



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DONDURULARAK SAKLANAN İNSAN KADAVERİK İLİYAK DAMAR
GREFTLERİNİN MEKANİK, YAPISAL BÜTÜNLÜK VE MİKROBİYOLOJİK
AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Abdullah BOĞA

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2021



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DONDURULARAK SAKLANAN İNSAN KADAVERİK İLİYAK DAMAR
GREFTLERİNİN MEKANİK, YAPISAL BÜTÜNLÜK VE MİKROBİYOLOJİK
AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Abdullah BOĞA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof.Dr. Ekrem KAYA

BURSA – 2021

İÇİNDEKİLER

Özet.....	iii
İngilizce özet.....	v
Giriş.....	1
Genel Bilgiler	3
Damarların Genel Özellikleri.....	3
Damar Endoteli	5
Damarın Endotel Hücre Hasarına Yanıtı.....	7
Anastomoz Hattının iyileşmesi.....	8
Trombüs Oluşumu	9
Organ Naklinde Önemli Bir Komplikasyon - Vasküler Tromboz	10
Vasküler Greftler	11
Vasküler Allogreftler ve Koruma Yöntemleri	11
Soğuk Depolama Yöntemi.....	12
Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi.....	12
Kriyoprotektan ile Dondurma (Kriyoprezervasyon) Yöntemi.....	13
Gluteraldehit ile Greftlerin Korunması Yöntemi.....	14
Gereç ve Yöntem.....	16
Greftlerin Çıkarılması ve Saklanması	16
Greftlerin Çözdürülmesi ve Karşılaştırılması	17
Mikrobiyolojik Değerlendirme.....	18
Histopatolojik İnceleme.....	18
Işık Mikroskopik Değerlendirme ve Morfometrik Analiz.....	19
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	20
Anastomoz Patlama Basıncı Testi	21
Bulgular	25

Işık Mikroskopik Bulgular	26
Taramalı Elektron Mikroskopik Bulgular.....	33
Damar Patlama Basıncı Testi	40
Mikrobiyolojik Değerlendirme.....	41
Tartışma ve Sonuç.....	42
Kaynakça.....	48
Teşekkür.....	53
zgemiř.....	55

ÖZET

Planlanan tez çalışmasında, kadaverik donörlerden organ çıkarımında alınan iliyak arter ve ven greftlerinin kriyoprotektan çözeltisi kullanmaksızın, sefazolinle dekontamine ederek -24°C'de standart dondurucuda, ne kadar süre saklanabileceklerini ve greftlerin kullanımının uygun olup olmayacağını, greftlerin yapısal bütünlüğü, mekanik ve mikrobiyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, Ocak 2018 – Haziran 2021 tarihlerinde 20-89 yaş arası 28 farklı kadaverik donörden alınan 28 arter, 26 ven iliyak damar grefti kullanılmıştır. Saklanma sürelerine göre greftler taze, 0-6 ay, 6-12 ay, 12-24 ay ve 24 ay üzeri olacak şekilde gruplandırıldı. Çözdürülen greftler steril ortamda kesit alınarak üreme varlığı açısından değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirme için örnekler ışık mikroskopunda internal elastik lamina (İEL) bütünlüğü, tunika media kalınlığı ve morfolojik inceleme sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Endotel morfolojisinin değerlendirilmesi için örnekler taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenerek skorlama sistemiyle karşılaştırıldı. Mekanik test için sağ ve sol ana iliyak damarlar in vitro anastomoz edilerek anastomoz patlama basıncı karşılaştırıldı.

Donörlerin gruplar arası demografik verileri benzerdi. Saklanma süresine göre greftlerin patlama basıncı arasında farklılık yoktu. Mikrobiyolojik analizde hiçbir greftte kontaminasyon gözlenmemiştir. Işık mikroskopide damarların tunika media kalınlığı gruplar arası farklılık yoktu. Arterlerin İEL fragmantasyonunda farklılık yok iken reduplikasyonda 24 ay üzeri örneklerde anlamlı olarak artış göstermekteydi. Tunika mediada ödem, hyalinizasyon, bağ dokusu artışı ve yer yer nekroz alanları izlenmiştir. SEM incelemede endotel yapısı 12 ay öncesi saklanan greftlerin çoğu grade 1 ve grade 2 izlenirken 12 ay üzeri saklanan greftlerde grade 3, grade 4 ve grade 5 görünüm mevcuttu.

Bu saklama prosedürü ile 12 ay üzeri saklanan greftlerin endotel yapısında belirgin dejeneratif değişiklikler saptandığından kullanımları problemlili olabilir.

Anahtar kelimeler: Vasküler allogreftler, kriyoprezervasyon, organ nakli.

SUMMARY

Mechanical, Structural and Microbiological Evaluation of Stored by Freezing Human Cadaveric Iliac Vessel Grafts

This study aims to evaluate the mechanical, microbiological properties and structural integrity of the stored by freezing grafts, how long they can be stored in a standard freezer at -24°C after being decontaminated with cefazolin without using cryoprotectant solution, and whether the grafts are suitable for use or not after this treatment.

In our study, 28 artery and 26 vein iliac vein grafts were taken from 28 different cadaveric donors between the ages of 20-89 between January 2018 and June 2021 were used..These grafts were grouped as fresh, 0-6 months, 6-12 months, 12-24 months and over 24 months old based on their storage time. Thawed grafts were cross-sectioned in a sterile environment and evaluated for the presence of growth. For histopathological evaluation, the samples were compared with the internal elastic lamina (IEL) integrity, tunica media thickness and morphological examination results under the light microscope. For the evaluation of endothelial morphology, the samples were examined under scanning electron microscope (SEM) and compared against the scoring system. For mechanical testing, the right and left common iliac vessels were anastomosed in vitro and anastomotic burst pressures were compared.

The demographic data of the donors were similar among the groups. There was no difference between the burst pressure of the grafts based on the storage time. No graft contamination was observed in the microbiological analysis. There was no difference between the groups in the tunica media thickness of the vessels under light microscopy. While there was no difference in the IEL fragmentation of the arteries, it showed a

significant increase in the samples over 24 months in reduplication. Edema, hyalinization, increase in connective tissue and areas of necrosis were observed in the tunica media. In the SEM examination, most of the grafts whose endothelial structure was stored before 12 months were observed to be grade 1 and grade 2, while the grafts stored for more than 12 months had grade 3, grade 4 and grade 5 appearances.

With this storage procedure, grafts stored for more than 12 months can be problematic to use because significant degenerative changes in the endothelial structure have been detected.

Key words: Vascular allografts, cryopreservation, organ transplantation.

GİRİŞ

İlk başarılı organ nakli 1954 yılında Joseph Murray tarafından yapılan ve ikiz kardeştan alınan böbrek nakli ile gerçekleştirilmiştir. İlk başarılı karaciğer transplantasyonu (KT) ise 1967'de Thomas Starzl tarafından yapıldı. İmmünsupresif ilaçların keşfedilmesi ile 1960'lardan itibaren organ nakli ivme kazanmış, son dönem karaciğer ve böbrek yetmezliğinin altın standart tedavisi haline gelmiştir (1-3).

Organ naklinin başarısı greftin vasküler yapısıyla doğrudan ilişkilidir. Vasküler tromboz, nadir olmakla birlikte erken greft kaybının üçte birinden sorumludur. Akut arteriyel tromboz insidansı KT için % 5 ile %17, böbrek nakli için ise %1 ile %7,5 arasında değişmektedir ve genellikle bu oran pediatrik alıcılarda daha yüksektir. Venöz tromboz insidansı ise böbrek nakli için %1 ile %8,2 arasında, KT için %2'den düşük oranda seyretmektedir (1,2,4).

Hem kadaverik organ naklinde meydana gelen vasküler komplikasyonlarda, hem de canlı vericili nakillerde greftteki damar yetersizliği sonucu rekonstrüksiyon amacıyla vasküler greftlere ihtiyaç duyulmaktadır(5). Sentetik vasküler greftler ile yapılan anastomozlarda, myointimal proliferasyon ve tromboza bağlı stenoz riskinin yüksek olması ve yaygın greft enfeksiyonu nedeniyle dondurularak saklanan kadaverik vasküler allogreftlerin(VA) kullanımı yaygınlaşmaktadır (6).

Dondurularak saklanan vasküler allogreftlerin çözdürülmesi sonrası enfeksiyon, mekanik özelliklerindeki değişiklikler, yapısal bütünlüğün bozulma derecesi ve tüm bu değişikliklerin saklama süresi ile ilişkisi henüz aydınlatılamamıştır (1,5,7). Yapılan çalışmalarda VA'nın +4°C'de serum fizyolojik (SF) solüsyonunda soğuk depolama tekniği, sıcaklığın +1°C'den -40°C'ye düştüğü yavaş dondurma tekniği, sıvı nitrojen ve dimetil sülfoksitin (DMSO) kullanıldığı; dokuların -120°C ile -190°C arasında bir soğukta dondurma tekniklerinin kullanıldığı anlaşılmaktadır. VA'nın saklanması

esnasında kriyoprotektan olarak Histidine-tryptophan-ketoglutarate(HTK) solüsyonu, Universty of Wincosin(UW) solüsyonu, Euro-collins solüsyonu, %10-15 DMSO gibi çözeltilerin kullanıldığı, dekontaminasyon için de lincomycin, mefokcin, colimisin ve vankomisin içeren antibiyotikli solüsyonların kullanıldığı görülmektedir (8-10).

Tüm bu saklama yöntemlerinin amacı, allojenik vasküler greftin hasara, immünolojik değişikliklere veya greft açıklığında değişikliklere neden olmadan aynı zamanda steril şekilde uzun süre muhafaza etmektir (5,8,10). Bu greftlerin aktif organ nakli yapılan merkezlerde, -24°C de standart dondurucuda, kriyoprotektan çözeltisi kullanmaksızın, sefazolin ile dekontamine ederek saklanabileceği, maliyeti ucuz, prosedürü basit olan sürekli bir allojenik vasküler greft kaynağına sahip olunabileceği öngörülmektedir.

Çalışmamızda bu bilgiler ışığında merkezimizde -24°C'de dondurulmuş vaziyette bulunan vasküler allogreftlerin mekanik, mikrobiyolojik özelliklerini ve yapısal bütünlüğünün bozulma derecesini inceleyerek, kullanmadan önce ne kadar süre saklanabileceklerini ve bu greftlerin kullanımının uygun olup olmayacağını ortaya koymayı amaçladık.

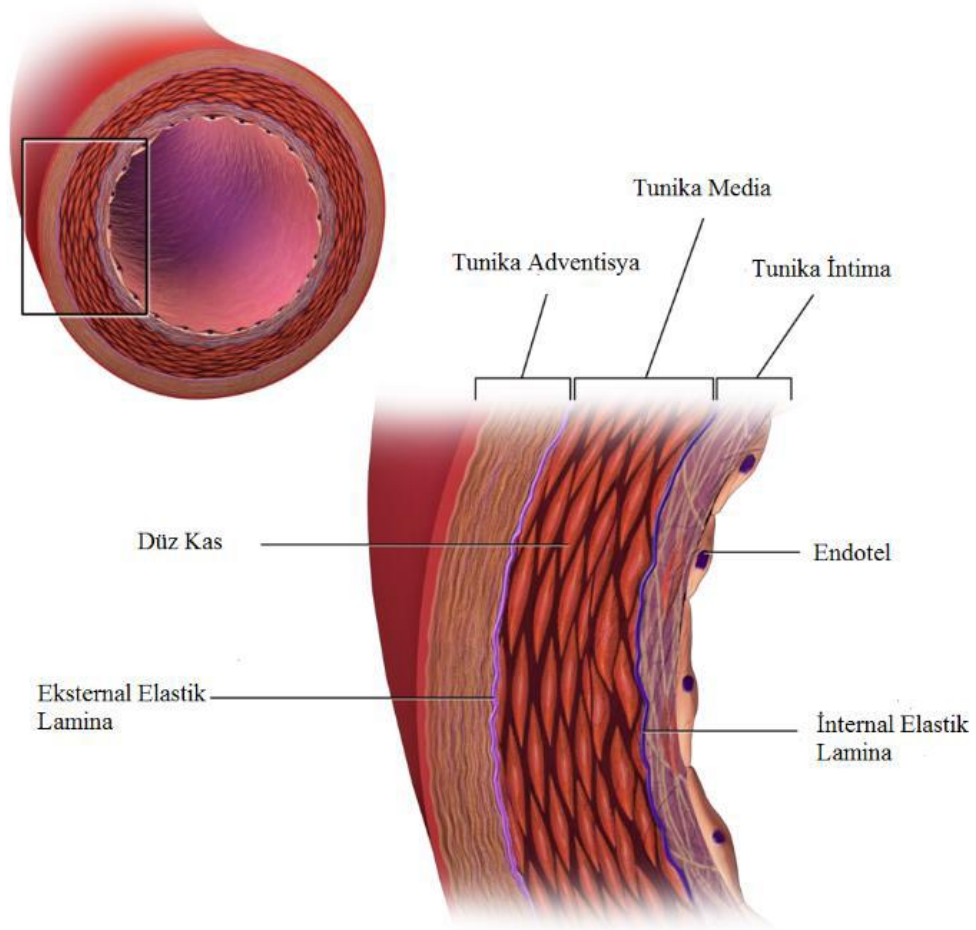
GENEL BİLGİLER

Damarların Genel Özellikleri

Arterlerin ve venlerin duvarları tunika denen üç tabakadan oluşmaktadır. **Tunika intima**, damarın en iç tabakasıdır. Üç komponentten oluşmaktadır: (a) tek tabaka halinde yassı epitel hücreleri olan endotel, (b) endotel hücrelerinin bazal laminası (başlıca kollajenden, proteoglikanlardan ve glikoproteinlerden oluşan ince bir ekstraselüler tabaka), (c) gevşek bağ dokusundan oluşan subendotelyal tabaka.

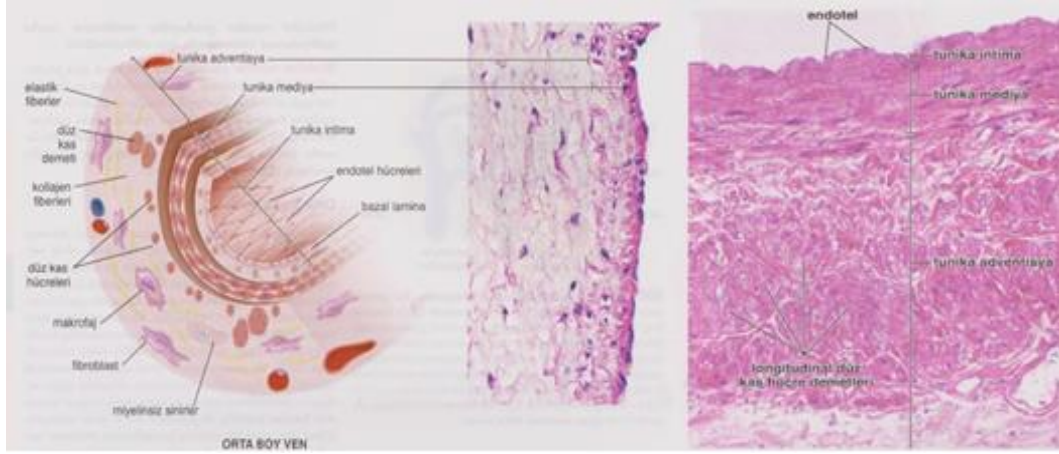
Gevşek bağ dokusunda seyrek olarak düz kas hücreleri bulunmaktadır. Arterlerde ve arteriyollerde intimanın subendotelyal tabakası internal elastik membran denen ve fenestralı elastik materyalden oluşan yaprak benzeri bir tabaka ya da lameller içermektedir. Fenestrasyon, maddelerin tabakalardan kolayca difüzyonuna ve damar duvarının derinlerindeki hücrelere ulaşmasına olanak sağlar.

Tunika mediya ya da orta tabaka primer olarak dairesel düzenlenmiş düz kas hücreleri tabakasından oluşmaktadır. Arterlerde bu tabaka nispeten kalındır ve internal elastik membrandan eksternal elastik membrana uzanmaktadır. Eksternal elastik membran, tunika mediyayı tunika adventisyadan ayıran bir elastin tabakasıdır. Tunika mediyanın düz kas hücrelerinin arasında değişken miktarlarda elastin, retiküler fiberler ve proteoglikanlar bulunmaktadır. Elastinden oluşan yaprak ya da lameller fenestralıdır ve dairesel konsantrik tabakalar halinde düzenlenmişlerdir. Tunika mediyanın bütün ekstraselüler komponentleri düz kas hücreleri tarafından üretilmektedir (11).



Şekil-1: Arter duvar yapısı; endotel ve subendotel tabakayı içeren tunika intima, internal elastik lamina ile düz kas hücrelerini içeren tunika media (12).

Tunika adventisya ya da en dıştaki bağ dokusu tabakası, başlıca longitudinal düzenlenmiş kollajenöz dokudan ve az miktarda elastik fiberden oluşmaktadır. Bu bağ dokusu elemanları, damarları çevreleyen gevşek bağ dokusu ile kademeli olarak birleşir. Tunika adventisya, arteriyal sistemin büyük bölümünde nispeten inceyken, venül ve venlerde belirgin olarak kalınlaşır. Ayrıca büyük arter ve venlerin tunika adventisyası damar duvarındaki düz kas kasılmasını kontrol eden ve nervi vaskularis denen otonomik sinir ağının yanı sıra, damar duvarının kendisini besleyen ve vaza vazorum denen bir damar sistemi içermektedir.



Şekil-2: Bir orta boy venin şematik diyagramı ve fotomikrografı (11)

Damar Endotelı

Yetişkin insan vücudunda dolaşım sistemi yaklaşık 60.000 mil uzunluğunda, farklı büyüklükte damarlardan oluşmaktadır ve bunlar endotel denilen tek katlı yassı epitel ile döşelidir. Endotel; yassı, uzun ve çokgen şekilli, süreklilik gösteren bir endotel hücreleri tabakasından oluşmakta ve bu hücreler uzun eksenleri kan akımı yönünde olacak şekilde dizilmişlerdir. Endotel hücreleri, salgıladıkları medyatörler ile koagülasyonu, fibrinolizisi, damar tonusunu, dolayısıyla kan akışı ve kan basıncını düzenlerken çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan endokrin bir organ niteliğindedir. (Tablo-1)

Endotel hücreleri, subendotelial alanda hemostazda rol oynayan fakat normalde endotel yüzeyinde bulunmayan kollajen, fibronektin, trombosit aktive edici faktör (PAF), von Willebrand faktör ve fibrinojen gibi pek çok adheziv glikoprotein bulundurur. Endotel bütünlüğünü bozan herhangi bir olayda açığa çıkan bu maddeler trombosit, koagülasyon faktörleri ve lökositler arasında bağlantı sağlar ve prokoagülan aktiviteyi yönetirler.

Antikoagülan aktivitesi, dolaşımdaki faktör VII'yi subendotelial doku faktöründen ayırarak trombositlerin subendotelial kollajen ve von Willebrand faktörü ile birleşmesini engelleyip trombosit aktivasyonunu ve agregasyonunu önler. Endotel hücreleri, aktive protein C ile birleştirildiğinde faktör Va ve VIIIa'yı inhibe eden bir kompleks oluşturan ve antikoagülan etki

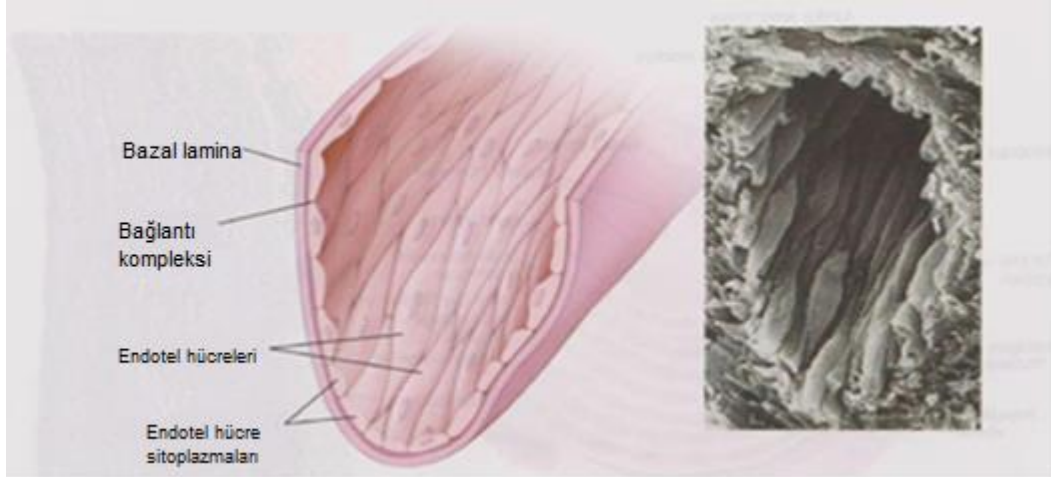
ile sonuçlanan protein S'yi sentezler ve salgılar. Heparin sülfat, antikoagülan aktivite taşıyan endotel hücresi tarafından sentezlenir. Trombomodulin de endotelial yüzeylerde bulunur ve trombini bağlayarak prokoagülan etkilerini inaktive eder. Trombomodulin ayrıca protein C'yi aktive ederek fibrinolizi artırır. Doku plazminojen aktivatörü (tPA), plazminojeni plazmine dönüştüren endotel hücreleri tarafından yapılır, bu daha sonra fibrin ve fibrinojeni parçalayarak fibrinoliz ile sonuçlanır.

Vasküler endotel, vazomotor tonus ve kan akışının düzenlenmesinde rol alır. Vasküler tonusun kontrolü temel olarak endotel tarafından üretilen nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI₂) ve endotel kaynaklı hiperpolarize faktör gibi vazodilatatörler ile endotelin-1 ve superoksid radikalleri gibi vazokonstriktörler arasındaki denge ile düzenlenir. PGI₂, güçlü bir vazodilatatör, trombosit agregasyonunun inhibitörü ve fibrinolitik bir ajandır. NO ve NO içeren bileşikler düz kasları gevşetir ve trombosit agregasyonunu inhibe ederler. Ayrıca, en güçlü vazokonstriktör olan endotelini ve angiotensin I'yi angiotensin II'ye dönüştüren güçlü vazokonstriktör angiotensin-converting enzimini (ACE) de salgılar.

İnflamasyonda da büyük rol oynayan endotelial hücreler inflamatuvar aktivasyona uğradıklarında selektinlerin, adezyon molekülü olan VCAM-1 ve ICAM-1 in ekspresyonu ile monositlerin adezyonunu artırır. Adezyon molekül ekspresyonu IL-1 ve TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinler ile, IL-6 ya cevap olarak CRP ile, proteaz aktive edici reseptör sinyalleri ile ve CD40/CD40 ligand (CD40L ve CD154) etkileşmesi ile indüklenir. Bir kere yapışan monositler endotel hücreleri arasından tunika intima'ya doğru hareket ederler. İntima tabakasına girdiklerinde makrofajları oluştururlar ve SR-A, CD-36, ve LOX-1 gibi çöpçü reseptörleri ile modifiye edilmiş lipoproteinlerin içlerine alınmasında rol oynar. Bu lipoprotein partiküllerinin içe alınması erken aterosklerotik lezyonların karakteristik özelliği olan lipid yüklü makrofajlara veya köpük hücrelerinin oluşmasına neden olur.

Endotelin diğer fonksiyonları gibi, damar geçirgenliğinde de aktif rol oynar. Lipofilik ve düşük molekül ağırlıklı hidrofilik maddeler engellenmeden kan ve dokular arasında hareket edebilirler. Fakat damarlar makromoleküller için seçici olarak geçirgendir. İntravasküler ve

ekstravasküler sıvı dengesinin sürdürülebilmesi için bu yarı seçici bariyer gereklidir (11,13-15).



Şekil-3: Endotelin diyagramı ve tarama elektron mikrosrafı (11)

Damarın Endotel Hücre Hasarına Yanıtı

Endotel zedelenmesi tromboz, ateroskleroz ve hipertansif vasküler lezyonlar gibi çeşitli patolojik süreçlerde rol oynar. Endotel hücresi kaybına neden olan damar zedelenmesi düz kas hücre proliferasyonunu ve eş zamanlı matris sentezini uyarır. Prolifere olan düz kas hücreleri intimaya göç ederler. Bu süreç sonucunda endotel hasarı bölgesinde intakt bir endotel tabakası içeren neointima oluşur. İntimal düz kas hücrelerinin migratuar, proliferatif ve sentetik aktiviteleri trombositler, endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından salgılanan büyüme faktörleri, sitokinler, aktive koagülasyon ve kompleman faktörleri ile düzenlenmektedir. Neointima oluşumu damar duvarının herhangi bir zedelenmeye karşı verdiği kalıplaşmış bir yanıtıdır (14).

Tablo-1: Endotel hücrelerinin özellikleri

Özellik/Fonksiyon	Medyatörler/Ürünler
Geçirgenlik bariyerinin korunması	
Antikoagülan, antitrombotik, fibrinolitik düzenleyicilerin salınımı	Prostasiklin Trombomodülin Heparin benzeri moleküller Plazminojen aktivatörü
Protrombotik moleküllerin salınımı	Von Willebrand faktör Doku Faktörü Plazminojen aktivatör inhibitörü
Ekstrasellüler matriks üretimi	Kollajen, proteoglikanlar
Kan akımı ve vasküler reaktivitenin düzenlenmesi	Vazokonstriktörler:Endotelin, ACE Vazodilatatörler:NO, prostasiklin
İnflamasyon ve immünitinin düzenlenmesi	IL-1, IL-6, kemokinler Adezyon molekülleri:VCAM-1, ICAM, E-selektin, P-selektin, Doku uygunluk antijenleri(HLA)
Hücre büyümesinin düzenlenmesi	Büyüme uyarıcıları:PDGF, CSF, FGF Büyüme İnhibitörleri:Heparin , TGF- β
LDL oksidasyonu	

ACE: Angiotensin dönüştürücü enzim. **CSF:** Koloni uyarıcı faktör. **FGF:** Fibroblast büyüme faktörü. **ICAM:** İntersellüler adezyon molekülü **IL:** İnterlökin. **LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein. **NO:** nitrik oksit. **PDGF:** Trombosit kökenli büyüme faktörü. **TGF- β :** Transforming büyüme faktörü- β . **VCAM:** Vasküler hücre adezyon molekülü (14).

Anastomoz Hattının iyileşmesi

Uygun bir anastomozda amaç bazal membran ile internal elastik laminanın devamlılığının sağlanarak endotelial bütünlüğün korunmasıdır. Subendotelial alanla teması azaltılan trombositler anastomoz hattı üzerinde ince bir tabaka şeklinde dizilirler. Trombosit adhezyonu ve agregasyonu ilk 4-6 saat boyunca devam eder ve daha sonra trombosit sayısı azalmaya başlar. 3-7. günlerde trombositler belirgin olarak azalır ve fibrinolizis aktivasyonu ile duvar yapısında görülmezler. Anastomoz oluşturulduktan sonra saatler içerisinde nötrofiller çoğalmaya başlar ve 3. günden sonra yerlerini makrofajlara bırakırlar. Makrofajlar 3.-7.günler arasında belirgin olarak gözlenirler ve daha sonra giderek sayıları azalır. Anastomoz hattı 5. günde trombosit, fibrin ve lökositlerden oluşan psödointima ile kaplanır. 8. günden itibaren endotelizasyon belirgin hale gelir ve 14 günde tamamlanır. Bu dönemde fibrin ve trombüs artıklarının

tamamına yakını uzaklaştırılmıştır. Başlangıçta düzensiz yapıda olan endotel tabakası 8 haftada remodelingi tamamlayarak düz hale gelir (15,16).

Trombüs Oluşumu

Tromboz sürecinin başlaması Virchow triadı olarak da bilinen endotel hasarı, staz ve hiperkoagülopati ile meydana gelir. Tromboz trombositlerin damar iç yüzüne yapışıp kümeleşmesiyle başlar. Primer trombüs yalnızca trombositlerden ve çok az fibrinden oluşur. Normal koşullarda endotel hücreleri trombositlerin yapışmasını ve kümeleşmesini engeller, ürettikleri medyatörleri etkisizleştirir. Trombin, trombosit kümeleşmesini tetikleyen önemli bir medyatördür. Endotel hücreleri trombin varlığını algıladığı anda prostasiklin (PGI₂) üreterek trombosit kümeleşmesini engeller. PGI₂'nin ikinci bir işlevi de vazodilatasyondur. Vazodilatasyonla genişleyen damarlardan hızla akan kan toplanan trombositleri uzaklaştırır. Ortamda beliren ve trombosit kümeleşmesini uyaran adenosin difosfat (ADP) endotel hücreleri tarafından adenin nükleotidlere dönüştürülür. Adenin nükleotidler trombosit kümeleşmesini engeller. Endotel hücreleri ürettikleri alfa-2 makroglobulin, heparin etkili maddeler ve trombomodülin gibi maddeler ile kanın pıhtılaşmasını inhibe ederler. Doku plazmin aktivatörü ve ürokin gibi ürünleriyle de fibrinolitik aktiviteyi tetiklerler. Antitrombotik ve fibrinolitik aktivitenin yetersiz kaldığı durumlarda fibrin çöküşü hızlanır, lökositler ile eritrositler bu ağın içine tutunurlar ve trombüs giderek büyür. Damar lümeninin tam kapanmadığı bu duruma mural trombüs denir. Süreç ilerlerse oluşan trombüs damar lümenini tamamen tıkayabilir ve oklüzif trombüs meydana gelir (15).

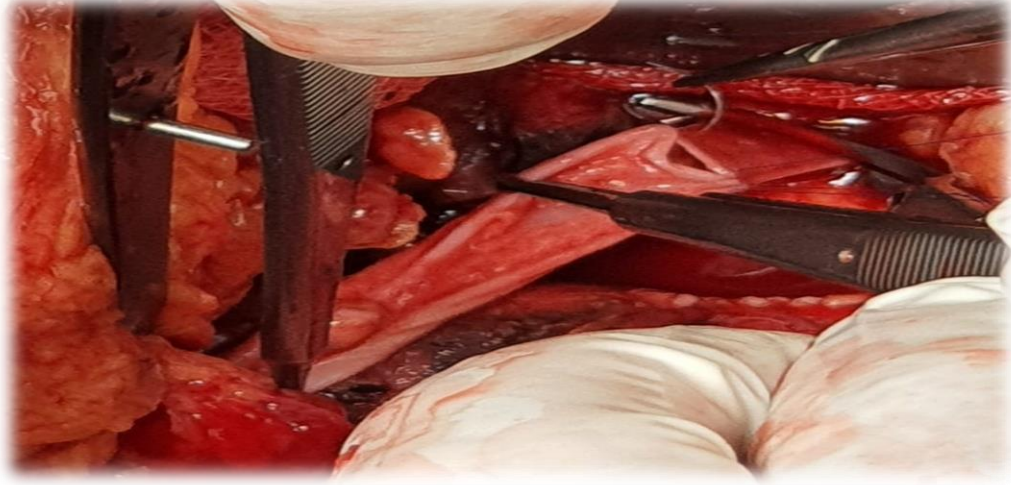
Organ Naklinde Önemli Bir Komplikasyon - Vasküler Tromboz

İmmün supresif ilaçların keşfedilmesi ile 1960'lardan itibaren organ nakli ivme kazanmış, son dönem karaciğer ve böbrek yetmezliğinin altın

standart tedavisi haline gelmiştir (1-3). Organ naklinin başarısı greftin vasküler yapısıyla doğrudan ilişkilidir. Arteriyel ve venöz greft trombozları nadir olmasına rağmen greft kaybına yol açan ve erken greft kayıplarının önemli bir kısmını oluşturan yıkıcı komplikasyonlardır. Vasküler trombozun ortaya çıkmasında rol oynayan en önemli risk faktörleri; donör yaşının 60'ın üzerinde olması, uzamış soğuk iskemi süresi, sigara kullanımı, vasküler endotelial hasar, ateroskleroz, hiperkoagülabilité, peroperatif veya postoperatif hemodinamik instabilite, tromboz öyküsü, pediatrik alıcılar ve greftin anatomik anomalileridir (2). Akut arteriyel tromboz insidansı KT'de %5 ile %17 arasında değişmektedir. Böbrek nakli için ise %1 ile %7,5 arasında değişmektedir ve genellikle bu oran pediatrik alıcılarda daha yüksektir. Venöz tromboz insidansı ise böbrek nakli için %1 ile %8,2 arasında, KT için %2'den düşük oranda seyretmektedir (1,2,4).

Vasküler komplikasyonlardaki kilit nokta erken teşhistir. Doppler ultrasonografi, tarama protokolleri ve tromboz tanısı için altın standart uygulanan tetkiktir. Erken tromboz tanısı konulan, özellikle organ hasarının olmadığı vakalarda acil revaskülarizasyon girişimleri tedavide ilk adım olmalıdır. Acil trombektomi ile rekanalizasyon sağlanamayan durumlarda vasküler rekonstrüksiyon yapılmalıdır(17). Vasküler rekonstrüksiyon için kullanılan greftler otojenik, allojenik veya politetrafloroetilen (PTFEE) gibi sentetik greftlerle olabilir (5).

Akut tromboz dışında vasküler greftler, karaciğer sağ lob greftleri kullanılarak canlı vericili KT yapılan olgularda vasküler greft interpozisyonu ile orta hepatik ven (OHV) rekonstrüksiyonunda, portal ven (PV) trombozlarında PV rekonstrüksiyonunda kullanılmaktadır. Benzer şekilde böbrek naklinde de kısa, hasarlı, çift renal ven veya arter anomalilerinde de vasküler greftler kullanılmaktadır (18,19).



Resim-1: Superior mezenterik ven–portal ven arası taze iliak ven grefti

Vasküler Greftler

Otojen safen ven (SV) , lokal enfeksiyon durumunda ve ekstremitelerde kurtarma cerrahisinde, yeniden enfeksiyona direnç ve lümen açıklığı açısından altın standart olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, venöz yetmezlik, varis cerrahisi öyküsü, daha önce revaskülarizasyon grefti olarak kullanılması ve organ nakli gibi daha geniş vasküler greftlere ihtiyaç olması durumlarında kullanımı sınırlı olmuştur. Bu nedenlerle sentetik ve allojenik vasküler greftlere yönelim olmuştur (20).

Otolog venlerin yerine politetrafloroetilen (PTFE) greftlerin kullanılması, bazı yüksek hacimli nakil merkezlerindeki yayınlarda olumlu sonuçları olmasına rağmen, OHV rekonstruksiyonu sonrası greft enfeksiyonu, tromboz, gastrointestinal penetrasyon ve komşu organ erozyonu gibi komplikasyonlar tespit edilmiştir (7,18). Canlı vericili KT'de kullanılan PTFE greftlerinin daha önce bildirilen düşük açıklık oranlarının bir hayvan çalışmasında gösterildiği gibi anastomoz bölgelerinde şiddetli subendotelial fibröz hiperplazi ve trombüsün neden olduğu lümen daralması sonucunda greft stenozu gelişmesine bağlı olduğu gösterilmiştir (21). Bu nedenlerle, dondurularak saklanan vasküler allogreftlere yönelim olmuştur (20).

Vasküler Allogreftler ve Koruma Yöntemleri

Vasküler allogreftler (VA) ilk olarak 1903'te Höpfner tarafından ve daha sonra Alexis Carrel ve Claude Guthrie tarafından 1908'de kullanılmıştır (22). Yıllar içerisinde VA kullanımında artış izlenmekte olup birçok koruma yöntemi geliştirilmiştir. Bu koruma ve saklama yöntemlerinin temel amacı, damarın yapısal hasarını en aza indirecek şekilde yapısal bütünlüğünü ve hemodinamik özelliklerini korumaktır (23).

Soğuk Depolama Yöntemi

VA'nın +4°C' de farklı solüsyonlar içerisinde, kısa süreli korunması için uygulanan yöntemlerdir.[8]Gross ve arkadaşları 1951 yılında VA'yı Tyrode çözeltisinde 2 ile 4°C arasında 6 hafta kadar saklamış ve hastalıklı abdominal aorta bu greftlerle revaskülarizasyon yapmıştır (24). Martinez ve arkadaşları 1–26 gün boyunca +4 °C'de Terasaki solüsyonunda (McCoys lenfosit kültür ortamı, sığır fetal serumu, HEPES tamponu, gentamisin) saklamıştır. Benzer şekilde Sellers ve arkadaşları L-Glutamin içeren antibiyotikli solüsyonda(240 ug/mL sefoksitin, 120 ug/mL linkomisin, 50 ug/mL vankomisin ve 100 ug/mL polimiksin B) +4-10 °C'de maksimum 30 gün saklamıştır (9). Bu prosedürün en önemli problemi, greftin belli bir süreden sonra parçalanması ve endotelyal bütünlüğünün kaybolmasıdır (8).

Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi

Liyofilizasyon, biyolojik materyallerin dondurulması ve vakum atmosferi altında oluşan buz kristallerinin süblimleştirilmesi işlemidir. Süblimleşme, katı maddelerin ısıtılınca ara bir hal olan sıvı hâle geçmeden doğrudan gaz hâle geçmesidir. Greftler -70 °C'de hızla dondurulur. 2 aşamalı süblimasyon-kurutma işlemine tabi tutulur;

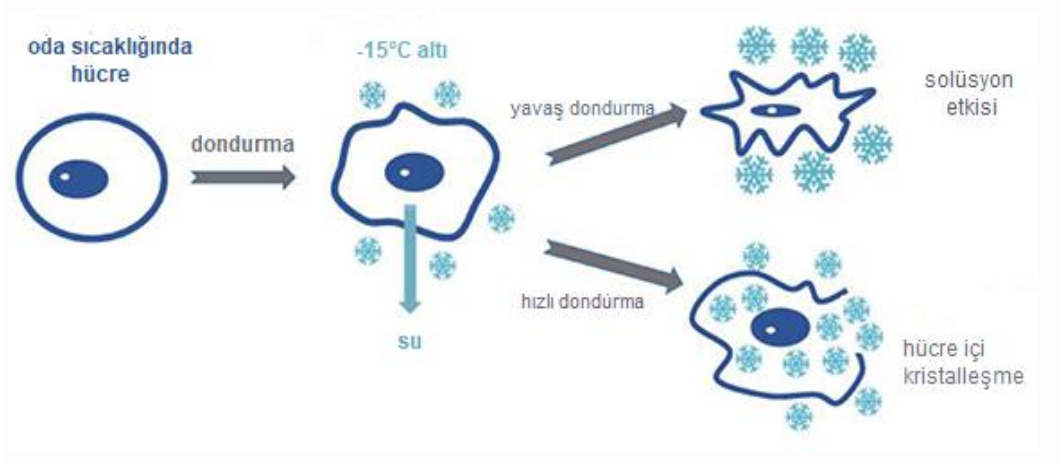
1-Donmuş greftlerden buzun yüksek vakum altında su içeriğinin %90-95 uzaklaştırılması,

2- Kalan nemin uzaklaştırılması işlemidir.

1949 yılında Debackey ve Hufnagel, arteriyel allogreftleri bu teknikle dondurarak kurutmuştur (25). Foster ve arkadaşları aynı teknikle 110 implante edilmiş allogreftte 2 rüptür ve 12 tromboz bildirmiştir. Bu prosedürle homogreftler 2 hafta ile 24 ay arası saklanmıştır. 40 vakada 18 ay üzeri saklanan greftler kullanılmıştır (26). Dondurarak kurutma yönteminin pahalı olması, uzun kurutma süreleri ve yüksek enerji ihtiyacı nedeniyle bu alanda kullanımı sınırlı olmuştur.

Kriyoprotektan ile Dondurma (Kriyoprezervasyon) Yöntemi

Hücreler hızlı dondurulduğunda ortamdaki tuz konsantrasyonu aniden artar ve osmotik basınçtaki artış sonucu hücreler büzülür ve ölür. NaCl içeren ortam hızla soğutulduğunda ise (> -15 °C/dak) hücre içi sıvıda kristalleşme görülür, hücre parçalanır ve ölür(Şekil-4). Bu sebeple hücreler dondurulurken su moleküllerini bağlamak, suyun kristalleşmesini yavaşlatmak, kristalizasyonun solütlerle eş zamanlı olmasını sağlamak temel çözüm olacaktır. Bu da kriyoprotektan denilen bağlayıcı ajanların kullanılmasıyla mümkündür. Böylece, kristalizasyon hızı yavaşlar, ani osmotik basınç artışı engellenir. En sık %10-15 Dimetil sülfoksit (DMSO), Gliserol, Histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solüsyonu, Universty of Wincosin (UW) solüsyonu, Euro-collins solüsyonu gibi kriyoprotektif maddeler kullanılmaktadır.



Şekil-4: Yavaş ve hızlı dondurmada hücrenin fizyolojik seyri

İlk olarak 1949'da Polge ve arkadaşları kriyoprotektan kullanarak sperm hücrelerini düşük ısılarda saklamayı başarmışlardır. O'Bryan ve arkadaşları 1975'te DMSO kullanarak kardiyovasküler dokuların uzun süreli depolanmasını tanıtmıştır. Kriyoprezerve edilmiş allogreftler düşük dozlu antibiyotik solüsyonunda 24 saat bekletildikten sonra sıvı nitrojen buhar fazında implantasyona kadar -196°C de dondurularak saklandı (27). Brockbank deneysel olarak allogreft ömrünün protein sentezi gibi hücre sel fonksiyonların korunmasına bağlı olduğunu ve DMSO ile -135°C 'nin altında bir sıvı nitrojen dondurucusunda saklanabileceğini gösterdi (28). Mestre ve arkadaşları İspanya doku bankasında penisilin, streptomisin ve amfoterisin B içeren antibiyotik solüsyonunda -196°C 'de sıvı nitrojen içinde kriyoprezerve edilen greftleri kullandı. Vasküler rekonstrüksiyon için 16 hastaya kriyoprezerve edilmiş 20 arteriyel allogreft implante etti ve kriyoprezerve arteriyel allogreftlerin klinik uygulamada başarılı bir şekilde kullanıldığını gösterdi (29). 1989 yılında Belçika ve diğer Avrupa ülkelerinde vasküler allogreft programı başlatan Avrupa Homogreft Bankası (EHB), vancocin, lincocin ve polymixin B karışımı hazırlanan solüsyonda greftler %10 DMSO'dan oluşan bir kriyoprotektan ile sıvı nitrojen içinde -174°C de sakladı (30). Kiefer, 179 hasta deneyimini yayınladığı makalede hem enfekte arteriyel protezlerin hem de doğal arterlerin anevrizmalarında 48 saatten 37 güne kadar 4°C 'de saklanan taze greftlerle ve doku bankasında kriyoprezerve edilmiş insan arterlerini kullanarak karşılaştırmıştır. Taze allogreftler yerine dondurularak saklanan allogreftlerin kullanılmasını önermiştir (31).

Gluteraldehit ile Greftlerin Korunması Yöntemi

Gluteraldehit (GA), esas olarak kollajen liflerinin amin gruplarına bağlanarak doku fiksasyonu yapar. Greftler oda sıcaklığında 20 dakika boyunca lümen içi 100 mm Hg basınç altında, sodyum fosfatlı %0.625 GA tamponu ile doldurularak fikse edilir. Fiksasyondan sonra 24 saat boyunca %0.625 GA tamponunda bekletilir ve %0,2 GA çözeltisinde veya %50 sulu etanolde saklanır. Bu korunmuş greftler, kullanımdan önce 30 dakika soğuk SF ile yıkanır (32). GA'nın vasküler allogreft korumasıyla ilgili tüm

makalelerde umbilikal venin kondit olarak kullanıldığı çalışmalardı. Bu biyogreftler GA tabaklanmış polyester dacron ağ ile kaplanmıştı. GA ile korunan greftlerin PTFE greftlerine kıyasla primer açıklık oranları daha yüksek bildirilmiştir. GA molekülünün vasküler dokudaki doku uyumluluğu antijen bölgelerini maskeleyiği gösterilmiştir (8).

Tüm bu saklama yöntemlerinin amacı ideal bir VA elde etmektir. Vasküler allogreft; yüksek greft açıklık, düşük greft parçalanma oranına sahip olmalı, immünsüpresif tedaviye ihtiyaç duymamalı, farklı çap ve uzunluklarda raflarda bulunmalı ve uzun süre saklanabilmelidir.

Aktif organ nakli yapılan merkezlerde, her an vasküler rekonstrüksiyon ihtiyacı olabileceğinden, vasküler doku bankası gereksiz süreli VA kaynağına sahip olması gerekmektedir. Kriyoprotektan çözeltilerinin pahalı olması, sıvı nitrojen azot tanklarının hastane şartlarında kullanımının zorluğu nedeniyle alternatif ve daha basit VA koruma yöntemi geliştirilmesi ihtiyacı doğmuştur.

Bu çalışmada -24 ° C sıcaklıkta dondurulmuş vaziyette bulunan vasküler greftlerin mekanik, mikrobiyolojik özelliklerini ve yapısal bütünlüğünün bozulma derecesini inceleyerek, ne kadar süre depolanarak kullanılabileceklerini test etmek, vasküler kaynaklı komplikasyonların engellenmesi için bu greftlerin kullanımının uygun olup olmayacağını ortaya koymak amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bursa Uludağ Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 18-08-2020 tarihli B.30.2.ULU.0.20.12.01-40-02.899 nolu karar ile etik kurul onayı alındı. Ocak 2018 – Haziran 2021 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Karaciğer Nakli için kabul edilen 28 farklı donörün fiziksel değerlendirmesi, tıbbi kayıtları ve tıbbi anamnezleri gözden geçirildi. AIDS, hepatit B, hepatit C, aktif tüberküloz gibi bulaşıcı hastalıkları olan ve malignite saptanan kadavra vericilerinden greft alınmadı. Beyin ölümü gerçekleşmiş olan donörün yaş, cinsiyet, BMI, komorbidite, beyin ölümü nedenleri gibi verileri analiz edildi.

Greftlerin Çıkarılması ve Saklanması

Organ bağışında bulunan ve beyin ölümü gerçekleşen donörün greftlerinin mikrobiyal ve fungal kontaminasyonunu önlemek için, tüm işlemlerde aseptik teknikler kullanıldı. Donör organ çıkarımı sırasında hepatektomi ve nefrektomi sonrası, iliyak arter ve ven homogreftleri eksternal iliak arter ve venin bir kısmını içine alacak şekilde çıkarıldı. Organ muhafaza solüsyonu olarak Universty of Wiscosin içeren steril bir kaptaki saklanan VA'lar soğuk zincirle organlarla beraber nakil merkezine ulaştırıldı. Back-table işleminde damar çevresi yağ dokuları çıkarıldı ve damar lümeni soğuk SF (0,1-10° C) ile yıkandı. Greftler ayrıca yapısal bütünlük, skleroz veya travma varlığı açısından da değerlendirildi. Dejeneratif, sklerotik veya travmatik değişiklikleri olan greftler çalışılmaya dahil edilmedi. +4°C de bekletilen greftler(taze greftler) nakil esnasında kullanılmaması durumunda saklanma prosedürüne tabi tutuldu. 100 ml SF içerisine 1gr sefazolin sodyum(10mg/ml) eklenerek hazırlanan solüsyonla yıkandı ve aynı antibiyotik solüsyonlu kapalı steril kaba konuldu ve devamlı ısı kontrolü yapılan derin dondurucu dolapta dondurularak (-24°C) saklandı.

Greftlerin Çözdürülmesi ve Karşılaştırılması

Ocak 2018 – Haziran 2021 yılları arasında aynı prosedürle saklanan 54 adet greft deneysel çalışmada kullanılmak üzere saklanma sürelerine göre gruplanarak mekanik, yapısal bütünlük ve mikrobiyolojik özellikleri yönünden kontrol grubu olan taze greftlerle karşılaştırmalı incelendi.

Bu gruplar kontrol grubu I. Grup (0-24 saat), II. Grup 0-6 ay, III. Grup 6-12 ay, IV. Grup 12-24 ay ve V. Grup >24 ay olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna 5 adet arter-5 adet ven, II. gruptan 5 adet arter-5 adet ven, III. gruptan 6 adet arter-4 adet ven, IV. gruptan 6 adet arter-6 adet ven ve V. gruba 6 adet arter-6 adet ven dahil edildi (Tablo-2).

Tablo-2: Çalışma grupları ve özellikleri

Grup	Saklama süresi	Arter	Ven	Toplam
Grup I	0-24 Saat	5	5	10
Grup II	0-6 Ay	5	5	10
Grup III	6-12 Ay	6	4	10
Grup IV	12-24 Ay	6	6	12
Grup V	>24 Ay	6	6	12

Dondurulmuş greftler çözülmesi için incelemeden önce 5 dakika oda sıcaklığında, sonra 37° C suda bekletildi. Çözülme işleminden sonra, greftler steril ameliyat masasında üç kez SF ile yıkandı. Hazır olan her greftlerde öncelikle 5 mm boyutunda tam kat kesilen parça mikrobiyolojik değerlendirme için tiyoglikolatlı buyyon besiyerine konuldu. Daha sonra histopatolojik değerlendirme için her greftten 1 cm boyutunda enine ve boyuna kesitler alınarak %10'luk formaldehit solüsyonu olan kaplara koyuldu ve fikse edildi.

Mikrobiyolojik Değerlendirme

Mikrobiyolojik değerlendirme için tiyoglikolatlı buyyon içerisine konulan örnekler 36°C sıcaklıkta inkübe edilerek 24, 48 ve 72. saatlerde üreme varlığını ifade eden bulanıklık açısından değerlendirildi. Bulanıklık gelişen besi yerlerinden katı besi yeri olarak %5 koyun kanlı agar eozilen metilen blue agar, sabouroud dekstroz agara pasaj yapılması aerob ortamda, CDC anaerob agara pasaj yapılarak, anaerob ortamda 36°C'de inkübe edilerek üreyen aerob, anaerob bakteri ve mantar izolatlarının (Bakteri izolatları MALDİ-TOF (Bruker, ABD), mantar izolatları API-ID 32C (Biomerieux, Fransa) sistemleriyle) tanımlanması planlandı.

Histopatolojik İnceleme

Çözdürülen damar örnekleri (arter ve ven), %0,9'luk NaCl solüsyonunda yıkandıktan sonra enine ve boyuna kesitler almak üzere bölünerek %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat süreyle fikse edildi. Fiksasyon sonrası rutin doku takibine alındı: Bu amaçla derecesi artan etanol serilerinde dehidre edilen dokular, sonrasında ksilen ile saydamlaştırıldı ve 56°C'de sıvı parafin impregnasyonunu takiben parafin bloklar haline getirildi. Parafin bloklardan mikrotom yardımı ile 5 µm kalınlığında enine ve boyuna seri kesitler alındı. Ardışık kesitler ışık mikroskopik düzeyde genel morfolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E) ile internal elastik lamina ve bağ dokusu yapılarının değerlendirmesi için de Verhoeff metotları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX50 fotomikroskop ile değerlendirildi ve fotoğraflandı.

Işık Mikroskopik Değerlendirme ve Morfometrik Analiz

Enine ve boyuna damar kesitleri, intimal kalınlaşma, internal elastik laminanın (İEL) bütünlüğü ve tunika mediada dejeneratif değişiklikler açısından değerlendirildi. Ek olarak tunika media'nın kalınlığı ölçüldü. Işık mikroskopik değerlendirmelerde örnek başına 100 µm aralıklarla alınan 10 enine/boyuna kesit kullanıldı. İnternal elastik laminanın bütünlüğünün histolojik değerlendirilmesinde enine kesitler kullanıldı ve aşağıdaki yapısal değişiklikler puanlandırıldı (33).

Arter greftlerinde İEL fragmentasyon ve reduplikasyon gözlenen morfolojik değişiklikler Tablo-3'te belirlenen kriterlere göre puanlandı. Ven greftlerinde ise İEL izlenmediği için değerlendirilmedi.

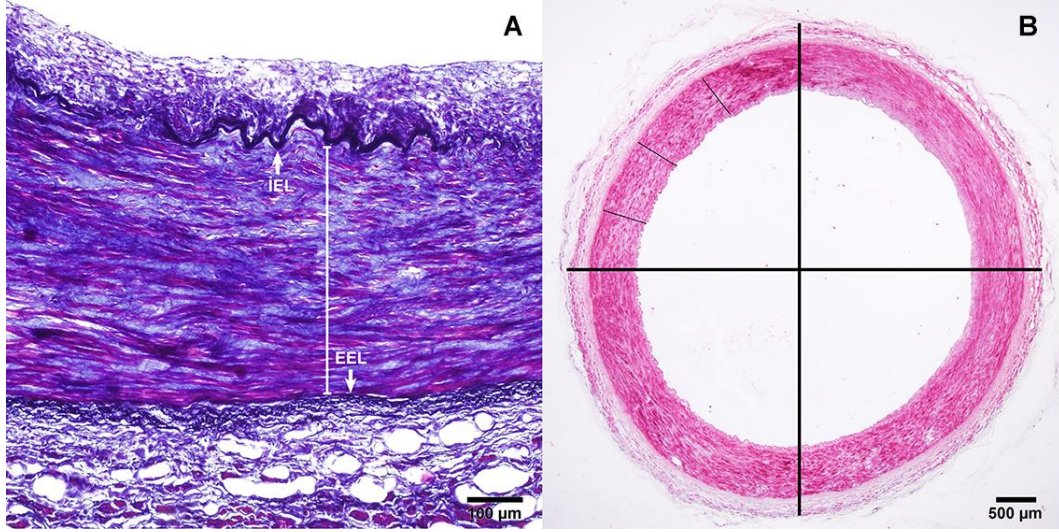
Tablo-3: Arterlerde İEL'nin değerlendirilmesinde kullanılan puanlama sistemi

Puan	İEL'de Gözlenen Yapısal Değişiklikler	
	Fragmentasyon	Reduplikasyon
1	Morfolojik olarak intakt İEL	
2 (Hafif)	Damar çapının ¼'ünü kapsayan yapısal değişiklik	
3 (Orta)	Damar çapının ¼-½'sini kapsayan yapısal değişiklik	
4 (Ağır)	Damar çapının ½'den fazlasını kapsayan yapısal değişiklik	

İEL: internal elastik lamina

Tunika medianın kalınlığı Verhoeff yöntemi ile boyanan enine kesitlerde, 20x objektif ile labSens (version 1.1; Olympus Soft Imaging Solutions, Hamburg, Germany) software programı kullanılarak ölçüldü. Ölçümler; arterlerde internal elastik lamina ile eksternal elastik laminanın tunika mediaya komşu olan yüzeyleri arasında (Şekil-5A), venlerde ise subendotel - tunika media sınırı ile tunika media - adventisya sınırı arasında yapıldı. Ölçümler için, 100 µm aralıkla alınan 10 kesitten her biri dört kadrana ayrıldı. Her kadrandan rastgele seçilen bir optik alanda 3 ölçüm

yapıldı(Şekil-5B). Her bir örnek için elde edilen 120 ölçümün aritmetik ortalaması alınarak tunika medianın kalınlığı hesaplandı (34).



Şekil-5: A. Arter greftlerinde ölçülen tunika media kalınlığı. B. Tunika media kalınlığının ölçümünde kullanılan yöntem.

Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope) (SEM)

Çözdürülen ve formaldehitte ilk fiksasyonu yapılan 3*4mm boyutundaki greft örnekleri, %2,5'lik Gluteraldehit solüsyonu içeren eppendorf tüpleri içerisine alınarak 4 saat bekletildi ve fiksasyon sağlandı. Fiksasyon sonrası örnekler 0,1 M Sörensen Fosfat Tamponunda (PBS) 15 dakika bekletilerek yıkama yapıldı ve bu işlem 3 kez tekrarlandı. Takiben % 1 'lik Osmium Tetraoksit içeren eppendorf tüpleri içerisine alınarak 1 saat bekletildi ve ikinci fiksasyonu sağlandı. Fiksasyon sonrası PBS de 3 kez tekrarlanan 15 dakikalık yıkama yapıldı. Daha sonra dokular % 50 'lik Etanolde 10dk, % 70 'lik Etanolde 10dk, % 90 'lik Etanolde 10dk, % 96'lık Etanolde 10dk ve Absolu Alkolde 15dk iki kez bekletilerek dehidratasyon işlemi yapıldı. Takiben Absolu Alkol / Amil Asetat; 2/1 oranında 15 dk, Absolu Alkol / Amil Asetat; 1/1 oranında 15dk, Absolu Alkol / Amil Asetat; 1/2 oranında 15 dk ve Saf Amil Asetatta 12 saat bekletilerek

saydamlaştırma işlemi tamamlandı. Kritik Nokta Kurutucu (BIO-RAD) ile kurutulan dokular, üzerinde her iki yüzeyi de yapışkan karbon bant bulunan alüminyum disklerle uygun şekilde yerleştirildi. Bu örnekler, BIO-RAD SC 502 kaplama cihazı yardımıyla Altın – Argon ile 250 saniye süre ile kaplandı. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarı'nda bulunan JEOL JSM-5200 taramalı elektron mikroskobu ile toplam 54 adet doku birbirinin benzeri en az 10 farklı alanda taranarak incelendi ve analog görüntüler alındı. Histopatolojik değerlendirmede endotelial bütünlük ve endotel hücrelerin yüzeysel morfolojisi değerlendirilip skorlandı (23).

Tablo-4: Endotel hücrelerinin yüzeysel morfolojisinin değerlendirilmesi, SEM skorlama (23).

Grade	Morfoloji
1	Morfolojik olarak sağlam endotelium; varsayılan fizyolojik değişiklikler, endotel hücrelerinin yüzeysel morfolojisi
2	Yapısal homojen olmayan birleşik endotelium; tek tek hücreler şeklindeki düzensizlikler ve zarlarındaki değişiklikler
3	Hücreler arası temasların bozulması; endotel tabakası sürekliliğinin kaybolması ve endotel hücreleri halen bazal membrana yapışık ve küçülmüş
4	Endotel hücrelerinin ayrılması; bazal laminadan ayrılmış endotel hücreleri, hücre kenarlarından lümeneye doğru çıkıntı yapmış
5	Endotelin tamamen kaybı; bazal laminanın açığa çıkmasıyla endotel tabakanın soyulması
6	Subendotelial tabakanın hasarı; lümen yüzeyi sadece bazal membran kalıntıları ile kaplı ve lamina fibroza ve lamina ventrikularis lif yapısı çözülmüş

Anastomoz Patlama Basıncı Testi

Greftin mekanik testi için sağ ve sol ana iliak arter, çap farkı olmayacak şekilde 5/0 prolene (Monofilament polypropylene 1/2 17mm, Coviden™, Ireland) ve paraşüt tekniği ile uç-uca anastomoz edildi (Resim-3D). Aynı sütür materyali kullanılarak uç uca sağ ve sol iliak ven anastomozu yapılarak hazırlanan greftler basınç ölçüm düzeneğiyle

anastomoz patlama basıncı değerlendirildi (Resim-4E). Aynı prosedür kontrol grubu olan taze greftler için de uygulandı.



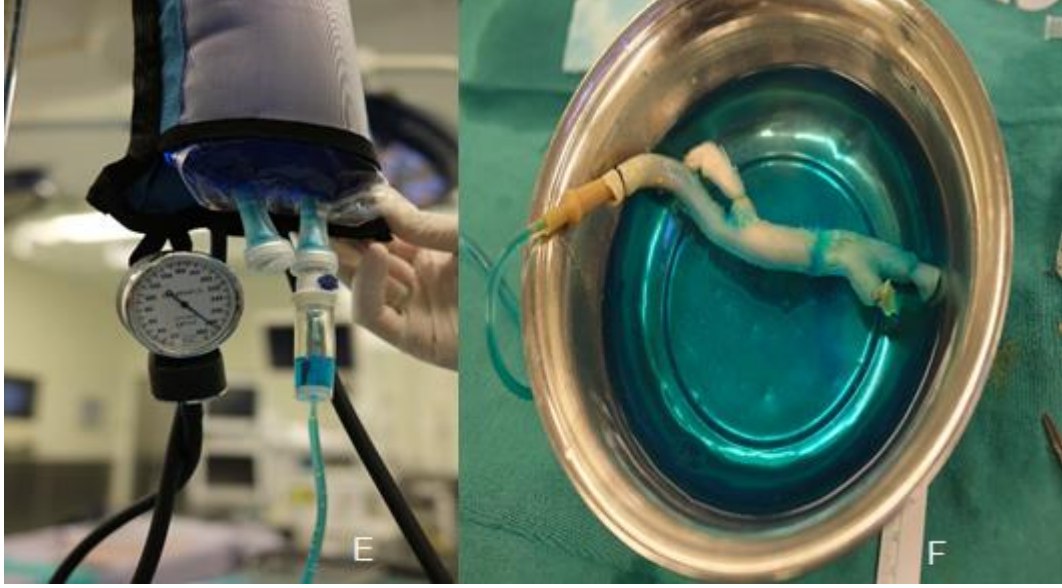
Resim-2: A. Steril kapta 37°C çözündürülen greftler. B. Çözündürülen greftlerin görünümü.

Çözündürülen greftler diseke edilerek tüm yan dallar bağlandı ve distal uç 3/0 ipekle bağlanarak kapatıldı (Resim-2B). Damarın proksimal ucu 20 G kanül ile kanüle edildi ve serum fizyolojik, metilen mavisi karışımı içeren çözelti kanüle bağlandı (Resim-3C).



Resim-3: C. Greftin kanüle edilmesi. D. Anastomoz yapımı.

Basınç başlangıçta 120 mmHg olarak ayarlandı. Mevcut damarda sızıntı yoksa damar çapı ve makroskopik özellikler kaydedilerek anastomoz yapımına başlandı (Resim-3D).



Resim-4: E. Basınç ölçüm düzeneği. F. Anastomoz hattının sızdırması

Bir kan basıncı monitörü, bir infüzyon torbası ve bir infüzyon setinden oluşan bir basınç ölçüm düzeneği yapıldı. Basıncı ölçmek ve kontrol etmek için ölçüm manşonu infüzyon torbasının etrafına sarıldı.



Resim-5: Anastomoz hattı ve çapı

Torba 5 ml metilen mavisi ile karıştırılmış 1000 ml serum fizyolojik ile dolduruldu (Resim-4E). Metilen mavisi, anastomozlardaki sızıntıyı görünür kılmak için kullanıldı. Ölçüme infüzyon torbasındaki basıncı 280 mmHg' ye yükselterek başlandı. Damarlar hazırlanan solusyon ile doldurularak metilen mavisinin görüldüğü basınç değeri kaydedildi (Resim-4F). Taze greftler ile çözdürülen greftler arasındaki patlama basıncı karşılaştırıldı (35,36).

Veriler IBM SPSS Statistics 26 programı kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı. $p = 0,05$ anlamlı kabul edildi. Parametrik veriler örnek sayısı azlığı nedeniyle normal dağılmadığı kabul edildi ve Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. Nonparametrik veriler ise Fisher's Exact testi kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı.

BULGULAR

Çalışmamız, Ocak 2018 – Haziran 2021 yılları arasında merkezimize KT için kabul edilen 28 farklı kadavra donörden elde edilen 28 adet arter ve 26 adet ven iliyak damarlar incelendi. Donörler 20-89 yaş arasında dağılım göstermektedir. Beyin ölümü SAK, anevrizma, intraserebral kanama ve serebral enfarkta bağlı gerçekleşmiştir.

Tablo-5: Demografik verilerin gruplar arası karşılaştırması

	Grup I Taze (n=5)	Grup II 0-6 Ay (n=5)	Grup III 6-12 Ay (n=6)	Grup IV 12-24 Ay (n=6)	Grup V >24 Ay (n=6)	p
Cinsiyet						
Kadın	4 (%80)	3 (%60)	2 (%33,3)	3 (%50)	3 (%50)	0,699 ^a
Erkek	1 (%20)	2 (%40)	4 (%66,7)	3 (%50)	3 (%50)	
Yaş	65 (20-81)	70 (60-81)	52 (26-57)	58 (42-89)	56 (36-85)	0,196 ^b
VKI	30 (22-41)	27 (23-31)	25 (24-27)	25 (21-29)	27 (24-31)	0,601 ^b
Sigara	0 (%0)	1 (%20)	6(%100)	2(%33,3)	3 (%50)	0,007^a
Alkol	0 (%0)	0 (%0)	3 (%50)	1(%16,7)	0 (%0)	0,095 ^a
DM	2 (%40)	2 (%40)	1(%16,7)	1(%16,7)	0 (%0)	0,185 ^a
HT	3 (%60)	4 (%80)	4(%66,7)	2(%33,3)	3 (%50)	0,675 ^a
KAH	1 (%20)	1 (%20)	0 (%0)	1(%16,7)	0 (%0)	0,604 ^a
KOAH	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1(%16,7)	0 (%0)	>0,99 ^a

Veriler, n(%) ve medyan (minimum-maximum) şeklinde yazılmıştır. **VKI**: Vücut kitle indeksi. **DM**: Diyabetes mellitüs. **KAH**: Koroner arter hastalığı. **KOAH**: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı. ^a: Fisher's Exact. Test ^b: Kruskal- Wallis H Testi.

Yaş, cinsiyet, VKI, kan grubu, DM, HT, KAH, KOAH ve alkol kullanımı açısından gruplar arası anlamlı farklılık yoktu. Sigara kullanımında gruplar arası anlamlı farklılık vardı (p=0,007). Alt grup analizlerde grup I ve

III arasında (p=0,002), grup II ve III arasında (p=0,015) anlamlı farklılıklar saptandı fakat diğer gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu.

Işık Mikroskopisi Bulguları

Işık mikroskopik olarak enine ve boyuna kesitleri değerlendirilen dondurularak saklanan iliak arter greftlerinin büyük bir kısmında intimal kalınlaşma, aterom plağı, İEL'de yapısal değişiklikler, tunika medyada dejeneratif değişiklikler ve medial skleroz gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlendi (Tablo-6).

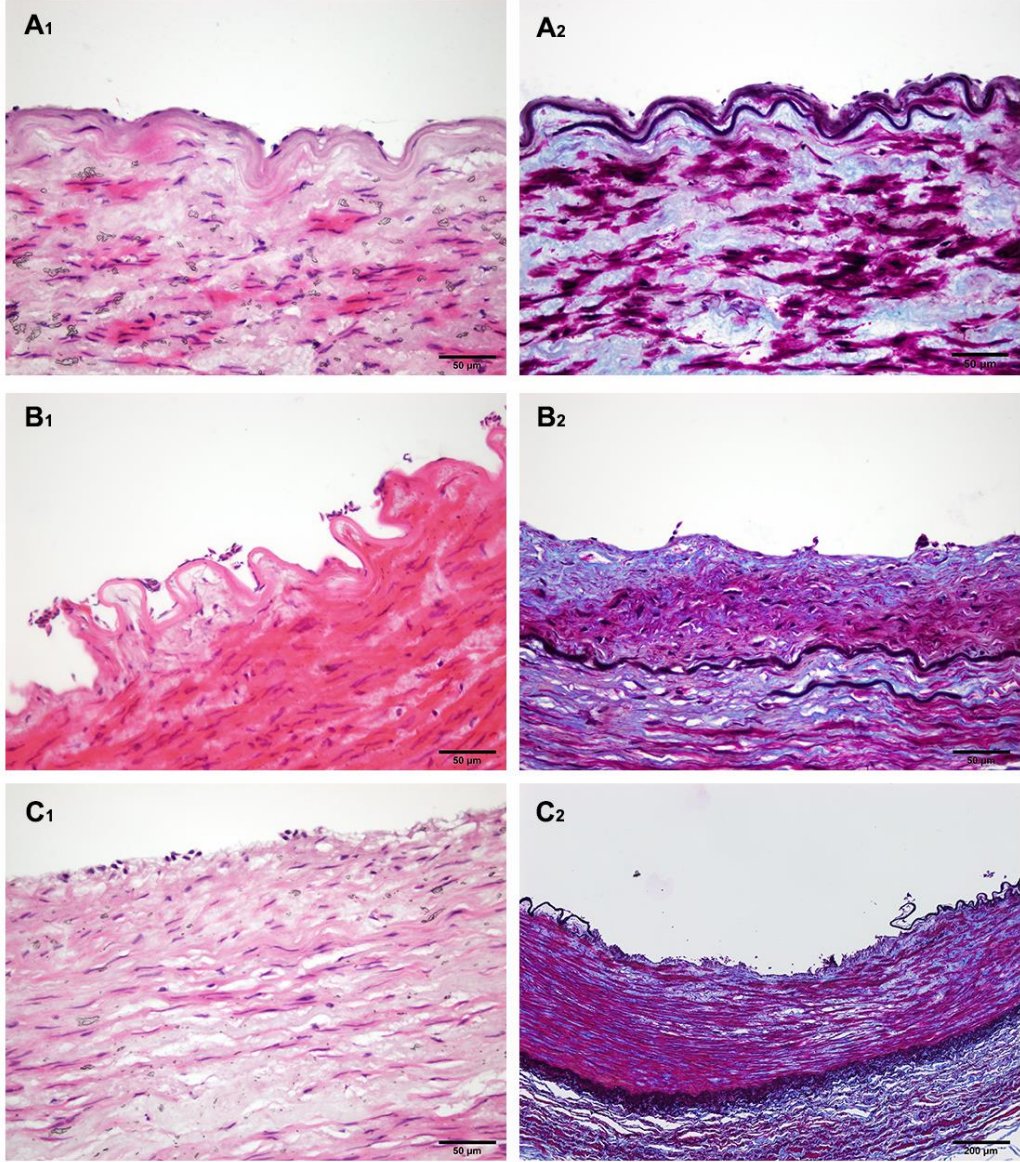
Tablo-6: Işık mikroskopik olarak değerlendirilen arter grefti gruplarında gözlenen histopatolojik değişiklikler.

	İntimal Kalınlaşma	Aterom Plağı	İEL'deki Değişiklikler		Tunika Mediadaki Dejeneratif Değişiklikler	
			Frag.	Redup.	Ödem/Hyalinizasyon/ Bağ Dokusu Artışı/Nekroz	Skleroz
Grup I (n=5)	5 (%100)	1 (%20)	5 (%100)	5 (%100)	Ö	0 (%0)
Grup II (n=5)	3 (%60)	1 (%20)	4 (%80)	3 (%60)	Ö-B-N-H	0 (%0)
Grup III (n=6)	4 (%66,7)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	5 (%83,3)	Ö-B-N-H	2 (%33,3)
Grup IV (n=6)	6 (%100)	0 (%0)	5 (%83,3)	6 (%100)	Ö-B-N-H	1 (%16,7)
Grup V (n=6)	4 (%66,7)	1 (%16,7)	6 (%100)	6 (%100)	Ö-B-N-H	1 (%16,7)

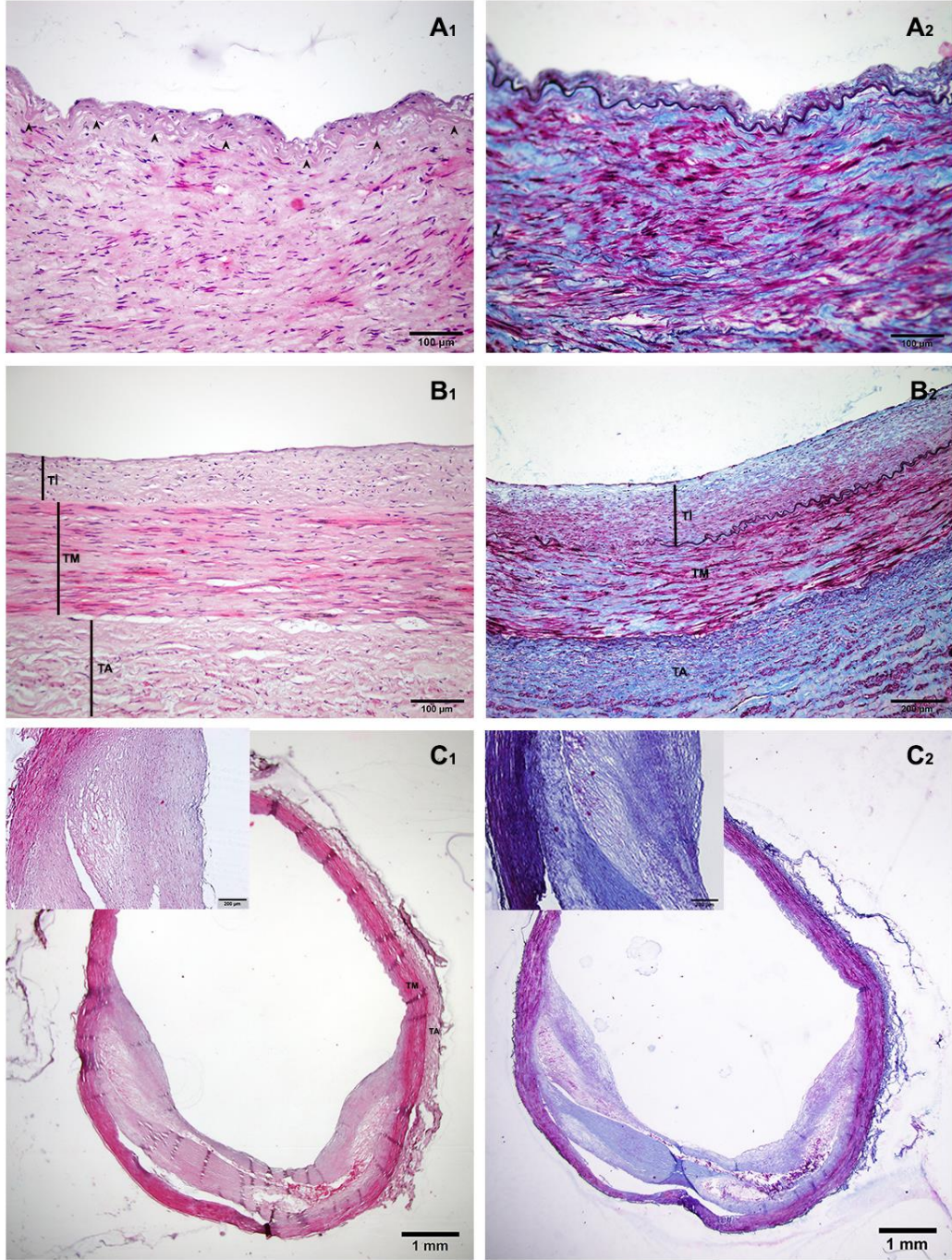
Veriler, n(%) şeklinde girilmiştir. **Frag:** Fragmentasyon. **Redup:** Reduplikasyon. **B:** Bağ dokusu artışı. **Ö:** Ödem. **N:** Nekroz. **H:** Hyalizasyon.

Arter greftlerindeki intimal bulgular kapsamında; arterlerin bir kısmında lümen yüzeyinin iyi korunduğu görülürken, bir kısmında rastgele dağılmış alanlarda endotel hücrelerinin gruplar halinde subendotelden

ayrıldığı, bir kısmında ise tamamen endotelden yoksun alanlar olduğu görüldü (Şekil 5).



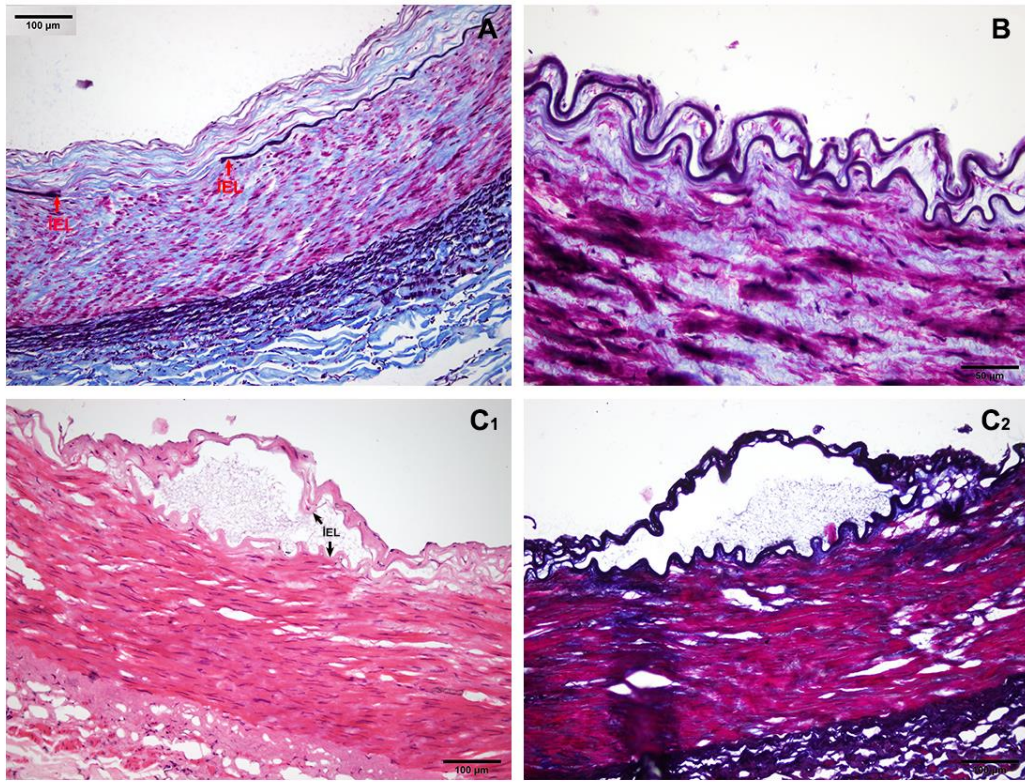
Şekil-5: Arter greftlerinin endotellerinde gözlenen morfolojik değişiklikler. **A₁** ve **A₂**: İntakt endotel. **B₁** ve **B₂**: Endotel hücrelerinde deskuamasyon. **C₁** ve **C₂**: Endotelden yoksun lüminal yüzey. Panelin sol tarafındaki örnek kesitler H&E, sağ tarafındakiler ise Verhoeff metodu ile boyanmıştır.



Şekil-6: Arter greftlerinde ışık mikroskopik olarak gözlenen intimal değişiklikler. İntimal değişiklikler, farklı derecelerde intimal kalınlaşma (A₁, A₂, B₁ ve B₂) ve aterom plağı (C₁ ve C₂) şeklinde izlendi. C₁/C₂-küçük resim: aterom plağının büyük büyütmedeki fotoğrafı. Panelin sol tarafındaki örnek kesitler H&E, sağ tarafındakiler ise Verhoeff metodu ile boyanmıştır. Ok başları: İnternal elastik lamina, T_i: tunika intima, T_M: Tunika media, T_A: tunika adventisya.

Arter greflerinin tunika intimalarında gözlenen morfolojik değişiklikler, minimal bir intimal kalınlaşma ile aterom plağı arasında farklılıklar gösterdi (Şekil-6).

Arterlerin büyük bir kısmında İEL'de da fragmentasyon ve/veya reduplikasyon şeklinde yapısal değişiklikler gözlemlendi (Tablo-6). Fragmentasyon, aterom plağı ve ileri derecede intimal kalınlaşma olan arter greftlerinde daha belirgindi. Hafif intimal kalınlaşması olan veya hiç olmayan arterlerde ise hafif fragmentasyon izlendi (Şekil-7).



Şekil-7: İnternal elastik laminada gözlenen yapısal değişiklikler.

A: Fragmentasyon (Verhoeff). **B:** Reduplikasyon (Verhoeff). **C₁-C₂:** İnternal elastik laminada ayırışma ve ödem (H&E ve Verhoeff).

İEL'de gözlenen fragmentasyon ve/veya duplikasyonun skorlanması sonucunda edilen veriler ve istatistiksel değerlendirmesi tablo 7'de verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında İEL fragmentasyonu açısından farklılık bulunmadı. Reduplikasyon açısından

yapılan analizlerde, Grup V (>24 ay)'in Grup II (0-6 ay) hariç, diğer gruplarla olan karşılaştırmasında anlamlı farklılık mevcuttu. Diğer grupların birbirleri ile yapılan karşılaştırmalarında anlamlı farklılık yoktu.

Tablo-7: Arter İEL'de gözlenen yapısal değişikliklerin gruplara göre dağılımı ve istatistiksel analizi.

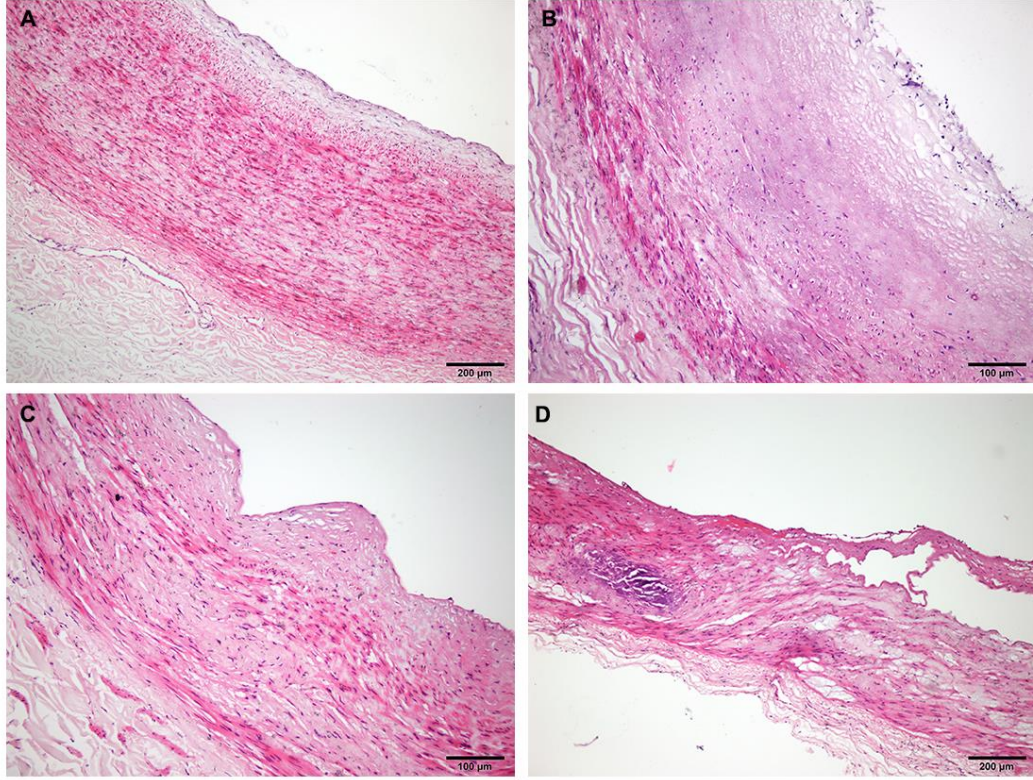
	Grup I Taze (n=5)	Grup II 0-6 ay (n=5)	Grup III 6-12 ay (n=6)	Grup IV 12-24 ay (n=6)	Grup V >24 ay (n=6)	p
İEL Frag.						0,830
Skor 1	0 (%0)	1(%20)	0 (%0)	1(%16,7)	0 (%0)	
Skor 2	4(%80)	4(%80)	5(%83,3)	4(%66,7)	6(%100)	
Skor 3	1(%20)	0 (%0)	1(%16,7)	1(%16,7)	0 (%0)	
Skor 4	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0,)	0 (%0)	
İEL Redup.						0,006^a
Skor 1	0 (%0)	2(%40)	1(%16,7)	0 (%0)	0 (%0)	
Skor 2	3(%60)	0 (%0)	3 (%50,)	4(%66,7)	0 (%0)	
Skor 3	2(%40)	2(%40)	2(%33,3)	2(%33,3)	1(%16,7)	
Skor 4	0 (%0)	1(%20)	0 (%0)	0 (%0)	5(%83,3)	

Veriler, n(%) şeklinde girilmiştir. **İEL:** İnternal elastik lamina. **Frag:** fragmantasyon.

Redup: Reduplikasyon. ^a: Fisher's Exact Test.

Tunika media ile ilgili olarak; arter greftlerinin çoğunda ödemden medial skleroza kadar değişen formlarda (bağ dokusu artışı, hyalinizasyon, nekroz gibi) dejeneratif değişiklikler gözlemlendi (Şekil 8).

Arter greftlerinin tunika media tabakasının morfolojik değerlendirilmesi sonucunda; Grup I'de tunika media kalınlığı ortalama 361 mikrometre (μm), Grup II'de 296 μm , Grup III'de 311 μm , Grup IV'de 412 μm ve Grup V'de 233 μm olarak ölçüldü. Ven greftlerinde ise ortalama tunika media kalınlıkları Grup I'de 60 μm , Grup II'de 53 μm , Grup III'de 78 μm , Grup IV'de 45 μm ve Grup V'de 80 μm olarak belirlendi (Tablo-8).

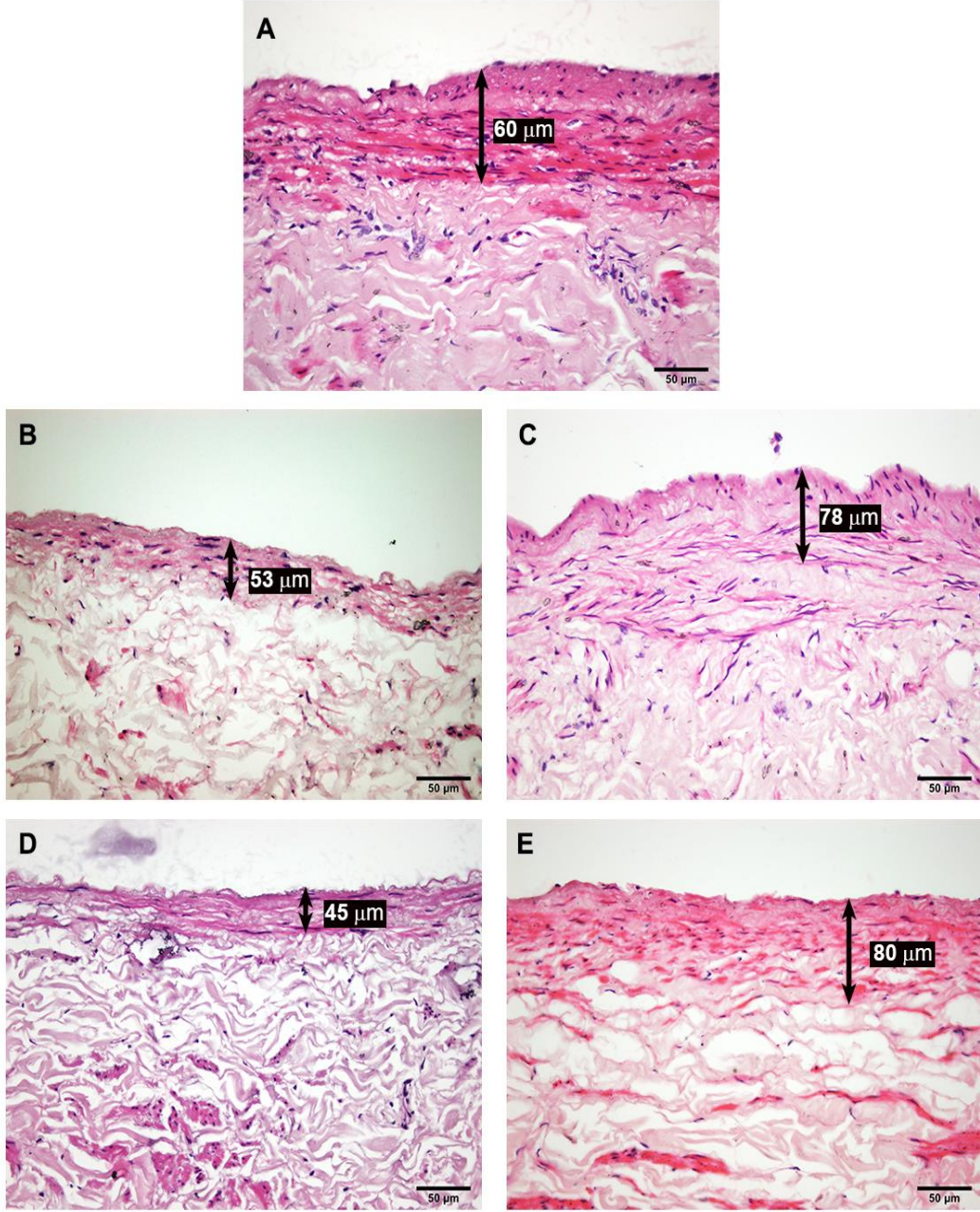


Şekil-8: Arter greftlerinin tunika medialarında gözlenen dejeneratif değişiklikler. **A.** Düz kas hücreleri arasında ödem. **B.** Koagülasyon nekrozu ve tunika media'da incelme. **C.** Hyalinizasyon **D.** Medial skleroz ve internal elastik laminada ayrışma.

Tablo-8: Arter ve ven greft gruplarında tunika media kalınlıkları ve istatistiksel değerlendirmesi.

	Grup I Taze (n=5)	Grup II 0-6 Ay (n=5)	Grup III 6-12 Ay (n=6)	Grup IV 12-24 Ay (n=6)	Grup V >24 Ay (n=6)	p
(A)Tunika media kalınlığı(µm)	361 (286-639)	296 (242-546)	311 (290-528)	412 (234-439)	233 (188-324)	0,075 ^b
(V)Tunika media kalınlığı(µm)	60 (38-99)	53 (38-87)	78 (37-98)	45 (35-99)	80 (37-112)	0,666 ^b

Veriler, medyan (Minimum-Maximum) şeklinde yazılmıştır. ^b: Kruskal-Wallis H Testi
(A):Arter, **(V)**:Ven, µm: mikrometre.



Şekil-9: Ven greftlerinde tunika mediaların görünüşü ve ortalama kalınlıkları. **A.** Grup I (Taze doku) **B.** Grup II (0-6 ay), **C.** Grup III (6-12 ay), **D.** Grup IV (12-24 ay), **E.** Grup V (>24 ay)

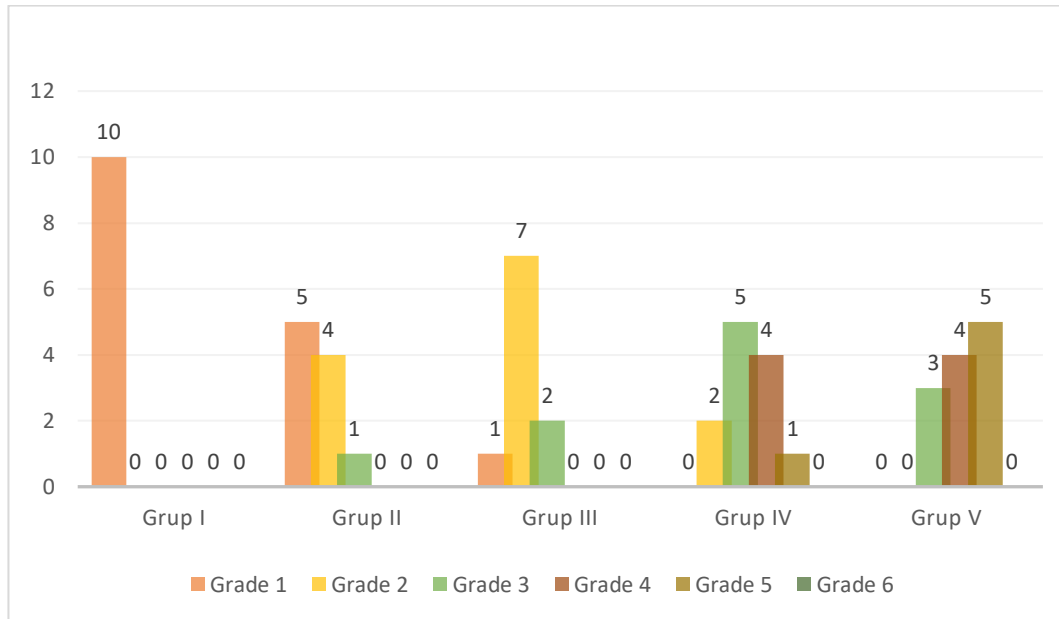
Yapılan istatistiksel değerlendirme, ne arter greft grupları arasında ne de ven greft grupları arasında tunika media kalınlıkları açısından farklılık belirlenmedi (Tablo-8) (Şekil-9).

Taramalı Elektron Mikroskopik Bulgular

Grup I deki tüm örneklerin endotel bütünlüğünün ve morfolojisinin sağlam ve Scanning Electron Microscope (SEM) değerlendirme skorunun grade 1 olduğu izlendi. Grup II'deki greftlerin yarısı doğal morfolojide olmakla birlikte grade 2 morfolojik özellik gösteren örneklerde artış olduğu, sadece bir ven greftinde grade 3 özellik olduğu izlendi. Grup III'teki örneklerin %70'i grade 2 düzeyinde izlenirken grade 3 örnek sayısında artış olduğu ve normal morfolojide olan örneklerin sayısının azaldığı izlendi.

Grup IV te ise endotel sürekliliğinin kaybolduğu subendotelial tabakanın ortaya çıktığı grade 3 ve grade 4 morfolojisinde artış olduğu izlendi. Normal morfolojide örneklerin izlenmediği grade 5 içeren örneklerin görülmeye başlandığı izlendi.

Grup V te doğal morfolojide ve grade 2 düzeyinde değerlendirilen örnek gözlenmezken grade 3, grade 4 ve grade 5 morfolojide örnekler izlendi. Endotel tabakanın tamamen kaybı ve subendotelial tabakanın görüldüğü grade 5 morfolojisindeki örnek sayısının arttığı izlendi. Tüm gruplarda subendotelial tabakanın hasarı ile karakterize grade 6 örnek izlenmedi (Tablo-9) (Grafik-1).



Grafik-1: Endotelial morfolojinin gruplararası değişimi

Tablo-9: Tüm greftlerde endotelin SEM değerlendirmesi ve gruplar arası karşılaştırması

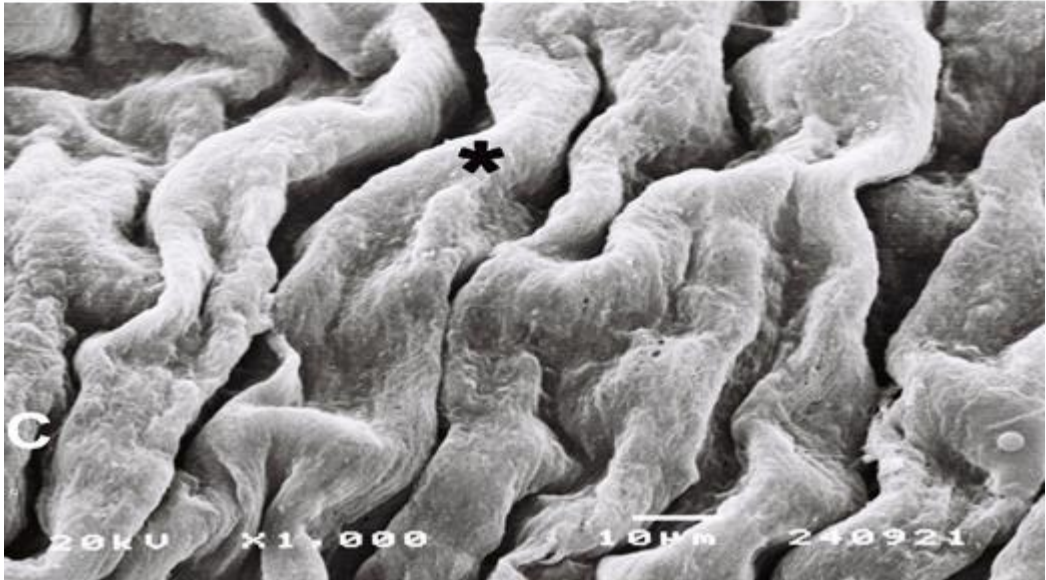
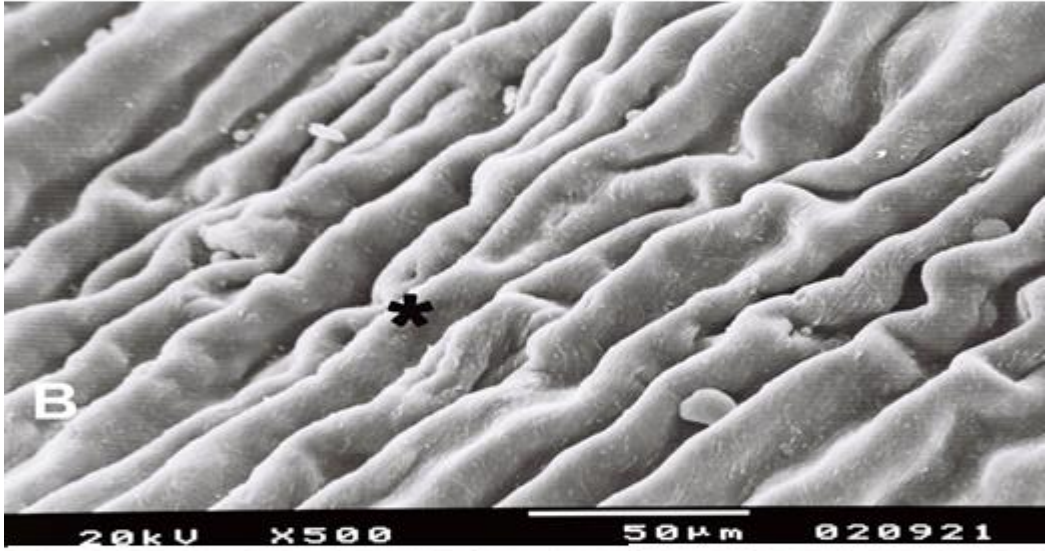
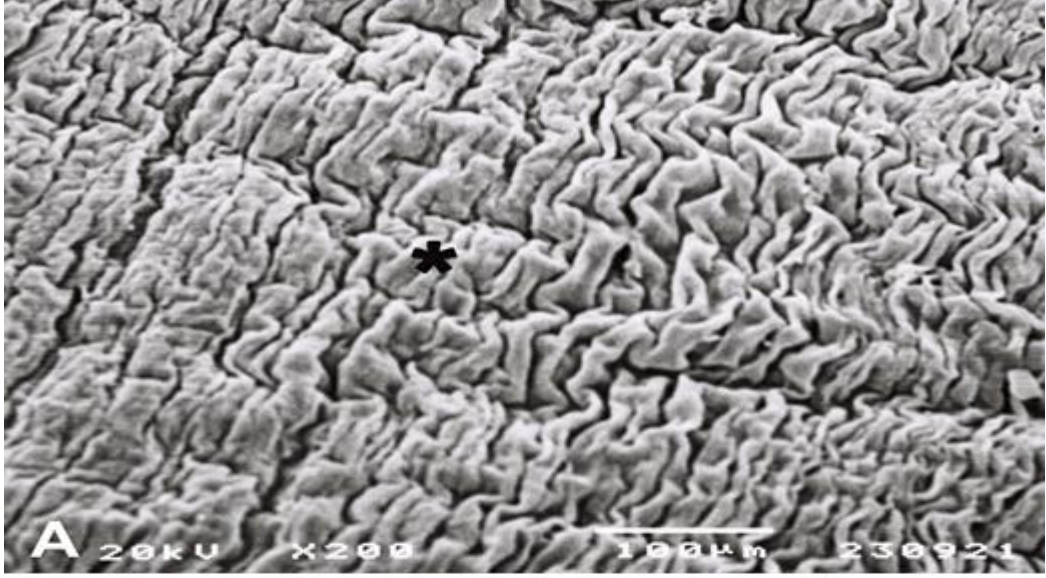
	Grup I Taze (n=10)	Grup II 0-6 Ay (n=10)	Grup III 6-12 Ay (n=10)	Grup IV 12-24 Ay (n=12)	Grup V >24 Ay (n=12)	p
Sem Grade						<0,001^a
Grade 1	10 (%100)	5 (%50)	1 (%10)	0 (%)	0 (%)	
Grade 2	0 (%)	4 (%40)	7 (%70)	2 (%16,7)	0 (%)	
Grade 3	0 (%)	1 (%10)	2 (%20)	5 (%41,7)	3 (%25)	
Grade 4	0 (%)	0 (%)	0 (%)	4 (%33,3)	4 (%33,3)	
Grade 5	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%8,3)	5 (41,7)	
Grade 6	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	

Veriler: n(%) şeklinde girilmiştir. ^a: Fisher's Exact Test

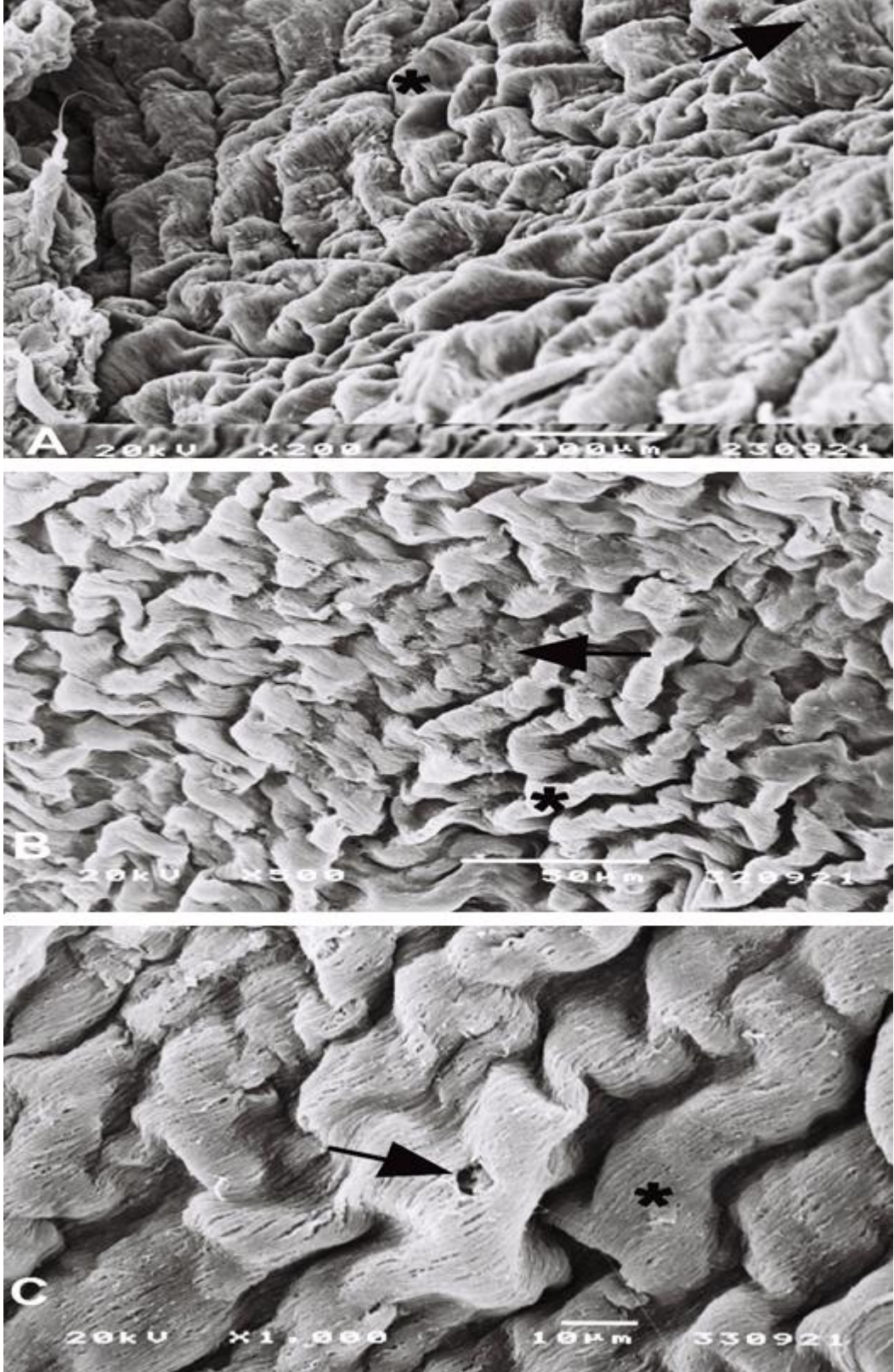
Endotelin SEM değerlendirmesinin gruplar arası karşılaştırmasında en az 2 grup arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Grup I'in diğer alt gruplar ile karşılaştırılmasında sadece grade 1 örnekler içermesinden kaynaklanan anlamlı farklılık saptandı. Grup IV ve Grup V'ün Grup II ile karşılatırılmasında artış gösteren SEM gradeleri mevcuttu ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı. Benzer şekilde Grup III'ün de Grup IV ve V ile karşılaştırılması anlamlıydı. Grup II ve Grup III'ün karşılaştırılmasında her iki grupta da Grade 2 ağırlıklı olduğundan istatistiksel olarak benzerdi.

Tablo-10: SEM alt grup analizleri

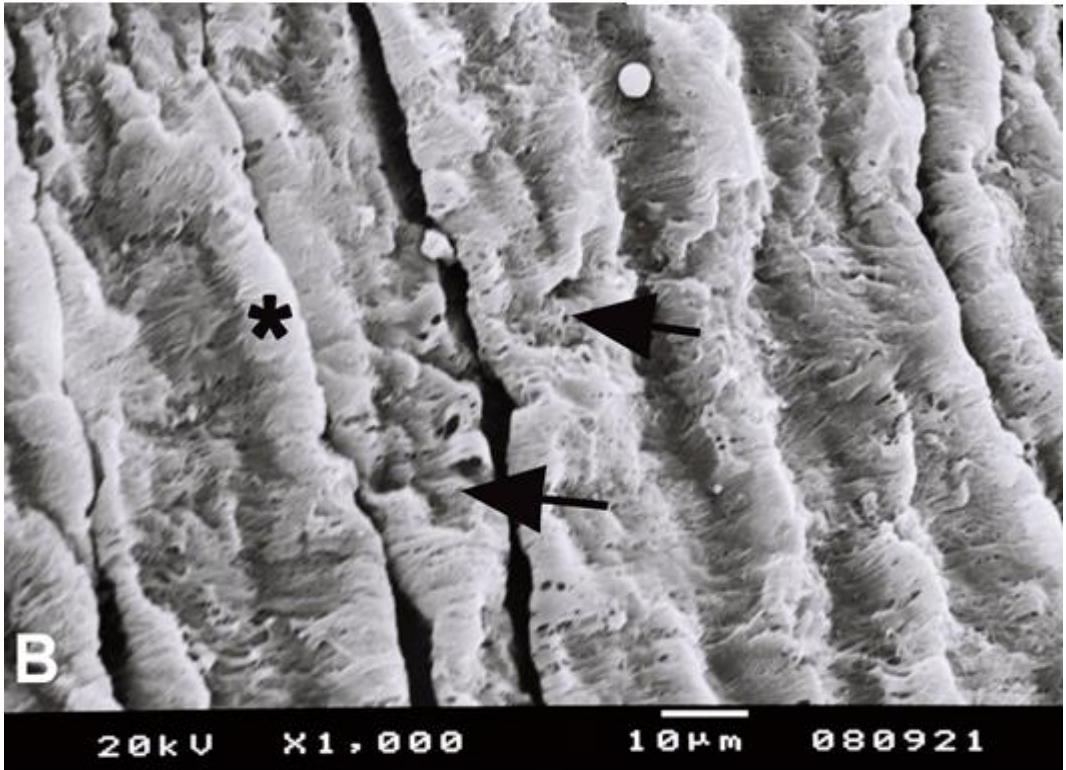
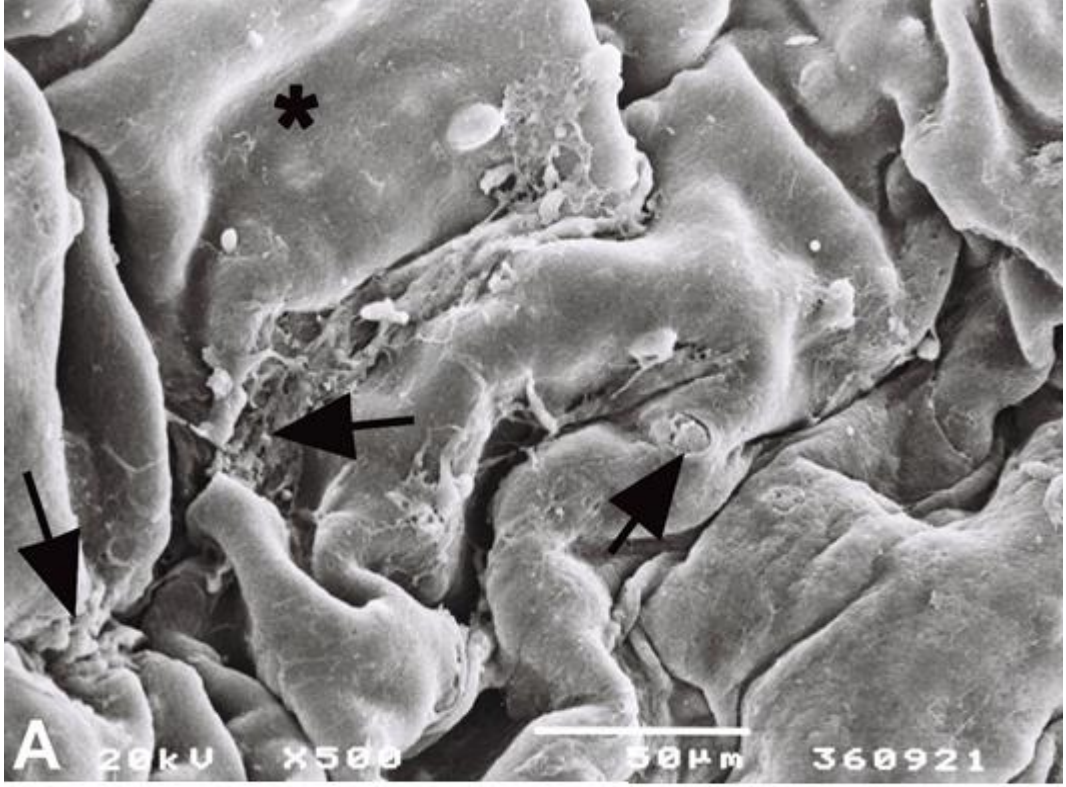
Grup I - Grup II	p=0,033	Grup II- Grup V	p<0,001
Grup I - Grup III	p<0,001	Grup III - Grup IV	p=0,020
Grup I - Grup IV	p<0,001	Grup III - Grup V	p<0,001
Grup I - Grup V	p<0,001	Grup II - Grup III	p=0,168
Grup II- Grup IV	p=0,005	Grup IV - Grup V	p=0,176



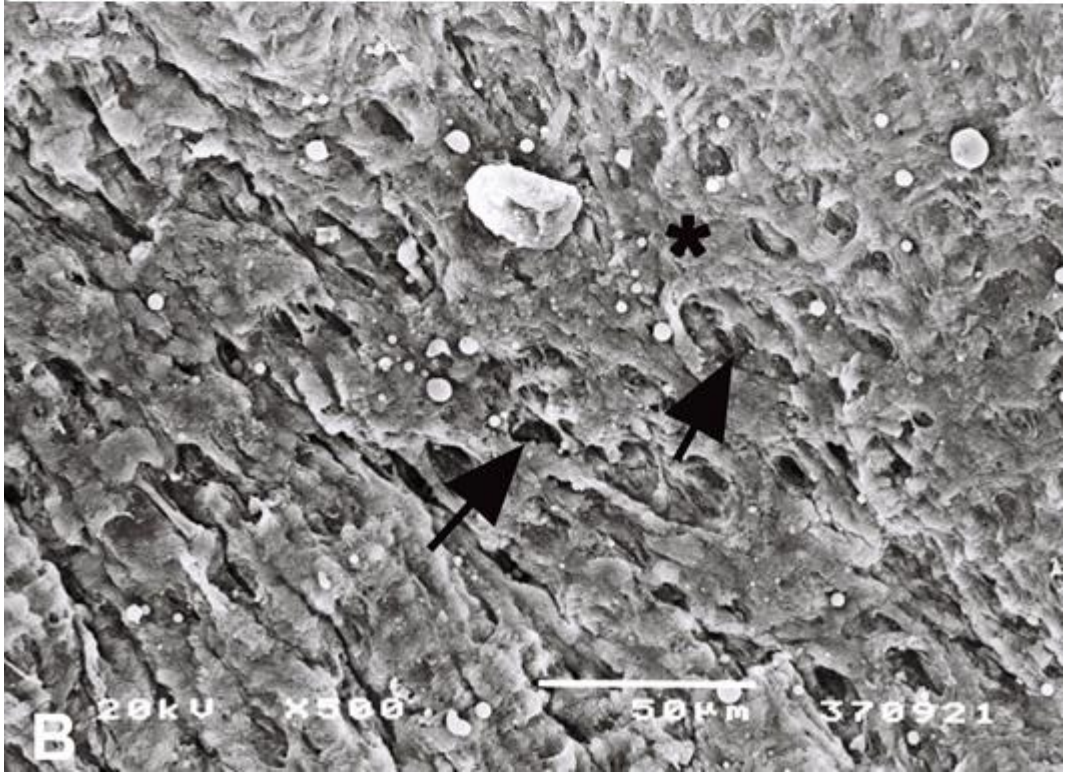
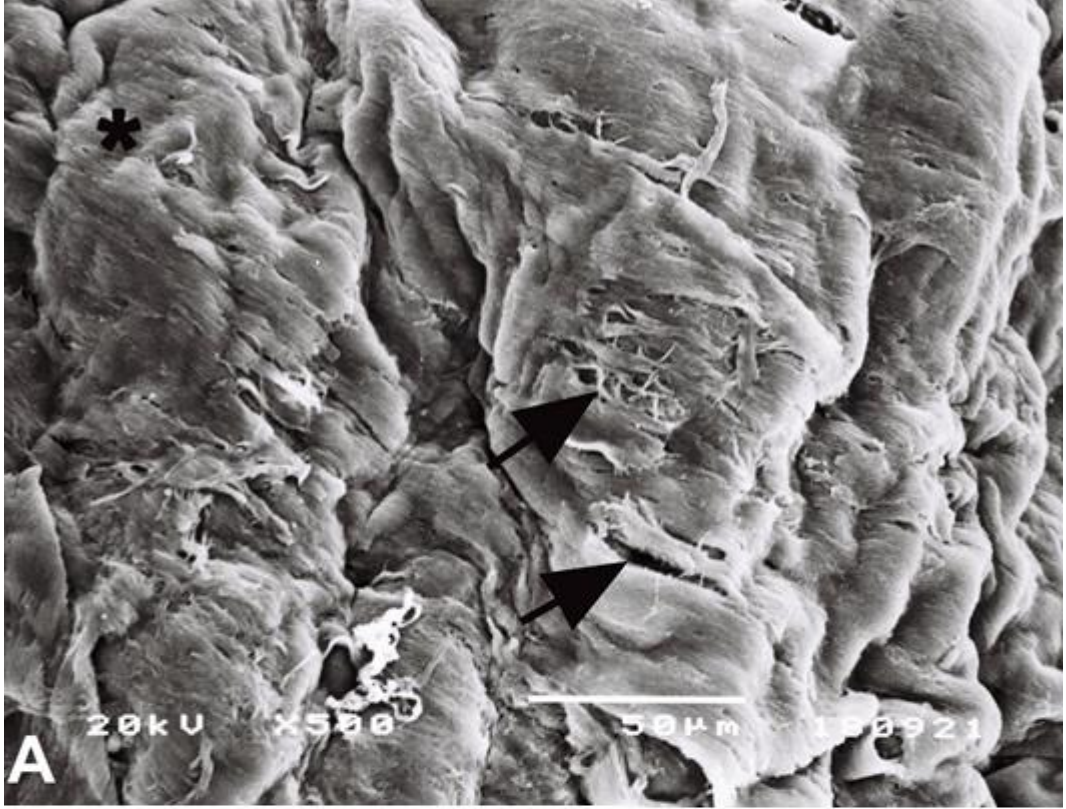
Resim-6: Grade-1 SEM görüntüleri **A-B:** Taze ven grefti **C:** 6-12 ay süre aralığında saklanan arter grefti *: Doğal morfolojiye sahip endotel tabakası.



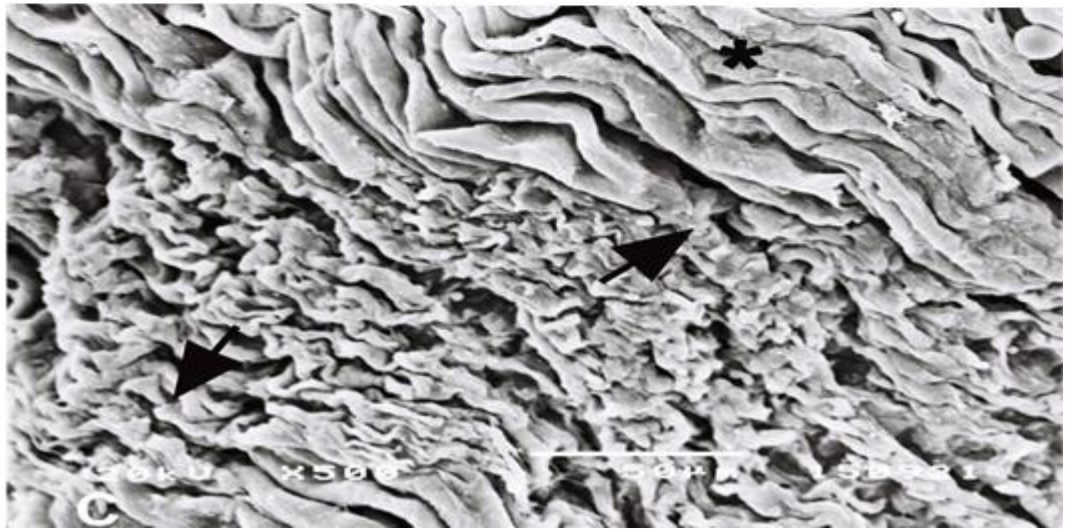
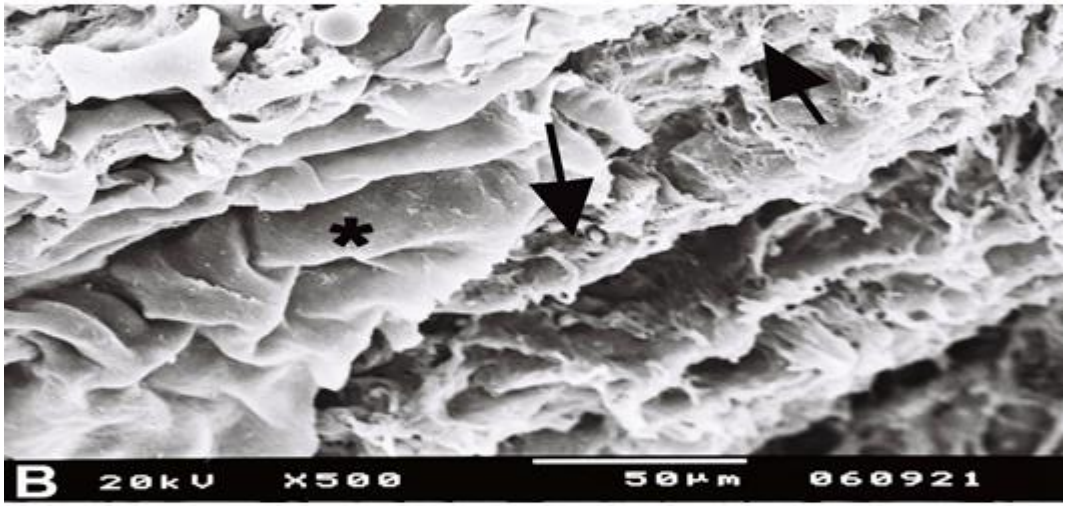
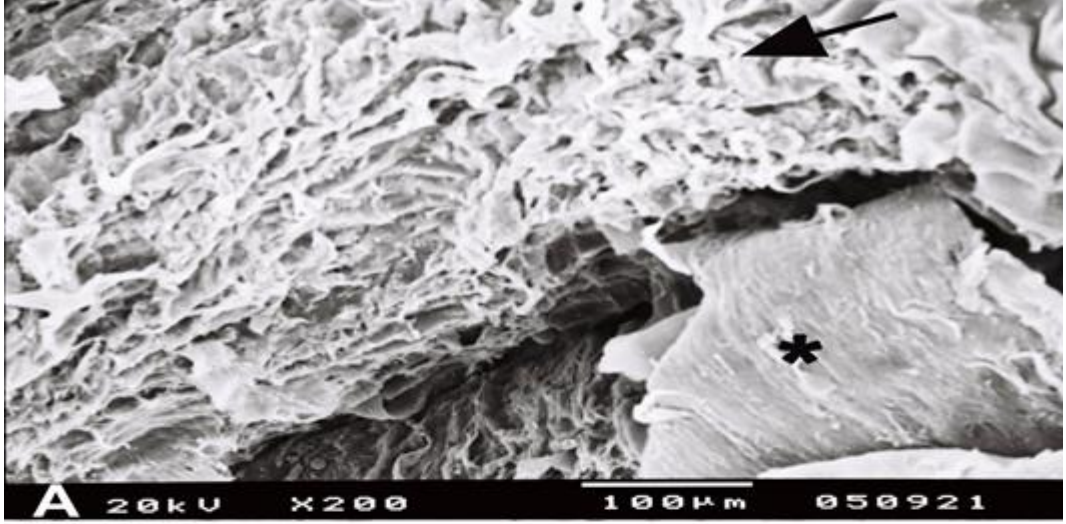
Resim-7: Grade-2 SEM görüntüleri **A:** 0-6 ay arter grefti, **B:** 6-12 ay arter grefti, **C:**0-6 ay ven grefti * : Doğal morfolojiye sahip endotel tabakası →: hücreler arasında açılmalar ve morfolojide düzensizlik.



Resim-8: Grade-3 SEM görüntüleri **A:** 12-24 ay arter grefti, **B:** >24 ay ven grefti * : Doğal morfolojiye sahip endotel tabakası → : endotel sürekliliğinin bozulduğu yer yer epitelin ayrıştığı alanlar



Resim-9: Grade-4 SEM görüntüleri **A:** 6-12 ay arter grefti, **B:** 12-24 ay arter grefti * : Doğal morfolojiye sahip endotel tabakası → : endotel sürekliliği kaybı, endotel hücrelerin döküldüğü subendotelyal tabakanın ortaya çıktığı alanlar



Resim-10: Grade-5 SEM görüntüleri **A:** >24 ay arter grefti, **B:** >24 ay ven grefti, **C:** >24 ay arter grefti *: Doğal morfolojiye sahip endotel tabakası →: endotel tamamen ayrışması subintimal tabakanın yaygın ortaya çıktığı alanlar

Damar Patlama Basıncı Testi

Çözdürülen ve yan dallar bağlanarak uç uca anastomoz edilen damarlar yukarıda tarif edildiği basınç ölçüm düzeneği ile anastomoz sızdırma basıncı kaydedildi. Arterlerin medyan patlama basıncı 320 (180-400) milimetre civa (mmHg) idi. Arter anastomoz çapı medyan 11,5 (8-18) milimetreydi(mm). Venlerin ise medyan patlama basıncı 220(150-320)mmHg, anastomoz çapı ise medyan 17,5 (12-24)mm idi.

Patlama basıncının ve anastomoz çapının gruplar arası karşılaştırmalarında anlamlı farklılık yoktu (Tablo-11).

Patlama basıncının endotelial morfolojik değişiklik göstergesi olan SEM skorlaması ile yapılan karşılaştırmada da anlamlı farklılık görülmedi (Tablo-12).

Tablo-11: Greftlerin patlama basıncı ve anastomoz çapının gruplar arası karşılaştırması

	Grup I Taze (n=5)	Grup II 0-6 Ay (n=5)	Grup III 6-12 Ay (n=4)	Grup IV 12-24 Ay (n=6)	Grup V >24 Ay (n=6)	p
(A)Patlama basıncı(mmHg)	350 (290-400)	310 (300-380)	285 (180-400)	350 (320-370)	310 (230-360)	0,092
(V)patlama basıncı(mmHg)	250 (190-300)	220 (200-260)	200 (180-220)	235 (200-320)	210 (150-260)	0,353
(A)anastomoz çapı(mm)	10 (8-15)	15 (10-18)	12 (11-15)	11 (10-15)	12 (9-16)	0,507
(V)Anastomoz Çapı(mm)	15 (12-18)	20 (15-22)	18,5 (16-24)	17 (14-24)	18,5 (13-24)	0,371

Veriler: Medyan (Minimum-Maximum) şeklinde yazılmıştır. Kruskal-Wallis H Testi
(A):Arter, (V):Ven, mm: milimetre, mmHg: milimetre civa

Tablo- 12:Greftlerin patlama basıncının SEM skoru ile karşılaştırması

	Grade 1 (n=8)	Grade 2 (n=8)	Grade 3 (n=5)	Grade 4 (n=4)	Grade 5 (n=3)	p
(A) patlama basıncı	350 (220-400)	300 (180-400)	320 (310-370)	325 (230-350)	350 (300-360)	0,483
(V)patlama basıncı	225 (190-300)	200 (180-250)	220 (210-320)	195 (150-270)	220 (200-230)	0,412

Veriler: Medyan (Minimum-Maximum) şeklinde yazılmıştır. Kruskal-Wallis H Testi
(A):Arter, (V):Ven

Mikrobiyolojik Değerlendirme

Tiyoglikolatlı buyyon içerisinde konulan toplam 54 adet greftin 36°C sıcaklıkta inkübasyon sonrası 24, 48 ve 72. saatlerde üreme varlığını gösteren bulanıklık saptanmadı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Geçen yüzyılın başından beri aort, iliyak ve femoral damar sisteminin stenotik ve anevrizmal hastalıklarının tedavisinde çeşitli damar segmentleri kullanılarak vasküler rekonstrüksiyonlar yapılmıştır (37). 1954 yılında başlayan organ nakli immünsüpresif ilaçların keşfi ile ivme kazanmış olsa da greft kaybına neden olan vasküler komplikasyonlar tanımlanmıştır (1,2,4). Akut arteriyel veya venöz tromboz, psödoanevrizma gibi komplikasyonlarda rekanalizasyon sağlanamaması durumunda greft kaybını önlemek için otojenik, allojenik veya PTFEE gibi vasküler greftlerle rekonstrüksiyonlar yapılmaktadır. Bununla birlikte aort veya periferik arter hastalıklarında, canlı vericili KT yapılan olgularda HA, PV ve orta hepatic ven rekonstrüksiyonlarında, canlı vericili böbrek naklinde de renal arter veya ven anomalilerinde bu vasküler greftler kullanılmaktadır (5,17-19). Otolog safen ven lokal enfeksiyon, ekstremitte kurtarma cerrahisinde ilk tercih olmakla beraber geniş çaplı vasküler greftlere ihtiyaç olması durumunda kullanımı sınırlı olmuştur (20). PTFEE greftlerinin kullanılması tromboz, greft enfeksiyonu, gastrointestinal penetrasyon gibi komplikasyonlara neden olması ve düşük greft açıklık oranları nedeniyle dondurularak saklanan vasküler allogreftlere yönelim olmuştur (7,20,21).

Organ nakli merkezimizde transplantasyon esnasında vasküler rekonstrüksiyon ihtiyacı doğabileceği düşünülerek, kadaverik donörlerden organ çıkarımı esnasında alınan iliyak arter ve ven greftlerinin farklı koşullarda ve sürelerde muhafaza edildiği bu çalışmada; her klinikte kolaylıkla uygulanabilecek, hazırlık aşaması basit, ucuz maliyetli ve kriyoprotektan solüsyonlarına ihtiyaç duymadan, -24°C'de standart dondurucuda saklanması vasküler greftler üzerine histopatolojik, mekanik ve mikrobiyolojik etkileri incelendi.

Çeşitli çalışmalarda damarlarının dondurularak saklanması için farklı koşullar bildirilmiş (1,8,9,24-31) olsa da standartlaşmış ve birçok doku bankasının kriyoprotektan (DMSO) ve geniş spektrumlu antibiyotik solüsyonu içerisinde, sıvı nitrojen tanklarında -140°C ile -196°C de

bilgisayar kontrollü sistem ile sakladığı görülmektedir (29-31). Çalışmamızdaki saklama koşulları ve süresi ile ilgili tek çalışma, Aydın ve arkadaşlarının -22 °C de kriyoprotektan kullanmadan maksimum 3 aya kadar sakladıkları, 16 safen ven, 10 iliyak ven ve 3 iliyak arter greftlerini canlı vericili KT'de segment 5, segment 8 ven rekonstrüksiyonunda kullandığı ve 5 aylık takipte greft komplikasyonu gelişmediği bildirilen çalışmadır (5). Optimal olarak dondurularak saklanan damar, doğal bir damarın benzer anatomik ve fizyolojik özelliklere sahip olmalıdır (37). Çalışmamızda benzer bir yöntemle saklanan vasküler greftlerde gelişen histopatolojik ve mekanik değişikliklerin, taze greftlere nazaran farklılıkları ve bu saklama koşullarında maksimum saklama süresinin belirlenmesi hedeflendi.

Vasküler greftlerin alındığı donörler yaş, cinsiyet, VKI, kan grubu, DM, HT, KAH, KOAH ve alkol kullanımı açısından incelendiğinde gruplar arası anlamlı istatistiksel fark izlenmedi. Bu Špaček ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzerdi (38). Greftlerin 6-12 ay arası saklandığı gruptaki donörlerin hepsinin sigara kullanıcısı olması istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu gruptaki tunika intima ve mediadaki dejeneratif değişiklikler ile açıklanabilir. Greftin olası dejeneratif risklerini ortadan kaldırmak için Avrupa homogreft bankası (EHB) ancak 60 yaş altı ve kardivasküler risk faktörü olmayan bağışçılarını kabul etmektedir (10). Fakat bölgemizde donör bağışının sayıca az ve marjinal donör kullanımında artış olması nedeniyle makroskopik olarak yaygın dejenerasyonu olmayan damar greftleri de saklanmaktadır.

Kriyoprezervasyon ile 3-5 yıl arası saklanan insan safen ven greftlerinin +4°C ve +37°C'de çözündürme sonrası endotelial bütünlüğünü değerlendiren ve aynı SEM skorunu baz alarak yapılan çalışmada çözündürme hızı arasında fark izlenmemekle beraber, greftlerin endotel tabakasında grade 3 ve grade 6 arası morfolojik değişiklikler izlenmiştir (38). Bizim çalışmamızda ise 12 aya kadar saklanan ve +37°C'de çözdürülen arter ve ven greftlerinin endoteli grade 1 ve grade 2 çoğunlukta iken 12 ay üzeri saklanan greftlerde grade 3, grade 4 ve grade 5 arası morfolojik değişim izlenmiştir. Novoty ve arkadaşları ise 1-4 yıl arası sakladıkları insan iliyak arterlerini kullanarak yaptıkları benzer çalışmada çözündürme hızının endotelial bütünlüğü bozduğunu göstermiştir fakat her iki grupta da

çoğunluklu tam endotel kaybı izlemiştir (23). Tüm bu çalışmalarda saptanan endotelyal bozukluğun greftlerin saklama prosedürü veya çözdürme teknikleriyle ilişkili olmadığını, saklanma süresiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Doktora ve arkadaşları yavaş soğutma hızı ve kriyoprotektan kullanarak sıvı nitrojen içinde -196 derecede 6 ay kadar sakladıkları domuz femoral arterlerin SEM incelemesinde endotelin doğal morfolojisini koruduğunu göstermiştir (39). Deneysel çalışmamızda da kısa süreli saklanan greftlerde benzer morfolojik özellikler saptanmıştır.

Vazquez ve arkadaşları kriyoprezerve edilen insan femoral arterlerde endoteldeki düzensizliklerin damarın kontraktile ve endotel bağımlı gevşemede azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir (40). Benzer kriyoprezervasyonda Pascual ve arkadaşları sıçan femoral arteri kullanarak yaptıkları in vivo ve in vitro çalışmada damarların SEM analizinde endotelden yoksun ve yer yer düzensiz alanlar tespit etmişlerdir. İn vivo çalışmada %26 ya varan tromboz olduğu ve bunu endotelyal bütünlükteki düzensizliğe bağlı olduğunu savunmuşlardır(6). Başka bir çalışmada kriyopreservasyonla saklanan venöz allogreftler ile endotelin korunması sorununu ele alınmış in vivo ve in vitro olarak endotel tabakasının immünolojik reaksiyon için güçlü bir uyarıcı olduğunu ve kriyoprezerve edilen damarlarda korunduğunu gösterilmiştir (41). Endotel tabakasının korunmasının önemi kardiyovasküler literatürde de vurgulanmıştır, burada bu tabakadaki herhangi bir hasarın muhtemelen erken trombozu indüklediği gösterilmiştir (42,43). Tüm bu çalışmalar damarların saklanmasında endotelin korunmasının en önemli parametrelerden biri olduğunu göstermektedir (6,40-43).

Dondurularak saklanan damarlardaki diğer önemli nokta damarın vizkoelastik yapısını sağlayan yapılarda hasar olması ve buna bağlı anevrizma ve rüptür gelişmesidir (23,44). Bu durum aynı zamanda anastomozun sağlamlığını da olumsuz yönde etkileyebileceği kolayca tahmin edilebilir. Damarın dinamik özelliklerinin korunması, düz kasın canlılığına ve duvarlardaki elastik lamellerin ve kollajenin bütünlüğüne bağlıdır (37). Çalışmamızda ışık mikroskopunda değerlendirilen tunika intimaldaki yapısal değişikliklerden intimal kalınlaşma, saklanma süresiyle

bağımsız taze grefler dahil olmak üzere tüm greftlerde farklı derecelerde görülmekteydi. İn vivo yapılan çalışmalarda intimal kalınlaşmanın immün kompleks birikimine bağlı olduğu saptanmıştır (34). Fakat in vitro olan çalışmamızda bu bulgunun taze greftlerde de görülmesi, aterom plağı olmamasına rağmen donörlere ait aterosklerotik risk faktörlerine ve damar çıkarımı sırasında cerrahın damar traksiyonlarına bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda kullanılan greftlerde aterom plağı nadir izlenmekteydi fakat internal elastik laminada (İEL) tüm gruplarda damarın $\frac{1}{4}$ ünü kapsayan fragmantasyon ve redüplikasyon izlenmiştir. İEL de fragmantasyon istatikselsel olarak saklanma süresi ile anlamlı görünmese de aterom plağı ve ileri derecede intimal kalınlaşma olan greftlerde daha belirgindi. 24 ay üzeri saklanan arterlerde ise redüplikasyon damar çapının $\frac{1}{2}$ sinden fazlasını oluşturmakta ve istatikselsel olarak da anlamlı artış görülmektedir. Çalışmalarda internal elastik lamina delaminasyonun aterosklerotik plakların çevresinde daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir(45). Elastin bileşenlerinin kaybı düz kas hücrelerinin transdiferansiyasyonuna ve dolayısıyla kollajen sentezine neden olmaktadır. Karnik ve ark. elastinin hücre çoğalmasını ve migrasyonu düzenlediğini, neointimal oluşumu azaltıp, vasküler düz kas hücrelerinin kasılmasını indükleyerek arteriyel yapıyı stabilize ettiğini göstermiştir (46). Çalışmamızda taze arterlerde de İEL'de fragmantasyon ve redüplikasyon izlenmesi, greftlerin saklanmadan önce ateroskleroz varlığının ayrıntılı incelenmesi ve donör aterosklerotik risk faktörlerinin göz önünde bulundurulması gerektiğini önermektedir.

Saklanan tüm arter ve venlerin tunika media kalınlığı taze greftlere benzerdi. İstatikselsel olarak anlamlı olmasa da 24 ay üzeri saklanan arterlerde tunika media kalınlığında belirgin azalma izlendi. Arterleri tunika mediasında ödem, hyalinizasyon, bağ dokusu artışı ve yer yer nekroz alanları izlenmiştir. Bu dejeneratif değişiklikler taze greftlerde ödem şeklinde iken 12 ay üzeri saklanan greftlerin hepsinde belirgin izlenmekteydi. Damar duvar hasarına neden olan bu bulgular, donma sırasında meydana gelen hücre içi kristal oluşumu ile açıklanmaktadır (47). Benzer etkiler,

Pacholewick ve arkadaşları tarafından, köpekte iç torasik arteri kullanarak bir karotid arter baypas oluştururken medial tabakanın düz kas hücrelerinin önemli ölçüde kaybına dikkat çekti (48). Bir başka çalışma hem kriyoprezerve edilmiş allogreftlerde hem de izogreftlerde medial tabakada düz kas hücrelerinin eksikliğini tanımlamaktadır (49).

Çalışmamızda arter ve venlerin deneysel ortamdaki anastomoz patlama basıncı tüm gruplarda benzer ve fizyolojik damar basıncının çok üstünde değerlere sahipti. İntima ve mediadaki yapısal bozukluklara rağmen mekanik testin tüm gruplarda benzer olması damarların dondurarak saklanması damarın biyomekanik özelliğini çok etkilemediğini göstermiştir. Benzer durum Delgadillo ve arkadaşları tarafından farklı saklama koşullarındaki damarları aksiyel ve sirküferansiyel mekanik testlerinin birbirine yakın olması şeklinde gözlemlemiştir (50). Çalışmamızda kullanılan 7 greftin 70 yaş üzeri ve sayıca az olmasına rağmen bu greftlerin ortalama patlama basıncının 300 mmhg üzerinde olması normal damar basıncına benzer dayanıklılıkta olabileceğini göstermiştir. Özellikle ateroskleroz veya makroskopik olarak sert izlenen damarlarda patlama basıncının arterlerde 180-250 mmhg arasında izlendiği, makroskopik olarak doğal izlenen arterlerde ise 320 mmhg üzerinde olduğu izlenmiştir. Bu duruma yaş bağımlı faktörler de etki edebileceği gibi damarlardaki aterosklerotik ve makroskopik dejeneratif değişikliklerin daha önemli rol oynadığını göstermektedir. Bu sebeple ateroskleroz, kalsifikasyon, ülseratif lezyonlar, anevrizma veya rüptür saptanan damarların saklanması önermemekteyiz.

Çalışmamızda greftler 10 mg/ml sefazolin sodyum içerisinde dekontamine edilerek saklanmıştır ve çözündürme sonrası mikrobiyolojik analizinde hiçbir greftte aerob veya anaerob kontaminasyon belirtisi gözlenmemiştir. Burada dikkat edilmesi gereken en önemli problem viral bulaş riskidir. Özellikle seropozitif donörlerden alınan greftlerin seronegatif donörlerden alınan greftlerden ayrı dondurucularda saklanması gerekmektedir (51). Bu tarz teknik hataları önlemek için, saklama kapları üzerinde donörün özellikleri ve viral belirteç sonuçları mutlaka etiketlenmelidir.

Çalışmamızın sonucunda SEM incelemelerinde beklenildiği gibi taze greftlerin endotel tabakası intakt ve morfolojik olarak düzenli görünümdeydi. Saklanma süresi uzadıkça endotel yapısında düzensizlikler izlenmekle beraber 12 ay öncesi saklanan greftler taze greftlere en yakın morfolojik görünüme sahipti. 12 ay üzeri saklanan çoğu greftte ise yaygın endotel kaybı ve subendotelyal tabakanın ortaya çıkmasıyla karakterize görünüm mevcuttu.

Sonuç olarak bu çalışma, her klinikte kullanılabilir basit ve maliyeti ucuz olan bu saklama prosedürü ile vasküler greftlerin endotel morfolojisi ve mekanik özellikleri 12 aya kadar taze greftlerle benzer özellikte muhafaza edilebilmektedir. 12 ay üzeri saklanan greftlerin endotel yapısında belirgin dejeneratif değişiklikler saptandığı ve vasküler rekonstrüksiyonda kullanımının çalışmada belirtilen riskler getireceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçlar in vivo, prospektif çalışmalar ile desteklenmelidir.

KAYNAKÇA

- 1- Mohkam K, Darnis B, Rode A et al. Rescue arterial revascularization using cryopreserved iliac artery allograft in liver transplant patients. *Experimental and Clinical Transplantation*, 2017;4:420-4.
- 2- Keller AK, Jorgensen TM, Jespersen B. Identification of risk factors for vascular thrombosis may reduce early renal graft loss: a review of recent literature, *Journal of Transplantation*, 2012;2012:793461.
- 3- Júnior RFM, Salvalaggio P, Rezende MB et al. Liver transplantation: history, outcomes and perspectives, *Einstein*, 2015;13(1):149-52.
- 4- Del Gaudio M, Grazi GL, Ercolani G et al. Outcome of hepatic artery reconstruction in liver transplantation with an iliac arterial interposition graft, *Clin Transplant*, 2005;19:399-405.
- 5- Aydin C, Ince V, Otan E et al. Storage of allogeneic vascular grafts: experience from a high-volume liver transplant institute, *Int Surg*, 2013;98:170-4.
- 6- Pascual G, Martínez S, Rodríguez M et al. Patency and structural changes in cryopreserved arterial grafts used as vessel substitutes in the rat, *Journal of Surgical Research*, 2005;124:297-304.
- 7- Chung MH, Chuang CC, Liaw LF et al. Thrombotic ringed polytetrafluoroethylene graft with infection after living-donor liver transplantation, *Transplantation Proceedings*, 2018;50:2606-10.
- 8- Fahner PJ, Idu MM, van Gulik TM, Legemate DA. Systematic review of preservation methods and clinical outcome of infrainguinal vascular allografts, *J Vasc Surg*, 2006;44:518-24.
- 9- Heng WL ,Madhavan K , Wee P et al. Banking of cryopreserved iliac artery and vein homografts: clinical uses in transplantation, *Cell Tissue Bank*, 2015;16:235-42.
- 10- Jashari R, Van HB, Ngakam R, Goffin Y, Fan Y. Banking of cryopreserved arterial allografts in Europe: 20 years of operation in

- the European Homograft Bank (EHB) in Brussels, Cell Tissue Bank, 2013;14:589-99.
- 11-Ross MH, Pawlina W(eds), Baykal B(çeviri eds). Histoloji konu anlatımı ve atlası,6.Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2014. 408-30.
- 12-Junqueira LC, Carneiro J. The circulatory system. Basic histology text and atlas. 11th edition. McGraw-Hill Companies Inc. USA, 2005.
- 13-Michels C. Endothelial cell functions. Journal of cellular physiology, 2003;196:430-43.
- 14-Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R. Robbins(eds) Temel Patoloji. 9 Baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitapevleri. 2014. 329-32.
- 15-Synderman CH, Esclamado RM, Carroll WR. Basic science review the pathogenesis of vascular thrombosis and its impact in microvascular surgery, Head Neck. 1999;21(4):355-62.
- 16-Lidman D, Daniel RK. The normal healing process of microvascular anastomoses. Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery. 1981;15(2):103-10.
- 17-Pareja E, Cortes M, Navarro R et al. Vascular complications after orthotopic liver transplantation: hepatic artery thrombosis, Transplantation Proceedings, 2010;42:2970-2.
- 18-Kim SH, Hwang S, Ha TY et al. Usability of cryopreserved aortic allografts for middle hepatic vein reconstruction during living-donor liver transplantation, J Gastrointest Surg, 2016;20:1049–55.
- 19-Sugawara Y, Makuuchi M, Akamatsu N et al. Refinement of venous reconstruction using cryopreserved veins in right liver grafts, Liver Transpl, 2004;10:541-7.
- 20-González-Gay M, López-Martínez R, Busto-Suárez S et al. Immunological aspects involved in the degeneration of cryopreserved arterial allografts, Front. Surg. 2020;7:616-54.
- 21-Hwang S, Jung DH, Ha TY et al. Usability of ringed polytetrafluoroethylene grafts for middle hepatic vein reconstruction during living donor liver transplantation, Liver Transplantation, 2012;18:955-65.
- 22-Carrel A. Results of the transplantation of blood vessels, organs and limbs, JAMA, 1908;51:1662-7.

- 23-Novotny R, 1 Mericka P, Chlupac J et al. The effect of different thawing rates on cryopreserved human iliac arteries allograft's structural damage and mechanical properties, *BioMed Research International*, 2020;8.
- 24-Gross RE, treatment of certain aortic coarctations by homologous grafts, *Annals of surgery*, 1951;Oct:753-68.
- 25-Creech O, Micheal E, Bakey D, Cooley DA, Self MM. Preparation and use of freeze-dried arterial homografts, *Annals of surgery*, 1954;July:35-43.
- 26-Foster JH, Lance EM, Scott HW. Experience with ethylene oxide treated freeze-dry arterial homografts in 110 consecutive patients, *Annals of surgery*, 1958;148(2):230-8.
- 27-O'Brien MF, Stafford EG, Gardner MAH et al. A comparison of aortic valve replacement with viable cryopreserved and fresh allograft valves, with a note on chromosomal studies, *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1987;94:812-23.
- 28-Brockbank KG, Carpenter JF, Dawson PE. Effects of storage temperature on viable bioprosthetic heart valves, *Cryobiology*, 1992;29:537-42.
- 29-Mestres CA, Mulet J, Pomar JL. Large-caliber cryopreserved arterial allografts in vascular reconstructive operations: early experience, *Ann Thorac Surg*, 1995;60:105-7.
- 30-Jashari R, Goffin Y, Vanderkelen A et al. European homograft bank: Twenty years of cardiovascular tissue banking and collaboration with transplant coordination in Europe, *Transplantation Proceedings*, 2010;42:183-9.
- 31-Kieffer E, Gomes D, Chiche L et al. Allograft replacement for infrarenal aortic graft infection: Early and late results in 179 patients, *J Vasc Surg*, 2004;39:1009-17.
- 32-Moriyama S,Utoh J, Sun LB et al. Antigenicity of cryopreserved arterial allografts: comparison with fresh and glutaraldehyde treated grafts, *ASAIO Journal*, 2001;47:202–5.
- 33-Chang SKY, Lau JW, Chui CK. Changes in mechanical, structural integrity and microbiological properties following cryopreservation of

- human cadaveric iliac arteries, *Ann Acad Med Singapore*, 2014;43:492-8.
- 34-Schölvinck DM, Herrero LA, Goto O et al. Efficacy and safety of a novel submucosal lifting gel used for endoscopic submucosal dissection: a study in a porcine model, *Surg Endosc*, 2015;29:2651-60.
- 35-Szabo B, Fazekas L, Ghanem S et al. Biomechanical comparison of microvascular anastomoses prepared by various suturing techniques, *Injury*, 2020;51:2866–73.
- 36-Klein SL, Chen H, Graff JI. A comparison by burst testing of three types of vascular anastomosis, *Microsurgery*, 1998;18:29-32.
- 37-Wang P, Shu Z, He L et al. The structural and cellular viability in cryopreserved rabbit carotid arteries, *Journal of Surgical Research*, 2006;131:241-51.
- 38-Špaček M, Měříčka P, Janoušek L et al. Comparison of different thawing protocols in human cryopreserved venous grafts, *Annals of Vascular Surgery*, 2019; 64: 347-51.
- 39-Rigol M, Heras M, Martínez A et al. Changes in the cooling rate and medium improve the vascular function in cryopreserved porcine femoral arteries. *J Vasc Surg*, 2000;31(5):1018-25.
- 40-Esther Rendal Vázquez M, Rodríguez Cabarcos M, Fernández Mallo RO et al. Functional assessment of human femoral arteries after cryopreservation. *Cryobiology*, 2004;49(1):83-9.
- 41-Vazquez MER, Verdes ASL, Otero JP et al. Anatomopathological and immunohistochemical study of explanted cryopreserved arteries, *Ann Vasc Surg*, 2012;26:720–8.
- 42-Mabrut JY, Abdullah SS, Rode A et al. Cryopreserved iliac artery allograft for primary arterial revascularization in adult liver transplantation, *Clin Transplant*, 2012;26:12-6.
- 43-Cartier R, Dagenais F, Hollmann C et al. The role of preservation solutions in coronary endothelial damage during cold storage, *Transplantation*, 1993;56(4):997-1000.
- 44-Timek EK, Zhang F, Shi DY, Lineaweaver WC, Buncke HJ. Effect of cryopreservation on patency and histological changes of arterial

- isogenic and allogeneic grafts in the rat model, *Ann Plast Surg*, 2002;49:404-9.
- 45-Qin G, Wang L, Hua Y et al. Comparative morphology of the internal elastic lamina of cerebral and peripheral arteries, *Int J Clin Exp Pathol*, 2020;13(4):764-70.
- 46-Bia D, Zócalo Y, Armentano RL et al. Post-implant evaluation of the anastomotic mechanical and geometrical coupling between human native arteries and arterial cryografts implanted in lower-limb: Mechanical, histological and ultrastructural studies of implanted cryografts, *Cryobiology*, 2012;64:50-9.
- 47-Špaček M, Měříčka P, Janoušek L et al. Current vascular allograft procurement, cryopreservation and transplantation techniques in the Czech Republic. *Adv Clin Exp Med*, 2019;28(4):529-34.
- 48-Pacholewicz JK, Adkins MS, Boris WJ et al. Evaluation of cryopreserved internal thoracic artery as an alternative coronary graft: evidence for preserved functional, metabolic and structural integrity. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1996;10(1):20-5.
- 49-Giglia JS, Ollerenshaw JD, Dawson PE, Black KS, Abbott WM. Cryopreservation prevents arterial allograft dilation. *Ann Vasc Surg*. 2002;16(6):762-7.
- 50-Delgadillo JOV, Delorme S, El-Ayoubi R, DiRaddo R, Hatzikiriakos SG. Effect of freezing on the passive mechanical properties of arterial samples. *J. Biomedical Science and Engineering*, 2010;3:645-52.
- 51-Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Potential transmission of viral hepatitis through use of stored blood vessels as conduits in Organ Transplantation-Pennsylvania, *Am J Transplant*. 2011;11(4):863-5.

TEŞEKKÜR

Cerrahi eğitimime desteği olan ve iyi yönetici karakteriyle bana her zaman yol gösteren, tezimin gerçekleşmesinde büyük katkısı olan tez danışmanım Prof. Dr. Ekrem Kaya'ya sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Temel cerrahi eğitimini gerçek bir usta edasıyla bana aktaran ve ilk cerrahi sevinçlerimi yaşatan duayen hocamız Prof. Dr. Halil Bilgel'e,

Kimsesizlerin kimsesi, herkesin babası, cerrahinin sabır taşı ve esrarengiz fikirleriyle pratik cerrahiye öğreten Prof. Dr. Yılmaz Özen'e,

Her sıkıntımıza derman arayan, çok sevdiğim ve çalışmaktan onur duyduğum, kolorektal cerrahinin tecrübe abidesi Prof. Dr. Tuncay Yılmazlar'a,

İlk vizit sonrası cerrahi bakış açımı değiştiren, duygu ve düşünceleriyle geleceğime yön veren, her zaman yanımda taşıyacağım teşekkür yazısıyla kendisiyle çalışmaktan büyük onur duyduğum Prof. Dr. Sadık Kılıçturgay'a,

Meme ve endokrin cerrahisinde aldığım dinamik eğitimden dolayı Prof. Dr. M. Şehsuvar Gökgöz'e, Prof. Dr. M. Türkay Kırdak'a, birlikte çalıştığım kısıtlı dönemde cerrahi pratiğime yaptıkları katkılarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Nusret Korun ve Prof. Dr. Ersin Öztürk'e,

Temiz ve yufka yürekli kişiliğine, sanatkârlığına hayran olduğum, cerrahi kişiliğimi şekillendiren, ağabeyim, hocam, Doç. Dr. H. Ziya Dünder'a, çalıştığım her dönemde desteğini esirgemeyen, gece gündüz demeden yardımına koşan, cerrahi yeteneğine ve akademisyenliğine hayran olduğum ağabeyim Doç. Dr. Özgen Işık'a, ince kişiliği ve çalışkanlığıyla hepimizin gönlünü fetheden, her zaman güzel ve şık olan biricik ablam Doç. Dr. Pınar Taşar'a,

Güncel yaklaşımlar ile cerrahi pratiğimi geliştiren, virtüöz abim Dr. Öğr. Üyesi Kazım Şenol'a, aramıza katıldığı ilk günden beridir hep

aramızdaymış gibi hissettiren, geleceğe umutla bakmamıza tek örnek olan Doç. Dr. Ercüment Gürlüer'e,

Kendileriyle çalışmaktan büyük zevk aldığım kıdemli abilerim; tez istatistiğimi yapan Dr. Özkan Balçın'a, ilk ameliyatımı yaptıran Dr. Halil Türkan'a, karizmatik Dr. İsmail Tırnova'ya, her ameliyatta kafa kafaya verdiğim Dr. Fuat Aksoy'a, dürüstlüğü ve doğru kişiliği ile her zaman örnek aldığım aile dostum Dr. Ahmet Karamustafaoğlu'na,

5 yıl boyunca omuz omuza vererek tüm engelleri beraber aştığımız ekürim Dr. Burak Bakar'a, bu zorlu süreçte birbirimize destek olduğumuz çok sevdiğim çalışma arkadaşlarım; Dr. Israa Al-Jorani, Dr. Murat Şen, Dr. Osman Jafarlı, Dr. İrem Zehra Acar, Dr. Ahmet Ali Aktaş, Dr. Aysun Şahin, Dr. Tural Bağirov, Dr. Ali Vuslat Özen, Dr. Farid Mohammad Hamad, Dr. Eyüp Anıl Balkan, Dr. Ünal Gözcü, Dr. Huseyn Aghazda, Dr. Nezh Zengin, Dr. Burak Büyükpolat, Dr. Demet Duruk, Dr. Melike Sema Koçbey'e,

Tez çalışmamda desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji A.D Prof. Fatma Zehra Minbay'a, Dr. Ceren Toy'a, elektron mikroskopisi çalışmamızı yürüttüğümüz Marmara Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji A.D Prof. Dr. Feriha Ercan'a, kendi gibi güzel fikirler sunan ve ilk damar anastomozunu yaptığımız canım kardeşim merhum Dr. Mustafa Yalçın'a,

Başta hems. Sevim Topçu olmak üzere tüm genel cerrahi kliniği ve Hem. Hülya Tepedelen, Hem. Arzu Köklücan, Pers. Murat Kalem olmak üzere tüm ameliyathane ekip arkadaşlarıma,

Ayrıca bu zorlu süreçte her türlü fedakârlığı göstererek bana destek olan, sevgisini her zaman hissettiğim biricik Eşim Sevda'ya ve dört gözle eve dönmemi bekleyen biricik oğlum Yakup Ege'ye, anneme, babama ve tüm aileme en kalbi duygularıyla, sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

ÖZGEÇMİŞ

██████████ ██████████ ilçesinde doğdum. İlköğretimimi Midyat'ta, ortaokul eğitimimi Mardin'de tamamladım. 2008 yılında Mardin Anadolu lisesinden mezun oldum. 2014'te Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun olarak Batman Gerçüş Devlet Hastanesinde Pratisyen Acil hekimi olarak göreve başladım.2 yıl görev yaptıktan sonra 2016 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak cerrahi ihtisasıma başladım. Evli ve 1 çocuk babası olup genel cerrahi ihtisasıma devam etmekteyim.