

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**OMENTİN ETKEN MADDESİNİN FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Fatih Burak EFEOĞLU

Kasım - 2013

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**OMENTİN ETKEN MADDESİNİN FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hazırlayan

Fatih Burak EFEOĞLU

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Furkan Erol Karabekmez

Kasım - 2013

Uzmanlık eğitimim sırasında klinik ve cerrahi deneyimi yanı sıra, plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi etik ve kültürünü bizlere yansıtan, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Metin Görgü'ye,

İyi bir plastik cerrah olabilmem için uzmanlık eğitimim sırasında bilgi, davranış ve tecrübeleri ile büyük emek veren hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Furkan E. Karabekmez, Doç. Dr. Kaan Gideroğlu, Prof. Dr. Şükrü Yazar ve Doç. Dr. Dilek Şenen'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım Dr. Ali Gökkaya, Dr. İbrahim Sağlam, Dr. Şerif Yavuz, Dr. İstemihan Öztürk'e ve diğer anabilim dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezimin deney kısımlarını gerçekleştirdiğim AİBÜ Deneysel Hayvan Araştırmaları Laboratuvarı, Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı ve Embriyoloji ve Histoloji Anabilim Dalı hoca, asistan ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde emeği ve desteği ile yanımda olan, benim için endişelenip duran sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını benden esirgemeyen Jale Odabaşı'na,
Varlığıyla bana manevi olarak güç veren sevgili oğlum Orhun Doruk Efeoğlu'na,

TEŞEKKÜR EDERİM

ÖZET

OMENTİN ETKEN MADDESİNİN FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Fatih Burak Efeoğlu

Uzmanlık Tezi, Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Furkan E. Karabekmez

Bolu, Kasım 2013

Plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahide en önemli problemlerden biri büyük defektlerin kapatılmasıdır. Büyük defektleri kapatmada kullanılan fleplerin boyu uzadıkça flebin yaşayabilen kısmında azalma olabilmektedir. Bu durumda flep distalinde nekroz alanları oluşabilir. Fleplerin yaşayabilen kısımlarını arttırmak için çok sayıda kimyasal, fiziksel ve cerrahi modifikasyon yapılmıştır. Omentin, endotel aracılı nitrik oksit sentaz (e-NOS) üzerinden endotelyal nitrik oksiti (e-NO) i artırarak damarlarada vasodilatasyon yaptığı kanıtlanmış, omental yağ dokusu kaynaklı antiinflamatuvar ve vasodilatatör özellikleri olan bir mediatördür. Buna rağmen literatürde, bu ürünün flep yaşayabilirliğini arttırmadaki rolü üzerine yeterli sayıda çalışma yoktur.

Bu çalışmada amacımız, rat dorsal derisinden kaldırılan McFarlane flebinde, lokal olarak uygulanan omentinin, flep yaşayabilirliğine olan etkisini araştırmaktır.

Çalışmada deney hayvanı olarak dişi, erişkin, 250-350 gr. ağırlığında Sprague-Dawley ratlar kullanıldı. Denekler 3 gruba ayrılarak, 1. Grup kontrol grubu, 2. Grup omentinin flep kaldırılmadan 1 hafta önce verileceği grup, 3. Grup ise omentinin flep kaldırılmadan 2 gün önce ve flep kaldırıldığı gün verileceği grup. Enjeksiyonlar, flebin

en distalinde tek noktadan dental enjektör yardımıyla girilerek, 300 nanogram/cc omentin şeklinde distal 1/3 kısmının cilt altına yapıldı. Cerrahi işlemler için uygun anestezi sağlandıktan sonra, sıçanların sırt bölgesinde, pedikülü kaudal tarafta ve paniculus carnosus içerecek şekilde, 3x10 cm'lik random paternli deri flebi kaldırıldı ve aynı seansta yerlerine iade edildi. 7 gün sonra tüm hayvanlar %3 sodyum pentobarbital ile sakrifiye edildi. Daha sonra fleplerin yaşayabilen alanlarının makroskopik değerlendirilebilmesi için fotoğraflama yapıldı. Histolojik inceleme için ise fleplerin ortasından 1'er cm²'lik biopsiler alındı. Rutin işlemlerden sonra parafin bloklar hazırlandı. Kesitlerde hematoksiyen-eosin ve mason 3'lü boyama ile nötrofil sayısı bakıldı. Ayrıca angiogenezisin değerlendirilmesi için vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) immün boyaması yapıldı. Her deneğe ait doku, epidermis kalınlığı, inflamasyon, ödem ve hemoraji yönünden değerlendirildi. Tüm denekler prosedürleri iyi tolere etti. Doku örneklerinin homojenizasyonundan sonra, ELISA yöntemi ile omentinin endotelde artışına sebep olduğu endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) ekspresyonu bakıldı.

Tüm veriler istatistiki değerlendirmeye tabi tutularak, omentinin flep yaşayabilirliği üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tedavi gruplarında fleplerin yaşayan alanların yüzdeleri, epidermis kalınlığı, endoteli VEGF pozitif boyalı yeni oluşan damar sayısı ve eNOS ekspresyonu düzeyleri bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi. Tedavi gruplarının arasında ise fleplerin yaşayan alanlarının yüzdeleri dışında bakılan parametrelerde anlamlı fark bulunamadı.

Antiinflamatuvar özelliği değerlendirmek için bakılan nötrofil miktarı açısından, 3.gün fleplerden alınan biopsilerde yapılan değerlendirmede omentin enjekte edilen gruplarda nötrofil yoğunluğu bakımından kontrol grubuna göre azalma görüldü. Fakat bu istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Omentin Human kolay temin edilen, yan etki profili düşük rekombinant bir üründür. Antiinflamatuvar ve vasodilatatör etkilidir. Çalışmamızda, bu ürünün flep yaşayabilirliğini istatistiki olarak anlamlı derecede arttırdığını gösterdik. Yapılacak daha ileri araştırmalar ile kolay temin edilen bu ürünün flep yaşayabilirliğini arttırmada daha güvenle kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Sözcükler: flep, omentin, e-NO sentaz

ABSTRACT

Closure of the large skin defects is one of the most important challenges in plastic surgery. In closure of large defects, as the length of the flaps increases, the area of the flaps' viable areas may decrease. Therefore, necrotic areas develop on the distal part of the flaps. Chemical, physical and surgical modifications have been performed to increase flap viability. Omentin makes vasodilatation on the vessels. Omentin increases the endothelial NO with inducing secretion of endothelial NO sentaz. Though there are studies on the effects of omentin in the human body, there are no papers in literature addressing the role of omentin on flap survival. In this study, we aimed to evaluate the effects of locally administered omentin, on rats' dorsal McFarlane flap survival.

In this study, female, adult, 250-350 grams weighted Sprague-Dawley rat was choosen as experiment animal. Animals were divided into three groups I – Control, II – omentin treatment 1 week before the flap surgery, III – omentin treatment 2 days before the flap surgery and the same day with the surgery. In group 2 and 3, 1 week before the surgery and 2 days before and the same day with the surgery respectively, omentin has been administered to flap areas locally with dental injector in one entrance point due to proximal part of the flap. 300 ng/ml omentin was injected in only 1/3 distal part of the flap. After the anesthesia, 3x10 cm sized dorsal, caudal pedicled McFarlane flap was elevated and sutured back into same area. On postoperative 7th day viable areas were calculated macroscopically. Biopsies were obtained from the middle part of the flaps for histopathological examination. Endothelial NO sentaz was analyzed using ELISA test. Number of neutrophils was analyzed using hematoxilen-eosine and mason. And also Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) painted endotheliums were analyzed for angiogenesis. All subjects were well tolerated the surgical procedures. Each rat's tissue biopsies were evaluated for inflammation, edema and hemorrhage.

All data were analyzed statistically for evaluation of effects of omentin on flap survival. There was a statistically significant difference between treatment group and the control group, according to percent of viable flap areas, thickness of epidermis neoangiogenesis and eNOS expressions. There was no statistically significant difference

between treatment groups in the examined parameters except the percent of flaps' viable areas.

In treatment groups' neutrophil invasion was decreased compared to control group, but it was not statistically significant.

Omentin is a recombinant product obtained from omental tissue, and is easily found having no side effect profiles. Omentin effects as vasodilator and anti-inflammatory. In this study we showed that this enhanced flap viability was significant. We think that, with further investigations, omentin will be used safely in enhancing flap viability.

Keywords: flap, omentin, e-NO sentaz

İÇİNDEKİLER

ÖZEXI

ABSTRACT XI

ŞEKİLLER DİZİNİ XI

RESİMLER DİZİNİ Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

TABLolar DİZİNİ XIII

1.GİRİŞ VE AMAÇ 14

2. GENEL BİLGİLER 16

2.1. Derinin Yapısal Özellikleri 16

2.2. Derinin Vasküler Yapısı 17

2.3. Flepler 22

2.3.1. Deri Fleplerinin Sınıflandırılması 23

2.3.2. Modifiye McFarlane Flebi 28

2.4. Flep Fizyolojisi 29

2.5. Deri Kan Akımının Regülasyonu 30

2.6. Geciktirme (Delay) Fenomeni 33

2.7. Flep Nekrozu 34

2.8. Flep Yaşamına Etki Eden Ajanlar 36

2.8.1. Fiziksel Faktörler.....	38
2.8.2. Farmakolojik Faktörler.....	39
2.9. Omentin.....	51
2.9.1 Omentinin Yapısı ve İçeriği.....	51
2.10. VEGF ve eNOS.....	55
2.10.1. VEGF Gen Yapısı ve Ekspresyonu.....	58
2.10.2 Nitrik Oksit ve eNOS.....	61
3. GEREÇ ve YÖNTEM	63
3.1. İşlemler.	64
3.1.1. Omentin Hazırlanması.....	64
3.1.2. Anestezi.....	64
3.1.3. Enjeksiyonlar.....	65
3.1.4. Cerrahi	66
3.2. Değerlendirme	.Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.2.1. Genel Değerlendirme.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.67
3.2.2. Flep Nekroz Alanlarının Değerlendirilmesi.....	68
3.2.3. Histolojik Değerlendirme	68
3.2.4. VEGF ve eNOS Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	69
3.2.5. İstatistiki Değerlendirme.....	70
4. BULGULAR.....	71

4.1. Genel Değerlendirme.....	71
4.2. Flep Nekroz Alanlarının Değerlendirilmesi.....	72
4.3. Epidermis Kalınlığının Değerlendirilmesi.	75
4.4. Nötrofil sayısının Değerlendirilmesi.....	77
4.5. Neoangiogenezin değerlendirilmesi.....	79
4.6. eNOS Ekspresyonunun Değerlendirilmesi.....	81
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇ	91
KAYNAKLAR	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1 - Dermisin yapısı.....	17
ŞEKİL 2 - Dermisin kanlanması.....	18
ŞEKİL 3 - Deri fleplerinin vasküler anatomiye göre sınıflaması.....	25
ŞEKİL 4 - Reperfüzyon sırasında direkt olarak hücresel hasar oluşturabilen toksik oksijen radikallerinin oluşumu.....	37
ŞEKİL 5- VEGF geni ekson ve intronları	59
ŞEKİL 6 - VEGF ile indüklenen yanıtta oluşan dört esas damar yapısı.....	60

RESİMLER DİZİNİ

RESİM 1: Flep altına omentin uygulanması.....	65
RESİM 2: McFarlane flebinin elevasyonu.....	66
RESİM 3 :Flebin yerine iade edilmiş hali.....	67
RESİM 4 Nekroza uğrayan ve yaşayabilen alanlar arasındaki	
demarkasyon hattı	72
RESİM 5: Bilgisayar ortamında Image j programı ile flep yaşayan alanların hesaplama	
işlemini gösteren ilustrasyon.....	72
RESİM 6: Postoperatif 7. günde yaşayabilen flep alanlarının	
görünümü.....	73

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.2.1 Grupların ortalama yaşayabilen flep alanlarına göre dağılımı.....	74
Tablo 4.2.2 Grupların Yaşayabilen Flep Alanlarına Göre Dağılımı.....	75
Tablo 4.3.1 Ortalama Epidermis Kalınlığının Gruplara Göre Dağılımı.....	76
Tablo 4.3.2 Epidermis Kalınlığının Gruplara Göre Dağılımı.....	77
Tablo 4.4.2 Grupların Ortalama Nötrofil Yoğunluğuna Göre Dağılımı.....	78
Tablo 4.4.2 Nötrofil Yoğunluğuna Göre Grupların Biribiriyle Karşılaştırılması.....	79
Tablo 4.5.1 Ortalama VEGF boyalı endotel sayılarının gruplara göre dağılımı.....	80
Tablo 4.5.2 Ortalama VEGF boyalı endotel sayılarının gruplara göre dağılımı.....	81
Tablo 4.6.1 Ortalama Enos düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	82
Tablo 4.6.2 Enos düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	83

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Flep cerrahisi plastik cerrahide defekt kapamada en sık kullanılan doku onarım tekniklerindendir. Flep cerrahisinin başarısı flep yaşayabilirliği ile paralel seyretmektedir. Kısmi ya da tam kayıplar plastik cerrahinin önemli bir problemi olmaya devam etmektedir. Bu istenmeyen kayıpları azaltabilmek amacıyla hastanın, defektin, verici bölgenin durumları ve cerrahi şartlar ideale getirilmeye çalışılmıştır. Birçok çalışmada farmakolojik ajanlar ve çeşitli büyüme faktörleri flep yaşayabilirliğini arttırmak için kullanılmıştır.

Adipoz dokunun bugüne kadar birçok fonksiyonu tanımlanmıştır. Adipoz dokunun fiziksel koruma, enerji depolama, yağda eriyen vitaminleri depolama, termogenezis fonksiyonlarına ek olarak; günümüzde adipositlerden ve adipoz stromal hücrelerden sentezlenen adipositokinler adı verilen proteinler sayesinde otokrin, parakrin ve endokrin etkileri olduğu da gösterilmiştir.

Adipokinlerin endokrin özellikleri yanında; inflamatuvar yanıt, iştah düzenlenmesi, uyku düzenlenmesi, gibi pek çok önemli özellikler ve önemli hastalıkların tetikleyicisi ve tanınmasında kullanılabilecek biyomarker özellikleri de mevcuttur. Son dönemde tanımlanmış adipokinlerden omentin, yağ dokusunun visseral stroma damar hücrelerinden salgılanan yeni bir adipokindir.

İn vitro yapılan çalışmalarda rekombinant omentin uygulaması insan subkutan ve omentum yağ dokusunda insülin aracılı glukoz alımını artırmaktadır. Yağ hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda insülin ve glukoz uygulamasının omentin sentezini azalttığı gösterilmiştir.

Omentin, Aktin (Akt) sinyal yoluyla nitrik oksit sentaz enzimini de düzenlemekte ve böylece endotel disfonksiyonu üzerine olumlu etki edebilmektedir. Yine nitrik oksit üzerinden noradrenalinin yol açtığı vazokonstriksiyonu antagonize etmektedir. Son yıllarda, tıbbın başka alanlarında olduğu gibi, plastik ve rekonstrüktif cerrahide de değişik farmakolojik tedaviler ilgi görmektedir. Omentin de rekombinant farmakolojik bir üründür. Nitrik oksit üzerinden noradrenalinin yol açtığı vazokonstriksiyonu antagonize etmesi omentini flep yaşayabilirliğini arttırmada teorik olarak potansiyel bir ajan yapmaktadır. Buna rağmen literatürde, flep yaşayabilirliğini arttırmadaki rolü üzerine bir çalışmaya rastlanmamıştır.

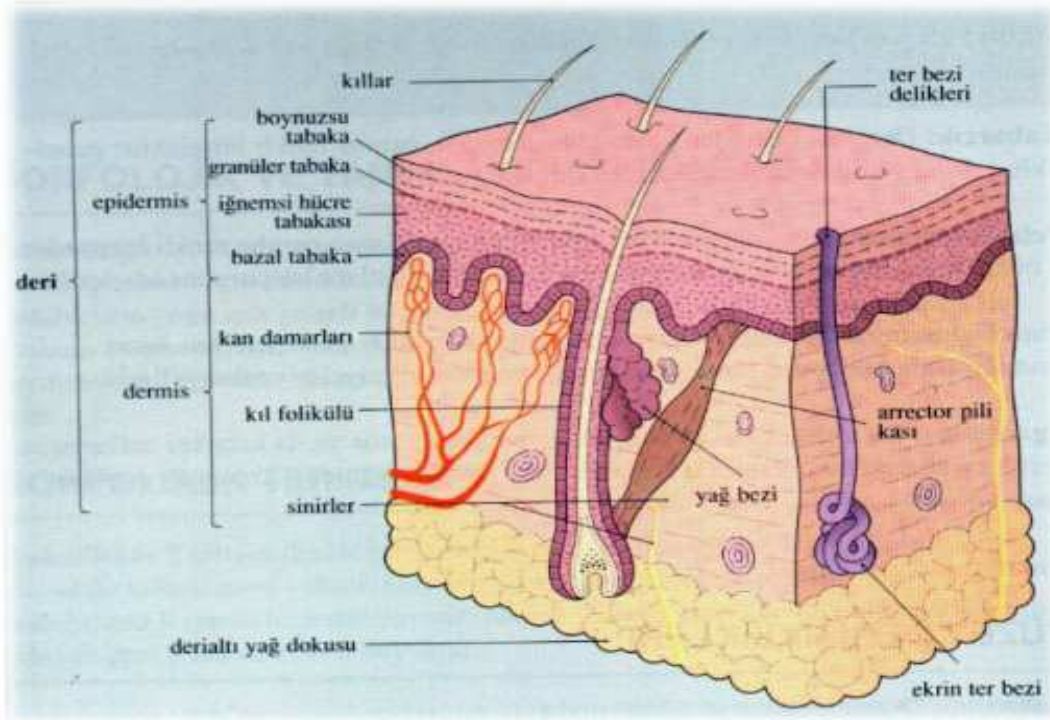
Plastik cerrahide fleplerde sık karşılaşılan sorunlardan olan vazokonstriksiyon ve spazm sonucu gelişen hipoksi nedeniyle, fleplerin nekroza giden bölümlerinin yüzdesi yüksektir. Biz bu çalışmamızda flep yaşayan alanların yüzdesini arttırmayı amaçladık. Bunu da rat dorsal derisinden kaldırılan Mc Farlane flebinde, lokal olarak uygulanan omentinin, eNOS'u (endotel nitrik oksit sentaz) arttırarak oluşturduğu vasodilatasyon,

inflamatuvar hücre ve mediatörleri azaltarak yaptığı antiinflamatuvar etki ve NO (nitrik oksit) üzerinden VEGF (Vasküler Endotelyal Growth Factor)'yi arttırdığı anjiogenik etkilerinden faydalanarak sağlamayı hedefledik

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Yapısal Özellikleri

İnsan vücudunu kaplayan en geniş yüzeyli organ olan deri vücut ağırlığının yaklaşık %15' ini teşkil eder. Ektoderm ve mezodermden köken alan deri esas olarak epidermis ve dermis adı verilen iki tabakadan oluşur. Derinin kalınlığı 1,5-4 mm arasında değişirken epidermis kalınlığı göz kapağında 0,04 mm; ayak tabanında ise 1,4 mm' dir. Dermis ve epidermis birleşme yeri düzensizdir ve papilla denilen uzantılar mevcuttur. Dermistenon-sellüler bağ doku elemanları ve arasında sinirler, kan damarları, lenfatikler, kas üniteleri, pilosebace, erkin ve apokrin üniteleri bulunur. Dermisin altında ise içinde yağ hücreleri bulunduran gevşek bağ dokusu bulunur . (Şekil 1).

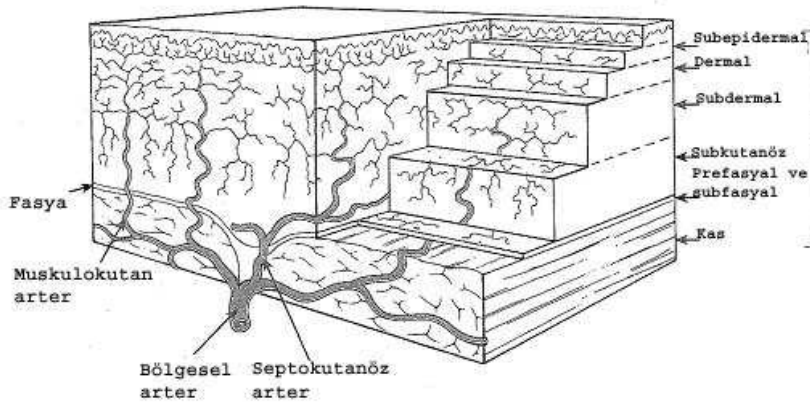


Şekil 1: Dermisin yapısı

2.2. Derinin Vasküler Yapısı

Cildin mikrovasküler çatısını arterioller, terminal arterioller, postkapiller venüller, kolektör venüller ve musküler venüller içermektedir (1). Arterioller direkt veya indirekt olarak cildin arteriyel dallarından köken almaktadır. Derinin kanlanması deriye sadece oksijen sağlamaz, bunun yanında, bu kan akımı sayesinde, termoregülatuar ve immünolojik bir dizi işlev yerine getirilmiş olur. Derinin damarsal ağı bölgeden bölgeye farklılık gösterir. Cormack ve Lamberty deri fleplerinin arteriyel anatomisini, fasyokutanöz arterler, muskulokutanöz perforatör arterler ve direk kutanöz arterler şeklinde sınıflamıştır (2). İnsanda derinin kanlanması muskulokutanöz arterler ve septokutanöz arterler aracılığı ile olur. Muskulokutanöz arterler random patern fleplerin kaldırılabilmesine olanak tanırken septokutanöz arterler, aksiyel patern

fleplerin oluşmasını sağlarlar. Deri, kan desteğini üç farklı anatomik seviyede bulunan beş ayrı katmanın birbiri ile köprü oluşturması ile meydana getirdiği damar ağı ile sağlar (2). Bu anatomik seviyeleri fasya, subkutan yağ dokusu ve deri oluştururken, damar ağı ise, fasyal pleksus, subkutanöz pleksus, subdermal pleksus, dermal pleksus ve subepidermal pleksustan oluşur (Şekil 2).



Şekil 2: Derinin vasküler yapısı

Fasyal pleksus: Kaynak arterden gelen damarlar derin fasya seviyesinden geçerek pleksus oluştururlar. Bu nedenle flep cerrahisi sırasında derin fasyanın flebe dâhil edilmesi flep yaşamı açısından güvenlidir. Fasyal pleksus iki şekildedir. Bunlar, fasyanın altında yer alan subfasyal pleksus ve fasyanın üstünde yer alan prefasyal pleksustur. Subfasyal pleksus ise nispeten minör karakterdedir. Flebin yaşamını temin etme kabiliyetinden yoksundur. Prefasyal pleksus baskın dağılım sistemidir. Fasyokutan, muskulokutan ve septokutan arterlerden beslenir (3). Vücudun değişik bölgelerinde bunların katkı oranları değişmektedir. Örneğin ekstremitelerde septokutan sistem ağırlıktayken, gövdede muskulokutaneal sistem dominant olmaktadır.

Subkutan pleksus: Subkutan yağ dokusu içinde yer alan, derin ve yüzeyel olmak üzere subkutan yağ dokusunu ikiye bölen, yüzeyel fasya içinde bulunan arterlerden ve venlerden oluşmuş horizontal ve lineer yerleşimli bir vasküler pleksustur.

Subdermal pleksus: Derinin primer kan akımını sağlar. Subkutan pleksustan uzanan dallar retiküler dermisle alttaki subkutan yağ dokusu arasında bu pleksusu oluşturur. Buradan çıkan dallar altta ve üstte uzanarak deri, adipoz doku ve deri eklerini besler. Dermal pleksusa verdiği dallar arasında bulunan yaygın anastomozlar kanlanmayı olağanüstü artırmaktadır. Bu pleksusun ana görevi en üstte bulunan iki pleksusun beslenmesidir. Venöz dolaşım ağına da sahip olmasına karşın hakim olan vasküler yapı arterlerdir.

Dermal ve subepidermal pleksuslar: Bu pleksuslar gerçek deri kan dolaşımını sağlarlar. Dermal papiller çıkıntılarının alt sınırından dermo-epidermal bölgeye kadar mevcuttur. Dermal pleksusta hakim olan yapı arteriyollerdir. Bunlar izole kas alanlarına sahiptirler ve termoregülasyon primer fonksiyonlarıdır. Subepidermal pleksusta hakim olan vasküler yapı ise kapiller damarlardır ve bunların ana görevleri beslenmedir (3). Segmental damarlar derin dokulardan yüzeyel dokulara doğru ilerlerken her biri vücudun belirli bölgesini besleyen damarlar verirler. Bu damarlar kaslar arasındaki fibröz septaları izleyerek, bazıları direkt olarak deriye, çoğu ise kas içine giden dallara ayrılırlar.

Direkt olarak deriye giden dallara septokutan damarlar, kaslar içinden geçerek deriye ulaşan damarlara muskulokutan damarlar adı verilir. Septokutan damarların bir kısmı deri altında yüzeyel olarak seyrederek. Direkt olarak deriyi besleyen bu damarlar, direkt kutanöz damarlar olarak adlandırılırlar. Deride derin pleksus, subkutanöz doku ile derin dermis arasında bulunur. Yüzeyel pleksus, papiller ve retiküler dermis

birleşiminde bulunur. Mikrodolaşım, kan akımının lokal kontrolünü ve dokuların beslenmesini sağlayan damarlardan oluşur (4). Derinin normal total kan akımı 20 ml/100 gr/dk' dır. Kan akımı, ısı artışı ve akut sempatik blokajla artar. Artmış kan akımı, kapillerleri atlayarak arteriyovenöz anastomozlar yoluyla deriye ulaşır (5).

Mikrodolaşım, 300 μ 'dan küçük arteriollerle baslar ve terminal arterioller, prekapiller sfinkterler, kapiller, postkapiller venüller, toplayıcı venüller ve musküler venüllerle devam eder (1, 6).

Dermis ve subkutan doku bileşkesinde yer alan mikrodolaşım sistemini yüzeyel, orta ve derin olmak üzere üç damar pleksusu oluşturur. Yüzeyel ve derin pleksusta arterler ve venler, orta pleksusta ise esas olarak venler bulunur. Yüzeyel pleksus ısı değişimi ve beslenme, orta pleksus ısı değişimi ve savunma mekanizmaları, derin pleksus ısı korunması ve şant mekanizması fonksiyonlarına sahiptir (1).

Arterioller; direkt kutanöz, fasyokutan ve muskulokutan sistemin terminal damarlarından köken alır. Subkutan dokuda ilerleyerek lümen içi çapları 30 μ ' a düşer. Dallanarak, çapları 10-30 μ olan terminal arterioller ve subdermal pleksusu oluştururlar. Prekapiller sfinkterde damar içi çapları 30 μ 'dan 10 μ 'a düşer. Burası, kan akımı kontrolünün sona erdiği bölgedir ve damar duvarı innerve düz kas içerir. Kapillerler 3-7 μ çapa sahiptir ve endotel, bazal lamina ve perisitleri içerir. Kapillerlerden sonra çapları 8'den 30 μ ' a değişen postkapiller venüller baslar. Bunlar birleşerek çapları 50 μ olan toplayıcı venülleri oluşturur (2,5). Arterioller, prekapiller sfinkterler ve arteriyovenöz anastomozlarda sempatik innervasyon bulunur. Arteriyovenöz anastomozlar, 50 μ çapında arteryel ve venöz dolaşımı birleştiren şantlardır. Sinirsel veya kimyasal uyarana cevap verme yeteneğine sahip zengin bir sinir ağı ile çevrilidir. Bu şantlar yoluyla kan akımı kapiller yatağı atlar ve bir kapillerden 600 kat fazla kan

akımına sahiptir (2,6). Deri ve subkutan dokuların venöz drenajı iki sistemle gerçekleşir; birincisi geniş kapasitesi olan yüzeysel subdermal venöz sistem, ikincisi ise kutanöz arterlere eşlik eden vena komitanteslerdir (7). Derinin venöz drenajı, vena kominikanlar ve vena komitanteslerden oluşan perforatör venler aracılığı ile derin venlere doğru yönlendirilir. Kominikan venler subkutanöz venöz pleksusu derin venlere bağlayan büyük venlerdir. Beraberinde kutanöz arter eşlik edebilir. Vena komitantesler subkutanöz yağ dokunun derin kısmını drene eder, direkt veya indirekt yollarla derin venlere dökülürler. Deri kapiller yoğunluğu 16-55/mm²'dir. (Bu oran iskelet kasında 1000-2000/mm²'dir). Subdermal pleksus derinin primer kan kaynağı sayılmaktadır (8).

Lenfatik sistem; lenfatik kapiller, toplayıcı lenfatikler ve lenf kanallarından oluşur ve mikrodolaşımın bir alt yapısıdır. Flep kaldırıldığında bu lenfatik kanallar hasara uğrayarak flepte ödem gelişimine yol açabilirler. Flep kaldırılması ile hücre içi ve dışı basınçlardaki değişiklikler sonucu oluşan ödem, hücrelerin beslenmesi için gerekli diffüzyonu ve dolaşımı zorlaştırır.

Deri dolaşımının sistemik kontrolü: En önemli etken sinir sistemidir. Hipotalamus tarafından kontrol edilir. Damar duvarlarındaki alfa-adrenerjik ve serotoninerjik reseptörler vazokonstriksiyon, beta-adrenerjik reseptörler ise vazodilatasyona yol açarlar. Sempatik tonusun azalması, özellikle arteriovenöz anastomozlarda belirgin vazodilatasyona, artması da vazokonstriksiyona neden olur. Humoral düzenleme sistemi içerisinde adrenalın ve noreadrenalin doğrudan alfa-adrenerjik reseptörleri etkileyerek vazokonstriksiyona neden olurlar. Serotonin vazokonstriktör, histamin ve bradikinin ise vazodilatör etki gösterir. Araşidonik asit metabolitlerinden tromboksan A₂ ve PGF₂-alfa (Prostaglandin F₂-alfa) güçlü vazokonstriktör, PGE₁ vazodilatör etkilidir. Prostogliklin güçlü bir vazodilatör ve

trombosit agregasyon inhibitörüdür. Lökotrienlerin deri dolaşımını artırdıkları gösterilmiştir (5).

Deri dolaşımının lokal kontrolü: Metabolik düzenlemede deride fazla olmamakla birlikte; hiperkapni, hipoksi, asidoz ve interstisyel potasyum artışı vazodilatasyona neden olur. Fiziksel düzenlemede perfüzyon basıncının artışı damarlarda gerilmeye yol açarak vazokonstriksiyonu tetikler. Bu, miyojenik refleks sayesinde kapiller akım arter basıncından etkilenmeksizin sabit bir düzeyde tutulur. Lokal hipotermi kan akımını azaltır, bu da vazodilatasyonu uyarır. Viskozite ise kan akımını sadece ciddi iskemi durumlarında etkilemektedir (9).

2.3. Flepler

Fleplerin rekonstrüktif cerrahide kullanımları M.O. 600'lu yıllara dayanır. İlk kayıtlı flep kullanımı, Sushruta Samhita'nın nazal rekonstrüksiyon amaçlı pediküllü flepleri kullandığını işaret etmektedir. Başlarda baş boyun ve alt ekstremitede yara iyileşmesinde zorluklarla karşılaşıldığı için, bu bölgelerde random flepler denenmiştir (10). Tagliacozzi iki aşamalı olarak distal bazlı kol fleplerini kullanmıştır. Venice 1557 yılında onun çalışmalarını yayınlamıştır.

19. yy'a kadar bir süreçte bu bilgilerin hepsi unutulmuş, durağan süreç başlamıştır. Carpue alın fleplerini başarılı bir şekilde kullanması ile 20. yy'da yeniden ilerleme dönemine girilmiş ve ilk kez random tüp flepler kullanılmaya başlanmıştır. Yine bu dönemde fleplerde delay ile flep yaşamını arttırma prosedürü yapılmaya başlanmıştır. Carl Manchot, bir Alman anatomist, 1889'da deride kanlanmayı sağlayan anatomik bölgeleri tanımlamıştır (11). Tansini 1906'da latissimus dorsi muskulokutan flebi tanımlamıştır (12).

1950-1975 yılları arasında dönemin en önemli gelişmesi McGregor ve Morgan tarafından random ve aksiyel paternli flep kavramlarının ortaya atılması ve tam olarak açıklayamasalar dahi aralarında bazı farkların olduğunu belirtmeleridir. Fasya-deri ve kas-deri fleplerindeki hızlı gelişmeye ek olarak ameliyat mikroskobunun kullanıma girmesiyle birlikte serbest doku aktarımları gündeme gelmiştir.

1977’de Ger Atlanta’da ilk kez kas ve kas-deri fleplerini, 1981’de Ponten fasyokutan flepleri tarif etmiştir. 1981’de Mathes ve Nahai kas fleplerini vasküler anatomiye göre sınıflamışlardır (13). 1987 de Taylor anjiozomları tarif etmiştir (14). Deri fleplerini greftlerden ayıran en önemli fark fleplerin perfüzyonlarını sağlayacak kendilerine ait kan damarları olmasıdır. Flebin kanlanmayı sağlayan bölümüne flebin pedikülü denilir. Deriye kan sağlayan vasküler sistemde direk kutanöz arterler, fasyokutan arterler, muskulokutan arterler yer alır. Flepler genel olarak alıcı sahada yetersiz kanlanma olan bölgelerde gereklidirler. Tam kat göz kapağı, dudak, kulak, burun ve yanaklarda, vücudun çıkıntılarında bulunan defektler bu bölgelere örnektir. Spesifik doku olarak kanlanması olmayan alanlar ise periosteumsuz kemik, perikondriumsuz kıkırdak, paratenonsuz tendondur. Bu bölgelerde de, greftin difüzyonla gerçekleşen beslenmesi sağlanamadığından, fleple rekonstrüksiyonu gerekli kılar (15, 16).

2.3.1. Deri Flepleri

2.3.1.1. Vasküler Anatomiye Göre Sınıflandırılması

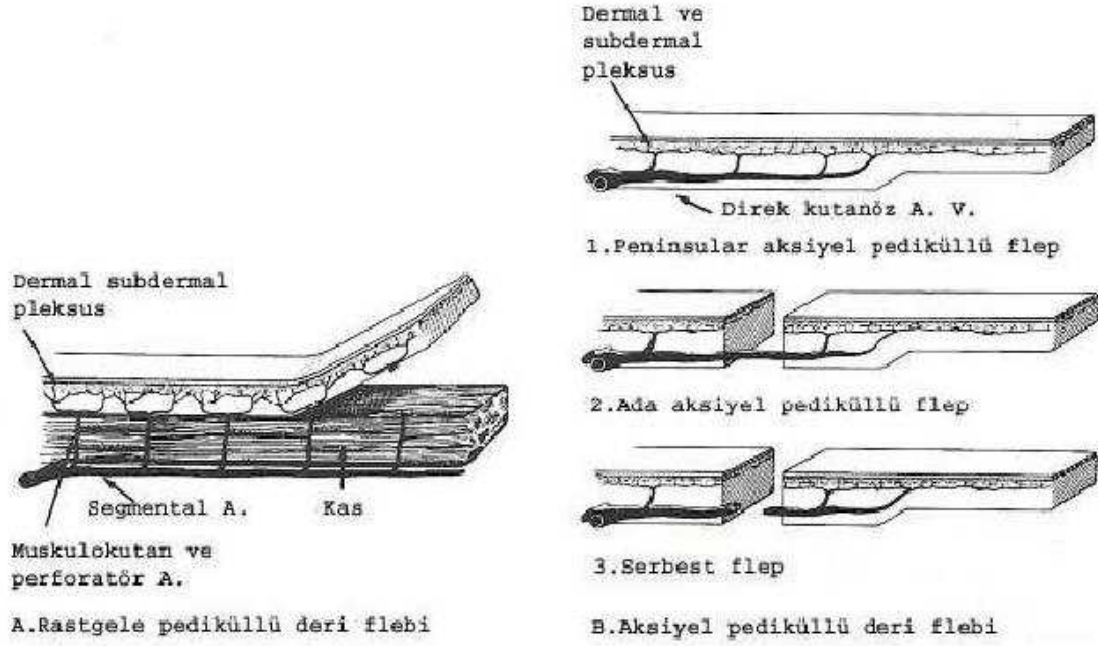
2.3.1.1.1. Random Paternli Flepler

Random vasküler pediküllü dizayn edilen fleplerdir. Lokal kutanöz flepler olarak da bilinen random paternli deri flepleri, muskulokutan veya perforatör arterlerin dallarının oluşturduğu subkutan pleksuslar ile beslenirler. Pedikülünden spesifik bir

arter ve ven geçmez. Vücudun herhangi bir bölgesinden hazırlanabilir. Uzunluk ile genişlik arası oran alt ekstremitede yaklaşık 2:1 iken bu oran bas boyunda 4:1 olmalıdır. Bu flep oranları genişletilecekse delay işlemi uygulanmalıdır (15,17).

2.3.1.1.2. Aksiyel Tasarımli (Arteryel) Flepler

Angiozomu belli deri lokalizasyonlarından dizayn edilirler. Arterleri ismi ile bilinen arterlerdir, pedikülden flebe arter ve ven girer ve bu arterler boyunca kaldırılırlar. Random paternli fleplere göre daha sağlam ve uzun fleplerdir. Flebin genişliği ve uzunluğu arasındaki oran 1:5-6'ya kadar çıkabilir. Bu fleplerin proksimali direk kutanöz arter ile beslenirken distali random flepler gibi dermal subdermal pleksusla beslenirler. Proksimalde direk kutanöz arter fasya altında seyrettiği için daha kalınlaşırlar. Direk kutanöz arter ve ven pedikülüne sahipse, yarım ada flep “Peninsular axial pattern flap”, pedikülünde vasküler sistem ve etrafındaki yumuşak doku kalacak şekilde kaldırılmış ise ada flep “Island axial patern flap” ve pedikülü donör alandan ayrılıp alıcı sahadaki vasküler sisteme anastomoz yapıldı ise serbest flep “Free flap” adını alırlar (Şekil 3). Derin ve yüzeyel venlerle drene olurlar (15, 17).



Şekil 3: Deri fleplerinin vasküler anatomiye göre sınıflaması

2.3.1.2. Hareketlerine göre Sınıflandırılması

2.3.1.2.1. Lokal Flepler

Defekt alanına en benzer alanlarla onarım en uygun olandır. En çok defekt alanına benzeyen ise defekte komsu bölgelerdir. Lokal fleplerde bu komsu bölgeler kullanılır. Lokal deri flepleri ikiye ayrılırlar. Bir pivot nokta etrafında dönen flepler (rotasyon, transpozisyon ve interpolasyon flepleri) ve ilerletme flepleri (tek pediküllü ilerletme flepleri, V-Y ilerletme flepleri Y-V ilerletme flepleri ve çift pediküllü ilerletme flepleri). Yashılarda lokal flepleri uygulamak ve yeni yerlerine adapte etmek genç hastalara göre daha kolaydır.

Dönen ve transpoze olan fleplerde en fazla gerim kuvveti, pivot nokta ile flebin en distal parçası arasında oluşur. Planlama yapılırken bu gerim hattına dikkat edilmeli ve flep uzunluğu yeterli planlanmalıdır (16).

2.3.1.2.1.1. Rotasyon Flebi

Rotasyon flepleri derinin ve subkutan dokunun “semisirküler flepler”dir. Bir pivotnokta etrafında defekt noktasına doğru dönerler. Donör alan deri grefti ile primer olarak kapatılabilir. Flep eğer çok gergin ise pivot nokta bölgesine “back-cut” kesi yapılır. Böylece gerilim noktaları olan pivot bölge ve flep en distali arasındaki mesafe uzatılmış, bu noktalar arasındaki gerim kuvveti azaltılmış olur. Bu işlem yapılırken pedikül alanı da daraltıldığından işlemin miktarı sınırlıdır. Ayrıca skalpte aponevrotik galea gibi kalın subkutanöz dokular var ise bu durumda da flebin “back cut” noktasından ilerlemesi zor olabilir. Bu gibi durumlarda pivot noktadan bir üçgen doku eksize edilir. Bu işlemde eksize edilen doku parçasına “Burow triangle” denir. Bilobe fleplerde bu gruptadır (15,17).

2.3.1.2.1.2. Transpozisyon Flebi

Deri ve deri altı dokunun kare yada dikdörtgen şeklinde hazırlanıp hemen yanındaki defekt alanına çevrilmesi ile elde edilirler. Flep planlanırken gerimi azaltmak için defekt alanı uzunluğundan bir miktar daha uzun olarak planlanır. Bu da yetmezse “back cut” yapılabilir. Verici alan deri grefti, primer onarım veya sekonder flep ile kapatılabilir. “Z plasty”, “Limberg”, “Dufourmentel”, interpolasyon flepleri bu gruptadırlar (18).

2.3.1.2.1.3. İnterpolasyon Flebi

Bu flepler raket şeklinde planlanan transpozisyon fleplerine benzeyen fleplerdir. Farkları hemen defekt alanı yanından planlanmazlar. Defekt ile aralarında köprü olan

sağlam deri dokusu bulunur. Bu köprü dokunun altından ya da üstünden pedikül geçirilir. pedikül flep vaskülarizasyonu sonrasında flepten ayrılabilir. “Monk’s eye lid flap” süperfisyal temporal arter bazlı bir alın flebidir. subkutanöz olarak tünelize edilip alt göz kapağına gelecek şekilde tünelden çıkarılır. Delto-pektoral (Bakamjian) flep, Littler nörovasküler parmak pulpa flebi gibi ada flepleri ve subkutan pediküllü flepler diğer flep örnekleridir. Bu tür flepler genelde kompozit ada flebi olarak bilinirler (18).

2.3.1.2.1.4. İlerletme Flepleri

Bütün ilerletme flepleri, laterale hareket etmeden, rotasyon hareketi yapmadan direk olarak defekte yönelip ilerlerler. Modifikasyonları tek pediküllü ilerletme flebi ve V-Y ilerletme flepleridir. Tek pediküllü ilerletme flepleri dikdörtgen veya kare olarak dizayn edilirler. subkutanöz dokunun ve derinin gerilmesi ile ilerlerler. Pedikülün her iki yanından Burow’s üçgenleri çıkarılarak ilerleme içi gerekli hareket alanı sağlanabilir. V-Y ilerletme fleplerinde deriye V-sekinde insizyon uygulanır. V’nin her iki tarafından defekte doğru flep ilerletilir. Arkada kalan insizyon kapatılır. Nazal kolumella oluşturulması, dudakta küçük çentiklerin düzeltilmesi, deri fleplerinin donör alanlarının kapatılmasında sıklıkla kullanılırlar (15, 16).

2.3.1.2.2. Uzak Flepler

Alıcı alana uzak bir bölgeden hazırlanan fleplerdir.

2.3.1.2.2.1. Direkt Flepler

Üst ekstremité rekonstrüksiyonlarında hala sıklıkla kullanılan fleplerdir. Genelde “random flap”lardır. “cross finger flap”, “thenar flap”, “cross leg flap” bu fleplere birer örnektir ancak serbest flepler bu fleplere alternatif olarak kullanıma girmiştir. Üst ekstremité rekonstrüksiyonlarında “groin flap” McGregor ve Jackson tarafından tanımlanmıştır (19). Bu flep el rekonstrüksiyonlarında sıklıkla kullanılan bir fleptir. 3

hafta kadar bir süre pedikül yardımı ile alıcı sahada revaskülarize olan flep pedikülü ayrılır. Sadece alıcı sahadan perfüze olabilecek hale gelir.

2.3.1.2.2.2. İndirekt Flepler

Vasıtalı flepler olarak da bilinirler. Tüp pedikülü vardır ve aşamalı olarak defekt alanına transfer olurlar. Flep eleve edildikten sonra, eleve edilen kısım tüp hale getirilerek kola nakledilir. Üç hafta sonra pedikülü ayrılarak, kesilen uç defekt alanına aktarılır. Üç hafta sonra flebin kola aktarılan kısmı kesilir ve tamamen defekt alanına aktarılır. Günümüzde çok nadir kullanılan fleplerdir.

2.3.1.2.2.3. Serbest Flepler

Uygun fleplerin besleyici vasküler veya nörovasküler pedikülü ile birlikte verici alandan alınıp, uzaktaki alıcı alan nörovasküler sistemine mikrocerrahi teknikle taşınması prensibine dayanır.

2.3.2. Modifiye McFarlane Flebi

Deneyisel araştırmalarda uygulanmak üzere tanımlanmış birçok flep modeli vardır. Ancak bunlardan bir kısmı uygulama ve takip zorluğu diğer bir kısmı ise güvenilirlik nedeni ile fazla rağbet görmemiştir. McFarlane flebi plastik ve rekonstrüktif cerrahide, flep yaşayabilirliğini araştırmada iyi tanımlanmış, kolay uygulanabilen, güvenilir ve sık kullanılan bir flep modeli olduğu için biz de çalışmamıza bu flep modelini tercih ettik. Flep, rat dorsal cildinde pannikulus karnosus kasını da içerecek şekilde, 1965'te McFarlane ve arkadaşlarının tanımladığı orijinal tekniğin, 1986'da Khouri ve arkadaşlarının modifiye ettiği teknik ile kaldırılmıştır (20,21). Flep yaşayabilirliği deneyleri için uluslararası kabul görmüş bir yöntem olduğu için çalışmada kullanılmıştır.

2.4. Flep Fizyolojisi

Pek çok flep random pediküllü olarak dizayn edilir ve dizayn edilirken uzunluk ve genişlik arasındaki denge ampirik olarak belirlenir. Baş ve boyun fleplerinde bu oran 4:1, 5:1 iken alt ekstremité fleplerinde güvenli oran 1:1, 1:2'dir. Derinin beslenme alanları ile ilgili topografik tasvir çalışmaları ilk olarak bir Alman anatomist Manchot tarafından 1889'da kadavralar üzerinde yapılmıştır. Sonraki dönemlerde Fransız cerrah-anatomist Salmon 1936'da geliştirmiştir. Kadavralarda intraarteriyel radyografik madde enjeksiyonları yaparak deride arteriyel sisteme ait detayları elde etmiştir. 1983'de Spalteholz kaslar ve sonrasında fasyal septalar arasından deriye ulaşan arteriyel sistemleri tanımlamıştır (9). Bu çalışma da fasyakutanöz ve muskulokutanöz fleplerin temelini oluşturmuştur. Bu çalışmalar anatomik temelde açıklayıcı, ancak potansiyel bölgesel vasküler perfüzyon hakkında yetersizdi.

Periferik vasküler topografik çalışmaları Manchot ve Salmon, Taylor ve arkadaşları yapmışlar ve anjiyozom konseptini tanımlamışlardır. Kompozit doku bloklarında bölgesel perfüzyonu sağlamada arter ve ona ait ven sisteminin birlikte perfüzyonu sağladığını göstermişlerdir. Anjiyozom kavramı dinamik bir kavramdır. Her anjiyozom alt tiplerine arteriyozom ve venozomlarına ayrılırlar. Her anjiyozom yanındaki anjiyozom ile ya bağlantı halindedir ve anastomoz yapar buna "true anastomoses" denir. Ya da kalibrasyonu incelerken diğer anastomoz ile bağlantı kurar, buna da "choke anastomoses" adı verilir. Flep "delay" prosedürü uygulandığında "choke anastomoses", "true anastomoses" kalibrasyonuna dilate olurlar. Bir sonraki aşamada Taylor ve Minabe vasküler bölgeleri tam olarak tanımlayabilmek için Salmon'un "retiform anastomoses" kavramını "choke anastomoses" kavramı ile birleştirmişlerdir. Arteriyel sisteme eşlik eden venöz bağlantıların ("oscillating veins")

olduğunu söylemişlerdir. Bu venlerin kapaksız venler olduğu ve her iki yönde kan akımına olanak sağladığı belirtilmiştir. Bu sayede ters akımlı flepler dizayn edilmiş ve fizyolojileri açıklanabilmiştir (17, 18).

2.5. Deri Kan Akımının Düzenlenmesi

Kutanöz kan akımı iki aşamada regüle edilir. Sistemik kontrol nöral ve humoral regülasyonun kontrolü altındadır. Bunlardan nöral regülasyon predominanttır ve primer olarak sempatik fiberler ile α -adrenerjik reseptörler üzerinden vazokonstriksiyon yaparak; β -adrenerjik reseptörler üzerinden vazodilatasyon yaparak etki ederler. Ek olarak seratonerjik reseptörler arteriyovenöz anastomozlar üzerinde bulunurlar ve vazokonstriksiyon yaparlar.

Bu mekanizma sayesinde, arteriyol ve arteriyovenöz anastomozlarda bulunan düz kasların tonusu değiştirilerek regülasyon sağlanır (17). Humoral regülasyonda sistemik vazoaktif maddeler spesifik reseptörleri üzerinden etkilidirler. En önemlilerinden epinefrin ve norepinefrin (NE) α -adrenerjik reseptörler üzerine etkir ve vazokonstriksiyon yaparlar. Diğer önemli vasokonstrüktörler seratonin, tromboksan A2 (TXA2), prostoglandin F2 α (PGF2 α) iken; vasodilatatörler prostoglandin E1 (PGE1) prostoglandin I2 (prostosiklin), histamin, bradikinin, lökotrien C4 ve D4'dur. Kan akımının lokal kontrolü başka deyişle otheregülasyonu, vücudun pek çok bölgesinde kontrol mekanizmasıdır. Özellikle metabolik hızın yüksek olduğu kas iskelet sistemi bu şekilde idare olunur. Hiperkapni, hipoksi, asidozis gibi metabolik faktörler vazodilatasyon nedenidirler. Ek olarak fiziksel faktörlerin pek çoğu da kan akımı regülasyonunda etkilidir. Artmış doku perfüzyon basıncı “myojenik refleks” i tetikler. Buda vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. Lokal hipotermi lokal kan akımını azaltarak direk vasküler düz kaslara vazokonstrüktör etkide bulunur. Hipertermide bunun tersi

etkidedir. Reolojik (akış bilim=maddenin sıvı halini inceleyen bilim dalı) faktörler sadece anormal kondisyonlarda kan akımına etkilerler (17).

Derin anemide reolojik özellikler önem kazanır, kanda hemodilüsyon gerçekleşir. Böylece flep kan akımı artarken distal flep yaşayabilirliği artar . Başka çalışmalarda flep yaşayabilirliğini çok az etkilediğini ya da hiç etkilemediğini söylemektedirler. Çünkü reolojik ilerleme oksijen sunumundaki azalmayı dengelemektedir . Kas dokuda kapiller dansitesi, deriye oranla daha yüksektir. arteriyovenöz şantlar yoktur. Kas dokular yüksek kan akısına ihtiyaç duyarlar. Bu yüzden metabolik hadiselerden daha çok etkilenirler. Kaslar deri gibi termoregülatuar organlar olmadığından ısı değişimleri kaslardaki kan akımını çok az etkilerler. Kan hücreleri ve plateletlerden direk olarak salgılanan vazoaaktif maddeler travma sonrası salgılanarak kan akımını regüle ederler. Uygulanan flep operasyonları sonrasında meydana gelen denge değişiklikleri ve bozulmalar kan akımının regülasyonu ile birlikte yavaş yavaş düzelir. Sempatik innervasyondaki ani kayıp spontan olarak vazokonstrüktör nörotransmitterlerin salınımına neden olur. perfüzyon basıncı düşer. 24 saat içinde flep distalinde mikrosirkülasyon bozularak nekroz gözlenmeye baslar.

Banbury ve arkadaşları sempatektomi sonrası periferik mikrosirkulatuar dokunun cevabını cremaster kas fleplerinde tanımlamışlar (22). Anlık akut hiperadrenerjik fazı nonadrenerjik faz takip etmiş. Bu aşamada belirgin vazodilatasyon olmuş. Sonrasında sensitize faz gelmiş ki bu fazda da kapiller perfüzyon artmış vazoaaktif maddeler salınmış.

Flep elevasyonu sonrası flep yaşamını belirleyen, elevasyonla birlikte meydana gelen hemodinamik, anatomik, metabolik değişimlerdir. Hemodinamik değişimler özellikle önemlidir. Birçok çalışma, flep ucunda kan akımının, elevasyon sonrası 6-12

saat içinde normal değerlerinin %20'sine düştüğünü gösterir. aşamalı olarak 1-2 hafta içinde normalin %75'i geri dönerken, % 100'u 3-4 hafta içinde döner. Akım geri dönüşü pedikülden flep iskemik kısmına doğru uzunlamasına doğrultuda gerçekleşir. Diğer taraftan flep yatağından da revaskülarizasyonla yeni başlayan kan akımı da önemlidir. İnce fleplerde yataktan dönüş doğrultusu oldukça önemliyken, kalın fleplerde daha az önemlidir. muskulokutanöz fleplerde kutanöz komponentin perfüzyonu perforatör damarlar aracılığı ile sağlanırlar. muskulokutanöz fleplerde erken dönemde kan akımında devamlı surette artan bir seyir gözlenirken random fleplerde erken dönemde azalma mevcuttur. Random paternli fleplerde oksijen doygunluğu da, muskulokutanöz fleplere göre daha az bulunur. 6. günden sonra oksijen doygunluğu artar. Bu sebeple enfekte bölgelerde oksijen doygunluğu yüksek olan muskulokutanöz fleplerin tercih edilmesi uygun olacaktır. Çünkü oksijen doygunluğu yüksek olan fleplerde bakteriyel öldürme fonksiyonları daha etkilidir. Flepte 1-3 gün sirkülasyonda hiç düzelme yoktur. Longitudinal anastomozların sayısı ve çapı artar, pediküldeki küçük damarların sayısı artar. 3-7 gün içinde dolaşım progresif düzelir. 7. günde plato yapar. 2-3. günlerde görülmeye başlayan flep yatak arasındaki vasküler anastomozlar 5-7. günlerde fonksiyonel hale gelir. Fonksiyonel damarların sayı ve büyüklükleri artar. Damarlar flebin uzun aksı boyunca ilerler. 1. hafta sonrasında flep ile alıcı yatak arasındaki dolaşım düzelmiştir. Pulsatil kan akımı preoperatif seviyelere ulaşır. 7-14 gün içinde vaskülarizasyonda daha fazla dikkate değer artış olmaz. Arteriyel patern normale döner. 3 hafta sonunda vasküler yatak operasyon öncesi duruma yaklaşır. Flep dolaşımının %90'nını elde eder. Pedikülle alıcı saha arasındaki vasküler bağlar tam olarak gelişir. 4 hafta sonunda bütün damarların çapında azalma olur.

2.6. Delay Fenomeni

Geciktirme işlemi distal flep canlılığını düzeltmede klinik olarak da uygulanabilen tek güvenilir metottur. Geciktirme prosedürü flebin her iki kenarının insizyonu ve distal kısmının yatağından ayrılmasını takiben, iskemiye yol açan uygun bir bekleme donemi sonrası alıcı yatağa transferidir. Etkinliği kanıtlanmış en önemli yöntemlerden biri olan delay işleminde ya kan akımına paralel olarak deri insize edilir ya da flep altı disseke edilir. Buna karar verirken muskulokutan perforatörlerin veya direk kutanöz arterlerin yoğunluk oranına bakılır.

Muskulokutan damarlar yoğun bölgede disseke edilirken, muskulokutan az ve direk kutanöz arterler fazla ise deri insize edilir. Bu sayede damar genişliğinin, damar sayısının, kan akımının arttığı; damarların flebin uzun aksı boyunca oryante olduğu gösterilmiştir (10). Bu şekilde flep bir defada kaldırılabilen boyundan daha fazla uzunlukta nekroze olmadan hazırlanabilir. Braithwaite 1951’de delay işleminin flep damar sayısını artırmadığını ancak özellikle subdermal venlerin çapında genişleme olduğunu savunmuştur (3). Bu sayede flep yaşamı artırılabilir. Sağlanan bu genişleme geri dönüşümsüzdür ve operasyon sonrası meydana gelen vazokonstriksiyon 3 saate çözülmektedir.

Yapılan bir çalışmada geniş ada deri flepleri abdominal organlardaki defektlerin kapatılmasında ratlarda uygulanmış. Vazodilatatör ajanların bu fleplerdeki etkisi incelenmiş ve cerrahi geciktirme prosedürü ile benzer etkilere rastlanmıştır (23). Myers ve Cherry başarılı bir delay işlemi için flebin aksiyel damarlarının bir kısmının ayrılması ve flebin hafif iskemiye sokulmasının sonraki iskemilere dayanıklılığı artırabileceğini söylemişlerdir. Transvers rektus abdominis (TRAM) fleplerinde random beslenen 4.bölgedeki kan akımı geciktirme işlemi sayesinde artırılabilmiştir (17).

“Ischemic preconditioning” dokunun hafif derecede kısa süreli iskemiye maruz bırakılması işlemidir. Flep yaşamını artırmak amaçlı “mekanik ve farmakolojik preconditioning” işlemi uygulanabilir. Murry bu işlemi ilk olarak sıçan myokardında iskemiye azaltmak amaçlı kullanmıştır. Bu işlem erken ve geç faz olmak üzere iki aşamada etki etmektedir. Erken faz ilk 4 saate koruyuculuk sağlarken geç faz 24-72 saate kadar etkili koruma sağlar . Bazı yazarlar protein fosforilasyonunu sağlayan protein kinaz-c (PKC) aktivasyonu ile “Ischemic preconditioning” olayının gerçekleştiğini iddia etmektedirler ancak tam olarak açıklanabilmiş bir mekanizma yoktur. Protein kinaz-c’nin K-ATP (Potasyum- Adenozintrifosfat) kanal sinyal iletim yoluyla bu etkiyi oluşturduğu tahmin edilmektedir (17). “Preconditioning” ile doku metabolizması, serbest oksijen radikalleri azalmakta, vazodilatasyon gelişmekte ve distal kan akımını düzeltilmektedir. Endotel derive relaksasyon faktörlerinin salınımı da vazokonstriksiyona engel olmaktadır (3).

2.7. Fleplerde Nekroz

Flepler kompozit dokular içerirler. Doku içeriklerine bağlı olarak da iskemi reperfüzyon dayanıklılıkları değişkendir. Kas fleplerinde kapiller ağ, doku kesitlerinde daha fazla olmasına rağmen iskemi dayanıklılık süresi fasyokutan fleplere göre daha azdır. Fleplerde nekrozun flep distalinde gerçekleşmesinin nedeni, elevasyon sonrası perfüzyon basıncının en düşük olduğu yerin flep distali olmasıdır. Fleplerde distalde arteriyollarda vazokonstriksiyon da bu sürece katkıda bulunmaktadır. Flep yaşamını artırmada en önemli çalışmalar geciktirme fenomeni üzerine kurulmuştur. arteriyovenöz şantlar, oksijen yoğunluğu yüksek kanın flep distaline ulaşmadan, proksimalde şant döngüsüne girmesine neden olur. Arteriyel kan, kendisi ile arasındaki basınç gradyeni

yüksek olan venöz kana karışır. Bu da flep distalinde nekroza yol açan mekanizmalardan biridir. Oysa geciktirme fenomeni uygulanan hastalarda bu şantlar geriler. Kerrigan ve arkadaşları ise çalışmalarında arteriyovenöz şantların etkili olmadığını savunmuşlardır. perfüzyon basıncı ve vazokonstriksiyon fizyopatolojide etken olarak savunulmuştur (17).

Özetle flep elevasyonu sonrası besleyen damarlar ve sempatik sinirler flepten ayrılır. İlk 12-18 saat içinde dramatik olarak flep distalinde kan akımı azalır. Kan akımı azalması sonrasında vazokonstriktör madde salınımları nedeni ile akım daha da azalır. Sempatik nörotransmitterler 12-24 saat içerisinde tükenirler. 2-3 gün sonra da flep yatağından revaskülarizasyon meydana gelir. Flep distalinde bulunan iskemi 6-12 saat boyunca devam ederse dolaşım sağlandığında reperfüzyon yaralanması nedeni ile mikrovasküler kapanma meydana gelir ve genellikle dokularda nekroz gelişir (17).

Kihiabani ve Kerrigan yaptıkları çalışmada iskemi sonrası reperfüzyon yaralanması olayında kas ve deri fleplerinde farklılıklar tespit etmişlerdir. Kas fleplerinde reperfüzyon sonrasında erken hiperemik fazda vazoaktif maddeler etkisi ile kan akımının arttığını gösterirken, yine bu vazoaktif maddeler nedeni ile deri fleplerinde vazokonstriksiyon olmaktadır (17, 24).

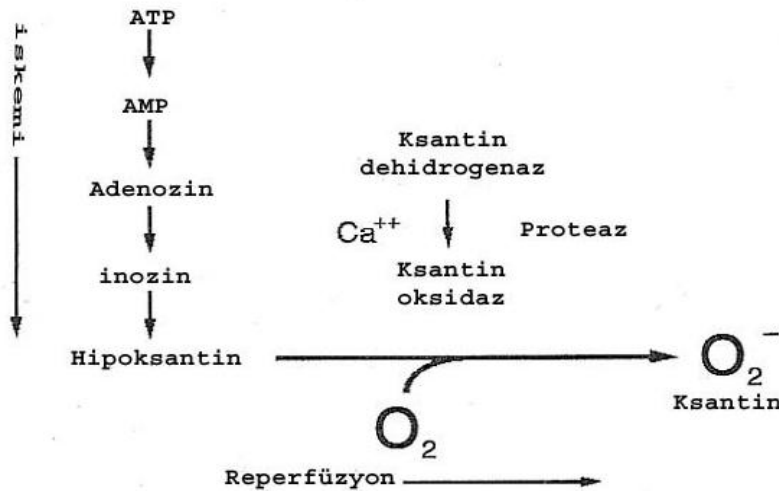
Arteriyel yetmezlikler flep nekrozunda oldukça önemli olmasına rağmen venöz dönüşte oldukça önemlidir. Serbest doku nakillerinden sonra venöz oklüzyona bağlı flep kayıpları daha ön plana çıkmaktadır (14). Yapılan hayvan çalışmalarda sekonder iskeminin primer iskemiye oranla flep kaybında daha kötü sonuçlar doğurduğu bilinmektedir.

Kerrigan ve arkadaşları flebin herhangi bir yerinde gelişebilecek nekrozda uç teori tanımlamışlardır: Birincisi geniş flep dizayn edilmesine bağlı beslenme yetersizliği, ikincisi arteriyel tromboz, üçüncüsü venöz trombozdur. Random ve aksiyel pediküllü fleplerde vasküler sistemde tromboz; flep pedikülüne bası, sepsis, hipotansiyon, sigara kullanımı, vazokonstriktörler nedeni olur. Bu sayılan olaylar nedeni ile mikrosirkülasyonda kan akım debisi düşmekte ve göllenme nedeni ile tromboz oluşmaktadır. Serbest fleplerde ise tromboza neden olan anastomoz hattındaki endotel yüzey bozukluklarıdır. Antiplatelet ve antitrombotik tedavi bu sebeple yararlı olabilir (7).

Elevasyon sonrası flepte, hemodinamik, anatomik, metabolik değişimler meydana gelir. Bu değişikliklerden metabolik olanları özellikle flep distalinde daha yoğun yaşanmaktadır. İskemik dokularda karbondioksit (CO_2), laktik asit seviyesi artarken; oksijen (O_2), glukoz ve ATP seviyeleri düşer. Anaerobik metabolizma ile glikolizasyon gerçekleşmeye başlar. PGI_2 (prostasiklin I_2) ve TX (tromboksan) gibi vazokonstriktör madde salınımları ve seviyeleri artar.

Glukoz ve glikojen tüketimi artar; glukoz tüketimi üçüncü günde pik yapar ve yedinci günde normale döner (17). Anaerobik glikolizasyonla birlikte reaktif oksijen radikallerinde (ROS) artış meydana gelir. Artan radikaller direk olarak hücre zarında lipid peroksidasyonuna neden olarak toksik etki gösterirler. Lokal olarak akut inflamasyona, lökositlerin birikimine ve adezyona, sonuçta mikrovasküler kapanmaya yol açacak endotel hasarına neden olurlar. Antioksidan enzimlerden superoksit dismutaz seviyeleri, superoksit oksijen radikalini oksijene çevirerek tüketildiği için flep distalinde oldukça azalır (17, 25).

İskemi reperfüzyon sonrası ATP, yıkımı sonrası, oksijenle birleşerek ksantin oksidaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla sürekli olarak hipoksantine (ksantin oksidaz) dönüşür. Bu oluşan ürün bir superoksit anyonudur. Bu anyon diğer oksijen radikallerinin bir formudur ve onların oluşmasının onunu acar. İskemik süreçte düşen enerji seviyeleri, iyon konsantrasyonunun bozulmasına neden olur. Sitoplazma içine kalsiyum girişi artar. Kalsiyum sitozolik enzimleri aktive eder. Böylece endotelde bulunan ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür. Bu enzim de normalde, ATP yıkımı sonrasında oluşan hipoksantini redükte edecekken, iskemiye takip eden reperfüzyon ile ortama gelen oksijenle reaksiyona sokarak, okside eder ve oksijen radikalleri oluşur (Şekil 4). Reperfüzyon ile birlikte primeri superoksit radikali olan hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri oluşur. İn vitro ortamda oksijen radikalleri veya endotel hipoksisi nötrofillere etki eden kemoatraktanları artırır. Böylece inflamatuvar nötrofil göçü artar.



Şekil 4: Reperfüzyon sırasında hücre hasar oluşturan toksik oksijen radikallerinin mekanizması

İki mekanizma ile hücre hasar meydana gelir. Endotel membranında bulunan lipidler peroksit olurken membran proteinleri parçalanır. Sitoplazma bütünlüğü

bozulur. İkinci mekanizma da ise oksijen metabolitleri direkt kendileri kemoatraktandır. Reperfüze alana nötrofil göçü olur. nötrofil bu alanda doku parçalanmasına neden olur (17). İskemi reperfüzyon hasarı infarkt, vasküler hastalık, organ transplantasyonu ve sok gibi hastalıkların patogeneğinde etkindir. Çalışmalarda dokularda bulunan nötrofil kümelenmesi ile doku hasarı arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir (26). Dolaşımdaki PMNL (polimorf nüveli lökosit)’ler yok edilerek iskemi sonrası reperfüzyon hasarının azaltıldığı bilinmektedir. Hızlı olarak dolaşımda nötrofil artışı perfüzyonda ani azalmaya neden olmaktadır (26). Nötrofiller intravasküler yoğunlaşarak ya kümeler oluşturmakta ve mikrovasküler oklüzyona neden olmaktadır ya da direkt olarak endotele zarar vermektedirler.

2.8. Flep Yaşamına Etki Eden Maddeler

En yüksek flep yaşayabilirliğini sağlamak için bilinen en önemli operatif faktörler; flep seçiminin ve dizaynının iyi yapılması, alıcı sahaya dikkatli debridman uygulanması, flebin dikkatli elevasyonu ve yerleştirilmesi post operatif dönemde de flebin takibinde non invaziv monitörizasyon metotlarının uygulanmasıdır (17).

2.8.1. Fiziksel Ajanlar

Çevresel fiziksel faktörlerden nemli ortamın yara iyileşmesinde olduğu gibi flep yaşamını da artırıcı etkide olduğu gösterilmiştir. Çünkü nemli ortam iskemik dokunun kurumaya bağlı kaybını azaltmaktadır. Lokal ısı uygulamaları hipotermiye neden olduğu vazokonstriksiyonu, kan viskozitesindeki artışı engelleyerek flep yaşamına olumlu etkide bulunurlar. Diğer taraftan hipotermiye metabolik hızı azaltarak reperfüzyon yaralanmasından koruyucu etkide olduğu da bir gerçektir (3, 17).

Yapılan çalışmalarda hayvanların, vücut ısılarının üzerinde ısıya maruz kaldıklarında stres durumuna geçtikleri ve “ısı şok proteinleri” sentez ettikleri bilinir. Buna “ısı şok

cevabı” denilir. Isı şok proteinleri endotele affinitesi yüksek olan proteinlerdir. Isı şok cevabı hipoksi, hipoglisemi ve toksin maruziyeti durumlarında da oluşur. Flep canlılığı bu cevapla artar (3).

Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi ise flep yaşamını artıran diğer bir faktördür. Nemli ortam gibi bu tedavi metodu da yara iyileşmesinde başarı ile uygulanmaktadır. Postkapiller venüllerde nötrofil adezyonunu azaltarak, superoksit dismutaz enzim etkisini artırarak etki eder (3).

2.8.2. Farmakolojik Ajanlar

2.8.2.1. Antikoagulanlar

Dekstran bakterilerin sükrozdan sentezlediği bir makromoleküldür. Dekstran flep cerrahisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır. Dekstran 40 (40000 moleküler ağırlık) ve 70 (70000 moleküler ağırlık) olmak üzere iki formu Rothkopf ve arkadaşları tarafından denenmiştir. Bu özelliği sebebi ile intravasküler sıvı volümünü artırmaktadır. Volüm genişletici olarak da kullanımı vardır. Anafilaksi, pulmoner ödem, aşırı volüm genişlemesi, kanama, karaciğer harabiyeti gibi yan etkileri vardır. Sure ve doz kısıtlı olarak dikkatli kullanılmalıdır. Yaşlı hastalarda rölatif kontrendikedir. Kan viskozitesini azaltır, trombosit agregasyonunu ve adezyonunu engeller, kanama zamanını uzatır, iskemik flepte yararı tartışmalıdır (3, 17).

Hydroxyethyl starch (HES) plazma hacim genişletici olarak kullanılan yeni bir diğer kolloiddir. Dekstrana ustun yanı HES uygun dozlarda verildiğinde kanama komplikasyonu olmamaktadır. Geniş klinik çalışmalarda etkili olduğu gösterilememiştir.

Heparin bir antifibrin ajandır. Antitrombin III'e bağlanarak çalışır. Bu sayede trombin gibi birçok pıhtılaşma faktörü inhibe olur. Anastomoz hatlarında lokal irrige edici olarak ya da sistemik olarak kullanımları mevcuttur. Mikrocerrahide irrigasyonda 100 U/ml dozunda kullanılmaktadır. Kanama ve hematoma neden olabilir. Rumbolo ve arkadaşları mikrovasküler prosedürlerde irrige solüsyonlara eklenen heparin ve ürokinazın etkilerini araştırmışlardır. Güçlü antikoagulan etkilerine rağmen hiçbir ajan serbest fleplerin canlılığında bir fark yaratmamıştır (17).

Geleneksel tedavi metotlarından sülükler de ısırıkları yerde venöz konjesyonu önlemek, buna bağlı dekompresyon yapmak, vazodilatatör etkiler göstermek gibi etkileri ile özellikle serbest fleplerde kullanılmışlardır. Isırıkları yere enjekte ettikleri hirudin antikoagulan etkilere sahiptir ve aktive olmak için heparin gibi anti-trombin III'e ihtiyaç duymaz. Vazodilatatör etkilerini ise hyaluronidaz ile gösterirler. Ayrıca hyaluronidaz bağ dokuda parçalanma sağlar ve heparinin derin venöz dokulara ulaşmasını sağlar. Arteriyel yetmezlikte kontrendikedir. Kanama ve "Aeromonas hydrophila" gibi bakteriyel enfeksiyonlara yol açabilecek komplikasyonlara neden olabilir. Bu etkisini önleyebilmek için ikinci kuşak sefalosporinlerin tedavi sürecinde verilmesi yeterli olacaktır (17).

2.8.2.2. Reseptör ve Akson Blokörleri

Flep elevasyonu ile birlikte cerrahi olarak sempatik sinir blokajı da gerçekleştiğinden katekolamin deşarjı olur. NE (norepinefrin), E (epinefrin), serotonin, PGF₂, TXA₂, endotelinler vazokonstriktör olarak salgılanırlar. Alfa adrenerjik sistem sayesinde gerçekleşen bu vazokonstriksiyon flebin en fazla distal kısımlarında iskemiye neden olur (18). Antiadrenerjik ilaçların enjekte edilerek sıçan deri fleplerinin distal, orta ve proksimal bölgelerinde norepinefrin, ATP, c-AMP (siklik adenosin monofosfat)

ve laktat düzeyleri ölçülerek flep canlılığı değerlendirilmiştir. Antiadrenerjik etkilerini nörotransmitter salınımı ya da adrenerjik sinire geri alınımını bozarak gösterirler. Rezerpin ve guanetidin flep canlılığını artırırken norepinefrin düzeyini düşürdüğü, ATP ve c-AMP seviyelerini artırdığı görülmüştür (18,27). Baş ve boyun fleplerinin yaşayabilirliğine fentolaminin olumlu etkileri bildirilmiştir (27).

Sellüler iskemik yaralanmada ve sonrasında oluşan oksijen radikalleri oluşumunda hücre kalsiyum dengesi patogeneizde sıklıkla tartışılan faktörlerdendir. Verapamilin kalsiyum kanal blokörü etkisi ile oksijen radikallerine karşı özellikle kısa dönemde yaşanan iskemide koruyucu etkisi bildirilmiştir (28).

Beta adrenerjik reseptör blokörü isoxuprine intraperitoneal olarak elevasyondan bir hafta öncesinde uygulandığında abdominal ada deri fleplerinin yaşayan alanlarını tama yakın artırmıştır (30).

Angel ve arkadaşları klorpromazinin flep yaşayabilirliğinde yararlı etkileri olduğunu bulmuşlardır. Etki mekanizması norepinefrinin vazokonstriktif etkisini azaltarak ve vazodilatasyon yapan alfa adrenerjik blokaj yaparaktır (3).

Cordeiro ve arkadaşları fenilepinefrin ve dopaminin flep yaşamına etki etmediğini, dobutamin ile hem flep kan akımı hem de kardiyak out-putta artış olduğunu açıklamışlardır (3).

Ichioaka ve arkadaşları selektif fosfodiesteraz-3 inhibitörü olan amrinone'nun pozitif inotropik ve vazodilatör etkileri nedeniyle flep mikrosirkülasyonunda artışa neden olduğunu gözlemlemişler (3).

eNOS'ın uyardığı NO in fleplerin yaşayabilirliğini arttıran çalışmalar mevcuttur. NO'in flep yaşayabilirliğindeki mekanizmalardan biri de Vascular Endothelial Growth factor(VEGF)' yi arttırmasıdır (29,116,117,118,119,120).

2.8.2.3. Direkt düz Kas Gevşeticileri

Önemli sayıda çalışmada diltiazem, nifedipin, nitrendipin, verapamil gibi damar duvarı kaslarında vazodilatasyona neden olan kalsiyum kanal blokörleri ile tedavi edilen sıçanlarda flep canlılığının arttığını göstermişlerdir. Bu ajanlarda başka etki mekanizmaları da mevcuttur. Diltiazem damar endotel hücrelerde potent vazodilatördür. Trombositlerin agregasyonunu, prostosiklin salınımını uyardığını bilinmektedir. Jernbeck ve arkadaşları dolaşımı bozulmuş fleplerin tedavisinde intravenöz kalsitonin geniyle ilişkili peptidin klinik uygulamasını tarif etmişlerdir (3). Topikal dimethylsulfoxide (DMSO), 88 hastada mastektomi sonrası flep distalindeki nekrozu azaltmada başarılı bulunmuştur (31).

Antioksidan ve demir şelatörü olan “desferoxamine” sıçanlarda antioksidan etkileri ile flep yaşayabilirliğini artırmıştır (32).

Rand-Luby ve arkadaşları DMSO'nun topikal uygulamasının serbest radikal yakalamayı veya trombosit agregasyonunu azaltarak ve vazodilatasyonla deri iskemisini kontrol ederek insanlarda flep canlılığını artırdığını belirtmişlerdir. DMSO'nun klinik kullanımı için güvenli olduğunu bulmuşlardır (3).

Damar düz kaslarında relaksasyonu inhibe ettiğine inanılan lidokain ve pentobarbitalin topikal etkileri Wadstrom ve Gerdin tarafından çalışılmıştır. Mekanik olarak indüklenen vazospazmda etkili çözülme olmasına rağmen; mikrovasküler tromboz gibi etkilerini de saptamışlardır (3).

Saetzler ve Gala kronik periferel vasküler oblitere edici hastalıkların tedavisinde kullanılan vazoaaktif bir ilaç olan “buflomedil” in etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu ilaç eritrositlerin deforme olma özelliğini artırarak, trombosit agregasyonunu azaltarak ve lökosit adezyonunu azaltarak etki etmektedir. Buflomedil’in iskemi-reperfüzyon hasarına maruz kalan flepleri koruduğunu keşfetmişlerdir. Alfa adrenerjik aktivasyonu inhibe ettiği düşünülmesine rağmen Saetzler buflomedil’in intrasellüler ATP ve c-AMP konsantrasyonlarını artırdığını düşünmektedir. Nieto ve arkadaşları hidralazine üzerine çalışmışlardır. Bu ilacın intrasellüler c-AMP konsantrasyonlarını artırarak arteriyel düz kaslarda relaksasyona neden olduğu bu mekanizma ile flep canlılığını önemli ölçüde artırdığını tespit etmişlerdir (3).

Vazoaaktif ilaçlardan buflomedil hydrochloride “mice” kulaklarındaki saçsız alandan kaldırılan fleplerde denenmiş. Lokal olarak uygulanmış. mikrovasküler perfüzyon flep orta distal ve proksimali de dopler ile incelenmiş. 1.günde flebin tüm bölgelerinde flep yaşamının arttığı gözlenmiştir (33).

2.8.2.4. Kanın Reolojik özelliğini Değiştiren Ajanlar

Kanın reolojik özelliğini değiştiren ajanlardan fluorokarbonlar kanın oksijen taşıma kapasitesini artırıp, kan viskozitesini azaltarak mikrosirkulasyonu düzeltirler. Bazı yazarlar %20 fluosal-DA (Fluosol) verilen sıçanlarda, flep canlılığının arttığını göstermişlerdir. Diğer bazı araştırmacılar ise fluosol uygulaması ile flep canlılığının artmadığını belirtmişlerdir. Pentoksifilin ise başka bir hemorajik ajandır. Eritrositlerin deforme olma özelliğini artırarak kan akımı özelliğini değiştirir. Pentoksifilin kan viskozitesinde azalmayla sonuçlanan fibrinojen seviyelerinde azalmaya neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda oral verilen pentoksifilinin flep canlılığını artırdığı görülmüştür. Eritrositlerin damar endoteline yapışmasını azaltan ve eritrositlerin

deforme olma özelliğini artıran piracetam verilerek sıçan deri fleplerinde doza bağımlı olarak distal nekrozun azaldığı görülmüştür (3).

2.8.2.5. İskemiye Toleransı Artıran Ajanlar

Steroidler iskemi toleransını artırmada kullanılmışlardır. Onları etkileri membran stabilizasyonunu artırmaktır. Non-spesifik anti inflamatuvar etki gösterirler. Erken dönemde antinötrofilik mekanizma ile bunu sağlarlar. Ayrıca doku ödemi azaltırlar. Enfeksiyon riskini artırmaları ve sistemik yan etkileri nedeni ile dikkatli kullanılmalıdırlar (17). Birçok yazar prednizolonun, allopurinol ile birlikte kullanımının tek kullanımına göre flep canlılığını daha fazla artırdığını tespit etmişlerdir. Prednizolon daha etkili olması için operasyon öncesi başlanması gerekmektedir. Steroide en az operasyon sonrası 48 saat devam edilmesi gerektiğini ve prednizolonun random paternlilere göre aksiyel paternli fleplerde daha etkili olduğunu savunmuşlardır.(3)

Deksametazonun da flep yaşamını artırdığına dair çalışmalar vardır (3,13). Kargı ve arkadaşlarının çalışmasında deksametazon ile karnitinin birlikte kullanımı ile flep yaşamını artırmada sinerjistik etki elde edildiği bildirilmiştir (34).

Hoşnuter ve arkadaşları lokal deksametazon uygulaması ve “ischemic preconditioning” metodunu birlikte uygulamışlar ve sadece deksametazon uygulanan ve sadece pedikülü klemplenen gruplara göre anlamlı düzeyde flep yaşayabilirliğinde artış tespit etmişlerdir (35). Desferroksamin serbest radikalleri bağlama ve demir tutma özelliklerine sahiptir. Bu ajanın da flep yaşayabilirliğini artırdığı tespit edilmiştir (3).

Total venöz oklüzyon yapılarak nekroz oluşturulan deri fleplerinde mannitolun ve anisodaminin etkileri araştırılmıştır. Atropin analogu etkileri nedeni ile sıçan modellerinde, toksik oksijen radikallerine bağlı hasarı önledikleri ve kapiller reperfüzyonu artırdıkları tespit edilmiştir.

Bazı yazarlar sıçan modellerinde antioksidan olarak bilinen koenzim-Q-on ‘nun iskekiye bağılı reperfüzyon hasarından dokuyu koruduğunu göstermişlerdir. Çeşitli araştırmacılar ise iskemik hasarlı deri flepleri için operasyon sonrası fosfokreatinin infüzyonu ile deri flebi yaşayabilirliğini artırdıklarını ileri sürmüşlerdir (3).

Granülositlerin flep nekrozunun gelişiminde kapiller kapanmaya neden oldukları, superoksit radikalleri sentezledikleri pek çok çalışmada gösterilmiştir. Adenozin ise iskemik hücrelerden salgılanarak granülositik superoksit radikallerin sentezini bloklar. Bu verilerden hareketle “5-Aminoimidazole-4-carboxamide” ise adenozinin iskemik hücrelerden salınımını sağlayarak indirekt olarak radikallerin sentezini bloklar. Yüksek dozlarda bu pürin analogunun flep distalinde nekrozu azalttığı gösterilmiştir (36).

Multiajan tedavilerde flep yaşamını artırmak için denenmiştir. Antioksidan allopürinolle vazodilatatör nitrogliserin hayvan deri fleplerinde çalışılmıştır. Transdermal olarak uygulanan nitrogliserin, flep yaşamını artırmada allopurinol ile additif olarak etkileşmiştir.

2.8.2.6 İskemi ve Anjiogeneziste Büyüme Faktörlerinin Rolü

Kök hücrelerin daha önce terapötik anjiyogenezis yapıcı etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olup flep cerrahisinde kullanımına ait ilk çalışma ise Ichioka ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (94). Sıçanlarda yaptıkları bu çalışmada, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin dorsal cilt fleplerindeki revaskülarizasyon üzerine etkisi araştırılmış ve kapiller dansitede iskekiye reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde belirgin artış tespit etmişlerdir.

Anjiogenez terimi ilk kez plasentadaki yeni damar oluşumunu tarif etmek için 1935’te kullanıma girmiş ve daha sonra tüm yeni damar oluşumları için kullanılır

olmuştur. Dokuların normal büyüme ve gelişmesi için damar proliferasyonu gerekli bir işlem olmasına rağmen erişkinlerde angiogenez nadir olarak gözlenir. Üreme sisteminde folikül ve korpus luteumda, hamilelik sonrası plasentada, yara ve kemik iyileşmesinde normal olarak gerçekleşirken; tümörlerde, diyabetik retinopati gibi durumlarda kontrolsüz ve patolojiktir. Bu nedenle angiogenezi uyaran ve durduran bir takım faktörlerin araştırılıp bulunması vücudun normal ve patolojik işleyiş mekanizmalarının kısmen de olsa aydınlanmasını sağlamıştır. (38).

Angiogenez çeşitli angiogenik faktörler tarafından doğrudan ya da dolaylı olarak başlatılıp yönlendirildiği bilinen kompleks bir mekanizmadır(39). Son yıllarda büyüme faktörlerinin yara iyileşmesini ve angiogenezi olumlu yönde etkilediğinin saptanıp etki mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması, araştırmacıların kemik, yara, tendon, sinir iyileşmesine yönelik deneysel ve klinik uygulamalarında bu faktörleri daha büyük ilgi ile kullanmalarına neden olmuştur(40). Büyüme faktörleri polipeptid sitokinlerdir ve tüm vücutta kendilerine özgü reseptörler üzerinden etkilerini göstermektedirler (41). Dolaşımda bulunan trombositlerin α -granüllerinde VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF β 1 ve β 2 (Transforming Growth Factor- β 1 ve β 2), bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) gibi pek çok büyüme faktörü depolanmış durumdadır. Çeşitli uyaranlara karşı trombosit aktivasyonu olduğunda bu maddeler granüllerden salınırlar (42, 45).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF): Fibroblast ve düz kas hücreleri üzerinde mitojendir ve yara iyileşmesinin erken dönemlerinde ilk saptanan moleküllerden birisidir. AA, AB ve BB şeklinde üç izoformu olan PDGF molekülü hücre membranındaki reseptörlere bağlanınca sitoplazmadaki yüksek enerjili fosfat bağı içeren bir sinyal proteini aktive olur ve bu sinyal iyileşmede görevli hücrelerin

çoğalmasına, anjiogeneze, kollajen, fibronektin, hyaluronik asit üretilmesine, diğer büyüme faktörleri ve hücrelerin fonksiyonlarının artmasına aracılık eder. Böylece fibroblastik ve osteoblastik faaliyetler artar, hücreler farklılaşır, büyüme faktörlerinin makrofaj gibi hücreler üzerindeki etkileri hızlanmış olur(46). PDGF insan mezenkimal hücreleri için de primer mitojen olan bir büyüme faktörüdür. Bu etki plazmada diğer büyüme faktörlerinin bulunmasına bağlı olup interferon- γ sayesinde daha da artar(42, 47, 48). PDGF'nin nötrofil, monosit, makrofaj ve fibroblastlar için kemotaktik olmasının diğer büyüme faktörlerinin varlığından bağımsız olmasının yanı sıra, yara iyileşmesinin ileri safhalarında kollajenaz aktivasyonu yaparak 'remodelling'e katkıda bulunması gibi bir özelliği de vardır(47, 49, 51). PDGF ve TGF- β yara iyileşmesinde rol oynayan faktörler olup genellikle sinerjistik etki gösterir. Kollajen miktarını arttıran bu iki proteinin de kemik, periodontium, tendon, sinir ve deri iyileşmesini stimüle ettiği, yara kuvvetini artırdığı gösterilmiştir(44, 49, 52, 53).

Deneysel hayvan çalışmalarında tendon, ligament ve kıkırdak yaralanmalarında tamiri uyarıcı etkisi gösterilmiştir(40, 54, 56). Kalvaryal kemik defektlerine metilselüloz içinde tek doz uygulanmasının kemik ilerlemesini, mineralize dokuyu, kemik iliği miktarını, yani kemikleşmeyi artırdığı saptanmıştır(57). Brown sıçan epigastrik ada fleplerinin pediküllerinde 3-4 mm'lik defektler yaratıp bu alana PDGF vermiş ve aradaki bölgede 3 hafta içinde yeni bir damar oluştuğunu görmüştür. Flep periferinde yeni damar oluşumlarının arttığını da gözlemlemesinin üzerine PDGF'nin flep alanına verilmesinin erken pedikül ayırmaya izin verdiğini belirtmiştir(58). Kas fleplerine uygulandığında da flep sağkalımını artırdığı anlaşılmıştır(59).

"Transforming" büyüme faktörü (TGF- β): TGF- β fibroblast çoğalmasını uyaran plasenta kaynaklı bir madde olarak 1983 yılında keşfedilmiştir. Fakat daha sonra

tüm vücutta yaygın olarak bulunduğu, hücre siklusu regülasyonu, embriyogenez, organ gelişimi gibi pek çok biyolojik aktivitede görev aldığı fark edilip çeşitli araştırmalarda odak noktası olmuştur.

Üç farklı izoformundan TGF- β 1 ve β 2 trombositlerde bulunduğu ispatlanmış olan, bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda görev alan, TGF'ün en sık görülen alt gruplarıdır. Hücre büyümesi, extraselüler matriks üretimi, angiogenезin uyarılması, yara iyileşmesi ve farklılaşması gibi çeşitli biyolojik olaylarda rol alırlar (44, 48, 52).

Aşırı ve düzensiz kollajen depolanmasına neden olarak fibrozis ve skar formasyonunun oluşumunda önemli rol oynayan bir sitokin olması, uygulandığı bölgelerde hipertrofik skar yaratabileceği yönünde endişelerin gelişmesine neden olmuştur; fakat TGF- β ailesinin üyelerinden olan BMP (Bone Morphogenetic Protein) ler ortopedik cerrahide önçalışma niteliğinde kullanıma girmiş durumdadır (50).

Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF): Fibroblast büyüme faktörleri mitojenik polipeptid ailesidirler. İçlerinde en çok incelenmiş olan altgrup bFGF; fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitozu arttırıcı etki gösterir, angiogenез ve endotelyal hücre göçünde rol oynar, TGF- β 'nın dağılımını arttırıcı etki yapar(48). VEGF ve TNF- α ile birlikte olduğunda maksimum anjiogenik etkisini gösterir. Yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin proliferasyon ve göçüne neden olur. Angiogenезin başlaması için gerekli olan fibroblastlardan kollajenaz üretimi ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar (63, 64). Granülasyon dokusu oluşumunu başlatmaya da yardımcı olur (47). Bazik fibroblast büyüme faktörü ve sucrose octasulfate (sucrafate)' ın ayrı ayrı gastrik ülserler üzerine olumlu etkisi olduğu

bilinmektedir (65). Rashid ve arkadaşları bu iki maddeyi birlikte kullanarak sıçan dorsal fleplerinde yaşayabilirliği arttırdığını, bunun da anjiogenez sayesinde olduğunu saptamışlardır (65).

İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I): İnsan proinsülinine benzerliği nedeniyle bu ismi alan IGF-I, fibroblast, kondrosit, keratinosit, osteoblast, mezangial eritroid progenitör hücreler gibi pek çok hücre tipinin çoğalmasını arttırarak büyümeyi uyarır. PDGF ile birlikte olduğunda daha iyi bir etki gösterir. Dolaşımdaki IGF-1'in protein sentezini, periferel glukoz alımını, glikojen sentezini, sinir sağkalımını, miyelin sentezini, kemik oluşumunu arttıran anabolik etkileri arttırdığı, kaslardaki protein yıkımı gibi katabolik etkileri azalttığı bilinmektedir. Aşıl tendonunda travma oluşturarak yapılan çalışmada düzeyinin arttığı görülüp tendon iyileşmesinde muhtemelen mitozu arttırarak etki gösterdiği düşünülmüştür.

Egzojen olarak verilen IGF-1'in DNA, kollajen ve proteoglikanı arttırdığı gösterilmiştir (42,43,50). IGF'ün proteoglikan sentez ve yıkımını dengeleyerek kırıkta homeostazında önemli rol oynadığı öne sürülmüş ve atlarda yapılan kırıkta defekti modelinde fibrin pıhtıya IGF ilave edilerek bu defekte uygulandığında onarılan dokunun kalite ve miktarını arttırdığı gözlenmiştir (56, 69).

2.8.2.7 İskemi ve Anjiogeneziste VEGF'nin Rolü

VEGF'ün, tümör hücrelerinden salgılanan, damar geçirgenliğini arttırarak asit oluşumuna katkıda bulunan bir madde olduğu düşünülmüş ve bu nedenle 1983'te "vascular permeability factor" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar doğrultusunda VEGF olarak ismi değiştirilmiş, en kuvvetli fizyolojik ve patolojik

anjiogenezis uyarıcısıdır (39,48,70). Beş adet izoformu bulunan VEGF kendi salınımından sonra diğer proteoglikan-bağı salınımı olan büyüme faktörlerinin (bFGF) de salınımını uyarır ve bFGF ile sinerjistik anjiogenik etkisi gösterilmiştir (63, 69).

Anjiogenezin ilk basamaklarında vasküler bazal membranların yıkılması için gerekli olan kollajenaz ve jelatinazın indüksiyonuna, daha sonra yine anjiogenez için gerekli olan α integrinlerin ekspresyonuna neden olarak iyileşen dokuda anjiogenezi başlatır. Diğer büyüme faktörleri ile kıyaslandığında mitojenik etkisinin endotelial hücrelerle sınırlı olması teorik olarak VEGF'in vasküler yetmezliklerde terapötik anjiogenez sağlamak için avantajlı olduğunu düşündürmektedir. (63) Doğrudan mitotik etkisinin yanında, VEGF bir taraftan kısmen nitrik oksit sentezini uyararak vazodilatasyona neden olurken, diğer taraftan hücre göçünü ve apoptozu inhibe eder (71) Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotelial hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında görevlidir ve vasküler geçirgenliği artırır (43, 69). Tümörlerde kompresyon ve iskemiye bağlı gelişen lokal hipoksiye yanıt olarak VEGF düzeylerinde artış olduğu Shweiki tarafından gösterilmiş ve Stavri kalpte iskemiye takiben aterosklerotik plaklarda yeni damar oluşumlarının uyarılmasında hipoksiye bağlı VEGF artışının rol oynayabileceği tezini savunmuştur. Deneysel modellerde ekstremite iskemisinde egzojen verilen VEGF'in anjiogenezi başlatarak vasküler kaynağı, bazı çalışmalarda da vasküler yaralanmanın ardından uygulandığında yeniden endotel oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (50,63). Zhang ve arkadaşlarıysa sıçan TRAM flep modelinde subkutan VEGF uygulamasında flep yaşayabilirliğinde ve anjiogeneziste anlamlı artış saptamışlar; cerrahi geciktirme yapılan sıçan TRAM fleplerinde sitokin düzeylerine baktıklarında TGF- β ve PDGF ekspresyonu değişmezken bFGF ve VEGF ekspresyonlarının anlamlı miktarda arttığını belirleyerek

önceki çalışmalarını desteklemiş ve farmakolojik olarak geciktirme etkisi yaratmak için kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada da dışarıdan uygulanan VEGF'in iskemik yaralarda anjiyogenezi uyardığı ve tensil gücü arttırdığını göstermişlerdir (71). Kryger ve arkadaşları hem kas fleplerinde hem de muskulokütan fleplerde VEGF uygulamasının hem subdermal/subfasyal hem de intravasküler olduğunda flep yaşayabilirliği üzerinde olumlu etkileri olduğunu yayınlamışlardır (39). Machens sıçan epigastrik fleplerinin altına VEGF uygulayıp, flep yaşayabilirliğinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış saptayarak diğer araştırmacıların sonuçlarıyla kısmen çelişmiştir (72).

Petersen ve arkadaşları da 2002'de tendon anjiogenezinin ana belirleyicisinin VEGF olduğunu bulmuşlardır (55).

Biz de VEGF'yi anjiogenetik ve flep yaşayabilirliğini artırıcı etkilerinden dolayı çalışmamızda, omentin enjeksiyonundan sonra dokuda artıp artmadığını histolojik olarak inceledik.

2.9. Omentin

2.9.1 Omentinin Yapısı ve İçeriği

Omentin, diğer bir adıyla intelektin, ilk olarak intestinal paneth hücrelerinden izole edilmiştir. Ardından kalp, akciğer, ovaryum ve plasentada eksprese edilen omentinin, daha sonra yağ dokusunda da eksprese edildiği saptanmıştır. Ayrıca omentin molekülünün subkutan yağ dokusuna kıyasla visseral yağ dokusunda daha fazla ve selektif olarak eksprese edildiği görülmüştür (75). Umbilikal kord kanında yüksek omentin seviyeleri saptanmıştır. Fetal yağ ve kas dokularının glukoz uptake'inde insülin önemli bir yere sahiptir. Omentinin insülin duyarlılığını artırıcı etkisi olması ve kord

kanındaki yüksek omentin seviyeleri nedeniyle omentinin fetal büyümeyi uyarıcı etkisi olduğu ile ilgili araştırmalar bulunmaktadır (76). Omentin diğer bazı dokulardan da izole edilmiştir ve intelektin, intestinal laktoferrin reseptör ve endotelyal lektin olarak da adlandırılmıştır (83).

Döngüsel DNA havuzunda omentin geni; perilipin, leptin, adiponektin gibi diğer adipokinleri üreten genler kadar yaygın olarak bulunmaktadır. Protein sekans analizleri omentin mRNA'sının 313 aminoasitlik bir proteini kodladığını göstermiştir. Bu aminoasit yapısı sekretuar sinyal sekansı ve fibrinojen ile ilişkili bir parçadan oluşmaktadır. Omentin insan serumunda Western Blot yöntemiyle tespit edilir.

Aktin(Akt) bir serin / treonin protein kinazdır. Glukoz metabolizması, hücre proliferasyonu ve apoptozis gibi önemli bazı hücrel olaylarda ikincil haberci olarak rol oynamaktadır. İnsan yağ dokusundan izole edilen hücrelerde invitro yapılan çalışmalarda omentinin insülin sinyal transdüksiyonunu artırdığı saptanmıştır. Bu etkisini protein kinaz Akt/protein kinaz B'yi aktive ederek ve insülinle uyarılan glukoz transportunu artırarak gerçekleştirir. Bu kanıtlar omentinin insülin duyarlılığı üzerine etkisi olabileceğini göstermektedir (77).

Yang ve ark. 2006 yılında omentinin, adipositlerdeki insülin aracılı glukoz uptake'ini artırdığını göstermişlerdir.

Omentin/intelektin ile %83 oranında homoloji gösteren ve omentin 2 adı verilen yeni bir molekül tanımlanmıştır. Omentin 1'in dolaşımdaki major omentin formu olduğu bildirilmiştir. Hem omentin 1 hem de omentin 2 geni birbirine komşu olarak birinci kromozomun uzun kolunda lokalizedir. Bu genlerin lokalizasyonlarının, daha

önceden bazı toplumlarda tip 2 diyabetle ilişkili olduğu bilinen gen bölgelerine yakın olması dikkat çekicidir .

Obez bireylerde omentin 1'in hem yağ dokusundaki gen ekspresyonu ve hem de plazma seviyeleri azalmaktadır. Bel çevresi, vücut kitle indeksi ve leptin seviyeleri gibi obezite ile ilişkili markerlar ile omentin seviyesi ters orantılıdır. Yine obeziteyle ilişkili durumlar olan tip 2 diya-bet, bozulmuş glukoz toleransı veya polikistik over sendromu olan hastalarda omentin seviyelerinin normal popülasyona göre daha düşüktür.

Diyetle kilo verilmesini takiben insülin duyarlılığında ve serum omentin seviyelerinde artma olmaktadır. Kilo vermeden başka, ayrıca, hemodiyaliz tedavisi alan son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde omentin seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla belirgin yüksek olduğu yakın zamanda rapor edilmiştir.

İnvitro olarak omental yağ dokusunda insülinin omentin mRNA eksepsiyonunu azalttığı ve glukoz insülin infüzyonu yapılan sağlıklı bireylerde serum omentin seviyelerinin düştüğü bildirilmiştir. İnsülin duyarlılığını artıran bir ilaç olan metformin omentin seviyelerini artırmaktadır. Plazma omentin-1 seviyeleri, plazma adiponektin ve HDL seviyeleriyle doğru orantılı, HOMA ile ise ters orantılıdır.

İnsülin ile inflamasyon birbiriyle ilişkilidir. Bu nedenle omentinin de inflamasyonla ilişkili olabileceği düşünülebilir. İnflamatuvar barsak hastalığı olan bireylerin omental yağ dokusu örneklerinde omentin kodlayan mesajcı RNA'larda, romatoid artritli hastaların sinovyal sıvılarında omentin düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır. Bu hastalıklarda görülen inflamasyonun patogeneğinde omentindeki bu

azalma rol oynuyor olabilir. Üstelik omentinin CRP düzeylerini düşürdüğü de gösterilmiştir (78).

Egzersiz ile obez bireylerde hem kardiyovasküler risk faktörlerinde iyileşme hem de plazma omentin düzeylerinde artma olmaktadır (79). Omentin Akt sinyal yoluyla nitrik oksit sentaz enzimini düzenlemekte ve böylece endotel disfonksiyonu üzerine etki edebilmektedir (80,81). Yine nitrik oksit üzerinden noradrenalinin yol açtığı vazokonstriksiyonu antagonize eder. Omentin endotel hücrelerinin migrasyonunu ve angiogenezi invitro olarak arttırmaktadır. Bu nedenle omentinin angienez ve ateroskleroz üzerine de etkileri olabileceği düşünülmektedir. Literatürdeki bazı çalışmalar serum omentin seviyesinin düşmesinin inflamatuvar prosesi başlattığı ve damarlardaki vazodilatasyonun azaldığını göstermektedir. Koroner arter hastalığı oluşumu ve vazokonstrüksiyonun arttığı da gösterilmiştir. Ayrıca omentinin nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden endotel bağımlı nitrik oksiti (NO)'yu arttırarak mesenterik arter ve aortada vasodilatasyon yaptığı gösterilmiştir. Omentin izole edilen kan damarlarında direkt olarak vasküler reaktiviteyi etkilemektedir. Ratlardan izole edilen endotel intakt aortanın omentinle (300ng/ml 30 dakika) muamelesi, noradrenalinin yaptığı kontraksyonu inhibe etmiştir. Omentin (300ng/ml 5 dakika muamele), endotelyal NOS'un fosforilizasyonunu Serin 1177 üzerinden indüklemektedir. Ayrıca omentinin (1-300 ng/ml), noradrenalin (NA) ile kontrakte mezenterik arteri dilate ettiği gösterilmiştir (5). Burada görülmektedir ki omentin endotel bağımlı NO üzerinden, izole edilmiş kan damarlarında vazodilatasyon etkisi oluşturmaktadır (82). Omentin, ICAM-1 (intracelüler adezyon molekülü-1) ve VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü) moleküllerinin oluşumunu da etkilemektedir. Ayrıca omentinin, TNF-alfa (tümör nekroz faktör alfa) ile indüklenmiş ICAM-1 ve VCAM-1 oluşumunu da azalttığı

gösterilmiştir. Omentin NF_KB (nükleer faktör kapa beta) inhibitör proteinin degradasyonunu engelleyerek, TNF-alfa ile aktive NF_KB sinyal yolunu inhibe etmektedir. Ayrıca bunu NF_KB/DNA bağlanmasını önleyerek de yapmaktadır (83). Bu moleküllerin inhibe edilmesi, omentinin antiinflamatuvar özelliğini göstermektedir (84).

Bu sayede damarlarda aterosklerotik plak oluşumunu engelleyerek damarsal kanlanmanın bozulmasını da önlemektedir.

Omentin ilk defa 2003 yılında yayınlanmıştır. Omentin yağ depolarına spesifik olup, özellikle visseral omental adipoz dokudan salınan bir adipokindir. Omentin 1q22-q23 kromozomal gen bölgesinde lokalizedir (84).

Omentin vücutta adipoz dokudan salgılanır. Antiinflamatuvar ve vazorelaksan(85) özelliğe sahiptir. Obezite ve D.M. ta salınımı azaldığından damarlarda vazodilatasyon özelliği kaybolmakta, ayrıca antiinflamatuvar özellik de azaldığından damarlarda aterosklerotik plak oluşumunun da artmakta olduğu gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda koroner arter hastalığında (85,86) omentin seviyesinin düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda da omentin düzeyinin sinovyal sıvıda düşük olduğu gözlenmiştir. Bu da omentinin antiinflamatuvar özelliğini başka bir yönden kanıtlamaktadır.

2.10. VEGF ve eNOS

Anjiyogenez, yani yeni damar oluşumu, yara iyileşmesinde önemli bir basamaktır. Dokuların işlevlerini yerine getirebilmesi için kendilerine özgü damarlanma yapısına sahip olmaları gereklidir. Damar endoteli büyüme faktörü, endotel hücre büyümesinin güçlü bir uyarandır (74).

Önceden mevcut bulunan kan damarlarından yeni kan damarlarının geliştiği bir süreç olan angiogenez kanser, iskemik kardiyovasküler hastalıklar, retinopatiler, yara iyileşmesi ve inflamasyon gibi pek çok önemli hastalık durumunu önemli ölçüde etkilemektedir (87,88).

Angiogenik tomurcuklanma, erişkinlerde kan damarı formasyonu mekanizmalarından biridir ve üzerinde en fazla çalışılmış olan mekanizmadır. Angiogenez, nitrik oksidle ilgili bir süreç olan vasodilatasyonla başlar. Vasküler permeabilite VEGF'e yanıt olarak artar ve böylece, plasma proteinleri ekstravaze olur. Jel formasyonuna gelen ekstraselüler alan damar dışına çıkarak migrasyon yapan endotel hücreleri için bir yapı iskelesi görevi görür. Permeabilitedeki bu artış;

- Fenestraların formasyonu,
- Vezikulo-vakuoler organellerin formasyonu
- Patelet-endotelyal hücre adhezyon molekülü (PECAM-1) ve
- Vasküler endotelyal cadherin'in redistribusyonu aracılığıyla meydana gelir.

Permeabilite angiogenez açısından iyi bir şey olmakla beraber, aşırı vasküler kaçak, sızıntı kötü olabilir ve sirkulatuar kollapsa, intrakranyel hipertansiyona, adhezyon formasyonuna, metastazlara, premenstruel rahatsızlığa ve körlüğe yol açabilir. Endotelyal Tie2(tirozin kinazla beraber immunglobulin ve endotelyal büyüme faktör) reseptörünün bir ligandı olan angiopoietin (Ang)-1 vasküler permeabilitenin doğal bir inhibitörü olup önceden mevcut bulunan kan damarlarını sıkılaştırmaktadır. (Ang)-1, erişkin damarlarına akut bir şekilde uygulandığı zaman, vasküler morfolojiyi şiddetli bir şekilde etkilemeden plasma kaçağına sızıntısına karşı koruma sağlamaktadır (89).

Endotelial Tie2 reseptör sinyalleşmesinin inhibitörlerinden biri olan Ang2, düz kas hücre tutunmasında ve matriksin gevşetilmesinde yer alabilmektedir[90]. Proteinazlardan plasminogen aktivatörü, matriks metalloproteinazları (MMP'ler), chymase (kimaz) yada heparinase aileleri matriks molekülerini parçalayarak ve ekstrasellüler matriks içinde hapsedilmiş (sekestre edilmiş) büyüme faktörlerini serbestleştirerek (bFGF, VEGF ve IGF-1 gibi) angiogenezi etkilemektedir (91).

Prolifere olan endotel hücreleri, yolları bir kez belli olduktan sonra uzak yerlere göç etmeye başlarlar. VEGF, Plasental büyüme faktörü (PLGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve bunların reseptörleri olan VEGFR2, VEGFR3 ve neuropilin-1 spesifik fonksiyonlara sahiptirler: VEGF ve reseptörü (VEGFR2) embriyonik, patolojik ve neonatal angiogenezi etkiler ancak farklı VEGF isoformlarının yada VEGF ailesi üyelerinin heterodimerlerinin bu süreçte yer almaları konusunda moleküler mekanizmalar tam netleşmemiştir (92).

VEGF'den sonraki basamaklarda yer alan bir VEGF efektörü olan nitrik oksid, TGF- β 1 ve diğer angiogenik faktörler embriyonik vasküler gelişim için zorunlu değildirler ancak patolojik angiogenezi etkilerler ve soyulmuş (çıplak kalmış) damarların re-endotelizasyonunu geliştirirler. Ekzojen yoldan uygulandıktan sonra angiogenik olduğu keşfedilen ancak endojen angiogenik aktivitesi belirlenmeyi bekleyen moleküllerin listesi giderek uzamaktadır: erythropoietin, IGF-1, Neuropeptide-Y, leptin, epidermal büyüme faktörü, doku faktörü (koagülasyonun başlatıcısı olan), hepatosit büyüme faktörü, interleukinler, hormonlar ve kemokinler.

2.10.1. VEGF Geni, Yapısı, Ekspresyonu

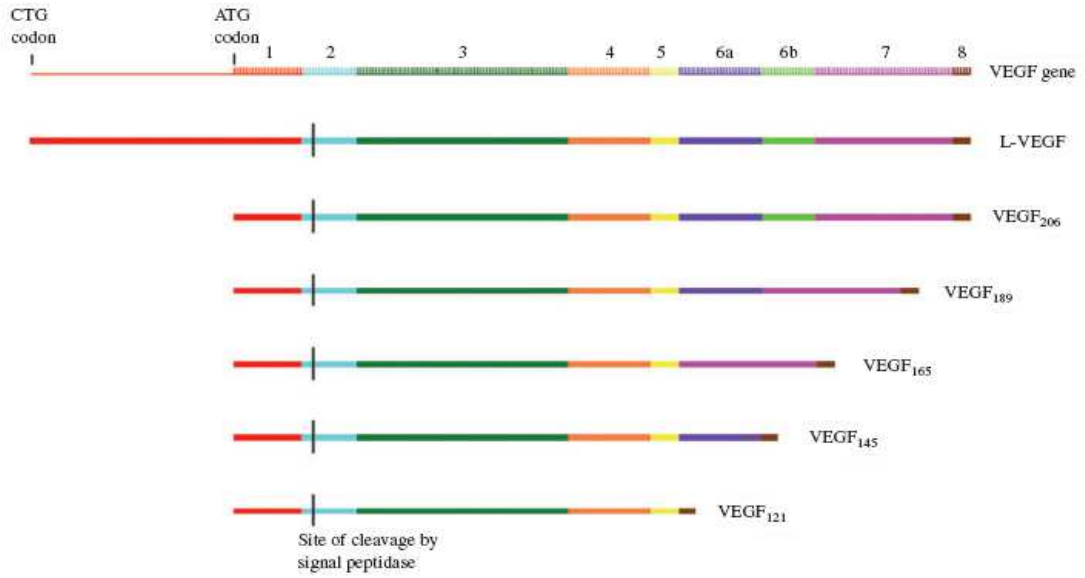
VEGF ailesi, VEGF-A,-B,-C,-D,-E ve plasenta büyüme faktörü içerir. VEGF, insanlarda, 121, 145, 165, 189 ve 206 aminoasidin, homodimerikglikoproteini olarak en azından 8 ayrı formda bulunur.

VEGF endotelial hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını uyarır, vasküler geçirgenliği artırır, endotelde bağımlı vazodilatasyonu yürütür, fizyolojik ve patolojik anjiogeneizde başlıca rol oynar ve lökosit kinetiğini düzenler (93,94,95).

Angiogenez, önceden mevcut bulunan kan damarlarından yeni kan damarlarının köken aldığı karmaşık bir süreçtir. Kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonundan, migrasyonundan ve dokuya infiltre olmalarından önce extrasellüler matriksin (ECM'nin) lokal bir şekilde yıkılması (parçalanması) söz konusu olmaktadır. Zaman içinde bu hücreler tekrar kapiller strüktürlere re-modeling gösterirler ve yeni bir ECM birikimi olur. Angiogenez, embriyonik gelişimde ve yara iyileşmesinde olduğu kadar ayrıca kadın üreme sisteminde ve kemiğin oluşumunda, şekillenmesinde ve büyümesinde de önemli bir rol oynamaktadır. Ancak angiogenezin disregulasyonu yani iyi bir şekilde regüle edilememesi çeşitli patolojik süreçlere katkıda bulunur; örneğin diyabetik retinopati, romatoid artrit ve solid tümörlerin gelişimi gibi.

Normal sessiz (inaktif, istirahat halindeki) vaskulatürün angiogenez haline geçmesi, esas olarak çevrede bulunan perisitlerden ve lenfositlerden salgılanan faktörler tarafından indüklenmektedir. Bu tür angiogenik faktörler arasında direkt olarak angiogenik etki gösteren asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve timidinfosforilaz (TP) ve ayrıca indirekt şekilde etki eden transforme edici büyüme faktörü-b (TGF-b) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa)

gibi faktörler bulunmaktadır. Ancak, hemen hemen sadece angienez yerlerinde bulunan ve düzeyleri (konsantrasyonları) kan damarlarının büyümesi ile en yakın spatial ve temporal (zamansal ve mekansal) korelasyon gösteren tek büyüme faktörü vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF).

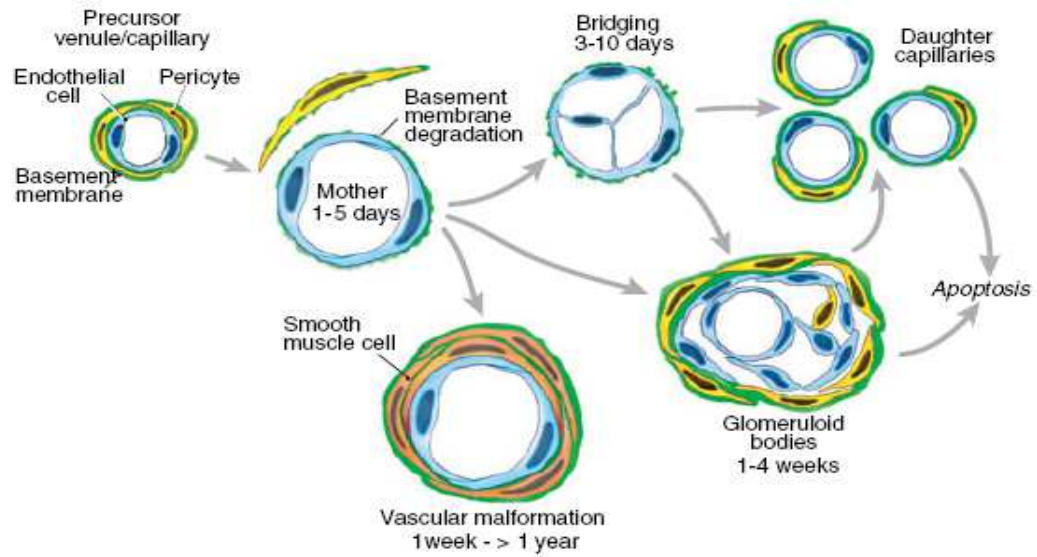


Şekil 5: VEGF geni exon ve intronları (http://med.ege.edu.tr/Image/gozdoc/VEGF_esat.doc)

2.10.1.1. VEGF ekspresyonu

Pek çok sitokin ve büyüme faktörü, VEGF mRNA'sını upregüle etmekte yada VEGF salgısını indüklemektedir. Bunlar arasında PDGF, TNF-alfa, TGF-beta (Transforming Büyüme faktörü-beta), FGF-4 (Fibroblast Büyüme Faktörü 4), Keratinosit büyüme faktörü (KGF/FGF-7), Epidermal büyüme faktörü (EGF), IL-1alfa (İnterlökin), IL-1beta, IL-6 ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) bulunmaktadır. Bunların çoğu direkt bir angiogenik etkidenden yoksundur ancak VEGF ve bFGF üzerinde angiogenik aktivite sergilerler. Koagülasyon faktörlerinden factor VII/VIIa'nın bir reseptörü olan doku faktörünün sitoplazmik kuyruğu da VEGF üretimini regüle eder ve yara iyileşme yerlerinde önem taşıyabilir.

Hipoksi, VEGF mRNA düzeylerinde hızlı ve güçlü bir artışı indüklemektedir. Bu durum özellikle, tümörlerin nekrotik alanları etrafında daha belirgin bir şekilde görülmektedir. İlginç, VEGF ailesinin diğer üyeleri ve bFGF hipoksi tarafından indüklenmemektedir. Bu nedenle VEGF, hipoksi ile indüklenmiş neovaskularizasyonun esas, en önemli mediatörü olmalıdır. Hipoksik hücrelerden salgılanan adenosin, adenosin A2 reseptörlerine bağlanır ve c-AMP bağımlı protein kinaz (PKA) yolu üzerinde VEGF'yi upregüle eder. (96)



Şekil 6: VEGF ile indüklenen yanıtta oluşan dört esas damar yapısı görülmektedir. (http://med.ege.edu.tr/Image/gozdoc/VEGF_esat.doc)

tirozinkinaz 1 ve fetal karaciger kinaz 1 olarakta bilinen, en iyi tanımlanmış iki VEGF reseptörü (VEGF-1 VEGF-2), yüksek affiniteli transmembran tirozin kinaz reseptörleridir (94).

Suda çözünen tirozinkinaz (VEGF-1'in kesilmiş bir varyantı), dolaşımda VEGF'yi bağlayarak, VEGF bulunabilirliğini düzenler (97).

2.10.2 Nitrik Oksit ve eNOS

Nitrik oksit (NO) son yıllarda tanınan, birçok biyolojik olayda önemli rolü olan, çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldır. Önceleri vasküler sistemde, endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak tanımlandı. NO ve diğer bir son ürün olan sitrüllin, argininden NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'in genetik olarak farklı üç izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; düşük miktarda üretilerek vasküler tonüsü ayarlayan bir konstitütif endotelial izoform (eNOS), yine düşük miktar üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir konstitütif nöronal izoform (nNOS) ve yüksek miktarda üretilerek, immün/inflamatuar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immün cevapta etkili bir komponent olan uyarılabilir form (iNOS)dur. nNOS ve eNOS izoenzimleri NO üretimi için Ca^{++} kalmodulin kompleksine bağımlıdır, buna karşın iNOS bundan bağımsızdır. NO fizyolojik konsantrasyonlarda, hemen hemen tüm organ sistemlerde değişik biyolojik etkilere sahiptir. NO gastrointestinal sistem, havayolları, kavernöz dokulardaki vasküler düz kasların gevşemesinde önemli bir mediyatördür. NO merkezi sinir sisteminde, hafızanın şekillenmesini de içeren çeşitli fonksiyonları bir nörotransmitter olarak destekler; Periferde ise gastrointestinal, solunum ve genitoüriner sistemle ilgili çeşitli fonksiyonları düzenler. İlave olarak NO'nun, konak savunması ve immunolojik reaksiyonlarda da fonksiyonu vardır. Miyokard fonksiyon bozukluğu, dolaşım yetmezliği ve farklı organ disfonksiyonu ile sonlanan durumlara, artmış NO formasyonunun katkısı olabilir (98)

Sistemik kan basıncının düzenlenmesinde de rol alan Nitrik Oksid (NO), VEGF ile indüklenen angiogenez ve hiperpermeabilitede de kritik, hayati bir role sahiptir (99). Artmış NO vazodilatasyona, trombosit yapışmasının engellenmesi ile dokuların mikrosirkülasyonunda rahatlamaya ve sonuçta da dokuların oksijenlenmesi yönünde çok yararlı katkı sağlayabilir (98).

VEGF, endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS) enziminin upregulasyonunu ve buna bağlı olarak NO salgısını indükler. Endojen olarak üretilen NO da sonuçta VEGF sentezini artırır. eNOS'un farmakolojik blokajı yada genetik olarak bozukluğa uğraması VEGF ile indüklenmiş angiogenezi ve hiperpermeabiliteyi inhibe eder (99).

NO, endotel hücrelerinin üzerinde bulunan ve hücre-matriks adhezyonu ve migrasyon açısından kritik bir öneme sahip bulunan $\alpha_v\beta_3$ integrin'i upregüle ederek endotel hücrelerinin migrasyonunu ve kapiller yapılara diferansiyasyonunu uyarmak suretiyle angiogenezi indüklüyor gibi görünmektedir. NO ayrıca, ekstrasellüler matriks formasyonunu azaltarak hücrelerin migrasyonuna da imkan vermektedir.

Plastik cerrahide en önemli problemlerden biri büyük cilt defektlerinin kapatılmasıdır. Büyük defektleri kapatmada kullanılan ve kendilerine ait bir damar yatağına sahip olan fleplerin, boyu uzadıkça flep yaşayabilen kısmında azalma olmaktadır. Bu durumda flep distalinde nekroz alanları oluşmaktadır. Fleplerin yaşayabilen kısımlarını arttırmak için çok sayıda kimyasal, fiziksel ve cerrahi modifikasyon yapılmıştır. Omentin teorik olarak çok şey vaat etmesine rağmen; yeterli kontrollü çalışma olmaması nedeniyle hala tüm potansiyelleri ortaya çıkarılamamış, otolog kaynaklı hücreli tedavi ürünüdür. Literatürde konuyla ilgili deneysel çalışmaların eksikliği dikkati çekmektedir. Bu ürünün flep yaşayabilirliğini arttırmadaki rolü üzerine

bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada bizim amacımız, rat dorsal derisinde kaldırılan McFarlane flebinde, lokal olarak uygulanan omentinin, flep yaşayabilirliğine olan etkisini araştırmaktır.

Bu çalışmada amacımız omentinin lokal uygulanmasının flep yaşayabilirliğine olan etkilerini incelemek ve ürünün etkilerini tek tek ve kombine olarak kontrol grupları ile karşılaştırmaktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada deney hayvanı olarak dişi, erişkin, 250-350 gr. ağırlığında Sprague-Dawley ratlar kullanıldı. Ratlar uygun kafeslerde, 22±20 sıcaklıkta ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Hayvanların beslenme ihtiyaçları standart laboratuvar yemi ve su verilerek düzenli olarak karşılandı. Sıçanlar basit rastgele örnekleme yöntemiyle her biri 8'er adetten oluşan üç gruba ayrıldı.

Gruplar:

Grup I: Kontrol grubu.

Grup II: Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen grup.

Grup III: Flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün olmak üzere 2 kez omentin verilen grup.

3.1. İşlemler: Biovendor Llc Omentin 10 Ug Human marka omentinden, steril ortamda her bir rata 1 cc yapılmak üzere 300 nanogram (ng) 1 cc serum fizyolojik ile dilüe edildi. Kontrol grubuna (1. grup) herhangi bir enjeksiyon yapılmadı. 2. gruba flep kaldırılmadan 1 hafta önce, 2. gruba flep kaldırılmadan 2 gün önce ve flep kaldırıldığı gün olmak üzere 2 kez 300 ng/ml enjeksiyon yapıldı. Flepler kaldırıldıktan sonra yerlerine iade edilip sütüre edilerek, 1 hafta sonra ratlar sakrifiye edildi. Makroskopik değerlendirme için fleplerin dijital fotoğraf makinesiyle fotoğrafları çekildi. Daha sonra Image j programı yardımıyla bilgisayar ortamında flep yaşayabilen ve nekroz alanları hesaplandı. Aynı gün fleplerin ortalarından alınan 1x1 cmlık eksizyonel biopsilerde ELİSA yöntemiyle NO artışını sağlayan eNOS düzeyi için farmakoloji labaratuvarında ve epitel kalınlığı, inflamatuvar hücrelerin yoğunluğu, angiogenez açısından damar VEGF pozitif boyalı endotel sayımı için histoloji labaratuvarında değerlendirildi. Daha sonra tüm bulgularla bilimsel olarak anlamlı olup olmadığının değerlendirilmesi için istatistiki hesaplamalar yapıldı. Tüm bulgular grafikler üzerinde gösterildi.

3.1.1. Omentinin hazırlanması

İşlem için Biovendor Llc Omentin 10 Ug Human marka omentin kullanıldı. Omentin 300 ng/ml olacak şekilde 1cc serum fizyolojik ile dilüe edildi.

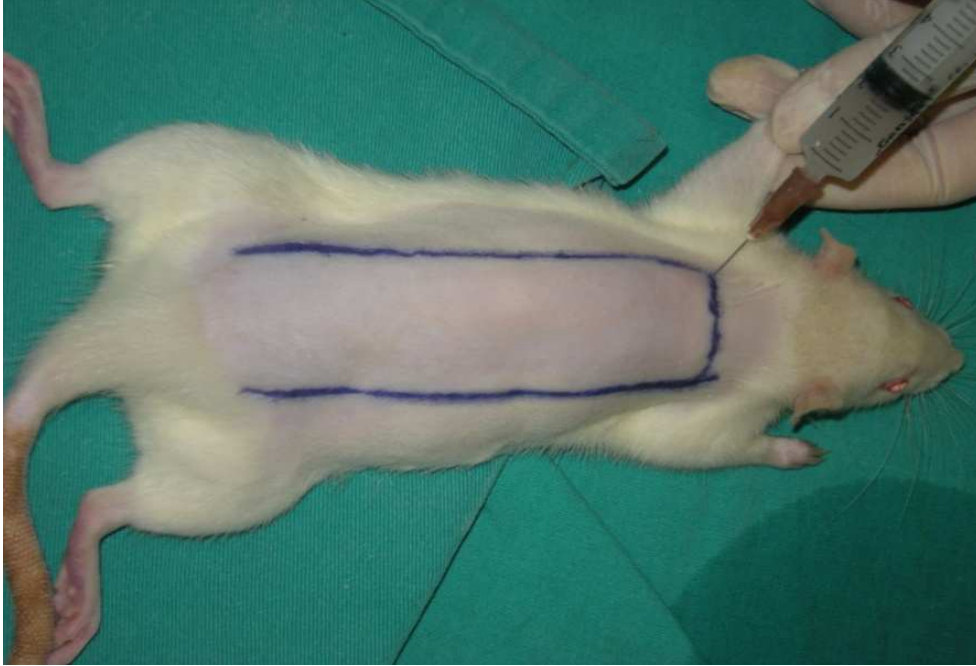
3.1.2. Anestezi

Anestezi, 35 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®, Eczacıbası-Türkiye) i.m. ve 5 mg/kg ksilozin hidroklorid (Rompun®, Bayer-Türkiye) i.m. ile sağlandı. Anestezi derinliği çene ve iskelet kas tonusuyla izlendi.

3.1.3. Enjeksiyonlar

- I. Grup: Anestezi dışında bir enjeksiyon yapılmamıştır.
- II. Grup: 2. gruptaki deney hayvanlarına yukarıdaki cerrahi işlemler uygulanmadan 1 hafta önce, flep planlanan alana 300 ng/ml omentin enjeksiyonu yapıldı.
- III. Grup: 3. gruptaki deney hayvanlarına cerrahi işlemlerden 2 gün önce ve flep cerrahisiyle aynı gün olmak üzere flep planlanan alana 2 kez 300 ng/ml omentin enjeksiyonu yapıldı.

Tüm gruplarda enjeksiyonlar flepte nekroza gitmesi en muhtemel kısım olan en distalden başlanarak tek bir enjeksiyon noktasından girilip dental enjektör yardımıyla flebin 1/3 distal kısmının tamamına subkutan olarak 1cc serum fizyolojik ile dilüe Omentin Human uygulandı.



Resim 1: Flep altına omentin uygulanması

3.1.4. Cerrahi

Tüm gruptaki deney hayvanlarına IM 90mg/kg a Ketamine-HCL (Ketalar 50mg/mlt 10ml flk Phizer Warner Lambert) ve 10mg/kg Xylazine-HCL (Rompun 50ml Bayer) uygulamasıyla anestezi sağlandı. Anestezi derinliği çene ve iskelet kası tonusuyla izlendikten sonra sırtlarındaki tüyler traşlandı. Polyvinylpyrrolidone iod (batticon sol 1000ml) ile lokal saha temizliği yapıldı. Sonrasında sıçanın sırt bölgesinde pedikülü sefalik tarafta olan 3x10 cm boyutunda flep planlandı. Planlanan flep kenarlarından 15 no'lu bistüri ile insizyon yapıldıktan sonra hassas makasla disseksiyon ile deri ve pannikulus karnosusu içerecek şekilde random paternli deri flebi kaldırıldı. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra, flep 4/0 atravmatik ipek ile devamlı dikişlerle yatağına sütüre edildi.



Resim 2: Mc Farlane flebinin elevasyonu



Resim 3: Flebin yerine iade edilmiş hali

3.2. Değerlendirme

3.2.1. Genel Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen hayvanlarda deney süresince oluşan genel değişiklikler her gün gözlemlendi. Postoperatif dönemde ağrıları olmaması için 2 gün boyunca fluniksin (1,1 mg/kg - Fluvil®-IM) enjeksiyonları yapıldı. Sıçanların birbirlerine zarar vermelerini önlemek için her biri ayrı kafeslerde barındırıldı. Yara yerlerine postoperatif iki gün boyunca günde iki kez olacak şekilde %10'luk povidon iodine solüsyonu ile pansuman yapıldı.

3.2.2. Flep Nekroz Alanlarının Değerlendirilmesi

Cerrahi işlemlerden 7 gün sonra tüm hayvanlar %3 sodyum pentobarbital ile sakrifiye edildi. Nekroz alanları değerlendirildi. Fleplerin yaşayabilen alanlarının makroskopik değerlendirilebilmesi için dijital fotoğraf makinesi (Nikon D5100 18-55mm VR- Nikon AF-S VR 105mm f/2.8g IF-ED Micro Nikkor Lens- Nikon speedlight close-up R1C1 Flaş) kullanılmıştır.

Çekilen fotoğraflar bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra Image J programı yardımıyla, tüm flep alanı, nekroz alanı ve yaşayabilen flep alanı ölçüldü. Yara iyileşmesi ve nekrozla beraber görülen flep kontraksiyonu nedeniyle yaşayabilen flep alanı, toplam flep alanının yüzdesi olarak değerlendirmeye alındı.

3.2.3. Histolojik Değerlendirme

Alınan dokular % 10'luk formaldehit solüsyonuna konularak tespit edildi. Doku takip aşamalarından sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Leica RM 2125RT mikrotom ile 4 µm'lik kesitler alındı ve daha sonra, dokular rutin mikroskopik inceleme için Hematoksilen Eozin (HE) ile boyandı. Boyama sonrasında, dokular ışık mikroskobu altında spesimenlerin hangi gruplara ait olduğunu bilmeyen aynı histolog tarafından incelendi Kesitler; epitel kalınlığı, inflamatuvar hücrelerin yoğunluğu ve angiogenez açısından değerlendirildi . Flep bölgesi incelendiğinde nekrotik alanların bazı kesitlerde gözlendiği, nekroz alanlarının yüzeyinin inflamatuvar hücrelerden yoğun, fibrin içeren bir debris ile kaplandığı, epidermisin incelmış olduğu görüldü. Nekroz alanına komşu sağlam alanlarda ise epidermis kalınlığının özellikle tedavi gruplarında çok artmış olduğu göze çarpıyordu. Subdermal bağ dokuda kanama ve ödemli alanların ve PNL yoğunluklu inflamatuvar hücrelerin kontrol grubunda yoğun olduğu, bu

bölgeden dermise ve epidermis altına hücre göçünün olduğu görüldü. Tedavi gruplarında ödem, inflamasyon ve kanama daha azdı.

H&E boyaması ile inflamasyon değerlendirildi. X10 büyütme ile 10 alanda izlenen nötrofiller 4: çok yoğun, 3: yoğun, 2: orta 1: hafif olarak değerlendirildi.

Bağ dokuyu incelemek amacıyla Masson Trikom boyaması yapıldı. sitoplazma kırmızı, çekirdek mavi-siyah, kollajen ise mavi renkte görülmekteydi. Masson trikrom ile boyanan kesitlerde epidermis kalınlıkları ölçüldü ve tedavi gruplarında kalınlığın artmış olduğu saptandı. Kollajen yoğunluğu açısından gruplar arasında fark görülmedi.

3.2.4. VEGF ve ENOS Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Angiogenesis için vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) immün boyaması yapıldı.

VEGF (JH 121,ABCAM,ab28775): Sitrat tampon (pH:6.0) içinde antijen açığa çıkarma işleminden sonra 10 dk. H₂O₂ ile, 10 dk UV blok ile muamele edilen kesitler, 1/50 oranında dilue edilen VEGF antikoru damlatılarak +4 C ° 'de tüm gece bekletildi. Ertesi gün 10 dk. ekspozitör Streptavidin HRP ile işaretlenen dokular, 10 dk DAB ile muamele edilerek görünür hale getirildi. Methyl green ile zıt boyama yapıldı, dehidratasyon işleminden sonra entellan ile kapatıldı. Endotel hücrelerinin VEGF pozitif boyandığı kabul edilmektedir. İşaretlenen dokularda 100x büyütme ile 10 alanda damar yapıları sayılarak anjiogenesis açısından değerlendirildi.

Doku örnekleri homojenizatör ile parçalara ayrılıp, ardından -80 °C de dondurularak ard arda 2 dondurma ve çözündürme işleminden sonra hücre parçalanması sağlanarak örnekler ELİSA çalışmasına uygun hale getirildi.

- Kitin içinden çıkan 96'lık kuyucukların her birine 100'er µl örneklerden eklendi.

- Üstü yapışkan kağıtla kaplanarak 37 °C 2 saat inkübasyona bırakıldı.
- 2 saatin sonunda örnekler kuyucuklardan boşaltıldı.
- Kuyucuklar yıkanmadan her bir kuyucuğa 100 µl biotin antikoru eklendi ve 1 saat 37 °C inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklar 2 defa kitin içinden çıkan yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- Kuyucuklara 100 µl HRP-avidin eklenerek 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- Kuyucuklar 5 kez daha yıkandıktan sonra her bir kuyucuğa TMB substrat eklenerek 37°C de ışıktan koruyarak renk değişimi gözlenene kadar (yaklaşık 20 dakika) inkübe edildi.
- Renk değişimi gözlendikten sonra kuyuvuklara 50 µl durdurucu solüsyon eklenerek ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.

ELISA yöntemi ile omentinin endotelde artışına sebep olduğu e-NO Sentaz ekspresyonu bakıldı.

Çalışma için Rat Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS/NOS3) ELISA Kit (CUSABIO) kullanıldı.

3.2.5. İstatistiki Değerlendirme

Elde edilen veriler, MedCalc Son Version 12.7.4 paket programına girilerek analiz edildi. Parametrik veriler arasında anlamlı fark olup olmadığını bulmak için tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) yapıldı. Non parametrik verilerin karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis testi kullanıldı.

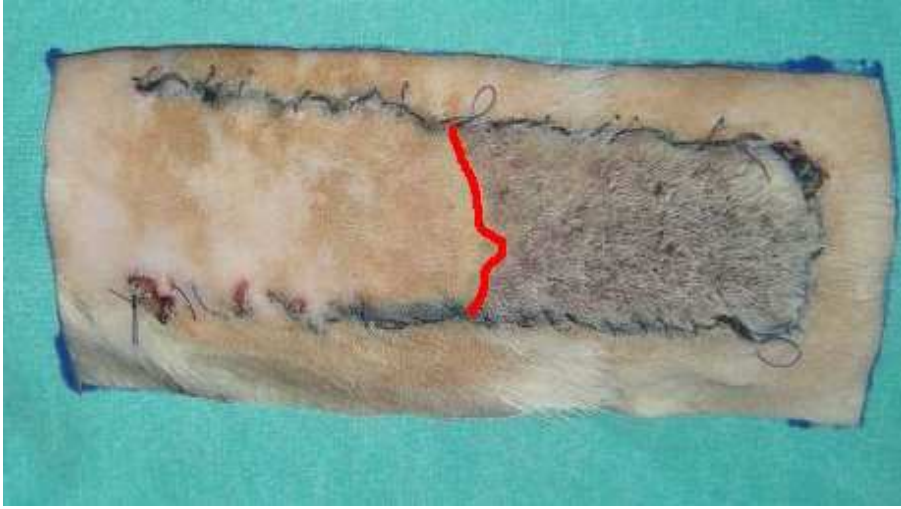
Anlamlı farkı oluşturan gurubun bulunabilmesi amacıyla parametrik data içeren gruplar arası karşılaştırmada Post-Hoc Tukey HSD testi yapıldı. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı

olarak kabul edildi. 3 grubun yaşayabilen flep alanı oranları Tek Yönlü Varyans analiz ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. HE, mason 3 boyamalı preparatlardan standart rastgele örnekleme ile seçilen temsili alanlardan nötrofil sayımı yapıldı. 3 grup için elde edilen nötrofil sayıları hem HE hem Mason 3 boyama teknikleri için Tek Yönlü Varyans Analizi ile karşılaştırıldı. Biopsilerden yapılan e-NOS sonuçları da Tek Yönlü Varyans Analizi ile karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. Genel Değerlendirme

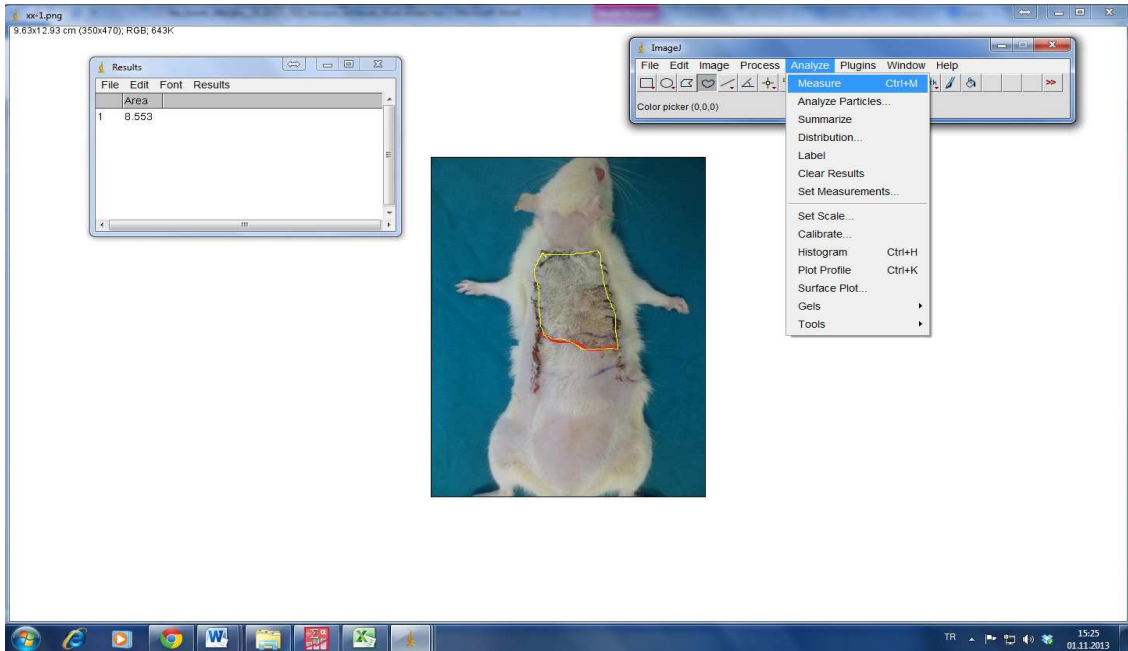
Tüm denekler enjeksiyon ve cerrahi işlemleri herhangi bir komplikasyon gelişmeden iyi tolere etti. Cerrahi sonrasındaki yedinci güne kadar gözlemlenen hayvanlarda abse formasyonu, seroma, total nekroz gibi istenmeyen bulgulara rastlanmadı. Cerrahi sonrası üçüncü günde fleplerin distalinde konjesyon gelişti. Cerrahi sonrası yedinci günde ise nekrotik ve yaşayan flep alanları arasında demarkasyon hattı belirgin şekilde görüldü. Yaşayabilen flep alanları pembe-beyaz, hafif gergin ve normal doku yapısında iken nekroza uğrayan alanlar kahverengi-siyah, sert ve krutlu görünümdeydi (Resim 4).



Resim 4: Nekroza uğrayan ve yaşayabilen alanlar arasındaki demarkasyon hattı

4.2. Flep Nekroz Alanlarının Değerlendirilmesi

Nekroz alanının hesaplanmasında Image j programı kullanıldı. Fleplerde nekroz alan total alana bölünerek grup içinde ortalama nekroz olan alan yüzdesi hesaplandı



Resim 5: Image J programında yaşayabilen flep alanlarının hesaplanması



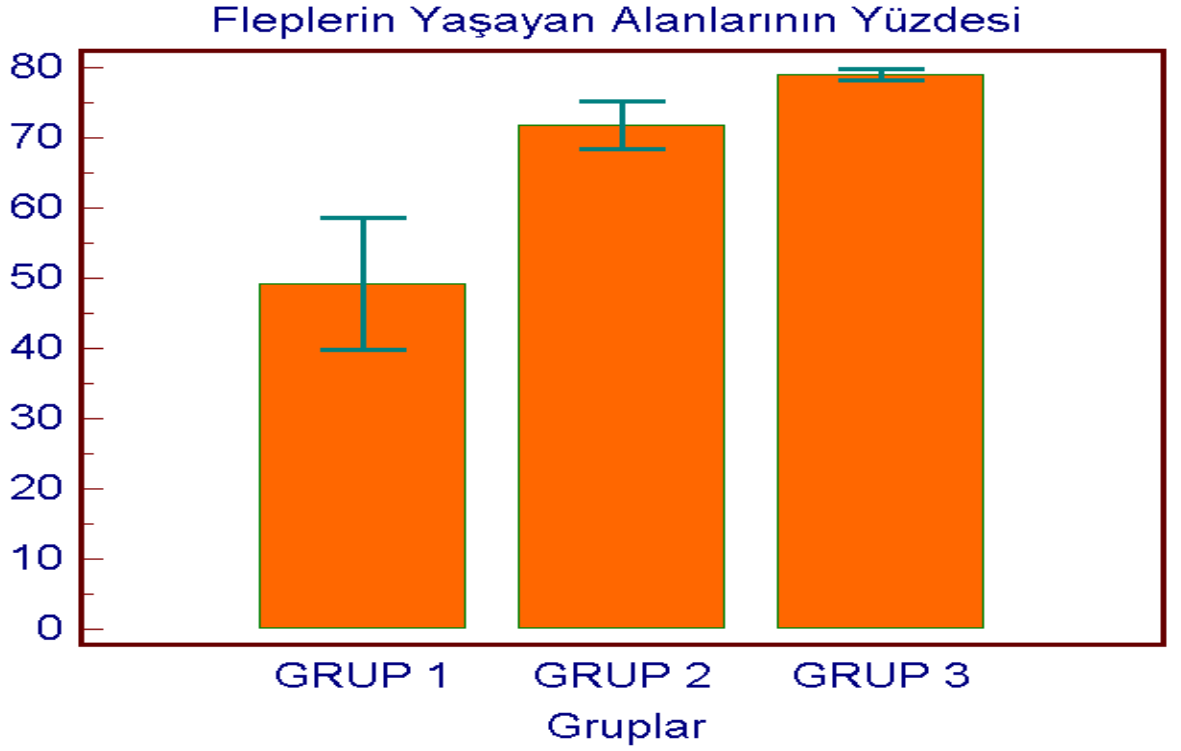
a: 1. grup(kontrol)

b: 2. grup

c: 3. Grup

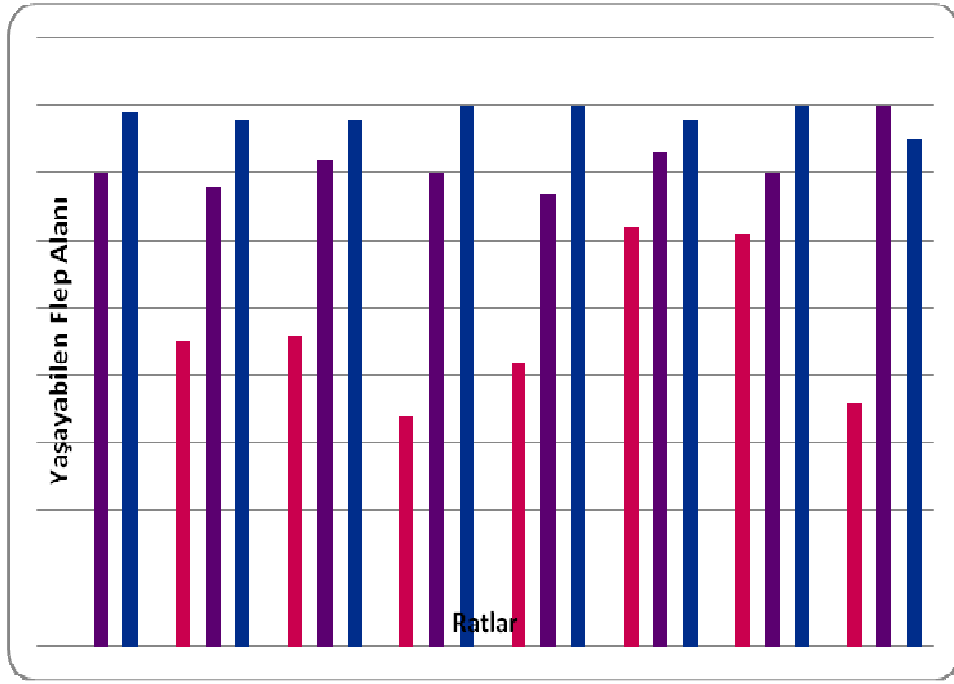
Resim 6: Postoperatif 7. günde yaşayabilen flep alanlarının görünümü (a: Kontrol gurubu, b: Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen grup, c: Flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen grup).

Kontrol gurubunda ortalama yaşayabilen flep alanı % $49,2 \pm 12,5$ (% 67-34) idi. Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen II. grupta ortalama yaşayabilen flep alanı % $71,4 \pm 4,2$ (% 80-67) iken, flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen III. grupta ortalama yaşayabilen flep alanı ise % $78,4 \pm 1,8$ (% 80-75) idi.



Tablo 4.2.1: Grupların ortalama yaşayabilen flep alanlarına göre dağılımı. (Her 3 grup arasında yapılan anova tek yönlü varyans analizine göre istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur. $p<0,001$).

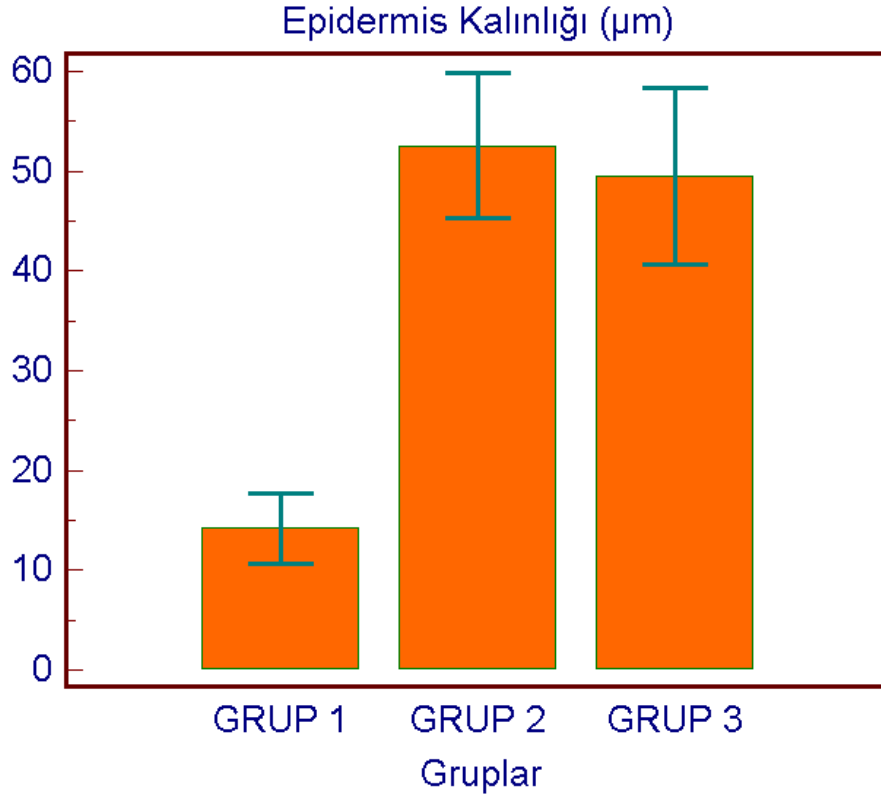
Yaşayabilen flep alanı oranları iki tedavi gurubunda da (Grup II ve III) kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede artmış bulundu ($p< 0.001$). Tedavi grupları arasında da, yaşayabilen flep alanı oranı bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.2.1).



Tablo 4.2.2: Grupların Yaşayabilen Flep Alanlarına Göre Dağılımı (Her 3 grup arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur).

4.3.Epidermis Kalınlığının Değerlendirilmesi

Kontrol grubunda ortalama epidermis kalınlığı $14,19 \pm 4,24$ (8,26-20,65) idi. Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen grupta ortalama epidermis kalınlığı $52,55 \pm 8,71$ (42,21-63,75) iken, Flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen grupta ortalama epidermis kalınlığı $49,50 \pm 10,56$ (40,12-65,13) idi.

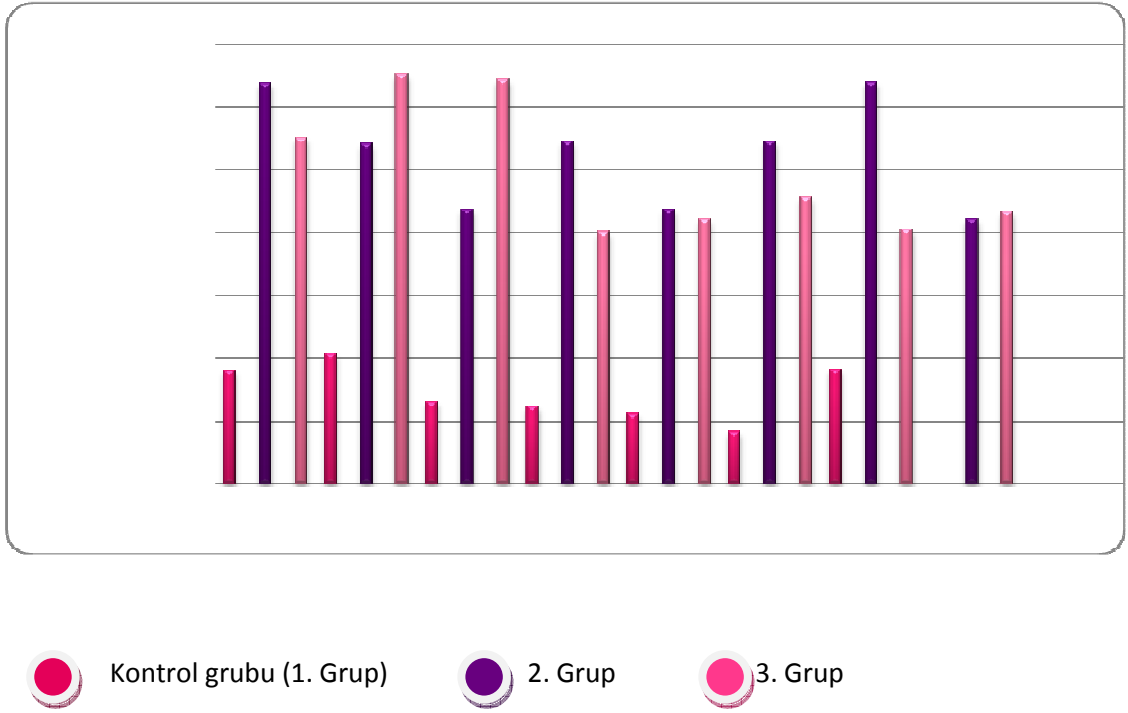


Tablo 4.3.1: Ortalama Epidermis Kalınlığının Gruplara Göre Dağılımı

Yapılan tek yönlü varyans analizine göre önem düzeyinde epidermis kalınlığı açısından üç grup ortalaması arasında önemli farklar bulunmuştur.

Çoklu karşılaştırma için yapılan Tukey HSD analizinde epidermis kalınlığı kontrol grubu olan I. grup ve flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen II. grup arasında anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Ayrıca kontrol grubu olan I. grup ile flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen III. Grup arasında da önemli düzeyde fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Tedavi grupları olan II. Ve III. grup

Ortalama VEGF boyalı endotel sayılarının arasında ise bulunan fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,074$).



Tablo 4.3.2: Epidermis Kalınlığının Gruplara Göre Dağılımı (Tedavi gurupları (grup II, III) ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0,05$))

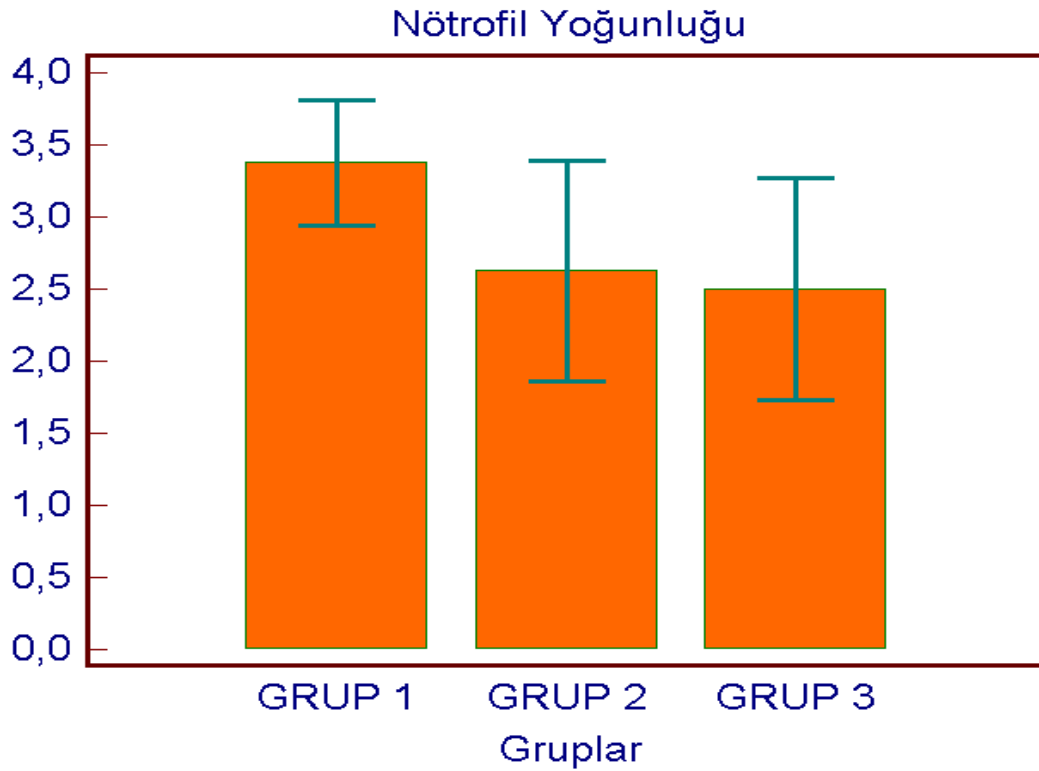
Epidermis kalınlıkları iki tedavi gurubunda da (Grup II, III), kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede artmış bulundu ($p< 0.001$). Tedavi grupları arasında, Epidermis kalınlıkları bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,074$).

4.4. Nötrofil Sayısının Değerlendirilmesi

Flep cerrahisi sonrası nötrofil invazyonunun en yüksek olması beklenen 3. günde fleplerin orta kısmından 3 mm'lik tam kalınlıkta punch biyopsi materyalleri alındı. Örneklerde yapılan histolojik inceleme ile nötrofil sayımı yapıldı. Yapılan sayıma göre

nötrofil sayıları derecelendirildi . Bu derecelendirmeye göre; 1. derece: “az” nötrofil sayısı, 2. derece: “orta” nötrofil sayısı, 3. derece: “yoğun” nötrofil sayısı, 4. derece ise “çok yoğun” nötrofil sayısı olarak tanımlandı. (nötrofiller; 4: çok yoğun, 3: yoğun, 2: orta 1:az olarak değerlendirildi.)

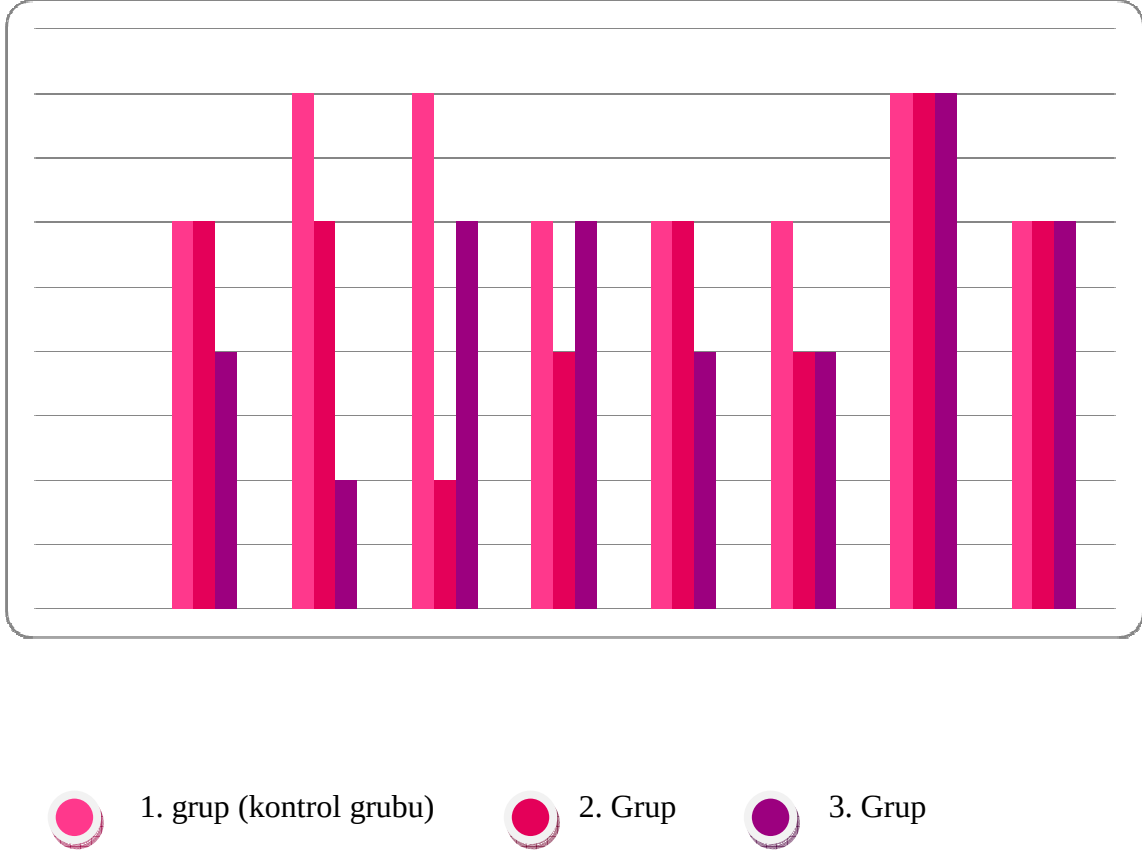
Bu tanımlamaya göre ise, kontrol grubunda ortalama nötrofil sayısı 4. derecede (çok yoğun) iken, flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen grupta ortalama nötrofil yoğunluğu 3. (yoğun) derecede ve flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen grupta da ortalama nötrofil sayısı 3. derece (yoğun) bulunmuştur



Tablo 4.4.1: Grupların Ortalama Nötrofil Yoğunluğu derecelerine Göre Dağılımı

Üç grup arasında yapılan nonparametrik karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,082$)

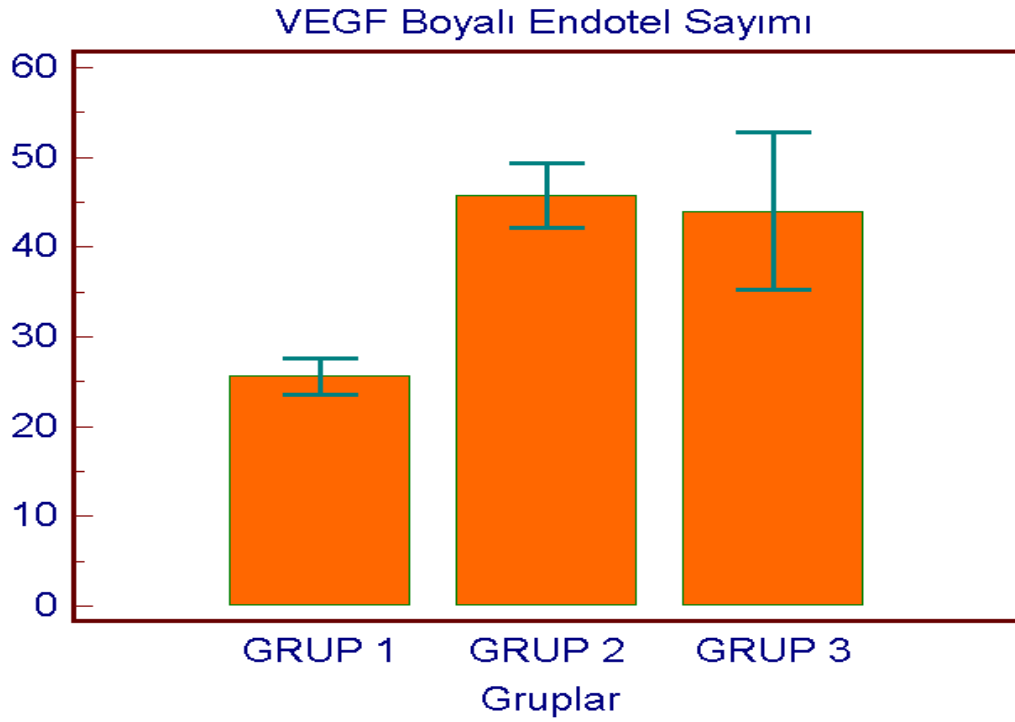
Nötrofil sayısı için yapılan Kruskal wallis testinde nötrofil sayısı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur hipotezi kabul edilmiştir ($P=0,082$)



Tablo 4.4.2: Nötrofil Yoğunluğuna Göre Grupların Biribiriyle Karşılaştırılması

4.5. Neoanjiogenezin Değerlendirilmesi

Endotel hücrelerinin VEGF pozitif boyanmıştır. İşaretlenen dokularda 100x büyütme ile 10 alanda damar yapıları sayılarak anjiogeneze açısından değerlendirildi. Kontrol grubunda ortalama yeni oluşan damar miktarı $25,63 \pm 2,45$ (22-29) idi. Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen grupta yeni oluşan damar miktarı $45,75 \pm 4,30$ (39-51) iken , Flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen grupta $44 \pm 10,47$ (34-65) idi.

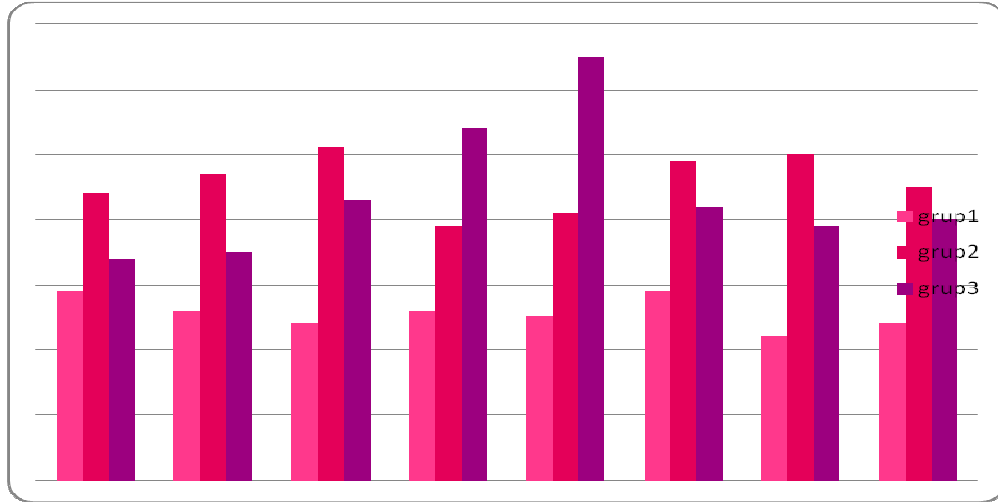


Tablo 4.5.1: Endoteli VEGF pozitif boyalı yeni oluşan damar miktarının gruplara göre dağılımı

Yapılan tek yönlü anova analizinde $p < 0,001$ önem düzeyinde endoteli VEGF pozitif boyalı yeni oluşan damar miktarı açısından üç grup ortalaması arasında önemli farklar bulunmuştur.

Çoklu karşılaştırma için yapılan Turkey HSD analizinde yeni oluşan damar miktarı kontrol grubu olan I. Grup ile flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen II. grup arasında anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p < 0,001$). Ayrıca yeni oluşan damar miktarı bakımından kontrol grubu olan I. grup ile flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen III. grup arasında da önemli düzeyde fark bulunmuştur

($p<0,001$). Tedavi grupları olan II. ve III. grup arasında ise istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,86$).

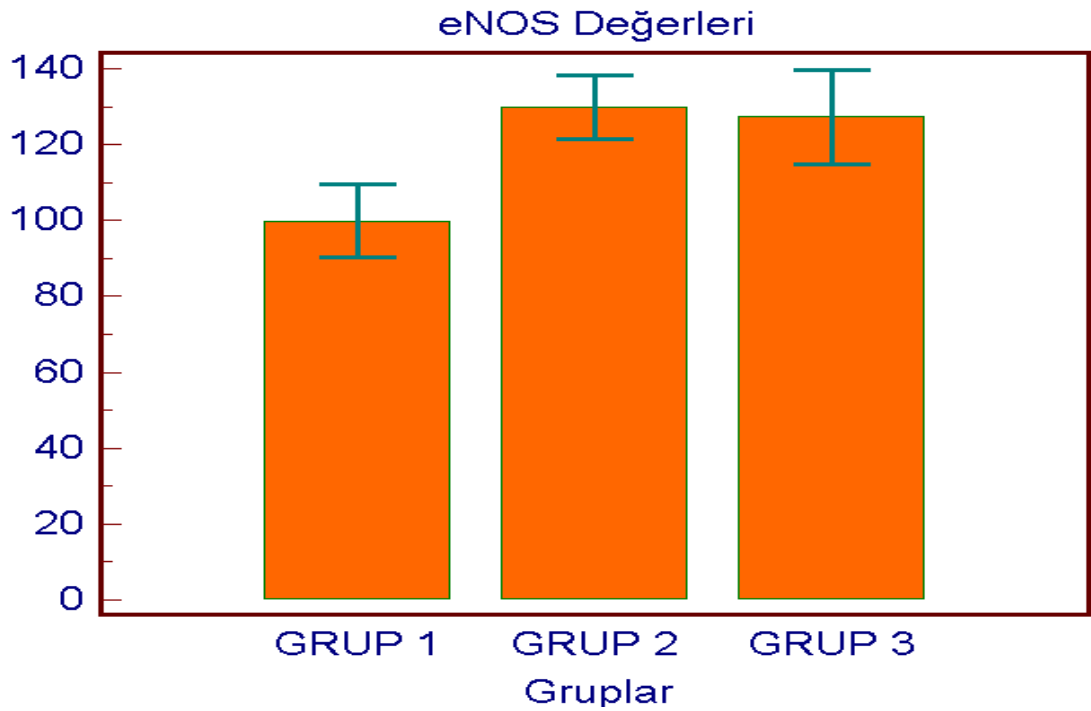


Tablo 4.5.2: Endoteli VEGF pozitif boyalı yeni oluşan damar miktarının gruplara göre dağılımı (Tedavi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$) .

Yeni oluşan damar miktarı iki tedavi grubunda da (Grup II, III), kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,001$). Tedavi grupları arasında, yeni oluşan damar miktarı bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,86$).

4.6. eNOS Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Kontrol grubunda ortalama eNOS düzeyi 100 ± 11 (82-115) idi. Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen grupta eNOS düzeyi ortalama 130 ± 10 (109-141) iken, flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen grupta 127 ± 15 (102-147) idi.

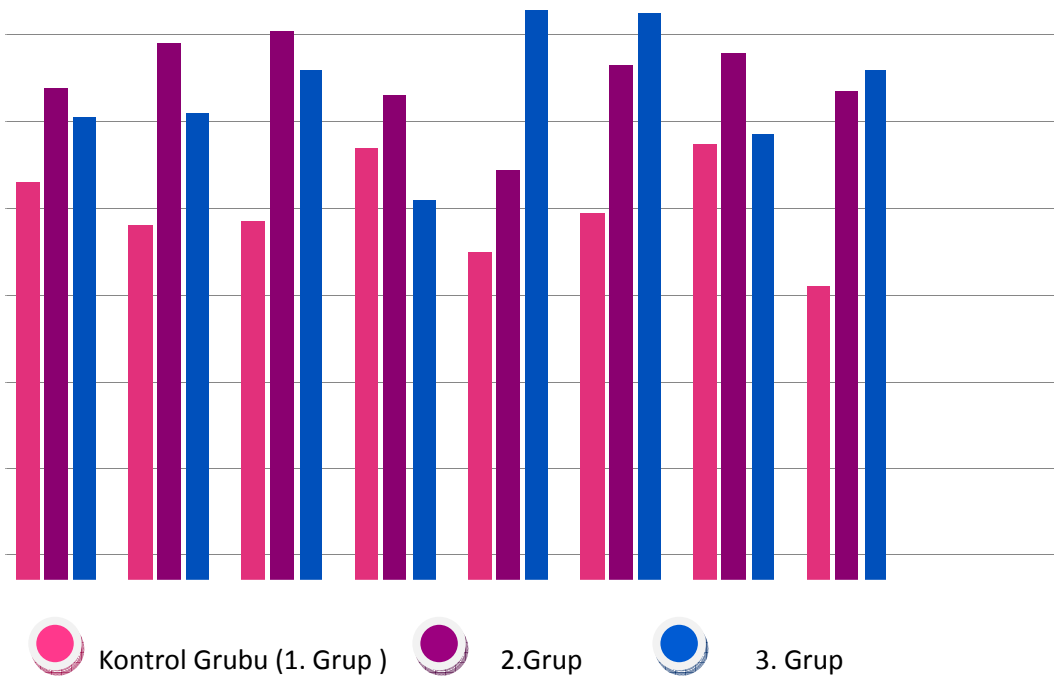


Tablo 4.6.1: Ortalama eNOS Düzeylerinin Gruplara Göre Dağılımı (Tedavi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0,001$))

Yapılan tek yönlü anova analizinde eNOS düzeyi açısından üç grup ortalaması arasında önemli farklar bulunmuştur ($p<0,001$).

Çoklu karşılaştırma için yapılan Tukey HSD analizinde eNOS düzeyleri kontrol grubu olan I. Grup ile flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen II. grup arasında anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p<0,001$).

Ayrıca eNOS düzeyi bakımından kontrol grubu olan I. grup ile flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen III. grup arasında da önemli düzeyde fark bulunmuştur ($p<0,001$). Tedavi grupları olan II. ve III. grup arasında ise istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,91$).



Tablo 4.6.2: eNOS Düzeylerinin Gruplara Göre Dağılımı (Tedavi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,001$)).

eNOS düzeyleri iki tedavi grubunda da (Grup II, III) kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede artmış bulundu ($p < 0.001$). Tedavi grupları arasında, eNOS düzeyleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p = 0,91$).

5. TARTIŞMA

Random paternli cilt flepleri, plastik cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. Flep cerrahisinin başarısı flep yaşayabilirliği ile paraleldir ve buna bağlı kısmi ya da tam flep kayıpları plastik cerrahinin önemli bir problemi olmaya devam etmektedir. Özellikle uzun fleplerin distalinde görülen iskemiye bağlı nekroz, hastanede kalma süresini dolayısıyla da tedavi maliyetini arttıran önemli bir sorundur. Bu istenmeyen kayıpları azaltabilmek amacıyla hastanın, defektin, verici bölgenin durumları ve cerrahi

şartlar ideale getirilmeye çalışılmıştır. Yeterli kan akımına sahip olmak, bu tür fleplerin yaşayabilmesinde çok önemlidir. Flep vaskülaritesini bozan bir yaralanma ve iskemi/reperfüzyon hasarı, flepte tam veya kısmi kayıplara neden olabilmektedir. Riskli hastalarda bu fleplerin yaşayabilirliğini arttırmak amacıyla yoğun bir şekilde araştırmalar devam etmektedir. Çeşitli araştırmacılar flep yaşayabilirliğini farmakolojik olarak geliştirmeyi hedeflemişler ve çeşitli vazodilatör ajanlarla kimyasal iyileştirme yoluna gitmişlerdir. Subdermal pleksustaki damarlarda hasar oluşturarak hipoksik ortam oluşmasını ve reaktif vazodilatasyon sağlamayı amaçlayan bazı çalışmacılar da lazer ile bunu başarmaya çalışmışlardır. Yine bir grup araştırmacı damarlanmayı arttırarak flep dolaşımına katkı sağlayabilecekleri düşüncesinden hareketle anjiogenik büyüme faktörlerini kullanmışlar ve çelişkili sonuçlar yayınlamışlardır (100,102,103). Yaptığımız literatür taramasında omentinle yapılmış flep yaşayabilirliğini arttırmaya yönelik herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Biz de bu çalışmamızda omentinin vasodilatör, antiinflamatuvar, anjiogenik ve proliferatif özelliklerinden faydalanarak flep yaşayabilirliğini arttırmayı hedefledik. Flep yaşayabilirliğinin arttığını hem makroskopik hem de mikroskopik bulgularla gösterdik.

Flep vaskülaritesini arttıran ya da flebin hipoksiye direncini arttıran çok sayıda ajan ve yöntem denenmiştir (23,34,35). Ancak bu ajanların neredeyse hiçbiri klinik kullanım alanı bulamamıştır. Bu durumun başlıca nedenleri arasında kullanılacak ajanın maliyetinin fazla olması, elde edilmesinin zor olması, yan etkilerinin fazla olması, donör morbiditesinin fazla olması, uygulama zorluğu ve etkinliğinin az olmasıdır (110). Buradan hareketle flep yaşayabilirliğini arttırmada kullanılacak olan bir ajanın ideal özellikleri; “ucuz olması, kolay elde edilebilmesi, yan etkilerinin az olması ya da hiç olmaması, donör morbiditesi yaratmaması, kolay uygulanabilmesi ve kullanıldığı

bölgede etkinliğinin yüksek olması” olarak sayılabilir (110). Çalışmamızda kullandığımız Omentin Human kolay elde edilebilir, kısmen maliyeti ucuz, lokal olarak serum fizyolojik olarak dilüe edilerek kolay uygulanabilir, hiçbir yan etkisi olmayan rekombinant bir üründür.

Flep yaşayabilirliğini arttırmada çalışmamızda kullandığımız Omentin Human gelecek vaad eden rekombinant bir üründür. Omentin yağ dokusunun visseral stroma damar hücrelerinden salgılanan son dönemde tanımlanmış yeni bir adipokindir. Günümüzde adipositlerden ve adipoz stromal hücrelerden sentezlenen adipositokinler adı verilen bu proteinlerin otokrin, parakrin ve endokrin etkileri olduğu da gösterilmiştir. Omentin, Akt bir serin / treonin protein kinazdır. Glukoz metabolizması, hücre proliferasyonu ve apoptozis gibi önemli bazı hücreyel olaylarda ikincil haberci olarak rol oynamaktadır. İnsan yağ dokusundan izole edilen hücrelerde in vitro yapılan çalışmalarda omentinin insülin sinyal transdüksiyonunu artırdığı saptanmıştır (105). Biz de buradaki çalışmamızda hücre proliferasyonu arttırarak flep yaşayabilirliğini arttırabileceğini düşündük. Fleplerden aldığımız biyopsilerde yaptığımız histolojik değerlendirmede fleplerin epidermis kalınlığının omentin verilen 2. ve 3. gruplarda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede arttığı görüldü. Fleplere cerrahiden 1 hafta önce omentin verilen 2. Grupla 2 gün önce ve aynı gün olmak üzere 2 kez omentin verilen 3. Grup arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmedi. Omentinin arttırdığı NO, VEGF yi arttırmakta VEGF de keratinosit ve hücre proliferasyonu yaparak epidermis kalınlığını arttırmaktadır (29,114,115,116). Wise ve arkadaşları 2012 yılında yaptığı bir çalışmada artmış VEGF düzeyinin, keratinosit proliferasyonu ve migrasyonunu arttırarak epidermis rejenerasyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da epidermis kalınlığı artmış olmasının VEGF

düzeyinin artmış olabilmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Omentinin epidermis kalınlığını arttırmasını NO ve VEGF düzeylerini arttırarak yaptığını düşünmekteyiz.

ICAM-1 (intracelüler adezyon molekülü-1) ve VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü) moleküllerinin oluşumunu da etkilemektedir. Ayrıca omentinin, TNF-alfa (tümör nekroz faktör alfa) ile indüklenmiş ICAM-1 ve VCAM-1 oluşumunu da azalttığı gösterilmiştir. Omentin NF_KB (nükleer faktör kappa beta) inhibitör proteinin degradasyonunu engelleyerek, TNF-alfa ile aktive NF_KB sinyal yolunu inhibe etmektedir. Ayrıca bunu NF_KB/DNA bağlanmasını önleyerek de yapmaktadır (83). Bu moleküllerin inhibe edilmesi, omentinin antiinflamatuvar (84) özelliğini göstermektedir. Bu sayede damarlarda aterosklerotik plak oluşumunu engelleyerek damarsal kanlanmanın bozulmasını da önlemektedir. İnsülin ile inflamasyon birbiriyle ilişkilidir. Bu nedenle omentinin inflamasyonla ilişkili olabileceği de düşünülmektedir. İnflamatuvar barsak hastalığı olan bireylerin omental yağ dokusu örneklerinde omentin kodlayan mesajcı RNA'larda romatoid artritli hastaların sinovyal sıvılarında omentin düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır (106). Bu hastalıklarda görülen inflamasyonun patogenezinde omentindeki bu azalma rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca omentinin CRP düzeylerini düşürdüğü de gösterilmiştir (107). Bu da omentinin antiinflamatuvar özelliğini başka bir yönden kanıtlamaktadır. Antiinflamatuvar ve vazorelaksan özelliğe sahip olan omentin, obezite ve D.M. ta salınımı azaldığından damarlarda vazodilatasyon özelliği kaybolmakta, ayrıca antiinflamatuvar özellik de azaldığından damarlarda aterosklerotik plak oluşumunun da artmış olduğu gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda koroner arter hastalığında omentin seviyesinin düşük olduğu gözlenmiştir (86). Biz bu çalışmamızda omentinin antiinflamatuvar özelliğinden faydalanmak suretiyle inflamasyona bağlı damarlarda oluşan spazm ve vazokonstrüksiyonu engelleyip flep

yaşayabilirliğini arttırmayı düşündük. Literatürde omentinin flep yaşayabilirliği üzerine yapılmış hiçbir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarda omentin uygulanan gruplardan 3. gün alınan biopsilerde kontrol grubuna göre nötrofil düzeylerinde düşüş tespit ettik. Ancak sonuçlar bilimsel olarak anlamlı değildi. Yine de flep yaşayabilirliğine katkısı olduğunu düşünmekteyiz.

Omentin, akt sinyal yoluyla nitrik oksit sentaz enzimini de düzenlemekte ve böylece endotel disfonksiyonu üzerine etki edebilmektedir (108). Yine nitrik oksit üzerinden noradrenalinin yol açtığı vazokonstriksiyonu antagonize etmektedir. Omentin endotel hücrelerinin kontrolsüz migrasyonunu ve kontrolsüz anjiogenezi in vitro olarak azaltmaktadır (107). Bu nedenle omentinin anjiogenez ve ateroskleroz üzerine de etkileri olabileceği düşünülmektedir. Yamawaki ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da omentinin endotel kaynaklı NO aracılığıyla kan damarları üzerinde vazodilatör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (82). Omentin endotel aracılı nitrik oksit sentaz (e-NOS) üzerinden endotelial nitrik oksiti (e-NO) i artırarak damarlarda vasodilatasyon yaptığı kanıtlanmış, omental yağ dokusu kaynaklı antiinflamatuvar ve vasodilatatör özellikli bir adipokindir. Ratlardan izole edilen endotel intakt aortanın omentinle (300ng/ml 30 dakika) muamelesi, noradrenalinin yaptığı kontraksyonu inhibe etmiştir. Omentin (300ng/ml 5 dakika muamele), endotelial NOS'un fosforilizasyonunu Serin 1177 üzerinden indüklemektedir. Ayrıca omentinin (1-300 ng/ml), noradrenalin (NA) ile kontrakte mezenterik arteri dilate ettiği gösterilmiştir (81). Burada görülmektedir ki omentin endotel bağımlı NO üzerinden, izole edilmiş kan damarlarında vazodilatasyon etkisi oluşturmaktadır. Angel ve arkadaşları klorpromazinin flep yaşayabilirliğinde yararlı etkileri olduğunu bulmuşlardır. Etki

mekanizması norepinefrinin vazokonstrüktif etkisini azaltıp vazodilatasyon yapan alfa adrenerjik blokaj yapmasıdır (3).

Biz de bu çalışmada, omentinin daha önce gösterilmiş vazodilatör etkisi ile NO'ı arttırıp vazodilatasyon sağlayarak ve antiinflamatuvar etki göstererek random paternli cilt fleplerinin yaşayabilirliğini arttırabileceğini düşündük. Çalışmamızda fleplerin ortalarından 7. Gün aldığımız doku örneklerinde ELISA yöntemiyle baktığımız eNOS düzeylerinde omentin verilen gruplarda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde artış olduğunu gösterdik. eNOS üzerinden NO düzeyini arttırıp vazodilatasyon ve kanlanmayı arttırarak, aynı zamanda VEGF'yi uyarıp neoanjiogenezi arttırarak flep yaşayabilirliğini arttırdığını düşünmekteyiz. Her ne kadar VEGF düzeyini kantitatif olarak ölçmemiş olsak da yeni oluşmuş damar endotellerinde VEGF nin pozitif boyandığını gösterdik. Yine 2. ve 3. gruplarda epidermis kalınlığının artmasının artmış VEGF düzeyine bağlı olduğunu düşünmekteyiz (115,116). Flep kaldırılmadan 1 hafta önce omentin verilen 2. grupta, flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün omentin verilen 3. grup arasında eNOS düzeyleri bakımından anlamlı bir fark gözlemlenemedi.

Anjiyogenez, yeni kapiller oluşumu için endotel hücrelerinin harekete geçmesi, göç etmesi ve çoğalmasını gerektiren, normal şartlarda erişkinlerde nadir gözlenmesine rağmen tümör oluşumu, romatoid artrit ve diyabetik retinopati gibi patolojik durumlarda kontrolsüz olarak işleyen biyolojik bir mekanizmadır. Yakın zamanda araştırmacılar bazı büyüme faktörlerinin doğrudan veya dolaylı olarak anjiyogenezi uyardığını saptamışlardır. Büyüme faktörleri, kendilerine özgü hücrelerin biyolojik aktiviteleri üzerinde reseptörler yoluyla etkilerini gösteren, küçük proteinler veya glikoproteinlerin oluşturduğu sitokinlerdir. Tek başlarına etki gösterebildikleri gibi bazılarının sinerjistik

etkileşimleri olduğu da anlaşılmıştır. Bu büyüme faktörleri arasında olan “vascular endothelial growth factor” (VEGF) en iyi bilinen ve üzerinde çok çalışılanlardan biridir. Aynı zamanda en güçlü anjiyogenik etki gösterendir. Hipoksinin VEGF salınımını uyardığı saptanmıştır (39,48). Damarlanmadaki artışın, hem histolojik incelemede direk tubüler damar yapılarındaki artışın gösterilmesi hem de immünohistokimyasal analizde VEGF düzeyinin artışı ile olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda stromal hücrelerin anjiyogenik etkisiyle endotel hücrelerin çoğalmasının ve apoptozun azaltılmasının VEGF salınımının artışına bağlı olarak gerçekleştiği gösterilmiştir. (103). VEGF bir taraftan kısmen nitrik oksit sentezini uyarak vazodilatasyona neden olurken, diğer taraftan hücre göçünü ve apoptozu inhibe eder (71). Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotel hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında görevlidir ve vasküler geçirgenliği artırır (43,69). VEGF’nin anjiogenezi başlatarak vasküler kaynağı, bazı çalışmalarda da vasküler yaralanmanın ardından uygulandığında yeniden endotel oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (50,63). Yeni damar oluşumu sürecinde en önemli faktörün Vasküler Endotelial Büyüme Faktör (VEGF) olduğu bilinmektedir. İn vitro modellerde iskemik deri fleplerinin yaşayabilirliği ile yeni endotelial hücre oluşumunun direkt ilişkili olduğu ve bu süreçte VEGF’nin primer mediatör olduğu tespit edilmiştir (121,122,123). Petersen ve arkadaşları da 2002’de tendon anjiogenezinin ana belirleyicisinin VEGF olduğunu bulmuşlardır (55). NO de VEGF ile indüklenen angienez ve hiperpermeabilite de kritik, hayati bir role sahiptir (99). Artmış NO vazodilatasyona, trombosit yapışmasının engellenmesi ile dokuların mikrosirkülasyonunda rahatlamaya ve sonuçta da dokuların oksijenlenmesi yönünde çok yararlı katkı sağlayabilir (99). VEGF, endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS) enziminin upregulasyonunu ve buna bağlı olarak NO salgısını

indükler. Endojen olarak üretilen NO da sonuçta VEGF sentezini artırır (29,117,118,119,120). eNOS'un farmakolojik blokajı yada genetik olarak bozukluğa uğraması VEGF ile indüklenmiş angiogenezi ve hiperpermeabiliteyi inhibe eder. Biz bu çalışmamızda, omentinin NO düzeylerini arttırması ve NO'inde VEGF düzeylerini arttırmasından yola çıkarak omentinin yeni damar oluşumunda ve hücre proliferasyonunda etkili VEGF düzeylerini arttıracağını düşündük. Literatürde omentinin VEGF düzeylerini arttırdığına yönelik herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda omentinin uygulandığı 2 ve 3. grupta fleplerin yaşayabilen alan oranları, epidermis kalınlıkları ve neoanjiogenezis için bakılan endoteli VEGF pozitif boyalı yeni oluşan damar sayıları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Bunu omentinin NO düzeylerini arttırarak VEGF düzeyinin arttırmasına bağlı yaptığını düşünmekteyiz (29,117,118,119,120). Çalışmamızda omentinin 1 hafta önce verildiği 2. grupla ve 2 gün önce ve aynı gün olmak üzere iki kez omentin verilen 3. grup arasında yapılan istatistiki değerlendirmede yeni damar oluşumu, epidermis kalınlığı, nötrofil yoğunluğu açısından anlamlı bir fark gözlemlenemedi. Ancak fleplerin yaşayabilen alanlarının oranları açısından yapılan istatistiki değerlendirmede 2. ve 3. gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğunu gördük. Flep kaldırılmadan 2 gün önce ve aynı gün olmak üzere 2 kez 300 ng /ml omentin verilmesi flep kaldırılmadan 1 hafta önce tek doz 300 ng/ml omentin verilmesine göre sonuç açısından makroskopik olarak daha etkili olmuştur.

Çalışmamızda fleplerin yaşayabilen alanlarının artışının, lokal olarak fleplerin distal 1/3 üne enjekte edilen Rekombinant Human Omentin'in vazodilatasyon yapan eNOS düzeyini arttırıcı ve endoteli VEGF pozitif boyalı neoanjiogenezisi arttırıcı etkilerinin yanı sıra, antiinflamatuvar ve gösterdiğimiz epidermis kalınlığının artışının

sebebi olarak düşündüğümüz VEGF'nin artmış etkilerinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

Rohrich ve arkadaşları flep yaşayabilirliğini artırmaya yönelik kullanılacak ilaç veya uygulama için; kolay uygulanabilir olmalı, güvenilir olmalı, postoperatif olarak kullanılabilmesi, ucuz olmalı, etki mekanizması tam olarak bilinmeli, elde edilebilir olmalı ve flep nekrozunda koruyucu olmalı olarak özetlemiştir (124). Tartışılan faydalı etkilerinin yanı sıra omentinin üzerinde durulması gereken diğer önemli özellikleri ise kolay elde edilebilir, uygulanabilir olması ve çalışmamızda herhangi bir yan etkisinin oluşmamış olmasıdır. Omentinin ilerleyen yıllarda tıbbın her alanında olduğu gibi plastik cerrahide de kullanıma gireceğini düşünmekteyiz. Ancak klinik kullanımlarından önce yeterli güvenilirlik ve etkinliklerinin olup olmadığının çok sayıda çalışma ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, omentin fleplere lokal olarak uygulandığında dokularda eNOS'u, VEGF boyalı endotel sayısını ve random paternli deri fleplerinin yaşayabilen kısmını arttırdığını gösterdik. Bu etkisini NO ve VEGF'yi artırıp sırasıyla vazodilatasyon ve neoanjiogenezis yaparak ve antiinflamatuvar özelliği ile inflamatuvar hücrelerin oluşumunu azaltarak gerçekleştirdiğini düşünüyoruz.

Bu ürünün kolay temin edilebilmesi, kolay uygulanabilir olması ve yan etki profili açısından güvenli olması nedeni ile gelecekte plastik cerrahide de geniş kullanım alanı bulacağını düşünüyoruz. Ancak bu ürünün etki mekanizması ve uzun dönem sonuçları ile ilgili daha çok sayıda denek içeren deneysel çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1986.
2. Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. 2 ed. London: Churchill Livingstone; 1994.
3. Kayser MRMD. Surgical flaps. Selected Readings in Plastic Surgery. 1999;9(2).
4. Taylor GI. The blood supply of skin. In: Aston SJ BR, Thorne CHM, editor. Plastic Surgery (Chapter 5). Philadelphia: Lippincott - Raven; 1997.
5. Daniel R, Kerrigan C. Principles and physiology of skin flap surgery. In: JG MC, editor. Plastic Surgery Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1990. p. 275-328.
6. Lamberty B, Healy C. Flaps: Physiology, principles of design, and pitfalls. In: Cohen M, editor. Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery. Boston: Little, Brown and Company; 1994. p. 56-70.

7. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg.* 1983 Dec;72(6):766-77.
8. Taylor G, Palmer J, D. M. The vascular territories of the body (angiosome) and their clinical applications. In: McCarthy J, May J, Litter J, editors. *Mathes Plastic Surgery.* Philadelphia: WB Saunders; 1990. p. 353-5.
9. Spalteholz W. Vertheilung der Blutgefasse in der Haut. *Arch Anat Entwcklngs-Gesch.* 1983(1):54.
10. Çagdaş A, Akın Y, Gürler T. *Estetik Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi.* İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 2003.
11. Manhot C. Die Hautarterien des menschlichen Körpers. Leipzig 1889.
12. Tansini I. Sopra il mio nuovo processo di amputazione della mammella. *Gazz Med Ital.* 1906(57):141.
13. Mathes SJ, Nahai F. Classification of the vascular anatomy of muscles: experimental and clinical correlation. *Plast Reconstr Surg.* 1981 Feb;67(2):177-87.
14. Smith JD, Pribaz JJ. *Flaps.* Eriksson E, editor: Mosby; 2000.
15. Brown DL, Borschel GH. *Flaps.* Brown GH, editor. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004.
16. Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM. *Basic Techniques and Principles in Plastic Surgery.* Aston SJ, editor. Philadelphia: Lippincott Raven; 1997.
17. Mathes SJ. Flap Physiology. In: Hentz VR, editor. *Mathes Plastic Surgery.* Philadelphia 2006. p. 483-506.
18. Achauer BM, Ericson E, Guyuron B, Coleman JJ, Russell RC, Vander-Kolk CA. *Flaps.* Achauer BM, Ericson E, editors. Philadelphia: Lippincott - Raven; 2000.

19. McGregor IA, Jackson IT. The groin flap. *Br J Plast Surg*. 1972 Jan;25(1):3-16.
20. Khouri RK, Angel MF, L.E. E. Standardizing the dorsal rat flap. *Plast Surg*. 1986(37):590-1.
21. McFarlane RM, Deyoung G, Henry RA. The Design of a Pedicle Flap in the Rat to Study Necrosis and Its Prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1965 Feb;35:177-82.
22. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, Petras S, Zins JE. Muscle flaps' triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation. *Plast Reconstr Surg*. 1999 Sep;104(3):730-7.
23. Finseth F, Adelberg MG. Prevention of skin flap necrosis by a course of treatment with vasodilator drugs. *Plast Reconstr Surg*. 1978 May;61(5):738-43.
24. Khiabani KT, Kerrigan CL. Differing flow patterns between ischemically challenged flap skin and flap skeletal muscle: implications for salvage regimens. *Plast Reconstr Surg*. 2002 Jan;109(1):220-7.
25. Kaneko S, Okumura K, Numaguchi Y, Matsui H, Murase K, Mokuno S, et al. Melatonin scavenges hydroxyl radical and protects isolated rat hearts from ischemic reperfusion injury. *Life Sci*. 2000;67(2):101-12.
26. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*. 1983 May;67(5):1016-23.
27. Toomey JM, Conoyer JM, Ogura JH. Vasodilating agents in augmentation of skin flap survival. *Otolaryngol Head Neck Surg* (1979). 1979 Nov-Dec;87(6):757-62.

28. Stein HJ, Fayman MS, Oosthuizen MM, Hinder RA. Verapamil improves survival of rat hyperemic island skin flaps. *Surgery*. 1989 Oct;106(4):617-22; discussion 22-3.
29. Knox LK, Stewart AG, Hayward PG, Morrison WA. Nitric oxide synthase inhibitors improve skin flap survival in the rat. *Microsurgery*. 1994;15(10):708-11.
30. Finseth F, Adelberg MG. Experimental work with isoxuprine for prevention of skin flap necrosis and for treatment of the failing flap. *Plast Reconstr Surg*. 1979 Jan;63(1):94-100.
31. Celen O, Yildirim E, Berberoglu U. Prevention of wound edge necrosis by local application of dimethylsulfoxide. *Acta Chir Belg*. 2005 May-Jun;105(3):287-90.
32. Angel MF, Narayanan K, Swartz WM, Ramasastry SS, Kuhns DB, Basford RE, et al. Deferoxamine increases skin flap survival: additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. *Br J Plast Surg*. 1986 Oct;39(4):469-72.
33. Uhl E, Rosken F, Curri SB, Menger MD, Messmer K. Reduction of skin flap necrosis by transdermal application of buflomedil bound to liposomes. *Plast Reconstr Surg*. 1998 Oct;102(5):1598-604.
34. Kargi E, Deren O, Babuccu O, Hosnuter M, Erdogan B. Dual synergistic effect: the effect of dexamethasone plus carnitine on skin flap survival. *Ann Plast Surg*. 2004 Nov;53(5):488-91.
35. Hosnuter M, Babuccu O, Kargi E, Altinyazar C. Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. *Ann Plast Surg*. 2003 Apr;50(4):398-402.

36. Salerno GM, McBride DM, Bleicher JN. The use of 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside (AICA riboside) to improve random skin flap viability in the rat model. *Ann Plast Surg.* 1991 Jun;26(6):544-50.
37. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets.* 2001 Aug;12(5):261-73.
38. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med.* 2000 Apr;6(4):389-95.
39. Gurunluoglu R, Ozer K, Skugor B, Lubiatowski P, Carnevale K, Siemionow M. Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene. *Ann Plast Surg.* 2002 Aug;49(2):161-9.
40. Weiler A, Forster C, Hunt P, Falk R, Jung T, Unterhauser FN, et al. The influence of locally applied platelet-derived growth factor-BB on free tendon graft remodeling after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* 2004 Jun;32(4):881-91.
41. McGee GS, Broadley KN, Buckley A, Aquino A, Woodward SC, Demetriou AA, et al. Recombinant transforming growth factor beta accelerates incisional wound healing. *Curr Surg.* 1989 Mar-Apr;46(2):103-6.
42. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004 Jan;91(1):4-15.
43. Huang LH, Neiva RE, Soehren SE, Giannobile WV, Wang HL. The effect of platelet-rich plasma on the coronally advanced flap root coverage procedure: a pilot human trial. *J Periodontol.* 2005 Oct;76(10):1768-77.

44. Ksander GA, Sawamura SJ, Ogawa Y, Sundsmo J, McPherson JM. The effect of platelet releasate on wound healing in animal models. *J Am Acad Dermatol.* 1990 May;22(5 Pt 1):781-91.
45. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2001 Jan;107(1):229-37; discussion 38-9.
46. Snyder EL, Calhoun BC. Topical platelet growth factor therapy: of lotions and potions. *Transfusion.* 2001 Oct;41(10):1186-9.
47. Grotendorst GR, Martin GR, Pencev D, Sodek J, Harvey AK. Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats. *J Clin Invest.* 1985 Dec;76(6):2323-9.
48. O'Toole G, MacKenzie D, Buckley MF, Lindeman R, Poole M. A review of therapeutic angiogenesis and consideration of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *Br J Plast Surg.* 2001 Jan;54(1):1-7.
49. Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. *Plast Reconstr Surg.* 1998 Apr;101(4):1161-2.
50. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *J Hand Surg Am.* 2004 Jul;29(4):551-63.
51. Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem.* 1991 Apr;45(4):319-26.
52. Altmeyden J, Hansen E, Bonnländer GL, Horch RE, Jeschke MG. Composition and characteristics of an autologous thrombocyte gel. *J Surg Res.* 2004 Apr;117(2):202-7.

53. Oya T, Zhao YL, Takagawa K, Kawaguchi M, Shirakawa K, Yamauchi T, et al. Platelet-derived growth factor-b expression induced after rat peripheral nerve injuries. *Glia*. 2002 Jun;38(4):303-12.
54. Kondo E, Yasuda K, Yamanaka M, Minami A, Tohyama H. Effects of administration of exogenous growth factors on biomechanical properties of the elongation-type anterior cruciate ligament injury with partial laceration. *Am J Sports Med*. 2005 Feb;33(2):188-96.
55. Petersen W, Pufe T, Zantop T, Tillmann B, Mentlein R. Hypoxia and PDGF have a synergistic effect that increases the expression of the angiogenetic peptide vascular endothelial growth factor in Achilles tendon fibroblasts. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003 Nov;123(9):485-8.
56. Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 May;14(5):403-12.
57. Vikjaer D, Blom S, Hjorting-Hansen E, Pinholt EM. Effect of platelet-derived growth factor-BB on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits. *Eur J Oral Sci*. 1997 Feb;105(1):59-66.
58. Brown DM, Hong SP, Farrell CL, Pierce GF, Khouri RK. Platelet-derived growth factor BB induces functional vascular anastomoses in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Jun 20;92(13):5920-4.
59. Carroll CM, Carroll SM, Schuschke DA, Barker JH. Augmentation of skeletal muscle flap survival using platelet derived growth factor. *Plast Reconstr Surg*. 1998 Aug;102(2):407-15.

60. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998 Jun;85(6):638-46.
61. Brown GL, Curtsinger LJ, White M, Mitchell RO, Pietsch J, Nordquist R, et al. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF-beta. *Ann Surg.* 1988 Dec;208(6):788-94.
62. Huemer GM, Shafighi M, Meirer R, Debagge P, Piza-Katzer H, Gurunluoglu R. Adenovirus-mediated transforming growth factor-beta ameliorates ischemic necrosis of epigastric skin flaps in a rat model. *J Surg Res.* 2004 Sep;121(1):101-7.
63. Ribatti D, Vacca A, Presta M. The discovery of angiogenic factors: a historical review. *Gen Pharmacol.* 2000 Nov;35(5):227-31.
64. Currie LJ, Sharpe JR, Martin R. The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements: a review. *Plast Reconstr Surg.* 2001 Nov;108(6):1713-26.
65. Rashid MA, Akita S, Razzaque MS, Yoshimoto H, Ishihara H, Fujii T, et al. Coadministration of basic fibroblast growth factor and sucrose octasulfate (sucrafate) facilitates the rat dorsal flap survival and viability. *Plast Reconstr Surg.* 1999 Mar;103(3):941-8.
66. Khouri RK, Brown DM, Leal-Khouri SM, Tark KC, Shaw WW. The effect of basic fibroblast growth factor on the neovascularisation process: skin flap survival and staged flap transfers. *Br J Plast Surg.* 1991 Nov-Dec;44(8):585-8.

67. Hayward PG, Alison WE, Jr., Carp SS, Hui PS, Robson MC. Local infiltration of an angiogenic growth factor does not stimulate the delay phenomenon. *Br J Plast Surg*. 1991 Oct;44(7):526-9.
68. McGee GS, Davidson JM, Buckley A, Sommer A, Woodward SC, Aquino AM, et al. Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing. *J Surg Res*. 1988 Jul;45(1):145-53.
69. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular control of angiogenesis. *Int Rev Immunol*. 2002 Jan-Feb;21(1):33-49.
70. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, et al. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest*. 1994 Feb;93(2):662-70.
71. Zhang F, Oswald T, Lin S, Cai Z, Lei M, Jones M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the effect of exogenous VEGF on survival of a random flap in the rat. *Br J Plast Surg*. 2003 Oct;56(7):653-9.
72. Machens HG, Salehi J, Weich H, Munch S, Siemers F, Krapohl BD, et al. Angiogenic effects of injected VEGF165 and sVEGFR-1 (sFLT-1) in a rat flap model. *J Surg Res*. 2003 May 1;111(1):136-42.
73. Brown GL, Curtsinger L, Jurkiewicz MJ, Nahai F, Schultz G. Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor. *Plast Reconstr Surg*.
74. Claffey KP, Wilkison WO, Spiegelman BM. Vascular endothelial growth factor. Regulation by cell differentiation and activated second messenger pathways. *J feng L*. Transplantation of adipose stromal cells promotes neovascularization of random skin flaps. *Tohoku J Exp Med*. 2011(224):229-34. (4):858-66.

75. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol-Endoc M.* 2006;290(6):E1253-E61.
76. Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Gourgiotis D, Marmarinos A, Liosi S, Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A. Omentin-1 and vaspin are present in the fetus and neonate, and perinatal concentrations are similar in normal and growth-restricted pregnancies. *Metabolism.* 2011;60(4):486-90.).2, Hikmet Tekçe1)
77. Gülali Aktaş¹, Mustafa Şit², Hikmet Tekçe¹ . Leptin, Adiponektin ve Omentin, *Abant Medical Journal Derleme / Review Volume Cilt 2 Issue Sayı 1 2013 Yeni adipokinler:*
78. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Chen J, Lehnert H, Randeva HS. Metformin Treatment May Increase Omentin-
79. Saremi A, Asghari M, Ghorbani A, Effects of aerobic training on serum omentin-1 and cardiometabolic risk factors in overweight and obese men, 1 Levels in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes, J Sport Sci.* 2010;28(9):993
80. Sacks HS, Fain JN. Human epicardial adipose tissue: A review. *Am Heart J.* 2007;153(6):907-17.)
81. Hideyuki Yamawaki, Naoya Tsubaki, Masashi Mukohda, Muneyoshi Okada, Yukio Hara. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 393 (2010) 668-672

82. Yamawaki H. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biol Pharm* 2011;34(3):307-10.
83. Zhong X, Li X, Liu F, Tan H, Shang D, Omentin inhibits TNF- α -induced expression of adhesion molecules in endothelial cells via ERK/NF- κ B pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Aug 24;425(2):401-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.07.110.
84. ZhaoxiaW, Tomohiro N, Inflammation a Link between Obesity and Cardiovascular Disease, Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation, Volume 2010, Article ID 535918.
85. Nele M, Van de Voorde J. regulation of vascular tone by adipocytes Maenhaut and Van de Voorde *BMC Medicine* 2011, 9:25
86. Xia Z.1, , Hai-yang Z.1, , Hui T.1, Yi Z.1, Fu-li L.1, Fu-qin C.2, Association of serum omentin-1 levels with coronary artery disease *Acta Pharmacologica Sinica* (2011) 32: 873–87
87. Dvorak H F. Rous, Whipple Award Lecture. How tumors make bad blood vessel and stroma. *Am J Pathol*, 2003; 162: 1747–57.
88. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669–76
89. Thurston G. et al, Angiopoietin-1 protects adult vasculature against plasma leakage. *Nature Medicine* 6, 1-4 (2000).
90. Maisonpierre, P.C. et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 277, 55-60 (1997).
91. Brooks P.C, Siletti, S, von Schalscha T. L, Friedlander M. & Cheresh, D. A.

- Disruption of angiogenesis by PEX, a non catalytic metalloproteinase fragment with Integrin binding activity, *Cell* 92, 391-400 (1998).
92. Carmeliet, P. et al. Impaired myocardial angiogenesis and ischemic cardiomyopathy in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF164 and VEGF188. *Nat Med* 5, 495-502 (1999).
 93. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of VEGF and their receptors. *J Cell Sci*, 2001; 114:853–865.
 94. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. VEGF and its receptors. *FASEB J*, 1999; 13: 9–22.
 95. Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol*, 2000; 106:148–156 402.
 96. Takagi H., King G., Robinson G., Ferrara N., and Aillo L.P. Adenosine mediates hypoxic induction of vascular endothelial growth factor in retinal pericytes and endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* Since 1996; 37:21676
 97. Whittle C, Gillespie K, Harrison R, Mathieson PW, Harper SJ. Heterogeneous VEGF isoform mRNA and receptor mRNA expression in human glomeruli, and the identification of VEGF148 mRNA, a novel truncated splice variant. *Clin Sci (Lond)*, 1999; 97:303–312
 98. Mustafa B. ÇEKMEN, Mehmet TURGUT, Yusuf TÜRKÖZ, A. Denizmen AYGÜN, Engin M. GÖZÜKARA, Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'in Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri, *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2001; 10(4):226-35)

- 99- Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, et al: Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:2604–9, 2001)
- 101- Acikel C, Kenkel JM, Nojima K, Hoopman JE, Saboorian MH, Brown SA: Nonsurgical delay of dorsal rat cutaneous flap using a long-pulsed 1064-nm Nd:YAG Laser with a contact cooling device. *Plast Reconstr Surg* 116(5): 1411-1420, 2005)
- 100- Aarts HF. Regional intravascular sympathetic blockade for better results in flap surgery: An experimental study of free flaps, island flaps, and pedicle flaps in the rabbit ear. *Plast Reconstr Surg* 66(5): 690-698, 1980 ,
102. Adanalı G, Seyhan T, Turegun M, Senen D, Sensoz O: Effects of different vascular patterns and the delay phenomenon on rat ventral island flap viability. *Ann Plast Surg* 48(6): 660-664, 2002
103. Erdem I. Kranial pediküllü dorsal rat flebinde mikronize flavonoid fraksiyonunun distal flep nekrozuna etkisi. T. C. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.B.D. Uzmanlık tezi. Diyarbakır-1998)
104. Schäffler A, Neumeier M, Herfarth H, Fürst A, Schölmerich J, Büchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*. 2005;1732(1-3):96–102. doi: 10.1016/j.bbaexp.2005.11.005)

105. Batista CMDS, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M, Fried SK, Gong DW, Shuldiner AR, Pollin TI, McLenithan JC. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007;56(6):1655-61).
106. Senolt L, Polanska M, Filkova M, Cerezo LA, Pavelka K, Gay S, Haluzik M, Vencovsky J. Vaspin and omentin: new adipokines differentially regulated at the site of inflammation in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(7):1410-1)
107. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Chen J, Lehnert H, Randeva HS. Metformin Treatment May Increase Omentin-1 Levels in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes*. 2010;59(12):3023-31.).
- 108- Sacks HS, Fain JN. Human epicardial adipose tissue: A review. *Am Heart J*. 2007;153(6):907-17.).
- 109- Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*. 2004 Mar 16;109(10):1292-8.
110. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 2007 Oct;48(1):15-24.
111. Lee C, Kerrigan CL, Picard-Ami LA, Jr. Cyclophosphamide-induced neutropenia: effect on postischemic skin-flap survival. *Plast Reconstr Surg*. 1992 Jun;89(6):1092-7.

112. Iocolano M, Squadrito F, Altavilla D, Canale P, Campo GM, Bussolino F, et al. Protective effects of L-659,989, a platelet-activating factor receptor antagonist, in myocardial ischemia and reperfusion in rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1994 Jan;23(1):7-12.
- 113 . Gonzalez MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, Buscher D, Delgado M. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum.* 2009 Apr;60(4):1006-19.
114. Wise LM, Inder MK, Real NC, Stuart GS, Fleming SB, Mercer AA. The vascular endothelial growth factor (VEGF)-E encoded by orf virus regulates keratinocyte proliferation and migration and promotes epidermal regeneration. *Cell Microbiol.* 2012 Sep;14(9):1376-90.
115. Viac J, Palacio S, Schmitt D, Claudy A. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in normal epidermis epithelial tumors and cultured keratinocytes, *Arch Dermatol Res.*1997 Feb: 289(3): 158-63
116. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, et al. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and Mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:R1219–R1229.
117. Um SC, Suzuki S, Toyokuni S, et al. Involvement of nitric oxide in survival of random pattern skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:785–792.
118. Cordeiro PG, Santamaria E, Hu QY. Use of a nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia–reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102:2040–2048.

119. Mittermayr R, Valentini D, Fitzal F, Hallstrom S, Gasser H, Redl H. Protective effect of a novel NO-donor on ischemia/ reperfusion injury in a rat epigastric flap model. *Wound Repair Regen* 2003;11:3–10.
120. Khiabani KT, Kerrigan CL. Presence and activity of nitric oxide synthase isoforms in ischemia–reperfusion-injured flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:1638–1645.
121. Zacchigna S.,Papa G.,Antonini A., Novati F.,Moimas S.:Improved survival of ischemic cutaneous and musculocutaneous flaps after vascular endothelial growth factor gene transfer using adeno associated virus vectors.*Am. Jour. Pathol.* 2005 Oct.167(4):981-91
122. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435- 9.
123. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996; 380: 439-42.
124. Rohrich R.J.,Cherry G.W.,Spira M.: Enhancement of skin flap survival using nitroglycerin ointment . *Plas. Recon. Surg.* 1984; 73(6): 943-8.

