



**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

DIYABETİK SIÇAN MODELİNDE İRİSİN'İN MCFARLANE FLEP BESLENMESİNE ETKİSİ

**Dr. Damla GENÇEL
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Eyüphan GENÇEL**

ADANA-2023



**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

DIYABETİK SIÇAN MODELİNDE İRİSİN'İN MCFARLANE FLEP BESLENMESİNE ETKİSİ

**Dr. Damla GENCEL
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Eyüphan GENCEL**

Bu Tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TTU-2022-14522 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2023

TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda ihtisas eğitimim boyunca kendilerinden mesleki ve insani açıdan çok şey öğrendiğim, her zaman örnek alacağım kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Osman Metin YAVUZ'a ve Prof. Dr. Erol KESİKTAŞ'a,

Asistanlığım boyunca birlikte çokça çalışma şansına eriştiğim, teorik ve pratik bilgime yaptığı katkılar sayesinde mesleki gelişimimi sağlayan kıymetli tez danışmanım, mikrocerrahi ameliyatlarına katılmaktan onur duyduğum hocam Doç. Dr. Eyüphan GENCEL'e,

İhtisas süremde birlikte en çok vakaya girdiğim hocalarımdan, cerrahi nosyonu ve ameliyatlardaki prensipli tutumuyla kendime örnek aldığım, kıymetli bilgilerini ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Cengiz ESER'e sonsuz saygılarımı sunarım.

Cerrahide veya hastane dışında, her türlü konuda ne zaman başım sıkışsa arayabildiğim, asistanlığım boyunca en çok kendilerine soru sorduğum, cevaplarını ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocalarım-abilerim Dr. Öğr. Üye. İbrahim TABAKAN ve Dr. Öğr. Üye. Ömer KOKAÇYA'ya teşekkür ederim.

Yoğun ve yorucu ancak bir o kadar da güzel olan asistanlık günlerimde bana kardeş olan dostlarım Dr. Yankı Görkem KESKİN ve Dr. Aydın URAL'a, kıdemsiz asistanlık dönemimde hareketlerini iyi izlediğim Dr. Ensari YAVUZ'a ve ihtisasımız bitse de arkadaşlığımızın bitmeyeceği Dr. Ahmet Umut YUVACI'ya, iş arkadaşlığının yanında her daim dostluğunu gösteren Mustafa TİLKİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Eğitimim süresince birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım, hemşire, personel ve sekreterlere de ayrı ayrı teşekkür ederim.

Tezimin planlanma aşaması, deneysel aşama, histopatolojik değerlendirme ve yazım aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Dr. Samet KARA'ya, Dr. Alper ÇELENK'e, Doç. Dr. Fatma AYDINOĞLU'na, Dr. Püren YÜCEL'e ve SABİDAM bünyesinde tüm çalışanlara teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni destekleyen, benim bugünlere gelmem için emeklerini esirgemeyen kıymetli babam Sadullah GENCEL, kıymetli annem Günsu GENCEL ve canımdan çok sevdiğim ablam Çise GENCEL'e ve tüm aileme teşekkürü borç bilirim.

İyisiyle kötüsüyle ihtisas hayatım boyunca bana her zaman destek olan, Adana'nın hayatıma kattığı can yoldaşım Tuğçe ESER'e teşekkür ediyorum.

Dr. Damla GENCEL



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	III
TABLO LİSTESİ.....	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Flep Tanımı	3
2.1.1. Flep Tarihçesi.....	3
2.1.2. Flep Sınıflandırması	5
2.2. Cilt Flepleri	101
2.2.1. Cildin Histolojisi ve Fonksiyonu	101
2.2.2. Cilt Dolaşımı	10
2.2.3. Cilt Flebinde Fizyolojik Değişimler.....	16
2.2.4. Cilt Fleplerinde Kayıp.....	17
2.2.5. Cilt Fleplerinde Kaybın Önlenmesi.....	18
2.3. Dokularda Metabolizma ve Enerji	20
2.3.1. Karbonhidrat Metabolizması.....	22
2.3.2. Kan Şekeri Regülasyonu	24
2.3.3. Diyabet	26
2.4. İrisin	31
2.4.1. Fizyolojik ve Patofizyolojik Koşullarda İrisin	32
2.5. Deneysel Sıçan Modelleri ve Değerlendirme Araçları	35
2.5.1. Deneysel Sıçan Cilt Flep Modeli	36
2.5.2. Deneysel Sıçan Diyabet Modeli.....	37
2.5.3. İndosiyanın Yeşili İmmunfloresan Görüntüleme	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Deneyde Kullanılan Malzeme ve İlaçlar:.....	39
3.2. Deneyde Kullanılan Farmakolojik Ajanların Hazırlanması	41
3.3. Çalışma Grupları	42

3.4. Cerrahi Yöntem.....	44
3.5. Histopatolojik İnceleme	47
3.6. Elektron Mikroskopunda İnceleme	48
3.7. İstatistiksel Analiz.....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Klinik Bulgular	50
4.2. İmmünfloresan Anjiyografi Bulguları.....	53
4.3. Işık Mikroskobu Bulguları	57
4.3.1. Grup-1: Deney Kontrol Grubu	57
4.3.2. Grup-2: İrisin.....	59
4.3.3 Grup-3: Diyabet Kontrol	60
4.3.4. Grup-4: Diabet+flep+irisin.....	61
4.4.Elektron Mikroskobik Bulgular	62
4.4.1.Kontrol Grubu	62
4.4.2.İrisin Grubu	63
4.4.3.Diyabet Grubu.....	65
4.4.4.Diyabet+İrisin Grubu	66
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular	67
4.5.1. Kontrol Grubu	67
4.5.2. İrisin Grubu	68
4.5.3. Diyabet Grubu.....	69
4.5.4. Diyabet+İrisin Grubu	70
5. TARTIŞMA	72
5.1. İrisin’in İnflamasyona Etkisi.....	78
5.2. İrisin’in Anjiyogenik Etkisi.....	80
5.3.İrisin’in Anti-iskemik Etkisi	81
5.4.İrisin’in Anti-apoptotik Etkisi	83
5.6.İrisin’in Anti-diyabetik Etkisi	83
5.7.İrisin’in Flep Beslenmesine Etkisi	85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	88
KAYNAKLAR	89

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1. Endotel Hücre Fonksiyonları	14
Tablo 2. Glikoz transport proteinleri	26
Tablo 3. Laboratuvar sıçanında dolaşım sistemi normal değerleri	36
Tablo 4. Elektron mikroskopik doku takibinde dehidratasyon, şeffaflandırma ve immersiyon işlemi	49
Tablo 5. Çalışma gruplarına göre ağırlık değişimi, kan şekeri, flep nekrozu oranları ...	51
Tablo 6. Gruplara göre fleplerin nekroz oranlarının ImageJ ile ölçümü	52
Tablo 7. Deney kontrol grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları	54
Tablo 8. İrisin grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları	54
Tablo 9. Diyabet İrisin grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları	54
Tablo 10. Diyabet kontrol grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları	55
Tablo 11. Çalışma gruplarına göre flep anjiyografi yüzdeleri	57
Tablo.12 Dermiste VEGF immunreaktivitesinin semikantitatif değerlendirmesi	71

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 1. Cerrahi ve flep tarihindeki önemli gelişmeler	5
Şekil 2. Rotasyon Flebi	6
Şekil 3. Fleplerin vasküler evrimi, Wei, Mardini Flaps and Reconstructive Surgery	6
Şekil 4. Cilt ve subkütan yapılarda vasküler pleksuslar	7
Şekil 5. Cormack Lamberty Fasyokütan Flep sınıflandırması	8
Şekil 6. Mathes Nahai kas flebi sınıflandırması	9
Şekil 7. Cildin histolojisi	112
Şekil 8. Prekapiller şant ve sfinkterler	12
Şekil 9. Anjiozomlar ve anastomozları	15
Şekil 10. Cilt kapiller yatağı ve choke damarlar	16
Şekil 11. Karbonhidrat, protein ve yağın katabolizması	21
Şekil 12. Karbonhidrat metabolizması	23
Şekil 13. Diyabet Tipleri	277
Şekil 14. Ateroskleroz	29
Şekil 15. İrisin'in biyokimyasal yapısı	31
Şekil 16. İrisin'in etki ettiği organlar ve etkileri	34
Şekil 17. İrisin'in egzersiz sonrası etki mekanizması	35
Şekil 18. Streptozotosinin kimyasal yapısı	37
Şekil 19. İndosiyanın yeşili	40
Şekil 20. İrisin	41
Şekil 21. Flep cerrahisinde kullanılan aletler	42
Şekil 22. Sıçan kuyruk veni glikoz ölçüm örnekleri	43
Şekil 24. Sıçanlarda McFarlane flebinin uygulanması ve yerine iadesi	45
Şekil 25. Sıçan kuyruk veni kateterizasyonu	46
Şekil 26. Sıçan kuyruk veninden ICG uygulaması	46
Şekil 27. Sıçanların McFarlane fleplerinin SPY-Q ile beslenme analizi	47
Şekil 28. Sıçanların ağırlık değişimleri (gr), ($p < 0.001$)	50
Şekil 29. ImageJ ile nekroz alanının hesaplanması	51
Şekil 30. Gruplara göre ImageJ ile hesaplanan flep nekroz oran ortalamaları	53

Şekil 31. İmmünfloresan anjiyografi ile flep perfüzyonunun değerlendirilmesi.....	53
Şekil 32. Gruplara göre flep proksimali SPY analiz ortalamaları	55
Şekil 33. Gruplara göre flep ortası SPY analiz ortalamaları.....	56
Şekil 34. Gruplara göre flep distali SPY analiz ortalamaları.....	56
Şekil 35. Gruplara göre fleplerin SPY analizi ile hesaplanan beslenme oranları	57
Şekil 36. Kontrol grubundan elde edilen ince deri kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüsü.	58
Şekil 37. İrisin kontrol grubundan alınan ince deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsü.	59
Şekil 38. Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulaması yapılan sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskopik görüntüsü.	60
Şekil 39. Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulaması yapılan ve irisin verilen sıçanlardan alınan ince deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsü.	62
Şekil 40. Kontrol grubuna ait (Sadece Flep) deneklerden alınan deri dokusunun elektron mikroskopik görünümü.....	63
Şekil 41. İrisin kontrol (Flep+İrisin) grubuna ait deneklerden alınan deri dokusu kesitlerinin elektron mikroskopik görünümü.....	64
Şekil 42. Diyabet grubuna ait (diyabet+flep) deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.....	65
Şekil 43. Diyabet+İrisin uygulanan gruba ait deri kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Dermiste kollajen lif dağılımının (Kol) ve fibroblastların (F) normal yapıda olduğu izlenmektedir.	66
Şekil 44. VEGF immunoreaktivitesi.....	67
Şekil 45. Kontrol grubunda VEGF immunreaktivitesi.	68
Şekil 46. İrisin+Flep uygulanan grupta VEGF immunoreaktivitesi.	69
Şekil 47. Deney grubunda (Diyabet+Flep) VEGF immunreaktivitesi.	70
Şekil 48. Diyabet+İrisin uygulanan grupta VEGF immunoreaktivitesi.	71

KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	: Adrenocorticotrophic Hormon (Adrenokortikotropik Hormon)
AGE	: Advanced Glycation End Product (Glikasyon Son Ürünleri)
AMPK	: Adenozin Monofosfat-aktive Protein Kinaz
Apo	: Apolipoprotein
ATP	: Adenozin Trifosfat
BDNF	: Beyin Derive Nörotropik Faktör
Ca ²⁺	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
cc	: Santimetreküp
CGRP	: Calcitonin Gene Related Peptide (Kalsitonin Gen İlişkili Peptit)
Cm	: Santimetre
CO ₂	: Karbondioksit
DIEP	: Derin İnfierior Epigastrik Perforatör flep
Dk	: Dakika
DM	: Diyabetes Mellitus
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EGF	: Epidermal Growth Factor (Epidermal Büyüme Faktörü)
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ET	: Endotelin
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
FGF	: Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)
FNDC5	: Fibronectin Type 3 Domain Containin Protein 5 (Fibronektin Tip III içeren protein 5)
GH	: Growth Hormon (Büyüme Hormonu)
GLUT	: Glikoz Taşıyıcı Protein
Gr	: Gram
H&E	: Hematoksin Eosin
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
ICAM-1	: Intracellular Adhesion Molecule 1 (İntraselüler Adhezyon Molekülü 1)

ICG	: Indocyanine Green (İndosiyanin Yeşili)
IDF	: International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)
IGF	: Insulin-like Growth Factor (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)
IL-6	: İnterlökin 6
kDa	: Kilo Dalton
Kg	: Kilogram
L	: Litre
LDL	: Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
M.Ö.	: Milattan Önce
M.S.	: Milattan Sonra
MAPK	: Mitojen Aktive Protein Kinaz
MCP-1	: Makrofaj Kemoatraktan Protein 1
MIP-1 α	: Makrofaj İnflamatuvar Protein 1 Alfa
MIP-1 β	: Makrofaj İnflamatuvar Protein 1 beta
ml	: Mililitre
mmHg	: Milimetre Civa
Mmol	: Milimol
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
NF- κ B	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
PDGF	: Platelet Derive Growth Factor (Plateletten Oluşan Büyüme Faktörü)
PG	: Prostoglandin
PGC-1 α	: Prostoglandin Koaktivatör-1 Alfa
PGH2	: Prostoglandin H2
pH	: Potansiyel Hidrojen
PPAR γ	: Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör Gama
RSTL	: Relaxed Skin Tension Lines (İstirahat Cilt Tansiyon Çizgileri)
SGLUT	: Sodyum Bağımlı Glikoz Taşıyıcı Protein
STZ	: Streptozotosin/ Streptozosin
T1D	: Tip 1 Diyabet
T2D	: Tip 2 Diyabet

TGF	: Transforming Growth Factor (Transforming Büyüme Faktörü)
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta (Transforming Büyüme Faktörü Beta)
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TPA	: Tissue Plasminogen Activator (Doku Plazminojen Aktivatörü)
VCAM-1	: Vascular Cellular Adhesion Molecule 1 (Vasküler Hücre Adhezyon Proteini 1)
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)
yy.	: Yüzyıl



ÖZET

Diyabetik Sıçan Modelinde İrisin'in McFarlane Flep Beslenmesine Etkisi

Giriş ve Amaç: Flepler doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Diyabetik hastalarda bozulmuş yara iyileşmesi ve iskemik hasar nedeniyle flep başarısı düşmektedir. İrisin, anti-iskemik, anjiyojenik, anti-diyabetik, anti-inflamatuar etkilere sahip bir adipokin hormondur. Sıçan deri fleplerinde iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarına koruyucu etkileri gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın amacı, streptozotosinle indüklenmiş diyabetik sıçanlarda cilt fleplerinde İrisin'in flep perfüzyonuna etkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: 250-300 gram aralığında 24 Wistar-Albino erkek sıçan dört gruba ayrıldı. Grup 3 ve 4'teki sıçanlara intraperitoneal olarak streptozotosin verildi. Grup 1 ve 2'deki sıçanlara aynı miktarda salin verildi. Sekizinci haftada tüm sıçanlarda McFarlane cilt flebi oluşturuldu. Grup 2 ve 4'teki sıçanlara üç gün intraperitoneal İrisin uygulandı. Yedinci günde flep perfüzyonu SPY immunofloresan anjiyografi kullanılarak ölçüldü. Sıçanların fotoğrafları çekilerek nekroz oranları hesaplandı ve inflamasyon, fibrozis ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonlarını değerlendirmek üzere histopatolojik örnekler alındı.

Bulgular: Grupların nekroz yüzdeleri kontrol 9.9 ± 3.1 , İrisin 2.2 ± 2.9 , diyabetik kontrol 33.7 ± 15.8 ve diyabetik irisin 6.2 ± 3.6 olarak ölçüldü. İrisin grubunda, kontrol grubuna göre flep nekroz oranında sayısal azalma ve daha iyi perfüzyon saptandı ($p > 0.005$). Diyabetik kontrol grubunda, kontrol, İrisin ve diyabetik İrisin gruplarına göre flep perfüzyonunda ve nekroz oranlarında anlamlı fark saptandı ($p < 0.05$). İrisin grubunda deney kontrol grubuna göre, diyabetik irisin grubunda diyabet kontrol grubuna göre VEGF ekspresyonunda artış, inflamasyon ve fibroziste azalma gözlemlendi.

Sonuç: İrisinin hem diyabetik hem diyabetik olmayan sıçanlarda cilt flep beslenmesine olumlu etkileri vardır. Diyabetik sıçanlarda ise İrisin flep beslenmesini artırarak flep nekrozunda anlamlı azalma sağlamaktadır ($p < 0.05$). İrisin, VEGF ekspresyonunu miktarını artırarak flep vasküleritesinde artış sağlamakta, inflamasyon ve fibroziste iyileşme sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, flep beslenmesi, İrisin

ABSTRACT

The Effect of Irisin on McFarlane Flap Survival in Diabetic Rat Animal Model

Introduction and Objectives: Flaps are commonly used in the reconstruction of tissue defects. Failed flaps are observed in diabetic patients due to impaired wound healing and ischemic damage. Irisin is an adipokine hormone with anti-ischemic, angiogenic, anti-diabetic, and anti-inflammatory effects. Protective effects of Irisin on ischemia and ischemia-reperfusion injury have been observed in rat skin flaps. The aim of this study is to investigate the effect of Irisin on flap perfusion in skin flaps in diabetic rats induced by streptozotocin.

Materials and Methods: 24 Wistar-Albino male rats weighing between 250-300 grams were divided into four groups. Streptozotocin was intraperitoneally administered to rats in groups 3 and 4. McFarlane skin flap was performed in all rats in the eighth week. Rats in groups 2 and 4 were given intraperitoneal Irisin for three days. Flap perfusion was measured on the seventh day using SPY immunofluorescent angiography. Rat photos were taken to calculate necrosis rates and histopathological samples were taken to evaluate inflammation, fibrosis, and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression.

Results: The necrosis percentages of the groups were measured as control 9.9 ± 3.1 , Irisin 2.2 ± 2.9 , diabetic control 33.7 ± 15.8 , and diabetic Irisin 6.2 ± 3.6 . In the Irisin group, a numerical decrease in flap necrosis rate and better perfusion were detected compared to the control group ($p > 0.005$). In the diabetic control group, significant differences were observed in flap perfusion and necrosis rates compared to the control, Irisin, and diabetic Irisin groups ($p < 0.05$). In the Irisin group compared to the control group, in the diabetic Irisin group compared to diabetic control group, an increase in VEGF expression, and a decrease in inflammation and fibrosis were observed.

Conclusion: Irisin has positive effects on skin flap perfusion in both diabetic and non-diabetic rats. In diabetic rats, Irisin increases flap perfusion and reduces flap necrosis ($p < 0.05$). Irisin increases VEGF expression, flap vascularity, and provides improvement in inflammation and fibrosis.

Key Words: Diabetes, Flap survival, Irisin

1. GİRİŞ

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi'yi oluşturan unsurların başında rekonstrüksiyon gelmektedir. Rekonstrüksiyon, tıbbi bilgi, anatomiye hakimiyet ve cerrahi tekniğin birleşmesiyle vücuttaki kaybedilmiş dokuya form ve fonksiyonun tekrar kazandırılmasıdır¹. Travma, enfeksiyon, tümör cerrahisi gibi edinsel veya konjenital sebeplere bağlı defektlerin onarımında cilt, cilt altı yağ dokusu, kas, kemik, kartilaj ve nörovasküler yapıların bir kısmını veya kombinasyonlarını içeren dokular kullanılabilir.

Kendisini besleyen vasküler yapılar korunarak defekt onarımında kullanılan doku “flep” olarak tanımlanmıştır. Flep cerrahisinin başarısında cerrahi planlama ve hastaya ait faktörler etkilidir. Tarihsel süreçte “rekonstrüksiyon merdiveni” kullanılmış ve basitten karmaşığa doğru onarım önerilmiştir. Günümüzde hastanın ihtiyacına en uygun yöntemin doğru zamanda uygulanması kabul görmektedir. Özellikle cilt devamlılığı sağlanmasında cilt flepleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Teknolojinin gelişimiyle özellikle cildin vasküler yatağı haritalandırılmış ve flep yaşayabilirliğini arttırıcı cerrahi teknikler geliştirilmiştir. Ancak tüm bu gelişmelere rağmen flep kayıpları ve tekrarlayan cerrahiler plastik cerrahinin sorunu olmaya devam etmektedir. Parsiyel veya total flep kayıplarında iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarı, inflamasyon ve mikrotrombüs oluşumu görülür^{2,3}. Arteriyel ve venöz yetmezlik, iskemi reperfüzyon hasarına bağlı serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidaz ürünlerinin oluşması flep kayıplarını arttırmaktadır.

Cerrahi alanda beslenme bozukluğu ve enfeksiyona yatkınlık nedenleri arasında koroner arter hastalıkları, hipertansiyon ve diyabet gelmektedir. Özellikle diyabetik hastalarda flep kayıpları daha fazla görülmektedir⁴⁻⁶. Plastik cerrahide diyabete bağlı yara iyileşme sorunlarını ve flep beslenme problemlerini çözmek için kan şekeri regülasyonu sağlanması ve özel yara bakım ürünleri kullanılması söz konusudur. Hiperbarik oksijen tedavisi ve düzenli debridmanlar diyabetik yaralarda kullanılmaktadır. Diyabet varlığında cilt flep beslenmesinde bozulma, cilt kanlanmasında azalma, iskemiye cevabın bozulması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve mikrotrombozların oluşumu görülür⁷. Ancak uygun teknik, çeşitli farmakolojik ajanlar ve özel yara örtüleri kullanılmasına

rağmen özellikle bölgesel ve serbest flep uygulamalarında hala istenilen başarıya ulaşamamaktadır^{2,8,9}.

İrisin hormonu insanda ve farede egzersiz sırasında veya soğuk maruziyetinde iskelet kasları tarafından sentezlenir ve beyaz yağ dokusunun kahverengi yağ dokusuna dönüşümüne neden olur ^{10,11}. Egzersiz sırasında üretiminin artması nedeniyle egzersizin vücutta yaptığı olumlu etkilerde irisinin etkinliği anlaşılmış ve çalışmalara konu edilmiştir ¹².

Miyokard hücrelerinden de üretildiği bilinen İrisin, miyokardiyal iskemide oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyona bağlı hasarın iyileşmesinde aktif rol alır. Endotelyal hücre disfonksiyonunda ve buna bağlı gelişen hipertansiyonda endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) aracılığıyla modülatör görevi görür ¹³. Aktive caspase-3'ün etkinliğini azaltarak iskemik kardiyomiyoblastlarda mitokondriyal apoptoz ve şişmeyi önler. Yapılan çalışmalarda diyabetik farelerde Adenozin Monofosfat-aktive Protein Kinaz (AMPK) yolağı üzerinden hipoksik iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı saptanmıştır ^{14,15}. İrisin'in önceki çalışmalarda sıçan cilt fleplerinde iskeminin etkilerini azalttığı ve flep beslenmesini arttırdığı kanıtlanmıştır ¹⁶.

Bu çalışmada iskemiye karşı koruyuculuğu ve antidiyabetik etkileri kanıtlanmış olan İrisin'in diyabetik sıçan modelinde cilt flep beslenmesine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda İrisin'in flep beslenmesine etkinliğinin anti-iskemik, anjiyogenetik, anti-inflamatuar ve antidiyabetik etkileri ışık mikroskopisi ve elektron mikroskopisinde incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Flep Tanımı

Flepler doku defektlerin onarımında kullanılan ve kendine ait vasküler yatağı olan dokulardır. Doku defektlerinin oluşumunda Travma, tümör cerrahisi, enfeksiyonlar, konjenital veya edinsel deformite gibi nedenler yer alır. Rekonstrüksiyonda amaç kaybedilen dokunun fonksiyonunun ve formunun tekrar sağlanmasıdır¹⁷.

2.1.1. Flep Tarihçesi

Tarihte ilk flep kullanımı milattan önce (M.Ö.) 1000-800'lü yıllar arasında Hindistan'a uzanmaktadır. Hindistan'da nazal rekonstrüksiyon operasyonları Delhi'de aynı aileye ait bireyler tarafından nesilden nesile aktararak yüzlerce yıl boyunca devam etmiştir¹⁸. M.Ö. 600 yıllarında Susruta Samhita tarihinde ilk defa burun rekonstrüksiyonunu tanımlayarak kayıtlara geçmiştir¹⁹.

Tarihte bilinen ilk sistematik kadavra diseksiyonunu M.Ö. 300'lerde Calchedon'lu (Kadıköy) Herophilos uygulamış, Galen (131-221), Michelangelo Buonarroti (1475–1564), Leonardo da Vinci (1452–1519) ve Andreas Vesalius (1514-1564) ile anatomik çalışmalar devam etmiştir. İtalyan anatomist Mondino de Liuzzi (1270-1326) ilk kez intravasküler enjeksiyonla anatomik çalışma gerçekleştirerek kardiyovasküler yapıların anlaşılmasına öncülük etmiştir²⁰.

Celsus milattan sonra (M.S.) 25'te ve Oribasius M.S. 300'lerde dudak, burun, kulak ve alında kullanılmak üzere random pediküllü flepleri ve transpozisyon fleplerini kullanmışlardır²¹.

15. yüzyıl (yy.) başlarında Susruta'nın notlarının Hintçeden Arapçaya, Arapçadan da İtalyancaya çevrilerek Avrupa'ya yayıldığı düşünülmektedir. Hindistan'daki burun rekonstrüksiyonuna benzer olarak Sicilyalı Gustavo Branca tarafından lokal fleple nazal rekonstrüksiyon uygulanmış ve ailesinde uygulanmaya devam etmiştir. Oğlu Antonio Branca, üst ekstremiteden uzak flebi ilk kez kullanarak burun rekonstrüksiyonu uygulamıştır²⁰.

Bologna Üniversitesi'nden Gaspare Tagliacozzi uygulamalarıyla plastik cerrahiye çok önemli katkılar sağlamıştır. Tagliacozzi pediküllü kol flebini burun rekonstrüksiyonunda kullanmış, 1597'de plastik cerrahinin ikinci kitabı kabul edilen 704

sayfalık “De Curtorum Chirurgia Per Institutionem” kitabını yayınlamıştır²². Kitapta cerrahi teknikleri detaylıca anlatmış, cerrahi aletler, hasta bakımları ve hemşireler bakımlarına yer vermiştir¹⁸.

Carl Manchot 1889’da intravasküler enjeksiyonlarla cilt vasküleritesi ve invazyonlarını araştırmıştır, cildi besleyen damarların kasların arasındaki ayrımlardan veya kasların içinden geldiğini göstermiştir^{20,21}.

1800’lü yıllarda ve 1900’lerin başında yüzdeki cilt tümörlerinin tanımlanması ile rekonstrüksiyon ihtiyacı artmıştır. Aynı dönemde I. ve II. Dünya Savaşı olması nedeniyle travmaya yönelik gelişmiş cerrahi tekniklere ihtiyaç duyulmuştur. Johann Carl Georg Fricke, Jakob August Estlander, Léon Tripier, Robert Abbe, Johann Friedrich Dieffenbach ve Karl August von Burow gibi cerrahlar özellikle yüzde aksiyel fleplerinin kullanımını yaygınlaştırmışlardır. Tansini ve Ombredanne pediküllü latissimus dorsi kas flebi ve pektoral kas flebini göğüs duvarı rekonstrüksiyonunda kullanmışlardır^{20,23}. 1969 ve 1970’te S.H. Milton delay fenomenini tanımlamış, random flepleri için genişlik/uzunluk oranının yerine vasküler pedikülün önemini literatüre kazandırmıştır^{24,25}.

Mikroskop kullanımı ile mikrovasküler cerrahi ile serbest doku aktarımları uygulanmaya başlanmıştır. 1971’de Mclean ve Buncke serbest omentum flebiyle kranium onarımı yapmışlardır²⁶. Daniel ve Taylor 1980’de serbest groin flebi ile ayak rekonstrüksiyonu yapmışlardır²⁷. Ian Taylor’ın anjiyozom tanımı ile cilt perforatörleri kullanılmaya başlanmıştır²⁸. Hallock 1991’de “kimerik flep” konseptini tanımlamış ve kompozit rekonstrüksiyona öncülük etmişlerdir²⁹.

1989’da Koshima ve Soeda derin inferior epigastrik arter perforatör flebini (DIEP) yayınlamışlardır. Wei ve Mardini de “freestyle perforatör” tekniğini geliştirerek distalden proksimale (retrograde) diseksiyonu geliştirmişlerdir^{30,31}. Günümüzde cilt perforatörü üzerinden serbest flepler ve lenfatik anastomozlar ile lenf nodu transferini kapsayan ileri süpermikrocerrahi teknikleri uygulanmaktadır (Şekil 1) ³²⁻³⁴.

Antik Dönem - Sanayi Devrimi - 1.Dünya Savaşı- 2. Dünya Savaşı- 1990'lar ve Sanayi Devrimi 1.Dünya Savaşı 2. Dünya Savaşı 1980'ler Günümüz



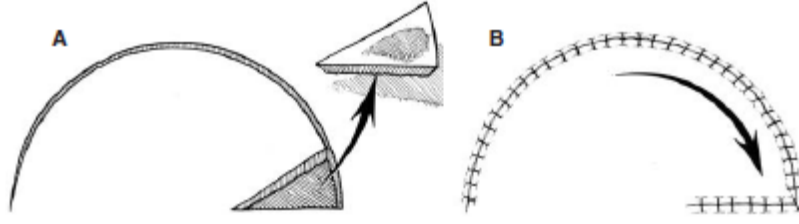
Şekil 1. Cerrahi ve flep tarihindeki önemli gelişmeler²⁰

2.1.2. Flep Sınıflandırması

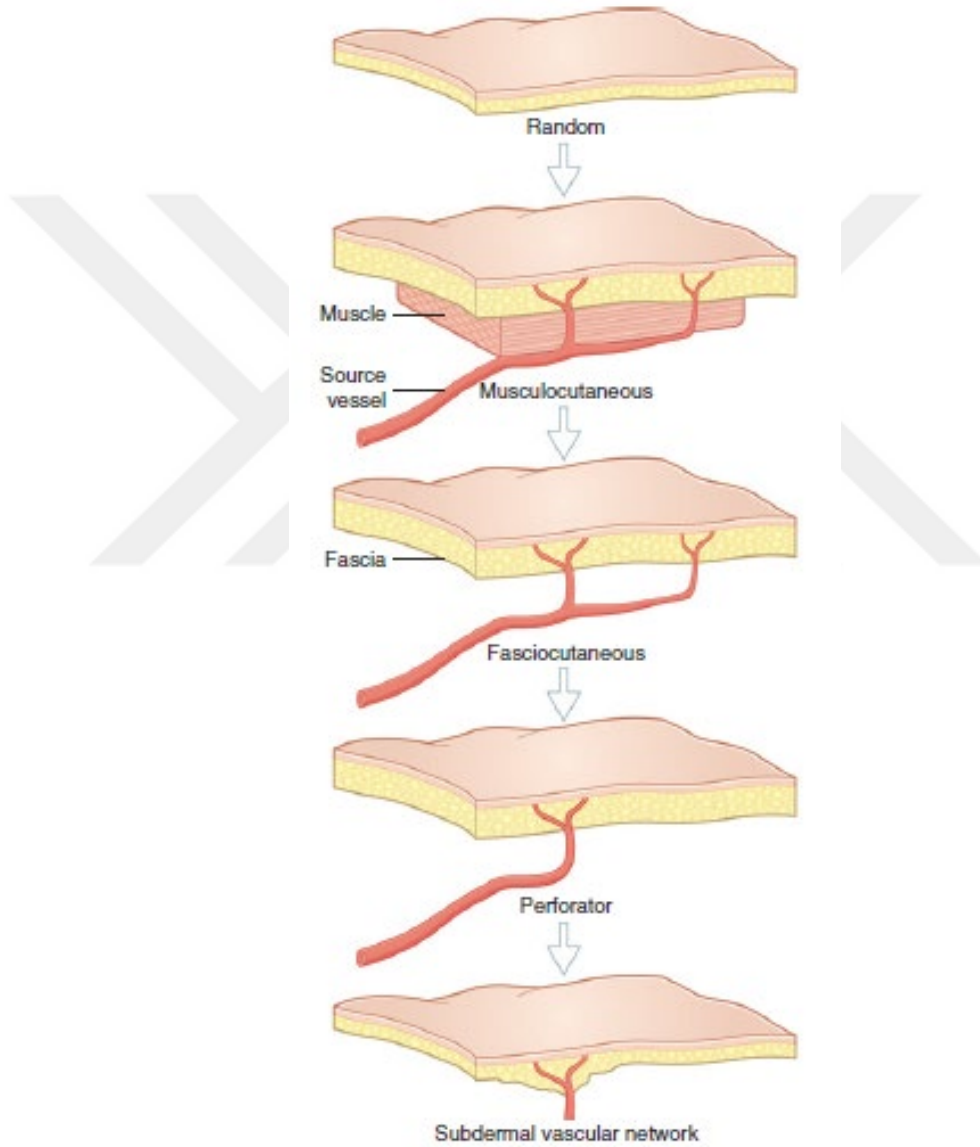
Flep beslenmesi plastik cerrahi alanında en çok çalışılan konulardandır. Flebin defekt alana adaptasyonu için perfüzyonu, yani mikrosirkülasyon ve makrosirkülasyonu iyi olması gerekir.

Fleplerin içerdikleri yapılara göre damar yapıları ve özellikleri değişir. Cerrahi teknikler ilerledikçe farklı dokular içeren flepler geliştirilmiş, daha karmaşık flepler tanımlanmıştır. Bu nedenle flep sınıflandırmaları, kronolojik süreçte yaşanan gelişmeler nedeniyle basitten karmaşığa doğru sürekli değişmiş ve güncellenmiştir.

İlk tanımlanan “random flepler” belirli pedikülü olmayan, subdermal pleksustan beslenen fleplerdir. Random flepler dokunun hareketine (transpozisyon, rotasyon, ilerletme), flebin geometrik şekline (romboid flep, tüp flep) veya defekte olan mesafesine göre (lokal, bölgesel, uzak) sınıflandırılmaktadır (Şekil 2)^{28,35}.



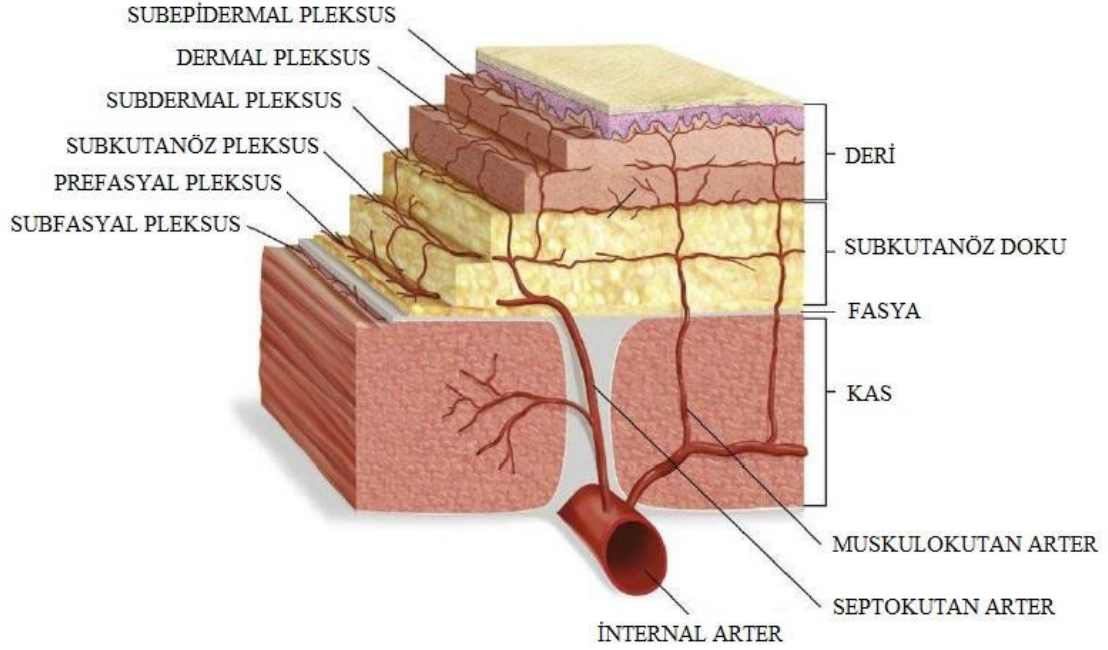
Şekil 2. Rotasyon Flebi¹



Şekil 3. Fleplerin vasküler evrimi, Wei, Mardini Flaps and Reconstructive Surgery³⁶

Vücudun belli bölgelerinde cilt altı vasküler yapılar daha büyüktür ve belli doğrultuda seyreder. Vasküler yapısıyla paralel doğrultuda kullanılan fleplere “aksiyal flep” olarak tanımlanır³⁷. Random fleplerin sağ kalımı artırmak için kasla birlikte

kaldırıldığı flepler “muskulokutan flepler”, fasyal pleksuslardan yararlanmak için fasyanın dahil edildiği flepler “fasyokutan flepler” şeklinde adlandırılır^{38,39}. Pleksuslar arasında vasküler bağlantılar sayesinde keşfedilen, belirli bir ana arterden çıkıp derin ve yüzeysel adipofasyal yapıları, subdermal ve dermal katmanları delerek uzanan vasküler pediküle sahip “perforatör flepler” de flep cerrahisinin gelişim basamaklarında güncel kategoriye oluşturmaktadır (Şekil 3,4)^{40,41}.



Şekil 4. Cilt ve subkutan yapılarda vasküler pleksuslar (Grabb & Smith Plastik Cerrahi¹⁷)

2.1.2.1. Kütanöz Flep Sınıflandırması

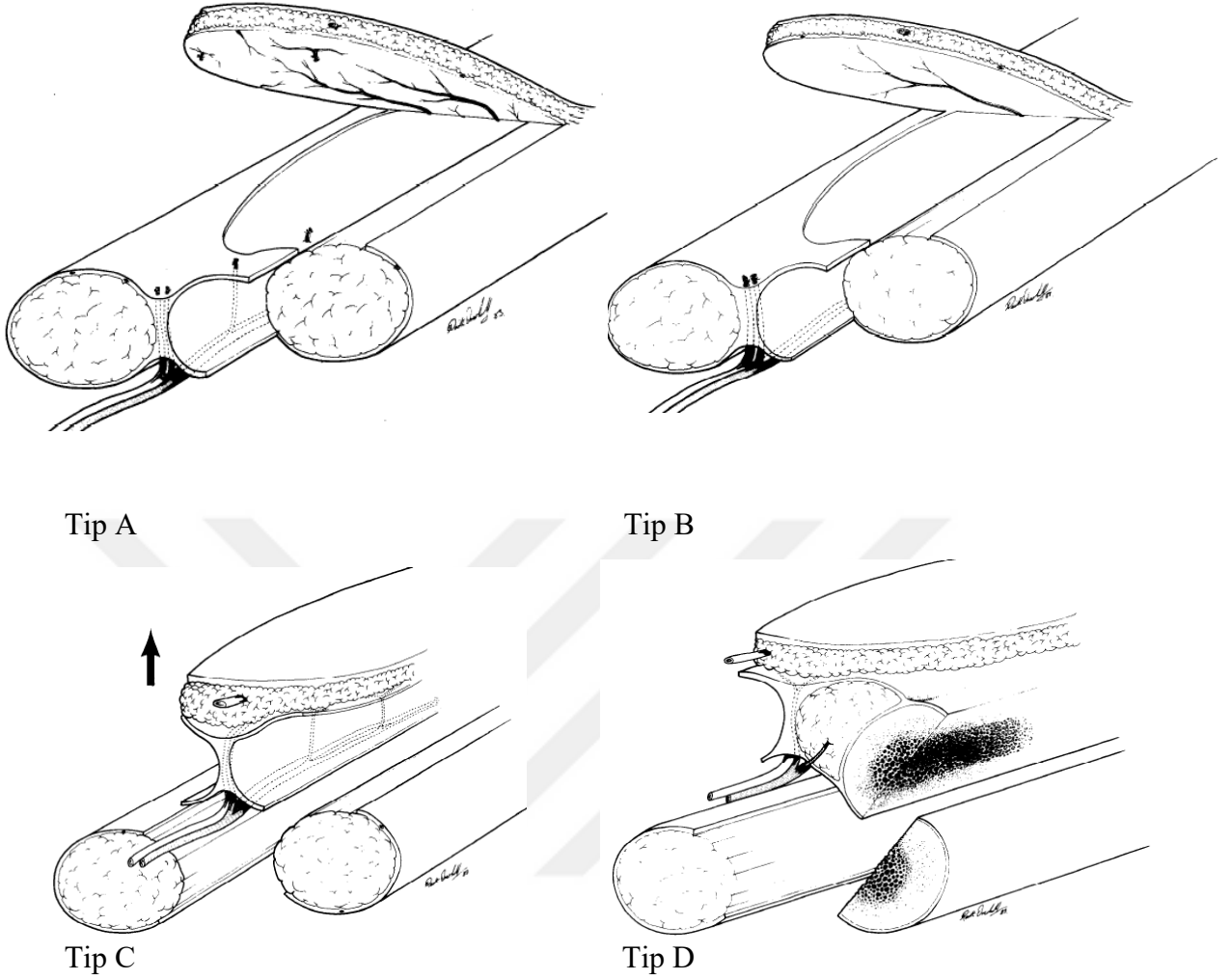
Cormack ve Lamberty 1984’de yaptıkları sınıflandırmada cilt fleplerini fasyal pleksustan aldıkları perforatör sayı ve özelliklerine göre dört grupta incelemişlerdir.

Tip A flepler multiple fasyal perforatör içeren pediküllü aksiyel fleplerdir (paraskapular flep).

Tip B flepler tek ve besleyici derin fasyal perforatöre sahip, pediküllü ve serbest kullanılabilen fleplerdir (medial kol flebi).

Tip C flepler aynı fasya üzerinde çok sayıda segmenter perforatör içeren fleplerdir (radial önkol flebi).

Tip D flepler Tip C fleplerin genişletilmiş halidir, perforatörü içeren fasyayla birlikte aynı damarsal pedikül üzerinden kas ve kemik içerir (Şekil 5)⁴².



Şekil 5. Cormack Lamberty Fasyokütan Flep sınıflandırması (Cormack, G. C., & Lamberty, B. G. H. (1984). A classification of fascia-cutaneous flaps according to their patterns of vascularisation. *British Journal of Plastic Surgery*⁴²⁾)

Mathes Nahai sınıflandırmasında Cormack ve Lamberty'e benzer olarak derin fasyal perforatörlere göre üçe ayrılır:

Tip A direk kütanöz perforatör fleplerdir (groin flep).

Tip B septokütan perforatör içeren fleplerdir (radial önkol flebi).

Tip C muskükütan perforatör içeren fleplerdir (Derin İnferior Epigastrik Perforatör flep (DIEP)).

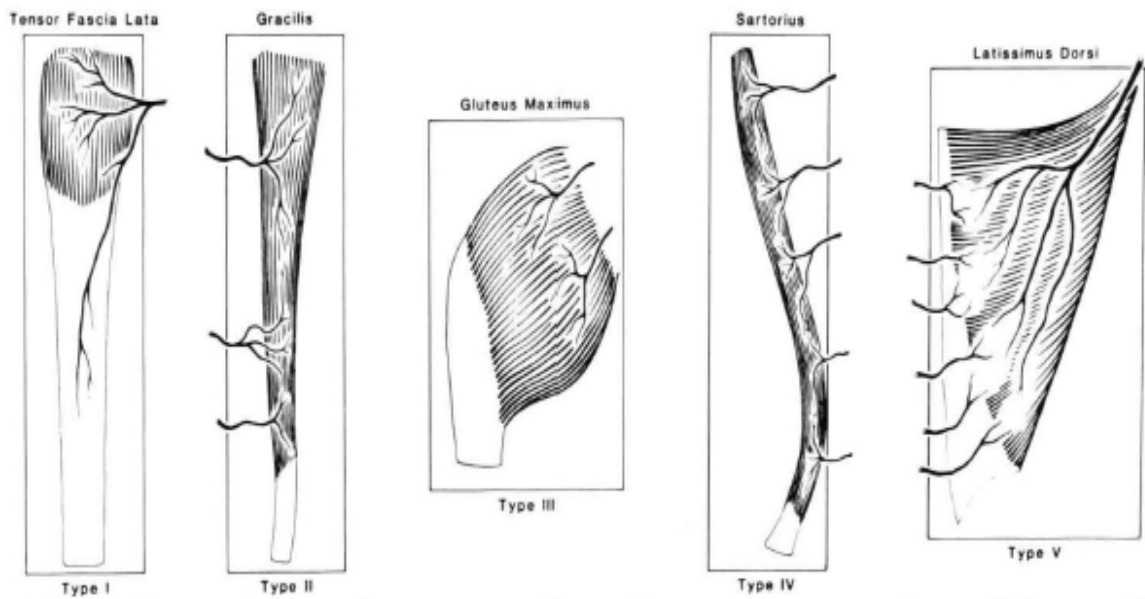
Nakajima sınıflandırmasındaysa fasyokütan flepler, derin fasyaya ait farklı perforatör üzerinde altı grupta incelenmiştir. Tip 1 direkt kütanöz flepler, Tip 2 direkt septokütanöz flepler, Tip 3 kas damarından ayrılan cilt perforatöründen beslenen flepler,

Tip 4 muskulokutanöz perforatör flepler, Tip 5 septokutanöz perforatör flepler, Tip 6 kas damarlarının direkt kutanöz dallarından beslenen fleplerdir.

2.1.2.2. Kas Flepleri Sınıflandırması

Mathes ve Nahai 1981’de kas fleplerini pedikül sayı ve özelliklerine göre beş gruba ayırmıştır⁴³.

Taylor ise motor inervasyonları göz önünde bulundurularak kas fleplerini dört gruba ayırmıştır (Şekil 6)³⁶.



Şekil 6. Mathes Nahai kas flebi sınıflandırması (Mathes, S. J., & Nahai, F. (1981). Classification of the vascular anatomy of muscles: Experimental and clinical correlation. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 67⁴³.)

2.1.2.3. Diğer Sınıflandırmalar

Kemik flepleri Serafin tarafından endosteal ve periosteal dolaşıma göre sınıflandırılmıştır.

Kombine flepler birden fazla komponenti olan fleplerdir. Kombine flep tanımlandıktan sonra konjoint ve kimerik flepler kompleks defektlerin onarımında kullanılmak üzere literatüre kazandırılmıştır.

Rekonstrüksiyonda flebin hazırlanması ile defektin onarımı birden fazla operasyonda gerçekleştirilebilir. Nihai onarım öncesi flebin sağkalımını arttırmak için çeşitli ön hazırlıklar tanımlanmıştır. Hamilton’ın delay prosedürü sayesinde flebin iskemi

toleransı yükselerek neovaskülerizasyonu artar²³. Doku genişleticileri, flep prefabrikasyonu ve flep prelininasyonu da flep ön hazırlığı ve çok aşamalı işlemler arasında yer alırlar³⁶.

2.2. Cilt Flepleri

Kendine ait vasküler pedikülü olması nedeniyle flepler greftlerden ayrılırlar. Cilt flepleri için, farklı stres ve iskemik koşullara maruz kalan normal bir cilt oldukları söylenebilir. Cildin anatomik ve histolojik özellikleri, perfüzyona ait fizyolojik özellikleri bu nedenle cilt fleplerinde geçerli olup, cerrahi planlamada ve flep sağkalımının araştırılmasında önemlidir⁴⁴.

2.2.1. Cildin Histolojisi ve Fonksiyonu

Cilt vücudun en geniş organıdır, vücut ağırlığının %15-20'sini oluşturur. Evrimsel süreçte farklı adaptasyonlara maruz kalması nedeniyle vücudu kaplayan bir zarf olmasının yanında önemli mekanizmalarda yer alır⁴⁵.

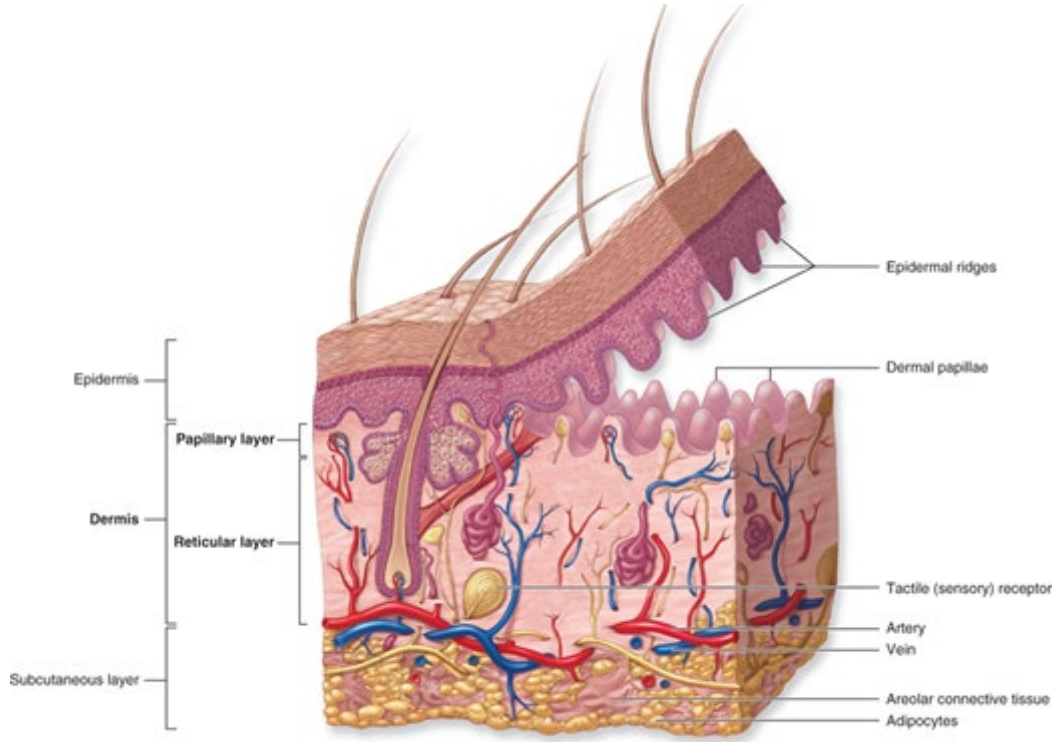
Epidermis (ektoderm), dermis (mezoderm) ve subkütan tabakalarını içerir. Epidermis koruyucu tabakayı oluşturur. Korneum, lusidum, granulosum, spinozum ve bazal tabakaları içerir. Dermis papiller ve retiküler tabakadan oluşur, nörovasküler yapılar, sebase bezler, kıl folikülleri ve immün yapılar içerir. Subkütan tabakada ise yağ tabakası ve ter bezleri görülür (Şekil 7)^{45,46}.

Cildin koruyucu, sensöriyel, termoregülasyon ve metabolik görevleri bulunmaktadır. Vücudu dışardan fiziksel olarak koruması ve sürtünmeye karşı bariyer oluşturmalarının yanında mikroorganizmalara karşı immün cevabı sağlar. Ultraviyole ışınlarına karşı epidermisteki melanin ile koruyuculuk sağlar. Epidermis sayesinde gazları ve çoğu sıvıyı geçirmez, su kaybını önler^{46,47}.

2.2.2. Cilt Dolaşımı

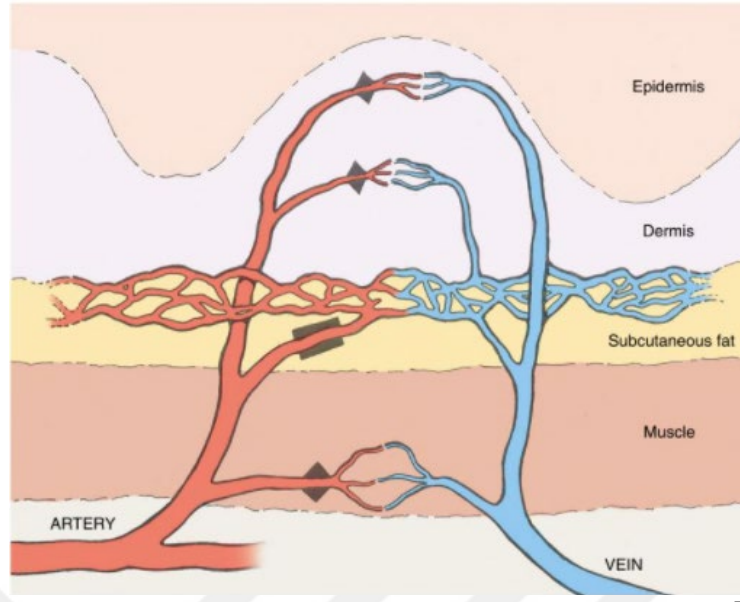
Cildin dolaşımı makrosirkülasyon ve mikrosirkülasyon olarak incelenebilir. Cilt flepleri düşünüldüğünde makrosirkülasyonu flebin pedikülündeki arterler ve venler oluşturmaktadır. Cildin mikrovasküler dolaşımını ise 300 mikrometre ve daha küçük çapta olan arteriol, terminal arteriol, prekapiller sfinkter, kapiller, postkapiller venül, toplayıcı venül, musküler venüller oluşturmaktadır (Şekil 8)^{3,48}.

Besinlerin taşınması, hücresel atık ürünlerin uzaklaştırılması, hormonların taşınması ve bedenin termoregülasyonunda etkilidir. Perfüzyonun regülasyonu lokal ve hümoral olarak düzenlenir. Lokal kan dolaşımındaki değişim akut veya uzun süreli değişimlerden oluşur^{49,50}.



Source: Anthony L. Mescher: Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 15th Edition. Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved.

Şekil 7. Cildin histolojisi (Junqueira Histoloji Atlası⁴⁶)



Şekil 8. Prekapiller şant ve sfinkterler (Local Flaps in Facial Reconstruction, Baker⁵¹.)

Dokunun metabolizma artışı ve oksijen ihtiyacı durumunda vazodilatör teori, oksijensizlik teorisi ve myojenik mekanizmalar tanımlanmıştır. Ortamda adenozin, karbon dioksit (CO₂), adenozin fosfat, histamin, potasyum ve hidrojen iyonlarında artış meydana gelerek vazodilatasyona neden olur. Yine hipoksik çevrede perivasküler düz kas hücrelerinde kontraksiyon azalır ve prekapiller sfinkter sistemi ile perfüzyon düzenlenir⁵¹.

Dokularda besin (glikoz, yağ asitleri) azaldığında da vazodilatasyon görülür. Prekapiller sfinkterler retiküler dermiste bulunur, yeterli arteriyel basınçta besinsel vazodilatasyonda etkilidirler⁵¹.

Cildin termoregülasyon fonksiyonu da kan akımının düzenlenmesinde görev alır. Normal vücut sıcaklığında cildin kan dolaşımı (3 ml/dk/100 gr) cildin beslenmesi için gereken perfüzyonun yaklaşık 10 katıdır. Soğuk çevrede vazokonstriksiyon ile cilt kan akımı azaltılır ancak maksimum vazokonstriksiyonda bile bazal cilt metabolizmasına yetecek perfüzyon sağlanmaktadır. Hipotermik koşullarda postgangliyonik sempatik sistemden salınan norepinefrin ile vazokonstriksiyon preşant sfinkterlerle oluşur. Ciltten ısı kaybı bu mekanizma ile engellenir, vücut sıcaklığının yükselmesi ile sempatik uyarı azalır. Vücut sıcaklığının çok yükseldiği durumlarda sempatik sistemden lokal asetilkolin salınımı sonucu, ter bezlerinden bradikinin salınımı sonucu direk vazodilatasyon preşant sfinkterler ile sağlanır^{47,51,52}.

Endotel hücreleri de kan dolaşımının düzenlenmesinde görev alırlar. Direkt ve indirek etkilerle vasküler dolaşımı düzenlerler (Tablo 1). Kan akışı arttığında vasküler endotele uygulanan sürtünme kuvveti (shear stress) sonucu nitrik oksit (NO) salınımı olur ve vazodilatasyon görülür. Kronik hipertansiyon ve ateroskleroz nedeniyle NO salınım mekanizmasında bozulma meydana gelir^{50,53}.

Endotel hasarında salındığı gözlenen endotelin ise potent vazokonstriktör ajandır. Kan kaybının önlenmesini sağlar. Kronik hipertansiyonda endotel hasarı oluştuğunda endotelin üretimi devam ederek hipertansiyonun devamlılığına neden olur^{3,47,48,51,52}.

Uzun süreli kan dolaşımı regülasyonunda neovaskülerizasyon etkilidir. Neovaskülerizasyon anjiyogenez ve vaskülogenez olarak ikiye ayrılır. Yeni vaskülarite ihtiyacında matür endotelial hücrelerin proliferasyonu ile yeni vasküler dallar oluşturmaya angiogenez denir. Hipoksik koşullarda endotelial progenitör hücrelerin proliferasyonu ile kollateral damar oluşturmaya vaskülogenez denir⁵⁴.

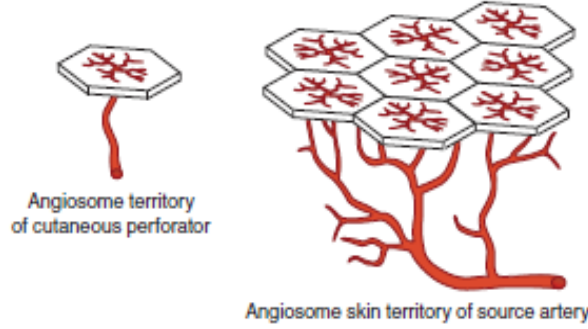
Tablo 1. Endotel Hücre Fonksiyonları 5⁵

Hedef	Etki	Mediatör
Lümen	Vazokonstriksiyon	Endotelin Anjiotensin II ET-I Tromboksan A2 PGH2
	Vazodilatasyon	NO Bradikinin
Büyüme	Stimülasyon	PDGF, VEGF FGF IGF-1 Endotelin Anjiotensin II
	İnhibisyon	NO PGI2 TGF
İnflamasyon	Proinflamatuvar	Adezyon molekülleri ELAM, VCAM, ICAM
	Antiinflamatuvar	
Hemostaz	Protrombotik	PAI-1
	Antitrombotik	Prostasiklin TPA

ET-I: Endotelin 1, PGH2: Prostaglandin H2, NO: Nitrik Oksit, PDGF: Plateletten Oluşan Büyüme Faktörü, VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü, FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü, IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü, TGF: Transforming Büyüme Faktörü, PAI-1: Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1, TPA:Doku Plazminojen Aktivatörü

Perfüzyonun yetersiz olduğu durumlarda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve anjiogenin peptitleri etkisiyle anjiogenez tetiklenir. Steroid, anjiostatin, endostatin gibi maddeler ise anjiogenezi engellerler. Perfüzyonun humoral kontrolünde norepinefrin, epinefrin, anjiotensin II, vasopressin vazokonstriktör etki gösterirken, bradykininler ve histamin vazodilatör etki gösterir^{3,47,48,51,52}. Anjiyogeneizde rol alan diğer sitokinler arasında anjiyopoetin 1 ve 2, transforming büyüme faktörü beta (TGF- β), eritropoetin, epidermal büyüme faktörü (EGF), interlökin 6 (IL-6), matriks metalloproteinaz (MMP) ve eNOS'tur⁵⁶.

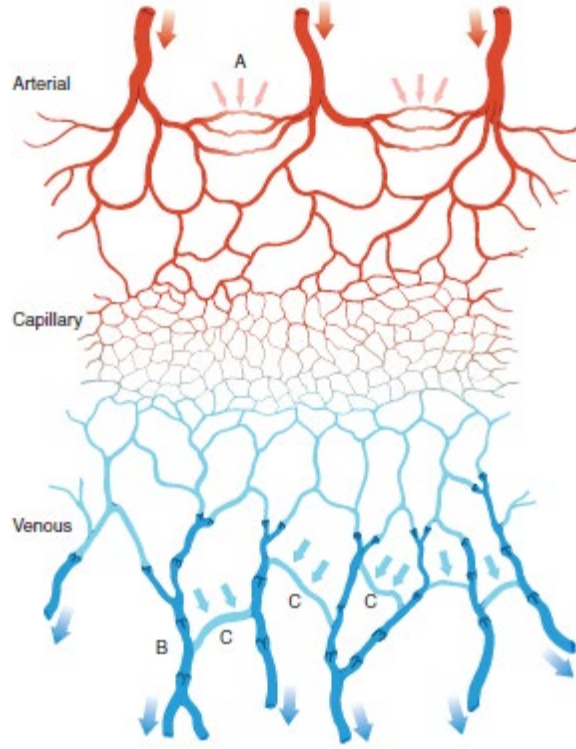
Taylor ve Palmer’ın 1987’de yayınladığı anjiozom konseptiyle tüm cildi, 0,5 mm veya daha büyük çaplı perforatörlerden beslenen 376 bölgeye ayırmıştır. Bu bölgeler birbirleriyle çok ince gerçek damarsal anastomozlar ile veya “choke” damarlarıyla bağlanırlar (Şekil 9,10))²⁸.



Şekil 9. Anjiozomlar ve anastomozları (Zenn Reconstructive Surgery ¹.)

Anjiozomların venleri venozom konseptini oluşturur. Avalvüler küçük anastomoz yapan ven ağları çift yönlü olarak venöz drenajı sağlar. Anjiozom konseptinde Taylor bazı kurallar da tanımlamıştır. Eşitlik yasasına göre bir dokuyu besleyen perforatör büyükse, komşuluğundaki perforatörlerin ince olduğu kabul edilir. Diğer kural olarak derin fasyayı delen perforatörlerin hareketli ve hareketsiz bölgelerde farklı uzanımlar gösterdiği kabul edilmiştir. Hareketsiz cilt bölgelerinde daha kısa ama daha yoğun perforatörlere saptanır. Hareketli bölgelerde ise az ancak uzun perforatörler saptanır. Başka bir kural da perforatörlerin kemik veya fasyal yapılar eşliğinde kalpten periferik uzanımı tanımlanmıştır²⁸.

Saint-Cyr tarafından perforazom tanımı yapılmış ve üç boyutlu düşünerek dinamik ile statik vasküler haritalandırma yapılmıştır ¹.



Şekil 10. Cilt kapiller yatağı ve choke damarlar (Blondeel Perforatör Flepler³.)

2.2.3. Cilt Flebinde Fizyolojik Değişimler

Flep elevasyonundan sonra cilt flebinde oluşan en önemli değişim vasküler dolaşımdaki kısmi bozulmadır. Random fleplerde flep proksimalinden distaline perfüzyon basıncı düşerken, pediküllü fleplerde veya miyokütan fleplerde bu etki daha az gözlenir. Eğer flebin perfüzyon basıncı, choke damarlardaki veya subdermal pleksuslardaki arteriollerin basıncına ulaşmaz ise iskemi oluşur^{44,57}.

Flep elevasyonu sırasında sempatik liflerin kesilmesine bağlı norepinefrin salınımı ile hiperadrenerjik süreç (yaklaşık 30 saat) başlar. Katekolaminler vazokonstriksiyona sebep olur ve flepte geçici iskemi oluşur. Hiperadrenerjik süreç bittikten sonra sempatik tonus azalır, vazodilatasyon ve choke damarların açılması gerçekleşir²³.

İkinci ve yedinci günler arasında neovaskülarizasyon gözlemlenmeye başlar ve perfüzyon günden güne iyileşir. Vasküler geçirgenlik artışı ile endotel hücreleri göç ederek anjiogenezi başlatırlar. Yeni kapiller yapıların oluşumu sonrası tip 4 kollajen, laminin ve proteoglikan içeren bazal membran oluşur. Flep elevasyonu sonrası venöz drenaj ve lenfatik drenajda da bozulmalar meydana gelir. İnterstisyel sıvı artışı ve ödem görülür^{1,44,58}.

Cerrahi travma ve kısmi iskemik süreçlerin etkisi ile histamin, serotonin ve kininlerin üretimiyle inflamasyon başlar. Kompleman sistemi aktivasyonu ile prostoglandinlerin (PG) salınımı artar. PGE₂, PGF_{2α} artar, Tromboxane A₂ salınımıyla trombosit agregasyonu olur. Reperfüzyon sonrası reaktif oksijen radikalleri oluşarak proinflamatuvar sitokinlerin üretimine neden olur^{1,23,44,51,57}.

Flep kaldırılmasından 48 saat içinde tüm bu iskemik ve inflamatuvar sürece dayanıklı olması ve perfüzyonun devam etmesi gereklidir. Bu süreç sonunda anjiyogenez ve yara iyileşme mekanizmaları eş zamanlı devreye girerek flep adaptasyonu hızlanır^{51,59}.

2.2.4. Cilt Fleplerinde Kayıp

Flep nekrozunda nedenler intrinsik ve ekstrinsik olarak sınıflandırılabilir. İntrinsik nedenler flebin perfüzyonundaki yetersizliktir. Ekstrinsik nedenler ise sistemik (enfeksiyon, diyabet, ateroskleroz, malnutrisyon, kemoterapi, immünyetmezlik, sigara maruziyeti, otoimmün hastalıklar) ve lokal (kompresyon, pediküle bası, anastomozda trombüs, pedikülün katlanması, radyoterapi öyküsü, ileri seviyede skarlanma) faktörlerden oluşur^{1,57}.

Reinisch'in 1974'te yaptığı çalışmada flep perfüzyonun aslında normal olduğunu ancak arteriovenöz şantların açılması ile kapiller bypass olması nedeniyle flep beslenmesinde aksamaya bağlı flepte nekroz olduğunu düşünmüştür. Kerrigan 1983'te yaptığı domuz modeli çalışmasında cilt fleplerinin perfüzyonunda azalma olduğunu ve daha çok arteriyel yetmezlikten kaynaklandığını kanıtlamıştır⁵⁷. Random cilt fleplerinde flep tabanında perfüzyon basıncı distaline göre daha yüksek olduğu ancak flep tabanı genişledikçe perfüzyonda değişim olmadığı saptanmıştır. Yine Kerrigan ve Daniel'ın yaptığı çalışmada random cilt fleplerinin 13 saat avasküleriteye dayanıklı olduğu gösterilmiştir⁴⁴.

Flep planlamasında defektin boyutu, içerdiği dokular, alıcı yatağın perfüzyon durumu sorgulanır. Cilt fleplerinde doğru flep dizaynı, flep sağ kalımında en önemli faktördür. Flep kontraksiyon miktarı göz önünde bulundurularak uygun flep boyutu oluşturulur. Pediküllü fleplerde rotasyon arkı flebe dahil edilmelidir¹.

Cilt fleplerinde hem defekt onarımında hem de donör alanın onarımı için cildin biyomekanik üç özelliğinden yararlanılır: lineer özellik göstermeme, anizotropi, viskoelastisite. Lineerlik terimi stres altındayken materyallerin belli miktarda şekil

değişiminde (deformasyon) dayanır. Stres arttıkça lineer bir doğrultuda genişleme (deformasyon) gösterirler. Ancak cildin heterojen yapısı, kolajen ve elastik içeriği nedeniyle nonlinear bir grafiye sahiptir^{51,60}. Az bir gerim ile esnemesi fazla iken, gerim miktarı arttıkça cildin genişleme miktarı azalacaktır. Genişleme ile beraber kolajen yapısında deformasyon sonucu flep matriksinde gerim kaynaklı perfüzyonda kısıtlılık ve nekroz gözlenir⁵⁰.

Anizotropi kavramı, cildin belli doğrultuda daha kolay hareket etmesi ve adapte olabilmesine dayanmaktadır. İstirahat cilt tansiyon çizgileri (RSTL) tüm vücutta cildin gerimden en uzak olduğu doğrultuları gösteren hayali çizgilerdir. Cildin nonlinear özelliğinden yararlanılarak, flep tasarlanmasında insizyonların RSTL göz önünde bulundurulması flepteki stresi azaltmada önemlidir^{17,50}.

Viskoelastisite kavramı ise deformasyona neden olmayacak kadar düşük gerim kuvvetinin düzenli uygulanması ile ciltte genişlemeyi sağlamaktır. Doku genişletici uygulamaları bu cildin bu özelliğinden yararlanmaktadır⁵⁰.

Fleplerin içeriğine göre iskemiye cevapları değişkenlik göstermektedir. Kasların iskemiye toleransı diğer dokulara göre daha az olsa da kas fleplerinde durum farklıdır. Kas fleplerinin erken dönemde hiperemik fazda olması nedeniyle perfüzyonunun daha hızlı adaptasyonu sağlanır^{17,61}.

2.2.5. Cilt Fleplerinde Kaybın Önlenmesi

Flep planlaması yapıldığında, cerrahinin başarılı olmasında pedikülün gözetilmesi, flebe fazla kuvvet uygulanmaması, hemostazın detaylı yapılması ve gerektiğinde kan replasmanı yer alır. Milton'ın tanımladığı delay prosedürü uygulanarak flebin iskemiye dayanıklılığının ve sağ kalımının artırılması mümkündür^{1,23}. Delay tanımlanmasından sonra çeşitli farmakolojik ajanlar uygulanarak iskeminin taklit edilmesine farmakolojik delay denir⁶².

Flep planlaması ve cerrahinin sorunsuz tamamlanması sonrası, flebin başarısı için flep takibi ve hastanın hemodinamik kontrolleri yapılır. Hasta pozisyonu, uygun mobilizasyon, antibiyoterapi, uygun yara bakımı ve dren takibi ile flep monitörizasyonu sağlanır¹.

Flep takibinde makrosirkülasyon için flebin renk ve sıcaklığına bakılabilir, serbest flep veya pediküllü flepte el doppleri ile arteriyel ve venöz akım dinlenebilir.

Makrosirkülasyonda bozulma saptanması durumunda serbest flep ise anastomoz yenilenmesi gerekebilir. Flebin mikrosirkülasyon bozukluğunda venöz yetmezlik oluşur. Doppler veya doku oksijenasyonu takipte kullanılabilir. Flepte vasküler yetmezlik durumunda sülük tedavisi, vazodilatör ajanlar, vasküler viskozitenin azaltılması ve hiperbarik oksijen uygulanabilir. Özellikle serbest fleplerde antikoagülan ve antiagregan ilaçlar kullanılabilir^{63,64}.

Hastaya ait eşlik eden hastalıkların belirlenmesi ile cerrahi öncesi, cerrahi sırasında ve operasyon sonrası bakım döneminde optimal koşulların sağlanması gerekmektedir. Hipertansif hastalarda tansiyon düzenlenmesi, diyabet varlığında kan şekeri regülasyonu, arteriyel yetmezlik durumunda gerekirse girişimsel yöntemler ile rekanalizasyon sağlanması, enfeksiyon varlığında uygun antibiyotik tedavi verilmesi ve debridmanların tamamlanması önemlidir^{1,65,66}.

Yapılan deneysel çalışmalarda flep beslenmesini artırmak üzere pek çok farmakolojik ajan ve fiziksel koşullandırma uygulanmıştır. Çalışmalarda aynı ilaçlar için farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Bu nedenle bir farmakolojik preparatın flep sağ kalımına etkisi araştırılırken ilacın kendisi, uygulama yolu, uygulama zamanlaması (flep cerrahisi öncesi veya sonrası), uygulama dozu, deneysel çalışmalarda deneğin tür özellikleri de değerlendirilmelidir⁵⁸.

Antikoagülan ajanlardan dekstran, heparin, hacim genişletici kolloidler çalışmalarda kullanılmıştır. Literatür taramalarında antikoagülanların fleplerde komplikasyonu arttırıcı ve flep sağkalımını arttırıcı etkileri kanıtlanamamıştır^{64,65}.

Sistemik deşarjın neden olduğu vazokonstriksiyonu önlemek için sempatolitikler denenmiştir. Fenoksibenzamin sıçan cilt fleplerinde flep cerrahisi öncesinde veya sonrasında, sistemik veya flep tabanına uygulandığında sağ kalımı arttırdığı gösterilmiştir⁶⁷. Ancak aynı ilacın farklı çalışmalarda etkisiz bulunmuştur. Sistemik rezerpin, hidroksidopa, propranolol uygulamalarının sağ kalımı arttırdığı veya etkisiz bulunduğu çalışmalar mevcuttur^{58,68,69}.

Direk vazodilatör ajanlardan dimetilsülfoksit (DMSO) topikal uygulandığında sıçan ve tavşan cilt fleplerinde etkinliği farklı çalışmalarda değişkenlik göstermiştir. İzoksüprin, hidralazin gibi ajanların da sıçan cilt fleplerinde çalışmalarından farklı sonuçlar elde edilmiştir⁷⁰.

Pentoksifilin, heparin gibi kan vizkositesine etkili ilaçların cilt flep yaşayabilirliğine faydalı oldukları gösterilmiştir^{71,72}.

L-Arginin⁷³, nifedipin, verapamil, nitrogliserin, klorpromazin, kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP), sodyum nitroprussit⁷⁴, sildenafil⁷⁵, hidrojen sülfür⁷⁶, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF)⁷⁷'nin flep sağ kalımını artırdığı çalışmalar yapılmıştır. Plastik cerrahide estetik girişimlerde daha çok tercih edilen botulinum toksinin⁷⁸ perivasküler veya flep içine enjeksiyonu ile flep yaşayabilirliğine etkinliği gözlenmiştir^{62,72,74-76,78-80}.

Kortikosteroidlerin de flep çalışmalarında iskemiye toleransı artırarak etkinliği gösterilmiştir. Ancak yara iyileşmesini yavaşlatması, inflamatuvar yanıtı değiştirmesi nedeniyle flep sağ kalımına faydalı olmadığı karşıt çalışmalar da bulunmaktadır⁷⁹.

Primer veya sekonder venöz yetmezlik görülen fleplerde kurtarma methodu olarak, reanastomoz yapılan serbest fleplerde trombozu azaltmaya yönelik trombolitik ajanlar ve vazodilatör etkili ilaçlar da çalışmalarda kullanılmıştır. Literatüre bakıldığında fleplerin sağ kalımı için çok çeşitli ilaçlar ve uygulama şekilleri değerlendirilmiştir. Faydalı olduğu düşünülen çalışmaların varlığında, karşıt sonuçlar elde edilen yeni çalışmalar ortaya çıkmıştır^{2,51,58,62-64,66,68,74-76,78,80-85}.

2.3. Dokularda Metabolizma ve Enerji

Vücutta moleküler düzeyde reaksiyonların oluşması ve kimyasal döngülerin tamamlanması için enerji üç şekilde devreye girer: anabolik, katabolik, amfibolik. Anabolik reaksiyonlar küçük yapıli bileşenlerden, enerji kullanılarak daha büyük ve kompleks yapıda ürünler oluşturulmasıdır (glikojen sentezi, protein sentezi). Katabolik reaksiyonlar ise büyük moleküllerin yıkımı ile daha küçük temel ürünlerin oluşturulması ve enerji açığa çıkmasıdır (oksidatif reaksiyonlar). Amfibolik yollar ise anabolik ve katabolik reaksiyonların aynı döngü içinde kullanılmasıyla oluşur (sitrik asit döngüsü)^{86,87}.

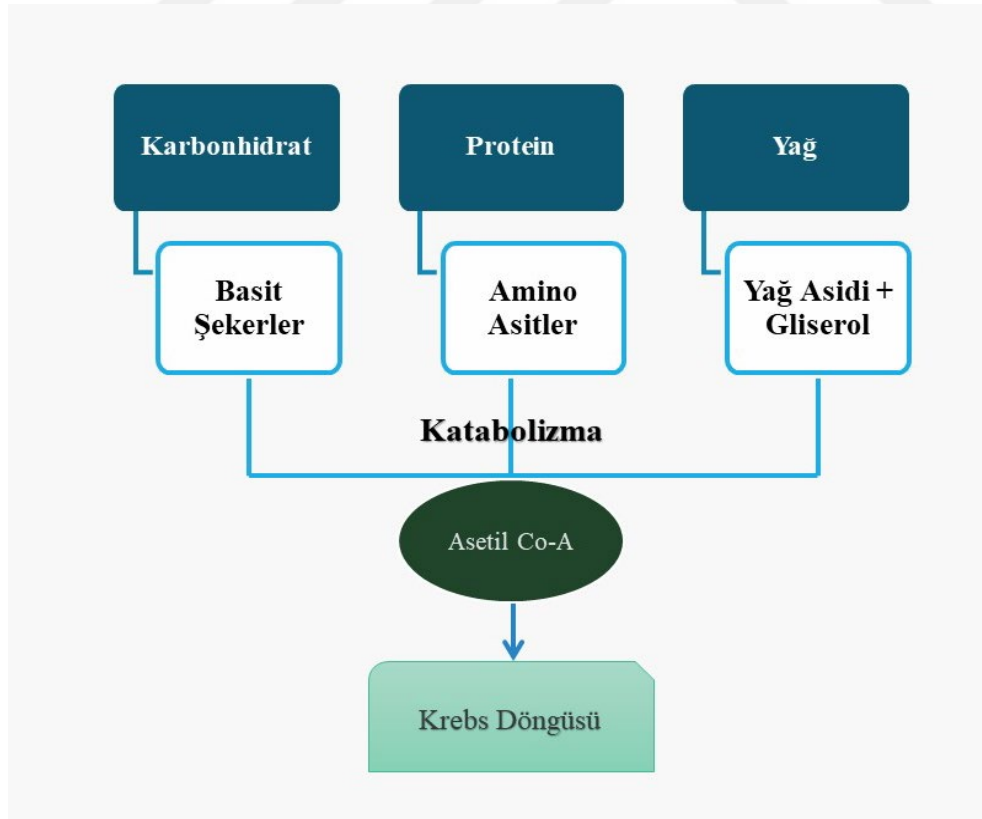
Metabolizmanın işleyişi, doku sirkülasyonunda olduğu gibi, mikroskobik ve makroskobik olarak değerlendirilebilir. Organların ve sistemlerin metabolizması makromoleküller ve depo şekillerinde gerçekleşirken, hücresel metabolizma ise mikromoleküller kullanılarak sitoplazma, mitokondri gibi organel düzeyinde gerçekleşmektedir⁸⁷.

Bir insanın günlük metabolik ve fiziksel aktivitesi için gerekli enerjiyi karşılaması şarttır. Karbonhidrat (temel molekül), protein ve yağ molekülleri enerjik reaksiyonların yapı taşı oluşturur (Şekil 11). Açlık, egzersiz, gebelik gibi farklı durumlarda anabolik, katabolik ve amfibolik basamaklar devreye girerek koşullara adaptasyon sağlanır⁸⁷.

Besinlerle alınan fazla karbonhidratlar karaciğere portal ven aracılığıyla ulaşır ve glikojenez ile glikojene dönüştürülür.⁸⁸

Besinsel yağların intestinal sistemde gliserol ve yağ asitlerine sindirimi sonrası şilomikron olarak taşınırlar. Lipoprotein şeklinde vasküler ve lenfatik dolaşıma dahil olarak dokulara lipoprotein lipaz enzimi sayesinde yakıt sağlarlar. Yapısında bulunan gliserol, glukoneogeneze katılarak glikoza dönüşebilir⁸⁹.

Proteinler ise esansiyel ve nonesansiyel aminoasitlerden oluşur. Esansiyel aminoasitler beslenme ile alınır, nonesansiyel aminoasitler ise hem transaminasyonla üretilir hem de besinlerle alınırlar. Aminoasitler yapısal proteinleri oluştururlar, üre, glikoz, keton cisimlerine dönüşebilirler, sitrik asit siklusuna katılarak karbondioksit okside olabilirler⁸⁷.



Şekil 11. Karbonhidrat, protein ve yağın katabolizması (Harper Biyokimya ⁸⁷)

Hücresel düzeyde tüm bu metabolik olaylara bakıldığında karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarında (eritrosit harici tüm hücrelerde) mitokondri önemli rol oynar. Krebs siklusu, elektron taşıma sistemi (ETS), oksidatif fosforilasyon, ile mitokondride enerji üretilir, karbonhidrat-lipid-aminoasit dönüşümleri gerçekleştirilir^{47,87}.

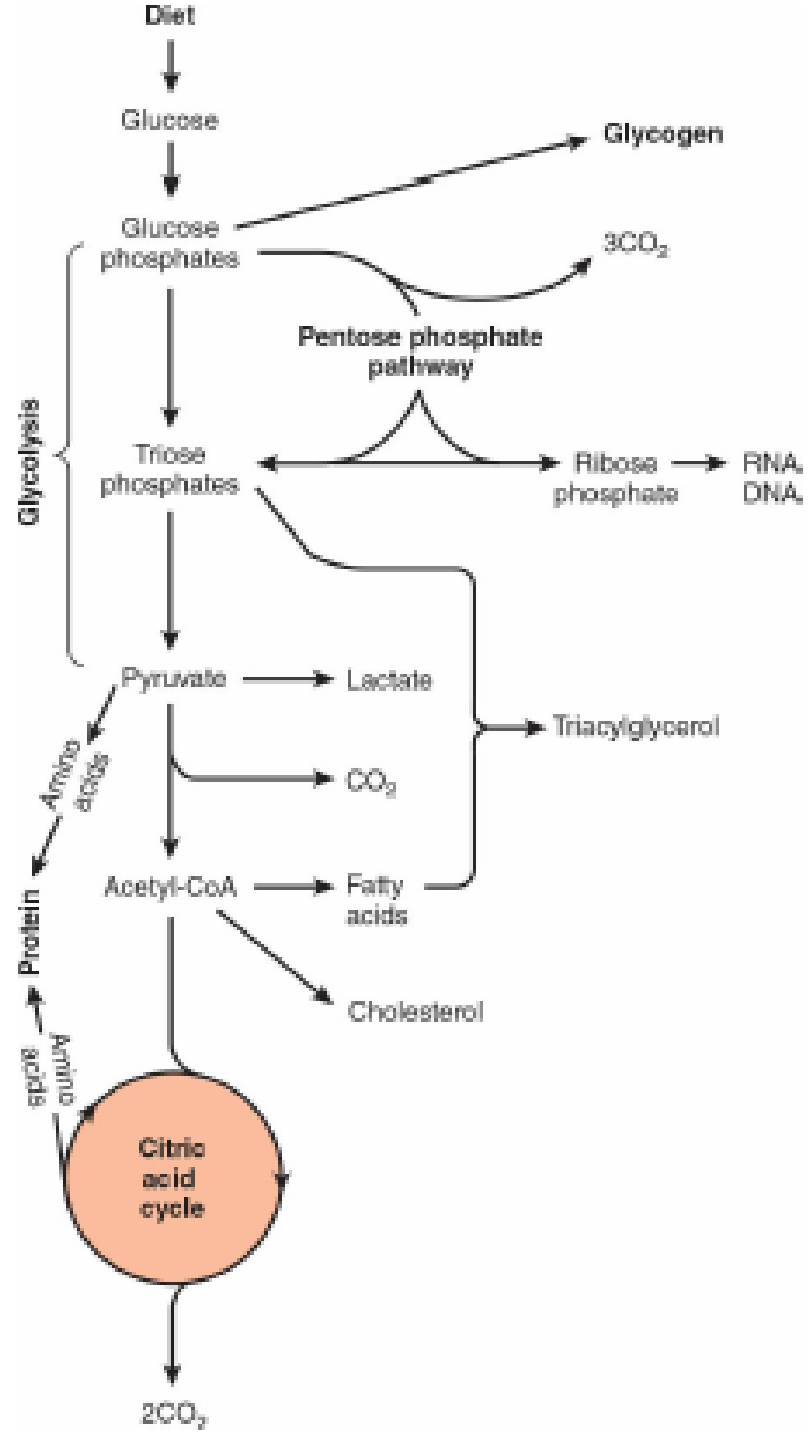
2.3.1. Karbonhidrat Metabolizması

Tüm hücrelere metabolik ihtiyaçları için karbonhidrat temin edilmelidir. Santral sinir sistemi özellikle glikoza ihtiyaç duyar, eritrositler ise enerji üretiminde sadece glikozu kullanabilmektedir⁸⁷.

Karbonhidratlar enerji üretiminde kullanımının dışında laktoz yapısına, nükleik asitlerdeki riboz ve deoksiriboz şeker yapısına, glikolipidlere, proteoglikanlara ve glikoproteinlerin yapısına katılırlar. Monosakkarid (glikoz, galaktoz, riboz), disakkarid (laktoz, sükroz), oligosakkarid ve polisakkarid (glikojen, inülin) yapıda olabilirler⁸⁸.

Glikozun hücreler tarafından kullanılması glikoliz ile gerçekleşir. Glikoz molekülünün glikokinaz veya heksokinaz enzimleri ile başlayan kaskadın sonucunda pirüvat oluşur. Pirüvat oksijen varlığında karbondioksit (CO₂) ve suya (H₂O) dönüşür. Oksijen yokluğunda ise sitozolde laktata dönüşür. Glikokinaz ve heksokinaz enzimleri, glikozun hücre içi konsantrasyonuna göre transportunu sağlar. Karaciğer portal vende glikoz emiliminde ve pankreatik beta hücrelerinde glikoz transportunda glikokinaz görev alır. Glikokinazın glikoza afinitesi daha yüksektir. Bu iki enzim insülin kontrolündedir (Şekil 12) ^{87,90}.

Pankreas beta hücrelerinde glikoz konsantrasyonu artışı ile glikoliz sonucu adenosin trifosfat ATP üretimi artar. Artmış ATP konsantrasyonu, ATP potasyum kanallarında kapanmaya ve hücre depolarizasyonuna neden olur. Voltaj bağımlı kalsiyum (Ca²⁺) kanalları açılarak kalsiyum girişine ve insülin granüllerinin hücre dışına salınımına neden olur. Ortamda glikoz arttıkça insülin salınımı böylelikle artar ⁴⁷.



Şekil 12. Karbonhidrat metabolizması (Harper Biyokimya ⁸⁷)

Glikozun vücutta oransal olarak en fazla depolandığı yer karaciğerdir. Kaslar ve santral sinir sisteminde de glikojen depolanır. Plazma glikoz seviyesi karaciğer tarafından düzenlenmektedir. Kaslarda bulunan glikojen, sadece kaslar tarafından kullanılabilen glikoz-1-fosfata yıkılabilir. Bu glikoz formu, açlık durumunda plazmaya verilemez ^{47,87}.

İskelet kasları hem oksijenli hem oksijensiz olarak glikozu enerji kaynağı olarak kullanabilmektedir. Glikojen depolar, plazma aminoasitlerini kullanarak kas proteini üretir. Açlık durumunda kaslarda bulunan aminoasitler glukoneogenez için kaynak oluşturur. Egzersiz sırasında ortamda yeterli oksijen varsa CO₂ ve su üretimi gerçekleşmektedir. Oksijen yetersizliğinde ise anaerobik glikoliz gerçekleşir ve laktik asit üretilir. Kardiyak kaslarda anaerobik glikoliz becerisi çok azdır, bu nedenle hipoksik koşullarda iskemiye tolerans daha azdır ^{87,91}.

Açlık durumunda intestinal karbonhidrat emilimi olmaması nedeniyle pankreas beta hücrelerinden insülin salınımı azalır. Kas ve yağ dokularında glikoz kullanımı düşer, pankreatik alfa hücrelerinden glukagon salgılanır. Glukagonun etkisiyle karaciğer depo glikojen yıkılarak plazma glikozu yükseltilir ^{87,92}.

İnsülinin azalması ve glukagon seviyesinin yükselmesi, yağ hücrelerinde lipoprotein lipazı inhibe ederek yağ depolanmasını (lipogenez) engeller. Lipogenezin engellenmesi sonucu gliserol ve yağ asitleri plazmaya geçerler. Karaciğerde glikoneogenez ve karaciğer, kardiyak kas ve iskelet kaslarında enerji üretiminde substrat olarak kullanılırlar ^{87,89}.

Açlığın devam etmesiyle kardiyak ve iskelet kaslarında ketonlar üretilir. Uzun süren açlıkta kaslarda protein depolarının tükenmesi ile karaciğer ve renal proteinler de glikoneogeneze dahil olur ^{89,90}.

Yüksek metabolik olaylar veya malignite varlığında yağ ve protein depolarında azalma sonucu kaşeksi meydana gelir. Tümöral kitlede artmış metabolizma nedeniyle glikolizle üretilen pirüvat miktarı ve pirüvattan üretilen laktat miktarı artar. Biriken laktik asit, tümöral mikroçevrenin asidik olmasına neden olur ^{87,93}.

İnsülinin eksikliğine bağlı gelişen tip 1 diyabette, hiperglisemi sonrası hücrelerce glikozun kullanılamaması ve glukagonun antagonize edilememesi sonucu karaciğerde protein glikoneogenezi artar. Yağ hücrelerinden salınan yağ asitleri karaciğerde glikoneogeneze girer ve ketonların plazmada artması ile ketoasidoz görülür ^{87,94,95}.

2.3.2. Kan Şekeri Regülasyonu

Kan şekeri regülasyonu, glikojen depolayan organlar arasında esas olarak karaciğer tarafından yürütülmektedir. Glikojenoliz ve glikoneogenez allosterik mekanizmalarla düzenlenmektedir. Yemek sonrası karaciğer glikojen konsantrasyonu 450 mmol/L

glikoza yükselirken, yaklaşık 12 saatlik açlıkta 200 mmol/L seviyesine geriler. Açlıkta plazma glikozu 80-90 mg/100 ml, yemek sonrası 120-140 mg/ml'ye yükselir. İnsülin sekresyonu ile karaciğerde glikojen üretimi olur. Glikojen üretiminde görev alan glikojen senteaz ve glikojen yıkımında görev alan glikojen fosforilaz enzimleri, siklik Adenozin Monofosfat (cAMP) tarafından kontrol edilir. Epinefrin, norepinefrin ve glukagon ATP'den cAMP üretimini artırarak glikojen üretimini baskılar. İnsülin cAMP yıkımını artırarak glikojen üretimini artırır^{47,87,96,97}.

Karaciğerde glikojen yıkımında cAMP'den bağımsız bir yol daha vardır. Alfa-1 adrenerjik reseptörler aracılığıyla sitozolik Ca^{+2} artar ve Ca-kalmodülün kompleksini kullanarak veya fosfotidil inositol yolağı aracılığıyla glikojenoliz gerçekleşir. Epinefrin, norepinefrin, vazopressin, angiotensin II, oksitosin gibi hormonlar cAMP bağımsız yolları kullanırlar⁸⁷.

Kaslarda bulunan glikojen, kas kasılmasına eş zamanlı olarak, glikoz-1-fosfata dönüştürülür. Hem kas kasılmasında hem de ihtiyaç duyulan glikozun sağlanmasında Ca ve kalmodülün kompleksi ana görevi üstlenmektedir^{47,98}.

Hücrelere glikoz alımında glikoz taşıyıcı proteinler (GLUT) görev alır (Tablo 2). Karaciğer hücrelerinde ve pankreatik beta hücrelerinde iki yönlü taşıma sağlayan GLUT-2 serbest biçimde glikoz taşıyabilir. Diğer GLUT proteinleri ise tüm hücrelerde glikoz taşınmasında kullanılır ancak plazmadan hücre içine taşımada insülin tarafından denetlenirler⁹⁹. Kas hücrelerinde glikoz transportunda GLUT-4 proteinleri görev alır. İnsülin sensitif GLUT-4 proteinleri özellikler sarkolemma ve T tübüllerinde bulunarak iskelet kasına glikoz taşınmasını sağlar¹⁰⁰. GLUT-4 aktivitesinde azalmaya bağlı kas glikojen üretiminde oluşan bozulmalar, diyabetik hastalarda insülin direncine neden olur¹⁰¹.

Travma ve enfeksiyon gibi durumların varlığında glikoneogeneze artış görülür ve hiperglisemi oluşur. Hiperglisemide ise osmolarite artışı, intraselüler asidoz, ekstraselüler asidoz, oksijen radikal üretimi gözlenir⁸⁷.

Tablo 2. Glikoz transport proteinleri⁸⁷

İki Yönlü Taşıma		
GLUT-1	Santral sinir sistemi, kolon, eritrositler	Glikoz alımı
GLUT-2	Karaciğer, pankreatik β hücreler, ince bağırsak, böbrek	Hızlı glikoz alımı veya salınımı
GLUT-3	Beyin, böbrek, plasenta	Glikoz alımı
GLUT-4	Kardiyak ve iskelet kası, yağ dokusu	İnsülin bağımlı glikoz alımı
GLUT-5	İnce bağırsak	Fruktoz emilimi
Sodyum Bağımlı Tek Yönlü Taşıma		
SGLT-1	İnce bağırsak ve böbrek	Aktif glikoz alımı
GLUT: glikoz taşıyıcı protein, SGLT: sodyum bağımlı glikoz taşıyıcı protein		

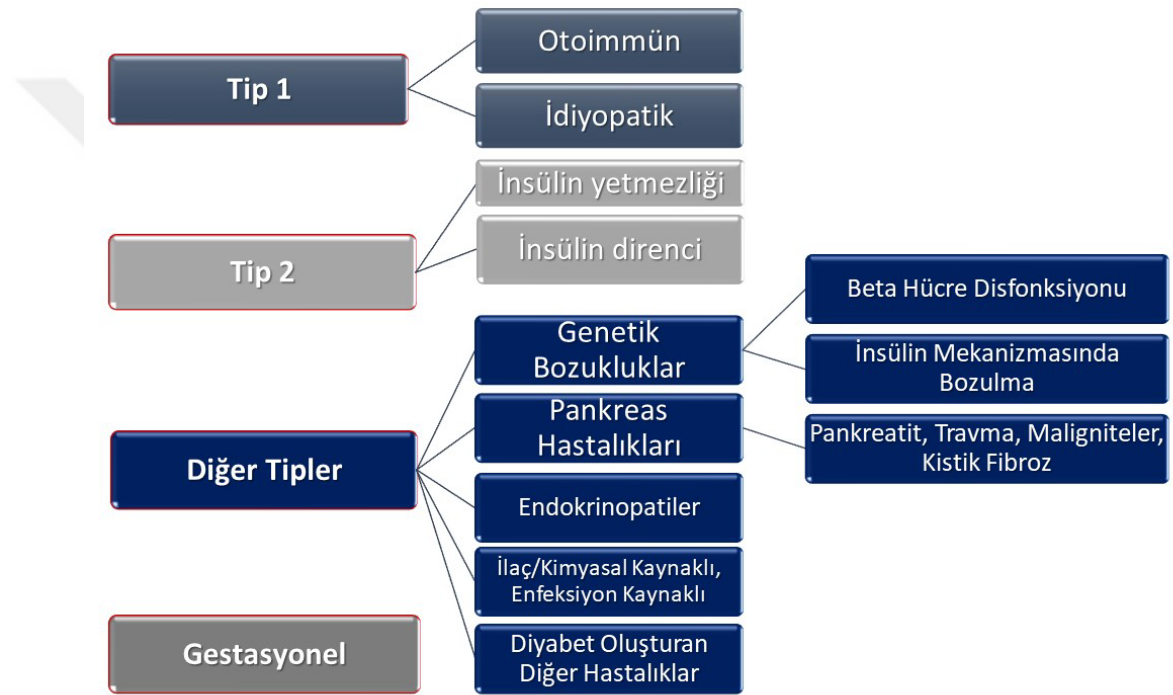
Kan şekeri regülasyonunda görev alan diğer hormonlar arasında anterior hipofiz hormonları yer alır. Adrenokortikotropik hormon (ACTH), büyüme hormonu (GH) gibi hormonlar plazma glikozunu yükselterek insülini antagonize ederler. Adrenal bezlerde ve yağ hücrelerinde üretilen glikokortikoidler de plazma glikozunu yükseltirler. Makrofajlardan üretilen sitokinlerin de insülin antagonisti olarak etki göstermesi mümkündür. Morbid obezlerde insülin direnci nedenlerinden biri yağ hücrelerindeki glikokortikoid ve sitokinlerin insülini antagonistik etkisidir^{47,87}.

2.3.3. Diyabet

Diyabetes mellitus (DM) insanda hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır. Tanı kriterleri arasında açlık plazma glikozunun tekrarlayan ölçümlerde 126 mg/dL (7,0mMol/l) veya üstü saptanması ya da semptomu olan hastada kan şekerinin 200 mg/dL (11,1 mMol/l) veya üstü saptanması yer alır. Hemogloblin A1C ile oral glikoz tolerans testi değerlendirmeleri de tanıda kullanılır. Uluslararası Diyabet Federasyonu

(IDF) tarafından yayınlanan 2020 çalışmasında Türkiye’de 6,592,400 kişide (nüfusun %12’si) DM saptanmıştır¹⁰².

Diyabet oluşum mekanizmalarına göre alt tiplere ayrılır (Şekil 13)¹⁰². Tip 1, tip 2 diyabet, çeşitli genetik bozukluklar ve çevresel faktörlerin etkisiyle pankreas beta hücre yapısında veya etkinliğinde bozulmalar görülebilir¹⁰³. Tüm diyabet alt tiplerinde bu mekanizmalarda bozulma nedeniyle hiperglisemi saptanır ve uzun dönemde benzer kronik komplikasyonlar gösterirler. Diyabetin erken ve geç dönem komplikasyonlarının azaltılması ve kişiye yönelik uygun tedavinin belirlenmesi için hastanın diyabet tipinin belirlenmesi önem taşır¹⁰³.



Şekil 13. Diyabet Tipleri (American Diabetes Association rehberi ve Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği kılavuzu^{102,103}.)

2.3.3.1. Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabet (T1D) otoimmün veya enfeksiyon gibi nedenlere bağlı pankreatik beta hücrelerinde insülin üretiminde azalması ile oluşur. İnsülin bağımlı diyabet olarak adlandırılabilir. Sıklıkla gençlerde ve çocukluk çağında görülse de erişkin başlangıçlı vakalar görülebilmektedir^{47,103}. T1D’de genellikle poliüri, polidipsi gibi semptomlar görülür ve hastalar diyabetik ketoasidoz ile hastaneye başvururlar. İnsülin eksikliğine bağlı plazma glikozunda ani değişimler görülür ve tedavide düzenli glisemik konsantrasyonu sağlamak ve diyabetik ketoasidoz önlenmesi amaçlanır¹⁰³. İnsülin

replasmanı veya pankreatik hücre transplantasyonu ile çeşitli tedavi protokolleri tanımlanmıştır¹⁰⁴.

Erken dönemde istemsiz kilo kaybı ve düşük vücut kitle endeksi tip 1 diyabeti tip 2'den ayırır¹⁰³. Ancak yetişkin T1D hastalarında uzun dönemde vücut kitle endeksinde bozukluklar (%45'i kilolu ve %14,6'sı obez), hiperlipidemi (%62) ve hipertansiyon (%39,5) görülür¹⁰⁵.

2.3.3.2. Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabet (T2D) genellikle erişkinlerde saptanan, plazma glikozun kronik yüksekliği sonucu periferik desensitizasyon görülen tipidir. İnsülin direnci nedeniyle insülin üretiminde azalma ve pankreatik beta hücre yetmezliği oluşur¹⁰³. T2D hastalarında serum glikoz seviyesinde zamanla yükselme görülür, bu nedenle hastalar uzun süre asemptomatik seyredebilirler ve tanı almaları gecikebilir. Tanı almamış ve semptomları belirgin olmayan hastalar bile mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon açısından risk altındadır^{103,106}. Tedavilerinde başlangıçta yaşam tarzı değişikliği, uygun diyet ve fiziksel aktivite önerilir. İleri vakalarda antidiyabetik ajanlar ile glisemik kontrol sağlanır¹⁰⁷.

Gestasyonel diyabet ile genetik sendromlar, kimyasal nedenli diyabet, enfeksiyon kaynaklı diyabet gibi diğer spesifik nedenler de etiyolojide sınıflandırılmıştır. Kronik dönemde kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, periferik arter hastalığı, retinopati, nefropati ve nöropati gibi komplikasyonlar hem T1D hem de T2D'de görülebilir^{103,108}. Kardiyovasküler komplikasyonları ve diğer komplikasyonları azaltmak için hayat tarzı değişiklikleri ve düzenli fiziksel aktivite önerilmektedir¹⁰⁹. Haftada 150 dakikalık egzersiz (iki gün ara verilmeden) ve haftada iki ile üç gün direnç egzersizleri stabil glisemik kontrole yardımcı olurken vücut kitle endeksinde iyileşmeyi sağlar^{110,111}.

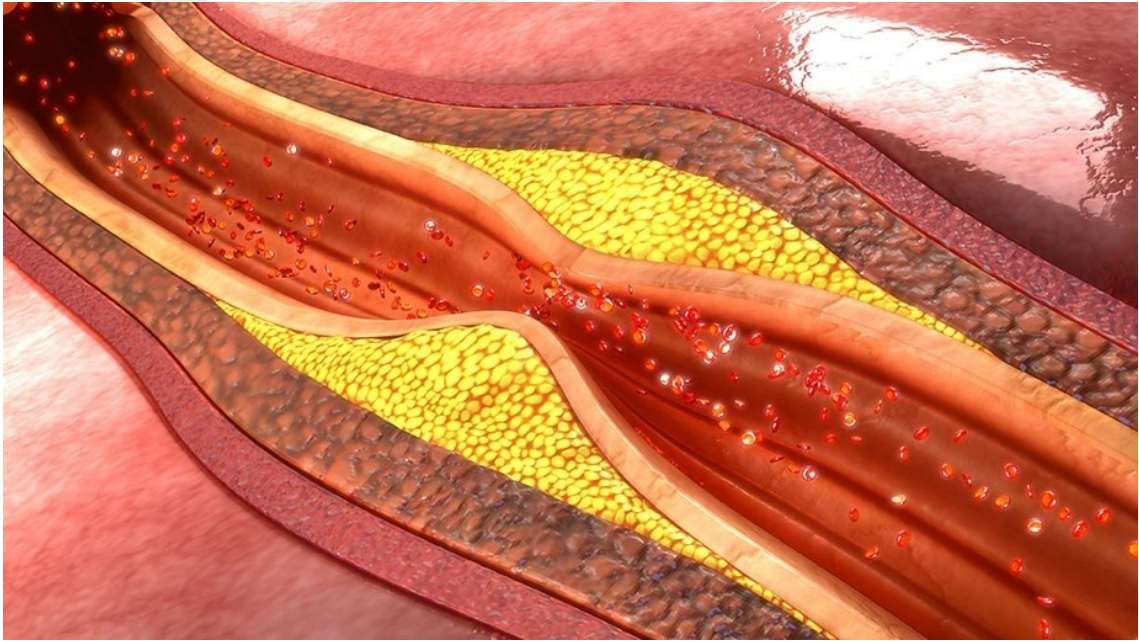
2.3.3.3. Diyabetin Vasküler Komplikasyonları ve Patofizyolojisi

Atheroskleroz, koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalıkları diyabetin makrovasküler komplikasyonlarını; ayak ülserleri, nöropati, retinopati, yara iyileşme bozuklukları ise mikrovasküler komplikasyonlarını oluştururlar^{112,113}.

Protein, lipid ve nükleik asit gibi moleküllerin amin gruplarına enzimatik olmayan bağlarla glikoz eklenmesine “glikasyon” denir. Ketoaminlerin üretimi sonrasında ileri

glukasyon son ürünleri (AGE) oluşturulur. Bu glukasyon ürünleri diyabetik kişilerde makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara neden olur¹¹⁴. AGE'ler çevresel enzimatik aktiviteyi değiştirir, serbest oksijen radikallerin üretimine yol açar. Sürekli hiperglisemi durumunda protein glukasyonu, kollajen, laminin ve ekstraselüler matriks proteinlerinin de glukasyonu görülür. Özellikle eşlik eden hiperlipidemi varlığında düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve Apolipoprotein B (ApoB) moleküllerinde glukasyon görülür. Vasküler yatakta endotel hasarı, yapısı bozulmuş plazma proteinlerinin ve LDL'nin endotelde birikimi ateroskleroz ile sonuçlanır (Şekil 14)^{5,87,94,114}.

T2D hastalarında ateroskleroz oluşumunda hiperglisemi, hiperlipidemi, oksidatif stres, hiperinsülinemi, koagülasyon ve fibrinoliz mekanizmalarında bozulma etkilidir⁵⁵. Her iki diyabet tipinde de (özellikle albuminüri varlığında) endotelyal hücre ve endotel progenitör hücre disfonksiyonu saptanır^{55,113}.



Şekil 14. Ateroskleroz (sciencepics/shutterstock.com)

Makromoleküllere geçirgenliğin artması, vazoaktif ürünlerin üretiminde değişimlere bağlı vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon mekanizmalarında bozulmalar, prokoagulan aktivitede artış endotel hasarına yol açar. Nitrik okside vazodilatör cevabın bozulması veya asetilkoline paradoksal vazokonstriksiyon oluşması, vasküler düz kas hücrelerinden çok endotel hücre disfonksiyonuna bağlıdır^{5,55}. Endotel disfonksiyonu varlığı endotel fonksiyonunda görev alan kimyasal mediyatörlerin biyokimyasal

ölçümüyle veya doku perfüzyonunun değerlendirilmesi ile tespit edilebilir⁵⁵. Vasküler hücrelerde insülin, IGF-1 ve IGF-2 reseptörü bulunur, diyabetin vasküler komplikasyonlarının oluşumunda yer alırlar^{55,115}.

Hiperglisemiye bağlı glikasyon ürünlerinin oluşması, reaktif oksijen radikallerinin artması, yüksek oksidatif strese, inflamasyona ve antioksidan savunmanın yetersiz kalmasına neden olur¹¹⁶.

Diyabetik hastalarda ekstremitte kan akımında artış gözlenebilir, ancak periferik sempatik denervasyon, kronik travma maruziyeti gibi mekanizmalar sonucunda besleyici kapiller yatak bypass edilerek doku beslenmesi bozulur ve hipoksi oluşur. Artmış veya normal kan akımına rağmen kanın kapiller maldistribüsyonuna bağlı olarak bölgesel iskemi ve reaktif hiperemi görülür. Bu durum diyabetik ayak ve yara iyileşme bozukluğuna neden olur¹¹⁷.

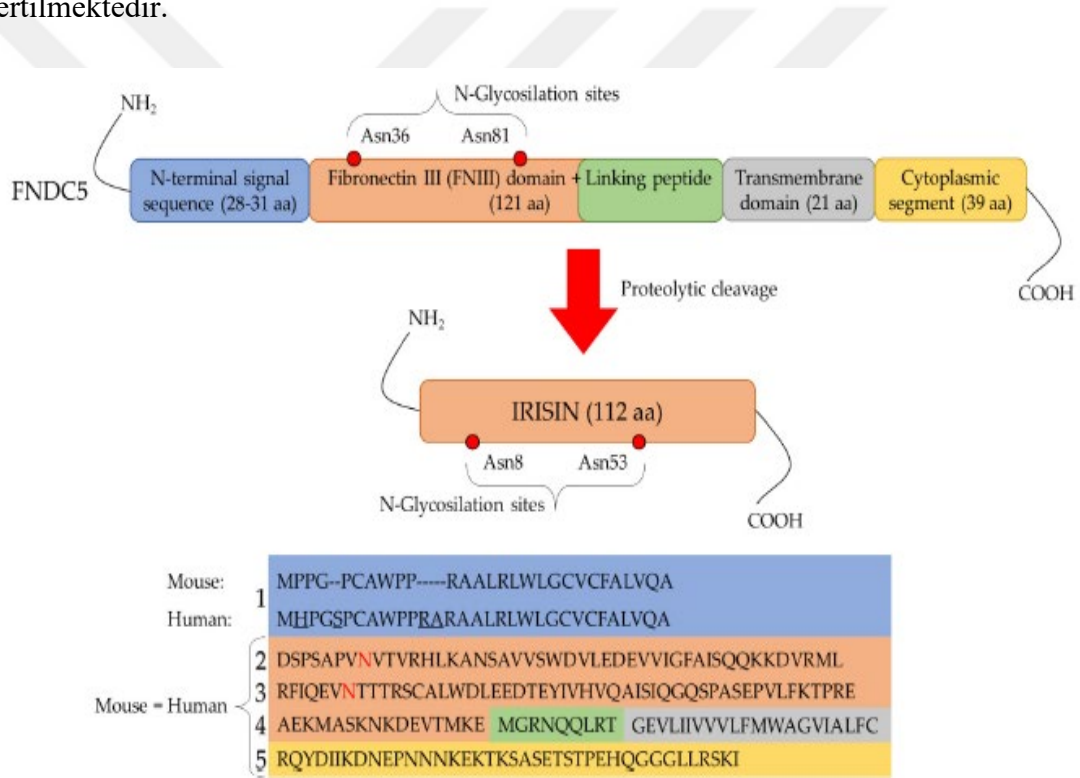
2.3.3.4. Diyabet ve Flep Beslenmesi

Diyabete bağlı vasküler düzeyde oksidatif stresin artması, endotel hücre fonksiyonlarında bozulma, vasküler dansitede iskemi varlığında azalma ve dolaylı olarak doku perfüzyonunda bozulmalar görülür^{113,116}. Flep sağkalımında ve adaptasyonunda etkili olan endotel progenitör hücre farklılaşması bozularak neovaskülerizasyon kapasitesi azalır¹¹⁸, flep başarısı düşer⁶.

Diyabetik hastalarda flep yaşayabilirliğini arttırmak ve rekonstrüksiyonda başarı sağlamak amacıyla çeşitli farmakolojik ajanlar ve teknikler denenmiştir. İyi glisemik regülasyonunun cilt fleplerinde yaşayabilirliğinde önemli olduğu vurgulanmıştır¹¹⁹. Antioksidan ajanlardan olan alfa tokoferol (E vitamini)¹¹⁹, resveratrol¹²⁰, oral antidiyabetik olan rosiglitazon¹²¹, antihiperlipidemik ilaç atorvastatin⁹ ve iskemik flebe etkinliği kanıtlanmış olan pentoksifilin¹²², mezenkimal kök hücre¹²³ uygulanmasının diyabetik sıçanlarda random cilt fleplerinde endotel hücre fonksiyonlarını etkileyerek veya anti-inflamatuar ve antioksidan mekanizmalarla beslenmeyi artırdığı gösterilmiştir. Dolaylı etkilerinden ötürü otolog yağ kök hücre uygulamalarının¹²⁴, E vitamininin¹²⁵ yara iyileşmesinde ve endotel fonksiyonunda diyabetin etkilerini azalttığı saptanmıştır.

2.4. İrisin

2002 yılında Fibronektin Tip 3 protein ile bağlantılı; beyin, kalp ve karaciğerde protein sentezinde görevli genler saptanmıştır¹²⁶. 2012 yılında bu gen bölgesi Fibronektin Tip III içeren protein 5 (Fibronectin Type III domain-containing Protein 5, FNDC5) membran proteini ile ilişkilendirilerek irisin hormonunun üretiminde görev aldığı tanımlanmıştır¹¹. İrisin 112 amino asitten oluşur ve 12,6 kilo Dalton (kDa) ağırlığındadır (Şekil 15). Peroksisom proliferatör-aktif reseptör γ (PPAR γ) koaktivatör-1 α (PGC-1 α) ile etkinliğini gösterir. İrisin'in vücuttan atılımı hepatobiliyer ve renal eliminasyon yolları¹²⁷. İnsanlarda, farelerde ve sıçanlarda birebir aynıdır¹². Adını Yunan haber tanrıçası olan İris'ten alır¹¹. Eksojen uygulanan İrisin ise rekombinant protein olarak üretilmektedir.



Şekil 15. İrisin'in biyokimyasal yapısı¹²⁸

Serum ve diğer dokularda irisin düzeyi ölçümü için çeşitli Elisa kitleri, radyoimmün assey kitleri, western blot kitleri ve spektrometre teknikleri geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda ortalama serum ve plazma irisin düzeylerinde farklı sonuçlar elde edilmesi nedeniyle standart değerler ve standart test yöntemi saptanamamaktadır^{129,130}. Hem glikozile hem non-glikozile formunda bulunması, kitlerin farklı antikor kullanması, kısa

yarılanma zamanına sahip olması (rekombinant irisin 1 saat) irisinin tespitini zorlaştırdığı düşünülmektedir^{128,129,131}.

Beyin, kardiyak ve iskelet kasları, kahverengi yağ dokusu, karaciğer, pankreas, intestinler, prostat dokularında FNDC5 eksprese edilir. İrisin üretimi insülin, glukagon ve leptin hormonlarından etkilenir¹²⁸.

2.4.1. Fizyolojik ve Patofizyolojik Koşullarda İrisin

İrisin hormonu insanda ve farede egzersiz sırasında veya soğuk maruziyetinde iskelet kasları tarafından sentezlenir ve beyaz yağ dokusunun kahverengi yağ dokusuna dönüşümüne neden olur^{10,11}. Egzersiz sırasında üretiminin artması nedeniyle egzersizin vücuttaki adaptif etkilerde irisinin etkinliği anlaşılmış ve çalışmalara konu edilmiştir¹². Wrann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada submaksimal egzersizin irisin sekresyonu için stimulan olduğu saptanmış, Bastu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise yüksek yağlı diyet ile beslenmiş obez farelerde egzersiz yapanlar ile intravenöz irisin enjekte edilenlerin benzer irisin seviyelere sahip olduğu saptanmıştır^{132,133}.

İnsanlarda serum İrisin seviyesinin değerlendirildiği çalışmalarda aerobik egzersiz sonrasında, obez hastalarda fiziksel aktivite sonrasında, treadmill egzersizi sonrasında İrisin seviyelerinde artış saptanmıştır¹²⁸. Yapılan meta-analizde İrisin üretiminde egzersiz ve soğukun sinerjistik etkinliği olduğu düşünülmektedir¹³⁴.

İrisin FNDC5 ekspresyonu sonrası salınarak mitokondriyal enerji üretimini, yağ asit oksidasyonunu ve kahverengi yağ dokularını aktive eder. Beyin-derive Nörotropik Faktör (BDNF) ve nöronal aktiviteyi hızlandırarak ERK1/MAPK yolağı üzerinden nöronal diferansiyasyonu sağlar¹³⁵.

Miyokard hücrelerinden de üretildiği bilinen İrisin, miyokardiyal iskemide oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyona bağlı hasarın iyileşmesinde aktif rol alır. Endotelial hücre disfonksiyonunda ve buna bağlı gelişen hipertansiyonda endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) aracılığıyla modülatör görevi görür¹³. Aktive caspase-3'ün etkinliğini azaltarak iskemik kardiyomiyoblastlarda mitokondriyal apoptoz ve şişmeyi önler. Yapılan çalışmalarda diyabetik farelerde Adenozin Monofosfat-aktive Protein Kinaz yolağı üzerinden hipoksik iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı saptanmıştır^{14,15}.

İrisin neointima gelişimini azaltarak aterosklerotik lezyonların ortaya çıkmasını azaltır, endotel proliferasyonunu artırır¹³. İrisinin sıçan torasik aorta organ banyosu çalışmasında protein kinaz C, voltaj duyarlı potasyum ve kalsiyum duyarlı kanallar aracılığı ile vazodilatör etkileri saptanmıştır¹³⁶.

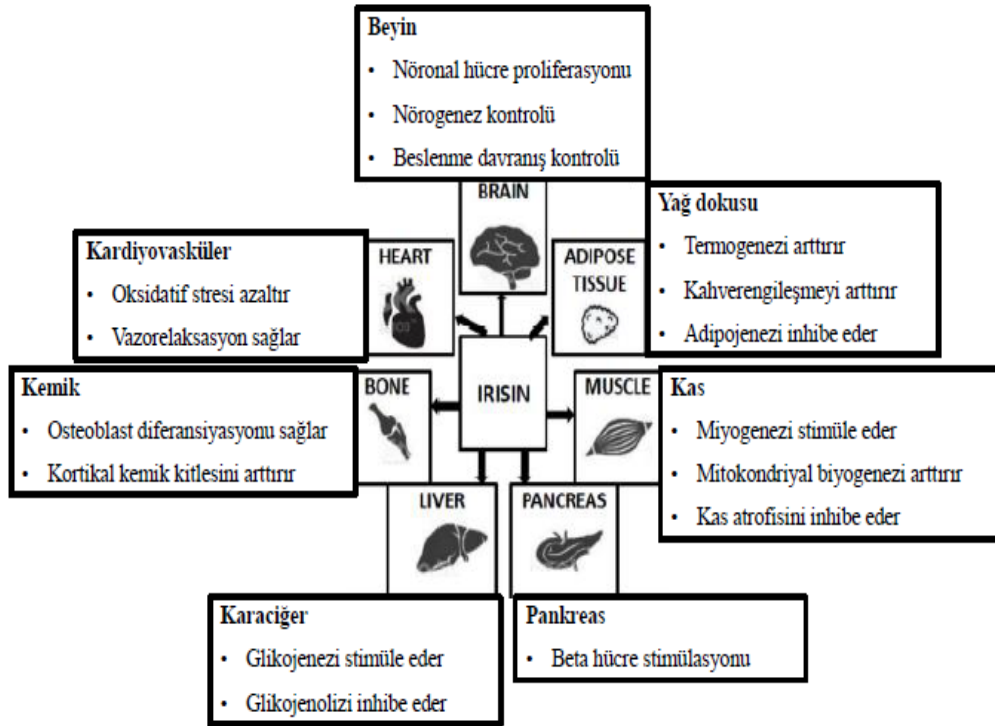
Yapılan çalışmalarda dışarıdan uygulanan irisinin farelerde kemik kırıklarında iyileşmeyi hızlandırdığı ve osteoblastogenezi artırarak mineralizasyonu sağladığı anlaşılmıştır^{137,138}.

İrisinin egzersiz sırasında üretimine bağlı olarak iskelet kaslarında anjiyogenezi ve kas lif tip değişimini sağlar. Kasları musküler distrofiye karşı ve denervasyona bağlı atrofiye karşı korur¹³⁹.

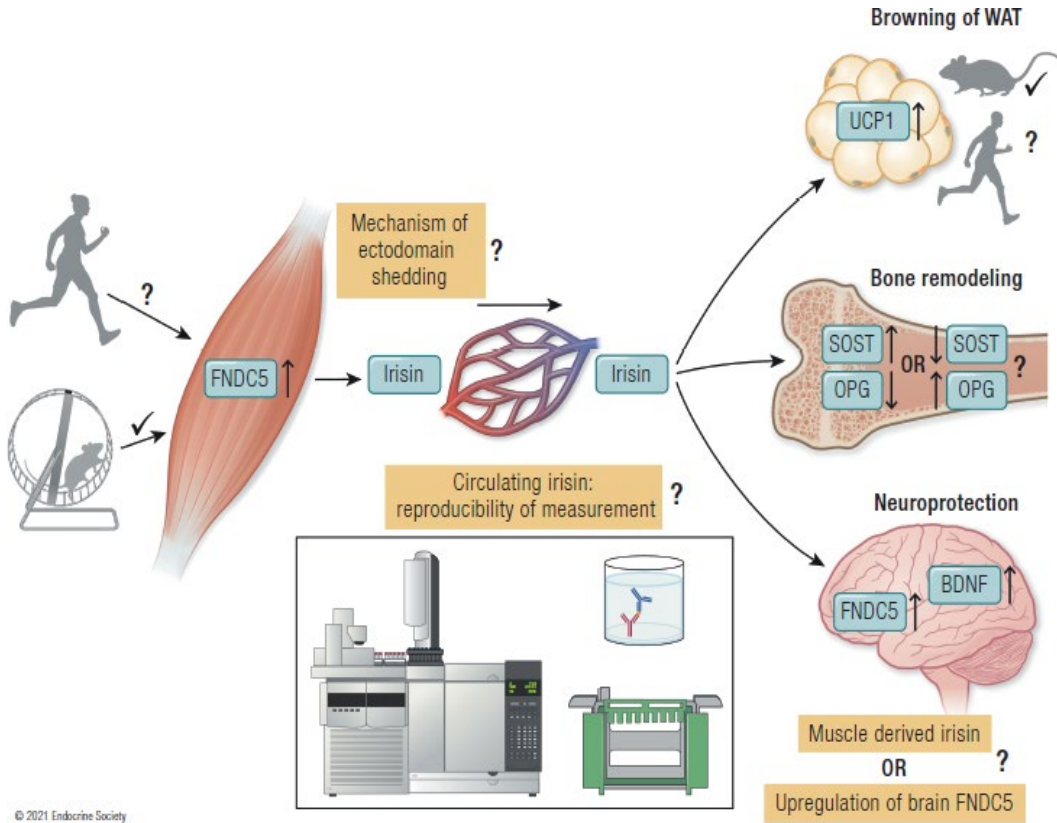
İrisinin anti-inflamatuar özellikleri saptanmıştır. Egzersiz sonrası irisin plazma değerinin yükseldiği, anti-inflamatuar sitokinlerden IL-1ra, IL-10, çözünebilir TNF alfa reseptörü (sTNFR- α)'nın yükseldiği, proinflamatuar sitokinlerden TNF- α , IL-1 β , makrofaj inflamatuvar protein 1 alfa (MIP-1 α) ve makrofaj inflamatuvar protein 1 beta (MIP-1 β) miktarının dolaşımda azaldığı saptanmıştır^{140,141}. Apolipoprotein E (Apo-E) eksik farelerde yapılan ateroskleroz çalışmasında irisin enjeksiyonlarının inflamatuvar belirteçlerden olan makrofaj kemoatraktan protein 1 (MCP-1), intraselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adhezyon proteini 1 (VCAM-1)'in aterom plaklarında azaldığı saptanmıştır¹³. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada okside LDL'ye maruz bırakılmış insan umbilikal ven endotelinde eksternal irisin uygulamasının inflamatuvar sitokinleri azalttığını ve bunun p38, mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) üzerinden etkilediği anlaşılmıştır^{13,15}. Yine makrofaj infiltrasyonu ve tip 1 makrofaj polarizasyonunu adenosin monofosfat-aktive protein kinaz- alfa (AMPK- α) üzerinden azaltır.

Yapılan çalışmalarda irisinin vasküler geçirgenliği azalttığı ve endotel bariyeri fonksiyonunu integrin reseptörleri ve AMPK üzerinden arttırdığı saptanmıştır¹⁴². Bu nedenle pulmoner ödem ve inflamasyonu azalttığı belirtilmiştir. Akut respiratuvar distress sendromlu hastalarda serum İrisin seviyelerinde azalmanın artmış mortalite ve morbiditeyle korele olduğu bilinmektedir¹⁴².

İrisin mitokondriyal uncoupler protein 1 ekspresyonunu arttırarak yağ dokularında kahverengi dönüşümü tetikler. Obeziteye karşı kilo kaybettirmesi ve glikoz regülasyonunu sağlaması açısından faydalıdır ¹¹. Glikoz bağımlı insülin salınımını arttırır ancak tip 2 diyabet varlığında serum insülin seviyesini düşürerek glikoz toleransını iyileştirir. Diyabetik fare modelinde adenoazin monofosfat yolağı ve endotelial nitrik oksit yolağı üzerinden ateroskleroz ve endotel hasarına koruyucu etkileri olduğu görülmüştür ^{143,144}. Yapılan yedi meta-analiz çalışmalarında tip 2 diyabet hastalarında serum irisin seviyelerinde azalma saptanmıştır. Yine gestasyonel diyabet üzerine yapılan 22 adet çalışmada serum irisin düzeyleri düşük bulunmuştur ¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Uzun süre diyabet, obezite, hiperlipidemi ve metabolik sendrom varlığında plazma irisin seviyelerinde görece artış saptanması, irisinin bu patolojilere karşı kompensatuvar mekanizmalarda rol oynamasına bağlıdır (Şekil 16,17) ¹⁴⁸



Şekil 16. İrisin'in etki ettiği organlar ve etkileri ¹²



Şekil 17. İrisin'in egzersiz sonrası etki mekanizması ¹⁴⁷

2.5. Deneysel Sıçan Modelleri ve Değerlendirme Araçları

Sıçanlar deneysel çalışmalarda en çok kullanılan türler arasındadır. Bakımının kolaylığı ve hızlı üretilmesi nedeniyle tercih edilmektedirler. Çalışmanın güvenilir olması için benzer cins, cinsiyet, yaş ve ağırlıktaki sıçanlar kullanılmalıdır.

Ortalama bir erkek sıçan 250-450 gr, dişi sıçan 250-300 gr ağırlığındadır. Noktürnal hayvanlar olup gece ve sabahın erken saatlerinde aktiftirler. İnsanlara göre farklı dolaşım sistemi özellikleri gösterirler (Tablo 3).

Tablo 3.Laboratuvar sıçanında dolaşım sistemi normal değerleri ¹⁴⁹

Dolaşım Sistemi	Değerler
Kalp Atım Sayısı	330-480 atım/dk
Kalp Atım Hacmi	1.3-2 ml/atım
Kardiyak Debi	10-80 ml/dk
Sistolik Arter Basıncı	88-184 mmHg
Diastolik Arter Basıncı	58-145 mmHg
Total Kan Hacmi	56-71 ml/kg
Total Plazma Hacmi	40,4 ml/kg
pH (Anestezisiz)	7.40±0.06
pO ₂	93,2 mmHg
pCO ₂	39,9 mmHg

dk: dakika, ml: mililitre, mmHg: milimetre civa, kg: kilogram, pH: potansiyel hidrojen

2.5.1. Deneysel Sıçan Cilt Flep Modeli

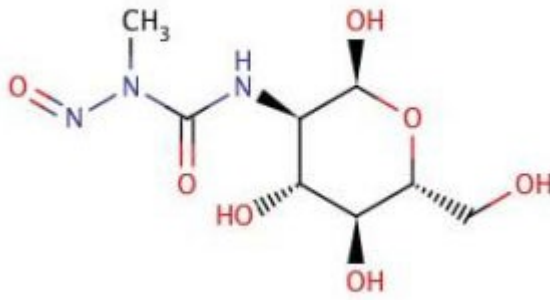
Sıçanlarda yapılan flep seçiminde flebin yerleşimi önemlidir. Ameliyat sonrası dönemde sıçanların otonomiyal, yani kendi açık yaralarını yeme özellikleri olması nedeniyle flep takibi zorlaşabilir. Sırt bölgesi flepleri bu durumu önlemede avantaj sağlar.

Sıçanlarda sırt bölgesi beş damar sisteminden beslenir. Sirkumfleks subskapular sistem, lateral torasik sistem, posterior interkostal arter (10-12. Arter), iliyolomber arter sistemi, kaudal femoral arter sistemden perforanlar ile beslenme sağlanır ¹⁴⁹.

Tanımlanan ilk sıçan sırt flebi 1965 yılında Robert McFarlane tarafından delay fenomeni araştırılmak için yapılmıştır^{149,150}. Random beslenmesi ve flep distalinde beslenmenin gözlemlenebilir olması nedeniyle deneysel çalışmalar için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. McFarlane dizaynına göre sabit skapular ve posterior iliak spinalar referans noktaları arasında kranyal bazlı cilt flepleri kullanılmıştır. Adamson ve arkadaşları ise aynı flebi kaudal bazlı eleve etmişlerdir ¹⁴⁹. Kranyal bazlı random cilt fleplerinde farmakolojik ajan uygulamalarında yapılan meta-analizde flep beslenmesinin 7 gün takip edilmesi standart olarak belirlenmiştir¹⁵¹. Kontraksiyon ve cilt flep beslenmesi değerlendirilmesinde karın fleplerine göre sırt fleplerinin üstünlüğü saptanmıştır¹⁵².

2.5.2. Deneysel Sıçan Diyabet Modeli

Deney hayvanlarında diyabet oluşturmak için pek çok yöntem tanımlanmıştır. Streptomyces achromogenes'ten 1960'ta izole edilen streptozotosinin (STZ) 1963'te diyabetojenik olduğu saptanmıştır¹⁵³. Streptozotosin ile indüklenmiş tip 1 diyabet standart protokolünde tek doz 65 mg/kg uygulanması hem antidiyabetik ajanların araştırılmasında hem de diyabetin patolojik etkilerinin çalışılmasında kullanılmaktadır (Şekil 18)¹⁵⁴.



Şekil 18. Streptozotosinin kimyasal yapısı¹⁵⁵

Streptozotosin-nikotinamid sıçan modelinde STZ'ye karşı pankreatik beta hücrelerinde kısmi koruma sağlamak üzere nikotinamid uygulanmaktadır. Bu sayede insülin eksik tip 2 diyabet oluşturulur, insülin direnci oluşturulmaz.

Yağdan zengin diyet-STZ sıçan modelinde hem düşük doz STZ uygulaması hem de yağdan zengin diyet ile beslenme yapılır. Bu yöntemle insülin direnci ve hiperglisemi oluşturularak tip 2 diyabet modeli oluşur. STZ uygulanmış sıçanlarda hiperglisemi 120 gün devam eder. Ancak diyabetik uzun dönem komplikasyonu gözlenmesi istenen çalışmalarda yedinci haftadan itibaren ek STZ uygulaması yapılarak hiperglisemi durumunun haftalar veya aylarca devamı sağlanabilir. STZ uygulamasının en önemli yan etkisi akut pankreatik beta hücre nekrozu olması sonucu ağır hipoglisemi gelişmesi ve deney hayvanının kaybıdır¹⁵⁴. Bunun için düşük doz çoklu STZ uygulaması veya sükroz uygulamaları yapılabilmektedir¹⁵⁴.

2.5.3. İndosiyanin Yeşili İmmunfloresan Görüntüleme

İndosiyanin yeşili (ICG), karaciğer fonksiyon testlerinde ve kardiyolojik görüntüleme amacıyla 1957’de kullanılmaya başlanmıştır. Sonraki yıllarda retinal anjiyografide kullanımı yaygınlaşmıştır. İntravenöz ICG uygulamasını takiben plazma proteinlerine totale yakın bağlanma gerçekleşir ve atılıma kadar proteinlere bağlı kalır. 800 nanometrelik dalga boyu ışıktır (kızılötesine yakın dalga aralığında) su ve hemoglobinde minimal çözünme gösterir ve dokulara dağılım göstermez. Kızılötesi filtresi altında video kamera ile hemoglobin ve intravasküler sıvıya dağılmış boya kaydedilir. Bu sayede özellikle subdermal pleksustaki vasküler yapıları ve anjiyozomları değerlendirmek için ideal görüntüleme yöntemlerinden birini oluşturur. Vücuttan atılımı safra ile olur ve infüzyondan üç dört dakika sonra atılım gerçekleşir^{156,157}.

ICG anjiyografi plastik cerrahide ilk olarak pediküllü perforatör fleplerin intraoperatif perfüzyon değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Perforatörlerin fleplerden sonra serbest flep beslenmesini değerlendirmede kullanımı yaygınlaşmıştır^{158,159}. Serbest fleplerde yapılan çalışmada ICG görüntüleme ile flep beslenmesinde yetersizlik saptanması ile anastomoz yenileme oranları karşılaştırılmış ve vasküler trombotik olayları saptama oranı %100 bulunmuştur. İntraoperatif ICG anjiyografi kullanımı, sıçan flep çalışmasında mikrovasküler anastomoz değerlendirmesinde %95 sensitif, %100 spesifik olarak saptanmıştır^{156,160}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığının 20.01.2022 tarihli onayı ve TTU-2022-14522 proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Fonu desteğiyle yürütülmüştür. Çalışmamız, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde, Çukurova Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında uygulandı.

Bu çalışmada toplamda 48 adet, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen “Wistar Albino” sıçanlar kullanıldı. Uygun kafeslerde oda sıcaklığında 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık koşullarda barındırıldı. Deneklerin beslenme ihtiyacı, standart laboratuvar yemi ve su verilerek düzenli olarak karşılandı.

3.1. Deneyde Kullanılan Malzeme ve İlaçlar:

- Ksilazin hidroklorür (Xylazinbio®, Bioveta)
- Ketamin hidroklorür (Ketasol®, Richterpharma)
- Cetvel ve çizim kalem
- Flaster
- Povidon iyodin
- Patoloji kabı- formol
- Falcon tüpü
- Bistüri (15 numara ve 22 numara)
- Tıraş makinesi
- Adson penset
- Portegue
- Doku makası
- Sütür makası
- Enjektör (2,5 cc, 5 cc)
- İnsülin enjektörü
- 2/0 monofilaman sütür

- 3/0 monofilaman s t r
- Sarı intraket
- Mor intraket
- Glukometre
- Kan  eker  l  m sribi
-  ndosiyanin ye ili (Dongin Dang Pharmaceuticals Co., Republic of Korea)( ekil 19)
- Serum fizyolojik
- Steril gazlı bez
- Hassas tartı
- Tartı
- Steril eldiven ve nonsteril eldiven
-  risin (Recombinant protein, Sigma- Aldrich )
- Streptozotosin (Santa Cruz )
- SPY Imaging System (Novadaq Technologies Inc., Mississauga, Ontario, Canada)
- Canon foto raf makinası
- Anti-VEGF (VEGF; anti-rat rabbit poyclonal antibody, RB-9031-P0, Thermo-Scientific, USA)



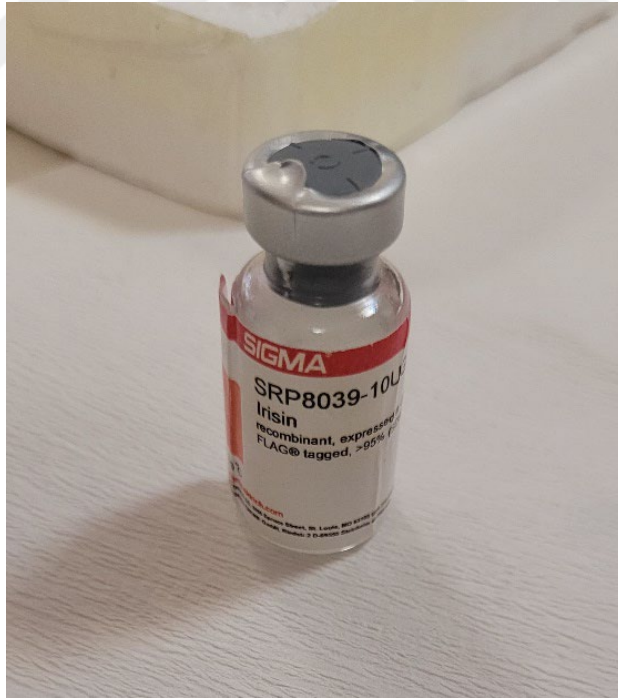
 ekil 19.  ndosiyanin ye ili (Dongin Dang Pharmaceuticals Co., Republic of Korea)

3.2. Deneyde Kullanılan Farmakolojik Ajanların Hazırlanması

Deneyde kullanılan farmakolojik ajanlar uygun dilüsyonlarda hazırlandı ve uygun saklama koşullarında saklandı.

1.Streptozotosin (Santa Cruz, 1gr, sc-200719, CAS 18883-66-4): 1 gram liyofilize toz halinde -20°C altında temin edildi. Hassas terazi yardımı ile 24 sıçana intraperitoneal 65 mg/kg verilecek şekilde 500 mg STZ ayrıldı. 5 cc serum fizyolojik içerisinde dilüe edilerek 0,2 cc 'de 20 mg olacak şekilde uygulamadan hemen önce hazırlanarak intraperitoneal olarak sıçan başına 0,2 cc enjeksiyonlar yapıldı. STZ'nin hazırlanışı sırasında sarı-kahverengi renk enjeksiyondan hemen önce elde edildi.

2. İrisin (Sigma Aldrich, SRP8039-10U, CAS28-51-1 14659) : liyofilize toz -20°C altında temin edildi (Şekil 20). 1 cc deiyonize su ile dilüe edilerek 0,1 cc'de 1 mikrogramlık İrisin ana stoğu elde edildi. Takiben sıçan başına her doz 0,2 cc enjeksiyonu yapılacak şekilde hesaplandı. Ana stoktan 1 mikrogram (0,1 cc) İrisin alınarak 16 cc'ye tamamlandı ve 62,5 ng/mL dilüsyonda 0,2 cc'den enjeksiyonlar yapıldı.



Şekil 20. İrisin (Sigma Aldrich)

3.3. Çalışma Grupları

Diyabet oluşturulacak 24 sıçana intraperitoneal 65 mg/kg streptozotosin uygulanması planlanarak, hayvan kayıpları göz önünde bulundurulacak şekilde istatistiksel olarak hesaplanan örneklem büyüklüğü önerisince 48 sıçan ile deneye başlandı. Diyabet oluşturulmayan 24 sıçana intraperitoneal olarak aynı miktarda serum fizyolojik uygulandı. Planlanan çalışma grupları:

1. Grup: deney kontrol grubu: 12
2. Grup: irisin grubu: 12
3. Grup: diyabet kontrol grubu: 12
4. Grup: diyabet irisin grubu: 12

Diyabet gruba ait sıçanların deney sırasında kayıpları görülmesi, kan şekeri ölçümleri 200'ün altında saptananların ve %20 ağırlık kaybı olan sıçanların çıkarılması nedeniyle 12 sıçan diyabetik grupların nihai sayısı kabul edildi. Diyabetik olmayan 24 sıçan arasından 12 sıçan randomize seçilerek gruplardaki sıçan sayıları eşitlendi. Diyabetin etkilerinin ölçümü için sıçanlar takip edilerek, haftalık olarak kan şekeri ölçümleri ve ağırlık ölçümleri yapıldı. Tüm diyabetik gruplarda kilo kaybı, poliüri ve polidipsi gibi diyabetik bulgular saptandı. Tüm gruplardaki toplamda 24 sıçanda sekizinci haftada 10x 4 cm'lik kranyal bazlı McFarlane sırt flepleri kaldırılarak tekrar yerine iade edildi. 2/0 ve 3/0 monofilaman sütürler ile flepler suture edildi (Şekil 21-23)



Şekil 21. Flep cerrahisinde kullanılan aletler

Sıçanlar deney kontrol grubu (n= 6), irisin kontrol grubu (n= 6), diyabet grubu (n= 6), diyabet irisin grubu (n= 6) olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı:

1. Grup: deney kontrol grubu: 6
2. Grup: irisin grubu: 6
3. Grup: diyabet kontrol grubu: 6
4. Grup: diyabet irisin grubu: 6



Şekil 22. Sıçan kuyruk veni glikoz ölçüm örnekleri



Şekil 23. Sıçanların bakımı ve gruplandırılması

3.4. Cerrahi Yöntem

Cerrahi işlemlerin tamamı steril koşullar altında ve aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi. Anestezi sağlamada intraperitoneal Ketamin HCl (80 mg/kg) ve Xylazin HCl (10 mg/kg) kullanıldı.

Ratların sırt bölgesi tıraşlandıktan sonra povidon iyodin uygulamasını takiben her dört gruba daha önceden tanımlanmış olan kranyal bazlı 10x4 cm'lik McFarlane cilt flebi eleve edildi (Şekil 24). Kontrol gruplarında flep yerine iade edilerek 3 gün boyunca serum fizyolojik uygulandı. İrisin grubu ve diyabet irisin grubunda ise flep iadesi sonrası 3 gün boyunca intraperitoneal olarak irisin 40 ng/kg uygulandı.

Flep cerrahisinden sonraki 7. gün deney hayvan gruplarına anestezi altında indosiyanin yeşili 0,3 mg/kg dozundan kuyruk veninden enjekte edilerek SPY floresans görüntüleme yöntemi (Novadaq Technologies Inc., Mississauga, Ontario, Canada) ile cilt fleplerin kanlanma oranı ölçüldü. SPY'daki görüntülemeler 90 saniye boyunca saniyede 25 görüntü olacak şekilde kaydedildi. Sıçanlarda alt ekstremitte distali %100 beslenme için bazal kabul edilerek McFarlane sırt flebine ait beslenme yüzdeleri SPYQ (Novadaq Technologies Inc., Mississauga, Ontario, Canada) ile hesaplandı (Şekil 25-27). Sırt fleplerinin fotoğrafları yüksek çözünürlüklü kamera ile çekilerek İmageJ (Wayne Rasband and contributors National Institutes of Health, USA) ile nekroz alanları değerlendirildi. Daha sonra fleplerden histopatolojik örnekler alınarak deney hayvanları servikal dislokasyon uygulanarak sakrifiye edildi.



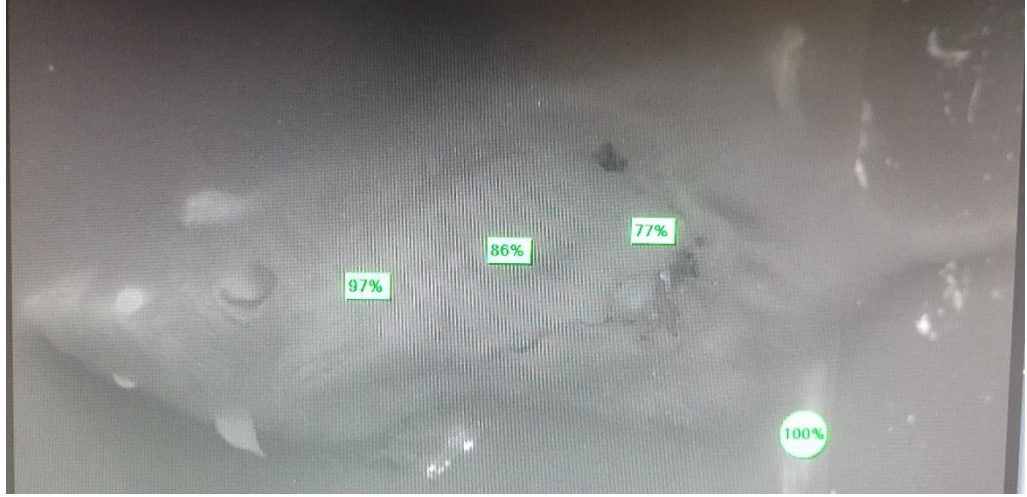
Şekil 24. Sıçanlarda McFarlane flebinin uygulanması ve yerine iadesi



Şekil 25. Sıçan kuyruk veni kateterizasyonu



Şekil 26. Sıçan kuyruk veninden ICG uygulaması



Şekil 27. Sıçanların McFarlane fleplerinin SPY-Q ile beslenme analizi

3.5. Histopatolojik İnceleme

McFarlane cilt fleplerinden alınan 1x1 cm'lik dokular, %10 formalin solüsyonunda 24 saat süreyle tespit edildi. Tespit edilen dokular daha sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler hematoxilen eosin (H&E) ile boyandı. Hazırlanan boyalı preparatlardaki tüm kesitler, Nikon Eclipse E 600 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) ışık mikroskobunda incelendi. Işık ve elektron mikroskobu ile mikrovasküler dansite, anjiyogenez, inflamasyon miktarı ve hücresel boyutta değişiklikler değerlendirildi.

Histopatolojik olarak vascular endothelial growth factor (VEGF) ekspresyonu değerlendirilmesi için elde edilen histolojik kesitler, polilizin kaplı lamalar üzerine alındı. Buzdolabında bekletilen kesitler işaretleme işlemine geçilmeden önce kurutularak, tekrar buzdolabına alındı ve 15 dakika kadar bekletildi. Buzdolabından çıkarıldıktan sonra tekrar kurutulan kesitler, 60 °C'de etüvde ksilol içerisinde 15 dakika deparafinize edildi. Daha sonra doku kesitleri, oda ısısında ksilol serilerinden geçirildi ve derecesi giderek azalan alkol serileri içerisinde hidrate edildi ve distile su içerisine alındı. Kesitler daha sonra, sitrat solüsyonu (pH:6) içerisine alınıp 95°C'lik su banyosunda, 45 dakika süreyle tutularak antijenlerin açığa çıkarılması işlemi gerçekleştirildi. Oda ısısında 60 dk soğutulan kesitler, distile su ile yıkandı ve %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) içerisine alındı. H₂O₂'te yaklaşık 10 dk kadar bekletildikten sonra, kesitler, saf su ve fosfat tamponundan (PBS, pH: 7,2-7,4) geçirildi. Her bir kesitin etrafı dikkatlice silinip, kurulandıktan sonra, üzerine nonspesifik bağlanmayı engellemek amacıyla blocking (TL-015-HD, Thermo-Scientific, USA) damlatıldı ve oda ısısında 15 dakika bekletildikten

sonra sonra, kesitler, saf su ve fosfat tamponundan geçirildi ve dokuların etrafı kurulandı. Daha sonra 1/100 oranında dilüe edilen anti-VEGF (VEGF; anti-rat rabbit poyclonal antibody, RB-9031-P0, Thermo-Scientific, USA) primer antikoru damlatıldı. Primer antikoru damlatılan tüm kesitler +4°C'de, nemli ortamda bir gece bekletildi. Negatif kontrol için alınan kesitlere primer antikolar yerine, tampon solüsyonu damlatıldı. Primer antikolarla muamele edilip 1 gece +4°C'de ve ardından 1 saat oda bekletilen kesitler, daha sonra distile su ve PBS'den geçirildi ve üzerlerine HRP polimer (TL-015-HD, Thermo-Scientific, USA) damlatılarak 15 dk süreyle oda ısısında tutuldu. 15 dk sonra distile su ve PBS'de yıkanan kesitlerin etrafı kurulanıp DAB plus substrat (TL-015-HD, Thermo-Scientific, USA) damlatılarak, 10 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitler üzerine, DAB (Deaminobenzidine) solüsyonu damlatıldı ve 5 dakika bekletildi, çeşme suyu içerisinde yıkandı ve doku kesitleri, zıt boyama için hematoksilin ile boyandı. Boyama işleminden sonra kesitler, çeşme suyunda yıkanarak kurumaya bırakıldı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak dokular lamel ile kapatıldı, Olympus BX53 ışık mikroskobu (Japonya) ile incelendi ve fotoğrafları çekildi. VEGF ekspresyonunun araştırılması amacıyla immunohistokimyasal skorlama yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal skorlama için 40'lık objektifte rastgele seçilen 5 alanda H Skorlama sistemi kullanıldı.

Boyanma derecesi

0 = Hiç boyanma yok

++ = Zayıf derecede boyanma

+++ = Orta derecede boyanma

++++ = Güçlü derecede boyanma şeklinde değerlendirildi.

3.6. Elektron Mikroskopunda İnceleme

Deneklerden elde edilen deri doku örnekleri elektron mikroskopik incelemeler için, Milloning fosfat tamponu (pH: 7,4) ile hazırlanmış %5'lik glutaraldehit içerisinde alındı. 1 saat boyunca glutaraldehit içerisinde bekletilen dokular, dişi mumu ile kaplı petri kabı içerisinde alındı ve jilet yardımı ile yaklaşık 1mm³ büyüklüğünde parçalara ayrıldı. Ardından tekrar 3 saat boyunca %5'lik glutaraldehit solüsyonunda tespit işlemine devam edildi. Toplam 4 saat süreyle glutaraldehit tespit işleminden sonra dokular, Milloning fosfat tamponunda 2 kez 10'ar dakika süreyle yıkandı. Ardından Milloning fosfat

tamponu ile hazırlanmış %1'lik osmium tetraoksit solüsyonu ile 2 saat süreyle ikinci tespit işlemi uygulandı. İkinci tespitten sonra dokular tekrar Millioning fosfat tamponu ile 2 kez 10'ar dakika süreyle yıkandı ve ardından dokular dehidratasyon işlemi için Tablo 4'te belirtilen derecesi giderek artan alkol serilerinden geçirildi ve gömme işlemi için hazırlandı.

Tablo 4. Elektron mikroskopik doku takibinde dehidratasyon, şeffaflandırma ve immersiyeon işlemi

İşlem	Sıcaklık	Zaman
%50'lik etil alkol	+4°C'de	15 dakika
%70'lik etil alkol	+4°C'de	15 dakika
%86'lik etil alkol	+4°C'de	15 dakika
%96'lik etil alkol	+4°C'de	15 dakika
%100'lük etil alkol	+4°C'de	15 dakika
%100'lük etil alkol	+4°C'de	15 dakika
%100'lük etil alkol	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit+ Gömme materyali	Oda sıcaklığında	30 dakika
Propilen Oksit+ Gömme materyali	Oda sıcaklığında	30 dakika

3.7. İstatistiksel Analiz

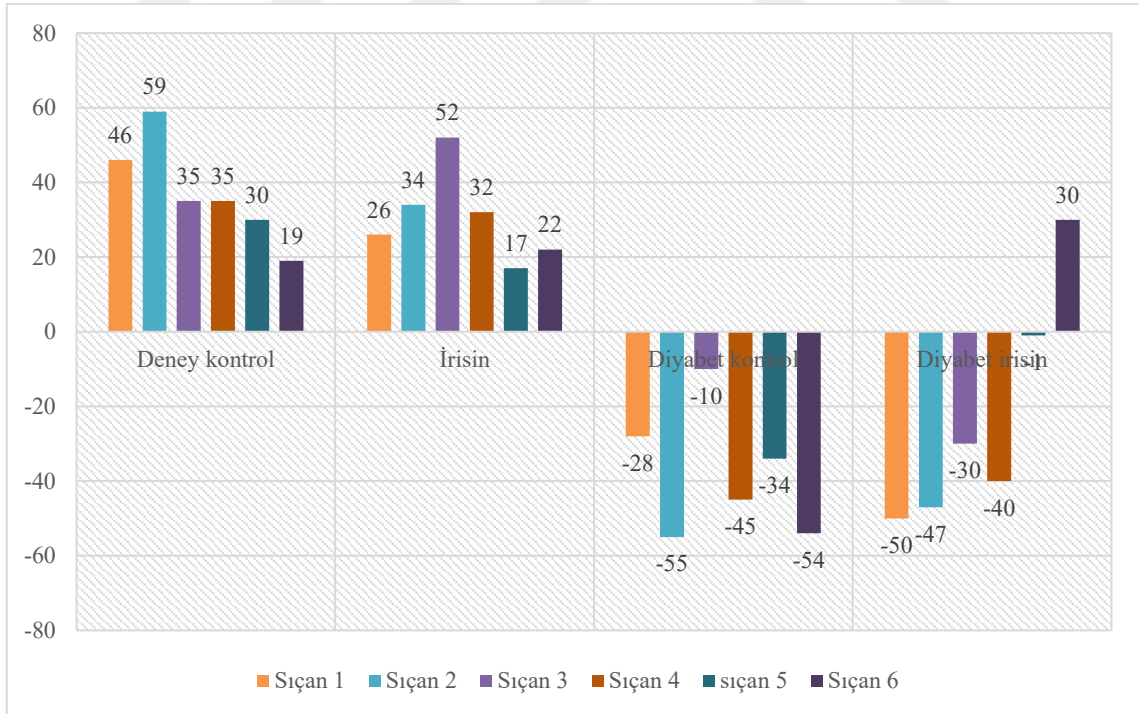
Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum-maksimum) olarak özetlendi. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. İki'den fazla grubun sayısal ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmalarında grup içi varyansların homojen olup olmamasına göre Bonferroni veya Games&Howell testleri kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Sıçanlarda diyabet modeli oluşturulmak üzere STZ uygulama sırasında 8 sıçanda kan şekerinin 200 üstü saptanamaması nedeniyle çalışmaya dahil edilemedi. STZ enjeksiyonu sonrası ağırlık kaybı %20'yi bulan 2 sıçan da çalışmadan çıkarıldı. STZ uygulaması sonrası takip edilen günlerde diyabetik gruptan toplam 2 sıçan kaybedildi. STZ enjeksiyonu sonrası kan şekeri 200 ve üzeri saptanan 12 sıçan grup 3 ve grup 4'te gruplandırıldı. Deney kontrol ve irisin grubu oluşturulmak üzere 12 sıçan grup 1 ve grup 2'de çalışmaya dahil edildi.

Ağırlık ölçümleri sırasında özellikle diyabetik sıçanlarda kilo kaybı görülürken, diyabetik olmayan sıçanlarda kilo alımı saptandı. Çalışma grupları arasında ağırlık değişimi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.001$). Deney kontrol grubunda sıçanlar ortalama 37,3 gr, irisin grubunda ortalama 30,5 gr aldı, diyabet kontrol grubundaki sıçanlar 37,6 gr, diyabetik irisin grubunda 21,5 gr verdi (Şekil 28).



Şekil 28. Sıçanların ağırlık değişimleri (gr), ($p<0.001$)

Tablo 5. Çalışma gruplarına göre ağırlık değişimi, kan şekeri, flep nekrozu oranları

	Grup				p
	Deney Kontrol (n=6)	İrisin (n=6)	Diyabet Kontrol (n=6)	Diyabet+irisin (n=6)	
Ağırlık değişimi(%)	13.2±4.7 ^φ , [♂]	10.7±4.5 ^φ , [♂]	-13.4±6.1	-7.7±12.2	<0.001
Kan şekeri	123.0±6.0 ^φ , [♂]	118.8±11.3 ^φ , [♂]	360.2±100.8	420.0±96.7	<0.001
Flep nekroz(%)	9.9±3.1 ^φ	2.2±2.9 ^φ	33.7±15.8 [♂]	6.2±3.6	<0.001

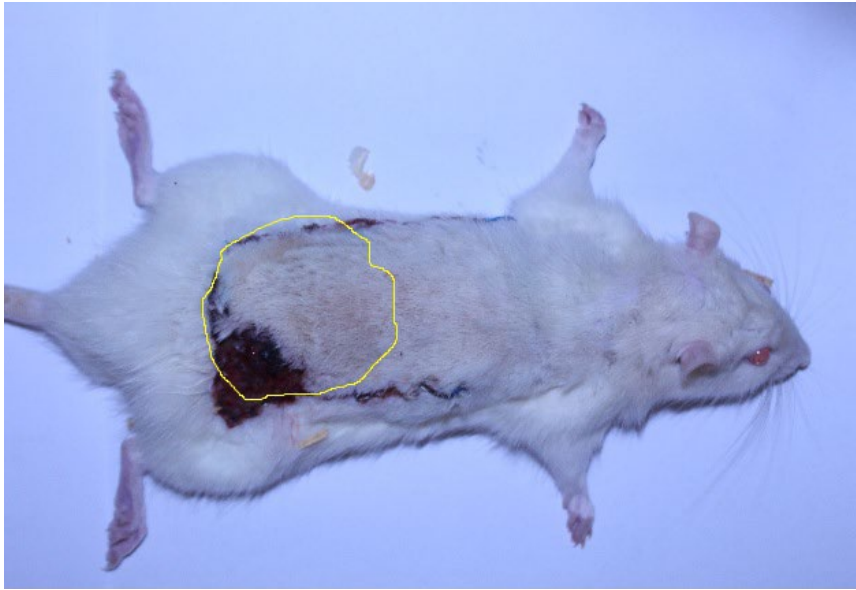
Veriler ortalama±standart sapma ile özetlenmiştir.

^φ irisin grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^φ diyabet grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05, [♂] diyabet+irisin grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05

Sıçanların kan şekeri ölçümlerinde tokluk kan şekeri kuyruk veninden değerlendirildi. Diyabetik gruplarda glikoz değerleri 216 ile 508 arasında değişmekteyken diyabetik olmayan gruplarda 100 ile 130 arasında saptandı. Üç gün İrisin uygulanan sıçanlarda kan şekeri ölçümlerinde glikoz değerleri irisin uygulanmayan gruplara göre anlamlı değişim göstermedi (Tablo 5).

Sıçan McFarlane flep alanları flep cerrahisi 7. Günde yüksek çözünürlüklü Canon fotoğraf makinası ile çekildi. Sıçan fleplerin görüntüleri ImageJ (Wayne Rasband and contributors National Institutes of Health, USA) kullanılarak nekroz alan yüzdesi aşağıdaki şekilde hesaplandı (Şekil 29).

$$\text{Nekroz yüzdesi} = (\text{Nekroz alan pikseli} / \text{Flep total alan pikseli}) \times 100$$

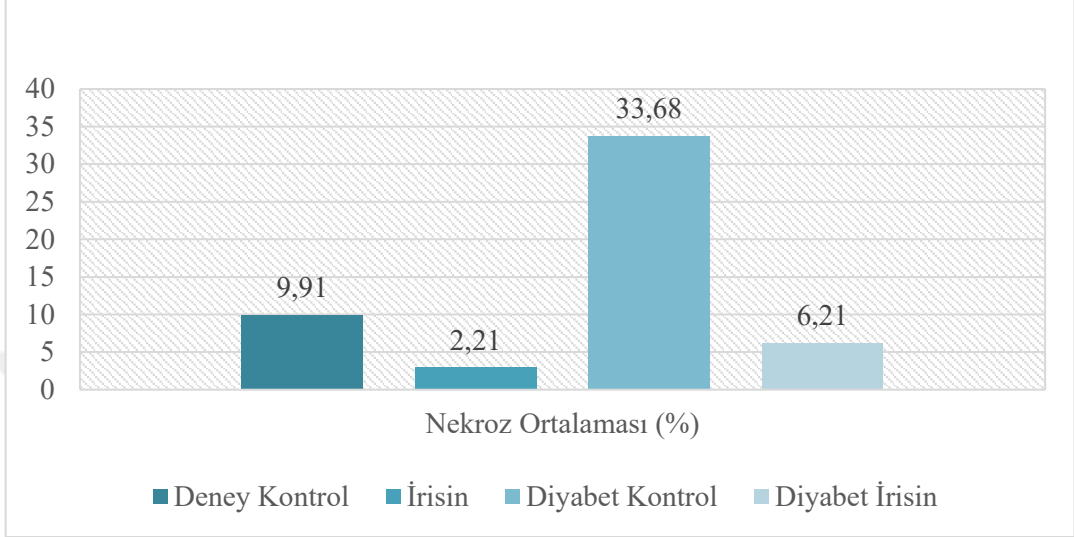
**Şekil 29.** ImageJ ile nekroz alanının hesaplanması

Deney kontrol grubunda sıçanların nekroz yüzdeleri %5,13-13,99 arasında değişmektedir. İrisin uygulanmış diyabetik olmayan sıçanlarda ise %0-7,32 arasında nekroz oranları saptandı. Diyabetik gruplardan olan Grup 3'te (diyabet kontrol) nekroz oranları %15,31-61,34 arasında saptandı. İrisin uygulanan diyabetik grup, Grup 4'te nekroz oranları %0-9,13 arasında ölçüldü (Tablo 6). Gruplar arasında diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığında deney kontrol, irisin ve diyabet irisin gruplarının flep nekroz oranlarında anlamlı fark saptandı ($p<0.05$)

Tablo 6. Gruplara göre fleplerin nekroz oranlarının ImageJ ile ölçümü

	Nekrotik alan (piksel)	Total alan (piksel)	Flep nekroz yüzdesi (%)
Deney kontrol			
1	160551	1147000	13,99
2	130756	1105920	11,82
3	90918	822528	11,05
4	73000	910368	8,01
5	94464	1839900	5,13
6	52556	553298	9,49
İrisin			
1	22571	308022	7,32
2	0	2250324	0
3	43596	1816548	2,39
4	78990	2197170	3,59
5	0	4510532	0
6	0	2379732	0
Diyabet kontrol			
1	141360	366080	38,61
2	286924	467712	61,34
3	315408	1326276	23,78
4	219412	1432640	15,31
5	85524	299028	28,6
6	434044	1259048	34,47
Diyabet irisin			
1	0	263148	0
2	42916	470016	9,13
3	32902	370533	8,87
4	17444	435484	4
5	51592	656968	7,85
6	19804	266808	7,42

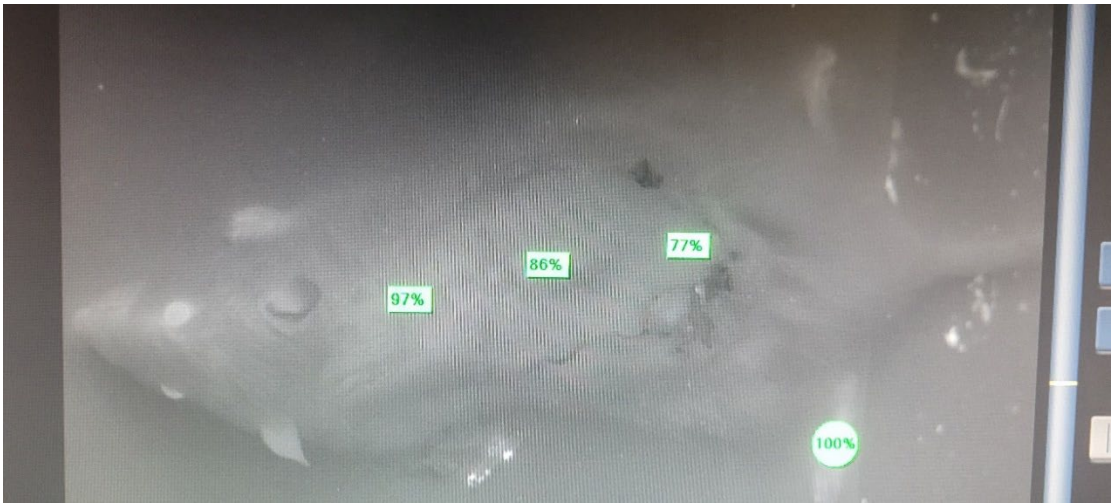
Sıçan sırt fleplerinde nekroz oran ortalamasına bakıldığında deney kontrol grubu %9,91, İrisin grubu %2,21, diyabet kontrol grubu %33,68, diyabet İrisin grubu %6,21 olarak bulundu (şekil 30).



Şekil 30. Gruplara göre ImageJ ile hesaplanan flep nekroz oran ortalamaları

4.2. İmmünfloresan Anjiyografi Bulguları

Sıçanların flep cerrahisi 7.gününde kuyruk veninden 0,3 mg/kg indosiyanin yeşili (Dongindang, Inc., Republic of Korea) verilerek yapılan analizde McFarlane flepleri proksimal, orta ve distal olarak 3 bölgede incelendi (Şekil 31). Analiz için standart referans sıçan ayak cildi perfüzyonu %100 olarak belirlendi. Sıçan immünfloresan anjiyografi sonuçları değerlendirilerek grupların ortalamaları alındı.



Şekil 31. İmmünfloresan anjiyografi ile flep perfüzyonunun değerlendirilmesi

Gruplarda flep beslenme ve perfüzyon oranlarına bakıldığında deney kontrol grubunda proksimal beslenme %97-118, orta bölge %86-112, distali %77-102 arasında değişmekteydi (Tablo 7). İrisin uygulanan grup 2’de ise proksimal bölge %96-135, orta bölge %94-113, flep distali %65-113 arası saptandı (Tablo 8). Diyabet kontrol gruplarında flep proksimali perfüzyon değerleri %17-76, orta bölge %13-60, distali ise %9,6-56 arasında ölçüldü (Tablo 9). İrisin uygulanan diyabetik grupta ise proksimalde %76-115, orta bölgede %66-100, distalde %48-80 değerleri elde edildi (Tablo 10).

Tablo 7. Deney kontrol grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları

Deney kontrol	Proksimal (%)	Orta (%)	Distal (%)
1	118	112	94
2	114	90	89
3	111	98	102
4	108	100	88
5	100	100	92
6	97	86	77

Tablo 8. İrisin grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları

İrisin	Proksimal (%)	Orta (%)	Distal (%)
1	107	110	90
2	112	104	65
3	135	113	113
4	96	94	73
5	130	103	85
6	109	96	86

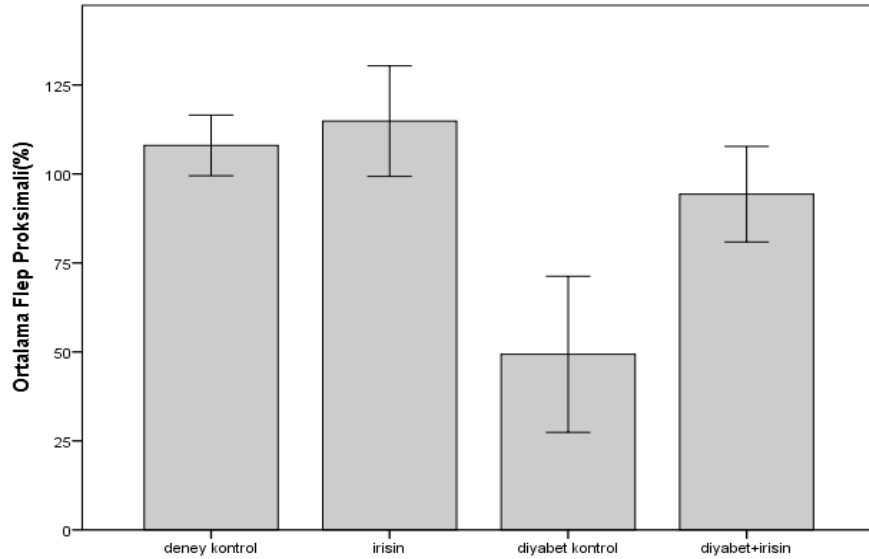
Tablo 9. Diyabet İrisin grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları

Diyabet İrisin	Proksimal (%)	Orta (%)	Distal (%)
1	76	66	48
2	93	87	67
3	100	100	79
4	115	85	80
5	91	83	74
6	91	81	72

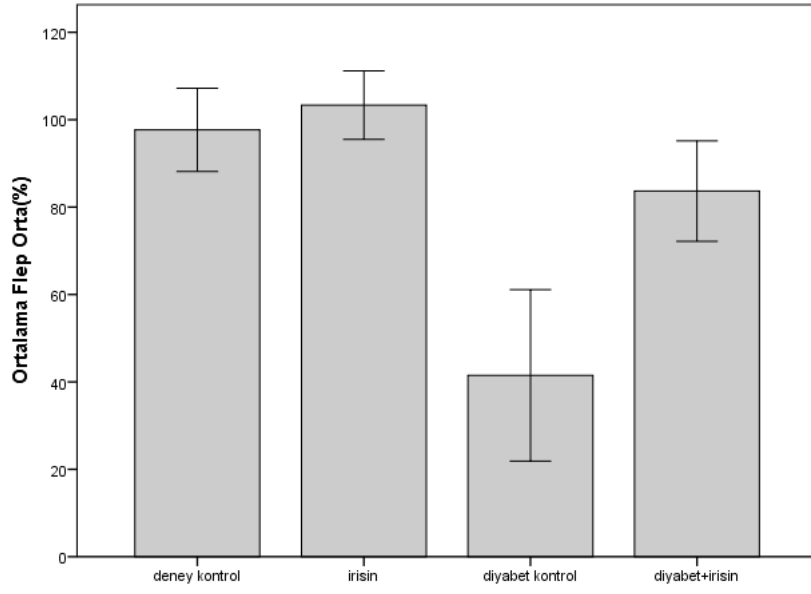
Tablo 10. Diyabet kontrol grubu cilt flepleri SPY anjiyografi oranları

Diyabet kontrol	Proksimal (%)	Orta (%)	Distal (%)
1	17	13	9,6
2	58	50	47
3	34	29	26
4	51	37	27
5	60	60	40
6	76	60	56

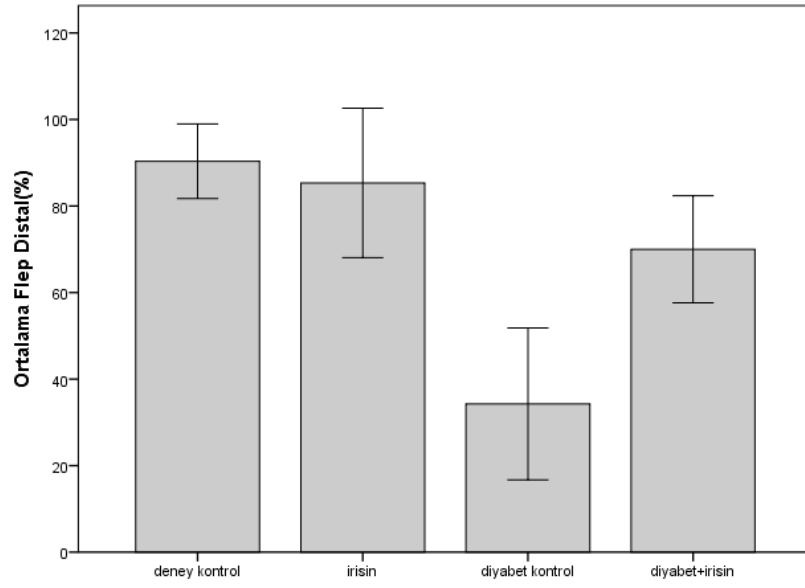
Perfüzyon ortalamaları ise flep proksimalinde deney kontrol grubu %108,00, irisin grubu %114,83, diyabet kontrol grubu %49,33, diyabet irisin grubu %94,33 olarak ölçüldü (Şekil 32). Flep orta 1/3'lük alanda deney kontrol grubunda %97,66, İrisin grubunda %103,33, diyabet kontrol grubunda %41,5, diyabet irisin grubunda %83,66 olarak saptandı (Şekil 33). Flep distallerinde ise bu oranlar deney kontrol %90,33, irisin %85,33, diyabet kontrol %34,26, diyabet irisin grubunda %70,00 olarak ölçüldü (Şekil 34,35), (Tablo 11).



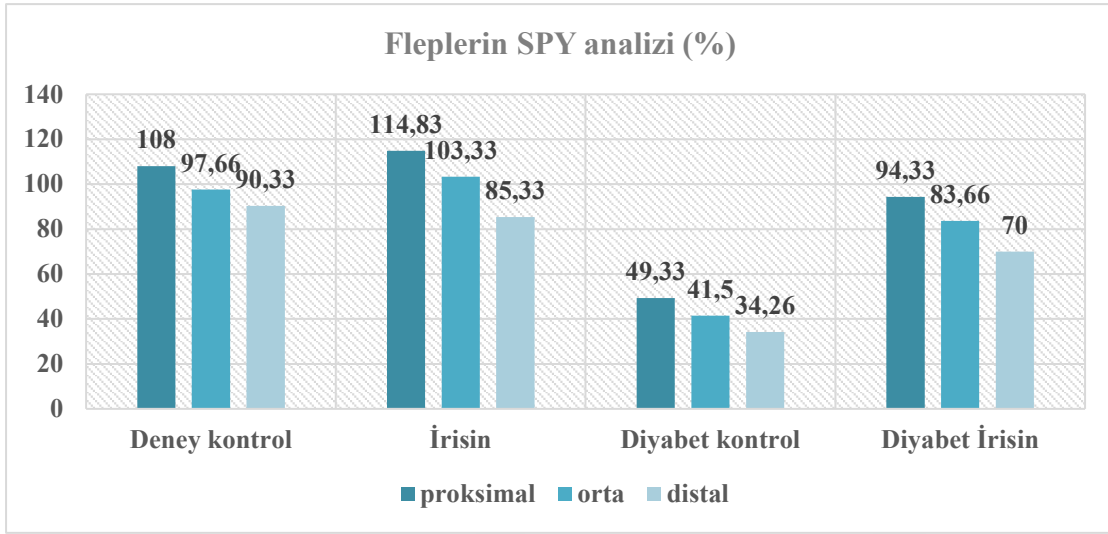
Şekil 32. Gruplara göre flep proksimali SPY analiz ortalamaları



Şekil 33. Gruplara göre flep ortası SPY analiz ortalamaları



Şekil 34. Gruplara göre flep distali SPY analiz ortalamaları



Şekil 35. Gruplara göre fleplerin SPY analizi ile hesaplanan beslenme oranları

Tablo 11. Çalışma gruplarına göre flep anjiyografi yüzdeleri

	Grup				p
	Deney Kontrol (n=6)	İrisin (n=6)	Diyabet Kontrol (n=6)	Diyabet+irisin (n=6)	
Spy proksimal	108.0±8.1 [¶]	114.8±14.8 [¶]	49.3±20.9 [§]	94.3±12.8	<0.001
Spy orta	97.7±9.1 [¶]	103.3±7.5 [¶]	41.5±48.7 [§]	83.7±10.9	<0.001
Spy distal	90.3±8.2 [¶]	85.3±16.5 [¶]	34.3±16.7 [§]	70.0±11.8	<0.001

Veriler ortalama±standart sapma ile özetlenmiştir.

[¶] irisin grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$, [¶] diyabet grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$, [§] diyabet+irisin grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

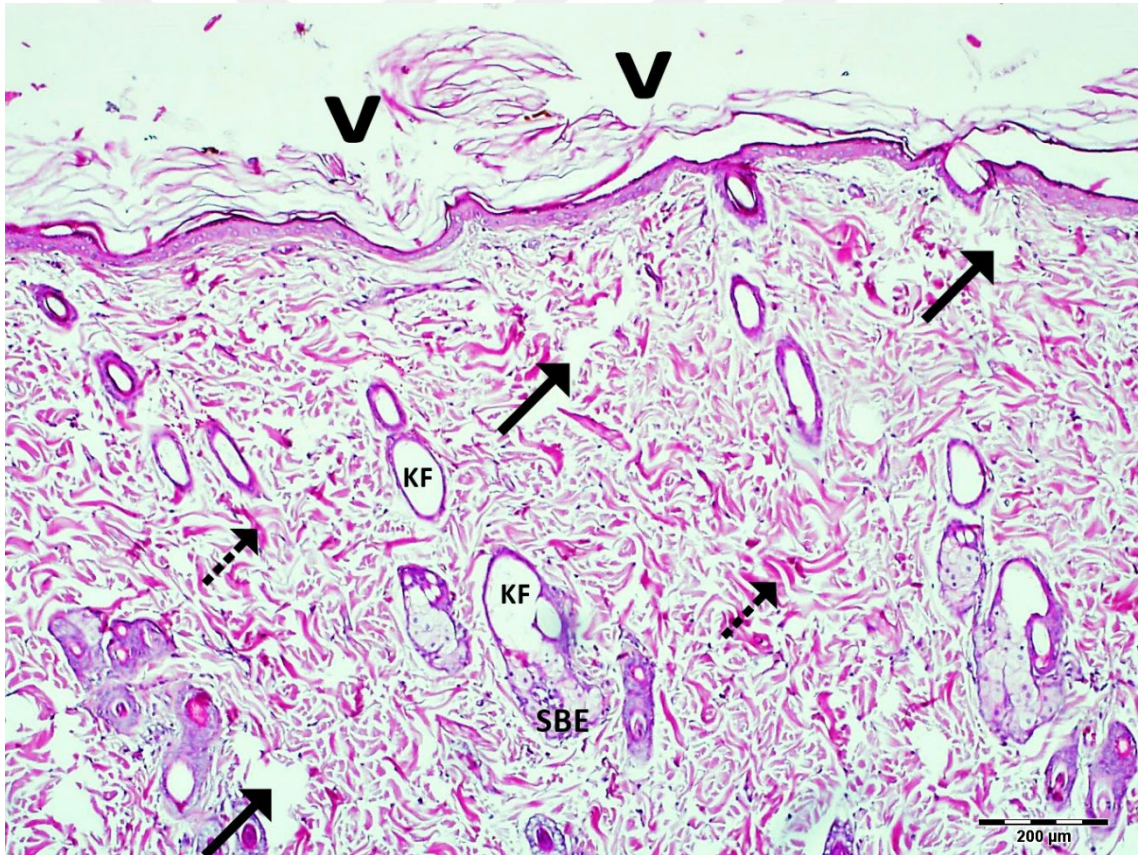
Çalışma grupları arasında fleplerin SPY perfüzyon analizlerine bakıldığında irisin grubunun proksimal, orta ve distal beslenmeleri deney kontrol grubuna göre sayısal olarak fark saptandı ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Diyabet kontrol grubu ile diyabet irisin grubu arasında proksimal, orta ve distal flep perfüzyonları arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptandı ($p<0.05$) (Tablo 11). Deney kontrol, irisin kontrol ve diyabet irisin gruplarının ImageJ ile flep nekroz oranlarında, SPY görüntülemeye proksimal, orta ve distal bölge beslenmelerinde istatistiksel anlamlı fark bulunmadı (Tablo 11).

4.3. Işık Mikroskobu Bulguları

4.3.1. Grup-1: Deney Kontrol Grubu

Sadece flep uygulanıp herhangi bir tedavi yöntemi uygulanmayan kontrol grubuna ait deri örneklerinin ışık mikroskopik incelemesinde, epidermisin keratinize çok katlı

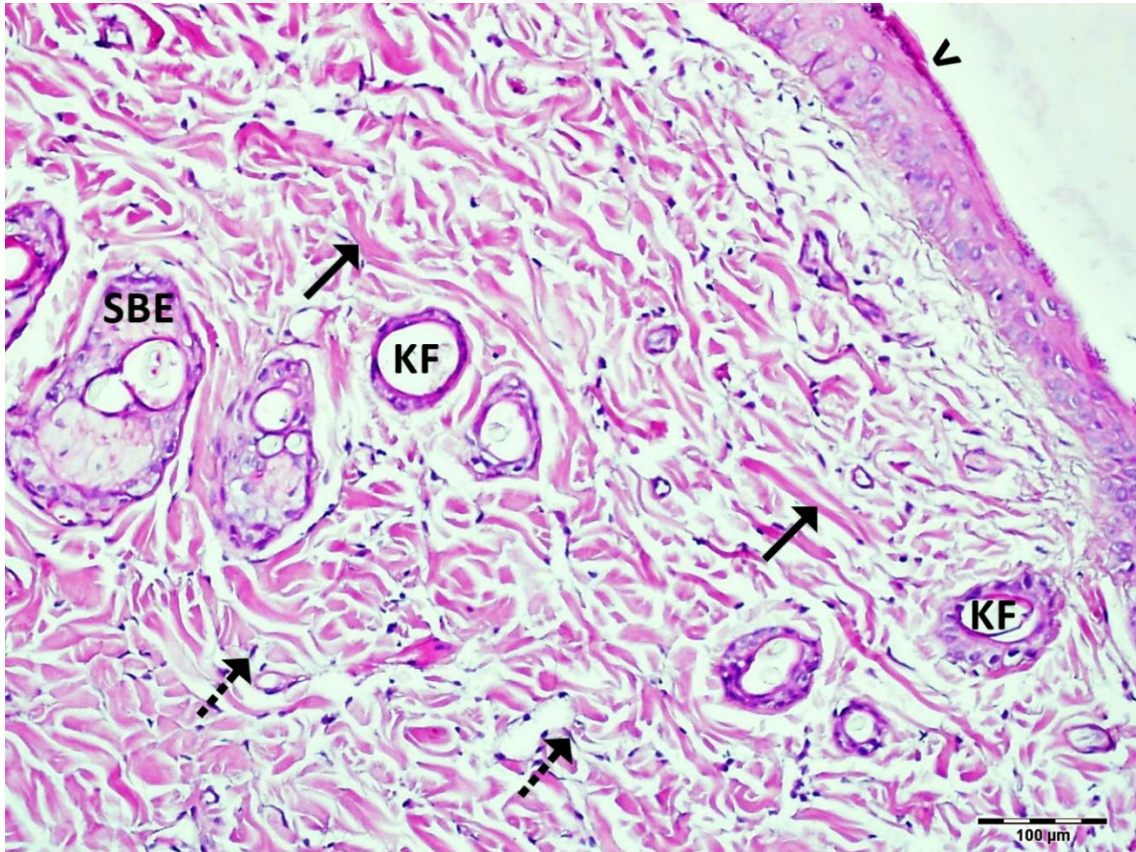
yassı epitel yapısında olduğu, dermisin ise düzensiz sıkı bağ dokusu yapısında olduğu belirlendi. Dermis tabakasında kıl folikülleri ve sebase bezler gözlemlendi. Epidermis ve dermis incelendiğinde derinin normal histolojik yapısına yakın olduğu izlendi. Buna karşılık epidermisin korneum tabakasında düzensizlikler olduğu, bazı alanlarda kalınlaşma olurken bazı alanlarda ise incelmeye olduğu gözlemlendi. Dermiste bulunan düzensiz sıkı bağ dokusunu oluşturan kollajen lifler incelendiğinde kollajen liflerin bazı alanlarda azaldığı ve dağılımında düzensizliklerin olduğu tespit edildi. Yer yer kollajen liflerin daha fazla biriktiği ve kalınlaştığı, bazı alanlarda ise kollajen liflerin daha seyrek olduğu belirlendi. Ayrıca yer yer kollajen liflerin bulunmadığı alanlar tespit edildi. Dermisin hücresel elemanları incelendiğinde lenfosit infiltrasyonu bulunan alanlara rastlandı (Şekil 36).



Şekil 36. Kontrol grubundan elde edilen ince deri kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Boya: Hematoksilen-Eozin. Sadece flep uygulanıp herhangi bir tedavi uygulanmayan gruptan elde edilen deri dokusu incelendiğinde epidermisin korneum tabakasında kalınlaşmalar ve incelmeler (ok başları) izlenmektedir. Yer yer kollajen liflerin bulunmadığı alanlar (oklar) görülmektedir. Bazı alanlarda ise kollajen liflerin (kesikli oklar) düzensiz dağılım gösterdiği ve kalınlaştığı izlenmektedir. Kıl folikülleri (KF) ve onlarla ilişkili sebase bezlerin (SBE) normal yapıda olduğu görülmektedir. Bar = 200μm

4.3.2. Grup-2: İrisin

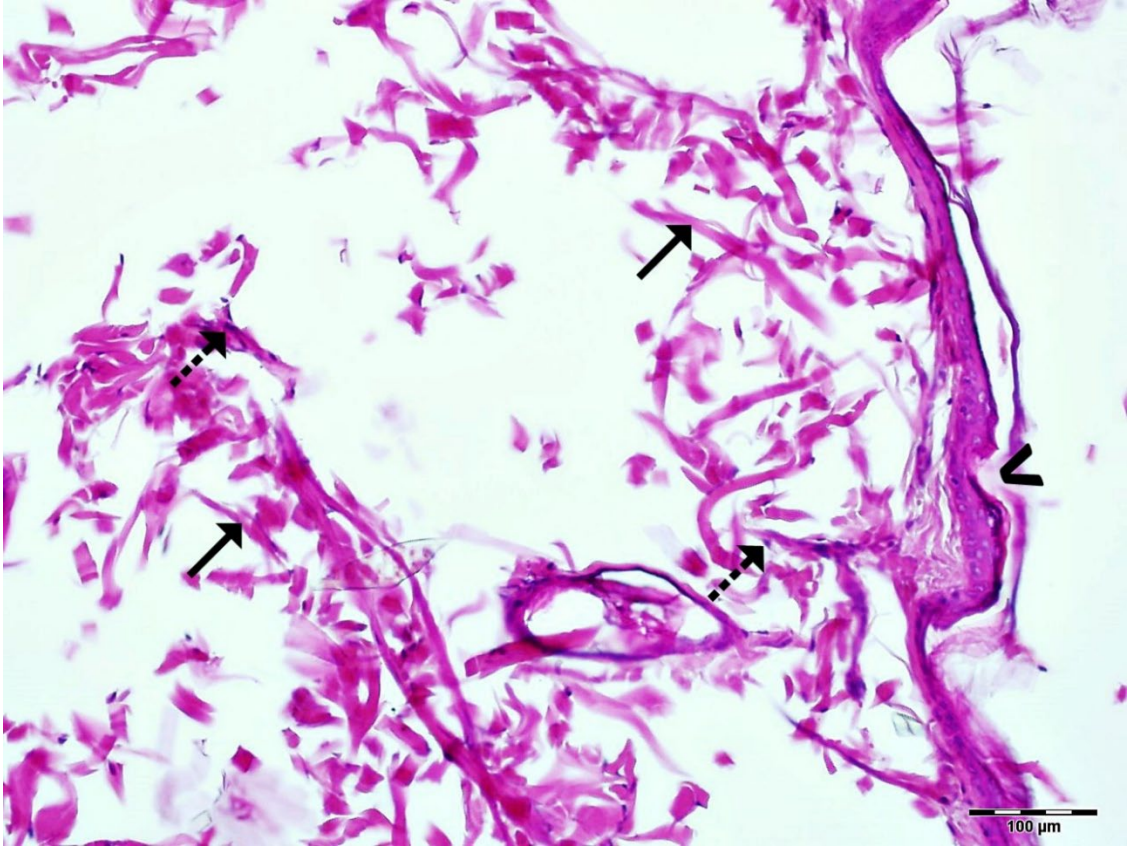
Flep uygulanmasından sonra intraperitoneal yolla 40 ng/kg dozunda 3 gün boyunca irisin verilen sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskopunda incelendi. Epidermis ve dermis incelendiğinde ince derinin normal histolojik özelliklerine sahip olduğu görüldü. Sadece flep uygulanan grupla kıyaslandığında ise stratum korneum tabakasında düzensizliklerin bulunmadığı, epidermisin normal histolojik yapıya sahip olduğu tespit edildi ve dermiste bulunan kollajen liflerin normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Hücresel elemanlar incelendiğinde dermiste kollajenlerin sentezinden sorumlu olan iğ şekilli fibroblastlar yoğun şekilde görülürken herhangi bir lenfosit infiltrasyonuna rastlanmadı (Şekil 37).



Şekil 37. İrisin kontrol grubundan alınan ince deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Boya: Hematoksilen-Eozin. Flep uygulanmasından sonra intraperitoneal yolla 40 ng/kg dozunda 3 gün boyunca irisin verilen sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskopunda incelendiğinde epidermis (ok başı) tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermiste normal histolojik özellikler sergileyen kıl folikülleri (KF) ve sebace bezler (SBE) tespit edildi. Dermis içerisinde kollajen liflerin (oklar) üretiminden sorumlu olan fibroblastların (kesikli oklar) yaygın olarak bulunduğu görülmektedir. Kollajen (oklar) her yöne yayılım gösterdiği ve normal histolojik yapıda bulunduğu izlenmektedir. Bar = 100µm

4.3.3 Grup-3: Diyabet Kontrol

Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulaması yapılan sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskobunda incelendi. Epidermis ve dermis incelendiğinde ince derinin bütün bölgelerinde yoğun dejeneratif değişikliklerin bulunduğu görüldü. Epidermisin bazı bölgelerde kesintili olduğu saptandı. Korneum tabakasının dejenerasyona uğrayarak incelendiği izlendi. Düzensiz sıkı bağ doku yapısında bulunan dermis içerisindeki kollajen liflerin ciddi şekilde azaldığı görüldü. İğ şekilli fibroblastlar kollajen liflerin bulunduğu alanlarda saptandı. Buna karşılık sayısal olarak az olduğu görüldü (Şekil 38).

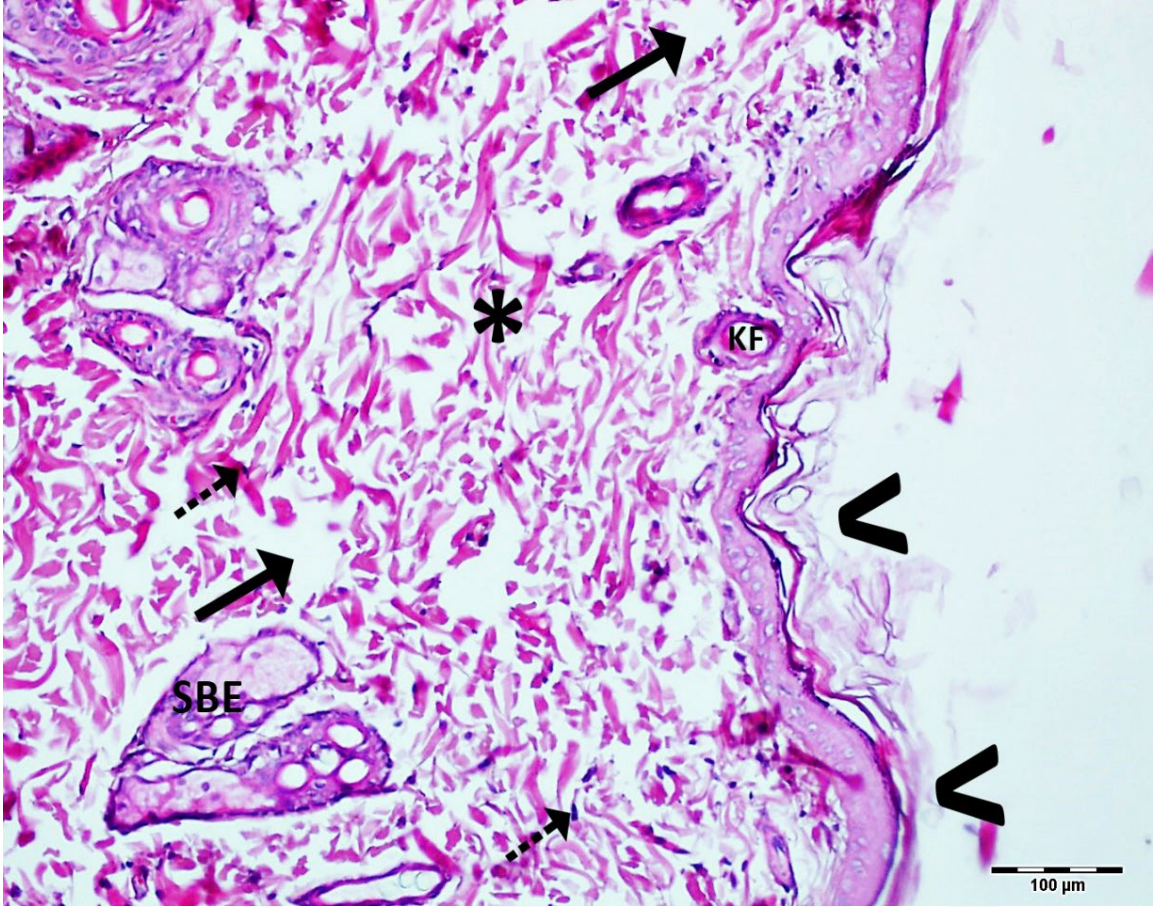


Şekil 38. Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulaması yapılan sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskobik görüntüsü. Boya: Hematoksilen-Eozin. Korneum tabakasının (ok başı) dejenerasyona uğrayarak incelendiği izlenmektedir. Düzensiz sıkı bağ doku yapısında bulunan dermis içerisindeki kollajen liflerin (oklar) ciddi şekilde azaldığı görüldü. İğ şekilli fibroblastlar (kesikli oklar) sayısal olarak diğer gruplarla kıyaslandığında az olmasına rağmen kollajen liflerin bulunduğu bölgelerde izlendi. Bar = 100µm

4.3.4. Grup-4: Diabet+flep+irisin

Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulaması yapılan ve intraperitoneal yolla 40 ng/kg dozunda 3 gün boyunca irisin verilen sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskobunda incelendi. Epidermis ve dermis incelendiğinde ince derinin normal histolojik özelliklerine sahip olduğu görüldü. Sadece flep uygulanan grupla kıyaslandığında ise stratum korneum tabakasının daha düzenli olduğu ancak yer yer incelmeler olduğu görüldü. Epidermisin normal histolojik yapıya sahip olduğu tespit edildi.

Dermiste bulunan kollajen liflerin yer yer kalınlaştığı ve bazı alanlarda kollajen liflerin bulunmadığı görüldü. Hücresel elemanlar incelendiğinde dermiste kollajenlerin sentezinden sorumlu olan iđ şekilli fibroblastlar yoğun şekilde görülürken herhangi bir lenfosit infiltrasyonuna rastlanmadı.



Şekil 39. Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulaması yapılan ve iris verilen sıçanlardan alınan ince deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. Boya: Hematoksilen-Eozin. Diyabet modeli oluşturulduktan sonra flep uygulanıp daha sonra intraperitoneal yolla 40 ng/kg dozunda 3 gün boyunca iris verilen sıçanların sırt bölgesinden alınan ince deri doku örnekleri ışık mikroskopunda incelendiğinde epidermis (ok başı) tabakasının yer yer incelendiği görülmektedir. Düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermisin içerisinde normal histolojik özellikler sergileyen kıl folikülleri (KF) ve sebase bezler (SBE) tespit edilmektedir. Dermis içerisinde kollajen liflerin (*) üretiminden sorumlu olan fibroblastların (kesikli ok) yaygın olarak bulunduğu görülmektedir. Kollajen liflerin (*) yer yer kalınlaştığı bazı alanlarda ise kollajen lif yokluğu (oklar) izlenmektedir. Bar = 100μm

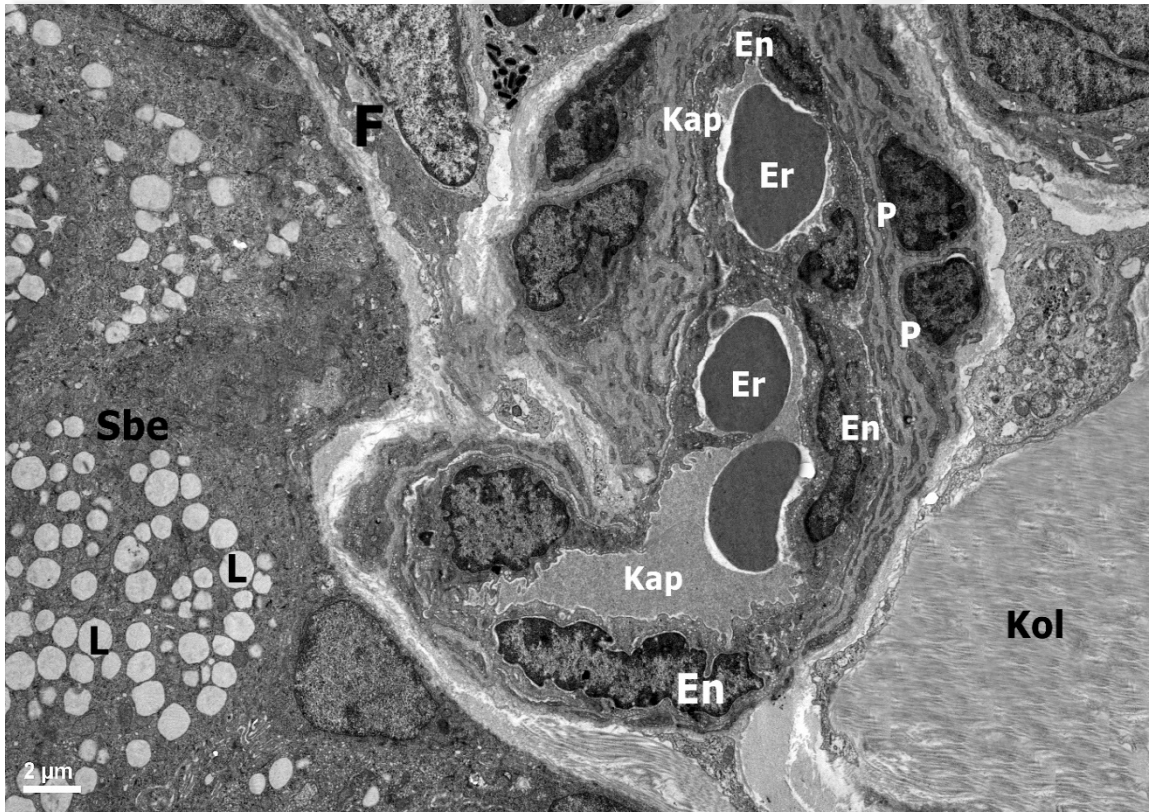
4.4.Elektron Mikroskopik Bulgular

4.4.1.Kontrol Grubu

Kontrol grubuna ait deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde; epidermis ve dermis tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Dermis düzensiz sıkı bağ dokusu yapısında olup, bütünlüğünü koruduğu izlendi. Dermiste bulunan kollajen, elastik ve retiküler lif demetleri arasında deri ekleri, kan damarları ve bağ dokusu hücreleri olan fibroblastlar, mast hücreleri ve makrofajlar tespit edildi. Dermiste bulunan, kapiller damarların duvarı; lümeni bakan yüzeyi

döşeyen endotel hücreleri ile endotel hücrelerinin altında normal görünümüne sahip bazal lamina ve miyoepitelyal hücreler olan perisitlerden oluşmaktaydı (Şekil 40).

Sadece flep uygulanan bu gruptaki deneklerden alınan deri örnekleri elektron mikroskopik olarak incelendi. Yapılan incelemede epidermis ve dermisin genel olarak normal histolojik yapısında olduğu belirlendi. Dermiste düzensiz sıkı bağ dokusunu oluşturan kollajen liflerin varlığı, kan damarları, sebase bezler ve fibroblastların varlığı dikkati çekti. Dermiste izlenen kan damarlarını döşeyen endotel hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmasının normal yapısına uygun olduğu belirlendi. Endotel hücrelerinin dışında normal görünümüne sahip perisitlerin varlığı dikkati çekmekteydi (Şekil 40).

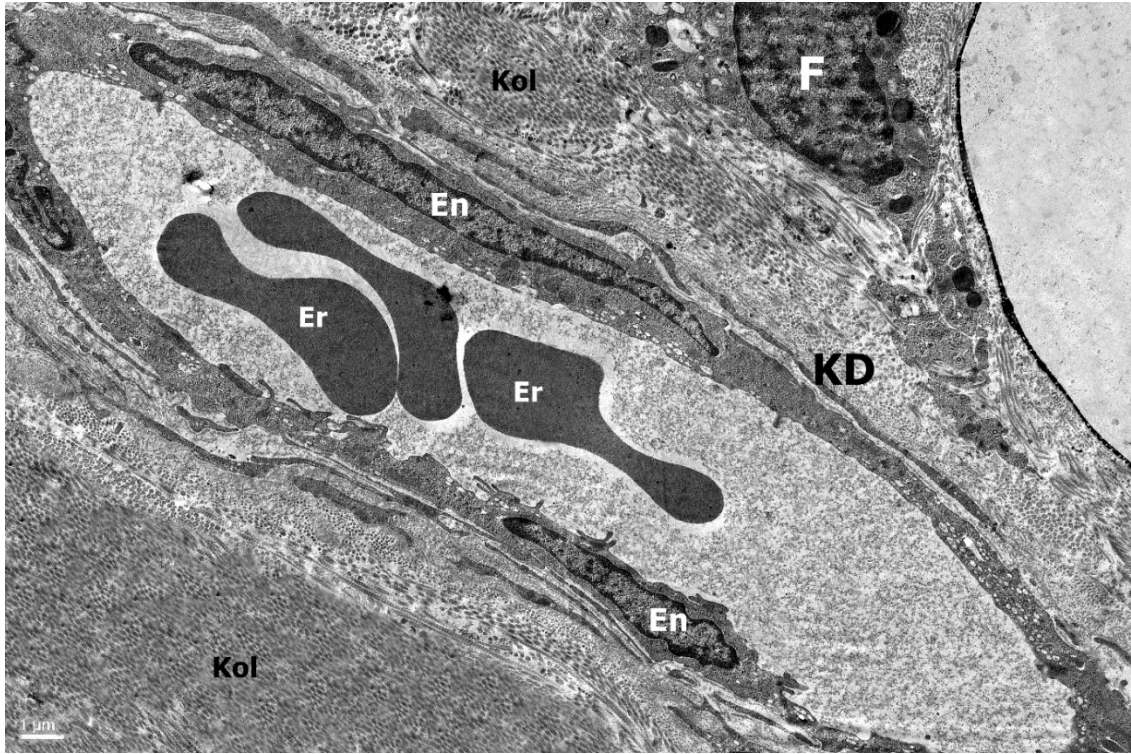


Şekil 40. Kontrol grubuna ait (Sadece Flep) deneklerden alınan deri dokusunun elektron mikroskopik görünümü. Dermiste yer alan kapiller damarlarda (Kap), normal yapıya sahip endotel hücreleri (En) ve onları çevreleyen perisitler (P) görülmektedir. Sebase bezlerde (Sbe) lipid damlacıkları (L) izlenmektedir. Perivasküler alanda fibroblastların (F) varlığı, damar içerisinde izlenen eritrosit (Er) ve kollajen liflerin (Kol) normal histolojik şeklinde olduğu izlenmektedir. Bar= 2 µm.

4.4.2.İrisin Grubu

Flep modeli uygulandıktan sonra 40 ng/kg dozda 3 gün süreyle İrisin uygulanan bu gruptaki deneklerden alınan deri doku kesitleri elektron mikroskopik olarak incelendi.

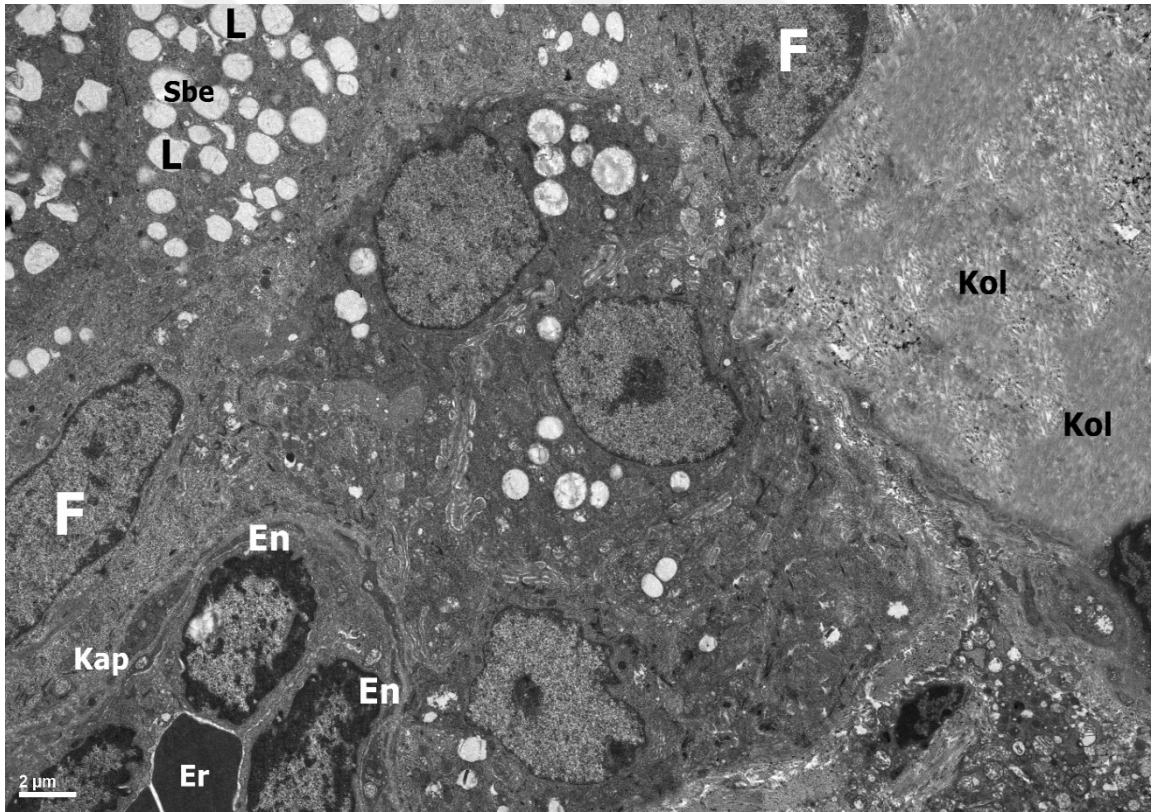
Yapılan incelemede dermiş ve epidermis tabakalarının histolojik olarak normal görünümünde olduğu tespit edildi. Aynı zamanda dermis içerisinde kollajen lifler fibroblastlar ve diğer bağ dokusu elemanlarının normal yapıda olduğu dikkati çekti. Dermiste yer alan kan damarlarının duvar yapısı normal histolojik yapısına uygundu. Diyabet grubuyla kıyaslandığında bu grubun histolojik görüntüsünün oldukça korunmuş olduğu dikkati çekti. Damar lümenini düşeyen endotel hücreleri ve bağlantılarıyla bazal lamina yapıları intakt halde izlendi. Endotel hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmalarında herhangi bir harabiyet ya da dejeneratif değişiklik görülmemekteydi. Aynı zamanda endotel hücrelerinin çekirdeklerinde herhangi bir piknoz, karyoreksiz veya hiperkromatin artışı tespit edilmedi. Kollajen lif ve ekstrasellüler matriks sentezinden sorumlu olan fibroblastlarında çekirdek veya sitoplazmasında herhangi bir dejeneratif ya da ödematöz değişiklik görülmedi. Kollajen lif dağılımı ve görüntüsü normal histolojik yapısına benzerlik göstermekteydi (Şekil 41).



Şekil 41. İrisin kontrol (Flep+İrisin) grubuna ait deneklerden alınan deri dokusu kesitlerinin elektron mikroskopik görünümü. Dermiste düzensiz sıkı bağ dokusunu oluşturan kollajen liflerin (Kol) dağılımının normal düzende olduğu izlenmektedir. Aynı zamanda dermiste yer alan kan damarlarının (KD) normal duvar yapısında olduğu izlenmektedir. Endotel hücrelerinin (En) çekirdek ve sitoplazmik organellerinin normal yapıda oldukları izlenmektedir. Fibroblastların (F) ve damar lümeninde yer alan eritrositlerin (Er) normal şekilde olduğu görülmektedir. Bar= 1 µm.

4.4.3.Diyabet Grubu

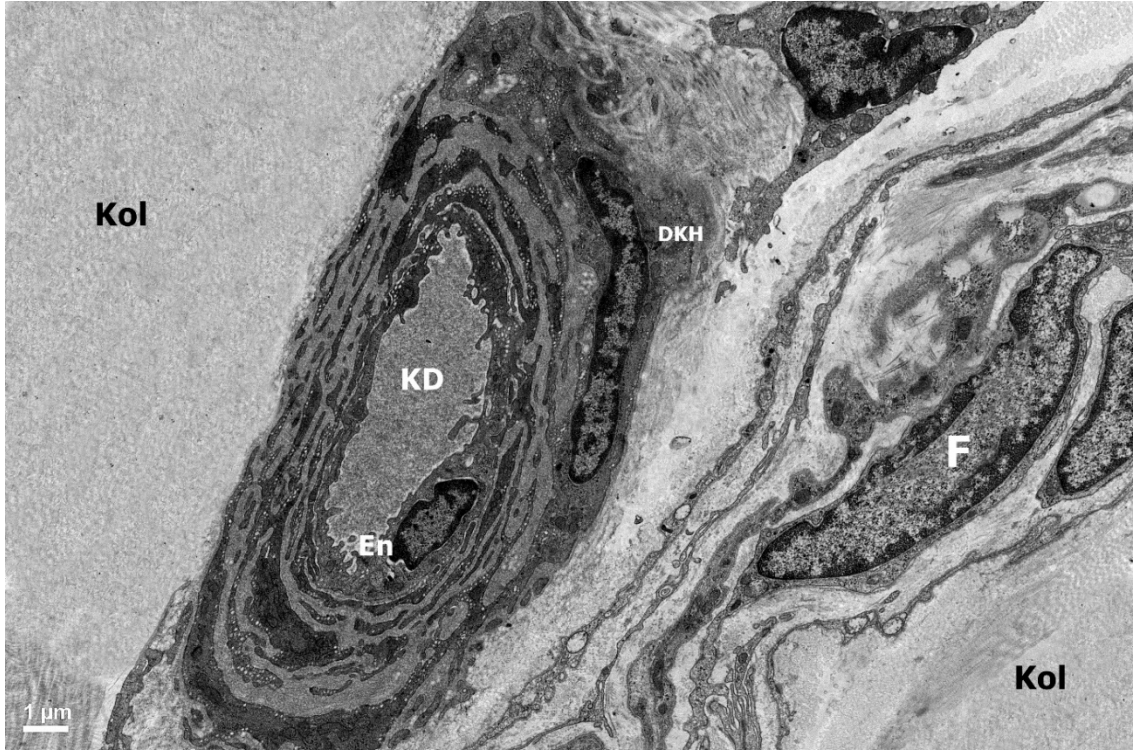
Diyabet oluşturulup flep uygulanarak oluşturulan deney grubundaki deneklerden alınan deri dokusu elektron mikroskopik olarak incelendi. Yapılan incelemede dermiste ve epidermiste harabiyetin olduğu alanların varlığı dikkati çekti. Dermiste görülen dejeneratif değişikliklerle birlikte apoptotik değişikliklerin varlığı da izlendi. Kollajen liflerin dağılımında kontrol grubuna göre daha dejeneratif olduğu kollajen liflerin arasında ödematöz alanların varlığı görüldü. Kan damarlarını döşeyen endotel hücrelerinin yassı şekilden kübik şekle değiştiği dikkat çekiciydi. Aynı zamanda endotel hücrelerinde çekirdekte hiperkromatin artışı ve ödematöz alanların varlığı izlendi. Damar duvarında kalınlaşmalar mevcuttu. Kollajen lifleri sentezleyen fibroblastlar ve sebace bezler nispeten normal yapıya sahip olarak izlendi (Şekil 42).



Şekil 42. Diyabet grubuna ait (diyabet+flep) deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Dermiste yer alan kapillerlerin (Kap) duvarını oluşturan endotel hücreleri (En) ve çekirdeklerinde heterokromatin artışı ve vakuolizasyon ve sitoplazmada dejeneratif alanların varlığı izlenmektedir. Fibroblastlar (F) nispeten normal görülmektedir. Eritrosit (Er) ve kollajen lifler (Kol) normal şekilde izlenmektedir. **Bar= 2 µm.**

4.4.4.Diyabet+İrisin Grubu

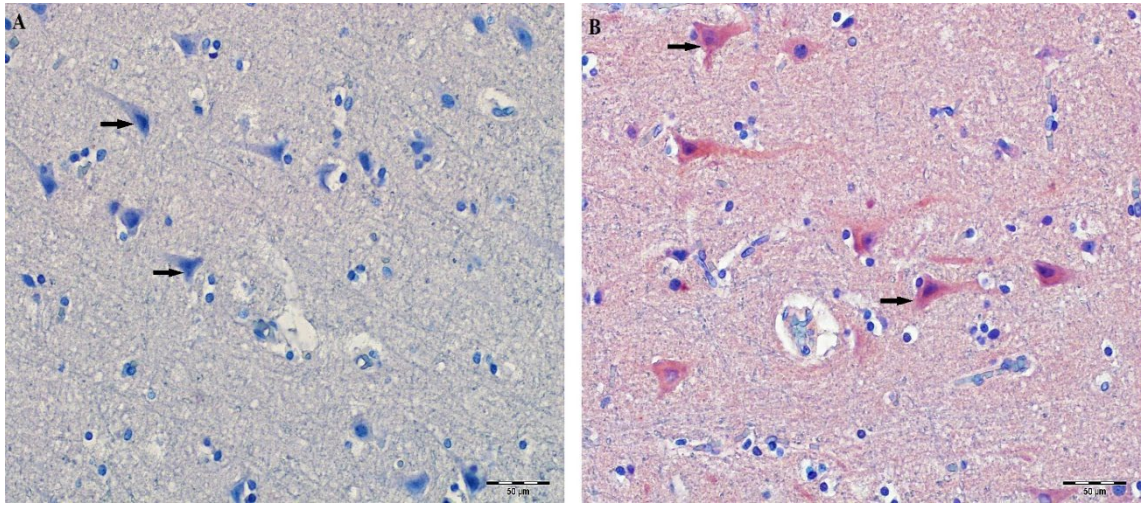
Diyabet oluşturulması amacıyla streptozotosin uygulaması ve flep oluşturulmasını takiben tedavi amacıyla İrisin uygulanan bu gruptaki deneklerden alınan deri dokusu kesitleri elektron mikroskopik olarak incelendi. Yapılan incelemede epidermis ve dermis tabakalarının normal histolojik görüntüye benzerlik gösterdiği, kontrol grubuna yakın şekilde görüldüğü dikkati çekti. Bununla birlikte fibroblast çekirdeklerinde hafif heterokromatin artışı izlendi. Aynı zamanda sitoplazmada hafif vakuolizasyon mevcuttu. Kan damarının lümenini döşeyen endotel hücreleri diyabet+flep grubuna göre daha normal şekilde izlendi. Endotel hücrelerinde hafif heterokromatin artışının varlığı dikkati çekti. Kollajen lif dağılımı ve şekli normal şekilde izlenmekle birlikte herhangi bir ayrılma ya da anormal dağılımın olmadığı tespit edildi. Damar duvarında hafif dejeneratif değişiklikler olmakla birlikte normal yapısına benzerlik gösterdiği ve düz kas hücrelerinin normal histolojik yapısını koruduğu izlendi (Şekil 43).



Şekil 43. Diyabet+İrisin uygulanan gruba ait deri kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Dermiste kollajen lif dağılımının (Kol) ve fibroblastların (F) normal yapıda olduğu izlenmektedir. Damar lümenini (KD) döşeyen endotel hücrelerinin (En) normal yapıya sahip olduğu görülmektedir. Aynı zamanda damar duvarına yakın yerleşmiş şekilde izlenen düz kas hücrelerinin (DKH) varlığı ve normal yapıda olduğu izlenmektedir. **Bar= 1 µm.**

4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular

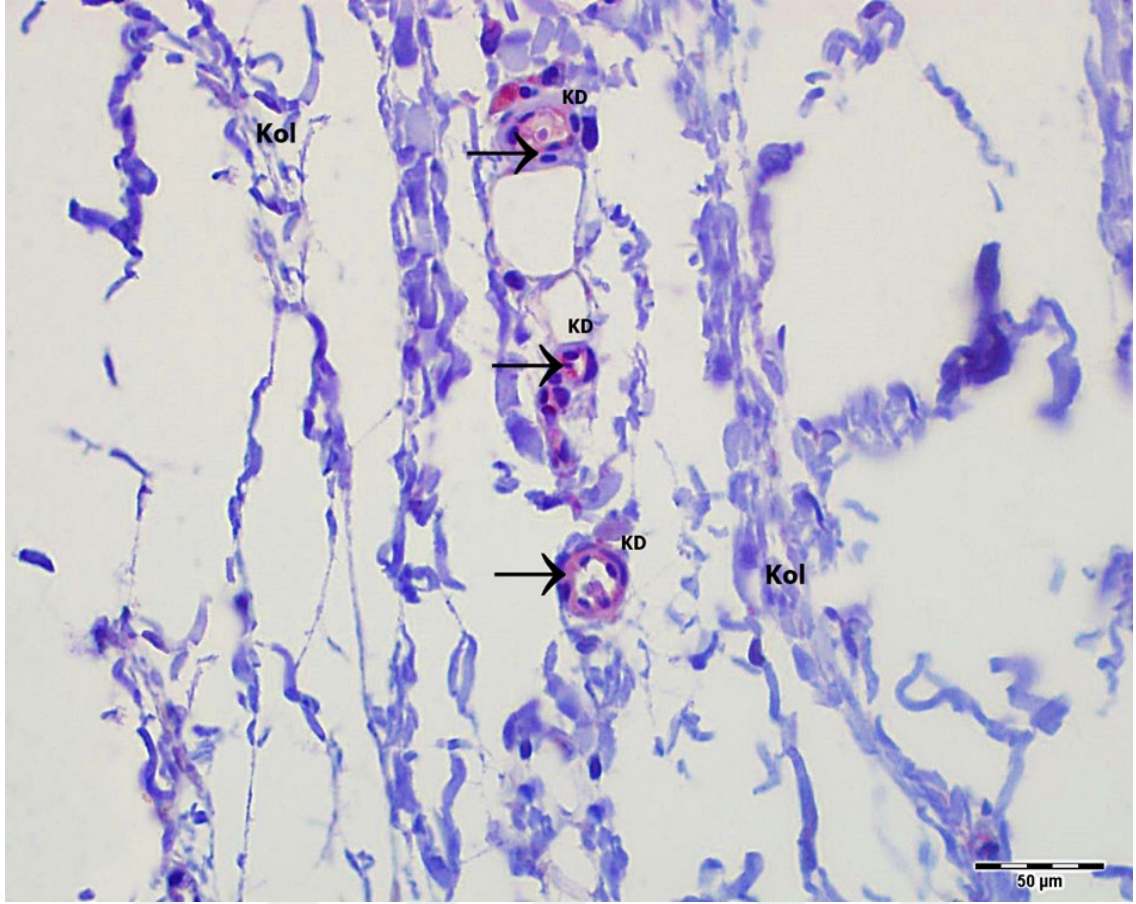
Flep modeli uygulanan sıçanlardan oluşturulan gruplarda Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ekspresyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla alınan deri dokuları, immünohistokimyasal yöntemle incelendi. Negatif ve pozitif kontrol amacıyla beyinden elde edilen biyopsi örnekleri VEGF immünoreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla pozitif kontrol olarak (Şekil 44B), primer antikor damlatılmayan doku kesitleri ise negatif kontrol amacıyla boyandı (Şekil 44A).



Şekil 44. VEGF immünoreaktivitesi. A) Negatif kontrol. VEGF için, primer antikor damlatılmamış beyin dokusuna ait kesitte herhangi bir işaretlemenin olmadığı görülmektedir (oklar). Bar= 50 µm. B) Pozitif Kontrol. Beyin korteksinde yer alan nöron ve kapiller damarlarda VEGF immünoreaktivitesi izlenmektedir (oklar). **Bar=50 µm.**

4.5.1. Kontrol Grubu

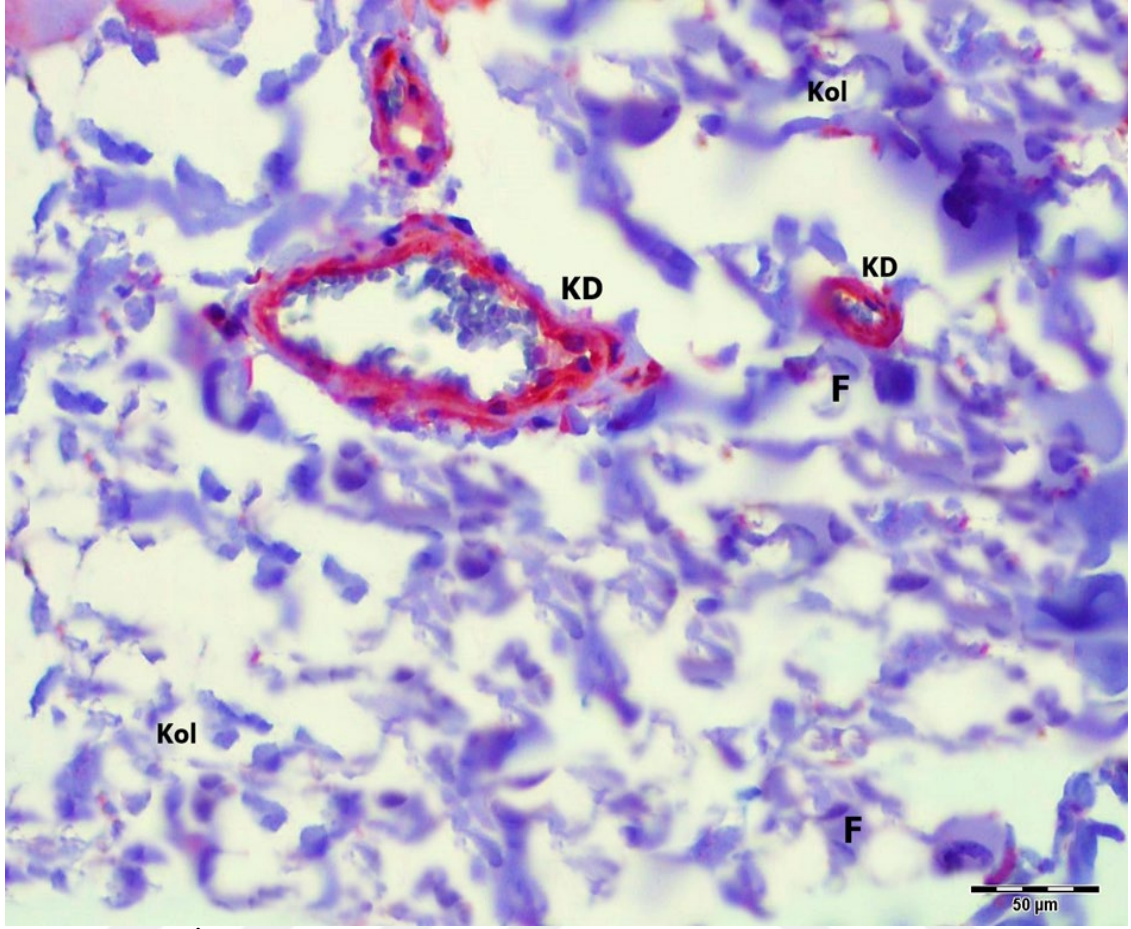
Sadece flep uygulamasının yapıldığı, başka bir işlem ve tedavinin uygulanmadığı bu gruptaki deneklerden alınan deri dokusu örneklerinde, VEGF ekspresyonunu araştırmak amacıyla immünohistokimyasal yöntemler uygulandı. Deri kesitlerinde dermiste kollajen lifleri arasında bulunan bağ dokusuna ait hücrelerde ve kollajen liflerde VEGF ekspresyonu tespit edilmedi. Küçük çaplı kapiller damar endotel hücrelerinde ve daha büyük çaplı damar endotel hücrelerinde zayıf VEGF immünoreaktivitesinin varlığı tespit edildi (Şekil 45).



Şekil 45. Kontrol grubunda VEGF immunreaktivitesi. Deri dokusunda VEGF immunoreaktivitesinin, damar (KD) endotel hücrelerinde (ok) zayıf ekspresyonu görülmektedir. Kollajen liflerde (Kol) herhangi bir immunreaktivite izlenmemektedir. Bar= 50 µm.

4.5.2. İrisin Grubu

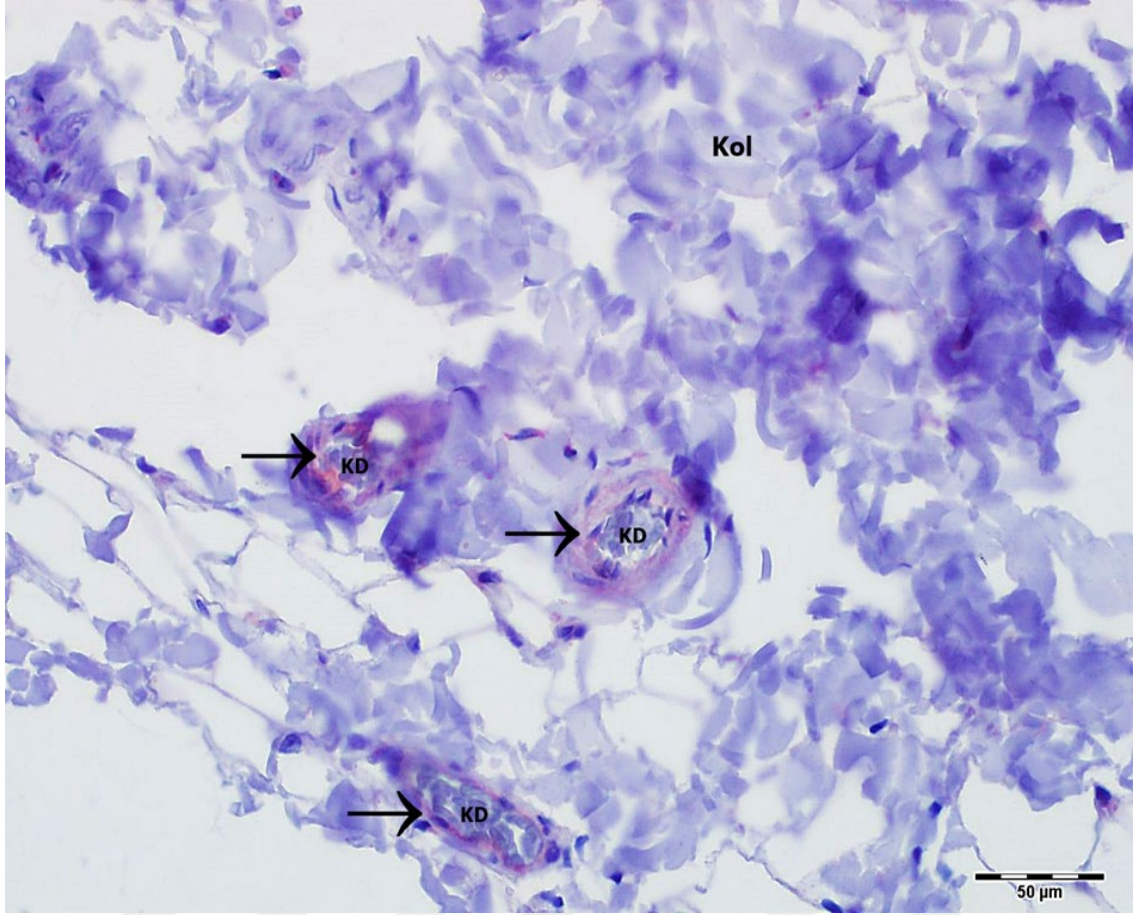
İncelenen bu gruptaki deneklere flep modeli uygulandıktan sonra 40 ng/kg dozda 3 gün süreyle İrisin uygulanmasını takiben alınan deri dokusu kesitleri VEGF açısından immunohistokimyasal olarak incelendi. Yapılan incelemede dermisin büyük bölümünü oluşturan kollajen liflerde ve bu liflerin sentezinden sorumlu olan fibroblastlarda VEGF immunreaktivitesi izlendi. Bununla birlikte kan damarlarını döşeyen endotel hücrelerinde güçlü pozitif VEGF immunreaktivitesinin varlığı dikkati çekti. Ekspresyon düzeyinin daha önce incelenen kontrol ve deney grubuna göre daha fazla olduğu dikkati çekti (Şekil 46).



Şekil 46. İrisin+Flep uygulanan grupta VEGF immunoreaktivitesi. Bu gruptaki sıçanlardan alınan deri dokusuna ait kesitte küçük ve büyük çaplı damar duvarlarında çok güçlü VEGF ekspresyonu (ok) izlenmektedir. **Bar= 50 µm.**

4.5.3. Diyabet Grubu

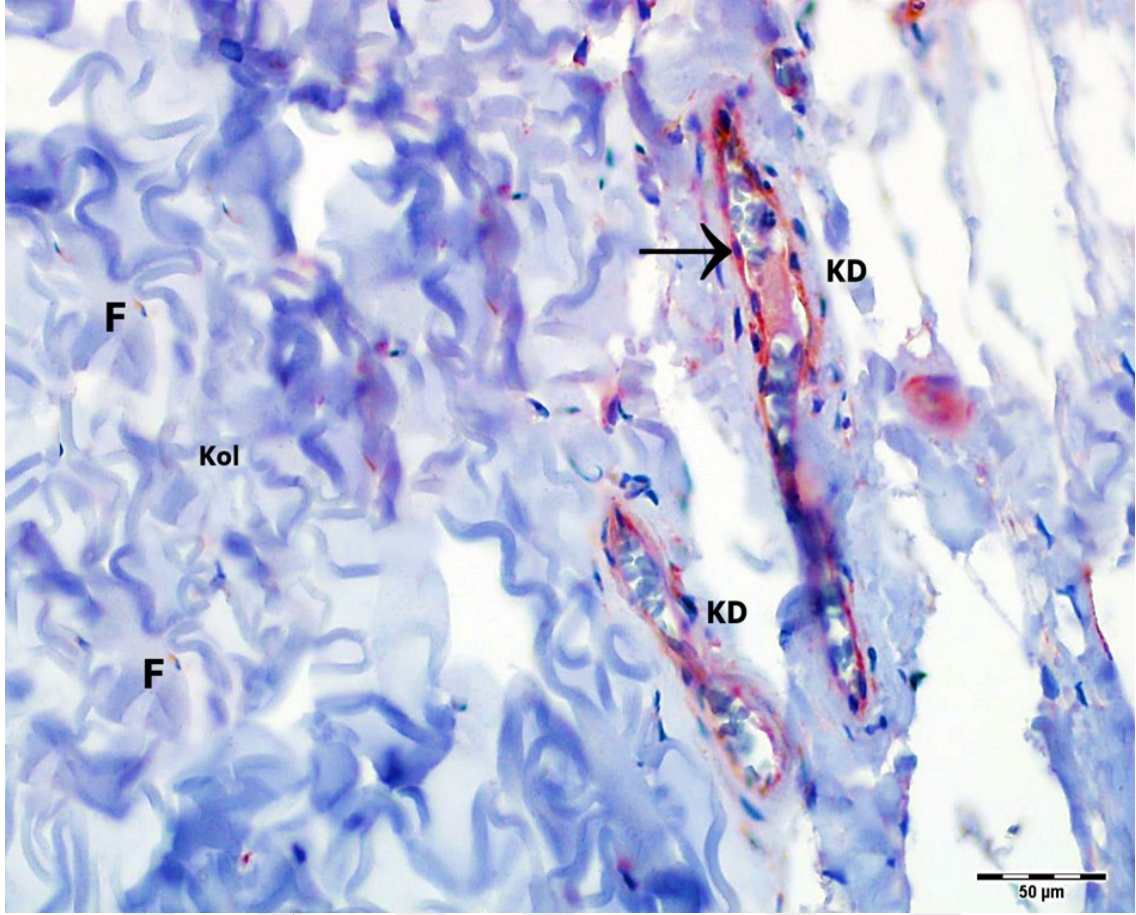
Diyabet modeli oluşturulmasıyla birlikte flep uygulanarak oluşturulan deney grubundaki deneklerden alınan deri dokusu VEGF immunreaktivitesi açısından değerlendirildi. Yapılan değerlendirmede kollajen liflerde düzensiz yapıların artmasıyla birlikte VEGF immunreaktivitesinin kollajen liflerde ve bağ dokusu hücrelerinde eksprese olmadığı dikkati çekti. Bununla birlikte değişik büyüklükte çapa sahip kan damarlarını döşeyen endotel hücrelerinde, kontrol grubuna göre nispeten daha yoğun VEGF immunreaktivitesinin varlığı dikkati çekti. Aynı zamanda epidermisin izlenen alanlarında herhangi bir VEGF immunreaktivitesi izlenmedi (Şekil 47).



Şekil 47. Deney grubunda (Diyabet+Flep) VEGF immunreaktivitesi. Oldukça düzensiz dağılım gösteren kollajen liflerinde (Kol), herhangi bir reaktivite görülmemektedir. Kan damarlarını (KD) döşeyen endotel hücrelerinde pozitif immunreaktivite (oklar) izlenmektedir. Bar= 50 µm.

4.5.4. Diyabet+İrisin Grubu

Bu gruptaki deneklere diyabet oluşturmak amacıyla streptozotosin uygulaması ve flep oluşturulmasıyla birlikte, tedavi amacıyla İrisin uygulanan bu gruptaki deneklerden alınan deri dokusu kesitleri VEGF ekspresyonu açısından immunohistokimyasal olarak incelendi. Yapılan incelemede kollajen liflerin dağılımının ve fibroblastların yoğun şekliyle kontrol grubuna benzerlik gösterdiği dikkati çekti. Bununla birlikte VEGF ekspresyonu incelendiğinde irisin+flep grubu ve deney grubuna göre bu gruptaki immunreaktivitenin oldukça artmış olduğu tespit edildi. Hem küçük çaptaki kapillerde hem de daha büyük çapa sahip damarlarda damar lümenini döşeyen endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonunun güçlü pozitif varlığı izlendi (Şekil 48).



Şekil 48. Diyabet+İrisin uygulanan grupta VEGF immunoreaktivitesi. Bu gruptaki sıçanlardan alınan deri dokusuna ait kesitte küçük ve büyük çaplı damar duvarlarında (KD) çok güçlü VEGF ekspresyonu izlenmektedir. Kollajen lifler (Kol), nispeten normal dağılımda izlenmektedir. Fibroblastlar (F) normal yapısında izlenmektedir. **Bar= 50 µm**

Grupların VEGF boyanma yoğunlukları karşılaştırıldığında İrisin verilen gruplarda VEGF ekspresyonunda artış saptandı (Tablo 12).

Tablo.12 Dermiste VEGF immunreaktivitesinin semikantitatif değerlendirmesi

İmmunohistokimyasal Boyanma Yoğunluğu			
Kontrol Grubu	İrisin Grubu	Diyabet Grubu	Diyabet İrisin Grubu
++	++++	++++	+++

5. TARTIŞMA

Flep cerrahisi plastik cerrahinin temelini oluşturmaktadır. Rekonstrüksiyon alanında başarı sağlamak için günümüz teknolojisi kullanılmakta ve ileri cerrahi teknikler geliştirilmektedir. Flep beslenmesi plastik cerrahi alanında en çok çalışılan konulardandır. Flebin defekt alana adaptasyonu için perfüzyonu, yani dolaşımının iyi olması gerekir.

Fleplerin içerdikleri yapılara göre damar yapıları ve özellikleri değişebilir. Cerrahi teknikler ilerledikçe farklı dokular içeren flepler geliştirilmiş, daha karmaşık flepler tanımlanmıştır. Bu nedenle flep cerrahisinin tarihsel gelişmelerine bakıldığında basitten karmaşığa doğru sürekli değiştirilerek güncellendiği görülmektedir. Tarihte ilk defa flepler milattan önce (M.Ö.) 1000-800'lü yıllar arasında Hindistan'da kullanılmış olup, M.Ö. 600'lü yıllarda Susruta Samhita tarafından tanımlanan alın flebiyle burun rekonstrüksiyonu ile ilk defa kayıtlara flep terimi geçmiştir^{18,19}. Gaspere Tagliacozzi tarafından pediküllü kol flebi 1597'de uygulamasından itibaren birçok flep tekniği geliştirilerek günümüzde cilt perforatörü üzerinden serbest flepler ve lenfatik anastomozlar ile lenf nodu transferini kapsayan ileri süpermikrocerrahi tekniklerine gelinmiştir^{22,32-34}.

Flep takibinde makrosirkülasyon için flebin renk ve sıcaklığına bakılabilir, serbest flep veya pediküllü flepte el doppleri ile arteriyel ve venöz akım dinlenebilir. Makrosirkülasyonda bozulma saptanması durumunda serbest flep ise anastomoz yenilenmesi gerekebilir. Flebin mikrosirkülasyon bozukluğunda venöz yetmezlik oluşur. Doppler veya doku oksijenasyonu takipte kullanılabilir. Flepte vasküler yetmezlik durumunda sülük tedavisi, vazodilatör ajanlar, vasküler viskozitenin azaltılması ve hiperbarik oksijen uygulanabilir. Özellikle serbest fleplerde antikoagülan ve antiagregan ilaçlar kullanılabilir^{63,64}.

Tekniğe bağlı ve hastaya bağlı çeşitli nedenlerle flep kayıpları görülmektedir. Flep kaybında nedenler intrinsik ve ekstrinsik olarak sınıflandırılabilir. İntrinsik nedenler flebin perfüzyonundaki yetersizliktir. Ekstrinsik nedenler ise sistemik (enfeksiyon, diyabet, ateroskleroz, malnutrisyon, kemoterapi, immün yetmezlik, sigara maruziyeti, otoimmün hastalıklar) ve lokal (kompresyon, pediküle bası, anastomozda trombüs, pedikülün katlanması, radyoterapi öyküsü, ileri seviyede skarlanma) faktörlerden oluşur

^{1,57}. Deneysel ve klinik pek çok çalışmada bu intrinsik ve ekstrinsik faktörlerin önüne geçilmesi amaçlanmaktadır. Flep kayıplarında önemli bir faktör de iskemi ve iskemi reperfüzyon hasarıdır. Serbest oksijen radikallerinin üretimi ile oksidatif stres nedeniyle flep nekrozu görülür¹⁶¹. Özellikle pediküllü flepler olmak üzere tüm fleplerde cerrahi sırasında iskemi ve sonraki dönemde iskemi reperfüzyon hasarı oluşur^{8,118}.

Flep kaybına yönelik yapılan alan klinik çalışmalarda farklı sonuçlar bulunsa da serbest fleplerin kaybı %5-10 arası görülmekteyken¹⁶²⁻¹⁶⁴, pediküllü fleplerde bu oran %20 seviyelerinde bulunmuştur^{165,166}. Flep yaşayabilirliği için hipertansif hastalarda tansiyon düzenlenmesi, diyabet varlığında kan şekeri regülasyonu, arteriyel yetmezlik durumunda gerekirse girişimsel yöntemler ile rekanalizasyon sağlanması, enfeksiyon varlığında uygun antibiyotik tedavi verilmesi ve debridmanların tamamlanması önemlidir^{1,65,66}.

Flep yaşayabilirliği için kullanılacak ideal farmakolojik ilaç özellikleri Rohrich ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır: klinikte ulaşılabilir olması, kolay uygulanması, güvenilir olması, sonuçlarının tutarlı olması, sadece post-operatif uygulanması, ucuz olması, bilinen etki mekanizmasının olması, biyoyararlanımının tanımlanmış olması ve flep nekrozunu tamamen engellemesi¹⁶⁷. Yapılan pek çok deneysel çalışmada flep yaşayabilirliğini artırmak için ideal farmakolojik ajan aranmıştır. Flep perfüzyonunu arttırmak için yapılan çalışmalarda vazodilatör ajanlar denenmiştir. Direkt vazodilatör ajan olan DMSO'nun Haller ve arkadaşlarının yaptığı sıçan cilt ada flebinde flep yaşayabilirliğini arttırdığı saptanmıştır¹⁶⁸. Rand-Luby ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mastektomi yapılan hastalarda DMSO'nun topikal kullanılarak flep iskemisini azalttığı görülmüştür¹⁶⁹.

Finseth ve Adelberhg'in yaptığı çalışmada vazodilatör izoksuprine, guanetidin, hidralazin ve fenoksibenzaminin cilt flep nekrozuna etkileri kıyaslanmıştır ve bu ilaçların kontrol grubuna göre flep nekrozunu azalttığı saptanmıştır⁷⁰. Sistemik deşarjın neden olduğu vazokonstriksiyonu önlemek için sempatolitikler denenmiştir.^{58,68,69} Pentoksifilin, heparin gibi kan viskozitesine etkili ilaçların cilt flep yaşayabilirliğine faydalı oldukları gösterilmiştir^{71,72}.

Bu çalışmada diyabetik sıçanlarda flep beslenmesine etkisini değerlendirmek için İrisin rekombinant proteini araştırılmıştır. İrisin hormonu 112 aminoasitten oluşan bir adipomyokindir. İnsanda ve farede egzersiz sırasında veya soğuk maruziyetinde iskelet

kasları tarafından sentezlenir ve beyaz yağ dokusunun kahverengi yağ dokusuna dönüşümüne neden olur^{10,11}. Egzersiz sırasında üretiminin artması nedeniyle egzersizin vücutta yaptığı olumlu etkilerde irisinin etkinliği anlaşılmış ve çalışmalara konu edilmiştir¹².

Diyabetin varlığında yara iyileşmesi bozulur ve flep beslenmesi etkilenir. Protein, lipid ve nükleik asit gibi moleküllerin amin gruplarına enzimatik olmayan bağlarla glikoz eklenmesine “glikasyon” denir. Ketoaminlerin üretimi sonrasında ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşturulur. Bu glikasyon ürünleri diyabetik kişilerde makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara neden olur¹¹⁴. AGE’ler çevresel enzimatik aktiviteyi değiştirir, serbest oksijen radikallerin üretimine yol açar. Sürekli hiperglisemi durumunda protein glikasyonu, kollajen, laminin ve ekstraselüler matriks proteinlerinin de glikasyonu görülür. Özellikle eşlik eden hiperlipidemi varlığında düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve Apolipoprotein B (ApoB) moleküllerinde glikasyon görülür. Vasküler yatakta endotel hasarı, yapısı bozulmuş plazma proteinlerinin ve LDL’nin endotelde birikimi ateroskleroz ile sonuçlanır^{5,87,94,114}. Diyabete bağlı vasküler bazal membranda kalınlaşma ve endotel bağımlı vazodilatasyonda bozulma olur⁵.

Neovaskülerizasyon hem insülin bağımlı hem de insülininden bağımsız diyabette bozulur¹⁷⁰. Diyabete bağlı vasküler düzeyde oksidatif stresin artması, endotel hücre fonksiyonlarında bozulma, vasküler dansitede iskemi varlığında azalma ve dolaylı olarak doku perfüzyonunda bozulmalar görülür^{113,116}. Mikro ve makrovasküler komplikasyonlara bağlı morbidite ve mortalite görülür^{5,116,121}. Flep sağkalımında ve adaptasyonunda etkili olan endotel progenitör hücre farklılaşması bozulur¹¹⁸.

Ateroskleroz, koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalıkları diyabetin makrovasküler komplikasyonlarını; ayak ülserleri, nöropati, retinopati, yara iyileşme bozuklukları ise mikrovasküler komplikasyonlarını oluştururlar^{112,113}.

Tanaka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre mikrovasküler progenitör hücrelerin dolaşıma katılması diyabet varlığında inhibe olur ve iskemi varlığında flep vaskülojenezinde azalma meydana gelir¹¹⁸. Khan ve arkadaşlarının yaptığı tip 1 diyabetli çocuk, genç ve genç erişkini içeren çalışmada cilt mikrovasküler fonksiyonları doppler flowmetre yardımı ile değerlendirmiş ve asetilkolin, sodyum nitroprusside verilen cevapta bozulma saptanmıştır. Mikrovasküler fonksiyondaki bozulma diyabetin ilk klinik semptomlarından çok daha önce başlamaktadır¹⁷¹. Diyabetik hastalarda flep cerrahi

başarısını arttırmak için glisemik regülasyonunun önemli olduğu bilinmektedir¹¹⁹. Antioksidan ajanlardan olan alfa tokoferol (E vitamini)¹¹⁹, resveratrol¹²⁰, oral antidiyabetik olan rosiglitazon¹²¹, antihiperlipidemik ilaç atorvastatin⁹, iskemik flebe etkinliği kanıtlanmış olan pentoksifilin¹²² ve mezenkimal kök hücre ¹²³ uygulanmasının diyabetik sıçanlarda random cilt fleplerinde endotel hücre fonksiyonlarını etkileyerek veya anti-inflamatuar ve antioksidan mekanizmalarla beslenmeyi artırdığı gösterilmiştir. Dolaylı etkilerinden ötürü otolog yağ kök hücre uygulamalarının¹²⁴, E vitamininin yara iyileşmesinde ve endotel fonksiyonunda diyabetin etkilerini azalttığı saptanmıştır ¹²⁵. Bizim çalışmamızda da İrisin'in diyabetik grupta flep perfüzyonu ve vaskülerizasyonunda literatüre benzer şekilde artış saptandı.

Dr. İ. Z. Cengiz'e ait tez çalışmasında karbonmonoksit salıcı molekül-3 (CORM-3) ve pentoksifilinin McFarlane flep beslenmesine etkinlikleri karşılaştırılmış ve CORM-3 ve pentoksifilinin hem nekroz oranlarında azalma hem de VEGF ekspresyonunda artış elde edilmiştir. Flep nekroz oranları ImageJ ile karşılaştırılarak deney kontrol grubunda 35,02±4,13, CORM-3 grubunda 18,51±2,83, pentoksifilin grubunda 19,90±2,50 olarak saptanmıştır¹⁷². Bizim çalışmamızda deney kontrol grubunda 9,91, iris grubunda 2,21, diyabet kontrol grubunda 33,68, diyabet iris grubunda 6,21 olarak saptandı. Bizim çalışmamızın bu çalışmadan farkı diğer çalışmada McFarlane fleplerinin kraniyal bazlı kullanılması ve flep boyutlarının 10x3 cm yerine 10x4 cm olarak eleve edilmesidir. Aynı çalışmanın VEGF ölçümlerinde CORM-3 grubu beş pozitif boyanma gösterirken pentoksifilin grubu üç pozitif boyanma, deney kontrol grubunda iki pozitif, kontrol grubunda tek pozitif boyanma görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise İrisin uygulanan gruplarda VEGF ekspresyonunun iris uygulanan gruplara göre (grup 2 grup 1'e göre, grup 4 grup 3'e göre) sayısal olarak daha fazla boyanma gösterdiği saptandı.

İrisin'in vazodilatör etkileri üzerine çalışmalar literatürde mevcuttur. Jiang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fare mezenterik artere endotel bağımlı ve endotel bağımsız mekanizmalarla vazorelaksasyon sağladığı görülmüştür¹⁷³. Dr. Demirel'in tez çalışmasında iletim tipi arterlerde İrisin organ banyosunda İrisin'in fonksiyonel vazodilatasyon sağladığı saptanmıştır¹³⁶. Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında İrisin'in aterosklerozun patolojik etkilerini azaltıcı olduğu ve ateroskleroza sebep olan hastalıklar için teröpatik amaçla kullanılabileceği belirtilmiştir¹³. Küçük ve arkadaşlarının uyguladığı farelerde alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon hasarı çalışmasında

intraperitoneal 0,5 µg/g İrisin uygulamasının caspase-3, caspase-8, inflamasyon belirteçleri, total antioksidan statüsü (TAS) ve total oksidan statüsü (TOS) seviyelerini anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir¹⁷⁴.

Deneysel çalışmalarda İrisin çok farklı dozlarda kullanılmıştır. Asadi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada İrisin'in fare serebral iskemi hasarına koruyuculuğu 7,5 µg/kg iskemi sonrası tek doz uygulanarak saptanmıştır¹⁷⁵. Periferik nöropati çalışmasında intratekal olarak 1 µg/kg uygulanmış ve tek doz uygulamanın ağrı eşiğini etkilediği bulunmuştur¹⁷⁶. Duan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1 mg/kg İrisin diyabetik farelere üç hafta boyunca günlük intraperitoneal uygulanmış ve glikoz seviyesini düşürdüğü saptanmıştır¹⁷⁷. Zhu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise diyabetik farelerde sekiz hafta boyunca günlük 500 µg/kg intraperitoneal irisin uygulamasının endotelial progenitor hücre sayısında ve fonksiyonlarında iyileşme sağladığı bulunmuştur¹⁷⁸. Deneysel çalışmalar için İrisin'in optimal doz aralığı farelerde 500 µg/kg ve sıçanlarda 1-2 µg/kg olarak önerilmiş olsa da yapılan çalışmaların azlığı nedeniyle çalışmanın kendi parametrelerine göre İrisin dozunun ayarlanması Alzoughool ve arkadaşları tarafından önerilmiştir¹⁷⁹.

İrisin'in flep beslenmesine etkisi iki çalışmada araştırılmıştır. Zhao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 48 sıçanda sırt cilt perforatör flebinde iskemi reperfüzyona İrisin'in etkinliği araştırılmıştır. Sıçan kuyruk veninden üç gün boyunca 2 ng/g uygulanarak sıçan cilt flebinde yedinci günün sonunda flep yaşayabilirliğinde, revaskülerizasyonda ve ErG ekspresyonuna bakılmıştır¹⁸⁰.

Wang ve arkadaşları ise sıçan sırt cilt flebinde iki gün önce, flep cerrahisinden iki saat önce ve flep sonrası ikinci günde toplamda üç doz İrisin'i intraperitoneal uygulayarak flep anjiyogenezinde ve VEGF ekspresyonu değerlendirilmiştir. Çalışmada 40 ng/kg dozun flep başarısında anlamlı fark sağlamada yeterli olduğu bulunmuştur¹⁶. Biz de çalışmamızda 40 ng/kg İrisin'i intraperitoneal olarak üç gün kullandık. Çalışmamızda bu iki flep çalışmasından farklı olarak sıçanlarda McFarlane sırt flepleri kullanıldı ve İrisin'in antidiyabetik özellikleri olması ve diyabetik sıçanlarda flep beslenmesinde çalışılmamış olması nedeniyle çalışma gruplarında diyabetik gruplara da yer verildi.

Literatürü incelediğimizde cilt flep beslenmesi için en sık kullanılan deney hayvanı sıçanlardır. Yine sıçan cilt flepleri arasından en çok çalışılan ve standardize edilen 1965'te McFarlane tarafından tanımlanmış sırt flebi çalışmada kullanılmıştır¹⁵⁰. Fleplerde

aynı cilt perforatörlerini dahil etmek amacıyla aynı anatomik sınırlar (skapular kemik medial sınırı ve iskial kemik medial sınırı) kullanılmıştır. Üstün ve arkadaşlarının McFarlane flep standardizasyonu için yaptıkları taramada fleplerin 9x3 cm veya 6x2 cm boyutlarında kullanılması, post operatif yedi gün takip edilmesi, kaudal bazlı modifikasyon kullanılması, flebin tüp şekli verilmesi ve yaşayan flep alanının preoperatif flep alanına bölünmesi önerilerinde bulunmuşlardır¹⁵¹. Bizim çalışmamızda flepte modifikasyonlar yapmak yerine standart McFarlane flebi kullanılmış ve flep alanındaki değişim post operatif yedi gün takip edilmiştir. Yapılan çalışma sonuçlarında biyolojik farklılıklar olmaması için ırk, yaş, cinsiyet aynı tutularak 250-300 gr ağırlığında Wistar Albino erkek sıçanlar çalışmaya dahil edilmiştir.

Sıçanlarda deneysel diyabet modeli oluşturmada çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Bunların arasında en çok kullanılan model *Streptomyces achromogenes*'ten elde edilen diyabetojenik etkileri olan Streptozotosin enjeksiyonudur^{153,154,181}. Streptozotosin-nikotinamid uygulaması ve yağdan zengin diyet-STZ sıçan modeli de diyabet oluşturmak için diğer metotlar arasındadır¹⁵⁴. Diyabetik sıçan cilt fleplerinde İşken ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada diyabetin cilt flebi beslenmesini bozduğu, bu etkinin dördüncü haftadan itibaren görülebildiği ve sekizinci haftada çok daha fazla olduğu, ortalama yaşayan flep alanının dördüncü ve sekizinci hafta diyabetik sıçanlarda anlamlı olarak bozulduğu ve süreye bağlı bozulmanın arttığı, flep nekroz oranlarının kan şekeri seviyesiyle korele olmadığı belirtilmiştir⁷.

Terzioğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada diyabetik sıçanlarda kas fleplerindeki endotel hasarı ve fragmentasyonun diyabetin süresi uzadıkça arttığı belirtilmiştir. STZ uygulaması sırasında dozun yetersiz kalmasının diyabet oluşturmada yetersiz kalabileceğini, STZ doz aşımında ise hepatik ve renal toksisiteyle birlikte ağır hipoglisemi görülebileceği belirtilmiştir¹⁸². Biz de çalışmamızda diyabetin uzun dönem etkilerinin görülmesi için çalışma süresini sekiz hafta olarak belirledik. STZ enjeksiyonunu 65mg/kg intraperitoneal uyguladık ancak ilk uygulanan sıçanlarda hiperglisemi, poliüri ve polidipsi gibi diyabetik semptomlar görülmemesi nedeniyle bu sıçanları çalışmaya dahil etmedik. STZ uygulamasından hemen önce ilacın hazırlanması ve ilacın enjeksiyonunun beklenmeden, yavaş enjekte edilerek yapılması önerilmektedir. Bu sıçanlarda diyabet oluşmamasını enjeksiyon sırasında ilaç etkinliğinin azalması ve bu nedenle ilacın etkisiz kaldığını düşünmekteyiz. Aynı şekilde STZ uygulama sonrası

görülen sıçan kaybının hızlı enjeksiyon veya doz fazlalığına bağlı toksisite veya derin hipoglisemi olabileceği yorumunda bulunabiliriz.

5.1. İrisin'in İnflamasyona Etkisi

Flep cerrahisi sonrasında iyileşme ve adaptasyon sürecinde inflamasyon basamakları görülmektedir. İnflamatuar ve oksidatif reaksiyonların flep mikrosirkülasyonunu engellediği ve flepte kayıplara neden olduğu yapılan çalışmalarla bilinmektedir^{2,44,57}. İrisin'in hem plazma seviyelerindeki ölçümlerine dayalı hem de dışardan rekombinant olarak uygulandığı çalışmalarda anti-inflamatuar özellikleri saptanmıştır. Egzersiz sonrası anti-inflamatuar sitokinlerin yükseldiği, proinflamatuar sitokinlerin dolaşımında azaldığı saptanmıştır^{140,141}.

Flori ve arkadaşlarının insanlarda serum İrisin seviyesinin değerlendirildiği çalışmasında aerobik egzersiz sonrasında, obez hastalarda fiziksel aktivite sonrasında, koşu bandı egzersizi sonrasında İrisin seviyelerinde artış saptanmıştır¹²⁸. Flouris ve arkadaşlarının yaptığı meta-analizde İrisin üretiminde egzersiz ve soğukun sinerjistik etkinliği olduğu belirtilmiştir¹³⁴.

Waluga ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada alkolik siroz hastalarında serum irisin seviyelerinde azalma görülmüş ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalarında inflamasyon miktarıyla plazma irisin seviyeleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur¹⁸³. Apolipoprotein E (Apo-E) eksik farelerde yapılan ateroskleroz çalışmasında irisin enjeksiyonlarının inflammatuar belirteçlerden olan makrofaj kemoatraktan protein 1 (MCP-1), intraselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adhezyon proteini 1 (VCAM-1)'in aterom plaklarında azaldığı saptanmıştır¹³.

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada okside LDL'ye maruz bırakılmış insan umblikal ven endotelinde eksternal irisin uygulamasının inflammatuar sitokinleri azalttığını ve bunun p38, MAPK ve NF-κB üzerinden etkilediği anlaşılmıştır^{13,15}. İrisin vasküler permeabilityyi MAPK ve integrin reseptörleri üzerinden azaltarak ödem ve inflamasyonu azaltır¹⁴². Düşük plazma irisin seviyelerinin metabolik sendromlu hastalarda, dislipidemi veya diyabet varlığında inflammatuar hastalıklara yatkınlığın sebebi olabileceği Slate-Romano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada belirtilmiştir¹⁸⁴.

Mazur-Bialy ve arkadaşlarının 2017'de yaptığı çalışmada lipopolisakkaritle stimüle makrofajlara yüksek konsantrasyonda İrisin uygulanmasının toll benzeri reseptör 4 (TLR-

4), MyD88 ve NF- κ B fosforilasyonunu azalttığı, bu sayede IL-1 β , TNF- α , IL-6, MCP-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığı anlaşılmıştır¹⁸⁵.

Huangfu ve arkadaşlarının çalışmasında ülseratif kolitli farelerde intraperitoneal İrisin enjeksiyonunun gut mikrobiyotasını değiştirerek makroskobik inflamasyon skorunda, histolojik skorlamada, CD 64 pozitifliğinde ve inflamatuvar sitokinlerde anlamlı farklılık sağladığı gösterilmiştir¹⁸⁶.

Yifan Ren ve arkadaşlarının çalışmasında akut pankreatit hastalarında düşük serum irisin seviyesinin kötü prognozla ilişkili olduğunu, deneysel akut pankreatitte eksojen İrisin uygulamasının mitokondriyal disfonksiyonu düzelttiği ve akut pankreatitin etkilerini azalttığı gösterilmiştir¹⁸⁷.

Yifan Ren ve arkadaşlarının 2020’de yaptığı çalışmada ise kronik pankreatit hastalarında serum irisin seviyelerinin azaldığı, farede kronik pankreatit modelinde 250 μ g/kg intraperitoneal rekombinant İrisin’in pankreatik fibrozu ve pankreatik hasarı azalttığı, oksidatif stres ve endoplazmik retikulum stresini azalttığı ve bunu kindlin-2 üzerinden yaptığı bulunmuştur¹⁸⁸.

Wei ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sepsisteki hastalarda serum irisin seviyelerinin azaldığı tespit edilmiş ve eksojen İrisin uygulamasının farelerde ferroptozisi azalttığı, inflamatuvar cevabı inhibe ettiği ve reaktif oksijen ürünlerini azalttığı saptanmıştır¹⁸⁹.

Xinyi Li ve arkadaşlarının 2019’da yaptığı çalışmada sepsise bağlı akut akciğer hasarında İrisin’in pulmoner epitel bariyerini onardığı ve interselüler bağlantıları artırdığı gösterilmiştir. Proinflamatuvar olan lipopolisakkarid ile inflamasyon indüklenmiş sıçanlarda femoral kateterizasyon ile 10 μ g/g eksojen İrisin uygulanmış, lipopolisakkarid uygulanan grubuna göre pulmoner epitel bariyerin iyileştiği ve IL-1 β , TNF- α , MCP-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin azaldığı görülmüştür. TUNEL analizinde apoptozun İrisin uygulamasıyla azaldığı saptanmıştır¹⁹⁰.

Bu çalışmalara bakıldığında makrofaj infiltrasyonunda, lökosit adhezyonunda, inflamatuvar akut faz cevabında İrisin’e bağlı azalma görülmektedir. İnflamasyon açısından çalışmamızda fleplerden alınan patolojik preparatlara Hematoksin ve Eosin boyama yapılarak ışık mikroskobunda nötrofil miktarı, fibrozis, nükleuslarda silinme, ödem değerlendirildi ve irisin verilen gruplarda literatüre benzer şekilde inflamasyon belirteçlerinde azalma gözlemlendi. Literatürden farklı olarak çalışmamızda diyabetik

VEGF ekspresyon miktarı diyabet kontrol grubunda en az, diyabetik olmayan kontrol grubunda orta, şok dalgası verilen gruplarda verilme sıklığına göre artan miktarlarda gözlenmiştir¹⁹⁷.

Jia Y. ve arkadaşlarının çalışmasında diyabetik sıçan cilt flebinde atorvastatinin etkisi araştırılmış, atorvastatinin diyabetik sıçanda neovaskülerizasyonu artırarak flep beslenmesini iyileştirdiği görülmüştür. CD31 ekspresyon miktarları diyabetik olmayan grupta en fazla, statin verilen grupta orta ve diyabet kontrol grubunda en az olduğu saptanmıştır⁹.

Biz de çalışmamızda flepteki neovaskülerizasyonu ve anjiyogenezi değerlendirmek üzere VEGF ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak değerlendirdik. İrisin grubunda deney kontrol grubuna göre, diyabetik irisin grubunda diyabet kontrol grubuna göre VEGF boyanma miktarı literatüre benzer şekilde artmıştır. Diyabet grubunda kontrol grubuna göre VEGF boyanma miktarının azalması, diyabete bağlı neovaskülerizasyon ve anjiyogeneizde bozulmayı göstermektedir.

5.3.İrisin'in Anti-iskemik Etkisi

İskemi mikroskopik boyutta hücrenin ve makroskopik boyutta dokunun perfüzyonunda yetersizliğine bağlı yeterli oksijenasyonun sağlanamaması ve hücrel metabolik ürünlerin uzaklaştırılamamasıdır¹⁶¹. Reperfüzyon ise iskemik dokunun perfüzyonunun tekrar sağlanmasıdır. İskemiye takip eden reperfüzyon sonrasında paradoksal olarak inflamatuvar yanıt gerçekleşir ve reaktif oksijen radikalleri oluşarak hücrel ve dokuda hasara neden olur¹⁶¹. İskemi-reperfüzyon hasarında reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuna bağlı endotel hücre disfonksiyonu görülür^{113,199-201}.

Hao Wang ve arkadaşlarının çalışmasında rekombinant irisin ile ön koşullandırma yapılan farelerde kardiyak iskemik ve reperfüzyon hasarına karşı kardiyo-protektif olduğu ve mitokondriyal fonksiyonlar üzerinden ventrikül fonksiyonlarında iyileşme sağladığı belirlenmiştir²⁰².

Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kuyruk veninden irisin uygulamasının farelerde serebral iskemik hasarı azalttığı ve egzersizin nöroprotektif etkilerini artırdığı belirtilmiştir²⁰³. Aynı çalışmada plazma irisin seviyesinin beyindeki enfarkt alanı, plazma TNF- α seviyesi, plazma IL-6 seviyesi ile negatif korele olduğu saptanmıştır²⁰³.

Juan Du ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farelerde intestinal iskemi-reperfüzyonu ve hücrel hipoksi-reoksijenasyonuna irisinin etkisi bakılmıştır. İrisin ile ön koşullandırmanın hem iskemi-reperfüzyon hasarını hem hipoksi-reoksijenasyon hasarını azalttığı saptanmıştır. İrisinin intestinal TNF- α , IL-1 β , ve IL-6 seviyelerini azalttığı, malondialdehit, myeloperoksidaz seviyelerini azaltarak oksidatif stresi azalttığı, intestinal caspase-3 ve bax ekspresyonunu azalttığı ve bcl-2 ekspresyonunu artırarak apoptozu azalttığı belirtilmiştir²⁰⁴.

Jianbin Bi ve arkadaşlarının çalışmasında intestinal iskemi-reperfüzyon hasarında epitelyal bariyer fonksiyonunun korunmasında irisinin etkinliği araştırılmıştır. İntestinal iskemi reperfüzyon hasarı sırasında serum ve gut irisin seviyelerinde azalma saptanmış, ekzojen irisin uygulamasının oksidatif stresi azalttığı, kalsiyum akışını azaltarak endoplazmik retikulum stresini düşürdüğü anlaşılmıştır²⁰⁵. Bu çalışmada irisinin bu etkisinin integrin reseptörü üzerinden AMPK yolağı ile sağladığı, bunun sonucunda da enterosit apoptozunu engellediği bulunmuştur²⁰⁵.

Jia Zhang ve arkadaşlarının yayınladığı deneysel çalışmada hepatosteatozda iskemi-reperfüzyon hasarında irisinin etkileri araştırılmıştır. Yüksek yağlı diyetle beslenen fareler onikinci haftada hepatik arter/portal ven parsiyel oklüzyonu sağlanarak 24 saatlik iskemi oluşturulduktan sonra reperfüzyon sağlanmış. 250 μ g/kg intraperitoneal irisin enjeksiyonunun karaciğer hasarını ve oksidatif stresi azalttığı, mitokondriyal fonksiyonu artırdığı ve bu etkisini kindlin-2 üzerinden sağladığı saptanmıştır²⁰⁶.

Yuxue Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada iskemi-reperfüzyona bağlı renal tübüler hasara cevap olarak renal tübüler hücrelerde FNDC5/irisin ekspresyonunda artış ve buna bağlı olarak irisinin tübüler hasarda koruyucu etkinliği tespit edilmiş, bunun p53 aktivasyonunu baskılayarak sağladığı belirtilmiştir. Çalışmada renal tübüler hücrelere rekombinant İrisin uygulamasının hücre hasarını azaltarak apoptotik hücre sayısını düşürdüğü saptanmıştır²⁰⁷.

Çalışmamızın kısıtlılıkları nedeniyle biyokimyasal veya histopatolojik olarak iskemik belirteçler değerlendirilememiştir. İrisin uygulamasının flep beslenmesini artırmasında, literatürden yola çıkarak, anti-iskemik özellikleri sayesinde antioksidan ve mitokondriyal disfonksiyonu düzenleyici etkilerinin dolaylı olarak rol oynadığı yorumu yapılabilir.

5.4.İrisin'in Anti-apoptotik Etkisi

Apoptoz hem iskemi varlığında yara iyileşmesinde ve sinir gibi rejenerasyon özelliği olmayan hücrelerde hücre ölümünde, hem de tümöral oluşumlarda neoplastik hücre ölümünde görülen inflamatuvar bir süreçtir. Özellikle serebral iskemide İrisin'in nöroprotektif etkileri üzerine pek çok çalışma bulunmaktadır. Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada intrakraniyal hemoraji sonrası intranazal İrisin uygulamasının inflamasyonu baskıladığı, nöronal apoptotik hücre ölümünü ve inflamasyonu azalttığı saptanmıştır²⁰⁸.

Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hiperglisemiye bağlı pankreatik beta hücre proliferasyonu ve apoptozu araştırılmış, 100 ng/mL İrisin'in pankreatik hücre proliferasyonunu ERK ve p38 MAPK yolağı üzerinden artırdığı, hiperglisemiye bağlı apoptotik beta hücre ölümünü kaspaz, Bad, Bax, Bcl-2, Bcl-xl üzerinden baskıladığı görülmüştür²⁰⁹. Aynı çalışmada tip 2 diyabetik sıçanlarda İrisin'in kan glikoz seviyesini azalttığı, vücut kitle indeksini azalttığı, serum insülin seviyesini artırdığı saptanmıştır²⁰⁹.

Bizim çalışmamızda İrisin uygulanan sıçanlarda flep nekroz oranının daha az olması, VEGF ekspresyonunun hem diyabetik hem de diyabetik olmayan gruplarda daha fazla olmasında anti-apoptotik etkinliğinin katkısı olduğu söylenebilir.

5.6.İrisin'in Anti-diyabetik Etkisi

İrisin hormonunun diyabet varlığında plazma seviyesinin değerlendirildiği veya rekombinant protein olarak uygulandığı literatürde pek çok çalışma mevcuttur. Rana ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 79 T2DM hastasında plazma İrisin seviyesi bakılmış ve kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ($p<0.001$). Aynı çalışmada 200 ng/ml İrisin uygulanmış umbilikal vende E-selectin ve ICAM-1 ekspresyonunda anlamlı artış saptanmıştır²¹⁰.

Ömer Faruk Kalkan'ın tez çalışmasında diyabetik sıçanlarda düşük ve yüksek yoğunlukta egzersizin plazma İrisin seviyelerini, ağrı eşiklerini ve nöropatiyi değerlendirmiş, sekizinci haftada diyabetik sıçanlarda ağrı eşiğinin kontrol grubuna göre yükseldiği, düşük veya yüksek yoğunluklu egzersiz yapan gruplarda ise ağrı eşiğinin düştüğü saptanmıştır. Serum İrisin seviyelerine bakıldığında ise diyabet grubunda kontrol grubuna göre daha düşük ($p=0.032$), düşük şiddette ve yüksek şiddette egzersiz yapan gruplarda ise kontrol grubuna göre daha yüksek ($p=0.014$ ve $p=0.001$) saptanmıştır. Aynı çalışmada farklı dozlarda ekzojen İrisin uygulamasının (1, 10, 20µg/kg) diyabetik sıçan

gruplarında ağrı eşiğini bazale çekerken diyabetik olmayan gruplarda ağrı eşiğine etkisi görülmemiştir²¹¹.

Song ve arkadaşlarının yaptığı meta-analizde T2DM hastalarında yaş, etnik grup, kan grubu, ELISA kitinden bağımsız olarak kontrol gruplarına göre serum İrisin seviyeleri düşük bulunmuştur²¹².

Bonfante ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum İrisin seviyelerine göre obez orta yaşlı erkek hastaları gruplandırılmış ve insülin direnci, insülin hassasiyeti, trigliserit seviyesi, lipopolisakkarit seviyesi, boyun çevresi ölçümü, ağırlık ve serbest yağ kitlesi ölçülmüştür. İrisin seviyelerine göre insülin hassasiyeti, insülin seviyesi ve trigliserit seviyelerinde iyileşme, insülin direncinde düşme, boyun çevresi ölçümlerinde düşüklük görülmüştür. Hastaların T2DM geliştirme riski ile serum İrisin seviyeleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır ($p=0.04$)²¹³.

Minyan Li ve arkadaşlarının çalışmasında 178 polikistik over sendromlu ve 123 sağlıklı kadın hasta çalışmaya dahil edilmiş ve 47 polikistik over sendromlu kadın rastgele seçilerek metformin tedavisi altı ay uygulanmış. Serum irisin seviyeleri hem polikistik over sendromlu hastalarda hem de obez (beden kitle indeksi $> 25 \text{ kg/m}^2$) hastalarda yüksek saptanmış ($p<0.01$). Plazma irisin seviyelerinin beden kitle indeksi, bel-kalça çevre oranı, total kolesterol, trigliserit, düşük dansite lipoprotein kolesterol, vücut yağ oranı, insülin direnci ve serbest androjen indeksi (testosteron/seks hormon bağlayıcı globulin) ile korele olduğu saptanmıştır. Metformin tedavisi verilen kadınlarda ise serbest irisin seviyelerinde anlamlı düşüş görülmüştür²¹⁴. Bu çalışmadaki irisin yüksekliğini, insülin direncine cevap olarak irisin üretilmesine ve metformin tedavisi sonrası insülin direncinin düşmesi ve glikoz toleransının görece düzelmesine bağlı irisinin tekrar azalmasına bağlı olduğu yorumu yapılabilir.

Behera ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada T2DM farelerde düşük serum İrisin seviyelerinin diyabetik kemik yıkımıyla ilişkilendirilmiş, egzersiz veya rekombinant İrisin uygulamasının plazma glikoz seviyelerinde glikoz intoleransında iyileşme sağladığı, diyabete bağlı osteoporozu azalttığı belirlenmiştir²¹⁵.

Duan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1 mg/kg İrisin intraperitoneal enjeksiyonunun STZ ile indüklenmiş diyabetik fare modelinde serum glikoz seviyelerini ve günlük yemek ve sıvı alımını anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir. Oral glikoz toleransında iyileşme ve serum İrisin seviyesinde artış saptanmıştır¹⁷⁷. Aynı çalışmada

İrisin'in oral uygulamasının da serum glikoz seviyelerinde iyileşme sağladığı belirtilmiştir²¹⁶.

Abdi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 18 sıçanda STZ ve nikotinamid ile diyabet indüklendikten sonra egzersiz grubundaki sıçanlara sekiz hafta boyunca egzersiz yaptırılmıştır. Egzersiz yapan grupta kontrol gruba göre anlamlı olarak FNDC5 gen ekspresyonu artmış ve insülin seviyeleri, insülin hassasiyeti ve serum glikoz seviyesinde anlamlı iyileşme gözlenmiştir²¹⁷.

Çalışmamızda İrisin uygulanan sıçanlarda kilo alma oran ortalaması deney kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır ($p>0.05$). Diyabetik grupta ise kilo kayıp oran ortalaması irisin grubunda daha düşük ölçülmüştür ($p>0.05$). İstatistiksel anlamlı fark saptanmasa da gruplar arası sayısal değerlerdeki farklılara bakıldığında İrisin uygulamasının diyabetik olmayan grupta kilo alımını sınırlandırdığı ve sıçanların mevcut ağırlıklarını görece koruduğu, diyabetik grupta ise kilo kaybını sınırlandırarak sıçanların deney başlangıç gramlarına görece yakın kaldıkları söylenebilir. Çalışmanın bu sonuçları literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda kuyruk veni glikoz seviyeleri ölçümlerinde gruplar arası İrisin uygulamasının anlamlı fark yaratmadığı saptanmıştır. Bunun nedeninin literatürdeki çalışmalarda egzersizin genellikle sekiz hafta uygulanması veya eksojen uygulanan İrisin çok yüksek dozlarda çok daha uzun dönemlerde uygulanması olduğu söylenebilir. Çalışmamızda İrisin sadece 3 gün boyunca ve 40 ng/kg dozundan uygulanması nedeniyle anti-diyabetik etkinliğinin kuyruk veni glikoz seviyelerine yansımadığını, ancak histopatolojik olarak diyabetin mikrovasküler etkilerinde iyileşme sağlayarak anti-diyabetik özellik gösterdiğini düşünmekteyiz.

5.7.İrisin'in Flep Beslenmesine Etkisi

Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 80 adet sıçanda sırt cilt fleplerinde İrisin uygulamasının mikrovasküler dansiteyi ($30,2 \pm 2,2/\text{mm}^2$ irisin grubu, $21,5 \pm 3,2/\text{mm}^2$ salin grubu), VEGF ekspresyonunu (7050 ± 143 irisin grubu, 3512 ± 146 salin grubu) ve flep kan akımını anlamlı derecede artırdığını göstermişlerdir¹⁶.

Zhao ve arkadaşlarının yaptığı 48 sıçanda cilt flebi iskemi reperfüzyonu çalışmasında İrisin uygulamasının mikrovasküler dansiteyi anlamlı derecede artırdığını ($38,85 \pm 5,52/\text{mm}^2$ irisin, $31,17 \pm 5,03/\text{mm}^2$ salin grubu) belirtmişlerdir¹⁸⁰. Bizim

çalışmamız da bu çalışmalara benzer olarak mikrovasküler dansitede ve VEGF ekspresyonunda artış gözlemlendi. Flep beslemesinde neovaskülerizasyonun en önemli göstergelerinden olan mikrovasküler dansite ve VEGF ekspresyonuna bakarak İrisin'in hem diyabetik hem de diyabetik olmayan gruplarda flep cerrahi başarısını artırdığı görüldü.

Yaptığımız çalışmada diyabetik ve diyabetik olmayan gruplarla kıyaslandığında intraperitoneal İrisin uygulamasının flep beslenmesini sayısal olarak artırdığını görmekteyiz. Gözle görülür bulgu olarak ImageJ programında ve de flep perfüzyonunun değerlendirildiği SPY immünfloresan anjiyografide nekroz oranları İrisin uygulanan diyabetik grupta diyabet kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. SPY immünfloresan anjiyografi perfüzyon oranları objektif olmamakla birlikte işaretlenen bölgede milimetrik sapmalar ile değişebilmektedir. Ancak beslenmeyen dokuları göstermede yüksek sensitivite ve spesifisite göstererek nekrotik kısımları belirlemede önemli rol oynar^{158,159}.

ImageJ ile ölçülen nekroz oran ortalamalarına bakıldığında deney kontrol grubu irisin grubundan sayısal değer olarak daha fazlaydı ancak bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Fleplerin SPY görüntülemesinde proksimal, orta ve distal perfüzyon ölçümlerine bakıldığında deney kontrol grubu irisin grubuna göre perfüzyon oranları daha kötü olmasına rağmen istatistiksel olarak analiz edildiğinde literatürden farklı olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bu çalışmada irisin uygulamasının diyabetik olmayan grupta belirgin fark oluşturmaması kontrol grubundaki nekroz ve perfüzyon oranlarının nispeten iyi olmasına ve literatürdeki cilt flep çalışmalarındaki sıçan sayılarının çok olmasına bağlanabilir.

Deney kontrol, irisin ve diyabetik irisin grupları arasında istatistiksel olarak fark saptanmaması ise İrisin uygulamasının diyabetik sıçanda deney kontrol ve irisin gruplarıyla benzer sonuçlar vermesine bağlıdır. Bu üç grubun perfüzyon sonuçlarının diyabet kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklılık göstermesi ise İrisin'in diyabetin flep adaptasyonu ve perfüzyonundaki diyabete bağlı tahribatın engellediği söylenebilir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları arasında bütçe yetersizliği nedeniyle biyokimyasal ve histopatolojik olarak inflamasyon, apoptoz ve anjiyogenezin detaylı incelenememesi bulunmaktadır. Çalışma sırasında STZ'nin ilk başta doğru uygulanamayışı nedeniyle sıçan kayıpları ve diyabet modelinin ilk denemede oluşturulamaması çalışmada

karşılaşılan güçlükler arasındadır. Yine sıçanlara sedasyon altındayken kuyruk veninden indosiyanin yeşili uygulanması ve SPY anjiyografi ile değerlendirilmesi sırasında kuyruk veni kateterizasyonunun zorluğu veya işlemin doğası gereği ICG infüzyonu sonrası beklenmesi nedeniyle SPY perfüzyon haritalandırmasında optimal görüntülerin elde edilmesi çalışmanın zorlukları arasında yer almıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada diyabetik ve diyabetik olmayan gruplarla kıyaslandığında intraperitoneal İrisin uygulamasının flep beslenmesini artırdığını görmekteyiz. Gözle görülür bulgu olarak ImageJ programında ve de flep perfüzyonunun değerlendirildiği SPY immünfloresan anjiyografide nekroz oranları İrisin uygulanan diyabetik gruplarda anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Ancak deney kontrol grubunda irisın uygulaması sayısal olarak daha iyi perfüzyon oranları elde edilmiş olsa bile gruplar arası istatistiksel anlamlı fark elde edilememiştir. Bu etkinin İrisin'in anjiyogenetik, anti-inflamatuar, anti-apoptotik etkilerine bağlı olduğu ancak uygulama süresinin yetersizliği nedeniyle antidiyabetik etkisinden bağımsız olduğu söylenebilir.

Çalışmanın sonucunda gelecek çalışmalara yol göstericiliği açısından öneriler şöyle özetlenebilir:

1. Flep cerrahisi plastik cerrahinin temelini oluşturmakta olup günümüzde pek çok deneysel çalışmaya konu olmuştur ve olmaya devam edecektir.
2. İrisin son dönemde hem plazma seviyelerinin ölçüldüğü hem de ekzojen uygulanarak etkilerinin gözlemlendiği popülerleşen bir adipomiyokindir ve bundan sonraki dönemde de popülerliğini koruyacaktır.
3. Anjiyogenetik, anti-inflamatuar, anti-diyabetik ve anti-apoptotik özellikleri bulunan İrisin, özellikle plastik cerrahi alanında çok az çalışılmış olup bu çalışma bundan sonraki çalışmalar için referans özellik taşımaktadır.
4. Anjiyogenezin daha ayrıntılı incelenebileceği HIF-1 α , FGF, PDGF, Angiogenin gibi belirteçlerin bakıldığı, anti-inflamatuar sitokinlerden IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α seviyelerinin değerlendirildiği, apoptozun değerlendirilmesi adına bax, bad, bcl-2, caspase ekspresyonuna bakıldığı ve biyokimyasal olarak oksidasyon ve inflamasyon belirteçlerinden malondialdehit, süperoksit dismutazın ölçüldüğü çalışmalarla daha kantitatif veriler elde edilebilir.
5. Bu çalışmalar ışığında İrisin'in plastik cerrahi ve endokrinolojinin ortak problemlerinden diyabetik yaralar ve diyabetik hastalarda flep cerrahisinde kullanımının yaygınlaşacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Zenn M, Jones G. *Reconstructive Surgery: Anatomy, Technique, and Clinical Application*.
2. Knight KR. Review of postoperative pharmacological infusions in ischemic skin flaps. *Microsurgery*. 1994;15(10):675-684. doi:10.1002/MICR.1920151004
3. Blondeel PN. *Perforator Flaps : Anatomy, Technique, & Clinical Applications*. Quality Medical Pub; 2006.
4. Forbes JM, Fotheringham AK. Vascular complications in diabetes: old messages, new thoughts. *Diabetologia*. 2017;60(11):2129-2138. doi:10.1007/s00125-017-4360-x
5. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. 1996;19(3):257-267. doi:10.2337/DIACARE.19.3.257
6. Serdaroglu I, Islamoglu K, Ozgentas E. Effects of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus on Perforator-Based Flaps in Streptozotocin Diabetic Rats. *J Reconstr Microsurg*. 2005;21(1).
7. Isken T, Ozgentas HE, Gulkesen KH, Ciftcioglu A. A random-pattern skin-flap model in streptozotocin diabetic rats. *Ann Plast Surg*. 2006;57(3):323-329. doi:10.1097/01.SAP.0000221645.92906.5B
8. Cooley BC, Hanel DP, Lan M, Li X, Gould JS. The influence of diabetes on free flap transfer: II. The effect of ischemia on flap survival. *Ann Plast Surg*. 1992;29(1):65-69. doi:10.1097/0000637-199207000-00013
9. Jia YC, Xu J, Chen HH, Kang QL, Chai YM. The Effect of Atorvastatin on the Viability of Ischemic Skin Flaps in Diabetic Rats. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(2):425e-433e. doi:10.1097/PRS.0000000000002984
10. Norman D, Drott CJ, Carlsson PO, Espes D. Irisin—A Pancreatic Islet Hormone. *Biomedicines* 2022, Vol 10, Page 258. 2022;10(2):258. doi:10.3390/BIOMEDICINES10020258
11. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1 α -dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463. doi:10.1038/NATURE10777
12. Leustean L, Preda C, Teodoriu L, Mihalache L, Arhire L, Ungureanu MC. Role of Irisin in Endocrine and Metabolic Disorders—Possible New Therapeutic Agent? *Applied Sciences* 2021, Vol 11, Page 5579. 2021;11(12):5579. doi:10.3390/APP11125579

13. Zhang Y, Song H, Zhang Y, et al. Irisin Inhibits Atherosclerosis by Promoting Endothelial Proliferation Through microRNA126-5p. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(9). doi:10.1161/JAHA.116.004031
14. Deng J, Zhang N, Chen F, et al. Irisin ameliorates high glucose-induced cardiomyocytes injury via AMPK/mTOR signal pathway. *Cell Biol Int.* 2020;44(11):2315-2325. doi:10.1002/CBIN.11441
15. Zhang M, Xu Y, Jiang L. Irisin attenuates oxidized low-density lipoprotein impaired angiogenesis through AKT/mTOR/S6K1/Nrf2 pathway. *J Cell Physiol.* 2019;234(10):18951-18962. doi:https://doi.org/10.1002/jcp.28535
16. Wang Y, Zhang X, Zhou M, et al. Irisin pre-treatment promotes multi-territory perforator flap survival in rats: An experimental study. *Injury.* 2020;51(11). doi:10.1016/j.injury.2020.07.058
17. Chung K. *Grabb and Smith's Plastic Surgery.* 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins (LWW); 2019.
18. Wallace TD MB FRCS AF. History of plastic surgery 1 The early development of pedicle flaps2. *J R Soc Med.* 1978;71.
19. Champaneria MC, Workman AD, Gupta SC. Sushruta: father of plastic surgery. *Ann Plast Surg.* 2014;73(1):2-7. doi:10.1097/SAP.0B013E31827AE9F5
20. Fang F, Chung KC. An Evolutionary Perspective on the History of Flap Reconstruction in the Upper Extremity. *Hand Clin.* 2014;30(2):109-122. doi:10.1016/J.HCL.2013.12.001
21. Lascaratos J, Cohen M, Voros D. Plastic Surgery of the Face in Byzantium in the Fourth Century. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102(4):1274-1280. doi:10.1097/00006534-199809020-00061
22. Gurunluoglu R, Gurunluoglu A, Arton J. Great teachers of Gaspare Tagliacozzi (1546–1599). *J Med Biogr.* 2017;25(3):161-169. doi:10.1177/0967772015578575
23. Hamilton K, Wolfswinkel EM, Weathers WM, et al. The Delay Phenomenon: A Compilation of Knowledge across Specialties. *Craniofac Trauma Reconstr.* 2014;7(2):112. doi:10.1055/S-0034-1371355
24. Milton SH. The effects of “delay” on the survival of experimental pedicled skin flaps. *Br J Plast Surg.* 1969;22(3-4). doi:10.1016/S0007-1226(69)80113-X

25. Milton SH. Pedicled skin-flaps: The fallacy of the length: Width ratio. *British Journal of Surgery*. 1970;57(7). doi:10.1002/bjs.1800570705
26. McLean DH, Buncke HJ. Autotransplant of omentum to a large scalp defect, with microsurgical revascularization. *Plast Reconstr Surg*. 1972;49(3). doi:10.1097/00006534-197203000-00005
27. Daniel RK, Taylor GI. Distant transfer of an island flap by microvascular anastomoses: A clinical technique. *Plast Reconstr Surg*. 1973;52(2). doi:10.1097/00006534-197308000-00001
28. Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg*. 1987;40(2). doi:10.1016/0007-1226(87)90185-8
29. Hallock GG. Simultaneous transposition of anterior thigh muscle and fascia flaps: An introduction to the chimera flap principle. *Ann Plast Surg*. 1991;27(2). doi:10.1097/00000637-199108000-00006
30. Mardini S, Tsai FC, Wei FC. The thigh as a model for free style free flaps. *Clin Plast Surg*. 2003;30(3). doi:10.1016/S0094-1298(03)00047-6
31. Koshima I, Soeda S. Inferior epigastric artery skin flaps without rectus abdominis muscle. *Br J Plast Surg*. 1989;42(6). doi:10.1016/0007-1226(89)90075-1
32. Masuhara K, Tamai S, Fukunishi H, Obama K, Komatsu S. Experience with reanastomosis of the amputated thumb. *Seikei Geka*. 1967;18(4).
33. Koshima I, Inagawa K, Urushibara K, Moriguchi T. Supermicrosurgical lymphaticovenular anastomosis for the treatment of lymphedema in the upper extremities. *J Reconstr Microsurg*. 2000;16(6). doi:10.1055/s-2006-947150
34. Koshima I, Yamamoto T, Narushima M, Mihara M, Iida T. Perforator flaps and supermicrosurgery. *Clin Plast Surg*. 2010;37(4). doi:10.1016/j.cps.2010.06.009
35. Blondeel PN, van Landuyt KHI, Monstrey SJM, et al. The “Gent” consensus on perforator flap terminology: Preliminary definitions. *Plast Reconstr Surg*. 2003;112(5). doi:10.1097/01.PRS.0000081071.83805.B6
36. Wei FC, Mardini S. *Flaps and Reconstructive Surgery*.; 2009. doi:10.1016/B978-0-7216-0519-7.X0001-9
37. McGregor IA, Morgan G. Axial and random pattern flaps. *Br J Plast Surg*. 1973;26(3). doi:10.1016/0007-1226(73)90003-9

38. McCraw JB, Dibbell DG, Carraway JH. Clinical definition of independent myocutaneous vascular territories. *Plast Reconstr Surg*. 1977;60(3). doi:10.1097/00006534-197760030-00003
39. Ponten B. The fasciocutaneous flap: of the lower leg its use in soft tissue defects.
40. Saint-Cyr M, Schaverien M v., Rohrich RJ. Perforator flaps: History, controversies, physiology, anatomy, and use in reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2009;123(4). doi:10.1097/PRS.0B013E31819F2C6A
41. Nakajima H, Fujino T, Adachi S. A new concept of vascular supply to the skin and classification of skin flaps according to their vascularization. *Ann Plast Surg*. 1986;16(1):1-17. doi:10.1097/00000637-198601000-00001
42. Cormack GC, Lamberty BGH. A classification of fascia-cutaneous flaps according to their patterns of vascularisation. *British Journal of Plasm Surgery*. 1984;37.
43. Mathes SJ, Nahai F. Classification of the vascular anatomy of muscles: Experimental and clinical correlation. *Plast Reconstr Surg*. 1981;67(2). doi:10.1097/00006534-198167020-00007
44. Daniel RK, Kerrigan CL. Skin Flaps: An Anatomical and Hemodynamic Approach. *Clin Plast Surg*. 1979;6(2):181-200. doi:10.1016/S0094-1298(20)32064-2
45. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins Basic Pathology E-Book. *Elsevier Health Sciences*. Published online 2017:133-142.
46. Mescher AL, Junqueira LCU, Preceded by: Mescher AL. *Junqueira's Basic Histology : Text and Atlas*.
47. Guyton, Hall J, Hall ME. *Guyton and Hall: Textbook of Medical Physiology 14th Edition.*; 2021.
48. Braverman IM. The cutaneous microcirculation: Ultrastructure and microanatomical organization. *Microcirculation*. 1997;4(3):329-340. doi:10.3109/10739689709146797
49. Sloan GM, Reinisch JF. Flap Physiology and the Prediction of Flap Viability. *Hand Clin*. 1985;1(4):609-619. doi:10.1016/S0749-0712(21)01391-3
50. Lucas JB. The Physiology and Biomechanics of Skin Flaps. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2017;25(3):303-311. doi:10.1016/J.FSC.2017.03.003
51. Baker S. *Local Flaps in Facial Reconstruction*. 4th ed. Elsevier; 2021.

52. Heistad DD, Abboud FM. Factors that influence blood flow in skeletal muscle and skin. *Anesthesiology*. 1974;41(2):139-156. doi:10.1097/00000542-197408000-00005
53. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell*. 2001;104(4):503-516. doi:10.1016/S0092-8674(01)00238-0
54. Isner JM, Asahara T. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization. *Journal of Clinical Investigation*. 1999;103(9):1231. doi:10.1172/JCI6889
55. Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and Endothelial Dysfunction: A Clinical Perspective. *Endocr Rev*. 2001;22(1):36-52. doi:10.1210/EDRV.22.1.0417
56. Qi C, Song X, Wang H, Yan Y, Liu B. The role of exercise-induced myokines in promoting angiogenesis. *Front Physiol*. 2022;13:1787. doi:10.3389/FPHYS.2022.981577/BIBTEX
57. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg*. 1983;72(6):766-774. doi:10.1097/00006534-198312000-00003
58. Kerrigan CL, Daniel RK. Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg*. 1982;70(5):541-548. doi:10.1097/00006534-198211000-00001
59. Sloan GM, Reinisch JF. Flap Physiology and the Prediction of Flap Viability. *Hand Clin*. 1985;1(4):609-619. doi:10.1016/S0749-0712(21)01391-3
60. Hussain SH, Limthongkul B, Humphreys TR. The Biomechanical Properties of the Skin. *Dermatologic Surgery*. 2013;39(2):193-203. doi:10.1111/DSU.12095
61. Gundeslioglu AO, Selimoglu N, Toy H, Koç O. Neo-vascularisation of musculocutaneous and muscle flaps after division of the major vascular supply: An experimental study. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2013;66(7):978-986. doi:10.1016/J.BJPS.2013.03.043
62. Pang CY, Forrest CR, Morris SF. Pharmacological augmentation of skin flap viability: a hypothesis to mimic the surgical delay phenomenon or a wishful thought. *Ann Plast Surg*. 1989;22(4):293-306. doi:10.1097/00000637-198904000-00003
63. Chang EI, Mehrara BJ, Festekjian JH, da Lio AL, Crisera CA. Vascular complications and microvascular free flap salvage: The role of thrombolytic agents. *Microsurgery*. 2011;31(7):505-509. doi:10.1002/MICR.20905

64. Swartz JE, Aarts MCJ, Swart KMA, et al. The value of postoperative anticoagulants to improve flap survival in the free radial forearm flap: a systematic review and retrospective multicentre analysis. *Clinical Otolaryngology*. 2015;40(6):600-609. doi:10.1111/COA.12425
65. Wong CH, Wei FC. Microsurgical free flap in head and neck reconstruction. *Head Neck*. 2010;32(9):1236-1245. doi:10.1002/HED.21284
66. Boissiere F, Gandolfi S, Riot S, et al. Flap Venous Congestion and Salvage Techniques: A Systematic Literature Review. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2021;9(1):e3327. doi:10.1097/GOX.0000000000003327
67. Wexler MR, Kalisman M, Yeschua R, Neuman Z. The effect of phenoxybenzamine, phentolamine and 6-hydroxydopamine on skin flap survival in rats. *Journal of Surgical Research*. 1975;19(2):83-87. doi:10.1016/0022-4804(75)90111-0
68. Kennedy TJ, Pistone G, Miller SH. The effects of reserpine on microcirculatory flow in rat flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1979;63(1):101-110. doi:10.1097/00006534-197901000-00016
69. Hendel PM. On the effect of reserpine on microcirculatory flow in rat flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1980;65(5):696. doi:10.1097/00006534-198005000-00034
70. Finseth F, Adelberg MG. Prevention of skin flap necrosis by a course of treatment with vasodilator drugs. *Plast Reconstr Surg*. 1978;61(5):738-743. doi:10.1097/00006534-197805000-00013
71. Roth AG, Briggs PC, West Jones E, Heckler FR. Augmentation of skin flap survival by parenteral pentoxifylline. *Br J Plast Surg*. 1988;41(5):515-520. doi:10.1016/0007-1226(88)90010-0
72. Nieto CS, García MJS, García PB. A comparative study on the effect of various pharmacological agents on the survival of skin flaps in the rat. *Br J Plast Surg*. 1992;45(2):113-116. doi:10.1016/0007-1226(92)90169-X
73. WALLS CM, GREGORY CR, BECK LS, COOKE JP, GRIFFEY SM, KASS PH. Effects of growth factors and L-arginine on ischemic skin flaps in rats. *Vet Surg*. 1995;24(6):484-491. doi:10.1111/J.1532-950X.1995.TB01359.X
74. Banic A, Krejci V, Erni D, Wheatley AM, Sigurdsson GH. Effects of sodium nitroprusside and phenylephrine on blood flow in free musculocutaneous flaps during general anesthesia. *Anesthesiology*. 1999;90(1):147-155. doi:10.1097/00000542-199901000-00020

75. Hart K, Baur D, Hodam J, et al. Short-and Long-Term Effects of Sildenafil on Skin Flap Survival in Rats. Published online 2006. doi:10.1097/01.mlg.0000200792.67802.3b
76. Grambow E, Augustin VA, Strüder D, Kundt G, Klar E, Vollmar B. The effects of hydrogen sulfide on microvascular circulation in the axial pattern flap ear model in hairless mice. *Microvasc Res*. 2018;120:74-83. doi:10.1016/J.MVR.2018.06.006
77. Zhou K, Chen H, Lin J, et al. FGF21 augments autophagy in random-pattern skin flaps via AMPK signaling pathways and improves tissue survival. *Cell Death & Disease* 2019 10:12. 2019;10(12):1-16. doi:10.1038/s41419-019-2105-0
78. Hassan AM, Chappell AG, Boyd RM, et al. The Use of Botulinum Toxin to Prevent Anastomotic Thrombosis and Promote Flap Survival: A Bridge to Developing Clinical Studies. *Ann Plast Surg*. 2021;87(2):222-229. doi:10.1097/SAP.0000000000002666
79. TUNC S. MELATONİN VE N-ASETİLSİSTEİNİN SIÇANLARDAKİ MCFARLANE FLEP BESLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ. 2012.
80. Ibrahim AMS, Kim PS, Rabie AN, Lee BT, Lin SJ. Vasopressors and reconstructive flap perfusion: A review of the literature comparing the effects of various pharmacologic agents. *Ann Plast Surg*. 2014;73(2):245-248. doi:10.1097/SAP.0B013E31828D70B3
81. Knox LK, Stewart AG, Hayward PG, Morrison WA. Nitric oxide synthase inhibitors improve skin flap survival in the rat. *Microsurgery*. 1994;15(10):708-711. doi:10.1002/MICR.1920151008
82. Demir B, Engin MS, Keleş MK, Küçükler I, Yosma E. Comparison of the effects of different vasoactive and antiplatelet drugs on perforator flap viability. An experimental study. *Hand Surg Rehabil*. 2016;35(1):55-59. doi:10.1016/J.HANSUR.2015.08.001
83. Fang T, Lineaweaver WC, Chen MB, Kisner C, Zhang F. Effects of vascular endothelial growth factor on survival of surgical flaps: A review of experimental studies. *J Reconstr Microsurg*. 2014;30(1):1-14. doi:10.1055/S-0033-1345429/ID/JR120040-38
84. Nakatsuka T, Harii K, Asato H, et al. Analytic Review of 2372 Free Flap Transfers for Head and Neck Reconstruction Following Cancer Resection. *J Reconstr Microsurg*. 2003;19(06):363-368. doi:10.1055/S-2003-42630/ID/1A
85. Flint P, Haughey B, Lund V, et al. *Cummings Otolaryngology*.; 2020. Accessed December 25, 2021. <https://www.elsevier.com/books/cummings-otolaryngology/flint/978-0-323-61179-4>

86. Cole AS, Eastoe JE. General principles of metabolism. *Biochemistry and Oral Biology*. Published online January 1, 1988:183-190. doi:10.1016/B978-0-7236-1751-8.50021-1
87. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil P. *Harper's Illustrated Biochemistry*.
88. Adeva-Andany MM, González-Lucán M, Donapetry-García C, Fernández-Fernández C, Ameneiros-Rodríguez E. Glycogen metabolism in humans. *BBA Clin*. 2016;5:85-100. doi:10.1016/J.BBACLI.2016.02.001
89. Griffin BA. Lipid metabolism. *Surgery (Oxford)*. 2013;31(6):267-272. doi:10.1016/J.MPSUR.2013.04.006
90. Maughan R. Carbohydrate metabolism. *Surgery (Oxford)*. 2013;31(6):273-277. doi:10.1016/J.MPSUR.2013.04.008
91. Mul JD, Stanford KI, Hirshman MF, Goodyear LJ. Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism. In: ; 2015:17-37. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.07.020
92. Röder P v., Wu B, Liu Y, Han W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine* 2016 48:3. 2016;48(3):e219-e219. doi:10.1038/emm.2016.6
93. Baghban R, Roshangar L, Jahanban-Esfahlan R, et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. *Cell Communication and Signaling* 2020 18:1. 2020;18(1):1-19. doi:10.1186/S12964-020-0530-4
94. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001;44(2):129-146. doi:10.1007/s001250051591
95. Eisenbarth GS. Type I Diabetes Mellitus. <http://dx.doi.org/101056/NEJM198605223142106>. 2009;314(21):1360-1368. doi:10.1056/NEJM198605223142106
96. Henquin JC. Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes*. 2000;49(11):1751-1760. doi:10.2337/DIABETES.49.11.1751
97. Guo X, Li H, Xu H, et al. Glycolysis in the control of blood glucose homeostasis. *Acta Pharm Sin B*. 2012;2(4):358-367. doi:10.1016/J.APSB.2012.06.002
98. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, et al. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. <https://doi.org/101152/ajpendo19932653E380>. 1993;265(3 28-3). doi:10.1152/AJPENDO.1993.265.3.E380

99. Blanco A, Blanco G. Carbohydrate Metabolism. *Med Biochem*. Published online January 1, 2017;283-323. doi:10.1016/B978-0-12-803550-4.00014-8
100. Yang J. Enhanced Skeletal Muscle for Effective Glucose Homeostasis. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2014;121:133-163. doi:10.1016/B978-0-12-800101-1.00005-3
101. Petersen KF, Shulman GI. Etiology of Insulin Resistance. *Am J Med*. 2006;119(5):S10-S16. doi:10.1016/J.AMJMED.2006.01.009
102. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. *Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu*.; 2020. Accessed December 15, 2021. https://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf
103. Committee ADAPP. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Supplement_1):S17-S38. doi:10.2337/DC22-S002
104. Committee ADAPP. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Supplement_1):S125-S143. doi:10.2337/DC22-S009
105. Bohn B, Initiative for the D, Herbst A, et al. Impact of Physical Activity on Glycemic Control and Prevalence of Cardiovascular Risk Factors in Adults With Type 1 Diabetes: A Cross-sectional Multicenter Study of 18,028 Patients. *Diabetes Care*. 2015;38(8):1536-1543. doi:10.2337/DC15-0030
106. Committee ADAPP. 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes and Associated Comorbidities: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Supplement_1):S39-S45. doi:10.2337/DC22-S003
107. Committee ADAPP. 6. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Supplement_1):S83-S96. doi:10.2337/DC22-S006
108. Jankauskas SS, Kansakar U, Varzideh F, et al. Heart failure in diabetes. *Metabolism*. 2021;125. doi:10.1016/J.METABOL.2021.154910
109. Committee ADAPP. 10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Supplement_1):S144-S174. doi:10.2337/DC22-S010
110. Riddell MC, Gallen IW, Smart CE, et al. Exercise management in type 1 diabetes: a consensus statement. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(5). doi:10.1016/S2213-8587(17)30014-1

111. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, et al. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2016;39(11):2065-2079. doi:10.2337/DC16-1728
112. Fuchs D, Dupon PP, Schaap LA, Draijer R. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser Doppler with local thermal hyperemia: a systematic review with meta-analysis. *Cardiovasc Diabetol*. 2017;16:11. doi:10.1186/s12933-016-0487-1
113. Capla JM, Grogan RH, Callaghan MJ, et al. Diabetes impairs endothelial progenitor cell-mediated blood vessel formation in response to hypoxia. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119(1):59-70. doi:10.1097/01.PRS.0000244830.16906.3F
114. Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. *J Intern Med*. 2002;251(2):87-101. doi:10.1046/j.1365-2796.2002.00932.x
115. Moses AC, Buzney SM, Jialal I, et al. Characterization of the Receptors for Insulin and the Insulin-Like Growth Factors on Micro- and Macrovascular Tissues. *Endocrinology*. 1985;117(3):1222-1229. doi:10.1210/ENDO-117-3-1222
116. Torres MD, Canal JR, Pérez C. Oxidative stress in normal and diabetic rats. *Physiol Res*. 1999;48(3):203-208.
117. Jfrneskog G, Brismar K, Fagrell B. *Skin Capillary Circulation Severely Impaired in Toes of Patients with IDDM, with and without Late Diabetic Complications*. Vol 38.; 1995.
118. Tanaka R, Wada M, Kwon SM, et al. The effects of flap ischemia on normal and diabetic progenitor cell function. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121(6):1929-1942. doi:10.1097/PRS.0B013E3181715218
119. Emekli U, Tuncer S, Kabakas F, et al. The effect of short- versus long-term administration of alpha tocopherol on the survival of random flaps in experimental diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2004;18(5):249-257. doi:10.1016/J.JDIACOMP.2004.05.002
120. Ciloglu NS, Zeytin K, Aker F. The effects of resveratrol on flap survival in diabetic rats. <https://doi.org/10.3109/2000656X2013863777>. 2014;48(4):234-237. doi:10.3109/2000656X.2013.863777
121. Kaya B, Ergün H, Demirel M, et al. Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Sıçanlarda Flep Yaşayabilirliğine “Rosiglitazon”un Etkisinin Araştırılması Effects of Rosiglitazone on Flap Viability in Diabetic and Non-Diabetic Rats. doi:10.1501/Tipfak_000000821

122. Isken T, Serdaroglu I, Ozgentas E. The effects of the pentoxifylline on survival of the skin flaps in streptozotocin-diabetic rats. *Ann Plast Surg.* 2009;62(4):446-450. doi:10.1097/SAP.0B013E31817F01C7
123. Chehelcheraghi F, Chien S, Bayat M. Mesenchymal stem cells improve survival in ischemic diabetic random skin flap via increased angiogenesis and VEGF expression. *J Cell Biochem.* 2019;120(10):17491-17499. doi:10.1002/JCB.29013
124. Zografou A, Papadopoulos O, Tsigris C, et al. Autologous transplantation of adipose-derived stem cells enhances skin graft survival and wound healing in diabetic rats. *Ann Plast Surg.* 2013;71(2):225-232. doi:10.1097/SAP.0B013E31826AF01A
125. Skyrme-Jones RAP, O'Brien RC, Berry KL, Meredith IT. Vitamin E supplementation improves endothelial function in type I diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled study. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(1):94-102. doi:10.1016/S0735-1097(00)00720-8
126. Teufel A, Malik N, Mukhopadhyay M, Westphal H. Frcp1 and Frcp2, two novel fibronectin type III repeat containing genes. *Gene.* 2002;297(1-2):79-83. doi:10.1016/S0378-1119(02)00828-4
127. Lv J, Pan Y, Li X, et al. Study on the distribution and elimination of the new hormone irisin in vivo: new discoveries regarding irisin. *Horm Metab Res.* 2015;47(8):591-595. doi:10.1055/S-0035-1547261
128. Flori L, Testai L, Calderone V. The "irisin system": From biological roles to pharmacological and nutraceutical perspectives. *Life Sci.* 2021;267:118954. doi:10.1016/J.LFS.2020.118954
129. Sanchis-Gomar F, Alis R, Lippi G. Circulating irisin detection: Does it really work? *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 2015;26(7):335-336. doi:10.1016/J.TEM.2015.05.004
130. Cooke AB, Gomez YH, Daskalopoulou SS. 5 years later: irisin detection still an issue. *Eur J Endocrinol.* 2017;177(6):C1-C4. doi:10.1530/EJE-17-0572
131. Albrecht E, Schering L, Buck F, et al. Irisin: Still chasing shadows. *Mol Metab.* 2020;34:124-135. doi:10.1016/J.MOLMET.2020.01.016
132. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FND5 pathway. *Cell Metab.* 2013;18(5):649-659. doi:10.1016/J.CMET.2013.09.008
133. Bastu E, Zeybek U, Gurel Gurevin E, et al. Effects of Irisin and Exercise on Metabolic Parameters and Reproductive Hormone Levels in High-Fat Diet-Induced Obese Female Mice. *Reproductive Sciences.* 2018;25(2):281-291.

doi:10.1177/1933719117711264/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1933719117711264-FIG2.JPEG

134. Flouris AD, Dinas PC, Valente A, Andrade CMB, Kawashita NH, Sakellariou P. Exercise-induced effects on UCP1 expression in classical brown adipose tissue: a systematic review. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2017;31(2). doi:10.1515/HMBCI-2016-0048
135. Ho MY, Wang CY. Role of Irisin in Myocardial Infarction, Heart Failure, and Cardiac Hypertrophy. *Cells* 2021, Vol 10, Page 2103. 2021;10(8):2103. doi:10.3390/CELLS10082103
136. Sadettin Demirel. *İrisinin İletim Tipi Arterlerdeki Fonksiyonel Etkileri ve Olası Etki Mekanizmalarının İzole Organ Banyosu Modelinde Araştırılması*. 2021.
137. Zhang J, Valverde P, Zhu X, et al. Exercise-induced irisin in bone and systemic irisin administration reveal new regulatory mechanisms of bone metabolism. *Bone Research* 2017 5:1. 2017;5(1):1-14. doi:10.1038/boneres.2016.56
138. Colucci SC, Buccoliero C, Sanesi L, et al. Systemic Administration of Recombinant Irisin Accelerates Fracture Healing in Mice. *Int J Mol Sci*. 2021;22(19). doi:10.3390/IJMS221910863
139. Sandri M, Lin J, Handschin C, et al. PGC-1alpha protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(44):16260-16265. doi:10.1073/PNAS.0607795103
140. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Klarlund Pedersen B. Chemokines are elevated in plasma after strenuous exercise in human. *Eur J Appl Physiol*. 2001;84(3):244-245. doi:10.1007/S004210170012/METRICS
141. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285(2 48-2):433-437. doi:10.1152/AJPENDO.00074.2003/ASSET/IMAGES/LARGE/H10731370003.JPEG
142. Bi J, Zhang J, Ren Y, et al. Exercise hormone irisin mitigates endothelial barrier dysfunction and microvascular leakage-related diseases. *JCI Insight*. 2020;5(13). doi:10.1172/JCI.INSIGHT.136277
143. Lu J, Xiang G, Liu M, Mei W, Xiang L, Dong J. Irisin protects against endothelial injury and ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-Null diabetic mice. *Atherosclerosis*. 2015;243(2):438-448. doi:10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2015.10.020

144. Irisin improves endothelial function in type 2 diabetes through reducing oxidative/nitrative stresses. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;87:138-147. doi:10.1016/J.YJMCC.2015.07.015
145. Liu JJ, Wong MDS, Toy WC, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2013;27(4):365-369. doi:10.1016/J.JDIACOMP.2013.03.002
146. Du XL, Jiang WX, Lv ZT. Lower Circulating Irisin Level in Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hormone and Metabolic Research.* 2016;48(10):644-652. doi:10.1055/S-0042-108730/ID/R2016-03-0087-0026
147. Maak S, Norheim F, Drevon CA, Erickson HP. Progress and Challenges in the Biology of FND5 and Irisin. *Endocr Rev.* 2021;42(4). doi:10.1210/edrv/bnab003
148. Byun K, Lee S. The potential role of irisin in vascular function and atherosclerosis: A review. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19). doi:10.3390/ijms21197184
149. Bayramicli M. *Deneyisel Mikrocerrahi.*; 2005.
150. McFARLANE RM, DeYOUNG G, HENRY RA, McFarlane RM. THE DESIGN OF A PEDICLE FLAP IN THE RAT TO STUDY NECROSIS AND ITS PREVENTION. *Plast Reconstr Surg.* 1965;35(2):177-182. doi:10.1097/00006534-196502000-00007
151. Üstün GG, Öztürk S, Koçer U. Standardization of the Rat Dorsal Random Pattern (McFarlane) Flap Model and Evaluation of the Pharmacological Agents Aiming to Salvage Partial Flap Necrosis: A Systematic Review and a Meta-analysis. *Ann Plast Surg.* 2021;87(6):E145-E152. doi:10.1097/SAP.0000000000002919
152. Certel F. *Sıçan Deri Fleplerinde Kontraksiyon Sorunu: Alan Hesaplamaları Yönünden Karın ve Sırt Fleplerinin Karşılaştırılması.*
153. RAKIETEN N, RAKIETEN ML, NADKARNI MR. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer chemotherapy reports Part I.* 1963;29:91-98.
154. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc.* 2021;1(4):e78. doi:10.1002/CPZ1.78
155. <https://www.scbt.com/p/streptozotocin-u-9889-18883-66-4>. Accessed January 24, 2023.
<https://www.scbt.com/p/streptozotocin-u-9889-18883-66-4>

156. Liu DZ, Mathes DW, Zenn MR, Neligan PC. The application of indocyanine green fluorescence angiography in plastic surgery. *J Reconstr Microsurg.* 2011;27(6):355-363. doi:10.1055/S-0031-1281515
157. Wang D, Chen W. Indocyanine Green Angiography for Continuously Monitoring Blood Flow Changes and Predicting Perfusion of Deep Inferior Epigastric Perforator Flap in Rats. <https://doi.org/10.1080/0894193920191641253>. 2019;34(4):393-400. doi:10.1080/08941939.2019.1641253
158. Han T, Khavanin N, Wu J, et al. Indocyanine Green Angiography Predicts Tissue Necrosis More Accurately Than Thermal Imaging and Near-Infrared Spectroscopy in a Rat Perforator Flap Model. *Plast Reconstr Surg.* 2020;146(5):1044-1054. doi:10.1097/PRS.0000000000007278
159. Giunta RE, Holzbach T, Taskov C, et al. Prediction of flap necrosis with laser induced indocyanine green fluorescence in a rat model. *Br J Plast Surg.* 2005;58(5):695-701. doi:10.1016/J.BJPS.2005.02.018
160. Mücke T, Wolff KD, Wagenpfeil S, Hölzle F, Scholz M. Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126(5):1506-1514. doi:10.1097/PRS.0B013E3181F0215A
161. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: A review. *Microsurgery.* 1993;14(3):165-175. doi:10.1002/MICR.1920140307
162. Lese I, Biedermann R, Constantinescu M, Grobbelaar AO, Olariu R. Predicting risk factors that lead to free flap failure and vascular compromise: A single unit experience with 565 free tissue transfers. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* 2021;74(3):512-522. doi:10.1016/J.BJPS.2020.08.126
163. Kwok AC, Agarwal JP. An analysis of free flap failure using the ACS NSQIP database. Does flap site and flap type matter? *Microsurgery.* 2017;37(6):531-538. doi:10.1002/MICR.30121
164. Chen KH, Kuo SCH, Chien PC, Hsieh HY, Hsieh CH. Comparison of the surgical outcomes of free flap reconstruction for primary and recurrent head and neck cancers: a case-controlled propensity score-matched study of 1,791 free flap reconstructions. *Scientific Reports* 2021 11:1. 2021;11(1):1-6. doi:10.1038/s41598-021-82034-5
165. Li X, Cui J, Maharjan S, Lu L, Gong X. Reconstruction of the Foot and Ankle Using Pedicled or Free Flaps: Perioperative Flap Survival Analysis. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167827. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0167827

166. Katna R, Girkar F, Tarafdar D, et al. Pedicled Flap vs. Free Flap Reconstruction in Head and Neck Cancers: Clinical Outcome Analysis from a Single Surgical Team. *Indian J Surg Oncol*. 2021;12(3):472-476. doi:10.1007/S13193-021-01353-1
167. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg*. 1984;73(6):943-948. doi:10.1097/00006534-198406000-00016
168. Haller J, Trachy R, Cummings CW. Effect of dimethyl sulfoxide on island flap perfusion and survival in rats. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1987;113(8):859-863. doi:10.1001/ARCHOTOL.1987.01860080065018
169. Rand-Luby L, Pommier RF, Williams ST, Woltering EA, Small KA, Fletcher WS. Improved outcome of surgical flaps treated with topical dimethylsulfoxide. *Ann Surg*. 1996;224(4):583. doi:10.1097/0000658-199610000-00016
170. Martin A, Komada MR, Sane DC. Abnormal Angiogenesis in Diabetes Mellitus. 2003;(2):117-145. doi:10.1002/med.10024
171. Khan F, Elhadd TA, Greene SA, Belch JFF. Impaired skin microvascular function in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(2):215-220. doi:10.2337/DIACARE.23.2.215
172. Cengiz İZ. SIĞAN MCFARLANE CİLT FLEBİ MODELİNDE CARBON MONOXİDE RELEASİNG MOLECULE-3 (CORM-3) NÜN DOKU BESLENMESİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BU ETKİLERİN PENTOKSİFİLİNİN ETKİLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI. 2022.
173. Jiang M, Wan F, Wang F, Wu Q. Irisin relaxes mouse mesenteric arteries through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;468(4):832-836. doi:10.1016/J.BBRC.2015.11.040
174. Küçük A, Polat Y, Kılıçarslan A, et al. Irisin protects against hind limb ischemia reperfusion injury. *Drug Des Devel Ther*. 2021;15:361-368. doi:10.2147/DDDT.S279318
175. Asadi Y, Gorjipour F, Behrouzifar S, Vakili A. Irisin Peptide Protects Brain Against Ischemic Injury Through Reducing Apoptosis and Enhancing BDNF in a Rodent Model of Stroke. *Neurochem Res*. 2018;43(8):1549-1560. doi:10.1007/S11064-018-2569-9
176. Dameni S, Janzadeh A, Yousefifard M, Nasirinezhad F. The effect of intrathecal injection of irisin on pain threshold and expression rate of GABAB receptors in peripheral neuropathic pain model. *J Chem Neuroanat*. 2018;91:17-26. doi:10.1016/J.JCHEMNEU.2018.02.010

177. Duan H, Ma B, Ma X, et al. Anti-diabetic activity of recombinant irisin in STZ-induced insulin-deficient diabetic mice. *Int J Biol Macromol*. 2016;84:457-463. doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2015.12.049
178. Zhu G, Wang J, Song M, et al. Irisin Increased the Number and Improved the Function of Endothelial Progenitor Cells in Diabetes Mellitus Mice. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2016;68(1):67. doi:10.1097/FJC.0000000000000386
179. Alzoughool F, Al-Zghoul MB, Al-Nassan S, Alanagreh L, Mufleh D, Atoum M. The optimal therapeutic irisin dose intervention in animal model: A systematic review. *Vet World*. 2020;13(10):2191-2196. doi:10.14202/VETWORLD.2020.2191-2196
180. Zhao G, Zhang X, Xu P, Mi JY, Rui YJ. The protective effect of Irisin against ischemia-reperfusion injury after perforator flap grafting in rats. *Injury*. 2018;49(12):2147-2153. doi:10.1016/J.INJURY.2018.09.054
181. Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, Rossini AA, Greiner DL. Rat Models of Type 1 Diabetes: Genetics, Environment, and Autoimmunity. *ILAR J*. 2004;45(3):278-291. doi:10.1093/ILAR.45.3.278
182. Terzioglu A, Cigsar B, Tuncali D, Caydere M, Aslan G. A standard diabetic rat model for muscle flap studies. *Eur J Plast Surg*. 2006;28(6):389-392. doi:10.1007/S00238-005-0793-4/FIGURES/6
183. Waluga M, Kukla M, Kotulski R, et al. Omentin, vaspin and irisin in chronic liver diseases. *J Physiol Pharmacol*. 2019;70(2):277-285. doi:10.26402/JPP.2019.2.11
184. Slate-Romano JJ, Yano N, Zhao TC. Irisin reduces inflammatory signaling pathways in inflammation-mediated metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2022;552:111676. doi:10.1016/J.MCE.2022.111676
185. Mazur-Bialy AI, Pocheć E, Zarawski M. Anti-Inflammatory Properties of Irisin, Mediator of Physical Activity, Are Connected with TLR4/MyD88 Signaling Pathway Activation. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4). doi:10.3390/IJMS18040701
186. Huangfu LX, Cai XT, Yang JN, et al. Irisin attenuates inflammation in a mouse model of ulcerative colitis by altering the intestinal microbiota. *Exp Ther Med*. 2021;22(6):1-15. doi:10.3892/ETM.2021.10868
187. Ren Y, Qiu M, Zhang J, et al. Low Serum Irisin Concentration Is Associated with Poor Outcomes in Patients with Acute Pancreatitis, and Irisin Administration Protects Against Experimental Acute Pancreatitis. *Antioxid Redox Signal*. 2019;31(11):771-785. doi:10.1089/ARS.2019.7731

188. Ren Y, Zhang J, Wang M, et al. Identification of irisin as a therapeutic agent that inhibits oxidative stress and fibrosis in a murine model of chronic pancreatitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;126:110101. doi:10.1016/J.BIOPHA.2020.110101
189. Wei S, Bi J, Yang L, et al. Serum irisin levels are decreased in patients with sepsis, and exogenous irisin suppresses ferroptosis in the liver of septic mice. *Clin Transl Med*. 2020;10(5). doi:10.1002/CTM2.173
190. Li X, Jamal M, Guo P, et al. Irisin alleviates pulmonary epithelial barrier dysfunction in sepsis-induced acute lung injury via activation of AMPK/SIRT1 pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;118:109363. doi:10.1016/J.BIOPHA.2019.109363
191. Ma EB, Sahar NE, Jeong M, Huh JY. Irisin Exerts Inhibitory Effect on Adipogenesis Through Regulation of Wnt Signaling. *Front Physiol*. 2019;10. doi:10.3389/fphys.2019.01085
192. Wu F, Song H, Zhang Y, et al. Irisin Induces Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells In Vitro and in Zebrafish Embryos In Vivo via Activation of the ERK Signaling Pathway. *PLoS One*. 2015;10(8). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0134662
193. Xin C, Zhang Z, Gao G, et al. Irisin Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury and Improves Mitochondrial Function Through AMPK Pathway in Diabetic Mice. *Front Pharmacol*. 2020;11:1374. doi:10.3389/FPHAR.2020.565160/BIBTEX
194. Son JW, Choi SH, Jang JH, et al. Irisin promotes odontogenic differentiation and angiogenic potential in human dental pulp cells. *Int Endod J*. 2021;54(3):399-412. doi:10.1111/IEJ.13435
195. Oranger A, Zerlotin R, Buccoliero C, et al. Irisin Modulates Inflammatory, Angiogenic, and Osteogenic Factors during Fracture Healing. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol 24, Page 1809. 2023;24(3):1809. doi:10.3390/IJMS24031809
196. Liao Q, Qu S, Tang L, et al. Irisin exerts a therapeutic effect against myocardial infarction via promoting angiogenesis. *Acta Pharmacologica Sinica* 2019 40:10. 2019;40(10):1314-1321. doi:10.1038/s41401-019-0230-z
197. Kuo YR, Wang CT, Wang FS, Chiang YC, Wang CJ. Extracorporeal shock-wave therapy enhanced wound healing via increasing topical blood perfusion and tissue regeneration in a rat model of STZ-induced diabetes. *Wound Repair Regen*. 2009;17(4):522-530. doi:10.1111/J.1524-475X.2009.00504.X
198. Jia YC, Xu J, Chen HH, Kang QL, Chai YM. The Effect of Atorvastatin on the Viability of Ischemic Skin Flaps in Diabetic Rats. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(2):425e-433e. doi:10.1097/PRS.0000000000002984

199. Schalkwijk CG, Stehouwer CDA. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci*. 2005;109(2):143-159. doi:10.1042/CS20050025
200. Cosentino F, Lüscher TF. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;32 Suppl 3(SUPPL. 3):S54-61. Accessed January 6, 2022. <https://europepmc.org/article/med/9883749>
201. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and Atherosclerosis: Epidemiology, Pathophysiology, and Management. *JAMA*. 2002;287(19):2570-2581. doi:10.1001/JAMA.287.19.2570
202. Wang H, Zhao YT, Zhang S, et al. Irisin plays a pivotal role to protect the heart against ischemia and reperfusion injury. *J Cell Physiol*. 2017;232(12):3775-3785. doi:10.1002/JCP.25857
203. Li DJ, Li YH, Yuan H bin, Qu LF, Wang P. The novel exercise-induced hormone irisin protects against neuronal injury via activation of the Akt and ERK1/2 signaling pathways and contributes to the neuroprotection of physical exercise in cerebral ischemia. *Metabolism*. 2017;68. doi:10.1016/j.metabol.2016.12.003
204. Du J, Fan X, Yang B, Chen Y, Liu KX, Zhou J. Irisin pretreatment ameliorates intestinal ischemia/reperfusion injury in mice through activation of the Nrf2 pathway. *Int Immunopharmacol*. 2019;73:225-235. doi:10.1016/J.INTIMP.2019.05.011
205. Bi J, Zhang J, Ren Y, et al. Irisin reverses intestinal epithelial barrier dysfunction during intestinal injury via binding to the integrin $\alpha V\beta 5$ receptor. *J Cell Mol Med*. 2020;24(1):996-1009. doi:10.1111/JCMM.14811
206. Zhang J, Ren Y, Bi J, et al. Involvement of kindlin-2 in irisin's protection against ischaemia reperfusion-induced liver injury in high-fat diet-fed mice. *J Cell Mol Med*. 2020;24(22):13081-13092. doi:10.1111/JCMM.15910
207. Liu Y, Fu Y, Liu Z, et al. Irisin is induced in renal ischemia-reperfusion to protect against tubular cell injury via suppressing p53. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2020;1866(7):165792. doi:10.1016/J.BBADIS.2020.165792
208. Wang Y, Tian M, Tan J, et al. Irisin ameliorates neuroinflammation and neuronal apoptosis through integrin $\alpha V\beta 5$ /AMPK signaling pathway after intracerebral hemorrhage in mice. *J Neuroinflammation*. 2022;19(1):1-20. doi:10.1186/S12974-022-02438-6/FIGURES/8
209. Liu S, Du F, Li X, et al. Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175498-e0175498. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0175498

210. Rana KS, Pararasa C, Afzal I, et al. Plasma irisin is elevated in type 2 diabetes and is associated with increased E-selectin levels. *Cardiovasc Diabetol*. 2017;16(1):147. doi:10.1186/S12933-017-0627-2
211. Kalkan OF. *DİYABETİK NÖROPATİ VE EGZERSİZ: DİYABETİK NÖROPATİK AĞRIYA İRİSİNİN ETKİLERİ ÜZERİNE DENEYSEL İNCELEME*. 2017.
212. Song R, Zhao X, Zhang D qi, Wang R, Feng Y. Lower levels of irisin in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2021;175. doi:10.1016/j.diabres.2021.108788
213. Bonfante ILP, Chacon-Mikahil MPT, Brunelli DT, et al. Obese with higher FNDC5/Irisin levels have a better metabolic profile, lower lipopolysaccharide levels and type 2 diabetes risk. *Arch Endocrinol Metab*. 2017;61(6):524-533. doi:10.1590/2359-3997000000305
214. Li M, Yang M, Zhou X, et al. Elevated Circulating Levels of Irisin and the Effect of Metformin Treatment in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(4):1485-1493. doi:10.1210/JC.2014-2544
215. Behera J, Ison J, Voor MJ, Tyagi N. Exercise-Linked Skeletal Irisin Ameliorates Diabetes-Associated Osteoporosis by Inhibiting the Oxidative Damage–Dependent miR-150-FNDC5/Pyroptosis Axis. *Diabetes*. 2022;71(12):2777-2792. doi:10.2337/DB21-0573
216. Duan H, Ma B, Ma X, et al. Anti-diabetic activity of recombinant irisin in STZ-induced insulin-deficient diabetic mice. *Int J Biol Macromol*. 2016;84:457-463. doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2015.12.049
217. Abdi A, Mehrabani J, Nordvall M, Wong A, Fallah A, Bagheri R. Effects of concurrent training on irisin and fibronectin type-III domain containing 5 (FNDC5) expression in visceral adipose tissue in type-2 diabetic rats. <https://doi.org/10.1080/1381345520201716018>. 2020;128(3):651-656. doi:10.1080/13813455.2020.1716018