

EKSPERİMENTAL TRANSKAROTİD MİKROVENÖZ KÖPRÜ ANASTOMOZLARDA TOMBORGENESİS VE ODAKLARI

Klinik, Anjiyografik ve SEM bulguları

Dr. İsmail Hakkı AYDIN (x)
Dr. Hans George IMHOF (xx)

ÖZET:

Bu çalışmamızda mikroanastomozlarda gelişebilen tromboz problemine ışık tutmak amacı ile, transkarotid mikrovenöz köprü anastomozlarda trombüs oluşumu ve odakları 12 sıçanda araştırmaya tabi tutuldu. Sıçanların sağ external jugular venleri kullanılarak iki end-to-side mikroanastomoz ile interkarotid by-pass yapıldı. Belli zaman aralıklarından sonra sıçanların anastomozları, operasyon mikroskobu altında klinik olarak değerlendirildi. Daha sonra anjiyografik incelemeye tabi tutulan denekler sakrifiye edilerek, anastomoz rezeke edilip scanning electron microscop (SEM) altında incelendiler.

GİRİŞ VE AMAÇ

Obstrüktif serebrovasküler lezyonlarda, Yaşargil ve arkadaşlarının mikroarteriyel rekonstrüktif nöroşirürjikal yöntemleri tanımlamalarından sonra, çeşitli araştırmacılarca değişik metodlar geliştirilmiş olmasına rağmen, halen klasikleşmiş bir yöntem bulunmamaktadır. (6,19,22). Günümüzde, ekstrakranial-Intrakranial by-pass ameliyatları popüler ise de greft rombosu önemli bir problem olarak karşımızda durmaktadır (1,9,12,17,19,20) Bu sahada bir çok çalışmalar yapılmıştır. Biz de bu problemeye ışık tutmak amacı ile, değişik bir mikrovasküler anastomoz modeli geliştirerek, trombogenezis ve trombus odaklarını incelemeyi uygun bulduk. Zira modelimizde her iki karotis arterinden grefte kan gelmekte ve staz oluşturmaktadır. Ayrıca iki taraftan yapılan mikrovenö-arteriyel-end-to-side anastomoz cerrahi travmayı arttırmaktadır. Bütün bunlar, tromboz riskini yükseltmektedirler.

(x) Ata. Üni. Tıp Fak. Nöroşirürji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi.

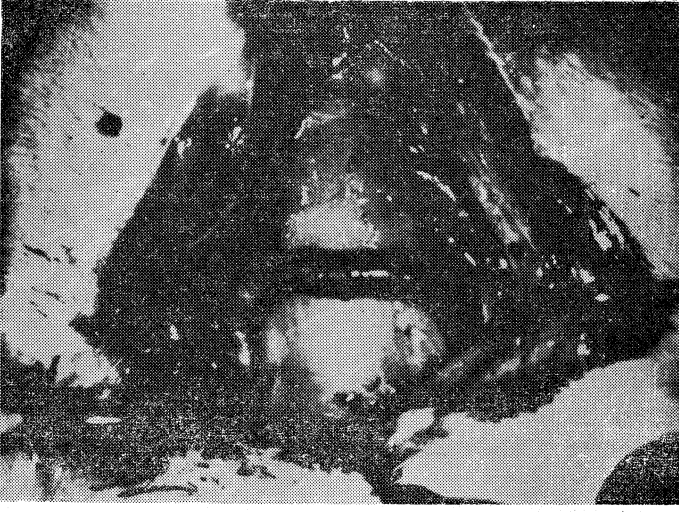
(xx) İsviçre-Zürih Üniversitesi Nöroşirürji Kliniği Baş Asistanı.

MATERYAL VE METOD:

Zürih Üniversitesi Nöroşirürji Kliniği Mikroşirürji Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilen bu çalışmamız, ortalama ağırlıkları 350 gr. olan 12 adet erkek ZBZcara sıçanı üzerinde yapılmıştır. Bu sıçanlar, 1 ml sinde 0,4 mg Fentanly ve 20 mg Droperidol bulunan Innovar-Vet (Cilag AG Schaffhausen-Switzerland) den 0,1-0,2 ml/100 g dozunda intramüsküler verilerek uyutuldu. İdame çok küçük dozlar kullanılarak sağlandı. Denekler, standart sıçan ameliyat tahtasına supin pozisyonda yatırılarak klasik şekilde, kuyruk, kol, bacak ve dişlerden tesbit edildi. Boynun ön kısmı traş edildikten sonra, klavikula seviyesinde, her iki sternocleidomastoid adalelerine uzanan transvers bir servikal cild ensizyonu yapıldı. Mikroşirürjikal teknik ile ortalama 1,1 mm, çapında olan sağ external jugular ven, çevre dokulardan diseke edilerek, adventisiası temizlendi. Dalları koterize edilip kesilerek 15 mm uzunluğunda bir serbest ven grefte elde edildi. 50 ü/ml oranında Liquemin (F. Hoffman-La Roche et Cie, S.A. Bale, Switzerland) ihtiva eden irrigasyon serumu ile içerisi yıkandı ve serum fizyolojik solusyonu içine atıldı.

Daha sonra sağ karotis arteri, çevresindeki damar ve sinirler zedelenmeden, çıkış noktasında, bifurkasyon seviyesine kadar çevre dokulardan disekse edildi ve adventisiası temizlendi. İki temporar klip arasına alınan arterin tam orta medial kısmına, daha önce aynı sıçandan elde edilen ven greftinin distal ağzı dik açı ile end-to-side şekilde anastomoz yapıldı. Bu anastomoza 1 nolu odak adı verildi. Sıçanın sol karotisi-de, aynı şekilde-diseksedilerek ven greftinin proksimal ucuna dik açı ile end-to-side anastomoz yapıldı. Buraya 2 nolu odak ve ven-greftinin tam orta kısmına da 3 nolu odak adı verildi. Böylece transkarotid mikroarterio-venöz by-pass tamamlanmış oldu. Mikroanastomozlar 10-0 nylon ipekle, her birine 12-16 sütür atılarak gerçekleştirildi (Resim 1).

Transkaratoid ven by-pass'ı yapılan bu 12 sıçan, anastomoz bitiminden hemen sonra, 10 uncu dakikada, 30 uncu dakikada, 1 inci saatte, 4 üncü saatte ve 24 üncü saatlerde olmak üzere 6 farklı zaman süreci ikişer ikişer incelemeye tabi tutuldular. 24 saat süre sonu için incelemeye alınan hayvanların ven greftlerini, çevre doku kompresyonundan korumak için, anastomoz işlemi bitiminden sonra submandibular tükürük glandları rezeke edilmiş ve daha sonra cild dikişleri ile kapatılmıştır. Zaman süreçleri boyunca takip edilen hayvanların anastomozları, interval sonunda ameliyat mikroskopu altında klinik olarak incelendi. Anastomozların açıklık testi, itibarı ile fonksiyonları, var olan bir trombüsü yerinden oynatarak özellikle SEM incelemelerini etkileyebileceği düşüncesi ile, kasık O'Brien-Hayhurst açıklık testi ile (10) değerlendirilmeyip, sadece ven greftindeki pulsasyon durumuna bakılıp fonksiyon tayini yapıldı. Trombüsün yeri ve miktarı, yüksek magnifikasyonlu (X 40) ameliyat mikroskopu altında, trombüsün greft duvarında yaptığı renk değişikliği veboutlar ile tesbit edildi. Daha sonra, hayvanların karınları açılarak, aort renal arterin çıkış yerinin hemen distalinden kateterize edildi. Kateter arcus



Resim 1

aorta seviyesine kadar itilip tesbit edildi. % 60 lık Urografin'den (Schering AG Berlin-Mergkamen, W. Germany) 1-2 ml kateterden verilerek anjiografi yapıldı. Anjiografik olarak, anastomoz ve greftlerin açıklığı araştırıldı. Sol external jugular ven insize edilip kanın dışarı akması sağlandıktan sonra, sıçanların kalbine bir miktar anestetik madde enjekte edilerek öldürüldüler ve kateter yolu ile 80 ml Ringer laktat solusyonu perfüze edildi. Bu işlemten sonra, anastomoz yerleri ve -ven grefti anblok halinde çıkartılıp % 0.5'lik Gluter aldehyde çözeltisi içine atıldı. Alınan parçalar, gerekli teknik işlemlerin tamamlanmasından sonra SEM altında incelendiler. (jeol-scanning Microscope JSM-25 s; jeol, Peabody Massachussets. Zaman darlığı sebebi ile ilk ikideneğe anjiografi yapılmamıştır. Çünkü bu sıçanlar, anastomoz bitiminden sonra hemen hiç zaman geçmeden incelemeye tabi tutulmuşlardır.

BULGULARIMIZ:

Klinik ve Anigografik Bulgular:

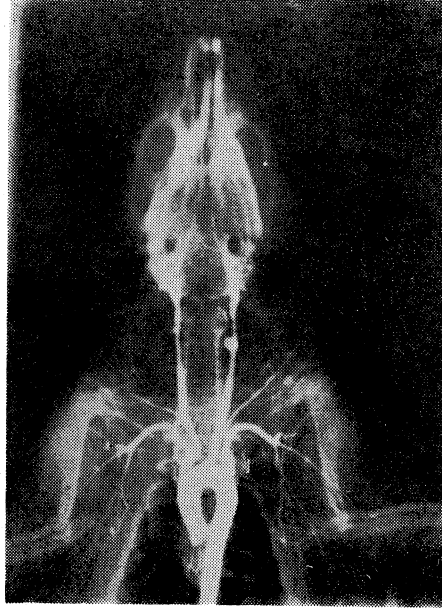
Çalışmamızdaki klinik ve anjiografik sonuçları' oluşan trombüslerin yer, derece ve tipleri şu şekilde dağılım gösteriyordu (Tablo I).

Tablodan da anlaşılabileceği gibi, ilk iki deneye anjiografi yapılmamış, diğerlerinin tümüne anjiografi yapılmıştır. Anjiografi yapılan sıçanların tümünde vizüalizasyon sağlanmış ve bunların 3 ünde, anjiografik olarak greft tromboze idi. Resim 2.

Tablo I:

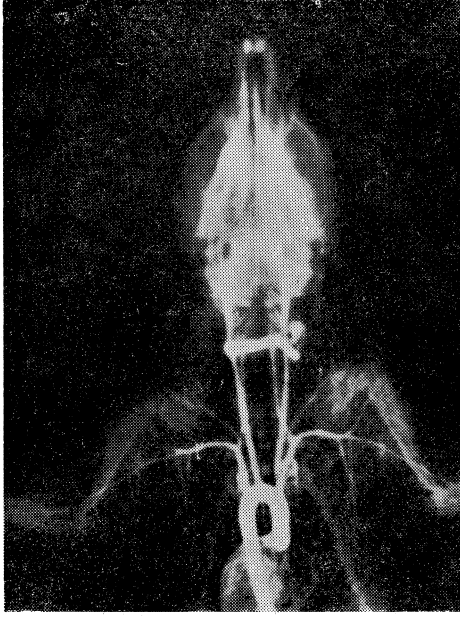
Rat-No.	Zaman Dilimi	1. Odak	2. Odak	3. Odak	Kln. Fonk %	Anjio Sonuçu
1	Hemen	—	—	—	100	Yapılmadı
2	“	—	—	X(f)	80	“
3	10.dk.	—	X(k)	—	80	Açık
4	“	—	—	X(k)	60	“
5	30.-dk.	X(k)	X(k)	X(f)	50	“
6	“	—	X(k)	XXX(f)	0	Kapalı
7	I saat	—	XX(f)	XX(k)	40	“
8	“	XX(k)	—	X(k)	70	Açık
9	4 saat	—	—	XX(k)	60	“
10	“	—	—	X(f)	90	“
11	24 saat	X(f)	X(f)	XXX(k)	0	Kapklı
12	“	X(f)	X(f)	XX(k)	80	Açık

X : Hafif derecede trombüs
 XX : Orta derecede trombüs
 XXX : Ağır derecede trombüs
 k : Kırmızı trombüs
 f : Fibrinoid trombüs



Resim 2

Diğerlerinde ise, greftler fonksiyona idiler. Resim 3.



Resim 3

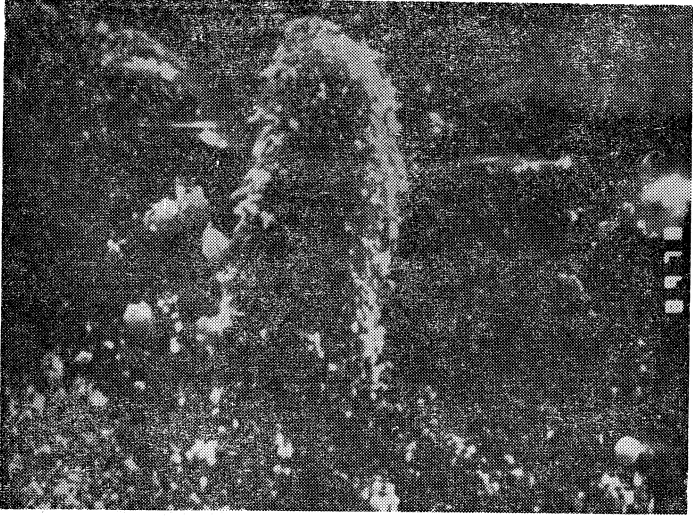
SEM Bulguları:

Anastomoz bitiminden hemen sonra SEM incelemesine tabi tutulan bir deneğin grefti tamamen açık olup sadece sütür hatlarında nadir eritrosit takıntıları görülmüyordu. Diğerinde ise; 3 nolu odakta fibrin, trombosit' lökosit ve eritrosit kümelerinde oluşan bir trombüsoturmuş, ancak kan akımına müsaaitti. Ayrıca sütür hatlarında hasarlı epitel kısımları seçiliyordu.

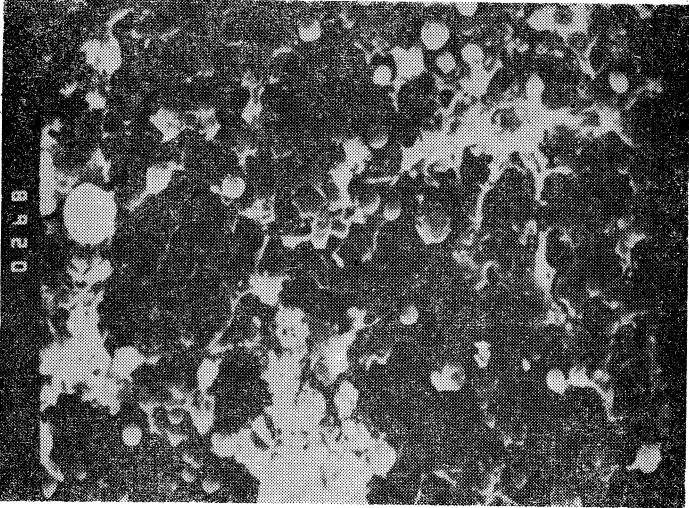
10 uncu dakikada incelenen deneklerin greftlerinin birinde 2 inci diğerinde 3 üncü üncü odaklarda eritrositten zengin bir trombüs mevcuttu. Her ikisinin de 1 ve 2 nolu odaklarındaki sütür hatları ve hasarlı epitel kısımları fibrin ağı, trombosit ve eritrositlerce örtülmüştü. Arteriyel ve venöz endotelin zedelenmesi, iğne ve klemp gibi mikroorşirujikal aletlerin yaptığı travma veya anastomoz uçlarının fazlaca çekiştirilmesine bağlı idi. Bu travmanın bir kanıtı olarak, endotelde krater veblep formasyonları tesbit edildi. Her iki denekte de greftler kan akımına müsaaitti.

30 uncu dakika sonunda incelenen greftlerin birinde de, 1 ve 2 inci odaklarda nadir trombositler ve bir kaç eritrosit görülmüyordu. Resim 4. 3 nolu odakta, eritrosit kümeleri tesbit edildi. Tüm odaklarda tek tek lökositler mevcuttu. Anastomoz hatlarında arter ve ven endotelini birbirinden farklılıklar gösteriyordu. Diğer şıçanda ise, 3 nolu odak fibrin ağırlıklı mural bir trombüs ile tamamen tıkalı idi. Bu

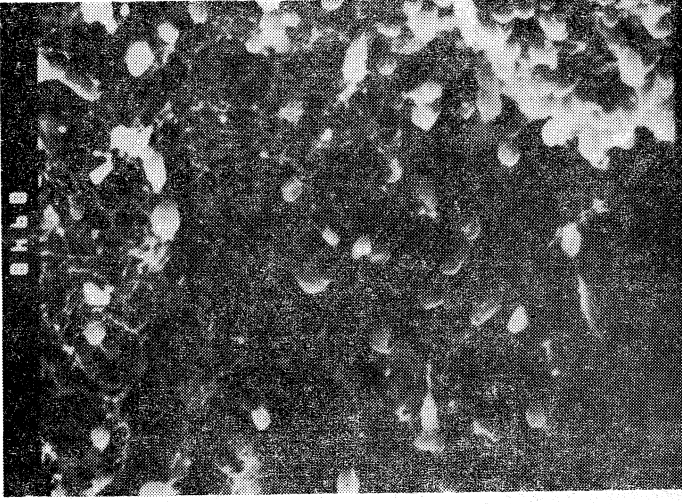
mural trombüsün üzerinde, bir kaç eritrosit, trombosit ve nadir lokositler yerleşim gösteriyordu. Resim 5 ve 6.



Resim 4



Resim 5



Resim 6

1 saat sonra sakrifiye edilen sıçanların greftlerinin birinde, 2 nolu odakta fibrin ağırlıklı, 3 nolu odakta ise, eritrosit ağırlıklı mural trombüsler mevcuttu. Diğerinde ise, I nolu odakta eritrosit kümeleri, 3 nolu odakta ise eritrosit, trombosit ve nadir lokosit yığılımı vardı. Anastomoz hatları, sütürlerin üzeri ve sütür delikleri yer yer trombosit ve fibrinden müteşekkil ince bir membran ile kaplı idi.

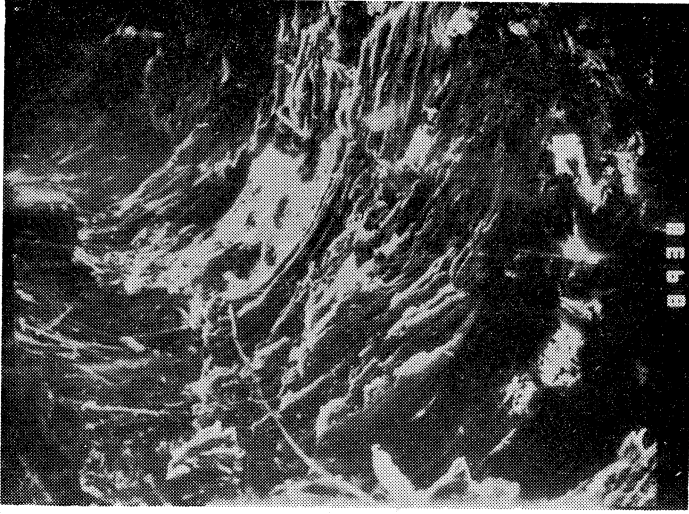
4 saatlik interval sonunda, her iki denekte 1 ve 2 nolu odaklar tamamen açık olup, bu anastomoz yerlerinde tek tük eritrositler görülüyordu. Anastomoz hatları ince, bir membran ile örtülmüştü. Ancak, 3 nolu odaklarda ise, eritrosit kümeleri ve bu kümelerin üzerinde fibrin, trombosit ve tek tük lokosit bulunuyordu.

24 saat sonra incelenen bir greftin lümeni mural trombüs ile dolu olup (Resim 7), trombüsün dansitesi 3 nolu odakta artış gösteriyordu.

Ancak anastomozların arteriyel tarafları tamamen açık olup kan akımına müsaaitti. Diğer sıçanda ise, her üç odakta da trombüs olmasına karşın greft fonksiyone idi. 1 ve 2 nolu odaklarda fibrin yığılımı, eritrosit, trombosit serpintileri görülüyordu. 3 nolu odakta trombosit kümeleri ve nadir lokositler göze çarpıyordu. Sütür hatlarında ve hasarlı endothel kısımlarda neoendotelizasyon olduğu tespit edildi.

TARTIŞMA

İlk olarak ven grefti transplantasyonlarını 1905 yılında gerçekleştiren Dr. A. Carrel'in, nazik davranarak damarların birbirine düzgün bir şekilde yaklaştırılması, damar uçlarının kuru tutulmaması ve devamlı nemli tutulmasının esas olduğunu 1907 yılında belirtmesi gerçekten çok ilginçtir. (4)



Resim 7

Khodadad (11), Maroon ve Donaghy (15) otojen ven greftlerini ilk olarak experimental incelemelerde kullanmışlardır. 1971 de ise, bu ven greftleri, Loughed ve arkadaşlarınca klinikte kullanılmıştır (13). Ancak, gelişen postoperatif greft trombozu, günümüze değin büyük bir problem olmuş, ve bu konuda bir dizi araştırmalar yapılmıştır (1,7,8,9,15,18). Anatomik özelliklerinden dolayı ven greftleri, arter greftlerine oranla gerek mekanik ve gerekse hemodinamik travmalardan daha fazla etkilenirler. Ancak otojen ven greftlerinin bol bulunması, kolayca elde edilebilirliği, endotel hücrelerinin hipoksiye daha dayanıklı oluşu, arter greftlerinde lokal iskemi korkusunun bulunması sebebi ile arter greftlerine üstünlük taşırlar (1,3,8,9, 15,18).

Mikroanastomoz yerlerinde, mikroşirürjikal travma sonucu gelişen trombüs ve greftten geçen kan akımı, ven greftlerinin oklüzyonunda en-etkin faktörlerdendir (5,11,15-17).

Biz de çalışmamızda, klinik önemi olmayı ancak mikroşirürji eğitiminde iyibir model olan transkarotid mikrovöz köprü anastomozlarda, öncelikle trombüsün hangi odaklarda nelere bağlı olarak oluştuğunu incelemeye çalıştık. Her ne kadar klinik ve anjiyografik sonuçlar araştırmamızda birbirine paralellik gösteriyorsa da, en kesin neticeleri SEM incelemelerinde elde ettik.

Trombüs oluşumu en çok sırası ile, 3. odak, 2. ve 1. odaklarda tesbit edildi. Deneklerimizin % 83.3 ünde 3. odakta çeşitli derece ve nitelikte trombüs mevcuttu. Bu muhtemelen her iki karotis arterinden gelen kan akımının greftin ortasında yavaşlama ve staza sebep olmasına bağlı idi. Nitekim greftten geçen kan debisi, hem trombosun başlamasına hem de, oluşan trombüsün büyümesine etki etmek-

tedir (1,21). Maroon ve Donaghy (15), Khodadad (11), Rosenbaum ve Sundt (20), kan akımındaki yavaşlama, girdaplaşma ve düzensizleşmenin kan elemanlarının çarpışmasına, sonuçta staz ve tromboza sebep olduğunu rapor ettiler. Araştırmamızda, greft ortasında oluşan trombüsün SEM incelemelerinde kantite itibarı ile de eritrositlerden zengin oluşu, bu fikri desteklemektedir.

2 inci odaktaki trombüsün 1 inci odaktakinden daha fazla oluşu, büyük bir olasılıkla travma sonucuidi. Zira; greftin ikinci odağının anastomozu, esnasında birinci o-
dağa nisbetle cerrahi güçlükler sebebi ile ve grefti rotasyona tabi tutmak gerektiği için daha fazla travma olmuştur. Bu da normalde nontrombojenik olan endotelin hasara uğramasına ve trombojenik subendotelial elemanların direkt kan elemanları ile temasa geçerek kuagülüm oluşumuna neden olmaktadır (8,9,14,20). SEM incelemelerinde fibrin ağırlıklı 2. odak trombüsü de bunu doğrulamaktadır.

İlk anastomozun mikroşirürjikal maniplasyonunun kolaylığı ve neticede damar duvarına olan travmanın minimal derecede olmasından dolayı, bu odakta en az oranda trombüs tesbit edilmiştir.

Rosenbaum ve Sundt (20), mikroanastomozlardan sonra ilk 15 dakikada trombüs formasyonunun maksimuma çıktığını, 30 uncu dakikada ise, eridiğini tesbit et-
ve Sundt (20) trombosit reaksiyonlarının 24 saatte stabil hale geldiğini bildir-
mişlerdir. Gelderman ve Berendson (8), Gertz ve arkadaşları (9) ve Rosembaum ve Sundt (20) trombosit reaksiyonlarının 24 saatte stabil hale geldiğini bildirmiş-
lerdir. Bu sebeple en uzun takip süresi olarak 24 saati aldık. Endotel hücrelerinin solunum ve metabolik aktiviteleri oldukça yüksektir. Bu sebeple, sütür hatlarının endotelizasyonu kısa sürede tamamlanmaktadır. Değişik teoriler olmakla birlik-
te, bir çok yazar re-endotelizasyonun travmatize bölgelerin kenarlarında kalan endotel hücrelerinden geliştiği fikrindedirler (2,8,18). Bizim SEM incelemelerimizde, endotel hücrelerinin rejeneratif aktivitelerinin bir kanıtı olan mikrovillilerin görül-
mesi de bu fikri desteklemektedir. Ayrıca çalışmamızda, sütür hatlarının 24 inci saatte endotelize olmaya başlaması, Gelderman ve Berendson (8) ve Rao ve ar-
kadaşlarının (18) deneyimleri ile aynı pareleldir.

SUMMARY

THROMBOGENESIS AND IT'S LOCATIONS IN EXPERİMENTAL MODEL OF TRANSCAROTİD MICROVENOUS BRIDGE ANASTOMOSIS IN RATS

Thrombogenesis and it's locations upon the transcarotid microvenous bridge anastomosis were investigated in 12 rats. Using right external jugular vein graft, double end-to-side anastomosis were performed between the two carotid arteries. All the rats were sacrificed and clinic, angiographic and sacanning electron microscop (SEM) investigations were performed on certain time intervals. In conclusi-
on; increased thrombus formation is seen in the midline of the grafts.

REFERANSLAR

- 1- Bannister CM, Chapmon SA: Long-term effects of heparin on veins grafted into the common carotid arteries. A Scanning Electron Microscopic Study. *Neurol Reseach* 1 (2): 121-131, 1979.
- 2- Bannister CM, Mundy LA, Mundy JE: Comparative merits of autogenous arterial and venous by-pass grafts as alternatives to direct arterial anastomosis. In Schmiedek P (ed): *Microsurgery for Stroke*. Springer-Verlag, New-York, Heidelberg, Berlin 1977, pp. 105-118.
- 3- Biemer, E.: Vein grafts in microvascular surgery. *Brit j Plast Surg* 30: 197-199, 1977.
- 4- Carrel, A: Results of the transplantation of blood vessels, organs and limbs. *JAMA* 14: 1662-1667, 1908.
- 5- Crowell RM, Yaşargil MG: End-to-side anastomosis of superficial temporal artery to middle cerebral artery brachn in the dog.
- 6- Crowell RM, Yaşargil MG: Experimental microvascular autografting, *j Neurosurg* 31: 101-104, 1969.
- 7- Epstein MH: Externa carotid-middle cerebral artery bypass using free graft bypass. In Fein JM, Reichman OH (eds: *Microvascular Anastomoses for Cerebral Ischemia*. Springer-Verlag New-York, Heidelberg, Berlin 1978, pp. 178-180.
- 8- Geldermann RW, Berendson W: Re-endothelisation of microvascular carotid end-to-side anastomosis in the rats. A scanning electron microscopic study. *J Neurosurg* 51: 785-795, 1979.
- 9- Gertz SD, Kurgan, A: Wajnberg RS, Nelson E: Endothelial cell damage and thrombus formation following temporary arterial occlusion. Effects of tretreatment with Aspirin or Heparin. *j Neurosurg* 50: 578-586, 1979.
- 10- Hayhurst, jW, O'Brien McC: An experimental study of microvascular technique, patency rates and related factors. *Brit j Plast Surg* 28: 128-132, 1975.
- 11- Khodadad G: Extracranial intracranial by-pass grafts. *j Neurol Neurosurg and Psychiatry* 35: 522-526, 1972.
- 12- Kletter G: *The Extracranial intracranial Bypass Operation for Prevention and Treatment of Stroke*. Springer-Verlag Wien New-York 1979. pp. 112-128.
- 13- Loughheed WM, Marshall BM, Hunter M et al: Common carotid to Intracranial internal carotid by pass venous graft. Technical Note. *j Neurosurg* 34: 114-118, 1971.

- 14- Maffei FHA, Rollo HA, Fabris VE: Prevention of experimental venous thrombosis induced by contrast medium in the rat. *Acta Radiologica Diagnosis* 20: 249-252, 1980.
- 15- Maroon jC, Donaghy, RMP: Experimental cerebral revascularisation with autogenous grafts. *j Neurosurg* 38: 172-179, 1973.
- 16- Nishikawa M, Yaşargil MG, Yogi N, Fish U: Experimental extracranial-intracranial anastomosis. *Surg Neurol* 8: 249-253, 1977.
- 17- Rao VK, Morrison WA, Angus JA, O'Brien McC: Comparison of vascular hemodynamics in experimental models of microvascular anastomoses. *Plast and Reconst Surg* 71, 241-247, 1983.
- 18- Rao VK, Nightingale G, O'Brien McC: Scanning electron microscope study of microvenous grafts to artery. *Plast and Reconst Surg* 71: 98-106, 1983,
- 19- Razaboni RM, Greco MA, Harper AD et al: The effects of preservation on the microvascular vein grafts in rats. *j Microsurg* 3: 65-71, 1981.
- 20- Rosenbaum TJ, Sundt TM: Thrombus formation and endothelial alterations in microarterial anastomoses. *j Neurosurg* 47: 430-441, 1977.
- 21- Szylagyi DE, Whitcomb JG, Schenker W, Waipel P: The laws of fluid flow and arterial grafting. *Surgery* 47 (1): 55-73, 1960.
- 22- Yaşargil MG: Experimental small vessel surgery in the dog including patching and grafting of cerebral vessels and for formation of functional extra-intracranial shunts. In Donaghy RMP, Yaşargil MG (Eds.): *Microvascular Surgery*. Stuttgart, George Thime Verlag, 1967, pp. 87-126.