hayvanlarda Yapılacak İşlemlerin Sırasıyla Tanımlanması)

İnguinalde femoral kılıfın açığa çıkartılması:

İntraperitoneal 50 mg/kg ketamin, 10 mg/kg xylazin ile anestezi yapıldı. Operasyon alanının temizliği sağlandı. Sıçan sırtüstü yatırılarak pozisyon verildi. Kasık bölgesinde inguinal ligamanın yeri belirlendi. Femoral damarlar palpe edildi. İnguinal yağ pedinin yeri belirlendi. Cilt insizyonunun yeri belirlendi ve işaretlendi. Cilt kesisi sırasında panniculus carnosus tabakası izlendi. İnguinal yağ pedinin infero-medial sınırı kaldırıldı. SİEA\V görüldü ve korundu. Yağ pedinin pediküllü flep şeklinde diseke edildi ve süperior yönde kaldırıldı. Addüktör kaslar üzerindeki fasya açılarak femoral damarlar ortaya çıkarıldı. Femoral arter, ven ve sinirin yeri belirlendi. Femoral kılıf künt makasla medialden laterale kesildi. Kılıf arter ve venden diseke edildi. Bu damar aksından çıkan dallar gösterilmeli (murphy dalı, SİEA\V, circumflex dal, kas dalları). Murphy dalı arter ve ven olarak ayrı ayrı bölündü. Açığa çıkarılan inguinal alan izotonik ile yıkanıp kurumasının engellenmesi sağlandı. Bu işlemler bilateral yapılarak sağ femoral arter üzerinden ve sol femoral ven üzerinden trombüs modeli uygulandı. Operasyon alanındaki kas ve deri ayrı ayrı kapatıldı.

Resim 3.1-12.'de ve Şekil 3.1-2.'de deneyim tüm aşamaları resmedilmiş ve şekiilendirilmiştir.



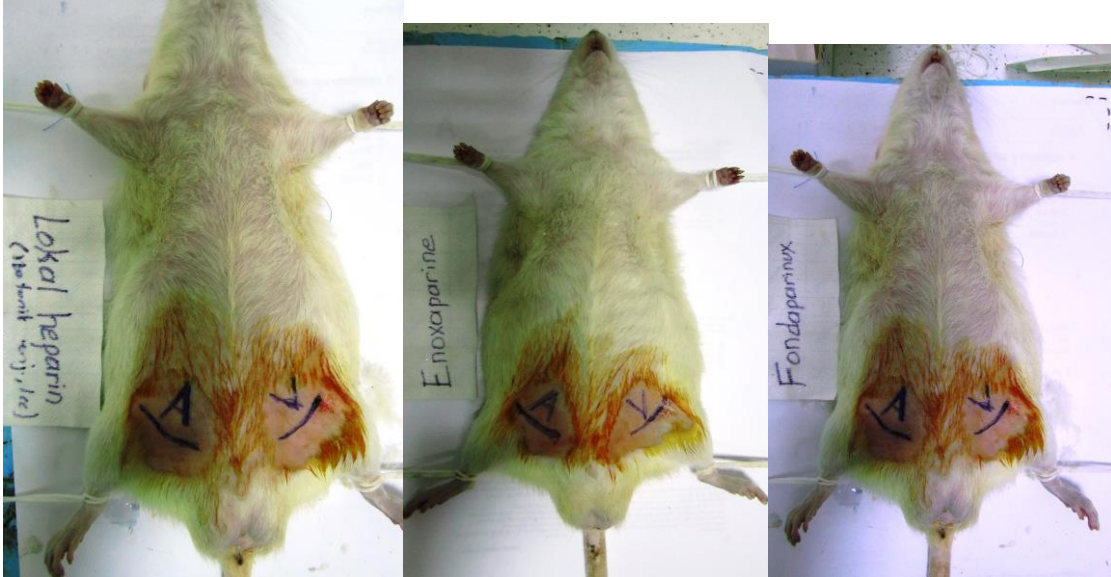
Resim 3.1. Deneysel Tromboz Modeli İçin Uygulanan İlaçlar



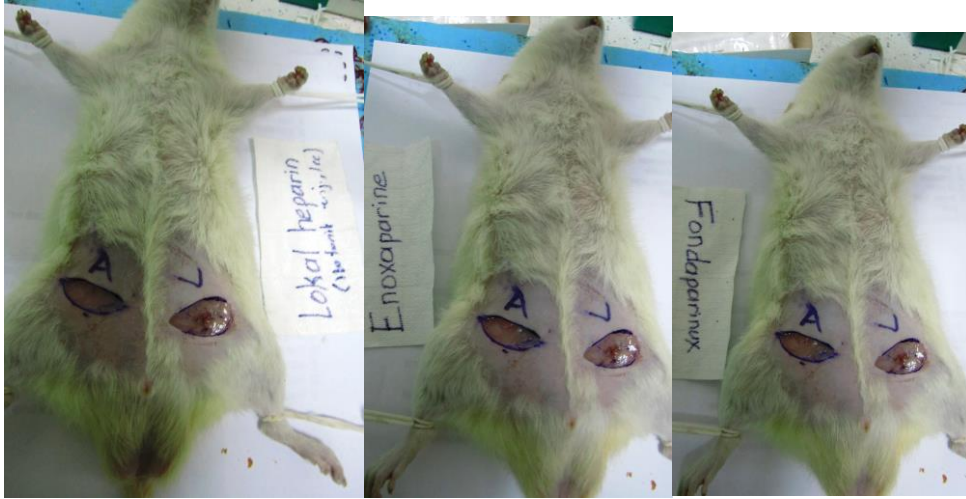
Resim 3.2. Preop ve Postop İlaçların Uygulanması



Resim 3.3. Operasyon Mikroskobu ve Sütür Materyali



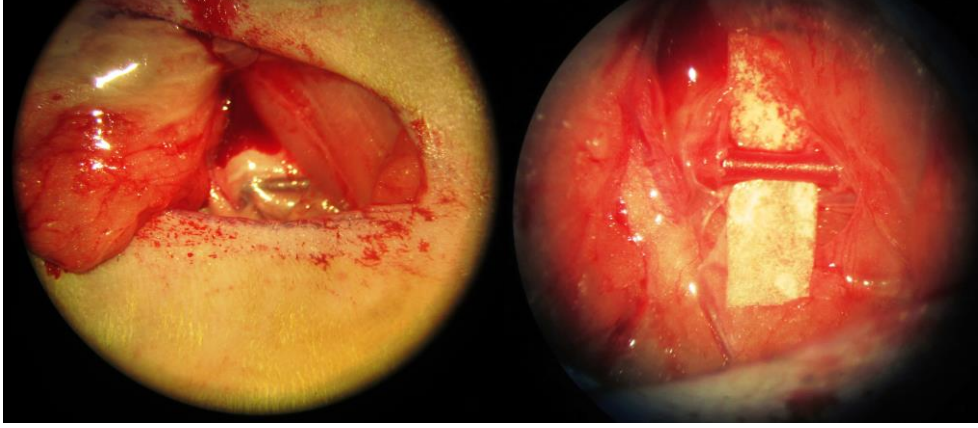
Resim 3.4. Sağ Femoral Arter ve Sol Femoral Ven İçin Operasyon Alanının Belirlenmesi ve İşaretlenmesi



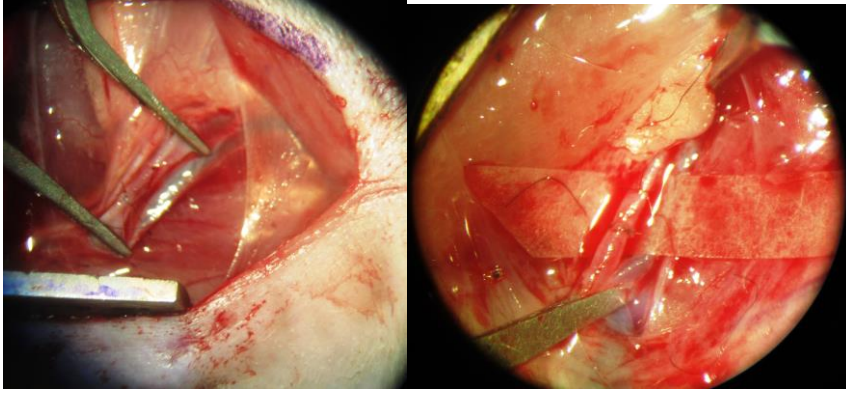
Resim 3.5. Cilt İnsizyonlarının Yapılması



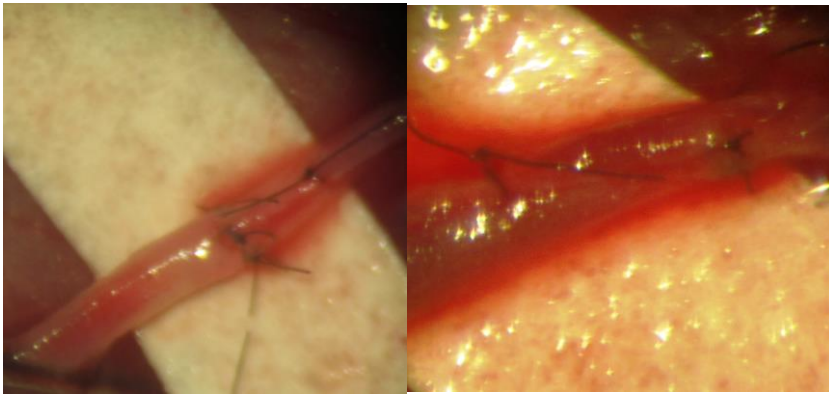
Resim 3.6. Femoral Fat Pad'inin Kaldırılması



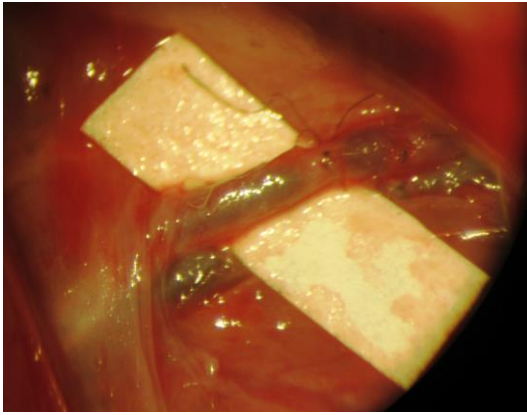
Resim 3.7. Vasküler Yapının Açığa Çıkarılıp Artakalan Tahtasının Yerleştirilmesi



Resim 3.8. Tromboz Modelinin Uygulanması



Resim 3.9. Patent Vasküler Yapılar



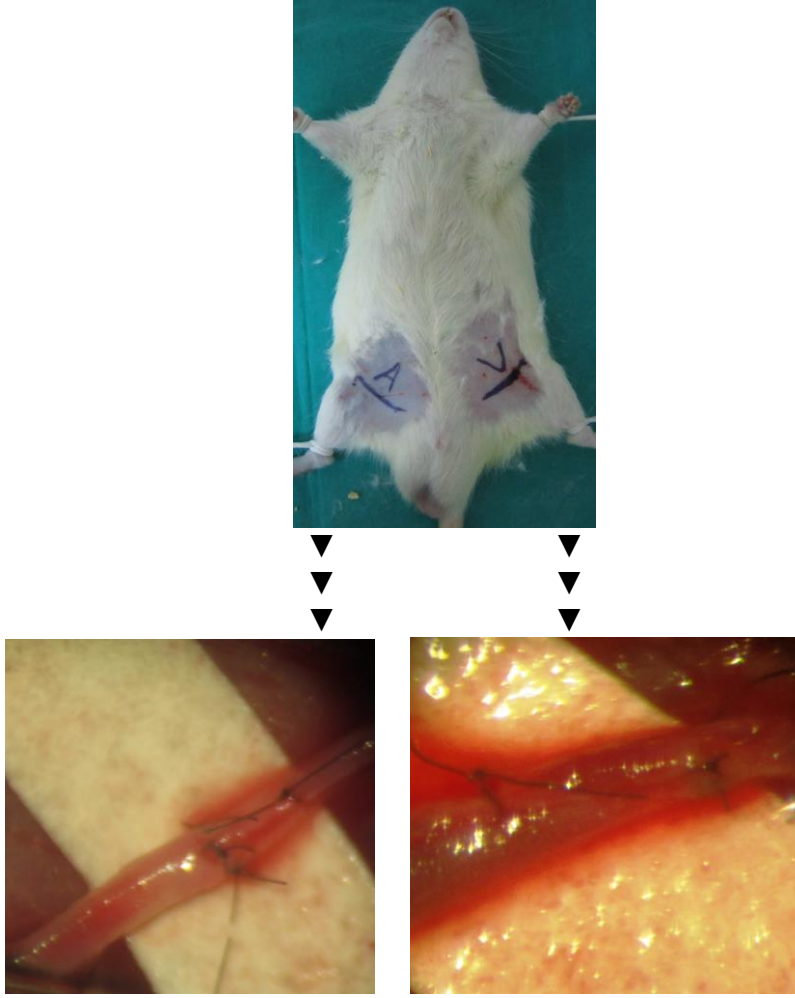
Resim 3.10. Tromboze Vasküler Yapı



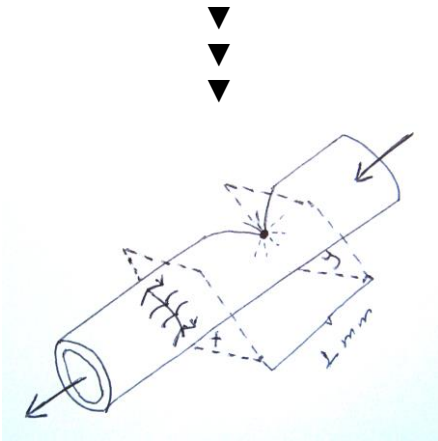
Resim 3.11. Cilt İnsizyonunun Kapatılması

3.5. Vasküler Tromboz Modeli

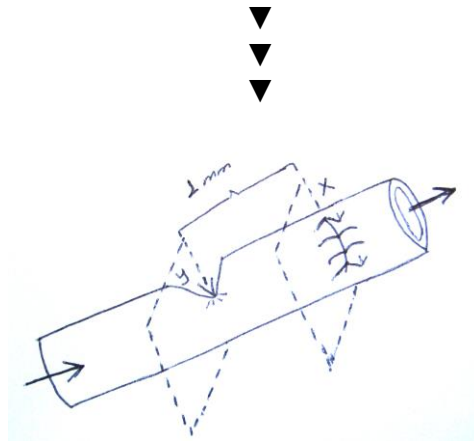
Damar çevresinin 1/3'ünü içeren arteriotomi açıldı. 0,5 ml test solüsyonu ile 10 dakika irrigate edildi. 4 adet suture ile damar onarıldı. Ortadaki 2 suture ile proksimal damar ağzı damar lümenine invert edildi. Anastomozun 1 mm proksimaline (yukarısına) lümeni % 50 daraltan transfixasyon suture konuldu. Minimal vazospazmı çözmek için bir damla lidokain (10 mg/ml) suture damar segmentine damlatıldı. Tüm cerrahi prosedürler tek bir cerrah tarafından aynı mikroskop ile yapıldı. Lokal heparin 100 U/ml şeklinde uygulandı. Vasküler tromboz modeli sağda femoral artere, solda femoral vene uygulandı (1,17,41,42,43,44,45,46,47,48).



Resim 3.12. Sağ Femoral Arter ve Sol Femoral Vene Vasküler Tromboz Modeli



Şekil 3.1. Sağ Femoral Arter Trombüs Modeli



Şekil 3.2. Sol Femoral Vene Trombüs Modeli

x: Damar çevresinin 1/3' ünü içeren arteriotomi açıldı. 4 adet sütür ile damar onarıldı. Ortadaki 2 sütür ile proksimal damar ağzı damar lümenine invert edildi.

y: Anastomozun 1 mm proksimaline (yukarısına) lümeni % 50 daraltan transfiksasyon sütürü konuldu.

3.6. Acland Testi ile Değerlendirme

Damarsal tromboz modeli uygulandıktan 20 dakika sonra ve operasyon sonrası 72. saatte acland testi ile vasküler patensleri ve anastomoz hattındaki kanama değerlendirilecektir. Lümen hiç dolmuyor yada çok yavaş ve isteksiz doluyorsa anastomozdan geçişte bir sorun olduğu düşünülmelidir. Bu durumda acland negatif olarak değerlendirildi. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.7. Kan Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Operasyon sonrası 1. saat sonunda alınan kan örneğinde; platelet, hemoglobin, PT, aPTT, INR ve fibrinojene bakıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.8. Histopatolojik Değerlendirme

Operasyondan 72. saat sonra ötenazi uygulanarak çalışmanın deneysel aşaması sonlandırıldı. Operasyon sonrası 72. saatte deney ve kontrol gruplarına histopatolojik değerlendirme için femoral arter ve venden anastomoz hattını içeren 1 cm' lik doku örnekleri alındı ve %10 formaldehit solusyonunda saklandı. Histopatolojik boyama Hematoksilin eozin (H&E) ile yapılarak ışık mikroskobunda değerlendirildi. Histopatolojik olarak; İntimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlara bakıldı. Arter ve ven lümenlerindeki trombüs formasyonları, oklüze olup olmadıkları değerlendirildi. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Acland testi sonuçları, kan değeri sonuçları ve histopatolojik sonuçlar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Lokal heparin grubu (1), enoksaparin grubu (2), fondaparinuks grubu (3) olarak tanımlandı.

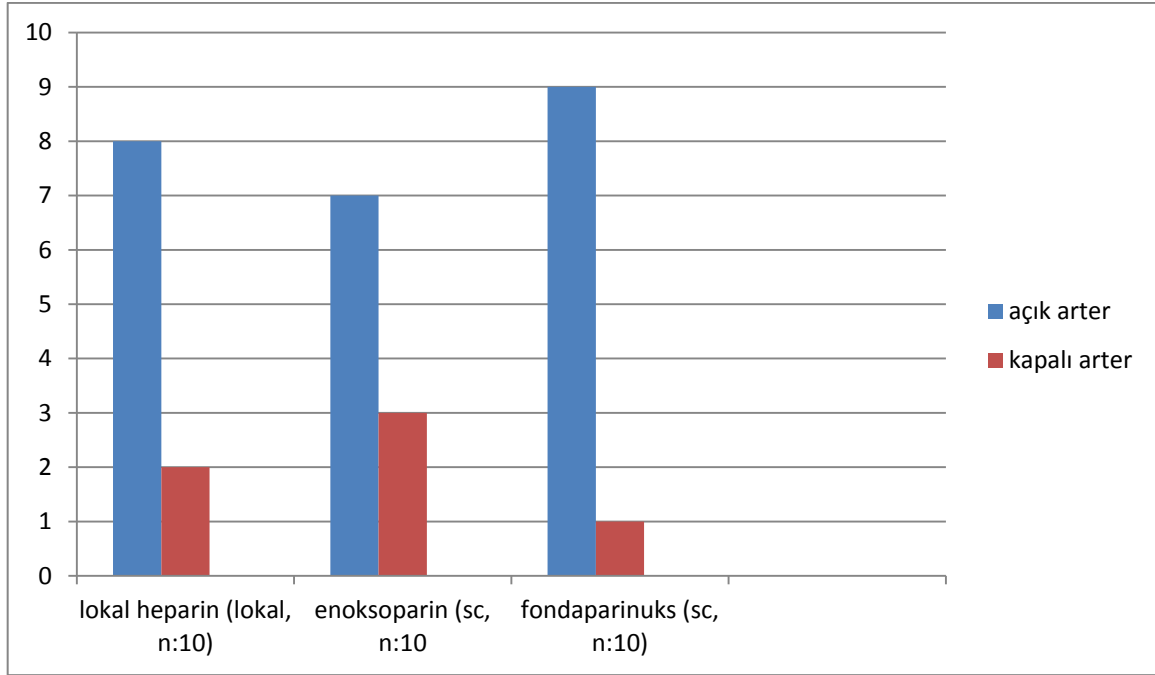
4. BULGULAR

Deneysel çalışma ile elde edilen 20. dakika ve 72. saat acland testi sonuçları, operasyondan 1 saat sonra elde edilen kan değeri sonuçları ve deneysel çalışmanın sonunda alınan trombüs modelinin uygulandığı vasküler dokuların histopatolojik sonuçları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Arter ve venlerde intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar ile gruplardaki perivasküler kanama ve hematoma değerlendirildi. Elde edilen tüm sonuçlar yorumlandı.

4.1. Acland Testi Sonuçları ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

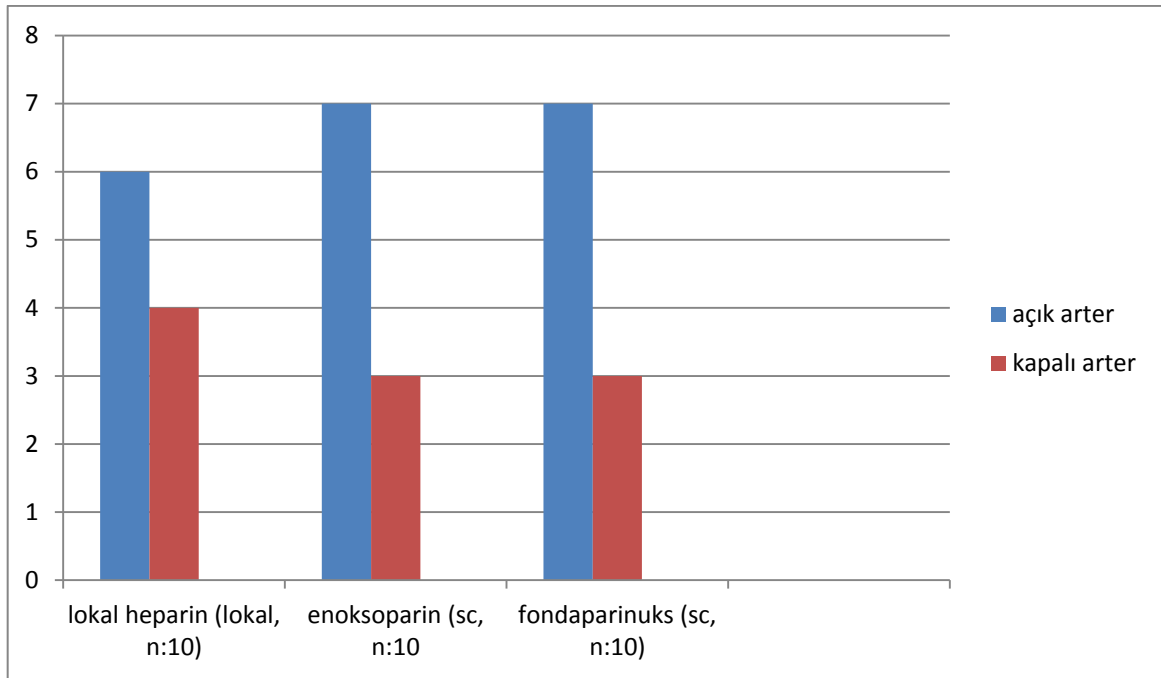
Postop 20 dakika ve 72. saatte hiç kan akımı olmayan veya çok zayıf arteriyel ve venöz dolum gösteren olgular tromboze olarak kabul edilmiştir. Bazı verilerde p değeri alınamadı. Beklenen değer 5' in altında olduğu göz sayısı % 20' den büyük olduğu için çok gözlü düzende Ki-kare testinde istatistiksel olarak p değeri verilemez.

Rat femoral arterine trombüs modeli uygulandıktan **20 dakika** sonra acland testi ile vasküler patensleri **şekil 4.1.** de karşılaştırıldı. Postoperatif 20 dakika sonra lokal heparin uygulanan grupta patent/rat oranı 8/10 (%80); enoksoparin uygulanan grupta patent/rat oranı 7/10 (%70) ve fondaparinuxs uygulanan grupta patent/rat oranı 9/10 (%90) olarak belirlendi. Postoperatif 20 dakika sonra acland testi ile rat femoral arterinin patent olmasında fondaparinuxs bir miktar anlamlı görülmüştür.



Şekil 4.1. Trombüs Modeli Uygulanan Arterlerdeki Postop 20. Dakika Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları

Rat femoral arterine trombüs modeli uygulandıktan **72 saat** sonra aklad testi ile vasküler patensleri **Şekil 4.2.** de yeniden karşılaştırıldı. Postoperatif 72 saat sonra lokal heparin uygulanan grupta patent/rat oranı 6/10 (%60); enoksoparin uygulanan grupta patent/rat oranı 7/10 (%70) ve fondaparinux uygulanan grupta patent/rat oranı 7/10 (%70) olarak belirlendi. Postoperatif 72 saat sonra aklad testi ile rat femoral arterin patent olmasında enoksoparin ve fondaparinux aynı etkiyi göstermiş olup lokal heparin uygulanan gruba nazaran bir miktar anlamlı bulunmuştur.



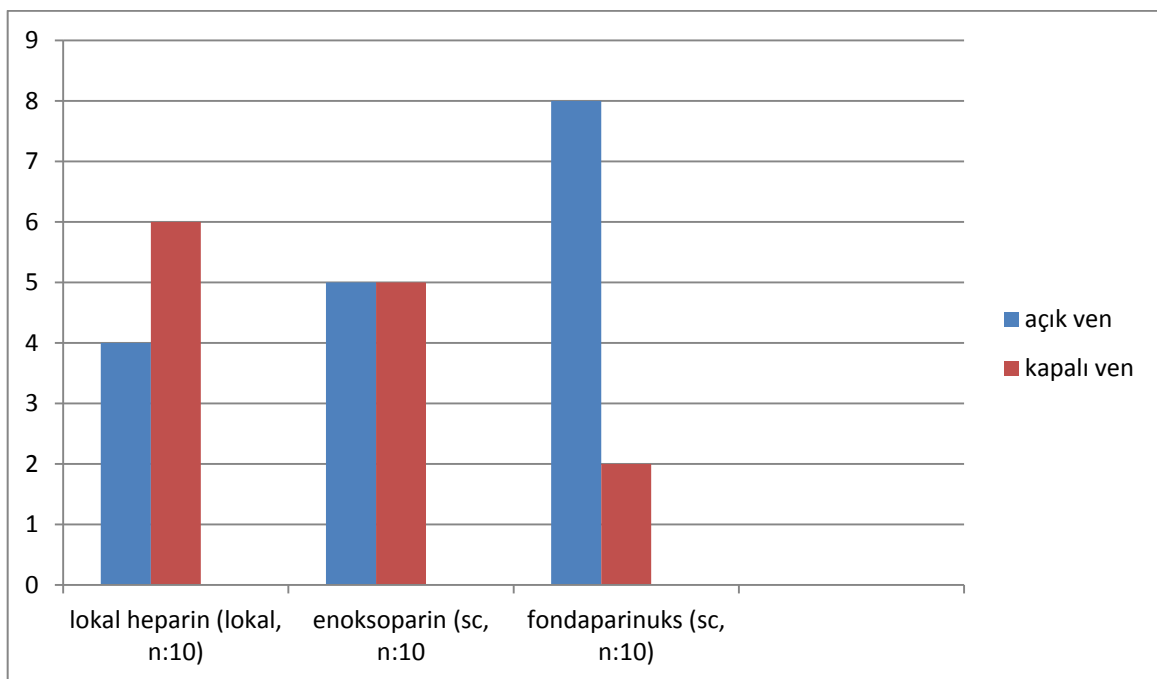
Şekil 4.2. Trombüs Modeli Uygulanan Arterlerdeki Postop 72. Saat Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları

Lokal heparin uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra patent olan 8 rat femoral arterinden 2'si postoperatif 72 saat sonra tromboze olmuştur. Enoksoparin uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra ve postoperatif 72 saat sonra patent ve tromboz oranları aynı kalmıştır. Fondaparinux uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra patent olan 9 rat femoral arterinden 2' si postoperatif 72 saat sonra tromboze olmuştur.

Sonuç olarak görülmüştürki; postoperatif 72 saat sonra aklad testi ile rat femoral arterin patent olmasında enoksoparin ve fondaparinux aynı etkiyi göstermiş olup lokal heparin uygulanan gruba nazaran bir miktar anlamlı bulunmuştur. Enoksoparinin, postoperatif 20. dakikada patent olan arterlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür

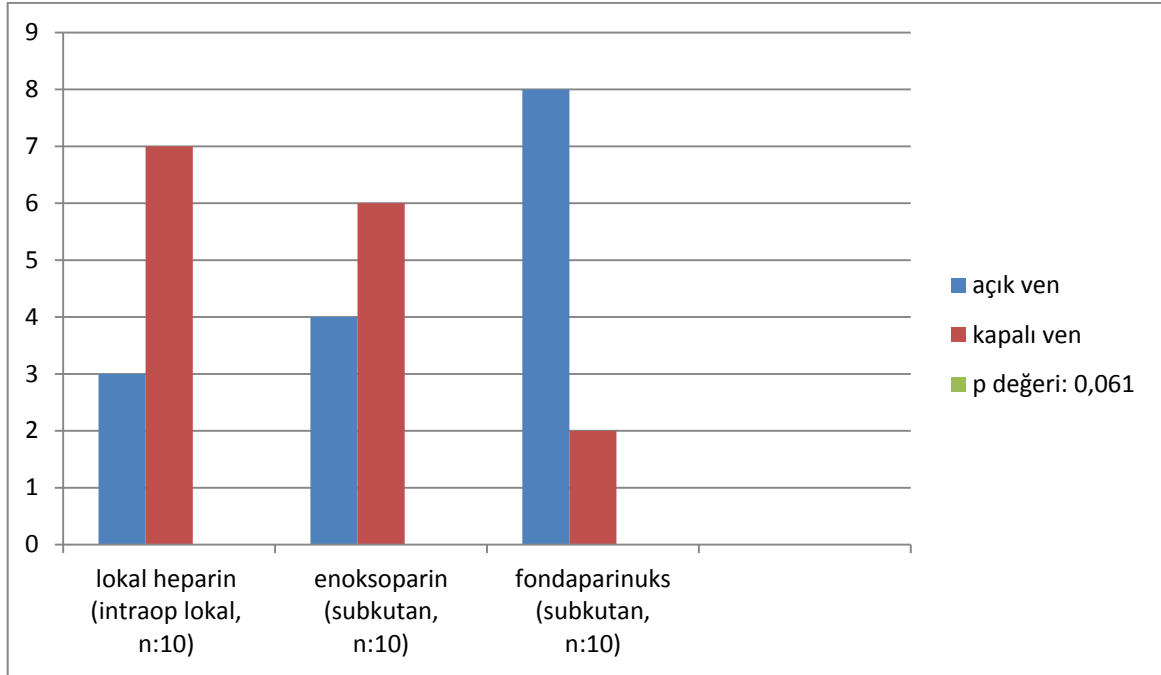
Rat femoral arteri istatistiksel sonuçları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak hem gruplar arasında hem de postoperatif 20. dakika ve 72. saatler arasında anlamlı fark bulunmadı.

Rat femoral venine trombüs modeli uygulandıktan **20 dakika** sonra aklad testi ile vasküler patensleri **şekil 4.3.** te değerdendirildi. Postoperatif 20 dakika sonra lokal heparin uygulanan grupta patent/rat oranı 4/10 (%40); enoksoparin uygulanan grupta patent/rat oranı 5/10 (%50) ve fondaparinuks uygulanan grupta patent/rat oranı 8/10 (%80) olarak belirlendi. Postoperatif 20 dakika sonra aklad testi ile rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir.



Şekil 4.3. Trombüs Modeli Uygulanan Venlerdeki Postop 20. Dakika Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları

Rat femoral venine trombüs modeli uygulandıktan **72 saat** sonra aklad testi ile vasküler patensleri **şekil 4.4.** te yeniden değerdendirildi. Postoperatif 72 saat sonra lokal heparin uygulanan grupta patent/rat oranı 3/10 (%30); enoksoparin uygulanan grupta patent/rat oranı 4/10 (%40) ve fondaparinuks uygulanan grupta patent/rat oranı 8/10 (%80) olarak belirlendi. Postoperatif 72 saat sonra aklad testi ile rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir.



Şekil 4.4. Trombüs Modeli Uygulanan Venlerdeki Postop 72. Saat Vasküler Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları

P değeri **0,061** olup 0,05'den büyük olduğu için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Lokal heparin uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra patent olan 4 rat femoral veninden 1'si postoperatif 72 saat sonra tromboze olmuştur. Enoksoparin uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra patent olan 5 femoral veninden 1'isi postoperatif 72 saat sonra tromboze olmuştur. Fondaparinuks uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra ve postoperatif 72 saat sonra patent ve tromboz oranları aynı kalmıştır.

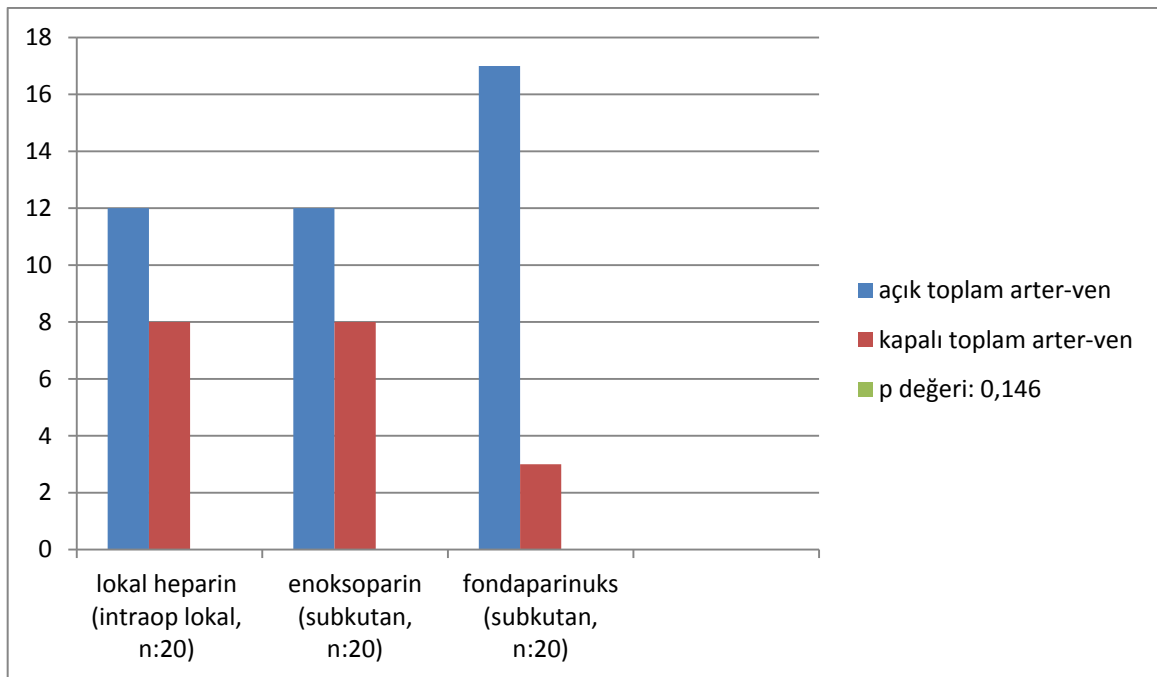
Sonuç olarak görülmüştürki; Postoperatif 72 saat sonra acland testi ile rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir. Fondaparinuksun, postoperatif 20. dakikada patent olan venlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür.

Rat femoral veni istatistiksel sonuçları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltmeli Mann-

Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak hem gruplar arasında hem de postoperatif 20. dakika ve 72. saatler arasında anlamlı fark bulunmadı.

Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuksun trombüs modeli uygulanan **tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı)** üzerine olan etkinlikleri aklad testi ile **postoperatif 20. dakikada** değerlendirilip **Şekil 4.5.** te karşılaştırıldı.

Lokal heparin uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patent/arter- ven toplam oranı 12/20 (%60); enoksoparin uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patent/arter-ven toplam oranı 12/20 (%60) ve fondaparinuks uygulanan grupta postoperatif 20 dakika sonra 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patent/arter- ven toplam oranı 17/20 (%85) olarak belirlendi. Postoperatif 20.dakikada aklad testi ile rat femoral arter ve veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin ve lokal heparin ise aynı sonucu vermiştir.



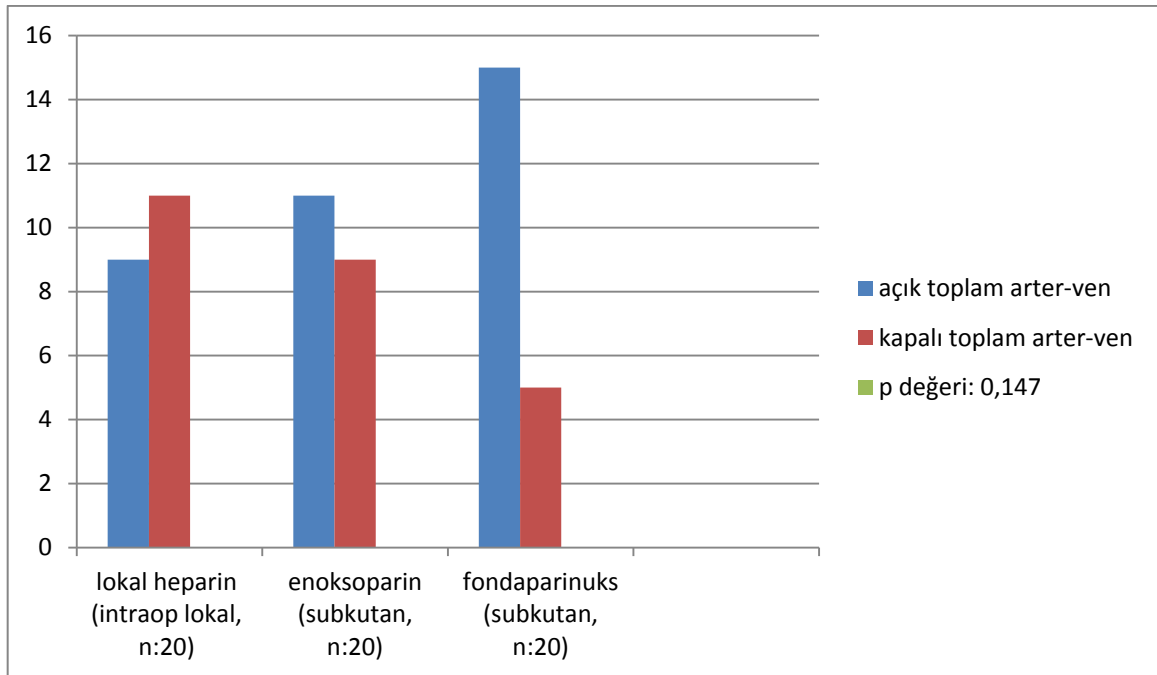
Şekil 4.5. Arter-Ven Toplam Lümenlerinin Postop 20. Dakikada Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları

P değeri **0,146** olup 0,05'den büyük olduğu için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Postoperatif 20. dakikada; tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı) üzerine olan sonuçlar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuxun trombüs modeli uygulanan **tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı)** üzerine olan etkinlikleri acland testi ile **postoperatif 72. saatte** değerlendirilip **şekil 4.6.** da karşılaştırıldı.

Lokal heparin uygulanan grupta postoperatif 72. saatte 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patent/arter- ven toplam oranı 9/20 (%45); enoksoparin uygulanan grupta postoperatif 72. saatte 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patent/arter- ven toplam oranı 11/20 (%55) ve fondaparinux uygulanan grupta postoperatif 72. saatte 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patent/arter- ven toplam oranı 15/20 (%75) olarak belirlendi. Postoperatif 72. saatte acland testi ile rat femoral arter ve veninin patent olmasında fondaparinux; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir.



Şekil 4.6. Arter-Ven Toplam Lümenlerinin Postop 72. Saatte Tromboze (Kapalı) ve Patent (Açık) Oranları

P değeri **0,147** olup 0,05' den büyük olduğu için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Postoperatif 72. saatte; tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı) üzerine olan sonuçlar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

4.2. Kan Sonuçları ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

Trombüs modeli uygulandıktan 1 saat sonra ratlardan alınan kan değerleri **Tablo 4.1. Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.** te karşılaştırıldı. Her üç gruptan da birer adet rattan kan alınmadı veya yetersiz alındı. Lokal heparin (n:9) uygulanan gruptaki PT, PTT ve INR değerleri diğer gruplardan yüksek bulundu. Enoksoparin (n:9) ve fondaparinux (n:9) gruplarının PT, PTT ve INR değerleri birbirlerine yakın bulundu. Fondaparinux grubunun HEMOGLOBİN değeri, lokal heparin grubundan bir miktar yüksek; lokal heparin grubunun hemoglobin değeri de enoksoparin grubundan bir miktar yüksek olarak bulundu.

Fakat gruplar arasında hemoglobin değerlerinin birbirlerine yakın olduğu görüldü. Enoksoparin ve fondaparinuxun TROMBOSİT değerleri birbirlerine yakın bulunup lokal heparin grubundan bir miktar yüksek bulundu. Fondaparinux grubunun FİBRİNOJEN değeri, enoksoparin ve lokal heparin gruplarından bir miktar yüksek bulundu. Enoksoparin grubunun fibrinojen değeri de lokal heparin grubundan bir miktar yüksek bulundu. Fakat her üç grubun da değerleri birbirlerine yakın olduğu belirlendi.

Rat kan değerleri istatistiksel sonuçları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Tablo 4.1. Lokal Heparin Kan Değerleri

n: 9	PT (saniye)	PTT (saniye)	INR	HGB (gr/dl)	PLT (uL)	FİBRİNOJEN (mg/dl)
Ortalama değer	23,656	21,522	2,5222	14,311	717555,56	524,56
Median değer	24,100	20,100	2,3000	14,400	722000,00	501,00
Standart sapma	3,5770	4,3104	,43191	,5947	177749,2	163,596
En düşük değer	19,0	15,0	1,72	13,4	381000	297
En yüksek değer	28,1	29,5	2,78	15,1	972000	811

Tablo 4.2. Enoksoparin Kan Değerleri

n: 9	PT (saniye)	PTT (saniye)	INR	HGB (gr/dl)	PLT (uL)	FİBRİNOJEN (mg/dl)
Ortalama değer	16,622	15,056	1,4422	13,322	875444,44	609,33
Median değer	16,600	14,600	1,4300	13,300	882000,00	605,00
Standart sapma	,9094	2,2001	,11278	1,4184	89088,595	77,803
En düşük değer	15,2	11,4	1,25	11,6	717000	523
En yüksek değer	17,8	19,1	1,56	15,1	981000	754

Tablo 4.3. Fondaparinuxs Kan Değerleri

n: 9	PT (saniye)	PTT (saniye)	INR	HGB (gr/dl)	PLT (uL)	FİBRİNOJEN (mg/dl)
Ortalama değer	16,933	15,556	1,4956	14,911	880888,89	611,78
Median değer	17,100	15,500	1,4600	14,900	890000,00	671,00
Standart sapma	2,0591	2,6373	,19951	,7339	119059,3	114,928
En düşük değer	14,0	11,3	1,20	13,8	678000	414
En yüksek değer	19,8	19,5	1,80	16,2	1086000	698

Kruskal-Wallis varyans analizi ile yapılan karşılaştırma sonucu; PT, PTT, INR, HEMOGLOBİN ve PLATELET'in p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. **Tablo 4.4.** te p değerleri görülmektedir. Bu nedenle PT, PTT, INR, HEMOGLOBİN ve PLATELET arasındaki karşılaştırma için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. P değeri **0,016'** dan küçük ise anlamlı kabul edildi.

Tablo 4.4. Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile Yapılan Karşılaştırma Sonucu

	PT	PTT	INR	HGB	PLT	FİBRİNOJEN
P değeri	,000	,001	,000	,029	,039	,237

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada lokal heparin ile enoksoparin grupları arasındaki PT (**p değeri: ,000**), PTT (**p değeri: ,001**), ve INR (**p değeri: ,000**) değerleri ve lokal heparin ile fondaparinuxs grupları arasındaki PT (**p değeri: ,001**), PTT (**p değeri: ,003**), ve INR (**p değeri: ,001**) değerleri anlamlı (**p değeri 0,016' dan küçük bulundu**) kabul edildi.

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada enoksoparin ile fondaparinuxs grupları arasındaki PT (**p değeri: ,565**), PTT (**p değeri: ,508**), ve INR (**p değeri: ,507**) p değerleri 0,016' dan büyük bulunmuştur.

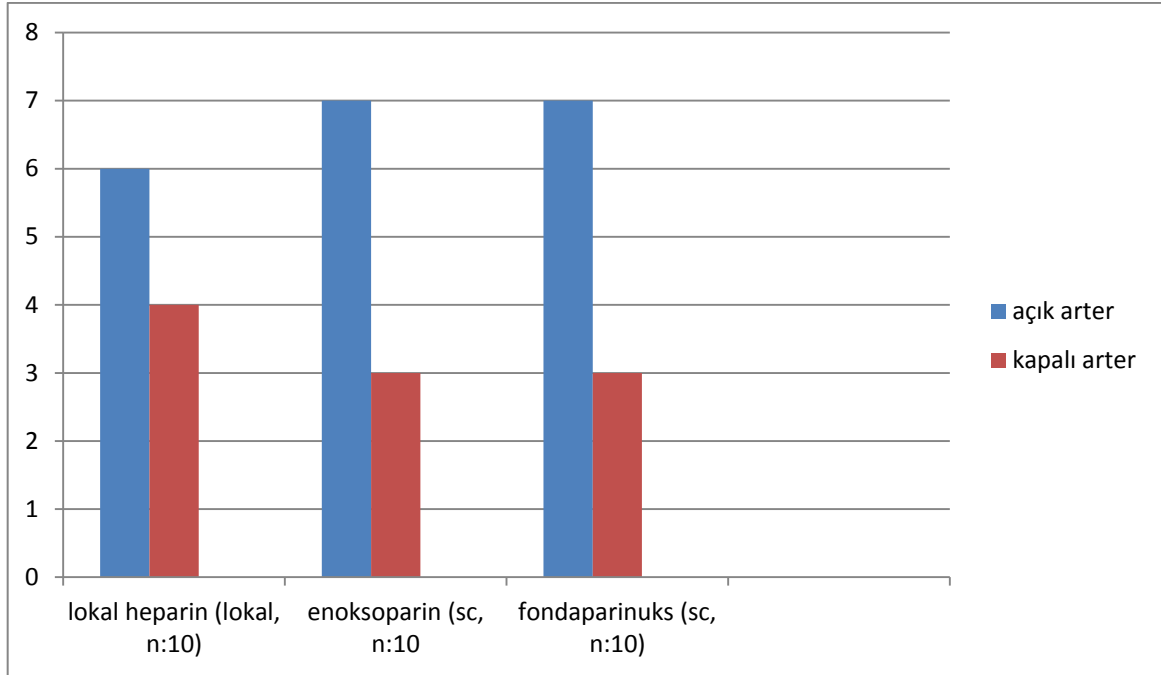
Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada lokal heparin ile enoksoparin grupları arasındaki platelet (**p değeri: 0,024**) değerinin p değeri 0,016' dan büyük olmasına rağmen sınırdan bulunmuştur. Bonferroni düzeltilmeli Mann-

Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada lokal heparin ile fondaparinuks grupları arasındaki hemoglobin (**p değeri: 0,077**) ve platelet (**p değeri: 0,034**) değerlerinin p değeri 0,016' dan büyük olmasına rağmen sınırdan bulunmuştur. Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada lokal heparin ile enoksoparin grupları arasındaki hemoglobin (**p değeri: 0,156**) p değeri 0,016' dan büyük bulunmuştur. Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada enoksoparin ile fondaparinuks grupları arasındaki hemoglobin (**p değeri: 0,019**) değerinin p değeri 0,016' dan büyük olmasına rağmen sınırdan bulunmuştur. Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapılan karşılaştırmada enoksoparin ile fondaparinuks grupları arasındaki platelet (**p değeri: 0,791**) p değeri 0,016' dan büyük bulunmuştur.

4.3. Histopatolojik Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

Deneklerin femoral arter ve venlerinden alınan anastomoz hattının temsil edildiği doku örnekleri %10 formaldehit solusyonunda tespit edilmiştir. Tespit edilen her vasküler yapıdan anastomoz hattını örnekleyen kesitler damarın uzun eksenine vertikal olarak bloklanmış ve alkol, ksilen, paraffin solüsyonlarından oluşan, 16 saat süren rutin doku takibine bırakılmıştır. Doku takip işleminin ardından dokular uygun yönde iplikli alana dik olarak parafine gömülmüş ve 5 mikron kalınlığında mikrotom cihazı ile boyasız kesitler alınmıştır. Her dokudan ikişer boyasız kesit hazırlanmıştır. Kesitlerden biri rutin ışık mikroskopik değerlendirme için hematoksilen eozin, diğeri ise histokimyasal yöntemle Alcian blue boyanarak hazırlanmıştır. Hazırlanan boyalı preparatlar ışık mikroskobu (Olympus BX51- ABD) ile damar duvar kalınlıkları, luminal obstrüksiyon oranları ve trombüs formasyonu açısından değerlendirildi.

Trombüs modeli uygulandıktan 72 saat sonra rat femoral **arterlerinden** alınan, trombüs modeli uygulanan segmenti içeren yaklaşık 0,5-1 cm' lik örnek patolojik olarak incelendi. Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuks uygulanan gruplar arasında lümenlerinin patent (açık) ve oklüzyon (kapalı) oranları **Şekil 4.7.** de karşılaştırıldı.



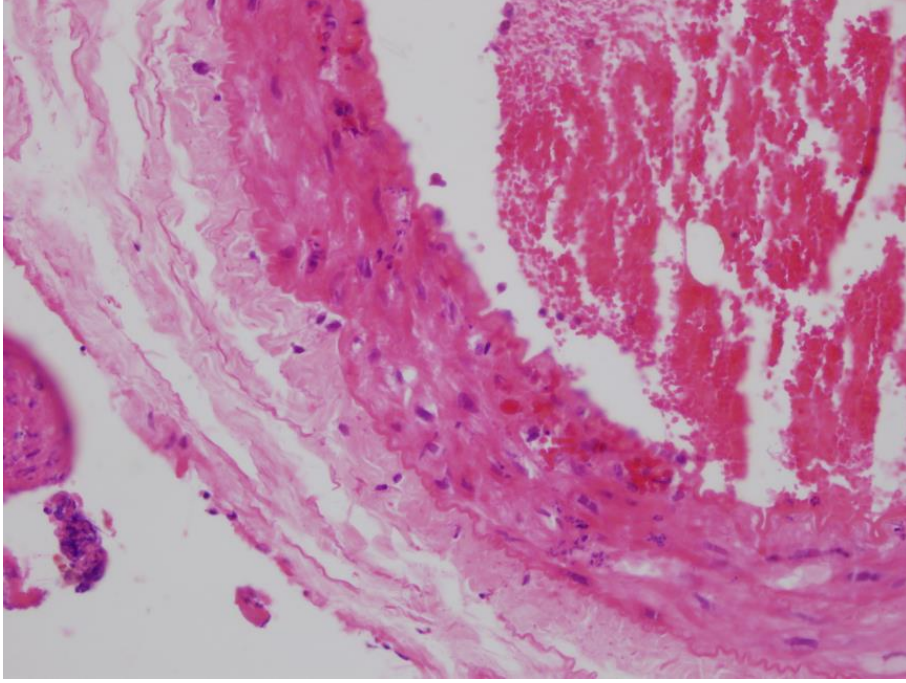
Şekil 4.7. Femoral Arter Lümenlerinin Patent (Açık) ve Oklüzyon (Kapalı) Oranları

Rat femoral arterine lokal heparin uygulanan 10 adet ratta patolojik değerlendirme sonucu patent / rat oranı 6/10 (%60) olarak belirlendi. Rat femoral arterine enoksoparin uygulanan 10 adet ratta patolojik değerlendirme sonucu patent / rat oranı 7/10 (%70) olarak belirlendi. Rat femoral arterine fondaparinux uygulanan 10 adet ratta patolojik değerlendirme sonucu patent / rat oranı 7/10 (%70) olarak belirlendi. Trombüs modeli uygulandıktan sonra rat femoral arterinin patent olmasında fondaparinux ve enoksoparin benzer etki göstermiş olup lokal heparin uygulanmasından bir miktar iyi sonuç göstermiştir.

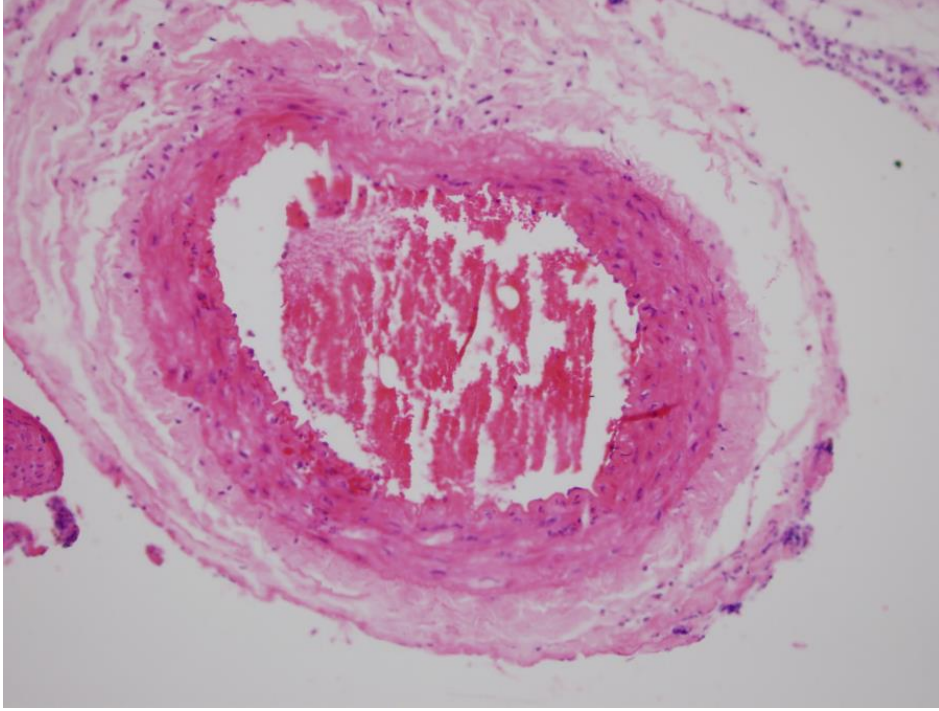
Histopatolojik sonuçlar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Rat femoral arterinde; **Resim 4.1.** de damar duvarında belirgin intimal kalınlaşma ve lümeninde trombüs varlığı; **Resim 4.2.** de arter duvarında intimal ve medial kalınlaşma yanı sıra lümeninde % 60 obstrüksiyona neden olan trombüs oluşumu; **Resim 4.3.** te arter duvarında kalınlaşma, lümen açık- kısmen daralmış olması; **Resim 4.4.** te arter duvarında intimal kalınlaşma lümeninde trombüs oluşumu; **Resim 4.5.** te arter duvarında intimal

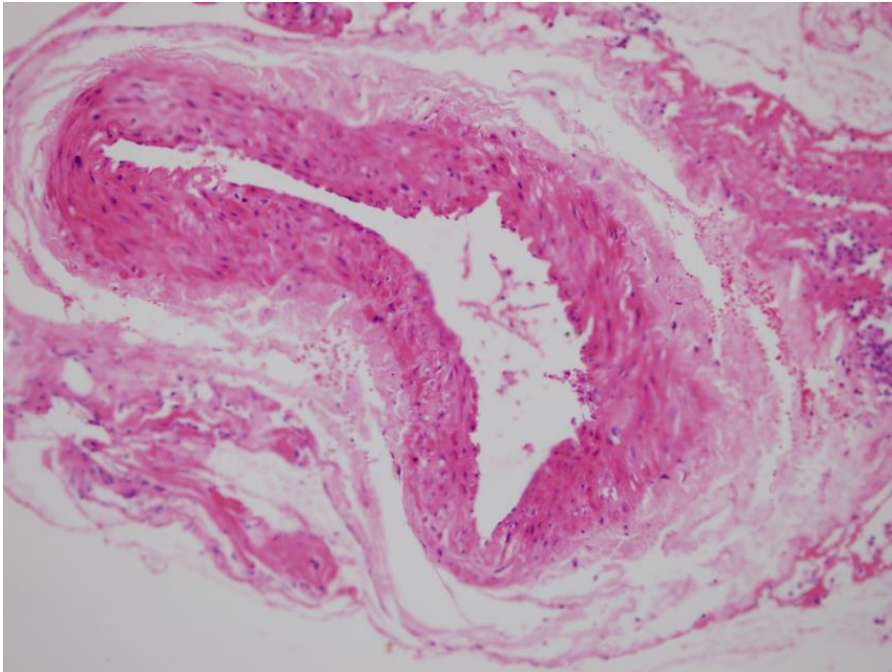
kalınlaşma lümeninde%40 obstrüksiyona neden olan trombüs formasyonu; **Resim 4.6.** da arter duvarında kalınlaşma, lümen açık örneği; **Resim 4.7.** de arter lümeninde complet obstrüksiyona neden olan tromboz örneği ve **Resim 4.8.** de lümeni tamamen açık arter, damar duvarında intima ve media tabakalarında kalınlaşma örneğinin gösterildiği resimler görülmektedir.



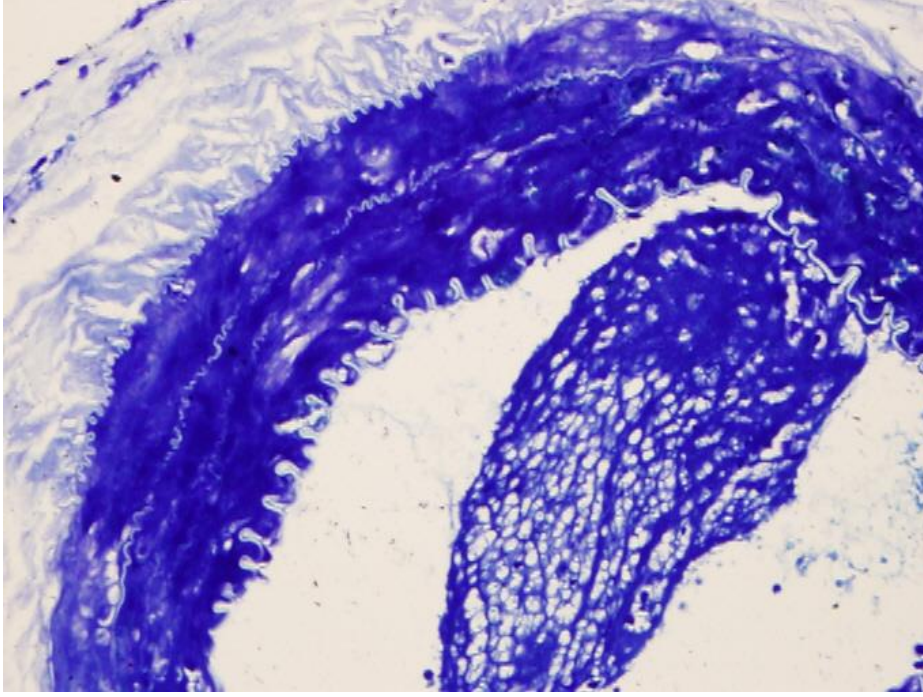
Resim 4.1. HE X 400: Damar Duvarında Belirgin Intimal Kalınlaşma ve Lümende Trombüs Varlığı... Lokal Heparin Grubu Arterinde



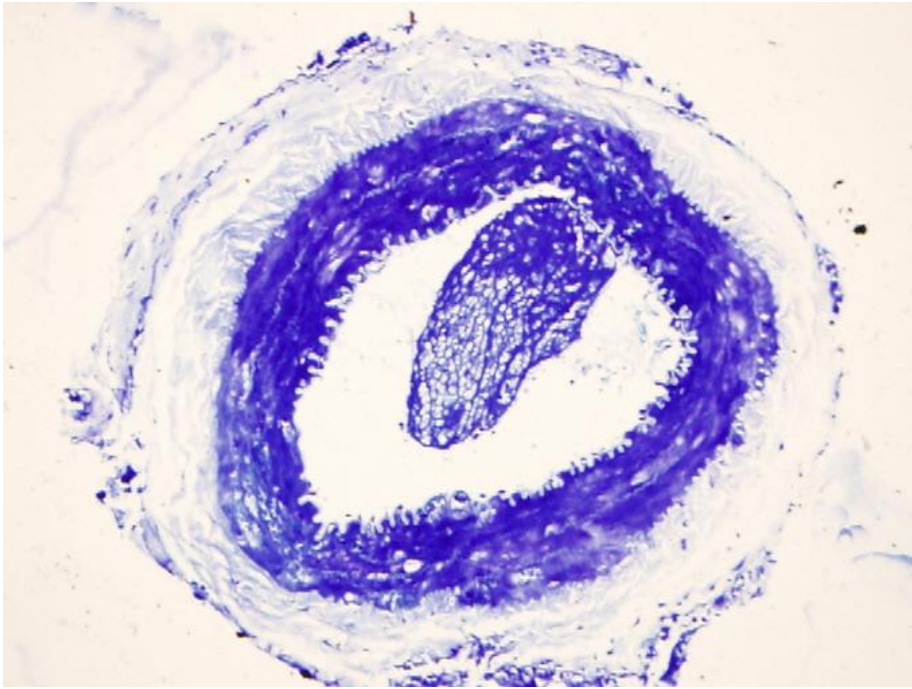
Resim 4.2. HE X 200: Arter Duvarında Intimal Ve Medial Kalınlaşma Yanı Sıra Lümende % 60 Obstrüksiyona Neden Olan Trombüs Oluşumu... Lokal Heparin Grubu Arterinde



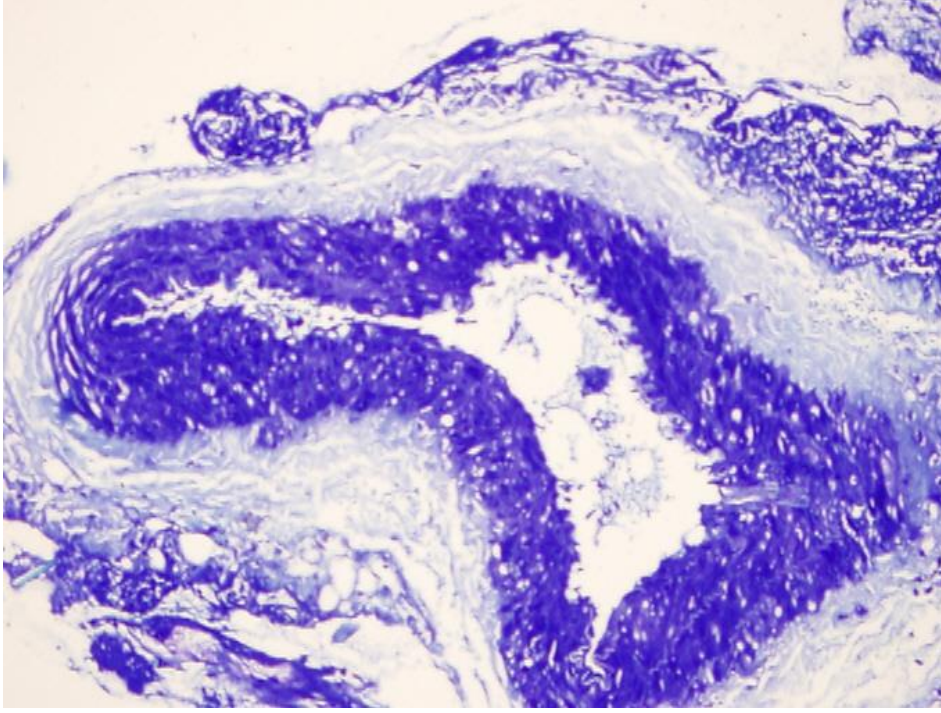
Resim 4.3. HE X 200: Arter Duvarında Kalınlaşma, Lümen Açık- Kısmen Daralmış... Lokal Heparin Grubu Arterinde



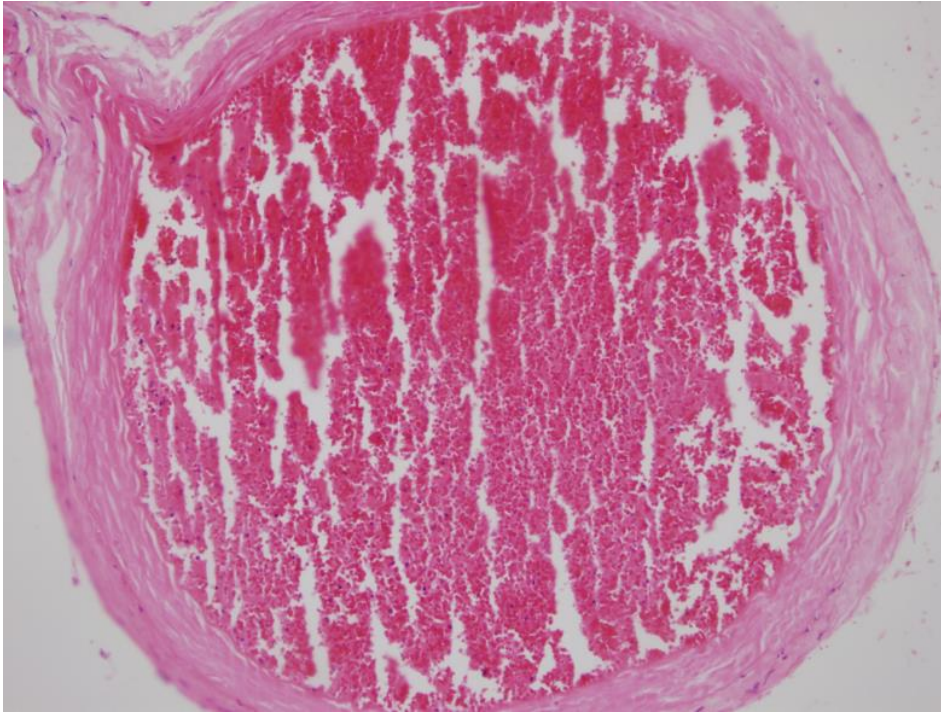
Resim 4.4. Alcian Blue X 400: Arter Duvarında Intimal Kalınlaşma Lümeninde Trombüs Oluşumu



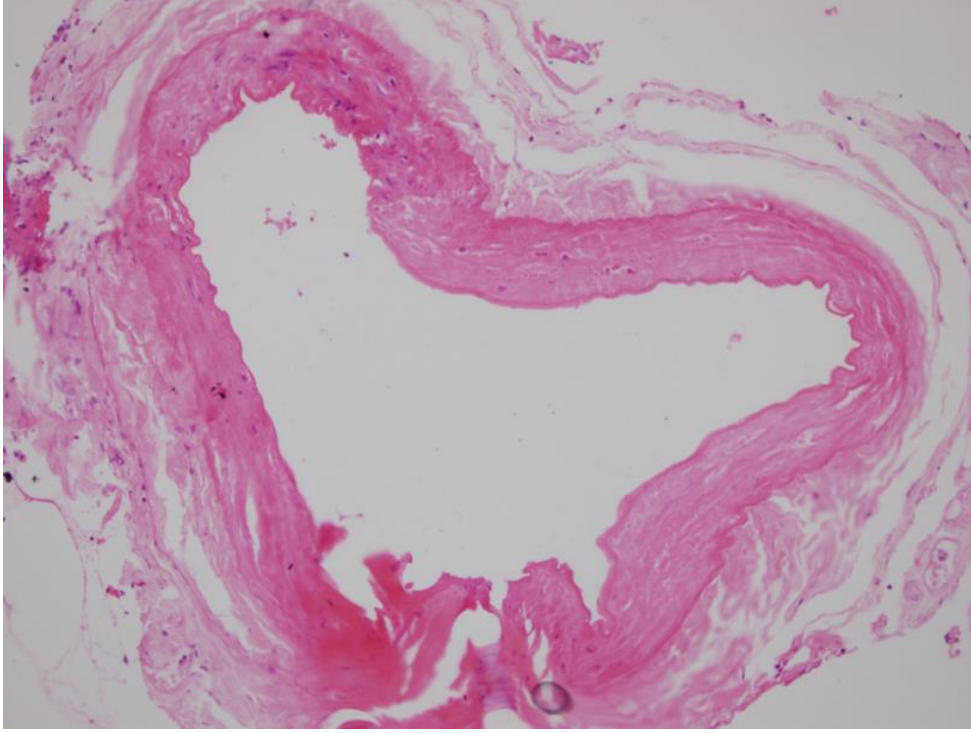
Resim 4.5. Alcian Blue X 400: Arter Duvarında Intimal Kalınlaşma Lümeninde %40 Obstrüksiyona Neden Olan Trombüs Formasyonu



Resim 4.6. AB X 200: Arter Duvarında Kalınlaşma, Lümen Açık

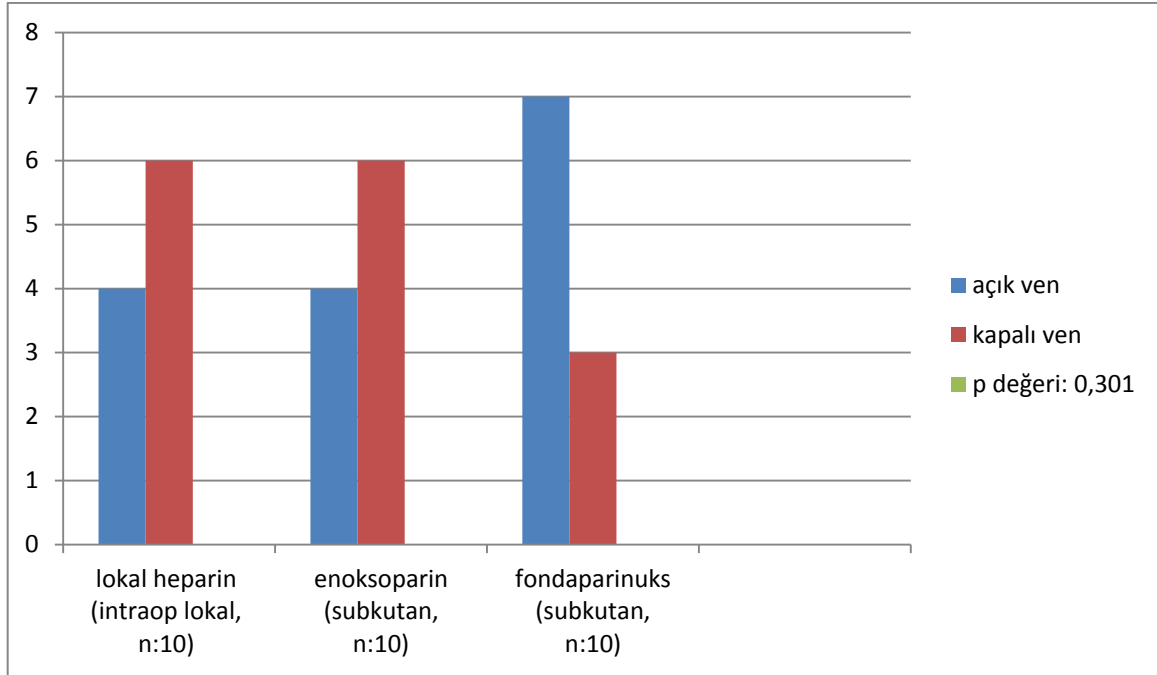


Resim 4.7. Hematoksilen Eozin X 200: Arter Lümeninde Complet Obstrüksiyona Neden Olan Tromboz... Lokal Heparin Grubu Arterinde



Resim 4.8. HE X 100: Lümeni Tamamen Açık Arter Örneği. Damar Duvarında Intima ve Media Tabakalarında Kalınlaşma... Fondaparinuks Grubu Arterinde

Trombüs modeli uygulandıktan 72.saat sonra rat femoral veninden alınan, trombüs modeli uygulanan segmenti içeren yaklaşık 1 cm lik örnek patolojik olarak incelendi. Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuks uygulanan gruplar arasında lümenlerinin patent (açık) ve oklüzyon (kapalı) oranları **Şekil 4.8.** de karşılaştırıldı.



Şekil 4.8. Femoral Ven Lümenlerinin Patent (açık) ve Oklüzyon (Kapalı) Oranları

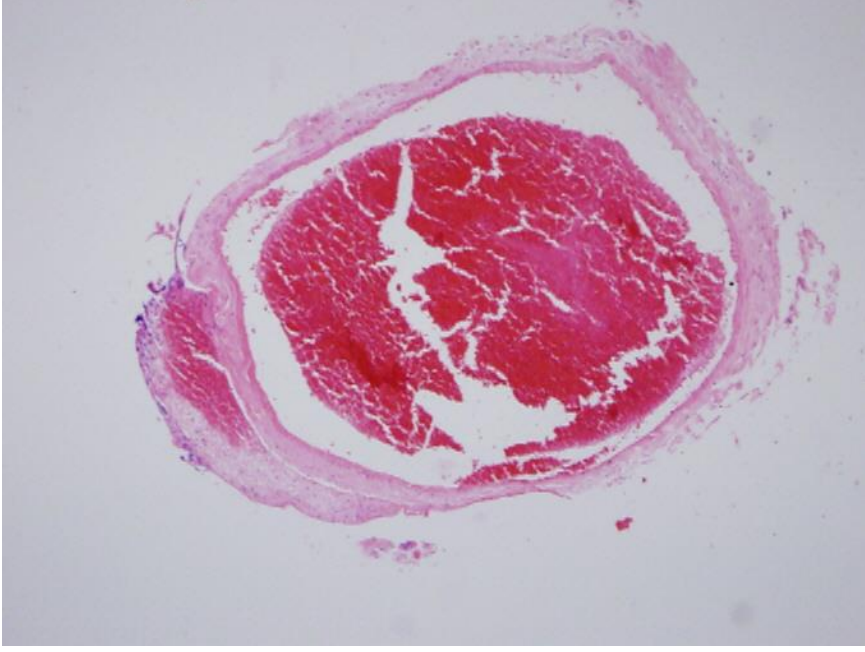
P değeri **0,301** olup 0,05'den büyük olduğu için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Rat femoral venine lokal heparin uygulanan 10 adet ratta patolojik değerlendirme sonucu patent / rat oranı 4/10 (%40) olarak belirlendi. Rat femoral venine enoksoparin uygulanan 10 adet ratta patolojik değerlendirme sonucu patent / rat oranı 4/10 (%40) olarak belirlendi. Rat femoral venine fondaparinuks uygulanan 10 adet ratta patolojik değerlendirme sonucu patent / rat oranı 7/10 (%70) olarak belirlendi. Trombüs modeli uygulandıktan sonra rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoral veninin patent olmasında aynı sonucu vermiştir.

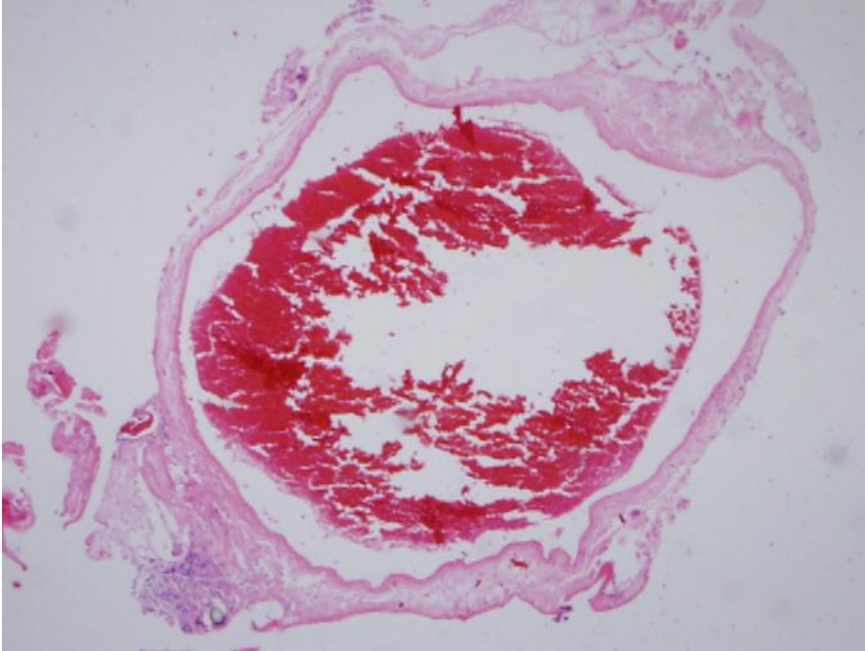
Histopatolojik sonuçlar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Rat femoral veninde; Resim 4.9. da lümeninde %70 obstrüksiyona neden olan tromboz formasyonu; **Resim 4.10.** da damar lümeninde %70 obstrüksiyona neden olan tromboz örneği ve **Resim 4.11.** de damar lümeninde artefakt nedeni ile bir kısmı

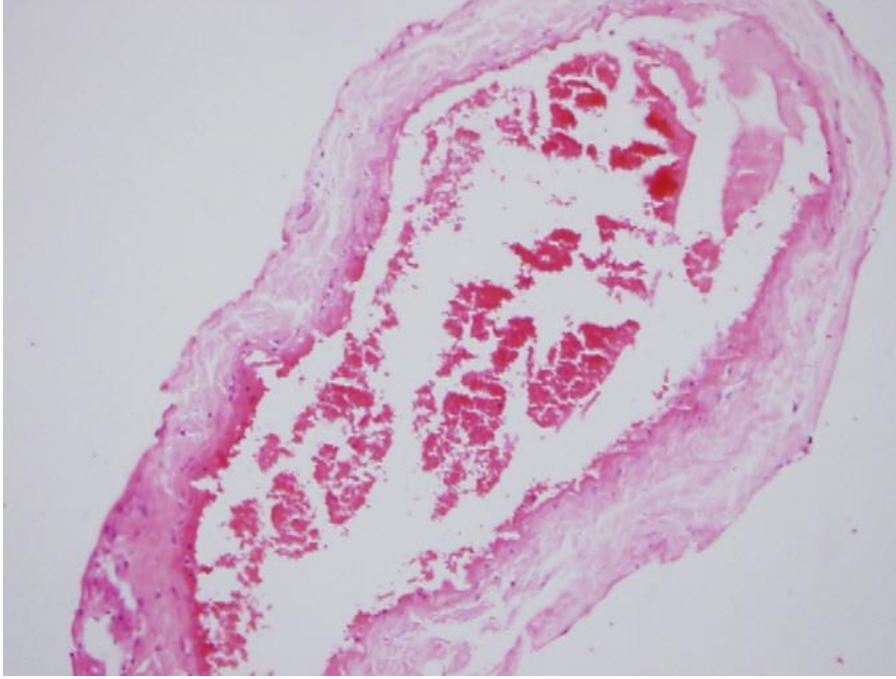
izlenebilen, %80-90 obstrüksiyona sebep olan trombüs formasyonunun gösterildiği resimler görülmektedir.



Resim 4.9. HE X 40 : Lümende %70 Obstrüksiyona Neden Olan Tromboz Formasyonu... Lokal Heparin Grubu Ven

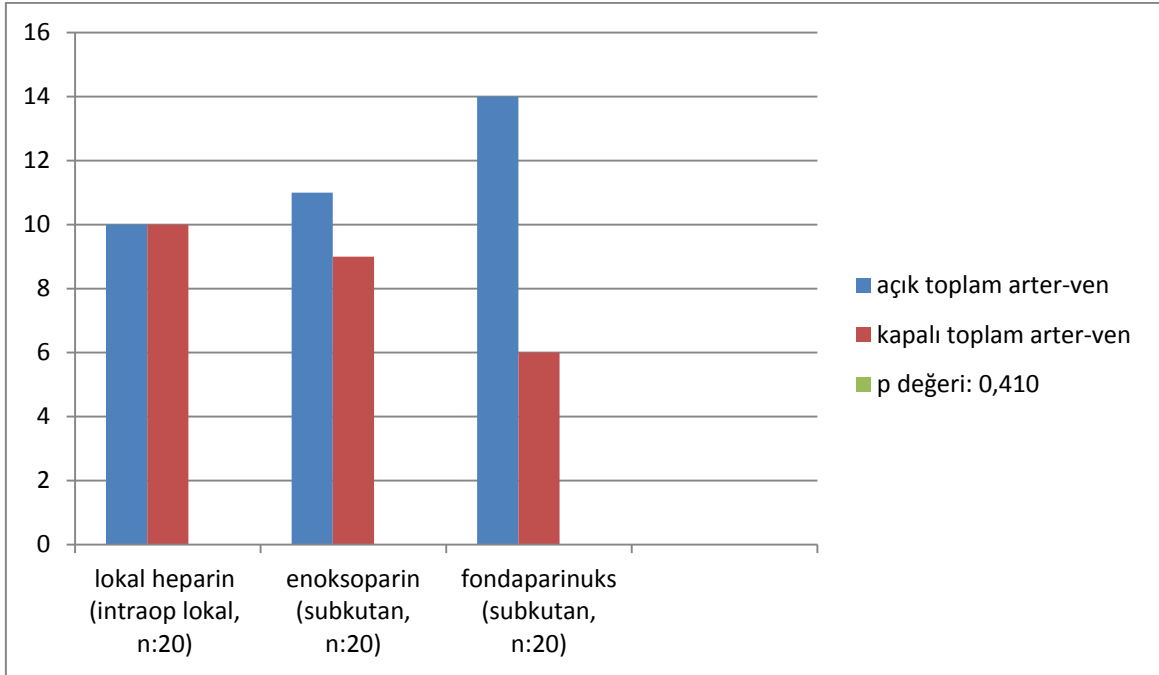


Resim 4.10. HE X 100: Damar Lümeninde %70 Obstrüksiyona Neden Olan Tromboz... Fondaparinuxs Grubu Ven



Resim 4.11. HE X 100: Damar Lümeninde Artefakt Nedeni ile Bir Kısmı İzlenebilen, %80-90 Obstrüksiyona Sebep Olan Trombüs Formasyonu... Fondaparinuks Grubu Ven

Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuksun trombüs modeli uygulanan tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı) üzerine olan etkinlikleri değerlendirilip **Şekil 4.9.** da karşılaştırıldı.



Şekil 4.9. Arter-Ven Toplam Lümenlerinin Patent (Açık) ve Oklüzyon (Kapalı) Oranları

P değeri **0,410** olup 0,05' den büyük olduğu için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Rat femoral arter ve venine lokal heparin uygulanan 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patolojik değerlendirme sonucu patent / arter-ven toplam oranı 10/20 (%50) olarak belirlendi. Rat femoral arter ve venine enoksoparin uygulanan 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patolojik değerlendirme sonucu patent / arter-ven toplam oranı 11/20 (%55) olarak belirlendi. Rat femoral arter ve venine fondaparinuks uygulanan 10 adet ratta 20 vasküler yapı üzerinde patolojik değerlendirme sonucu patent / arter-ven toplam oranı 14/20 (%70) olarak belirlendi. Trombüs modeli uygulandıktan sonra rat femoral arter ve veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoral veninin patent olmasında birbirlerine yakın benzer sonucu vermiştir.

Histopatolojik sonuçlar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

4.3.1. İntimal Kalınlaşma Alanlarına Göç Eden Myofibroblastlar

Lokal heparin uygulanan grupta intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar değerlendirildi. Aterlerde intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar çoğunda bariz olarak görüldü (7/10); fakat venlerde intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar çok azında görüldü (3/10).

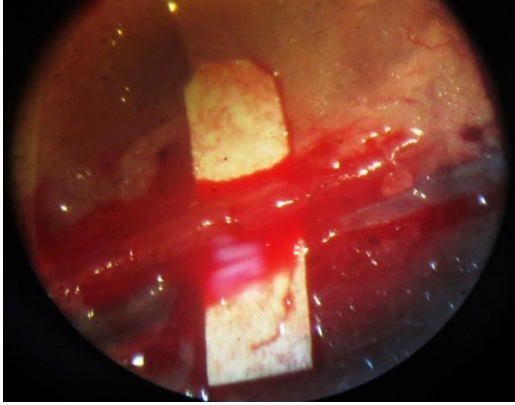
Enoksaparin uygulanan grupta intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar değerlendirildi. Aterlerde intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar çok azında izlendi (3/10); venlerde ise intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar hiçbirinde görülmedi (0/10).

Fondaparinux uygulanan grupta intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar değerlendirildi. Aterlerde intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar yarısında görüldü (5/10); venlerde ise intimal kalınlaşma alanlarına göç eden myofibroblastlar çok azında görüldü (3/10).

4.4. Perivasküler Kanama ve Hematom Değerlendirilmesi

Pratikte kanama riski sınırlıdır. Kanama multitravmalı hastalarda ve kemoterapi alan kanserli hastalarda özellik taşır. Bir sıçanda total kan volümü 14 ml' dir. 17 ul kanama kan volümünün % 0,12' si eder. Bu bir insandaki ortalama 10 ml' den daha az olan kan kaybına tekamül eder (4,11).

Enoksaparin grubunda bir adet rat femoral veninde **Resim 4.12.** de postoperatif kanama olmuştur. Postoperatif 72.saatte yapılan eksplorasyonda **Resim 4.13.** te aynı rat femoral veninde hemotam varlığı gözlemlendi.



Resim 4.12. Postoperatif 20. Dakika



Resim. 4.13. Postoperatif 72. Saat

5. TARTIŞMA

Mikrocerrahi alanında yapılan deneysel ve klinik çalışmalar ile mikrovasküler anastomozlarda karşımıza çıkan bir çok olumsuzluğun üstesinden gelinmiştir. Bu alandaki gelişmeler deneysel ve klinik bazda en basit damar onarımdan en komplike serbest doku aktarımları, replantasyon ve transplantasyonlardaki başarıyı arttırmıştır. Anastomoz hattındaki vasküler spazm ve trombüs karşımıza çıkan iki önemli sorundur. Adventisyanın soyulması, dilatatör ile vasküler lümenin dilate edilmesi, uygulanan topikal vazodilatatörler veya spazmolitik ajanlar ile vasküler spazm giderilebilir. Trombüsün önlenmesi için de operasyon öncesi profilaktik, operasyon sırasında lokal uygulama ve operasyon sonrasında birkaç ajanın kombine uygulanması ile bu sorun engellenmeye yada çözülmeye çalışılmaktadır.

Doğru mikrocerrahi teknikleri uygulanması da trombozis ve serbest flep kayıplarını minimize eder. Bu durumda herhangi bir antitrombotik veya fibrinolitik ajanın kullanılmasına ihtiyaç olmayabilir. Birçok klinik ve otör tarafından ortak görüş birliğine varılmış antitrombotik veya fibrinolitik bir farmakolojik tedavi algoritması mevcut değildir.

Andresen ve arkadaşlarının 2002 tarihinde yapmış oldukları arteriyel trombozu önlemek için lokal heparinin sistemik heparine üstünlüğü konulu çalışmada; lokal heparin ve yüksek doz (200U/kg) sistemik heparin uygulanan iki grupta kanamanın daha belirgin olduğu görülmüştür (1). Fakat istatistiksel olarak bu iki grup arasında anlamlı fark bulunamamış; kan değerlerinde göze çarpan hemostatik problemler olmamış. Anfraksiyonel heparinin; rat femoral arterinde akut damar duvarı hasarını takiben arteriyel trombüs formasyonunu anlamlı bir şekilde düşürdüğünü görmüşler. Lokal uygulama ile sistemik uygulama arasında antitrombojenik etkilerinde benzerlik olduğunu saptamışlar. Kanama eğilimini arttırması ile ilgili klinikte herhangi bir bulgu da görülmemiş. Bu çalışmadaki hematolojik parametreler; lokal heparin uygulanmasında ilk 10 dakikada 17 ul

(1 mililitre=1000 mikrolitre, 1 ml=1000 ul) kanama, 20. ve 60. dakikalar arasında ise 2 ul kanama olduğu gözlemlenmiş. Bir ratta toplam 14 ml kan volümü vardır. 17 ul' lik kanama tüm kan volümünün % 0,12' sine tekamül eder. Bu 17 ul' lik kanama da insanlardaki 10 ml' den daha azına denk gelir (1). Yüksek doz sistemik heparin (200 U/kg) uygulanmasında aPTT değerinin anlamlı bir şekilde (51,5) yükseldiği belirtilmiştir. Trombüs ölçüsünde; lokal heparin, sistemik (50 U/kg ve 100 U/kg) uygulamaya göre trombüsü anlamlı bir şekilde düşürdüğü; fakat sistemik 200 U/kg olan gruba göre bir fark bulunmadığı görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen sonuç; lokal heparin uygulanmasının sistemik uygulamaya göre trombüs formasyonunu düşürmesi açısından daha etkili olduğunu göstermiştir. Fakat sistemik antikoagülasyona neden olması için bir avantajı olmadığı da belirtilmiştir. Lokal kanamanın kontrol edilmesi kolay ve sınırlıdır (1).

Bu bulgular Braam ve arkadaşlarının 1995' te yapmış oldukları topikal heparinin rat arteriyal trombüs modelinde patensi artırması adlı çalışma; Fu ve arkadaşlarının 1995' te yapmış olduğu heparin ve rekombinant hirudin antikoagülanlarının tavşanlarda travmatik anastomoz modelinde kullanılmasının karşılaştırılması adlı çalışma; Tomaru ve arkadaşlarının anjiyografik ve anjiyoskopik bir çalışma olan lokal antitrombotik tedavi ile trombüs formasyonunun önlenmesi adlı çalışmalar ile görüş birliği sağlıyor (47,49,50).

Bizim yaptığımız bu çalışmada ise; acland tetsti değerlendirmesine göre, postoperatif 72 saat sonra acland testi ile rat femoral arterin patent olmasında enoksoparin ve fondaparinuks aynı etkiyi göstermiş olup lokal heparin uygulanan gruba nazaran bir miktar anlamlı bulunmuştur. Enoksoparinin , postoperatif 20. dakikada patent olan arterlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür. Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuksun trombüs modeli uygulanan tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı) üzerine olan etkinlikleri acland testi ile postoperatif 20. dakikada ve 72. saatte karşılaştırıldı. Hem postoperatif 20. dakikada hem de 72. saatte fondaparinuks, uygulanan tüm vasküler yapıların (arter-ven toplamı) patent olmasında daha etkin olduğu görülmüştür. Fakat her üç grupta da postoperatif 20. dakikada patent olan tüm vasküler yapıların (arter-ven toplamı) sayısında postoperatif 72. saatte azalma olduğu görülmüştür.

Lokal heparin uygulanan gruptaki PT, PTT ve INR değerleri diğer gruplardan yüksek bulundu. Enoksoparin ve fondaparinuks gruplarının PT, PTT ve INR değerleri birbirlerine yakın bulundu. Fondaparinuks grubunun hemoglobin değeri, lokal heparin grubundan bir miktar yüksek; lokal heparin grubunun hemoglobin değeri de enoksoparin grubundan bir

miktar yüksek olarak bulundu. Fakat gruplar arasında hemoglobin değerlerinin birbirlerine yakın olduğu görüldü. Enoksoparin ve fondaparinuksun trombosit değerleri birbirlerine yakın bulunup lokal heparin grubundan bir miktar yüksek bulundu. Fondaparinuks grubunun fibrinojen değeri, enoksoparin ve lokal heparin gruplarından bir miktar yüksek bulundu. Enoksoparin grubunun fibrinojen değeri de lokal heparin grubundan bir miktar yüksek bulundu. Fakat her üç grubun da değerleri birbirlerine yakın olduğu belirlendi. Lokal heparin ile enoksoparin grupları arasındaki PT, PTT ve INR değerleri ve lokal heparin ile fondaparinuks grupları arasındaki PT, PTT ve INR değerleri anlamlı kabul edildi. Perivasküler kanama ve hematoma değerlendirildi. Enoksoparin grubunda bir adet rat femoral veninde postoperatif kanama olmuştur. Postoperatif 72. saatte yapılan eksplorasyonda aynı rat femoral veninde hemotam varlığı gözlemlendi. Bir enoksoparin femoral veni hariç hiç bir grupta ve vasküler yapıda kanama veya hematoma gözlenmemiştir.

Histopatolojik değerlendirme sonucuna göre ise; trombus modeli uygulandıktan sonra rat femoral arterinin patent olmasında fondaparinuks ve enoksoparin benzer etki göstermiş olup lokal heparin uygulanmasından bir miktar iyi sonuç göstermiştir. Rat femoralinde tüm vasküler yapıların (arter ve ven toplamı) patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoralinde tüm vasküler yapıların (arter ve ven toplamı) patent olmasında birbirlerine yakın benzer sonuç vermiştir.

Hupkens ve arkadaşlarının 1996 tarihinde subendotelial stimülasyon sonucu ratlarda tromboz modelinde arteriyel ve venöz patenslerinin karşılaştırıldığı çalışmada; hem arter hem de venlerde trombotik oklüzyonu indüklemek için aynı trombojenik greft yüzeyi kullanılmış (19). Önceki çalışmalarda; rat femoral arter defektine, bu de-endothelize edilmiş (endotel hasarı yapılarak veya endoteli alınarak media tabakası açığa çıkartılmış vasküler lümen) arteriyel greft yerleştirilmesi; postoperatif 1. günde % 25' lik patens ile sonuçlanmış. (19,51,52). Greft yüzeyinin elektron mikroskop ile incelenmesi sonucu trombusun yanında fibrinin de olduğu gösterilmiş. Aspirin, patensi ılımlı bir şekilde (% 35) arttırmış; halbuki sistemik heparin patensi % 95 kadar arttırmıştır. Anastomoz sonrası yeniden akım sağlandıktan 30 dakika sonra ve 7 gün sonra hem arterlerin hem de venlerin patensleri karşılaştırılmış. Sistemik heparin uygulanan grupta; arterlerdeki patens oranı 1. gün 15/16 ve 7. gün 14/16 olarak rapor edilmiş. Venlerdeki patens oranı ise 1. gün 9/16 ve

7. gün 8/16 olarak rapor edilmiş. Sistemik aspirin/dipiradamol uygulanan grupta; arterlerdeki patens oranı 1. gün 8/16 ve 7. gün 8/16 olarak rapor edilmiş. Venlerdeki patens oranı ise 1. gün 5/16 ve 7. gün 5/16 olarak rapor edilmiş. Kontrol grubunda ise; arterlerdeki patens oranı 1. gün 7/16 ve 7. gün 7/16 olarak rapor edilmiş. Venlerdeki patens oranı ise 1. gün 0/16 ve 7. gün 0/16 olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmadaki bulgular, diğer çalışmalardakine paralel olarak venlerde platelet inhibisyonu sonrası ve arterlerde heparin uygulanmasından sonra düşük trombozis seviyeleri bulunduğunu göstermiştir. (19,53,54,55). Sonuç olarak bu çalışma göstermiştir ki; heparin, rat arteriyel tromboz modelinde aspirin ve dypiridamol' den daha tahmin edilebilir antitrombotik ajan özelliği taşımaktadır. Trombozis ile ilgili sonuçları çalışmak için çok sayıda farklı invivo modeller geliştirilmiştir. (19,53,54,55,56). Bunların çoğu da rat arterlerinde geliştirilmiştir.

Hanasono ve arkadaşları 2008 tarihinde mikrovasküler cerrahide trombozun önlenmesi ve tedavisi adlı çalışmalarında Kroll'un, Ritter'in, Wieslander ve Doufen'in ve Cox'un yapmış oldukları çalışmalara değinmişlerdir (10).

Kroll tarafından yapılan çalışmada; mikrovasküler anastomoz sonrası saatte 100-400 U, 5-7 gün süre ile verilen 2000-3000 U bolus IV heparin hematoma formasyonunu arttırmasıyla ilişkili olmadığını göstermişlerdir. Fakat saatte 500-1200 U olacak şekilde 5000-10000 U bolus heparin verilmesi yüksek hematoma (% 7-20 hematoma) formasyonu ile sonuçlandığı görülmüştür (10,57).

Ritter tarafından yapılan çalışmada; rat epigastrik serbest flep modelinde; düşük molekül ağırlıklı heparin ve anfraksiyonel heparin, anastomoz patensini ve flep perfüzyonunu anlamlı bir şekilde yoluna koyduğunu belirtmiştir. Ek olarak; düşük molekül ağırlıklı heparin ile tedavi edilen grupta ve kontrol grubunda hematoma oluşmadığı; fakat anfraksiyonel heparin ile tedavi edilen grupta hematoma (2/15) gözlemlendiği belirtilmiştir (10,58). Fakat bizim yaptığımız bu çalışmada enoksoparin grubunda bir adet rat femoral veninde postoperatif kanama olmuştur. Postoperatif 72. saatte yapılan eksplorasyonda aynı rat femoral veninde hemotam varlığı gözlemlendi. Anlaşıldığı üzere her üç grupta da belirgin bir perivasküler kanama ve hematoma bulgusuna rastlanılmamıştır.

Wieslander ve Doufen tarafından yapılan çalışmada; normal salin içeren irrigasyon solüsyonu, heparinli salin, laktatlı ringer solüsyonu, heparinli laktatlı ringer solüsyonu ile damar patensini karşılaştırmışlar. Heparinli solüsyonlar platelet agregasyonunu azalttığını bulmuşlar; fakat diğer gruplarda patensler arasında bir fark bulunamamıştır (10,59).

Cox tarafından yapılan çalışmada; yapılan rat modelinde; 100 U/ml heparinize salin irrigasyon solüsyonu, koagülasyon panelini değiştirmeksizin trombüs formasyonunu anlamlı bir şekilde durdurmuştur. 250 U/ml heparinize salin irrigasyon solüsyonu trombüs formasyonunu durdurduğu; fakat PTT' yi yükseltti görülmüştür (10,60).

Hanasono ve arkadaşları 2008 tarihinde mikrovasküler cerrahide trombozun önlenmesi ve tedavisi konulu bu makalesinde trombozis ve serbest flep kayıplarında % 1-5 gibi düşük başarısızlık oranından dolayı serbest flep yaşayabilirliği için kaydadeğer anlamlı farkları ortaya koyabilmenin pek olası olmadığını belirtmiştir (10). Deneyimli mikrovasküler cerrahlar arasında, trombüs formasyonunu önlemek için hangi farmakolojik ajanı yada kombinasyonu ve hangi dozlarda kullanılacağına dair bir görüş birliğine varılmadığı görülmüştür. 106 mikrovasküler cerrahı içeren bir ankette yada incelemede; heparin, dekstran yada aspirin gibi yada bunların kombinasyonlarını içeren profilaktik antitrombotik tedavi kullandıkları rapor edilmiştir. Bu rejim protokolleri arasında ve profilaktik antikoagülan kullanmanın, trombozis ve flep kayıpları üzerine anlamlı farkları olduğu sonucuna varılamamıştır. Ve bu konunun tartışıldığı klinik datalar da yetersiz kalmaktadır (10, 11,57,61,62).

Farina ve arkadaşları 2006 tarihinde %3 albüminli izovolemik hemodilüsyon, dekstran 40 ve profilaktik enoksaparinin ratlarda ven mikroanastomozu sonrası trombüs formasyonu üzerine etkinliklerinin karşılaştırıldığı çalışmalarında elde ettikleri sonuçlar; kontrol grubu ile enoksaparin gruplarının fibrinojen değerleri aynı, hematokrit değerleri birbirlerine yakın değerlerde çıkmıştır. Enoksaparin grubunda platelet ve eritrosit değerleri düşük çıkmıştır. Kontrol grubunda ven oklüzyonu 20 dakika sonra % 100; enoksaparin grubunda % 60; hemodilüsyon grubunda % 30 ve dekstran grubunda % 20 olarak belirtilmiştir. Kontrol grubunda ven oklüzyonu 48 saat sonra % 100; enoksaparin grubunda % 100; hemodilüsyon grubunda % 50 ve dekstran grubunda % 80 olarak belirtilmiştir. Elde edilen histopatolojik bulgular; kontrol grubunda 9/10 oklüzyon görülmüş; hemodilüsyon grubunda 4/5 (1 tanesi histopatolojik değerlendirmede gömme işlemi sırasında kayıp.); dekstran grubunda tromboze olan 8' i incelenmiş ve 2' sinde trombüs gözlemlenmiş; enoksaparin grubunda 10' u tromboze idi ve inceleme sonucunda 5 tanesinde trombüs gözlenmemiştir. Preoperatif ve postoperatif 48. saatteki hematokrit değerleri; kontrol grubu, dekstran grubu ve enoksaparin gruplarında benzer çıkmış. Hemodilüsyon grubunda preoperatif hematokrit, diğer gruplar ile aynı olduğu görülmüş; fakat hemodilüsyondan

sonra anlamlı bir şekilde düştüğü görülmüştür. Postoperatif 48. saatteki hematokrit değeri de aynı çıkmış. Eritrosit ve platelet değerleri; hemodilüe, dextran 40 ve enoxaparin gruplarında kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde düşük olduğu görülmüş. lökosit değerleri tüm gruplarda benzer çıkmış (17). Bu çalışmada sonuç olarak; % 3'lük albüminli hafiflemiş izovolemik hemodilüsyon; cerrahi prosedürden sonra venöz mikroanastomoz oklüzyonunu anlamlı bir şekilde düşürmekte efektif olduğu görülmüştür. İlaveten, mikrocerrahi prosedürden 48 saat sonra, mikroskopik olarak değerlendirilen venöz tromboz oranı kontrol grubu, dextran 40 ile tedavi grubu ve enoxaparinli grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde daha düşük çıkmış. Bu da göstermiştir ki; ratlarda femoral ven mikroanastomozunda trombüs formasyonunu önlemek için dextran 40 ve enoxaparin kullanımına göre; % 3 albüminli hemodilüsyon güvenli ve daha uygun bir prosedür olduğu sonucuna varılmıştır. Hemodilüsyonun kan vizkozitesini düşürdüğü, daha iyi bir mikrodolaşım ve kan perfüzyonu sağladığı, tromboz riskini azalttığı ve daha güvenli bir mikrocerrahi prosedürü yarattığı belirtilmiştir (17,48,59,63,64,65,66).

Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmada ise; postoperatif 72 saat sonra aclang testi ile rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir. Fondaparinuksun, postoperatif 20. dakikada patent olan venlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür. Histopatolojik değerlendirme sonucuna göre de rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoral veninin patent olmasında aynı sonucu vermiştir.

Farina ve arkadaşlarının 2002 tarihinde %3 albüminli izovolemik hemodilüsyonun ratlarda ven mikroanastomozu sonrası trombüs formasyonu üzerine etkinliği konulu diğer bir çalışmalarında; hemodilüe olmayan grupta 20 dakika sonraki değerlendirmede 12/15 yani, %80 oklüze; hemodilüe grupta 6/15 yani, %40 oklüze olduğu görülmüş. 48 saat sonraki değerlendirmede non-hemodilüe grupta 10/15 ve hemodilüe grupta 5/15 oklüze olduğu gözlemlenmiş. Yani hemodilüe olmayan grupta 48 saat sonra 3 tane; hemodilüe grupta ise 1 tane rekanalize olmuştur. 48 saat sonraki histolojik bulgular ise; hemodilüe olmayan grupta 10 tanesi oklüze, 5 tanesi patent olduğu belirtilmiş; oklüze olanların 2' pıhtı ile 8' i trombüs ile oklüze olduğu görülmüş. Hemodilü grupta ise 5 tanesi oklüze, 10 tanesi patent olduğu belirtilmiş; oklüze olanların 4' ü pıhtı ile oklüze olduğu görülmüş.

Paten olanların 6' sında pıhtı veya trombus görülmemiş ve 4' ünün pıhtılı olduğu görülmüş. Hemodilüsyondan önceki hemotokrit değeri hemodilüe edilmeyen grupta 44,82 ölçülmüş; hemodilüe grupta 45,11 olarak ölçülmüş. Hemodilüsyondan sonra hemodilüe grubun ortalama hemotokrit değeri 31,77 olarak ölçülmüş. 48 saat sonraki değerler hemodilüe edilmeyen grupta 41,50; hemodilüe grupta 28,17 olarak ölçülmüş. Bu çalışmada elde edilen sonuç özetle; %3 albüminli izovolemik hemodilüsyon cerrahi prosedürden 20 dakika sonra oklüzyonu azaltmada etkin olduğu görülmüş; 48 saat sonraki anasomoz patenslerini açık tutmada da diğer gruba göre etkili olduğu belirtilmiştir. Klinik ve deneysel olarak hemodilüsyon, kan vizkozitesini azaltarak kan akımını arttırdığı, stazı önlediği, eritrosit ve platelet agregasyonunu düşürdüğü, koagülasyon faktörlerini dilüe ettiği. arteriyel ve venöz trombozu önlediği sonucuna varılmıştır (48).

DMAH'lerle ilgili olarak, Tessa ve arkadaşlarının mikroarteriyel trombus oluşumuna, DMAH'in etkilerini araştırmak için yaptıkları deneysel çalışmada; DMAH'in mikrodolaşımda trombus oluşma oranında değişiklik yapmadığını tespit etmişlerdir (67). Halbuki, T.Miyawaki ve arkadaşları konjesyon gelişmiş tavşan serbest deri fleplerinde DMAH'in etkilerini görmek için yaptıkları çalışmada; DMAH'in flep pedikülünde mikrosirkülasyonu arttırarak büyük bir iyileşme sağladığı sonucuna varmışlardır (68). Benzer şekilde, Malm ve arkadaşlarının yaptıkları heparin ile bir DMAH olan deltaparinin derin arteriyel yaralanmaların tamirinde trombus oluşumuna etkilerini karşılaştırmışlar ve fark bulamamışlar. Aynı çalışmada kanama oranları karşılaştırıldığında ise, heparinin daha fazla kanamaya neden olduğu gösterilmiş (69). Prad ve arkadaşlarının serbest fleplerin canlılığının sürdürülmesi ve anastomoz üzerine tromboflaktik ajanlardan DMAH ve pentoxifilin karşılaştırıldığı deneysel çalışmalarında

DMAH'in tek başına anlamlı etkisi olduğu, ancak kombine kullanımının etkili olmadığını göstermişlerdir (70).

Mikrovasküler cerrahide yapılan antitrombotik veya fibrinolitik çalışmalarda elde edilen sonuçlar daha çok tavsiye niteliği taşımaktadır. Yeni yapılacak deneysel çalışmalar için ışık kaynağı niteliğindedir. Biz bu deneysel mikrocerrahi çalışmamızda mikrovasküler anastomozlarda trombozun engellenmesine yönelik tedavi protokollerine katkı yapmayı amaçladık. Yukarıda başka araştırmacıların yapmış oldukları çalışmaların özelliği; ya sadece rat femoral arterinde yada sadece rat femoral veninde çalışmış olmalarıdır. Bizim yaptığımız bu çalışma ise; hem rat femoral arteri hem rat femoral veni ve tüm vasküler

yapıları (arter ve ven toplam) değerlendiren bir çalışmadır. Daha kapsamlı bir değerlendirme özelliği taşımaktadır.

6. SONUÇ

Sağ femoral arter ve sol femoral vene uygulanan trombüs modeli sonucunda elde edilen acland testi sonuçları, kan değerleri sonuçları, patolojik değerlendirme sonuçları tartışıldı ve yorumlandı.

Elde ettiğimiz sonuçlarda; acland testi değerlendirmesine göre, postoperatif 72 saat sonra acland testi ile rat femoral arterin patent olmasında enoksoparin ve fondaparinuks aynı etkiyi göstermiş olup lokal heparin uygulanan gruba nazaran bir miktar anlamlı bulunmuştur. Enoksoparinin , postoperatif 20. dakikada patent olan arterlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür. Postoperatif 72 saat sonra acland testi ile rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir. Fondaparinuksun, postoperatif 20. dakikada patent olan venlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür. Lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinuksun trombüs modeli uygulanan tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı) üzerine olan etkinlikleri acland testi ile postoperatif 20. dakikada ve 72. saatte karşılaştırıldı. Hem postoperatif 20. dakikada hem de 72. saatte fondaparinuksun tüm vasküler yapıların (arter-ven toplamı) patent olmasında daha etkin olduğu görülmüştür. Fakat her üç grupta da postoperatif 20. dakikada patent olan tüm vasküler yapıların (arter-ven toplamı) sayısında postoperatif 72. saatte azalma olduğu görülmüştür.

Lokal heparin uygulanan gruptaki PT, PTT ve INR değerleri diğer gruplardan yüksek bulundu. Enoksoparin ve fondaparinuks gruplarının PT, PTT ve INR değerleri birbirlerine yakın bulundu. Her üç grubun da hemoglobin, trombosit ve fibrinojen değerleri birbirlerine yakın bulundu. Lokal heparin ile enoksoparin grupları arasındaki PT, PTT ve INR değerleri ve lokal heparin ile fondaparinuks grupları arasındaki PT, PTT ve INR değerleri anlamlı kabul edildi. Perivasküler kanama ve hematoma değerlendirildi. Enoksoparin

grubunda bir adet rat femoral veninde postoperatif kanama olmuştur. Postoperatif 72.saatte yapılan eksplorasyonda aynı rat femoral veninde hemotam varlığı gözlemlendi.

Histopatolojik değerlendirme sonucuna göre ise; trombüs modeli uygulandıktan sonra rat femoral arterinin patent olmasında fondaparinux ve enoksoparin benzer etki göstermiş olup lokal heparin uygulanmasından bir miktar iyi sonuç göstermiştir. Rat femoral veninin patent olmasında fondaparinux; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoral veninin patent olmasında aynı sonucu vermiştir.

Rat femoralinde tüm vasküler yapıların (arter ve ven toplamı) patent olmasında fondaparinux; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoralinde tüm vasküler yapıların (arter ve ven toplamı) patent olmasında birbirlerine yakın benzer sonuç vermiştir.

Görüldüğü üzere rat femoral arterinin patent olmasında ve trombüsün önlenmesinde preoperatif ve postoperatif enoksoparin verilmesinin etkin olduğu sonucuna vardık. Fakat rat femoral veninin patent olmasında ve trombüsün önlenmesinde preoperatif ve postoperatif fondaparinux verilmesinin etkin olduğu sonucuna vardır. Lokal heparin uygulamasına göre daha üstün oldukları görüldü. Aynı zamanda sistemik antikoagülasyon sağlamalarına rağmen perivasküler kanama veya hematoma neden olmamışlardır. Bu da kanama ve hematom handikapını ortadan kaldırmış oluyor. Acil ve elektif cerrahide sistemik olarak enoksoparin veya fondaparinuxun vasküler anastomoz öncesi ve sonrasında trombüsün önlenmesi, vasküler patensin sağlanmasında kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Fondaparinux yeni bir ilaçtır ve daha önce vasküler anastomoz öncesinde ve sonrasında trombüs ve vasküler oklüzyonun engellenmesi amacı ile kullanılmamıştır. Acil ve elektif cerrahide trombüsün önlenmesi için görüş birliğine varılan bir tedavi protokülü mevcut değildir. Acil ve elektif mikrocerrahide lokal heparin, enoksoparin ve fondaparinux' un trombüs gelişiminin engellenmesindeki etkinliklerinin karşılaştırılması amaçladık. Mikrovasküler cerrahide yapılan antitrombotik veya fibrinolitik çalışmalarda elde edilen sonuçlar daha çok tavsiye niteliği taşımaktadır. Yeni yapılacak deneysel çalışmalar için ışık kaynağı niteliğindedir. Biz bu deneysel mikrocerrahi çalışmamızda; ileri çalışmalar için ve mikrovasküler anastomozlarda trombozun engellenmesine yönelik tedavi protokollerine katkı sağlamayı amaçladık.

7. ÖZET

FONDAPARİNUX, ENOXOPARİN VE HEPARİN'İN FEMORAL ARTER VE VENDE TROMBOZ GELİŞMESİNİ ÖNLEMESİ ÜZERİNE ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI: DENEYSSEL ÇALIŞMA

Amaç: Elektif cerrahide serbest doku nakilleri yapmadan önce, transplantasyon cerrahisinde ve replantasyonlarda trombüsü engellemek için antikoagülanlar veya fibrinolitikler kullanılarak trombüs gelişmesi ve buna bağlı olarak vasküler oklüzyon önlenabilir. Bu deneysel çalışmamızdaki amacımız; anastomozdan önce kontrol grubuna lokal heparin, deney gruplarından birine düşük molekül ağırlıklı heparin olan enoksoparin, diğer gruba da yeni bir antikoagülan olan ve yan etkileri az olan fondaparinuxs verilerek trombüs gelişimini engelleyerek vasküler oklüzyonu engellemektir. Acil ve elektif cerrahide lokal uygulamalara gerek kalmadan sistemik olarak preoperatif ve postoperatif sistemik antikoagülanlar ile trombüsün önlenmesi veya vasküler patensin sağlanması hedeflenmektedir. Fondaparinux daha önce vasküler anastomoz öncesinde ve sonrasında trombüs ve vasküler oklüzyonun engellenmesi amacı ile kullanılmamıştır. Acil ve elektif cerrahide trombüsün önlenmesi için görüş birliğine varılan bir tedavi protokülü mevcut değildir. Mikrovasküler cerrahide yapılan antitrombotik veya fibrinolitik çalışmalarda elde edilen sonuçlar daha çok tavsiye niteliği taşımaktadır. Biz bu deneysel mikrocerrahi çalışmamızda; ileri çalışmalar için ve mikrovasküler anastomozlarda trombozun engellenmesine yönelik tedavi protokollerine katkı sağlamayı amaçlıyoruz.

Gereç ve Yöntem: Vasküler tromboz modeli uygulandı. Vasküler tromboz modeli sağda femoral artere, solda femoral vene uygulandı. Üçüncü gün her üç gruba da damarsal tromboz modeli uygulanacaktır. Bir kontrol grubu ve 2 deney grubu olmak üzere toplam 3 grup mevcuttur. Kontrol grubuna lokal heparin 100 U/ml şeklinde lokal olarak uygulandı. Birinci deney grubuna 2 gün süre ile günlük 150 IU/ml (0.5 mg/kg) enoksoparin subkutan verilecektir. Trombüs modeli uygulandıktan sonra da 2 gün süre ile günlük 150 IU/ml enoksoparin subkutan verilecektir. İkinci deney grubuna 2 gün süre ile günlük 0,2 mg/kg fondaparinuxs subkutan verilecektir. Trombüs modeli uygulandıktan sonra da 2 gün süre ile günlük 0,2 mg/kg fondaparinuxs subkutan verilecektir. Sağ femoral arter ve sol femoral vene uygulanan trombüs modeli sonucunda elde edilen acland testi sonuçları, kan değerleri sonuçları, patolojik değerlendirme sonuçları tartışıldı ve yorumlandı.

Bulgular: Acland testi değerlendirmesine göre, postoperatif 72 saat sonra acland testi ile rat femoral arterin patent olmasında enoksoparin ve fondaparinuxs aynı etkiyi göstermiş olup lokal heparin uygulanan gruba nazaran bir miktar anlamlı bulunmuştur. Enoksoparinin, postoperatif 20. dakikada patent olan arterlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür. Postoperatif 72 saat sonra acland testi ile rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuxs; enoksoparin ve lokal heparinden daha etkili olduğu görülmüştür. Enoksoparin lokal heparinden bir miktar daha etkin olmasına rağmen benzer sonuç vermiştir. Fondaparinuxsun, postoperatif 20. dakikada patent olan venlerin 72. saat sonunda da patent kalmasında etkili olduğu görülmüştür. Lokal heparin,

enoksoparin ve fondaparinuksun trombüs modeli uygulanan tüm vasküler yapılar (arter-ven toplamı) üzerine olan etkinlikleri acland testi ile postoperatif 20. dakikada ve 72. saatte karşılaştırıldı. Hem postoperatif 20. dakikada hem de 72. saatte fondaparinuksun tüm vasküler yapıların (arter-ven toplamı) patent olmasında daha etkin olduğu görülmüştür. Fakat her üç grupta da postoperatif 20. dakikada patent olan tüm vasküler yapıların (arter-ven toplamı) sayısında postoperatif 72. saatte azalma olduğu görülmüştür.

Lokal heparin uygulanan gruptaki PT, PTT ve INR değerleri diğer gruplardan yüksek bulundu. Enoksoparin ve fondaparinuks gruplarının PT, PTT ve INR değerleri birbirlerine yakın bulundu. Her üç grubun da hemoglobin, trombosit ve fibrinojen değerleri birbirlerine yakın bulundu. Lokal heparin ile enoksoparin grupları arasındaki PT, PTT ve INR değerleri ve lokal heparin ile fondaparinuks grupları arasındaki PT, PTT ve INR değerleri anlamlı kabul edildi. Perivasküler kanama ve hematoma değerlendirildi. Enoksoparin grubunda bir adet rat femoral veninde postoperatif kanama olmuştur. Postoperatif 72. saatte yapılan eksplorasyonda aynı rat femoral veninde hemotam varlığı gözlemlendi.

Histopatolojik değerlendirme sonucuna göre ise; trombüs modeli uygulandıktan sonra rat femoral arterinin patent olmasında fondaparinuks ve enoksoparin benzer etki göstermiş olup lokal heparin uygulanmasından bir miktar iyi sonuç göstermiştir. Rat femoral veninin patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoral veninin patent olmasında aynı sonucu vermiştir.

Rat femoralinde tüm vasküler yapıların (arter ve ven toplamı) patent olmasında fondaparinuks; enoksoparin ve lokal heparinden daha iyi sonuç vermiştir. Enoksoparin ve lokal heparin rat femoralinde tüm vasküler yapıların (arter ve ven toplamı) patent olmasında birbirlerine yakın benzer sonuç vermiştir.

Sonuç: Görüldüğü üzere rat femoral arterinin patent olmasında ve trombüsün önlenmesinde preoperatif ve postoperatif enoksoparin verilmesinin etkin olduğu sonucuna vardık. Fakat rat femoral veninin patent olmasında ve trombüsün önlenmesinde preoperatif ve postoperatif fondaparinuks verilmesinin etkin olduğu sonucuna vardır. Lokal heparin uygulamasına göre daha üstün oldukları görüldü. Aynı zamanda sistemik antikoagülasyon sağlamalarına rağmen perivasküler kanama veya hematoma neden olmamışlardır. Bu da kanama ve hematoma handikabını ortadan kaldırmış oluyor. Acil ve elektif cerrahide sistemik olarak enoksoparin veya fondaparinuksun vasküler anastomoz öncesi ve sonrasında trombüsün önlenmesi, vasküler patensin sağlanmasında kullanılabileceğini düşünüyoruz

Anahtar Kelimeler: Trombüs modeli, mikroanastomoz, fondaparinuks, enoksoparin, lokal heparin.

8. SUMMARY

TO COMPARE THE EFFICIENCY OF FONDAPARINUX, ENOXOPARIN AND HEPARIN PREVENTING THROMBOSIS IN FEMORAL ARTERY AND VEIN: AN EXPERIMENTAL STUDY

Aim: Before performing free tissue transplants in elective surgery, thrombus development and associated vascular occlusion can be prevented with anticoagulants or fibrinolytics in order to prevent thrombus in transplantation surgery and replants. The aim of this experimental study is to prevent vascular occlusion by preventing thrombus development by giving a control group local heparin before anastomosis, and enoxoparin, a low molecular weight heparin, to one of the experimental groups and fondaparinux, a new anticoagulant with few side-effects, to the other group. The aim in emergency and elective surgery is the systemic prevention of thrombus or the establishment of vascular patency with preoperative and postoperative systemic anticoagulants without the need for local procedures. Fondaparinux has previously been used with the aim of preventing thrombus and vascular occlusion before and after vascular anastomosis. There is no consensus on a treatment protocol for the prevention of thrombus in emergency and elective surgery. The results from antithrombotic or fibrinolytic studies in microsurgery are more advisory in nature. Our aim in this experimental microsurgical study is to contribute to treatment protocols for future studies directed toward the prevention of thrombus in microvascular anastomoses.

Materials and Methods: A vascular thrombus model was applied. The vascular thrombus model was applied to the femoral artery on the right and the femoral vein on the left. On the third day, a vascular thrombus model will be applied to all three groups. Three groups are involved, one control and two experimental. The control group was administered local heparin at 100 U/ml locally. The first experimental group will be given enoxoparin subcutaneously daily, at a dosage of 150 IU/ml (0.5 mg/kg), for 2 days. Following application of the thrombus model, daily 150 IU/ml enoxoparin will be given subcutaneously for 2 days. The second experimental group will be given fondaparinux subcutaneously daily, at a dosage of 0.2 mg/kg for 2 days. Following application of the thrombus model, 0.2 mg/kg fondaparinux will be given daily, subcutaneously, for 2 days. Acland test results obtained from the thrombus model applied to the right femoral artery and left femoral vein, blood value results and pathological assessment results were discussed and interpreted.

Results: Acland test assessment revealed that enoxoparin and fondaparinux exhibited the same effect on the rat femoral artery being patent at 72 h postoperatively, and a significantly better one than local heparin. Enoxoparin was effective in arteries that were patent at 20 min postoperatively remaining patent after 72 h. At Acland test analysis after 72 h postoperatively, fondaparinux was more effective in the rat femoral vein being patent than enoxoparin and local heparin. Although enoxoparin was to some extent more effective than local heparin, it gave a similar result. Fondaparinux was effective in veins that were patent at 20 min postoperatively remaining patent after 72 h. The effectiveness of local

heparin, enoxoparin and fondaparinux on all vascular structures in which a thrombus model was applied (total artery/vein) was compared using the Acland test at 20 min and 72 h postoperatively. Fondaparinux was more effective in all vascular structures (total artery/vein) being patent at both 20 min and 72 h. However, there was a decrease in all three groups in the number of total vascular structures patent at 20 min postoperatively remaining patent after 72 h.

PT, PTT and INR vales were higher in the group in which local heparin was applied compared to the other groups. PT, PTT and INR values were similar in the enoxoparin and fondaparinux groups. Hemoglobin, thrombocyte and fibrinogen values were similar in all three groups. The differences in the PT, PTT and INR values between the local heparin and enoxoparin groups, and in the PT, PTT and INR values between the local heparin and fondaparinux groups were significant. Perivascular bleeding and hematoma were evaluated. Postoperative bleeding occurred in one rat femoral vein in the enoxoparin group. The presence of hematoma was observed in the same rat femoral vein during exploration at 72 h postoperatively.

Histopathological examination results showed that enoxoparin and fondaparinux exhibited similar effects on the rat femoral vein being patent following application of a thrombus model, these effects being slightly better than that of local heparin. Fondaparinux gave a slightly better result in the rat femoral vein being patent than did enoxoparin and local heparin. Enoxoparin and local heparin gave the same result in the rat femoral vein being patent.

Fondaparinux gave a better result than enoxoparin and local heparin in all vascular structures (total artery/vein) in the rat femoral being patent. Enoxoparin and local heparin gave very similar results in all vascular structures (total artery/vein) in the rat femoral being patent.

Conclusion: We conclude that the pre- and post-operative administration of enoxoparin is effective in the rat femoral artery being patent and in the prevention of thrombus. However, the pre- and postoperative administration of fondaparinux was effective in the rat femoral vein being patent and in the prevention of thrombus. These drugs were superior to the administration of local heparin. At the same time, despite providing systemic anticoagulation, they did not lead to perivascular bleeding or hematoma. That eliminated the handicap of bleeding or hematoma. We think that in emergency and elective surgery, systemic enoxoparin or fondaparinux can be used to prevent thrombus before and after vascular anastomosis and in the establishment of vascular patency.

Key Words: Thrombus model, microanastomosis, fondaparinux, enoxoparin, local heparin.

9. KAYNAKLAR

1. Andresen DM, Barker JH, Hjortdal VE. Local heparin is superior to systemic heparin in preventing arterial thrombosis. *Microsurgery*. 2002;22:265-272.
2. Khouri RK, Cooley BC, Kunselman AR, Landis JR, Yeramian P, Ingram D, Natarajan N, Benes CO, Wallemark C. A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102:711-721.
3. Salemark L. International survey of current microvascular practices in free tissue transfer and replantation surgery. *Microsurgery*. 1991;12:308-311.
4. Porte RJ, Jong E, Knot EAR, de Maat PM, Terpstra OT, Urk H, Groenland HN. Monitoring heparin and haemostasis during reconstruction of the abdominal aorta. *Eur j Vasc Surg*. 1987;1:397-402.
5. Infanger M, Shakibaei M, Kossmehl P, Hollenberg SM, Grosse J, Faramarzi S. Intraluminal application of vascular endothelial growth factor enhances healing of microvascular anastomosis in a rat model. *J Vasc Res*. 2005;42:202-13.
6. Bates DO, Harper SJ. Regulation of vascular permeability by vascular endothelial growth factors. *Vasc Pharmacol*. 2003;39:225-237.
7. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol*. 2000;11:617-624.
8. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9: 669-976.
9. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280:1358-1366.
10. Hanasono MM, Butler CE. Prevention and Treatment of Thrombosis in Microvascular Surgery. *J Reconstr Microsurg*. 2008;24:305-314.
11. Khouri RK, Cooley BC, Kunselman AR. A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102:711-721.

12. Yii NW, Evans GR, Miller MJ. Thrombolytic therapy: what is its role in free flap salvage? *Ann Plast Surg.* 2001;46:601–604.
13. Nakatsuka T, Harii K, Asato H. Analytic review of 2372 free flap transfers for head and neck reconstruction following cancer resection. *J Reconstr Microsurg.* 2003;19:363–368.
14. Bui DT, Cordeiro PG, Hu QY, Disa JJ, Pusic A, Mehrara BJ. Free flap reexploration: indications treatment and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119:2092–2100.
15. Disa JJ, Cordeiro PG, Hidalgo DA. Efficacy of conventional monitoring techniques in free tissue transfer: an 11-year experience in 750 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104:97–101.
16. Jones NF. Intraoperative and postoperative monitoring of microsurgical free tissue transfers. *Clin Plast Surg.* 1992;19:783–797.
17. Farina JA, Piccinato CE, Campos AD, Rossi MA. Comparative study of isovolemic hemodilution with 3% albumin, dextran-40, and prophylactic enoxaparin (LMWH) on thrombus formation at venous microanastomosis in rats. *Microsurgery.* 2006;26:456–464.
18. Acland R. Thrombus formation in microvascular surgery: An experimental study of the effects of surgical trauma. *Surgery.* 1973;73:766–771.
19. Hupkens P, Cooley BC. Comparison of arterial and venous patency in a rat model of subendothelium-stimulated thrombosis. *Microsurgery.* 1996;17:226–229.
20. Kroll SS, Schusterman MA, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Robb GL, Baldwin BJ. Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg.* 1996;98:1230–1233.
21. Lan M, Li XL, Cooley BC, Gould JS. Microvascular salvage procedures with adjuvant antithrombotic therapy for restitution of patency in a rat model. *J Reconstr Microsurg.* 1992;8:201–205.
22. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins temel patoloji. In: Çevikbaş U, editor. 8th ed. Nobel Tıp Kitabevleri, 2008.
23. Junqueira LC, Carneiro J. Temel histoloji. In: Aytakin Y, Solakoğlu S, editors. Dolaşım sistemi. 10th ed. Nobel Tıp Kitabevleri, 2006;11:215-231.
24. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi fizyoloji. In: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, editors. Hemostaz ve kan pıhtılaşması. 11th ed. Nobel Tıp Kitabevleri, 2006;36:457-468.
25. Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji. 9.Baskı, Cilt 1s: 581-583.

26. Walenga MJ, Jeske P W, Bara L, Samama MM, Fareed J. Biochemical and pharmacologic rationale for the development of a synthetic heparin pentasaccharide. *Thromb Res.* 1997;86:1-36.
27. Samama M, Gerotziapas T. Evaluation of the pharmacological properties and clinical results of the synthetic pentasaccharide (fondaparinux). *Thromb Res.* 2003;109:1-11.
28. Drouet L, Bal dit Sollier C. Rationale for the use of antifactor Xa in the treatment and prevention of venous and arterial thromboembolic events. *European Journal of Clinical Investigation.* 2005;35:21-26.
29. Herbert JM, Petitou M, Lormeau JC, Cariou R, Necciari J, Magnani HN. A novel anti-factor Xa antithrombotic agent. *Cardiovasc Drug Rev.* 1997;15:1-26.
30. Bates SM, Weitz JI. The status of new anticoagulants. *British Journal of Haematology.* 2006;134:3-19.
31. Boneu B, Necciari J, Cariou R, Sie P, Gabaig AM, Kieffer G, Dickinson J, Lamond G, Moelker H, Mant T. Pharmacokinetics and tolerance of the natural pentasaccharide with high affinity to antithrombin III in man. *Thrombosis and Haemostasis.* 1995;74:1468-1473.
32. Walenga J, Jeske W, Bara L, Samama MM, Fareed J. Biochemical and pharmacological rationale for the development of a synthetic heparin pentasaccharide. *Thrombosis Research.* 1997;86:1-36.
33. Lagrang F, Vergnes C, Brun JL, Paolucci F, Nadal T, Leng JJ, Saux MC, Banwarth B. Absence of placental transfer of pentasaccharide (Fondaparinux, Arixtra) in the dually perfused human cotyledon in vitro. *Thrombosis and Haemostasis,* 2002;87:831-835.
34. Hassell K. The management of patients with heparin-induced thrombocytopenia who require anticoagulant therapy. *Chest.* 2005;127:1-8.
35. Bijsterveld NR, Moons AH, Boekholdt SM, Van Aken BE, Fennema H, Peters RJ, Meijers JC, Buller HR, Levi M. Ability of recombinant factor VIIa to reverse the anticoagulant effect of the pentasaccharide fondaparinux in healthy volunteers. *Circulation.* 2002; 106:2550-2554.
36. Bijsterveld NR, Vink R, Van Arken BE, Fennema H, Peters RJ, Meijers JC, Buller HR, Levi M. Recombinant factor VIIa reverses the anticoagulant effect of the long-acting pentasaccharide idraparinux in healthy volunteers. *British Journal of Haematology.* 2004;124:653-658.
37. Bates SM, Weitz JI. New anticoagulants: beyond heparin, low-molecular-weight heparin and warfarin. *British Journal of Pharmacology.* 2005;144:1017-1028.

38. Bayramiçli M. Deneysel mikrocerrahi: Temel araştırma, doku ve organ nakli modelleri. 1. baskı, Mayıs 2005.
39. Zhang B, Wieslander JB. Influence of early fibrinolysis inhibition on thrombus formation following microvascular trauma. *Microsurgery*. 1996;17:278-285.
40. Gravvanis AI, Tsoutsos DA, Lykoudis EG, Iconomou TG, Tzivaridou DV, Papalois AE, Patralexis CG, Ioannovich JD. Microvascular repair following crush-avulsion type injury with vein grafts: effect of direct inhibitors of thrombin on patency rate. *Microsurgery*. 2003;23:402-407.
41. Toft G, Ravin HB, Hjortdal VE. Intravenously and topically applied magnesium in the prevention of arterial thrombosis. *Thromb Res*. 2000;99:61-69.
42. Ravin HB, Kristensen SD, Hjortdal VE, Thygesen K, Husted SE. Early administration of intravenous magnesium inhibits arterial thrombus formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:3620-3625.
43. Sorensen HB, Kristensen AT, Ravn HB, Fuglsang J, Hjortdal VE. Local application of FFR-rFVIIa reduces thrombus formation at arterial anastomosis in rats. *Microsurgery*. 1999;19:369-373.
44. Barker JH, Acland RD, Anderson GL, Patel J. Microcirculatory disturbances following the passage of emboli in an experimental free-flap model. *Plast Reconstr Surg*. 1992;90:95-102.
45. Andersen DM, O'Saughnessy MM, Acland RD, Anderson GL, Schuscke D, Banis JC, Berker JH. Direct visualization and measurement of microsurgically induced thromboembolism. *Microsurgery*. 1994;15:413-420.
46. Fuglsang J, Ravn HB, Toft GE, Thorwest M, Husted SE, Hjortdal VE. Intravenous acetylsalicylic acid, magnesium and their combination in experimental arterial thrombosis in rats. *Blood Coag Fibrinol*. 1999;10:351-357.
47. Braam MJ, Cooley BC, Gould JS. Topical heparin enhances patency in a rat model of arterial thrombosis. *Ann Plast Surg*. 1995;34:148-153.
48. Farina JA, Piccinato CE, Campos AD, Rossi MA, Mazzer N, Llorach-Velludo MA. Effect of isovolemic hemodilution with 3% albumin on thrombus formation at venous microanastomosis in rats. *Microsurgery*. 2002;22:152-157.
49. Fu K, Izquierdo R, Walenga JM, Fareed J. Comparative study on the use of anticoagulants heparin and recombinant hirudin in a rabbit traumatic anastomosis model. *Throm Res*. 1995; 78:421-428.
50. Tomaru T, Nakamura F, Fujimori Y, Omata M, Kawai S, Okada R, Murata Y, Uchida Y. Local treatment with antithrombotic drugs can prevent thrombus

- formation: an angioscopic and angiographic study. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26:1325-1332.
51. Cooley BC, Li X, Dzwierzynski W, Gruel SM, Hall RL, Wright RR, O'Brien EM, Fagan D, Hanel DP, Gould JS. The de-endothelialized rat carotid arterial graft: A versatile experimental model for the investigation of arterial thrombosis. *Thromb Rus*. 1992;67:1-14.
 52. Cooley BC, Hanel DP, Gould JS, Li X, Smith JW. Antithrombotic benefit of subendothelium-bound urokinase: An experimental study. *J Hund Surg*. 1992;235-244.
 53. Li X, Cooley BC. Effect of anticoagulation and inhibition of platelet aggregation on arterial versus venous microvascular thrombosis. *Atin Plasr Sirrg*. 1995;35:165-170.
 54. Schumacher WA, Steinbacher TE, Heran CL, Megill JR, Durham SK. Effects of antithrombotic drugs in a rat model of aspirin-insensitive arterial thrombosis. *Thromb Huemost*. 1993; 69:509-514.
 55. Freund M, Mantz F, Nicolini P, Gachet C, Mulvihill J, Meyer L, Beretz A, Cazenave JP. Experimental thrombosis on il collagen coated arterioarterial shunt in rats: A pharmacological model to study antithrombotic agents inhibiting thrombin formation and platelet deposition. *Thronzb Hueniost*. 1993;695:15-52.
 56. Cooley BC, Ruds EJ, Wilgis EFS. Scanning electron microscopy of crush/avulsion arterial trauma: Effect of heparin and aspirin administration. *Microsurgery*. 1987; 8:11-16.
 57. Kroll SS, Miller MJ, Reece GP. Anticoagulants and hematomas in free flap surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1995;96:643-647.
 58. Ritter EF, Cronan JC, Rudner AM, Serafin D, Klitzman B. Improved microsurgical anastomotic patency with low molecular weight heparin. *J Reconstr Microsurg*. 1998;14:331-336.
 59. Wieslander JB, Dougan P. Washout of vessels with heparin does not improve patency following severe microarterial trauma: an experimental study. *Ann Plast Surg*. 1990;24:216-222.
 60. Cox GW, Runnels S, Hsu HSH, Das SK. A comparison of heparinized saline irrigation solutions in a model of microvascular thrombosis. *Br J Plast Surg*. 1992;45:345-347.
 61. Disa JJ, Polvora VP, Pusic AL, Singh B, Cordeiro PG. Dextran-related complications in head and neck microsurgery: do the benefits outweigh the risks? A prospective randomized analysis. *Plast Reconstr Surg*. 2003;112:1534-1539.

62. Ashjian P, Chen CM, Pusic A, Disa JJ, Cordeiro PG, Mehrara BJ. The effect of postoperative anticoagulation on microvascular thrombosis. *Ann Plast Surg.* 2007;59:36–40.
63. Mosesson MW. The roles of fibrinogen and fibrin in hemostasis and thrombosis. *Semin Hematol.* 1992;29:177–188.
64. Atchabahian A, Masquelet AC. Experimental prevention of free flap thrombosis. II: Normovolemic hemodilution for thrombosis prevention. *Microsurgery.* 1996;17:714–716.
65. Rothkopf DM, Chu B, Bern S, May JW. The effect of dextran on microvascular thrombosis in an experimental rabbit model. *Plast Reconstr Surg.* 1993;92:511–515.
66. Wiman D, O'strup LT, Enestro'm S. The effect of dextran on the incidence of thrombosis in microvenous Nakayama ring pin anastomoses. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1979;13:263–268.
67. Hadlock TA, Kim J, DeScheler DG. The effect of subcutaneously administered low-molecular-weight heparin on microarteria thrombosis in the rat. *Facial Plast Surg.* 2003;5:36-39.
68. Miyawaki T, Jackson IT, Elmazar H, Bier UC, Barakat K, Andrus L, Williams F. The effect of low-molecular-weight heparin in the survival of a rabbit congested skin flap. *Plastic And Reconstructive Surgery.* 2002;109.
69. Malm K, Dahlbäck B, Arnljots B. Low-molecular-weight heparin (dalteparin) effectively prevents thrombosis in a rat model of deep arterial injury. *Plastic And Reconstructive Surgery.* 2003;111.
70. Murthy P, Riesberg MV, Hart S, Bustillo A, Duque CS. Efficacy of perioperative thromboprophylactic agents in the maintenance of anastamotic patency and survival of rat microvascular free groin flaps. *Otolaryngology Head and Neck Surgery.* 2003;3:129.