



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**TOPIKAL EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ(EGF)'NÜN RAT-
LARDA RANDOM FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİ**

Arş. Gör.Dr. Asya DENİZ

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

AFYONKARAHİSAR 2020

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

TOPIKAL EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ
(EGF)'NÜN RATLARDA RANDOM FLEP
YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Gör. Dr. Asya DENİZ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

AFYONKARAHİSAR 2020

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : Topikal epidermal büyüme faktörü (EGF)'nün ratlarda random flep yaşayabilirliğine etkisi

Tezi Hazırlayan : Arş. Gör. Dr. Asya DENİZ

Tez Savunma Tarihi : 01.12.2020

Tez Kabul Tarihi : 01.12.2020

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

İş bu çalışma, jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Necmettin KARASU

Üye

Doç. Dr. Öğr. Üyesi Bilsev İNCE

DEKAN

Prof. Dr. Necip BECİT

TEŞEKKÜR

Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim boyunca benden desteğini esirgemeyen, üstün bakış açısı, bilgi ve becerisinin yanı sıra duru sakinliğiyle örnek almaya çalıştığım değerli hocam Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM'a,

Eğitimimde bilgi ve becerimin gelişmesinde büyük katkıları olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Necmettin KARASU'ya,

Tez çalışmamda desteğiyle hep yanımda olan, yardımseverliği ve nazikliğiyle takdire şayan, bilim adamı unvanını tam anlamıyla hak etmiş değerli Veteriner Öğretim Üyesi Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN'a

Üstün ve güvenilir patoloji çalışmasıyla tezime olan katkılarından dolayı Veteriner Öğretim Üyesi Dr. Mehmet Fatih BOZKURT'a

Tezin istatistik analizinde yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurhan DOĞAN'a

Sevgi ve desteklerini üzerimden eksik etmeyen, emeklerini asla unutmayacağım canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Dr. Asya DENİZ
AFYONKARAHİSAR / 2020

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE	3
2.2. DERİNİN KAN DOLAŞIMI	4
2.3. DERİ FLEPLERİNİN SINIFLANDIRILMASI	7
2.4. FLEP FİZYOLOJİSİ	9
2.5. FLEP NEKROZU	13
2.6. FLEP NEOVASKÜLARİZASYONU	14
2.7. FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİNİ ARTTIRMA ÇALIŞMALARI	15
2.8. EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN ÖZELLİKLERİ	18
2.8.1. Neovaskülerizasyon Etkisi.....	19
2.8.2. Antiinflamatuvar Etkisi.....	19
2.8.3. Antiapoptotik Etkisi.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	21
3.2. GEREÇLER	21
3.3. YÖNTEM	23
3.3.1. Çalışma Grupları.....	23
3.3.2. Cerrahi Teknik	23
3.4. DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ	25
3.4.1. Translüminasyondaki makrovaskülerizasyon.....	25
3.4.2. Histopatolojik Değerlendirme	26
3.4.3. Flep Nekroz Alanı.....	27
3.4.4. İstatistiksel Değerlendirme	27

4. BULGULAR.....	29
4.1. GENEL BULGULAR	29
4.2. TRANSLÜMİNASYONDAKİ MAKROVASKÜLARİZASYON BULGULARI.....	30
4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	32
4.4. FLEP NEKROZ ALANI BULGULARI	35
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ.....	40
ÖZET.....	41
SUMMARY.....	43
7. KAYNAKLAR.....	45

KISALTMALAR

ABC HRP	Avidin/Biotin Kompleks (Peroksidaz)
AEC	3-Amino 9-Etilkarbazol
AMP	Adenozin Monofosfat
Ark.	Arkadaşları
ATP	Adenozin Trifosfat
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
c-AMP	Siklik Adenozin Monofosfat
Ca	Kalsiyum
DMSO	Dimetil Sülfoksidin
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
G-CSF	Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
HES	Hydroxyethyl Starch(Nişasta)
HGF	Hepatosit Büyüme Faktörü
IL	İnterlökin
M.Ö.	Milattan Önce
NO	Nitrik Oksit
O₂	Oksijen
O₂⁻	Süperoksit Radikali
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PECAM-1(CD31)	Trombosit Endotelyal Adhezyon Molekülü

PGE1	Prostoglandin E1
PGF2α	Prostoglandin F2alfa
PGG2	Prostoglandin G2
PGI2	Prostoglandin I2
PIGF	Plasental Büyüme Faktörü
PMNL	Polimorfonükleer lenfosit
rhEGF	Rekombinant İnsan Epidermal Büyüme Faktörü
SOD	Süperoksit Dismutaz
TGF α	Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
TGFβ1	Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta1
TXA₂	Tromboksan A ₂
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Flep sürvi arttırma amaçlı denenmiş diğer farmakolojik ajanlar (115) ..	18
Tablo 2. Gruplarda bazal ağırlık ve deney sonrası ağırlık farkı	29
Tablo 3. Gruplarda 1. cerrahide ve 2. cerrahideki damar yoğunlukları ve bunların yüzde ve sayısal farkları.....	31
Tablo 4. Preparatlardaki damar sayıları	34
Tablo 5. Gruplarda rat başı ortalama damar sayıları	34
Tablo 6. Gruplarda flep total alan ve nekroz alan yüzdesi	35

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Derinin kan dolaşımı.....	5
Şekil 2. Dermal pleksuslar	5
Şekil 3. Mikrodolaşım.....	6
Şekil 4. Choke damarları.....	7
Şekil 5. Deri fleplerinin kan dolaşımına göre sınıflandırılması.....	8
Şekil 6. Nötrofilin neden olduğu doku hasarı	12
Şekil 7. İskemi reperfüzyon sırasında oluşan oksijen radikali.....	12
Şekil 8. Ratların operasyona hazırlık ve operasyon aşamaları	24
Şekil 9. İmage j programı ve orjinal fotoğraf	25
Şekil 10. Fotoğrafta hesaplama yapılacak olan alanın seçilmesi.....	26
Şekil 11. Arka planı temizlenip, damarları belirginleştirildikten sonra damar yoğunluğunun hesaplanması.....	26
Şekil 12. Kontrol grubunda 1. ve 2. operasyonda, damar yoğunluğu ölçümü yapılan işaretlenmiş bölgedeki 2x1 cm ² alanın, translüminasyon tekniğiyle çekildiği fotoğrafları (K:Kontrol grubu, OP:operasyon)	30
Şekil 13. Deney grubunda 1. ve 2. operasyonda, damar yoğunluğu ölçümü yapılan işaretlenmiş bölgedeki 2x1 cm ² alanın, translüminasyon tekniğiyle çekildiği fotoğrafları (D:Deney grubu, OP:operasyon)	30
Şekil 14. Derinin ve flap bölgesinin histolojik görünümü. HE. Bar=gerçek uzunluk.....	32
Şekil 15. Cd31 ile boyanarak belirgin hale getirilen damarların sayılma yöntemi. AEC kromojen, Mayer'inhematoksileni, bar=gerçek uzunluk.....	32
Şekil 16. Deney grubunun histopatolojik görünümü: CD31 pozitif damarlar. AEC kromojen, Mayer'inhematoksileni, bar=gerçek uzunluk.....	33
Şekil 17. Deney grubunun histopatolojik görünümü: CD31 pozitif damarlar. AEC kromojen, Mayer'inhematoksileni, bar=gerçek uzunluk.....	33
Şekil 18. Ratların postoperatif 10. gündeki flep görünümü (K:Kontrol grubu, D:Deney grubu)	36

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahide deri defektleri sık karşılaşılan bir durum olmakla birlikte, doku defekti tedavisi oldukça önem arz etmektedir. Tedavi olarak greftleme veya sekonder iyileşmenin yeterli olmadığı durumlarda, dokunun damarıyla beraber aktarıldığı flep cerrahisi devreye girmektedir. Sıkça uygulanmış olduğumuz flep cerrahisinde ise en sık kullanılan yöntem, kolaylığı ve uygunluğu nedeniyle random fleptir. Bu fleplerin belirli bir besleyici damar sistemi bulunmamakta; dolaşım, subdermal ve subfasyal pleksuslarla sağlanmaktadır. Fakat bu küçük damar ağının dokuyu besleme yeterliliği sınırlıdır ve en-boy oranıyla ilişkilidir (1-3). Flep boyu uzadıkça veya eni daraldıkça flep yaşayabilirliği azalmakta nekroz ile sonuçlanmaktadır (4-7).

İskemi ve nekrozun patofizyolojisi sadece arteriyel yetmezlik ve venöz konjesyona bağlı olmayıp, karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. Damarı etkileyen ajanlar tarafından oluşan arteriyel spazm, yüksek moleküllü fosfat bileşiklerinin oluşması ve yer değiştirmesi, serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkması, sodyum ve potasyum pompalarının inaktive olması, endotelyal ödem, arter ve venlerde trombüs oluşumu bu karmaşık mekanizmanın parçalarıdır (8-11).

Flep sağ kalımını arttırmak plastik, rekonstrüktif ve estetik Cerrahinin başlıca araştırma konusu olmuştur. Bu amaçla günümüze kadar birçok ajan ve cerrahi yöntem denenmiştir. Kalsiyum kanal blokerleri, vazodilatörler, sempatolitikler, prostaglandin inhibitörleri, antihemorajik ajanlar, antikoagülanlar, VEGF, glukokortikoidler, topikal lidokain ve prilokain ve antioksidanların kullanılması flep yaşayabilirliğini arttırmaya yönelik olan girişimlerdir ve çoğu deneysel olarak etkili bulunsa da, kabul edilir bir klinik etki hala gösterilememiştir (12-15).

Çalışmamızda flep sağ kalımındaki en önemli faktör olan dolaşıma, anjiyogenezi uyarıcı etkisiyle (16-18) katkı sağlayacağını düşündüğümüz, ayrıca iskeminin diğer mekanizmalarına da antienflamatuvar (19) ve antiapoptotik (20)

etkisi ile etkili olacađını dűşündűğűműz EGF'yi kullanarak, ratlarda random fleplerin yaşıyabilirliđini arttırma dűzeyinin incelenmesi amaçlanmışıtır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Flep terimi Hollandaca bir sözcük olan “flappe”den köken almıştır. Bir ucundan tutunan, gevşek olarak boşlukta salınık duran anlamına gelmektedir. M.Ö.6. yüzyılda flebin rekonstrüksiyon amaçlı kullanılmaya başlandığı bilinmekte olup, ilk kayıtlı flep ünlü Hint Cerrahî Sushruta’nın Sushruta Samhita adlı kitabında kulak ve burun rekonstrüksiyonu için kullanılan alın flebidir (21). 1.yüzyılda ise Romalı Celsus ada flebini ilk defa tanımlamıştır (22).

İlk plastik cerrahi kitabı 1597 yılında Gaspare Tagliacozzi tarafından yayınlanmıştır (23). Bu kitapta Tagliacozzi burun onarımında kol fleplerinin kullanımını açıklamıştır.

1889 yılında Alman anatomist Carl Manchot, cildi besleyen damarların anatomik dağılımını tanımlamıştır (24). 1893 yılında Spalteholz kutanöz perforatörlerin kökeni, seyri, ve dağılımı hakkında önemli makaleler yayınlamıştır (25). 1930’da Fransız anatomist ve cerrah olan Salmon radyografi yardımıyla Manchot’un çalışmasını geliştirerek 80’e yakın kutanöz vasküler ağ tanımlamıştır (25).

19.yüzyılda von Graefe, Dieffenbach ve Gersuny’nin çalışmalarının ardından 1917-1920’de Gillies ve Filatov tüp flep cerrahisini gündeme getirmiştir. Ayrıca delay (geciktirme) fenomeninden bahsetmiştir (26-28).

20. yüzyılda bölgesel aksiyel tasarımlı flepler tanımlanmaya başlanmıştır. 1906’da Tansini torakodorsal arterden beslenen latissimus dorsi muskulokutanöz flebini (29), 1919’da Davis kas ve fasya içeren aksiyel tasarımlı, pediküllü kompozit flepleri tanımlamıştır (30). 1924’de Blair süperfisiyel temporal arter tabanlı alın flebini (31), 1937 yılında Webster torakoepigastrik arter kökenli bipediküllü torakoepigastrik flebi tanımlamıştır (31). 1965’te Bakamjian internal torasik sistemin uzun paramediyen perforatörlerine dikkat çekmiş, deltopektoral

flepleri tanımlamıştır (32). 1971’de Ger alt ekstremitelerde ilk kez kas ve kas-deri fleplerini tanımlamıştır (31). 1972’de Mc Gregor ve Morgan inguinal flebi yayınlamakla birlikte arteriovenöz aksı olan flepleri diğer fleplerden ayırmak amaçlı “aksiyel pattern” ve “random pattern” terimlerini kullandılar (33). 1975’te Schafer alt ekstremitte üzerine yoğunlaşarak venöz pleksusu araştırmıştır (34). 1981’de Ponten fasyo-kutan flepleri tanımlamıştır (25).

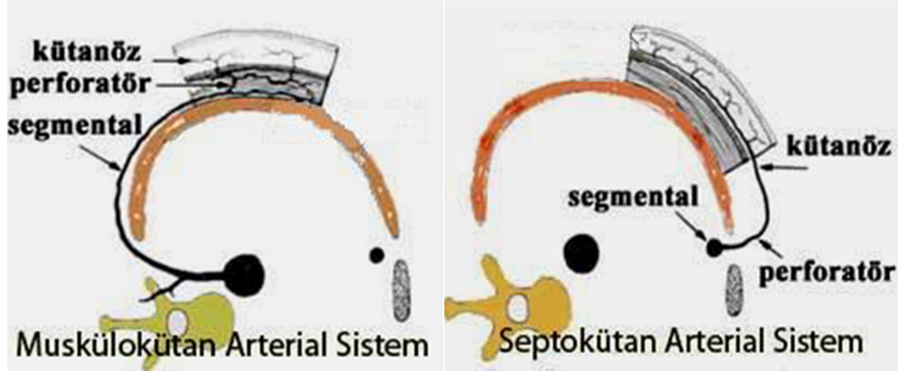
1973’te Daniel ve Taylor’un mikroskop kullanarak ilk serbest doku aktarımını gerçekleştirmeleri ile bu alanda yeni bir çığır açmıştır (25). 1987’de ise Taylor anjiozomları tarif etmiştir (35).

1980’lerde ise osseöz ve osteokutanöz flepler ve özelleştirilmiş serbest fleplerin yanı sıra en nihayetinde perforatör flepler de geliştirilmiştir (25). İlk olarak 1984’te Song ve ark. serbest uyluk perforatör flebini tanımlamışken (36,37), ardından Koshima ve Soeda, Allen ve Tucker, Angrigiani ve ark. farklı perforatörleri tanımlamışlardır (38-42).

Süper mikrocerrahi tekniklerin gelişmesiyle “free style free flap” olarak adlandırılan kısa ve küçük perforatör tabanlı fleplerin kullanılması flep cerrahisinde geline son aşamadır (43-46).

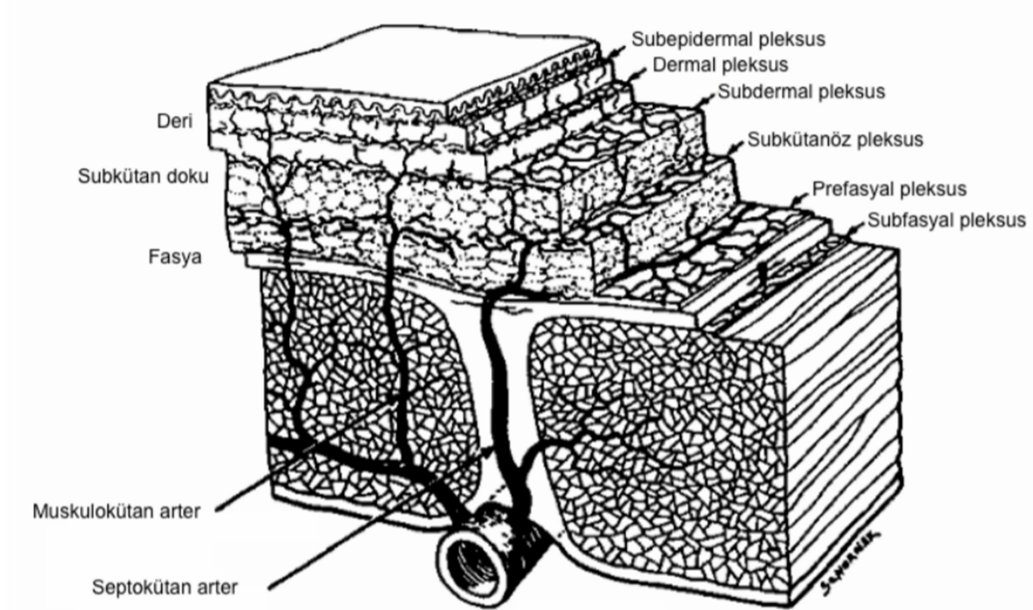
2.2. DERİNİN KAN DOLAŞIMI

Derinin kanlanması sağlanması aorttan çıkan **segmental arterler** ile başlar. Bu büyük ana damarlar baş, gövde ve ekstremitelere yönelirler. Ardından deriye ulaşmadan önce **perforatör arterler** olarak adlandırılırlar. Perforatör damarlar deri arterleri ile segmental arter arasında geçiş vazifesi görürler. Deriyi besleyen arterler ise **kütanöz arterler** olarak adlandırılırlar ve deriye ulaşma yollarına göre ikiye ayrılarak isimlendirilirler. **Muskülökütan arter** perforatör arterden sonra kas içerisinden geçerek dermal pleksusa ulaşırken, **septokütan arter** perforatör arterden sonra kaslar arasındaki fasiyal septalarda ilerleyerek dermal pleksusa ulaşır (Şekil 1).



Şekil 1. Derinin kan dolaşımı

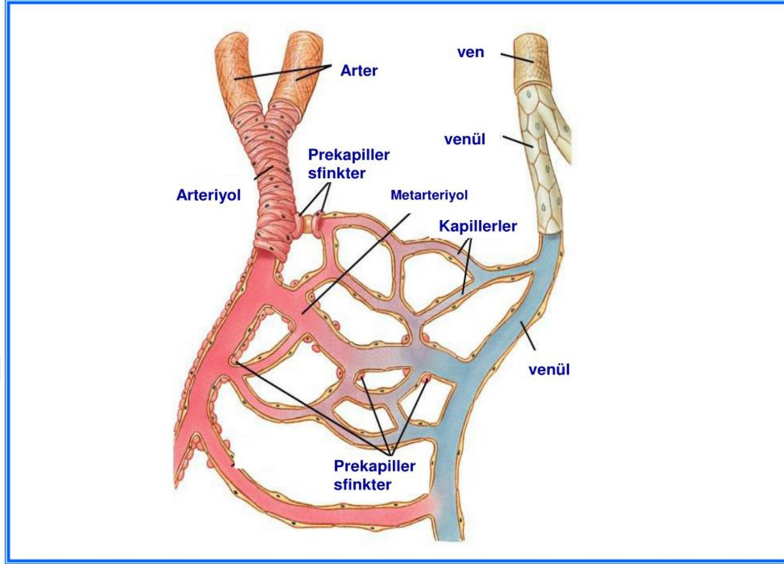
Muskülokütan ve septokütan arterler ise 5 katmanda ayrı ayrı pleksus oluşturarak deriyi en uç noktasına kadar besler. Bunlar sırasıyla; fasial pleksus, subcutan pleksus, subdermal pleksus, dermal pleksus ve subepidermal pleksustur (47,48)(Şekil 2).



Şekil 2. Dermal pleksuslar

300 mikrondan daha küçük çaplı arterioller mikro dolaşımı oluşturmaktadır. Arterioller direkt kütanöz, fasyokütanöz ve muskülokütanöz sistemin uç dallarından köken alır. Lümen içi çapları 10-30 mikrona kadar düştüğünde terminal arteriyol olarak adlandırılırlar ve subdermal pleksusu oluştururlar (49). Terminal arterioller düz kaslardan oluşan prekapiller sfinkterlere sahiptirler. Bu sfinkterler kan akımı kontrolündeki son noktadırlar. En uçta 3-7 mikronluk kapillerler

bulunur. Kapillerlerden sonra çapları 8-30 mikron olan postkapiller venüller ile kanın geri dönüşü başlamaktadır. ap genişliği 50 mikrona kadar olan toplayıcı venüllerin çeperinde perisitler ve düz kas hücreleri görülmeye başlar (50)(şekil 3).

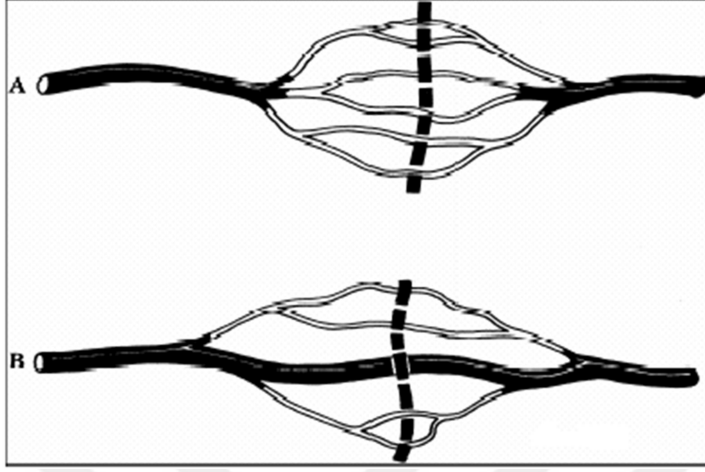


şekil 3. Mikrodolaşım

Normal şartlarda 100 gram deri dokusun ihtiyaç duyduğu kan akımı miktarı 20 mililitredir. ATP ihtiyaı fazla olan olan kas dokusunda ise bu miktar daha fazladır (25).

Taylor, vücudun belirli bir bölgesindeki deri ve derin dokuları besleyen ana arterlerden her birini kaynak arter olarak adlandırmıştır. Kaynak arterlerin ise beslediği her bir bölgeye “anjiyozom” demiştir (51). Bu anjiyozomları besleyen arterler muskloktan veya septokton orijinli olabilir. Komşu anjiyozomlar değişik seviyelerde gerçek anastomozlar veya çapı daha küçük olan damarlarla birbiri ile bağlantılıdırlar. Taylor bu bağlantılara “choke” adını vermiştir (52-54)(şekil 4). Çapları küçük olan bu damarlar, iskemi gelişmesi durumunda hipertrofiyle genişleyerek dolaşımın idam ettirilmesine katkı sağlarlar (5,55). Venöz dolaşım da arteryel dolaşıma benzer organizasyona sahiptir ve bir ana ven tarafından drene olan vücut bölgesine “venozom” denilmektedir. Bir anjiyozomda bu şekilde arteriyozom ve venozomların organize olması sayesinde deri, kas ve

kemik gibi farklı dokuların bir arada olduğu kompozit flepler hazırlanabilmektedir (26,35,55,56).



Şekil 4. Choke damarları

2.3. DERİ FLEPLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Flep; doku eksikliği olan bir bölgenin onarımı için vücudun başka bir bölgesinden kan dolaşımı korunarak belirli bir dokunun alınması ve eksik olan bölgeye aktarılmasıdır. Çok sayıda sınıflandırma yöntemi ve çeşidi mevcuttur.

- 1- İçeriğine göre; deri, deri-fasya, fasya, deri-kas, deri-kemik, deri-kas-kemik
- 2- Kan dolaşımına göre; aksiyel, random paternli
- 3- Defektle olan ilişkiye göre; lokal, bölgesel, uzak
- 4- Defektin hareketine göre; ilerletme, rotasyon, transpozisyon, interpolasyon (55,57)

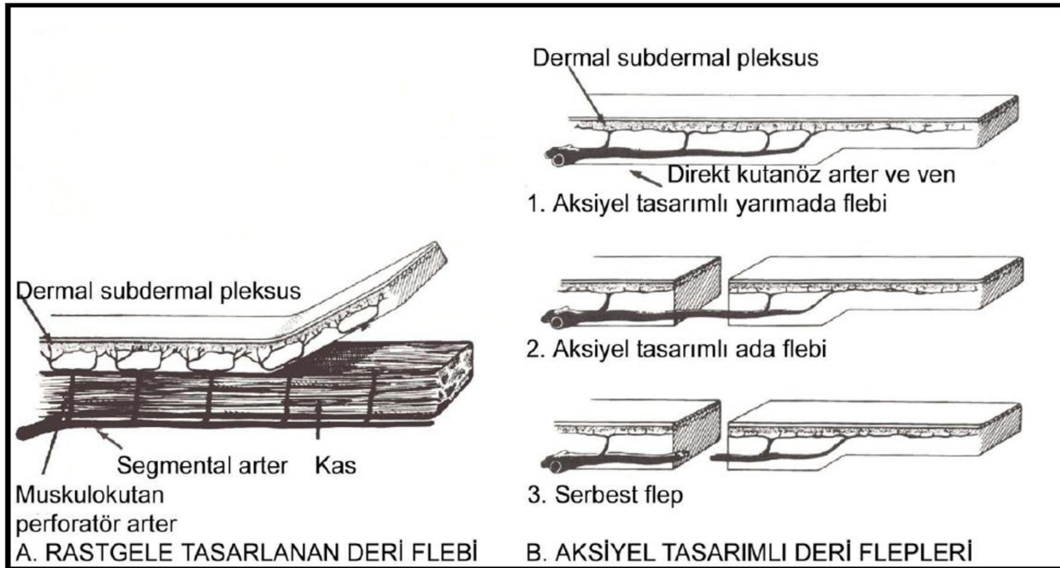
Çalışmamızda random patern flep kullanılacağı için random/aksiyel flep kavramlarını detaylandırmak doğru olacaktır (Şekil 5).

RANDOM PATERN FLEPLER

Random patern deri flepleri; muskulokütan veya perforatör arterlerin dallarının oluşturduğu subkütan pleksuslar tarafından beslenirler. Pedikülünde spesifik bir arter veya ven bulunmaz. Vücudun herhangi bir bölgesinden hazırlanabilir. Belirli bir uzunluk/genişlik oranıyla kısıtlıdır. Bu oran baş-boyunda 4/1 veya 5/1 iken, alt ekstremitede ise 1/1 veya 2/1'dir. Bu oranı arttırmak amaçlı delay cerrahileri veya farklı ajanların araştırılması hala devam etmektedir (25,58).

AKSİYEL PATERN FLEP

Aksiyel patern deri flepleri; proksimalde direkt kutanöz arterler, distalde ise random flepler gibi dermal-subdermal pleksuslar tarafından beslenirler. Pedikülünde spesifik bir arter ve ven bulunur. Bu arter ve venin besleyebileceği anjiozom denilen belirli bir deri lokasyonundan hazırlanırlar. Random fleplere göre uzunluk/genişlik oranı daha büyüktür. Pedikül içeriğine göre yarımada (peninsular axial pattern flep), ada flep (island axial pattern flep), serbest (free flep) olmak üzere 3 şekilde isimlendirilirler (59).



Şekil 5. Deri fleplerinin kan dolaşımına göre sınıflandırılması

2.4. FLEP FİZYOLOJİSİ

Flebin dolaşımı, tüm dokularda da olduğu gibi makrodolaşım ve mikrodolaşım komponentleri ile sağlanır. Bu her iki komponent ise intrinsek ve ekstrinsek faktörlerden etkilenir ve bu faktörler dramatik olarak flep yaşayabilirliğine yön verirler. Aksiyel patern flep dizayn edilirken makrodolaşımın anatomisi bilinmelidir. Makrodolaşımı oluşturan ana arter ve ven flebin temelini oluşturur ve devamında mikrodolaşımı meydana getirirler. Mikrodolaşım ise flebin esas metabolik değişiminin olduğu yerdir. Mikrodolaşım arteriol-kapiller-venül ve arteriovenöz anastamoz seviyesindedir. Dokunun oksijenlenmesi, besin ihtiyacının karşılanması ve karbondioksit ve atıkların uzaklaştırılmasının yanı sıra ısı regülasyonu ve kan akımının kontrolü de mikrodolaşım seviyesinde olmaktadır (5,35).

Deri kan akımı sistemik ve lokal olmak üzere iki sistem üzerinden kontrol edilir.

Sistemik kontrol hümöral ve nöral düzenleme ile olur (10). Nörol düzenleme predominanttır ve vazokonstrüksiyonu uyaran α -adrenerjik reseptörler ve vazodilatasyonu uyaran β -adrenerjik reseptörler kanalıyla sempatik lifler kullanılarak sağlanır. Ayrıca arteriovenöz anastamoz düzeyinde bulunan ve vazokonstrüksiyona sebep olan serotonerjik reseptörler de nörol düzenlemeyle kontrol edilirler (25). Hümöral düzenleme sistemik vazoaktif maddelerin, spesifik reseptörlere etkisiyle oluşur. Sistemik vazoaktif maddelerden epinefrin ve norepinefrin α -adrenerjik reseptörlere etkilidir. Diğer sistemik vazokonstrüktörler; serotonin, tromboksan A₂ (TXA₂) ve prostoglandin F₂alfa (PGF₂ α)'dır. Vazodilatatör ise prostoglandin E₁ (PGE₁), prostoglandin G₂ (PGG₂)(prostasiklin), histamin, bradikinin, lökotriren C₄ ve D₄'tür (25).

Lokal kontrol vücudun pek çok bölgesinin de kullandığı otheregülasyon mekanizmasıdır. Bunların başında hiperkapni, hipoksi ve asidoz gibi metabolik

faktörler gelir ve bunlar vazodilatasyona neden olurlar (59). Arteriyel perfüzyon basıncından bağımsız olarak artan doku perfüzyon basıncı ise myojenik refleksi tetikler, bu da vazokonstrüksiyona neden olur. Lokal hipotermi arteriol düz kaslarında vazokonstrüksiyona yol açarak lokal kan akımını azaltır (5). Hipertermi ise tam tersi vazodilatasyon ve kan akımı artışı sağlar (5). Travma/kesi sonrası mikrodolaşımdaki endotelin, lökosit ve trombositleri aktive etmesi ve vazoaaktif maddeler salgılaması da kan akımına etki etmektedir (25).

Normal olmayan durumlarda ise kan akımını düzenleyen mekanizmalara akışkanlık (reolojik) faktörleri de katılır (60). Örneğin derin anemide akışkanlık arttığından flep kan akımı artar. Bazı çalışmalar bu durumun flep yaşayabilirliğini arttırdığını göstermiştir (61). Fakat bazı diğer çalışmalar bu durumun minimal olduğunu veya hiç olmadığını; çünkü kan akımı artmış dokuda oksijenlenmenin az olmasının bu durumu tersi yönde etkilediğini göstermiştir (62). Polistemi ve orak hücreli anemide ise akışkanlığın az olması perfüzyonun azalması ve flep yaşayabilirliğinin azalmasıyla sonuçlanmaktadır (5).

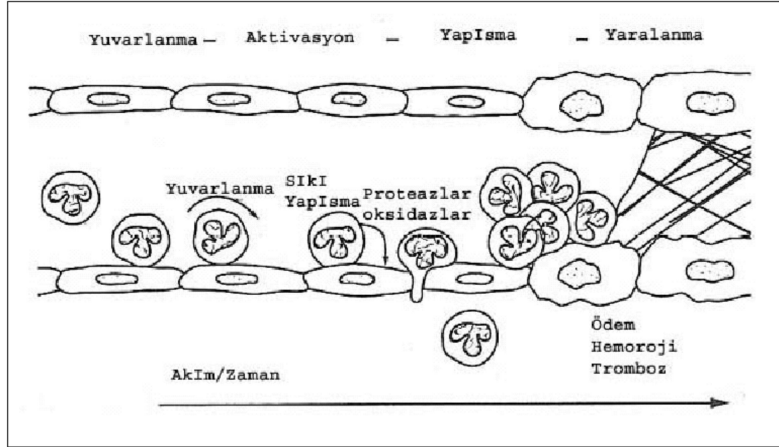
Kas fleplerinde kan akımı düzenlenmesi temeli aynı olsa da bazı özel farklılıklar içermektedir. Kas dokusunda kapiller yoğunluk deriye oranla fazladır ve arteriyovenöz şant bulunmamaktadır. Epinefrin deride vazokonstrüksiyona neden olurken, kas dokusunda kaçma refleksi gereği kas aktivitesinin artmasına olanak sağlamak amaçlı vazodilatasyona neden olur. Bir diğer farklılık ise; kasın termoregülasyonda rol oynamamasından kaynaklı, ısı değişiminde vazoaaktivasyon göstermemesidir.

Flebin kaldırılmasıyla beraber, hassas bir dengeye sahip olan derideki kan akımı ani bir değişime uğrar. Hızlı bir şekilde sempatik innervasyon ortadan kalkar ve bunun sonucu spontan olarak vazokonstrüksiyona neden olan nörotransmitterler salınır (10). Flebi besleyen pedikül dışı damarların kesilmiş olmasıyla da beraber flep distalinde akut iskemi görülür. İlk 24 saatte flebin mikrosirkülasyonundaki değişiklikler flebin ne oranda yaşayabileceğini belirler (5,25).

Flebin kaldırılmasından sonra ortaya çıkan hemodinamik, metabolik ve anatomik değişiklikler flep yaşayabilirliğini belirlerler. Bunlar içerisinde ise en önemlisi hemodinamik değişikliklerdir. Palmer, Nathanson, Kerrigan başta olmak üzere araştırmacılar hemodinamik değişikliklerin saptanması amacıyla işaretlenmiş mikrosferleri kullanmışlardır (63-66). Çalışma sonucuna göre; flebin kaldırılmasından sonra pedikül tabanındaki akım aynı şekilde korunurken, flebin en distalindeki akım yaklaşık 6-12 saat sonra normalin %20'sine kadar düşer. Flep dolaşımı 1-2 hafta içinde normalin %75'ine, 3-4 hafta içinde ise %100'üne döner (25,59). Flep elevasyonu sırasında besleyici damarlar ve sempatik sinirler kesilir. İlk 12-18 saatlik süreçte damarların kesilmesiyle akut kan akımındaki azalma, sempatik vazokonstriktörlerin salınması ve lökositler tarafından oluşturulan ilerleyici endotel hasar nedeniyle perfüzyon basıncı düşer. Böylelikle flepteki kan akımı belirgin olarak azalır. Bu tablo flebin distalinde daha dramatik yaşanır. Distalin yaşayabilmesi için ilk 6-12 saatte yeterli kan akımı sağlanmalıdır. Aksi takdirde nekroz kaçınılmaz olur. Sempatik nörotransmitterlerin 12-24 saat içerisinde tükenmeye başlaması ve 2-3 gün içerisinde flep yatağında inoskülyasyon (anastomoz) gelişmesi ile dolaşım aşamalı olarak düzelmeye başlar. Ancak ilk 6-12 saatte ileri derecede iskemi gelişmişse, kanlanmanın gelmesiyle beraber reperfüzyon hasarı oluşacaktır. Bu durumda mikrodolaşım bozulur ve nekroz meydana gelir (25).

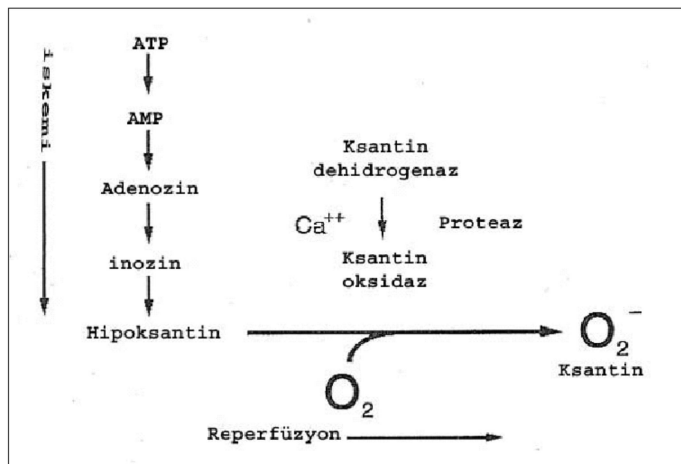
Flep kaldırılması sonrası gelişen metabolik değişiklikler flep yaşayabilirliğindeki diğer etkenlerdendir. Flep distaline doğru gidildikçe oksijen, glukoz ve ATP düzeyleri azalır, karbondioksit ve laktat artar. PGI₂ ve TXA₂ gibi vazokonstriktör maddelerin salınımı artar (47). Glukoz tüketimi ilk 3 günde maksimum düzeyde olup, 7. günde normale döner (52,67). c-AMP akut dönemde azalır, 12 saat sonra ise canlı alanlarda belirgin olarak artar. Bunlar metabolik aktivite artışını göstermektedir. Fibrinolitik aktivite ilk 24 saatte belirgin olarak azalır. Yetersiz oksijenizasyon olursa aerobik metabolizma anaerobik metabolizmaya dönüşür ve süperoksit radikalleri oluşur. Artan radikaller direkt olarak hücre zarındaki lipid peroksidasyonu ile endotel hasarına yol açar (25). Lokal olarak gelişen akut inflamasyon ve oksijen radikalinin direkt kendi

kemoatraktan etkisiyle; lökosit artışı ve adezyon gerçekleşerek mikrovasküler tıkanıklık oluşur. Ayrıca nötrofiller, bu alanda doku parçalanmasına neden olarak da mikrodolaşımı bozarlar (25)(Şekil 6).



Şekil 6. Nötrofilin neden olduğu doku hasarı

İskeminin oluşturduğu oksijen radikalinin yanı sıra, reperfüzyonla da oksijen radikalleri oluşmaktadır. Dokuda yetersiz ATP'nin olması durumunda iyon konsantrasyonunda bozulma meydana gelir. Böylece sitoplazma içerisine kalsiyum girişi artar. Kalsiyum sitozolik enzimleri aktive ederek, endotelde bulunan ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürür. Bu enzim normalde, ATP yıkımıyla oluşan hipoksantini redükte edecekken, ortama oksijen girmesiyle redükte değil, okside eder ve böylelikle oksijen radikali olan ksantin oluşmuş olur (25)(Şekil 7).



Şekil 7. İskemi reperfüzyon sırasında oluşan oksijen radikali

Flep kaldırılması sonrası anatomik değişiklikler; vazokonstrüksiyonu takiben ilk 48-72 saat içinde “choke” damarlarındaki genişlemeyle başlar. Bu durum vazodilatasyon değil, damar duvarı elemanlarının hipertrofi-hiperplazisi ve lümen çapının artmasıyla sonuçlanan aktif bir süreçtir (25,68,69). Cerrahi travmanın neden olduğu inflamatuvar yanıt, flep pedikülünde damar sayısının artmasıyla sonuçlanır. Bu durum 2-3 hafta devam eder. 3-4 gün sonra çevre dokulardan ilerleyen damarlar ile flep damarları anastomoz oluşturmaya başlar. Flep kaldırıldıktan sonra kaybolmaya başlayan ve 30 saat sonra tümüyle tükenen katekolaminlerin 4-8 hafta sonra tekrar ortaya çıkması reinnervasyonun göstergesidir.

2.5. FLEP NEKROZU

Kerrigan ve ark. flep nekrozunun sebeplerini üç ana gruba ayırarak açıklamışlardır (70). Bunlardan birincisi ve en önemlisi flebin beslenebileceğinden daha büyük olarak dizayn edilmesiyle meydana gelen beslenme bozukluğu, ikincisi arteriyel tromboz, üçüncüsü venöz trombozdur. Fleplerde trombozlar; hatalı flep planlaması nedeniyle mikrodolaşımda meydana gelen düşük akımın yol açtığı iskemiye ve iskemi reperfüzyon hasarına, mikrodolaşımı etkileyen hipotansiyon, sepsis, sigara kullanımı, vazokonstrüktör ilaç alımı gibi sistemik faktörlere veya flepte oluşan gerilim, bası, king, hematoma, soğuğa maruziyet gibi fiziksel faktörlere bağlı olarak oluşmaktadır. Bu sayılan durumlar nedeniyle mikrosirkülasyondaki kan akımı azalarak, durağanlaşmakta bu da tromboza neden olmaktadır (25,64).

Serbest fleplerde ise bunlara ek olarak arteriyel veya venöz anastomoz hattında, protrombotik adventisya veya medya tabakasının lümen kan akımı ile teması sonucu bölgede meydana gelen trombosit agregasyonu flep kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle serbest fleplerde antitrombotik ve antikoagülan tedavi uygulanmalıdır (25).

2.6. FLEP NEOVASKÜLARİZASYONU

Yeni damar oluşumu, etrafındaki mezenkimal doku ile beraber olmaktadır ve mekanik, hümmoral mekanizmalar ve büyüme faktörleriyle kontrol edilmektedir. Endotelin aktivasyonu negatif ve pozitif mediatörlerle sayesinde dengededir. Anjiyogenez yara iyileşmesi, enflamasyon ve üreme gibi birçok fizyolojik olayda rol oynamaktadır.

Anjiyogenez, endotel hücrelerinin çevresindeki damar dışı bölgelere göç etmesiyle başlar. Bu hücreler göçtükleri yerde çoğalmaya başlar ve kapiller güdük oluştururlar. Kapiller güdükler de komşu damarlarla birleşerek kan akımını sağlarlar. Endotel hücrelerinin göçü, mevcut kapiller bazal membranlarındaki değişiklikler ve damar dışında fibrin birikimiyle birlikte olmaktadır. Matriks proteolizi ve kemotaksis sayesinde endotelial hücreler göç edip çoğalırlar ve yeni kapillerleri oluştururlar. Büyüme ilerledikçe genişleyen kapillerler, perisitler ve düz kas hücreleriyle sarılırlar. Böylelikle arteriol histolojine ulaşmış olurlar (71).

Anjiyogenezi etkileyen fiziksel faktörlere örnek olarak; egzersiz, soğuga maruziyet, türbılan kan akımı, duvar gerilimi, kapiller duvar tansiyonu, periferel dirençteki değişiklikler, kapiller basınç, damar çapı ve eritrosit hızı verilebilir.

Damar büyümesinde etkili olan, lokal olarak sekrete edilen büyüme faktörleri aynı zamanda embriyogenez, tümör büyümesi, yara iyileşmesinden de sorumludur. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF α), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), hepatosit büyüme faktörü(HGF), granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF), plasental büyüme faktörü (PIGF), interlökinler (IL1, IL6, IL12), interfeeronlar, proliferin ve proliferin ilişkili proteinler gibi büyüme faktörleri (72) anjiyogenezi uyarak deri fleplerinde dolaşımın arttırılmasına etki edebilirler (73-75).

Son yıllarda büyüme faktörlerinin mekanizmalarının anlaşılması ve elde edilebilir olmasıyla flep neovaskülerizasyonu, dolayısıyla flep sağ kalımını

arttırmaya yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. VEGF ve FGF'nin kullanıldığı deneysel çalışmalarda, bu faktörlerin flep distalinde nekroz oluşumunu önlediği gösterilmiştir (76-78).

2.7. FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİNİ ARTTIRMA ÇALIŞMALARI

Günümüze kadar flep yaşayabilirliğini arttırmak amacıyla, fiziksel çevre koşulları ayarlaması yapılarak birçok araştırma yapılmıştır. Sasaki ve ark. ve Mc Grath bu amaçla flep kenarları nemli tutmuş, böylelikle kurumayı engelleyerek doku kaybındaki derinliğin azaldığını ve flep yaşayabilirliğinin arttığını ortaya koymuştur (79-80). Awward ve ark. lokal ısı ile kan akımı artarken, hipotermi vazo konstrüksiyona neden olarak dolaşımı azalttığını bildirmiştir (81). Hussl ve ark. flebin 20°C'de kan akımının bazal kan akımına oranla %65, oksijen tüketiminin ise %25 azaldığını, 14°C'de ise flep kan akımının tamamen durduğunu saptamıştır (82).

Koenig (83) ve Wang (84) deneysel olarak, stres koşullama adını verdikleri şok ısıtma ve geri soğutma yöntemiyle ısı-şok proteini üretimini artırarak flep sağ kalımını arttırmayı başarmıştır. Isı-şok proteinin, kapiller endoteline yüksek afinite gösterdiğini ve kapiller bütünlüğün bozulmasını engelleyerek flep sağ kalımını arttırdığı öne sürülmüştür.

Mounsey, Pang ve Forest “ön koşullanma” terimini açıklamışlardır (85). Mounsey 30 dakikalık aralıklarla iskemi ve reperfüzyon uygulanarak kas fleplerinde sağ kalımın %20 arttığını tespit etmiştir. Ön koşullanmayla kas-deri fleplerinde, deri fleplerine oranla daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Kan akımında değişikliklerin olmasının; dokuda hücrel fonksiyonların minimize edilmesiyle flep metabolizmasında azalma, serbest oksijen radikali oluşumunun azalması ve endotelial kaynaklı gevşetici faktörün salınımıyla vazodilatasyona neden olarak flebin sağ kalımını arttırdı yönünde teoriler mevcuttur (85-87).

Tan (88) ve Ramon (89) hiperbarik hava ve hiperbarik %100 oksijen ile ratlarda abdominal flep yaşayabilirliğinin arttığını göstermiştir. Nemiroff ve ark.

(90), Esclamado ve ark. (91), Quirinia ve Viidik (92) de araştırmalarında aynı kanaati getirmişlerdir. Kaelin ve ark. (93) flep sağ kalımını arttırmak için, uzun süreli preoperatif ve post operatif hiperbarik oksijen tedavisinin gerekliliğini öne sürmüştür. Hiperbarik oksijenin, superoksit dismutaz aktivitesini artırarak ve postkapiller venüllerde nötrofil adezyonunu azaltarak sağ kalımı arttırdığı düşünölmektedir.

Fiziki tedavilerin dışında pek çok farmakolojik ajan da flep sağ kalımını artırma amacıyla incelenmiştir. Bunların başında da antikoagölanlar ve antiagreganlar bulunmaktadır. Aspirin platelet kaynaklı siklooksijenazın inhibisyonu yaparak, güçlü bir platelet agretörü ve vazokonströktör olan tromboksanın üretimini engellemiş olur. Bu etkisi sayesinde trombosit kümelenmesini bloke ederek mikrodolaşımın devamlılığına katkı sağlamaktadır (5,94,95).

Cerrahide en çok kullanılan antikoagölan olan heparin etkisini antitrombin3'e bağlanıp birçok pıhtılaşma faktörünü inhibe ederek gösterir. Rombolo ve ark. yaptığı çalışmayla heparinin güçlü bir antikoagölan olmasına rağmen serbest fleplerde sağ kalıma etkisinin olmadığını ortaya koymuşlardır (96). Ayrıca, sistemik heparinin hematoma yol açma riskinin yüksek olması, flep cerrahisinde heparinin sadece tromboz varlığında kullanımı ile sınırlandırılmasına sebep olmuştur (94,97-99).

Volüm arttırıcı olan dekstran da trombosit adezyonunu ve agregasyonunu azaltıcı, kanama zamanını uzatıcı, viskoziteyi azaltıcı etkilerinden dolayı Rothkopt (100), Zhang ve Wieslander (101) tarafından flep cerrahisinde araştırma konusu olmuştur. Dekstranın mikro dolaşımı arttırdığı yönde yapılan çalışmaların yanı sıra Salemark, Knudsen ve Dougan (102) bu etkinin 1 hafta gibi kısa bir süre devam ettiğini bildirmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda dekstranın flep sağ kalımını arttırdığı yönünde çalışmalar olsa da, etkinliğini ispatlayan randomize klinik bir çalışma bulunmamaktadır (103).

Hydroxyethyl starch (HES), dektranla karşılaştırıldığında kanama riski daha az olan bir yeni kolloiddir. Fakat HES'in de dekstran gibi, geniş klinik çalışmalarda etkili olduğu gösterilememiştir (25).

Sülükler (*Hiruda medicinalis*) uzun yıllardır flep ve replantasyonda venöz konjesyonun tedavisi olarak kullanılmaktadır. Salgılanan hirudin antikoagülan etkiye sahipken, hyalüronidaz ise vazodilatasyon sağlamaktadır. Böylece mekanik olarak venöz boşalma gerçekleşmiş olur (25,104).

Fluorokarbonlar kanın oksijen taşıma kapasitesini artırıp, kan viskozitesini azaltarak mikro dolaşımın artmasına neden olurlar. Chowdary ve ark. (105) fluosol verilen ratlarda flep sağ kalımının arttığını beyan etmelerine karşılık; Ramasastry ve ark. (106) ise fluosolün etkisinin olmadığını savunmuşlardır.

Pentoksifilin fibrinojen seviyesinde düşmeye yol açarak kan viskozitesini azaltmaktadır. Yapılan çalışmalarda oral pentoksifilin flep sağ kalımını arttırdığı görülmüştür.

Piracetamın eritrositlerin damar endoteline yapışmasını engelleyerek ve eritrositlerin lümeninden geçerken deforme olma özelliğini artırarak doza bağımlı olarak flep sağ kalımını arttırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur (4).

Steroidler membran stabilizasyonu sağlaması ve antienflamatuar etkisinden dolayı, flep cerrahisinde iskemi toleransını arttırmak amaçlı kullanılmaktadır. Ancak enfeksiyon riski ve sistemik yan etkilerinin ağır basması nedeniyle klinikte uygulanılmasından kaçınılmaktadır (25).

Mannitol ve anisodaminin etkileri; total venöz oklüzyon oluşturulup nekroze edilen deri fleplerinde incelendiğinde, oksijen radikallerinin hasarını önledikleri ve reperfüzyonu arttırdıkları tespit edilmiştir (4).

Tüm bu ajanlara ek olarak daha birçok sayıda ajan denenmiştir ve denenmeye devam etmektedir (12,107-114). Bunlardan birkaçı ve etki mekanizmaları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo:1).

Tablo 1. Flep sağ kalımı arttırma amaçlı denenmiş diğer farmakolojik ajanlar (115)

Farmakolojik Ajan	Etki Mekanizması
Fenoksibenzamin-fentolamin	Otonom sinir sistemi üzerinden alfa reseptör blokajı.
Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	Endotel hücrelerinden sentezlenerek anjiyogenik etki gösterir.
Fibrin	Ekstraselüler matriks için çatı görevi görür. Anjiogenezin başlaması için gerekli hücre göçüne yardımcı olur.
Prostosiklin (Pgl ₂)	Platelet agregasyonunu önler ve vazodilatatör etki yapar.
EMLA (Lidokain, Prilokain)	Bifazik etki gösterir. Geç etkisi vazodilatasyon şeklinde ortaya çıkar.
Sildenafil	Fosfodiesteraz inhibitörüdür. Damar düz kaslarında nitrik oksit (NO) miktarını artırır.
Süper oksit dismutaz (SOD)	Serbest radikal miktarını azaltarak iskemi reperfüzyon hasarını önler.
Diltiazem-Nifedipin	Ca kanal blokerleridir. Damar düz kaslarında direkt vazodilatasyon yapar ve Pgl ₂ miktarını artırır.
Karnitin	Serbest Koenzim A miktarını arttırarak glikozun oksidatif yoldan kullanılmasını sağlar, laktat üretimi ve asidozu azaltır.

2.8. EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN ÖZELLİKLERİ

EGF ilk kez 1962 yılında Dr. Stanley COHEM tarafından erkek fare submandibular tükürük bezinde izole edilmiştir (116). Gregory ve ark. ise 1975'te insan idrarının, köpeklerde mide asit salgısını inhibe ettiğini göstermiş ve izole ettikleri bu maddeye “urogastrone” adını vermişlerdir (117). Urogastronun fare EGF'siyle benzer yapıya sahip olması nedeniyle, bu maddeye insan EGF'si denilmiştir (117-119).

Fare EGF'si; alanin, fenil ve lizin hariç diğer tüm aminoasitleri bulunduran 53 amino asitli, 3 disülfid bağlı, tek zincirli, 6000 Dalton ağırlığında bir mitojenik polipeptittir (120,121).

Birçok hayvan organ ve hücre kültüründe EGF'nin biyolojik etkileri araştırılmıştır (122,123). İn vivo hücre kültürlerinde; insan, kedi ve koyunda

korneal ve gastrik ülser yara tamirini hızlandırdığı, sıçan ve köpeklerde gastrik asit salgısını inhibe ettiği, hepatik hipertrofi ve hiperplaziye neden olduğu gösterilmiştir. Organ kültürlerinde ise; deri, korneal epitelyum ve meme bezi epitelyumunda proliferasyon ve farklılaşmaya, tavuk epidermal hücrelerinde RNA ve protein senteziyle metabolik artışa, ratlarda yarık damak oluşumuna ve kemik rezorbsiyonuna neden olduğu gösterilmiştir (122,123).

Günümüze kadar yapılan araştırmalarda görülmüştür ki; EGF'nin hücre yaşayabilirliği, büyümesi, çoğalması, farklılaşması, göçmesi ve yaşlandığında veya kanser durumunda ölmesinde önemli role sahiptir (124).

2.8.1. Neovaskülarizasyon Etkisi

Neovaskülarizasyon 4 basamakta gerçekleşmektedir. İlk olarak kapiller dallanmanın oluşması için, damarın bazal membranında enzimatik degradasyon başlar. İkinci basamakta ise endotel migrasyonu bulunmaktadır. Sonrasında endotel proliferasyonu ve son olarak da endotel matürasyonu ve oluşan kapiller tüplerin organizasyonu gerçekleşmektedir (125). Literatürlerde EGF'nin endotel migrasyonunu arttırıcı etkisinin olduğu bildirilmiştir (126-128). EGF'nin anjiyogenezis özelliğinin 7. günde kendini gösterdiğini öne süren çalışmalar mevcuttur (129).

2.8.2. Antienflamatuar Etkisi

Konda ve ark. ile Yan ve ark. EGF'nin nekrotizan enterekolit ve iskemi-reperfüzyon yaralanma modellerinde, yara iyileşmesini arttırdığını ortaya koymuşlardır (130,131). Bu da EGF'nin antienflamatuar etkisinin olduğunun göstergesidir (132). Ji Min Kim ve ark. epidermal keratinositlerde bulunan *Propionibacterium Acnes*'in neden olduğu inflammatuar sitokin artışını, EGF'nin azalttığını bildirmiştir (133). Casaco ve ark. birçok kimyasal ajanla oluşturdukları inflamasyonlu alanda topikal hrEGF'nin antienflamatuar etkisini araştırmış ve bu etkinin arasıdonik asit metabolizmasıyla ilgili olabileceğini öne sürmüşlerdir (134).

Kongshavn ve ark. bol miktarda EGF'ye sahip olan submandibular bez ekstrelerinin, T hücre aracılı deri allo greftlerinin rejeksiyonunu geciktirdiğini bildirmişlerdir (135).

2.8.3. Antiapoptotik Etkisi

Chantal ve ark. EGF'nin hepatositlerde, proapoptotik olan Bid proteinini azaltarak antiapoptotik özellik gösterdiğini ortaya koymuşlardır (136). Başka bir çalışmada EGF'nin hem proapoptotik, hem antiapoptotik düzenlemede yerinin olduğu gösterilmiştir (137).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel tez çalışması için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 20/06/2019 tarih ve 49533702/78 sayılı etik kurul onayı alınmıştır. Etik kurul onayını takiben Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Koordinasyon Müdürlüğü'nden destek alınmıştır. Proje no: **20.TUS.001**. Çalışma süresince Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı katkılarını sağlanmıştır. Deney aşaması Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilmiş 20 adet, 100-120 günlük, ağırlıkları 250-350 gram arasında olan Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Sıçanlar hayvan laboratuvarında uygun kafeslerde, epitelizasyon, vazospazm ve insanda uygulanabilirliği açısından 25-30 °C sıcaklıkta, ışıkları 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ve havalandırma tertibatı bulunan alanda barındırıldı. Standart sıçan yemi ile beslendi, herhangi bir diyet veya su kısıtlaması yapılmadı. Tüm hayvanlar ayrı kafeslerde barındırıldı.

GEREÇLER

Çalışmada kullanılan cerrahi gereçler, sarf malzemeleri ve ilaçlar;

- 1- Temel cerrahi aletler (bistüri, bistüri sapı, portegü, penset vs)
- 2- Steril cerrahi eldiven

- 3- Steril enjektör
- 4- Steril gazlı bez
- 5- 5/0 keskin iğneli emilemeyen mono flaman polipropilen suture
- 6- Tıraş makinesi
- 7- Plaster
- 8- 3x10cm'lik ölçü kalıbı
- 9- Çizim kalemi
- 10- Transluminasyon için ışık kaynağı
- 11- Povidone-iodine
- 12- Serum fizyolojik
- 13- Ampisilin/Sulbaktam
- 14- Meperidin
- 15- Ketamin
- 16- Ksilazin
- 17- Topikal Rekombinant İnsan EGF (Regen-d)
- 18- İphone11 kamera
- 19- Mikroskop
- 20- Lam, lamel

21-Formol

22-Alkol

23-Parafin

24-PECAM-1 Anti body

25-AEC Substrate System kromojen

26-ABC HRP Kit

27-Xsilen

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Çalışma Grupları

Ratlar rastgele dağıtılarak 10 rattan kontrol, diğer 10 rattan deney grubu oluşturuldu. Deney grubu deneklerine EGF jel; cerrahi öncesi 10 gün boyunca flep alanına günde bir kez, flep kaldırılması sırasında flep altına çok ince bir katman olarak tek sefer ve cerrahi sonrası 10 gün boyunca flep alanına günde bir kez olacak şekilde sürüldü. Kontrol grubuna ise aynı cerrahi işlem dışında ek herhangi bir uygulama yapılmadı.

3.2.2. Cerrahi Teknik

Preoperatif ve postoperatif profilaksi amaçlı tüm sıçanlara subkutan yolla günlük tek doz 150mg/kg Ampisilin uygulandı. Cerrahi öncesi anestezi amacıyla sıçanlara intramüsküler yolla 10mg/kg Ksilazin ve 30mg/kg Ketamin verildi. Gereklik halinde bu dozların 1/3'ü tekrarlandı. Her sıçan pron pozisyonunda sabitlenip, sırt bölgesi tıraş edildi ve Povidone-iodine ile boyanarak preoperatif hazırlandı. Tüm cerrahi işlemler antisepsi kurallarına uygun olarak aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi.

Sıçan dorsumunda her iki skapula ve posterior iliak çıkıntılar işaretlendi. 3x9 cm'lik kaudal pediküllü dorsal yarım ada flebi (Mc Farlane flebi) kalıp yardımıyla çizildi. Patoloji alınacak bölgeyi belirlemek için operasyon sonrası başlangıç noktasının yanıtıcı olmasını engellemek amacıyla proksimalden 3. ve 4. Santimetrede her iki kenara prolen ile kalıcı işaretleme yapıldı. Flep kenarları deri altındaki pannikulus karnosus kasından oluşan flep, kas üzerindeki gevşek ve nispeten avasküler anatomik planda ilerlenerek kaldırıldı. Flep kaldırıldıktan sonra her iki grubun flepleri ışık-rat-fare uzaklıkları sabit olacak şekilde translüminasyon yapılarak bir cetvel dahilinde fotoğraflandırıldı. Ardından sadece deney grubunda flep altına çok ince olacak şekilde EGF jel sürüldü. Sonrasında her iki grubun flepleri 5/0 keskin iğneli atravmatik cerrahi prolen ile yerlerine sütürize edildi, Povidone-iodine ile pansuman yapıldı ve uyanmaya bırakıldı (Şekil 8).



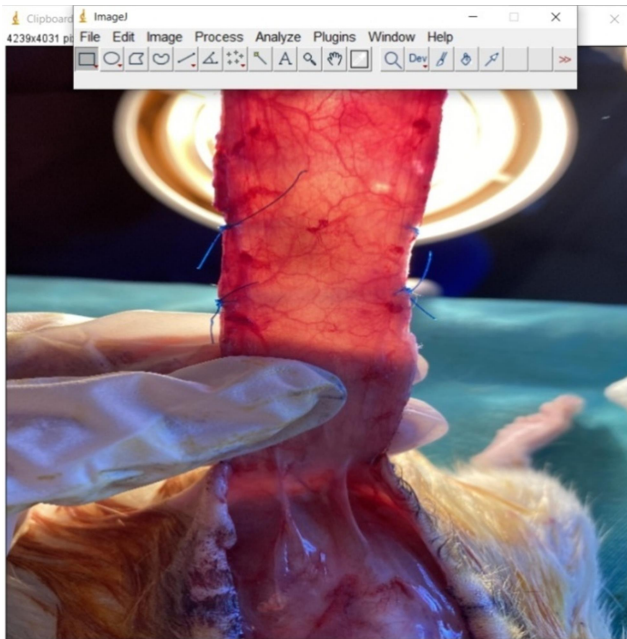
Şekil 8. Ratların operasyona hazırlık ve operasyon aşamaları

Cerrahi sonrası deney grubuna günlük EGF jel sürülmesine 10 gün boyunca devam edildi. Her iki grubun sütür hattına günlük Povidone-iodine ile pansumanları yapıldı. Postoperatif 10.günde tüm denekler aynı protokolle tekrar uyutuldu, ardından nekroz alan tayini amaçlı cetvel dahilinde fotoğraflama yapıldı. Flepler tekrar kaldırıldı ve translüminasyon yöntemi kullanılarak fotoğraflama yapıldı. Sonrasında proksimalden 3 cm ilerisi olacak şekilde prolenle işaretlenmiş hiza boyunca 1 cm’lik tam kat biyopsiler alındı. Deney protokolü sona erince tüm denekler yüksek doz anestezi madde ile sakrifiye edildi.

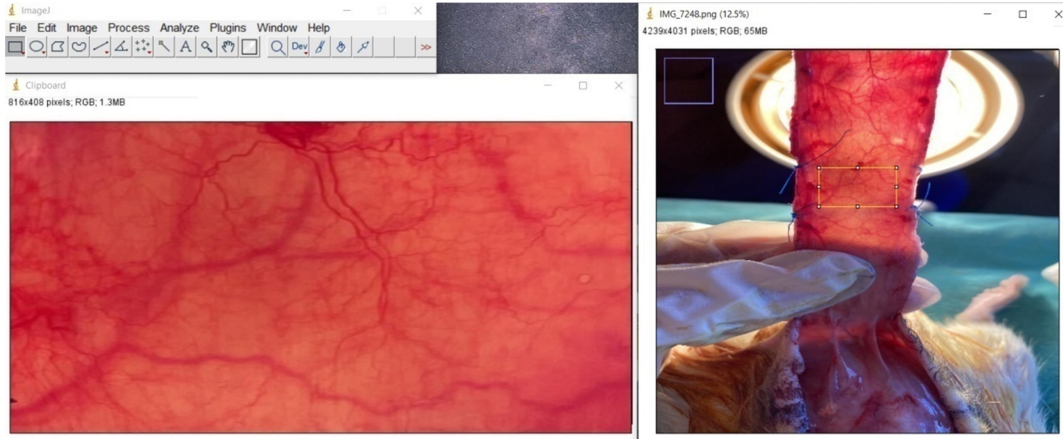
3.3. DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

3.3.1. Translüminasyondaki makrovaskülarizasyon

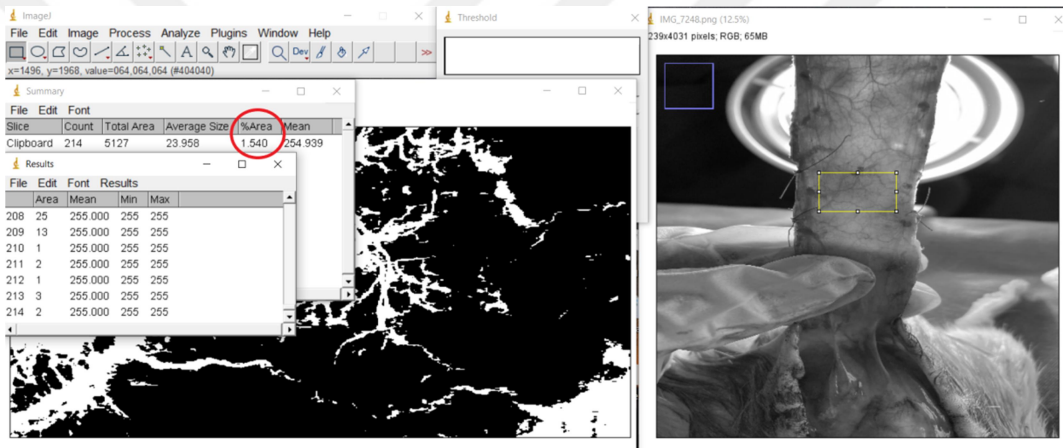
İlk ve ikinci cerrahi işlemde flep kaldırıldıktan sonra, sütürlerle işaretlenmiş olan 3., 4. cm arasındaki 3x1 cm² olan alanın, translüminasyon yapılarak sabit uzaklıktan dijital fotoğrafları çekildi. İnsizyon hattındaki kıvrımlardan dolayı damarlar net seçilemediğinden, değerlendirmeye 2x1 cm²’lik orta alan alındı. Bu alanın makrovaskülarize alan yüzdeleri hesaplamak için “İmage J” adlı bilgisayar programı kullanıldı (Şekil 9-11).



Şekil 9. İmage j programı ve orijinal fotoğraf



Şekil 10. Fotoğrafta hesaplama yapılacak olan alanın seçilmesi



Şekil 11. Arka planı temizlenip, damarları belirginleştirildikten sonra damar yoğunluğunun hesaplanması

3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme:

Her iki gruptan postoperatif 10. günde daha önce işaretlenmiş olan proksimalden 3 cm uzaklıktaki 3x1 cm'lik yatay hat boyunca alınan doku örnekleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 48 saat boyunca tespit edildi. Daha sonra alkol ve ksilen serilerinden geçirilerek parafin içinde bloklar hazırlandı. Bloklardan 5-6 mikron kalınlığında kesitler normal adhesivli ve kaplanmış lamlara alındı. Hematoksilen Eozin (HE) yöntemi ile tüm lamalar boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

İmmunohistokimyasal inceleme:

Adhesivli lamlara alınan örneklere, avidin-biotin-peroksidaz (ABC) yöntemi uygulanarak immunohistokimyasal olarak boyandı. Lamlar deparafinizasyon ve dehidrasyon aşamalarından geçerek fosfat tamponlu (PH 7.2) solüsyona alındı. Endojenperoksidaz aktivitesini gidermek için Lamlar, 10 dakika süreyle, % 3'lük H₂O₂ solüsyonunda tutuldu. Antijen ortaya çıkarmak için 20 dakika 0.01 M pH6.0 Sitrat tamponunda mikrodalgada kaynatıldı. Kesitler hidrofobik kalemle sınırlandırıldı. Endojen serum bloklaması için serum damlatıldı ve 15 dakika süreyle 37 C'de inkübe edildi. Damar endotellerine belirlemek amacıyla Tavşan CD31antikoru 1/100 sulandırma ile dokulara damlatıldı. 2 saat 37 C nem kamarasında inkübe edildi ve yıkandı. Daha sonra ABC kitinin uygulamalarına geçildi. Biotinli anti-rabbitigG damlatıldı. 1 saat süre ile oda ısısında inkübe edildi. Son olarak peroksidaz ile konjuge Avidin damlatıldı ve 30 dakika 37 C'de reaksiyona bırakıldı. Lamlar yıkandı ve kırmızı renk veren AEC peroksidaz substratı ile dokular muamele edildi. Reaksiyon şekillenince lamlar distile suya alınarak reaksiyona son verildi. Zemin Mayer'in hematoksileni ile boyandı. Kesitler aköz yapıştırıcı kullanılarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda incelendi.

3.3.3. Flep Nekroz Alanı

Cerrahi işlemden sonraki 10. günde cetvel dahilinde çekilmiş olan dijital fotoğraflar yardımıyla "İmage J" adlı bilgisayar programı kullanılarak flep alanı ve flep nekroz alanı ölçümleri yapıldı. Canlılığı şüpheli olan alanlar nekroz olarak değerlendirildi.

3.3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen bütün verilerin istatistiksel değerlendirilmesi "IBM SPSS Statistics 22" programı ile yapıldı. Kontrol ve deney gruplarının ikili karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Damar yoğunluğundaki operasyon sırası ve 10 gün sonrası arasındaki değişimi değerlendirmek amacıyla,

her rat için ayrı ayrı yüzde değişimleri hesaplandı ve 2 grup yüzde değişimleri Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

Tanımlayıcı değer olarak aritmetik ortalama, standart sapma, medyan ve minimum - maksimum değerler kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı 0,05 olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. GENEL BULGULAR

Çalışmamızda 20 adet Wistar albino cinsi erkek erişkin sıçan kullanıldı. 10'ar denekten oluşan kontrol ve deney grubu olarak 2 gruba ayrıldı. Deney öncesi ve sonrası tüm sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldı. Her iki grubun bazal ağırlık ölçümleri benzerdi (Kontrol grubu $326,3 \pm 30,8$ gr, deney grubu $319,6 \pm 25,5$ gr, $p:0,59$). Her iki grupta cerrahi sonrası ağırlık kaybı görüldü ve bu kayıp benzer miktardaydı (Kontrol grubu $-1,3 \pm 8,6$ gr, deney grubu $-4,3 \pm 9,6$ gr, $p:0,54$)(tablo 2).

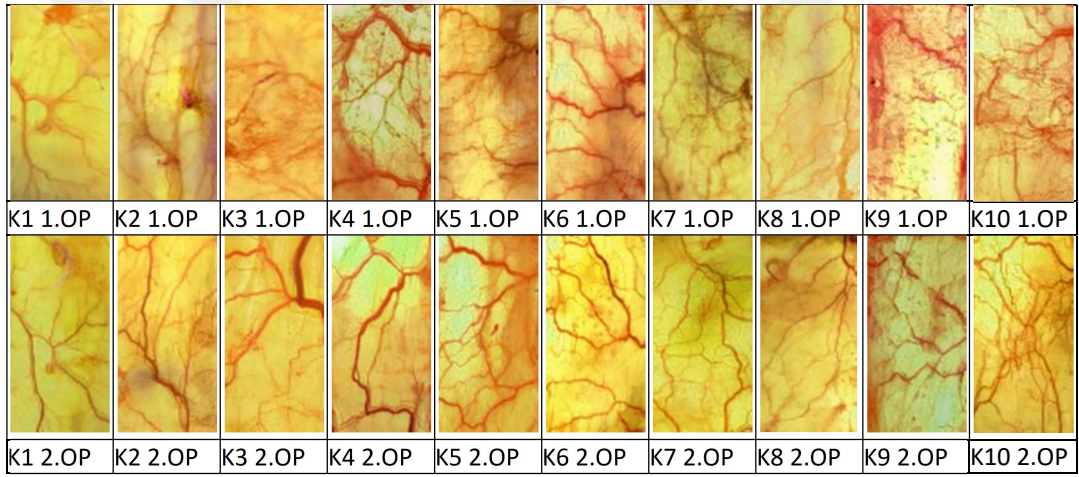
Tablo 2. Gruplarda bazal ağırlık ve deney sonrası ağırlık farkı

Gruplar	Bazal ağırlık(gr)	Ağırlık farkı(gr)
Kontrol Grubu	362	-4
	366	-10
	334	0
	319	-1
	333	-8
	297	13
	290	12
	282	4
	363	-9
	317	-10
	Ortalama $\pm$ SD	$326,3 \pm 30,8$
	Medyan (min-max)	326 (282-366)
Deney Grubu	325	-4
	358	-11
	289	5
	321	6
	337	0
	351	-21
	310	-15
	294	-11
	283	4
	328	4
	Ortalama $\pm$ SD	$319,6 \pm 25,5$
	Medyan (min-max)	323 (283-358)
P sig.	0,59	0,54

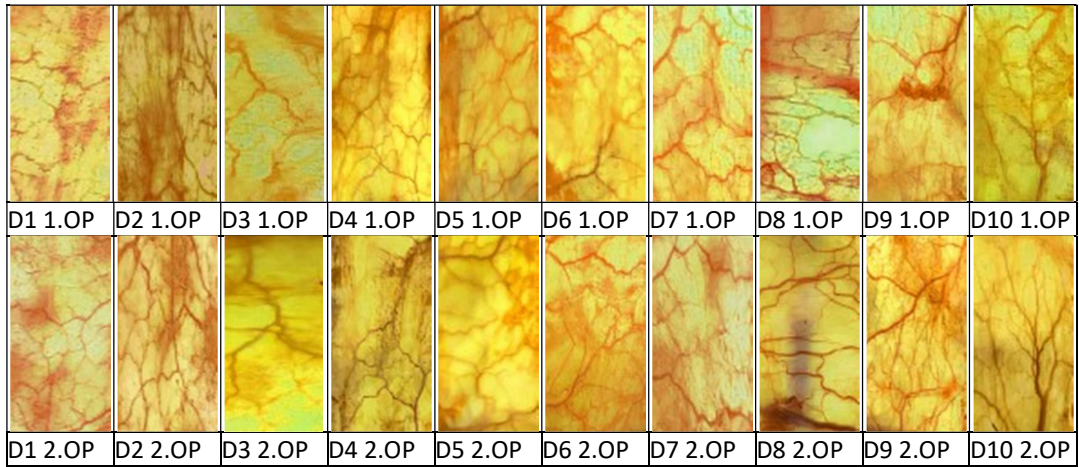
Gözlemlerimize göre; her iki grupta da, besleyici damarların kesilmiş olmasıyla, var olan anastomozların birçoğu kaybolmuş, geriye kalan damarlarda genişleme olmuş ve yeni anastomozlar oluşmuştu. Ayrıca sadece deney grubunda flep altında yoğun bir kalınlaşma meydana geldiği görüldü. Histopatolojik olarak da değerlendirildiğinde, bu kalın dokunun granülasyon dokusu olduğu görüldü.

4.2. TRANSLÜMİNASYONDAKİ MAKROVASKÜLARİZASYON BULGULARI

Tüm deneklerin 1. ve 2. cerrahi sırasında çekilen translüminasyonlu fotoğraflardaki (Şekil 12-13) makrovaskülerizasyon yoğunluğu hesaplandı.



Şekil 12. Kontrol grubunda 1. ve 2. operasyonda, damar yoğunluğu ölçümü yapılan alanın fotoğrafları (K:Kontrol grubu, OP:operasyon)



Şekil 13. Deney grubunda 1. ve 2. operasyonda, damar yoğunluğu ölçümü yapılan alanın fotoğrafları (D:Deney grubu, OP:operasyon)

1.cerrahide deney grubunda damar yoğunluğunun daha fazla olduğu, ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görüldü (Kontrol grubu $1,37 \pm 0,6$, deney grubu $1,98 \pm 0,48$, $p:0,045$). 2.cerrahide deney grubunda damar yoğunluğunun daha fazla olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Kontrol grubu $1,11 \pm 0,54$, deney grubu $1,49 \pm 0,47$, $p:0,12$). Her iki grupta her rat başına cerrahi sonrası yoğunluk yüzdesinde ve sayısında benzer azalma görüldü (Kontrol grubu $-7,6 \pm 50,98$, Deney grubu $-23,53 \pm 24,2$, $p:0,6$ ve Kontrol grubu $-0,23 \pm 0,45$, Deney grubu $-0,48 \pm 0,49$, $p:0,17$)(tablo 3).

Tablo 3. Gruplarda 1. cerrahide ve 2. cerrahideki damar yoğunlukları ve bunların yüzde ve sayısal farkları

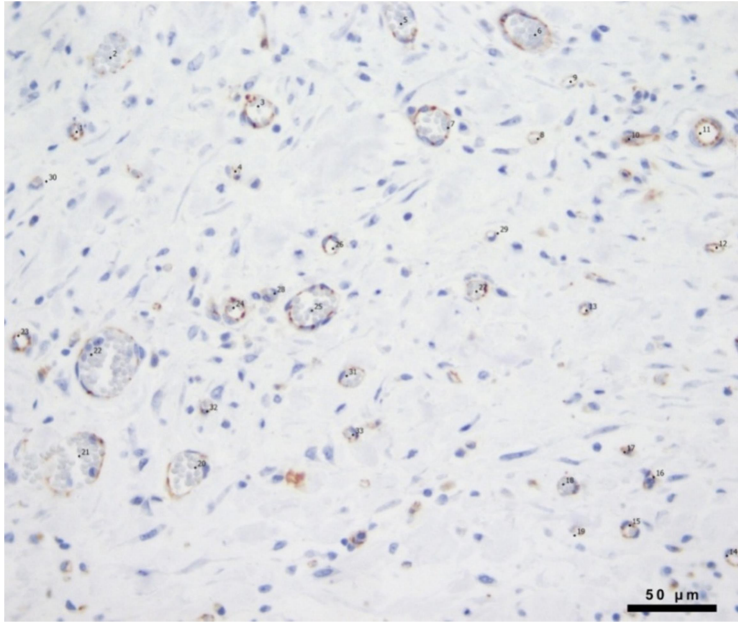
Gruplar	1.yoğunluk(%)	2.yoğunluk(%)	Yoğunluk fark yüzdesi	Yoğunluk fark
Kontrol Grubu	1,15	0,33	-71,30	-0,82
	0,68	1,33	95,59	0,65
	1,02	0,64	-37,25	-0,38
	2,12	1,51	-28,84	-0,61
	0,75	0,52	-30,67	-0,23
	0,63	1,07	69,84	0,44
	1,54	1,30	-15,58	-0,24
	1,83	1,64	-10,38	-0,19
	2,37	2,05	-13,50	-0,32
	1,63	1,07	-34,36	-0,56
Ortalama $\pm$ SD	$1,37 \pm 0,6$	$1,15 \pm 0,54$	$-7,6 \pm 50,98$	$-0,23 \pm 0,45$
Medyan (min-max)	1,35 (0,63-2,37)	1,19 (0,33-2,05)	-22,21 (-71,3-+95,59)	-0,28 (-0,82-+0,65)
Deney Grubu	2,67	1,86	-30,34	-0,81
	2,40	1,71	-28,75	-0,69
	1,62	1,04	-35,80	-0,58
	1,83	2,10	14,75	0,27
	1,78	1,85	3,93	0,07
	2,76	1,51	-45,29	-1,25
	2,05	1,40	-31,71	-0,65
	1,32	0,56	-57,58	-0,76
	1,72	1,15	-33,14	-0,57
	1,62	1,76	8,64	0,14
Ortalama $\pm$ SD	$1,98 \pm 0,48$	$1,49 \pm 0,47$	$-23,53 \pm 24,2$	$-0,48 \pm 0,49$
Medyan (min-max)	1,67 (0,78-2,76)	1,2 (0,56-2,1)	-31,02 (-57,58-+14,75)	-0,62 (-1,25-+0,27)
P sig.	0,045	0,12	0,6	0,17

4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

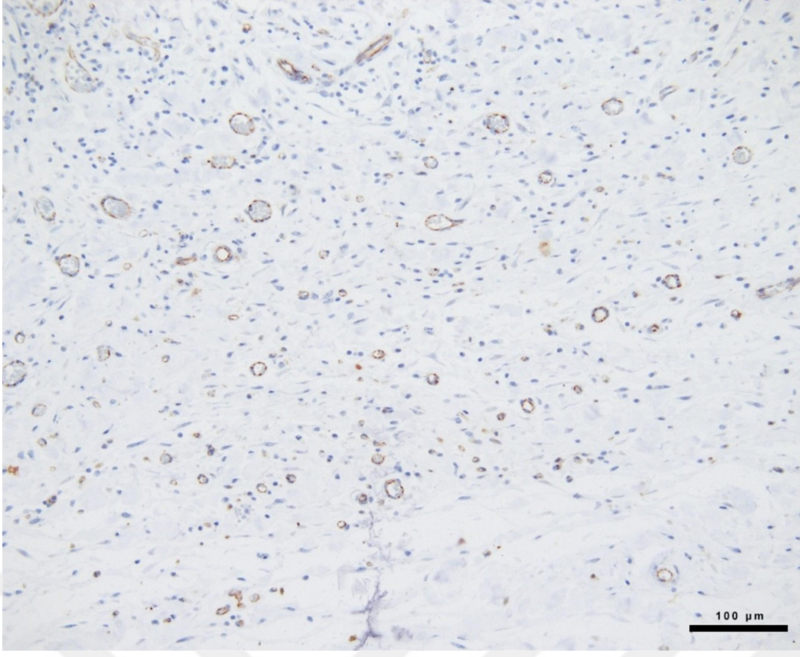
Derin deri altı dokuda (figür 1), iskelet kası altında flep bölgesine ait damardan zengin yangısal alanlar incelendi. Bu örnekten 3 adet, 20x büyültme alanından fotoğraf alınarak CD31 pozitif damarlar Adobe Photoshop CC programının “analysis” aracı ile işaretlenerek sayıldı (Şekil 14-16). Elde edilen sayılar aşağıdaki tabloda verildi (tablo 4).



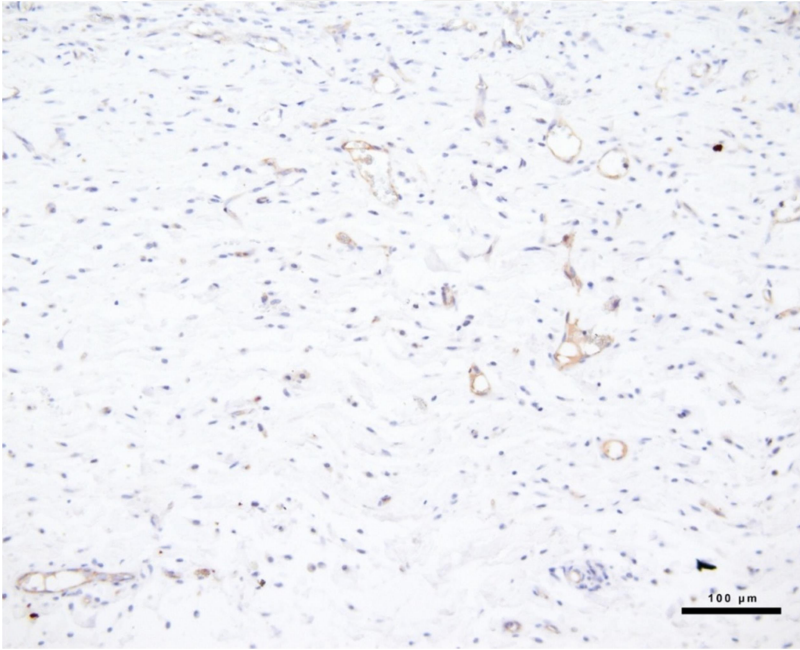
Şekil 14. Derinin ve flep bölgesinin histolojik görünümü. HE. Bar=gerçek uzunluk



Şekil 15. Cd31 ile boyanarak belirgin hale getirilen damarların sayılma yöntemi. AEC kromojen, Mayer'in hematoksileni, bar=gerçek uzunluk



Şekil 16. Deney grubunun histopatolojik görünümü: CD31 pozitif damarlar. AEC kromojen, Mayer'in hematoksileni, bar=gerçek uzunluk



Şekil 17. Deney grubunun histopatolojik görünümü: CD31 pozitif damarlar. AEC kromojen, Mayer'in hematoksileni, bar=gerçek uzunluk

Tablo 4. Preparatlardaki damar sayıları

Kontrol Grubu			Deney Grubu		
34	41	72	55	62	34
42	51	40	33	48	55
48	26	26	49	38	38
23	38	36	11	53	63
31	17	20	52	34	37
34	19	33	38	36	37
32	34	45	45	43	29
11	10	17	22	32	34
42	34	44	47	32	45
43	35	31	21	29	37
Toplam		1009	Toplam		1189

İstatistik için öncelikle her 3 verinin ortalaması alındı. Deney grubunda histopatolojik olarak damar sayısının daha fazla olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Kontrol grubu $33,9 \pm 10,6$, deney grubu $39,7 \pm 6,6$, $p:0,16$)(tablo 5).

Tablo 5. Gruplarda rat başı ortalama damar sayıları

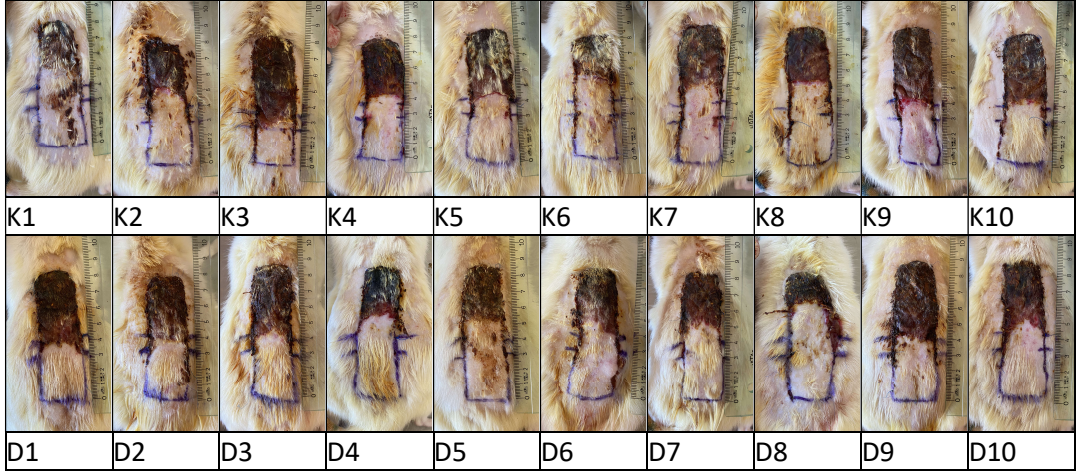
Kontrol Grubu	49	44,3	33,3	32,3	22,6	28,6	37	12,6	40	39,6
Ortalama±SD	33,9±10,6				Medyan (min-max)		35,1(12,6-49)			
Deney Grubu	50,3	45,3	41,6	43	41	37	39	29,3	41,3	29
Ortalama±SD	39,7±6,6				Medyan (min-max)		41,1(29-50,3)			
P sig.	0,16									

4.4. FLEP NEKROZ ALANI BULGULARI

Deneklerin hepsinin deneyin 20. gününde fotoğraflaması yapıp (Şekil 18) flep total alanı hesaplandı ve benzer olduğu görüldü (Kontrol grubu $21,2 \pm 1,8 \text{ cm}^2$, deney grubu $21,5 \pm 1,5 \text{ cm}^2$, $p:0,88$), ardından gelişen nekroz alanının, flebin total alanına oranı yüzde cinsinden hesaplandı. Her iki grubun nekroz yüzdeleri birbiriyle karşılaştırıldı. Deney grubunda nekroz alan yüzdesinin daha az olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Kontrol grubu $\%49 \pm 9,9$, deney grubu $\%44,8 \pm 10,4$, $p:0,65$)(tablo 6).

Tablo 6. Gruplarda flep total alan ve nekroz alan yüzdesi

Gruplar	Total alan(cm^2)	Nekroz alan yüzdesi
Kontrol Grubu	21,03	43,28
	19,92	41,32
	19,96	70,05
	19,13	47,21
	23,3	52,71
	20,55	35,24
	23,28	48,72
	24,68	41,5
	19,86	57,66
	21,21	52,9
	Ortalama $\pm$ SD	$21,2 \pm 1,8$ $49 \pm 9,9$
	Medyan (min-max)	20,79 (19,13-24,68) 47,96 (35,24-70,05)
Deney Grubu	22,05	56,09
	19,01	55,18
	22,45	54,56
	23,11	35
	22,31	39,04
	20,90	43,3
	19,45	41,95
	22,56	23,93
	23,01	54,01
	20,41	45,9
	Ortalama $\pm$ SD	$21,5 \pm 1,5$ $44,8 \pm 10,4$
	Medyan (min-max)	22,18 (19,01-23,11) 44,6 (23,93-56,09)
P sig.	0,88	0,65



Şekil 18. Ratların postoperatif 10. gündeki flep görünümü (K:Kontrol grubu, D:Deney grubu)

5. TARTIŞMA

Vücudumuzdaki en büyük organ olan derideki doku kayıpları plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahinin en sık karşılaştığı hasta profillerindendir. Bu defektlerin kapatılmasında en fonksiyonel ve estetik yaklaşım ise flep cerrahisi tedavisidir. Bu nedenle flep cerrahisi plastik cerrahinin temel taşlarından. En sık kullanılan flep çeşidi random flep olmakla birlikte, en-boy oranı kısıtlılığı olması nedeniyle tedavide başarı oranını düşürmektedir. Gelişen anatomi, fizyoloji, biyokimya bilgisi ve cerrahi tekniklere rağmen; flep distalinde karşılaşılan nekrozu azaltmaya yönelik yapılan araştırmalarla kabul edilir bir klinik etki hala gösterilememiştir ve önemli bir problem olmaya devam etmektedir. Bu komplikasyona bağlı olarak da hastaların geçireceği ameliyat sayısı, hastanede kalış süresi, maruz kaldığı biyofizyolojik, ekonomik ve psikolojik stres artmaktadır.

Flep nekrozuna sebebiyet veren hemodinamik, anatomik ve metabolik değişiklikler; temel olarak arteriyel-venöz iskemi ve iskemi sonrası reperfüzyon ile ortaya çıkan oksijen radikallerinin yol açtığı anormal inflamatuvar yanıt mekanizmalarıyla bu duruma neden olurlar. Bu mekanizmaları ortadan kaldırmak amacıyla cerrahi ve farmakolojik ajanlar araştırılmıştır. Denenen farmakolojik ajanların başında sempatolitikler, vazodilatörler, kalsiyum kanal blokörleri, hemoreolojik ajanlar, antikoagülanlar, prostaglandin inhibitörleri, antioksidanlar ve büyüme faktörleri gelmektedir. Deneysel olarak flep yaşam oranlarında artışa yol açmalarına rağmen, bu ilaçlardan hiç biri klinikte rutin olarak kullanılmamaktadır.

Flepte en önemli faktör flebin beslenmesini sağlayacak olan damarların yeterli miktar ve şartlarda olup olmamasıdır. Dolaşım sağlandıktan sonraki diğer bir önemli faktör de perfüzyon için uygun ortamın bulunmasıdır. Aşırı artan inflamasyonla birlikte perfüzyon bozulur. Bu aşırı inflamasyonun en önemli sebeplerinden birisi de reperfüzyon sonrası oluşan oksijen radikalleridir. Çalışmamızda EGF kullanmış olmamızın ana sebebi; EGF'nin anjiyogenez etkisinin olmasıdır. EGF'nin antioksidan ve antienflamatuvar özelliklerinin de olmasıyla nekrozu engellemeye ekstrasdan yardımcı olabileceğini düşündük. EGF

daha önce greft çalışmalarında kullanılmış olsa da, literatürde flep sağ kalımına etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Sistemik ajan kullanılmasıyla ortaya çıkan yan etkilerin kabul edilebilir düzeyde olmaması nedeniyle, son yıllarda lokal ajanlar denenmektedir. Bu amaçla düz kas relaksasyonuna neden olan nitrogliserin, Rohrich ve ark. tarafından deneysel olarak flep cerrahisinde lokal olarak kullanılmış ve flep yaşayabilirliğinde anlamlı derecede artışa neden olduğu ortaya koyulmuştur. Raposio ve ark. oksijen saturasyonunu arttırmak amaçlı lokal hidrojen peroksiti, lokal dimetilsulfoksit ile geçirgenliği arttırılmış flep yüzeyinde kullanmış ve bu iki ajanın beraber kullanılmasıyla flep yaşayabilirliğinde artış sağlamışlardır. Biz de çalışmamızda sistemik etkilerden kaçınmak amaçlı lokal EGF jel kullandık.

Büyüme faktörleri epitelizasyon, anjiyogenez ve kollajen metabolizmasını düzenleyerek hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu sağlar. Böylece yara iyileşmesinde katkıda bulunur. Büyüme faktörleri fibroblast hücreleri tarafından üretilir. İki majör büyüme faktörü olan fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve transforming büyüme faktörü (TGF- β 1) yara iyileşmesine direkt etki etmektedir. Vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) ise bilinen en etkili anjiyogenik büyüme faktörü olmasıyla yara iyileşmesine etki etmektedir. VEGF'nin flep yaşayabilirliğini arttırdığı yönünde birçok çalışma mevcuttur. Fakat VEGF'nin insanda kullanımına henüz izin verilmemiştir. Çalışmamızda kullandığımız topikal rhEGF jel ise yara ülserlerinin tedavi için hali hazırda kullanılan Sağlık Bakanlığı onaylı-ruhsatlı bir ilaçtır.

Çalışmamızda her iki grupta yaş aralıklarının ve bazal ağırlıklarının benzer olmasıyla, bu iki parametrenin flep yaşayabilirliğine etkisi dışlanmıştır. Her iki gruptaki kilo kaybının benzer miktarda olmasıyla, stres faktörünün benzer miktarda olduğu söylenebilir.

İlk operasyonda flep kaldırıldıktan sonra translüminasyonla yapılan fotoğraflamada, 'image g' programıyla damar yoğunluğu ölçümü yapılarak preoperatif 10 gün transkutan uygulanan EGF'nin etkisinin ortaya koyulması

amaçlandı. İstatistikî verilerimize göre; operasyon öncesi uygulanan EGF'nin damar yoğunluğuna etkisi, kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla idi.

Flebin kaldırılmasıyla damar sayı ve çapında meydana gelen değişiklikler ikinci flep kaldırma işlemi sırasında fotoğraflama yapıp 'image g' programıyla damar yoğunluğu ölçümü yapılarak değerlendirildi ve her iki grupta da, flep kaldırılmasıyla damar yoğunluğunda azalmanın gerçekleştiği ortaya koyuldu. Bu azalmanın sayısal ve yüzde olarak da istatistiği yapıldığında ise sonuçlar her iki grupta benzerdi.

İkinci kez flep kaldırıldığında yani; ilk flep kaldırılmasından 10 gün sonra yapılan fotoğraflamada ise deney grubunda damar yoğunluğu daha fazla hesaplanmış olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Aynı şekilde deney sonlandırma aşamasında, alınan biyopsilerdeki histopatolojik değerlendirmede; damar sayılarının deney grubunda daha fazla olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Nekroz alanı hesaplamada da deney grubunda sağ kalım yüzdesi daha fazla olmasına karşın istatistikî anlamlı kabul edilmedi.

6. SONUÇ

Sonuçlar değerlendirildiğinde; EGF'nin deneyin ilk 10 günü transkutan uygulanmasının damar sayısını arttırmada etkili olduğu; fakat nihai sonucu etkilemediği görüldü. İlk 10 gün transkutan uyguladığımız EGF'nin olumlu yöndeki etkisinin sonraki safhada azalmasının; 10 günün sonrasında flep kaldırılırken EGF'yi flep alt yüzeyine de uygulamış olmamızdan kaynaklandığını düşündürmektir. Çünkü flep altında aşırı granülasyon dokusu gelişmesinin sebebinin, flep altına sürülen EGF olduğunu düşünmektir. Bu aşırı granülasyon dokusu da, dokunun beslenmesini olumsuz yönde etkilemiş ve nihai sonucun etkisini azaltmıştır. Bu nedenle EGF'nin random fleplerdeki sağ kalıma etkisinin araştırılması için, EGF'nin flep alt yüzüne uygulanmadan sadece transkutan uygulamayla yeni bir çalışma yapılması uygun olacaktır.

ÖZET

TOPIKAL EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ(EGF)'NÜN RATLARDA RANDOM FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİ

Amaç: Deri defektlerinin onarımı için tesadüfi eksenli (random) deri flepleri plastik ve rekonstrüktif cerrahide oldukça sık kullanılmaktadır. Belirli bir besleyici damar sistemi bulunmayan random fleplerde en boy oranları kısıtlıdır. Bu durum flep distalinde doku kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle plastik ve rekonstrüktif cerrahinin başlıca araştırma konuları arasında flep sağ kalımının artırılması bulunmaktadır. Biz çalışmamızda anjiyogenezisi uyarıcı, antienflamatuar ve anti apopitotik etkisi olduğu bilinen EGF kullanarak, ratlarda random fleplerin yaşayabilirliğini artırma düzeyini incelenmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, 20 adet rat, her grupta 10 denek olacak şekilde 2 gruba ayrıldı. İlk 10 gün; deney grubunda flep kaldırılacak alana transkutan EGF sürüldü. Kontrol grubunda ise hiç bir işlem yapılmadı. 10.gün her iki grupta sırt bölgesinde 9x3cm'lik kaudal pediküllü random flep kaldırıldı. Tüm flepler translüminasyon yapılarak fotoğraflandı. Deney grubunda kaldırılan flebin alt yüzüne EGF sürüldü. Ardından her iki grupta flepler yerlerine sütürize edildi. Sonraki 10 günde deney grubuna transkutan EGF sürülmeye devam edildi, kontrol grubuna pansuman dışında ek uygulama yapılmadı. Deneyin 20.günü nekroz alanlarının hesaplanması amacıyla fotoğrafları çekildi. Ardından eski flepler tekrar kaldırılıp translüminasyon yapılarak fotoğraflandı. Her flepten proksimalden 3 cm uzaklıktaki 3x1 cm'lik yatay hat boyunca doku örnekleri alındı ve histopatolojik inceleme ile damar sayımı yapıldı. Translüminasyon yapılarak çekilen fotoğraflarda ise 'image j' programı kullanarak damar yoğunluğu hesaplaması yapıldı.

Bulgular: Deneyin 10. günü ilk flep kaldırılması aşamasında deney grubunda damar yoğunluğu ölçümü anlamlı derecede fazla bulundu ($p=0,045$). Fakat 20. günde yapılan damar yoğunluğu ölçümünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,12$). 20. günde alınan biyopsilerde yapılan damar

sayımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,16$). Deney sonunda nekroz alan yüzdesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,65$).

Sonuç: Çalışmanın 10. gününde verilerin flep sağ kalımı açısından deney grubu lehine olması, sonrasında ise istatistiksel anlamlılığını kaybetmesini 10. günde EGF'nin flep alt yüzeyine de uygulamış olmamıza bağlamaktayız. Zira 20. günde flep kaldırıldığında deney grubunda flep alt yüzeyinde aşırı bir granülasyon dokusu kalınlaşması görüldü. Bu durumun flep beslenmesini olumsuz yönde etkileyecek sonuçlar doğurduğunu düşünmekteyiz. Bu nedenle EGF'nin random fleplerde yaşayabilirliğe etkisinin araştırılması için, EGF'nin flep alt yüzüne uygulanmadan sadece transkutan uygulamayla yeni bir çalışma yapılması uygun olacaktır.

SUMMARY

THE EFFECT OF TOPICAL EPIDERMAL GROWTH FACTOR(EGF) ON RANDOM FLAP SURVIVAL IN RATS

Aim: For the repair of skin defects, random axis skin flaps are used frequently in Plastic and Reconstructive Surgery. Aspect ratios are limited in random flaps that do not have a specific feeding vessel system. This situation causes tissue loss in the distal of the flap. Therefore, increasing flap survival is among the main research topics of Plastic and Reconstructive Surgery. In our study, we aimed to investigate the level of increasing the viability of random flaps in rats by using EGF, which is known to have angiogenic, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects.

Materials and Methods: In the study, 20 rats were divided into 2 groups with 10 rats per group. The first 10 days; in the experimental group, transcutaneous EGF was applied to the area to be flap removed. No procedure was done in the control group. On the 10th day, a 9x3 cm caudal pedicle random flap was removed from the back area in both groups. All flaps were photographed by translumination. EGF was applied to the lower face of the flap removed in the experimental group. Then, flaps were sutured on own place in both groups. In the next 10 days, transcutaneous EGF was continued to be applied to the experimental group, no additional application was applied to the control group other than dressing. On the 20th day of the experiment, photographs were taken to calculate the necrosis areas. Then the same flaps were lifted again and photographed by translumination. Tissue samples were taken along a 3x1 cm horizontal line at a distance of 3 cm from the proximal of pedicle from each flap, and vessel scoring was made by histopathological examination. In the photos taken by translumination, vessel density was calculated using the "image j" program.

Results: On the 10th day of the experiment, at the first flap removal phase, the vascular density measurement was found significantly higher in the experimental group ($p = 0.045$). However, no statistically significant difference

was found in the vessel density measurement on the 20th day ($p = 0.12$). There was no statistically significant difference in the vessel scoring in biopsies taken on the 20th day ($p = 0.16$). At the end of the experiment, there was no statistically significant difference in the percentage of necrosis area ($p = 0.65$).

Conclusion: We attribute the fact that the data were in favor of the experimental group in terms of flap survival on the 10th day of the study, and then lost its statistical significance to the fact that EGF was also applied to the lower surface of the flap on the 10th day. Because when the flap was lifted on the 20th day, an excessive granulation tissue thickening was observed on the lower surface of the flap in the experimental group. We think that this situation has consequences that will adversely affect flap nutrition. Therefore, in order to investigate the effect of EGF on viability in random flaps, it would be appropriate to conduct a new study with only transcutaneous application without applying EGF on the lower face of the flap.

7. KAYNAKLAR

1. Bobek V, Sramek D, Rokyta R. Local pharmacological preconditioning increases the survival of experimental skin flaps in rats. *Life Sci.* 2005;77:2663-68.
2. Buemi M, Galeano M, Sturiale A. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and healing of ischemic skin wounds. *Shock.* 2004;22(2):169-173.
3. Buemi M, Vaccaro M, Struriale A. Recombinant human erythropoietin influences revascularization and healing in a rat model of random ischaemic flaps. *Acta Derm Venereol.* 2002;82(6):411-417.
4. Kayser M R. Surgical flaps. *Selected Readings in Plastic Surgery.* 1999;9(2):165-78.
5. Vedder NB. Flap Physiology. *Plastic Surgery.* 2th edition. Saunders Elsevier, Philadelphia. 2006;2:483-506.
6. 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.
7. Payette JR, Kohlenberg E, Leonardi L, Pabbies A, Kerr P, Liu K, et al. Assessment of skin flaps using optically based methods for measuring blood flow and oxygenation. *Plast Reconstr. Surg.* 2005;115:539-546.
8. Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. *Plastic surgery. Indications, operations and outcomes.* Achauer BM, Eriksson E, Wilkins EG, Vandekam VM. St. Louis-Missouri. Mosby. 2000; 1: 261-290.
9. Luce EA. Analysis of complex postextirpative deformity. *Clin Plast Surg* 1995; 22: 1-8.
10. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. Mc Carthy JG (editor). *Plastic Surgery.* Philadelphia. W.B. Saunders 1990; 1: 275-328.
11. McCarthy JG. Introduction to plastic surgery. *Plastic Surgery.* W.B. Saunders Company, 1th edition 1990;49: 1-68.
12. Banic A., Greulich M.: Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study. *Plast. Reconstr. Surg.*, 95:1195-1203, 1995.
13. Schusterman M.A, Kroll S.S., Eber R.S. ve ark.: Intraoral soft tissue reconstruction after cancer ablation: a comparison of the pectoralis major flap and free radial forearm flap. *Am. J. Surg.*, 162: 397-405, 1991.
14. Schusterman M.A, Kroll S.S., Eldon M.E.: Immediate breast reconstruction: why the free TRAM over the conventional TRAM flap? *Plast. Reconstr. Surg.*, 90:255-269, 1992.
15. Myers B. Understanding flap necrosis. *Plast. Reconstr. Surg.* 1986;78:813-814.
16. BUCKLY A., DAVIDSON M.J., KAMERATH C.D., Wolt T.B., WOODWARD C.S. : Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. *Proc. natl. acad. sci. USA* 82, 7340-7344 1985.

17. GOSPODAROWICZ D., BROWN K.D., BIRDWELL C.D., ZETTER B.R. : Control of proliferation of human vascular endothelial cells. *J. cell biology* 77 774-778 1978.
18. GOSPODAROWICZ D., GREENBURG G. : The effects of epidermal and fibroblast growth factors on the repair of corneal endothelial wound in bovine corneas maintained in organ culture. *Exp. eye res.* 28 147-157 1978.
19. KONGSHAVN PAL, BLISS J.O. : Effects of Mouse submandibular gland extract on survival of H-2 incompatible skin allografts. *Immunology* 19 363-367 1970.
20. Chantal Ethier, Valerie-Ann Raymond, Lina Musallam, Robert Houle, Marc Bilodeau. Antiapoptotic Effect of EGF on Mouse Hepatocytes Associated With Downregulation of Proapoptotic Bid Protein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003 Aug;285(2):G298-308.
21. Bhishagratna KK: *An English Translation of the Sushruta Samhita Based on Original Sanskrit Text.* Calcutta, Bose, 1916.
22. Lamberty, B.G.H., Healy, C. *Flaps: Physiology, principles of design, and pitfalls. Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery.* Little, Brown and Company, 1th edition. 56-70, 1994.
23. Tagliacozzi G: *De Curtorum Chirurgia per Insitionem.* Venice, Gaspare Bindoni, 1597.
24. Manchot C: *Die Hautarterien des menschlichen Körpers.* Leipzig Vogel, 1889.
25. Mathes SJ, Hentz VR. *Mathes Plastic Surgery.* 2nd Ed, Philadelphia: Elsevier, 2006.
26. Cormack GC, Lamberty BGH. Introduction: The arterial anatomy of skin flaps. *Churchill Livingstone.* 1986;1:1-5.
27. Fisher J, Gingrass MK. *Basic Principles of skin flaps. Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery.* Third. Ed. Williams & Wilkins. 1997;2:19.
28. Mc Carthy JG. *Introduction to Plastic Surgery. Plastic Surgery.* Ed.: Mc Carthy.W.B. Saunders Company. 1990;1:169-76.
29. Tansini I. *Sopra il mio nuovo processo di amputazione della mammella.* Gazz Med, Italy 1906; 57:141.
30. Davis JS: *Plastic Surgery: Its Principles and practices.* Philadelphia, Blakiston's Son&Co, 1919.
31. Acartürk TO, Dinçyürek HD, Korkmaz Solmaz G, Dağlıoğlu K. Kademeli olarak flebi kaldırarak geciktirme ve bölgesel arterin flebe dahil edilmesinin önemi. 31. Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Ulusal Kongresi. Adana-Türkiye, 17-21 Ekim 2009:259.
32. Mc Gregor IA: *The Temporal Flap in intraoral cancer: its use in repairing the postexcisional defect.* Br. J. Plast. Surg. 1963;16:318.
33. McGregor IA, Morgan G. *Axial and random pattern flaps.* Br J Plast Surg. 1973;26:202.
34. Schafer K: *The subcutaneous vascular system (Lower extremity): studies on micropreparations.* Gegenbaurs Morphol Jahrb 1975;121:492.

35. Taylor GI. *The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. British Journal of Plastic Surgery* 1987; 40:113-141.
36. Song YG, Chen GZ, Song YL. *The free thigh flap: a new free flap concept based on the septocutaneous artery. Br J Plast Surg* 1984; 37:149-59.
37. Sananpanich K, Tu YK, Kraissarin J, Chalidapong P. *Flow-through anterolateral thigh flap for simultaneous soft tissue and long vascular gap reconstruction in extremity injuries: Anatomical study and case report. Injury* 2008; 39:47-54.
38. Koshima I, Soeda S. *Inferior epigastric artery skin flaps without rectus abdominis muscle. Br J Plast Surg* 1989; 42:645-8.
39. Koshima I, Kiichi I, Katsuyuki U, Takahiko M. *Paraumbilical Perforator Flap without Deep Inferior Epigastric Vessels. Plast Reconstr Surg* 1998; 102:1052-1057.
40. Khan FN, Spiegel AJ. *The Evolution of Perforator Flaps. Semin Plast Surg* 2006; 20: 53–55.
41. Koshima I, Tsutsui T, Takahashi Y, Nanba Y. *Free gluteal artery perforator flap with a short, small perforator. Ann Plast Surg* 2003; 51:200-4.
42. Adler N, Seitz LA, Song DH. *Pedicated Thoracodorsal Artery Perforator Flap in Breast Reconstruction: Clinical Experience. Eplasty* 2009; 9:231-42.
43. Wei FC, Mardini S. *Free-style free flaps. Plast Reconstr Surg* 2004; 114:910-6.
44. Mardini S, Tsai FC, Wei FC. *The thigh as a model for free style free flaps. Clin Plast Surg* 2003; 30:473-80.
45. Chang CC, Wong CH, Wei FC. *Free-style free flap. Injury* 2008; 39:57-61.
46. Wallace CG, Kao HK, Jeng SF, Wei FC. *Free-style flaps: a further step forward for perforator flap surgery. Plast Reconstr Surg* 2009; 124:419-26.
47. Achauer BM, Eriksson E, Guyuron B, Coleman JJ, Russell RC, Kolk CA. *Plastic surgery indications, operations and outcomes. St. Louis: Missouri Mosby* 2000:261-90.
48. Weinzwieg J. *Plastik Cerrahinin Sırları. Arıncı A, Çev.Ed, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri,* 2007:646.
49. Orak, İ., *Klasik Tek Tek ve Üç Adet Horizontal Matris Sütür Uç Uca Mikrovasküler Anastomoz Tekniklerinin Epigastrik Flep Perfüzyonuna Etkisinin Lazer Dopler Akımölçer ile Karşılaştırılması (deneysel çalışma), Uzmanlık tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp . Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, Samsun, 2004; 140 s.*
50. George B., Lamberty H., Healy C., *Flaps: Physiology, Principles of Design and pitfalls. (In). Cohen M. Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery, Little, Brown and Co., Boston, volume 1994; 1, 56-57 p.*
51. Taylor I. *The angiosomes of body. Brit J Plast Surg.*1987;40.113-141.

52. Cohen BE, Harmon CS, Phizackerley PJ: *Glucose metabolism in experimental skin flaps. Plast. Reconstr. Surg.* 1983;71:79-86.
53. Talmi YP, Sigler L, Inge E. *Antibacterial properties of human amniotic membranes. Placenta.* 1991;12:285–288.
54. Akyürek M., Kayıkçıoğlu A., Şafak T. ve ark: *The arteriovenous crossflow flap of the rat. Plast. Reconstr. Surg., Jun;*101(7):2012-2013, 1998.
55. Taylor GI. *The blood supply of the skin.* Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL. *Grabb & Smith's Plastic Surgery.* 6th Ed, Philadelphia: Lippincott, 2007:33-41,162-8.
56. McGregor IA, Jackson IT. *The groin flap. Br J Plast Surg* 1972; 25:3.
57. Dhar SC, Taylor GI. *The delay phenomenon: the story unfolds. Plast Reconstr Surg* 1999; 104:2079-91.
58. Brown DL, Borschel GH. *Flaps.* In: Brown GH, editör. *Michigan Manuel of Plastic Surgery.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 22-33.
59. Kayser M. R., Hodges P. L., *Surgical Flaps. (In). Selected Readings in Plastic Surgery,* 1995; 8 (3), 1-58 p.
60. Burnstock G, Ralevic V: *New insights into the local regulation of blood flow by perivascular nerves and endothelium. Br. J Plast Surg* 1994;47:527-543.
61. Gatti JE, LaRossa D, Neff SR, Silverman DG. *Altered skin flap survival and fluorescein kinetics with hemodilution. Surgery* 1982; 92(2):200-205.
62. Kim KZ, Thompson DH, George TF, McQuillan PM, Kao TC. *Effect of anemia on survival of myocutaneous flaps in the pig. Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 111(4):509- 512.
63. Palmer B, Jurell G, Norberg KA: *The blood flow in experimental skin flaps in rats studied by means of the 133 xenon clearance method . Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1972;6:6-12.
64. Kerrigan CL. and Daniel RK., *Monitoring acute skin-flap failure. Plast Reconstr Surg,* 1983. 71(4): p. 519-24.
65. Kerrigan CL. and Daniel RK., *Skin flap research: a candid view. Ann Plast Surg,* 1984. 13(5): p. 383-7.
66. Nathanson SE. and Jackson RT., *Blood flow measurements in skin flaps. Arch Otolaryngol,* 1975. 101(6): p. 354-7.
67. Im MJ, Su CT, Hoopes JE, Anthenelli RM: *Skin flap metabolism in rats: oxygen consumption and lactate production. Plast. Reconstr. Surg.* 1983;71:685-688.
68. Tyner TR, Shahbazian R, Nakashima J, Kane S, Sian K, Yamaguchi KT. *Propofol improves skin flap survival in a rat model: correlating reduction in flap-induced neutrophil activity. Ann Plast Surg* 2004; 53:273-7.

69. Toraman C. Kalsiyum Dobesilat'ın venöz iskekiye uğramış fleplerin kurtarılmasındaki rolü. Uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye, 2006.
70. Kerrigan CL, Wizman P, Hjortdal VE, Sampalis J: Global flap ischemia: a comparison of arterial versus venous etiology. *Plast. Reconstr. Surg.* 1994;93:1485-1495.
71. Hudlicka, O. *Angiogenesis. The growth of the vascular system.* 1986, London: Academic press.
72. May JW, Jr. Chait LA, O'Brien BM, Hurley JV. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* 61(2): 256-267, 1978.
73. Leek, R.D, A.L. Harris, and C.E. Lewis. Cytokine networks in solid human tumors: Regulation of angiogenesis. *J Leukoc Biol*, 1994. 56(4): p. 423-35.
74. Colwell AS, Beanes SR, Soo C, Dang C, Ting K, Longaker MT, et al. Increased angiogenesis and expression of vascular endothelial growth factor during scarless repair. *Plast Reconstr Surg* 115(1): 204-212, 2005.
75. Machens HG, Morgan JR, Berthiaume F, Stefanovich P, Siemers F, Krapohl B, et al. Platelet-derived growth factor-AA-mediated functional angiogenesis in the rat epigastric island flap after genetic modification of fibroblasts is ischemia dependent. *Surgery* . 131(4):393-400, 2002.
76. Wong MS, Erdmann D, Sweis R, Pollmann C, Farrar M, Georgiade GS, et al. Basic fibroblast growth factor expression following surgical delay of rat transverse rectus abdominis myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 113(7): 2030-2036, 2004.
77. Huang N, Khan A, Ashrafpour H, Neligan PC, Forrest CR, Kontos CD, et al. Efficacy and mechanism of adenovirus-mediated VEGF-165 gene therapy for augmentation of skin flap viability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291(1): 127-137, 2006.
78. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, Kontos C, Zhong A, et al. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287(5): 1219-1229, 2004.
79. Sasaki A, Fukuda O, Soeda S: Attempts to increase the surviving length in skin flaps by a moist environment. *Plast. Reconstr. Surg.* 64:526, 1979.
80. McGrath MH: How topical dressing salvage "questionable" flaps: experimental study. *Plast. Reconstr. Surg.* 67:653, 1981.
81. Awwad AM, White RJ, Webster MHC, Vance JP: The effect of temperature on blood flow in island and free skin flaps: an experimental study. *Plast. Reconstr. Surg.* 36:373, 1983.
82. Hussl H, Guy RJ, Eriksson E, Russell RC. Effect of temperature on blood flow and metabolism in a neurovascular island skin flap. *Annals of Plastic Surgery*, 01 Jul 1986, 17(1):73-78.
83. Koenig WJ, Lohner RA, Perdrizet GA, et al: Improving acute skin-flap survival through stress conditioning using heat shock and recovery. *Plast. Reconstr. Surg.* 90:659, 1992.

84. Wang BH, Ye C, Stagg CA, et al: Improved free musculo- cutaneous flap survival with induction of heat shock protein. *Plast. Reconstr. Surg.* 101:776, 1998.
85. Mounsey RA, Pang CY, Forrest C: Preconditioning: a new technique for improved muscle flap survival. *Otolaryngol. Head Neck Surg* 107(4):549, 1992.
86. Zahir KS, Syed SA, Zink JR, et al: Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flaps in a rat model. *Plast. Reconstr. Surg.* 102:140, 1998.
87. Rees R, Punch J, Shakeen K, et al: The stress response in skin: the role of neutrophil products in preconditioning. *Plast. Reconstr. Surg.*, 92:110, 1993.
88. Tan CM, Im MJ, Myers RAM, Hoopes JE: Effects of Hyperbaric oxygen and hyperbaric air on the survival of island skin flaps. *Plast. Reconstr. Surg.* 73:27, 1984.
89. Ramon Y, Abramovich A, Shupak A, et al: The effect of hyperbaric oxygen on a rat transverse rectus abdominis myocutaneous flap model. *Plast. Reconstr. Surg.* 102:416, 1998.
90. Nemiroff, P., Lungu, A. The influence of hyperbaric oxygen and hyperbaric air on survival of island skin flaps. *Plast. Reconstr. Surg.*; 73:27 -30, 1974.
91. Esclamado RM, Larrabee WF, Zel GE: Experiments on the effects of hyperbaric oxygen on survival of dorsal skin flaps in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 102:41-44, 1990.
92. Quirinia A, Viidik A: The effect of hyperbaric oxygen on different phases of healing of ischaemic flap wounds and incisional wounds in skin. *Br. J. Plast. Surg.*, 48:583, 1995.
93. Kaelin, C. et al. The effects of hyperbaric oxygen on free flaps in rats. *Arch. Surg.*; 125(5):607-609, 1990.
94. Akan M., Çakır B., Aköz T. ve ark.: Effects of clopidogrel and high dose aspirine on survival of skin flaps in rats. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.*, 39:7-10, 2005.
95. Hong J.P., Chung Y.K., Chung S.H.: The effect of prostoglandin E1 versus ischemia reperfusion injury of musculocutaneous flaps. *Ann. Plast. Surg.*, Sept; 47(3):316-321, 2001.
96. Rumbolo PM, Cooley BC, Hanel DP, Gould JS: Comparison of the influence of intraluminal irrigation solutions on free flap survival. *Microsurgery* 13:45, 1992.
97. Bakhach J: 1984-1994: Ten years of skin flaps. *Recent advances in experimental surgery. Ann Chir Plast Esthet*, Oct; 40(5):583-95, 1995.
98. Hashimoto I., Nakanishi H., Shono Y. ve ark: The features of thrombus in a microvessel injury model and the antithrombotic efficacy of heparin, urokinase, and prostaglandin E1. *Plast. Reconstr. Surg.*, Jun; 111(7):2307-2313, 2003.
99. Maeda M., Fukui A., Tamai S.: Combined therapy with antithrombotic agents and radical scavengers for reperfusion injury of flaps. *J. Reconstr. Microsurg.*, 7:233-243, 1991.
100. Rothkopf DM, Chu B, Bern S, May JW: The effect of dextran on microvascular thrombosis in an experimental rabbit model. *Plast. Reconstr. Surg.*, 92(3):511, 1993.

101. Zhang B., Wieslander JB. Dextran's antithrombotic properties in small arteries are not altered by lowmolecular-weight heparin or fibrinolytic inhibitor tranexamic acid; an experimental study. *Microsurgery*. 1993;14(4):289-295.
102. Salemark L., Knudsen F., Dougan P. The effect of dextran 40 on patency following severe trauma in small arteries and veins. *Br J Plast Surg*. 1995;48:121-126.
103. Ghoi T, Tseng S. In vivo demonstration of suppression of scarring and autologous bloodinduced bloodinduced rabbit corneas. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci* 1999;40:S328.
104. Lee C, Mehran RJ, Lessard ML, Kerrigan CL. Leeches: controlled trial in venous compromised rat epigastric flaps. *Br J Plast Surg* 1992; 45:235-8.
105. Chowdary , R.P., Berkower, A.S., Moss, M.L. et al.(1987) *Plastic and Reconstructive Surgery* 79, 98-101.
106. Ramasastry SS, Waterman P,Angel MF,Futrell JW: Effect of Flusol-DA (20%) on skin flap survival in rats. *Ann Plast Surg* 1985 Nov;15(5):436-42.
107. Geddes CR, Morris SF, Neligan PC. Perforator flaps: evolution, classification, and applications. *Ann Plast Surg* 2003; 50:90-9.
108. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, Minabe T. An anatomic review of the delay phenomenon: I. Experimental studies. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89:397-407.
109. Sarifakioglu N, Gokrem S, Ates L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: an experimental study. *Br J Plast Surg* 2004; 57:769-72.
110. Ulusoy MG, Uysal A, Koçer U, Karaaslan O, Cuzdan SS, Ayyildiz A, Ustün H. Improved flap viability with site-specific delivery of sildenafil citrate using fibrin glue. *Ann Plast Surg* 2005; 55:292-6.
111. Tellioğlu AT, Uras KA, Yilmaz T, Alagözülü H, Tekdemir I, Karabağ O. The effect of carnitine on random-pattern flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108:959-62.
112. Davis RE, Wachholz JH, Jassir D, Perlyn CA, Agrama MH. Comparison of topical anti-ischemic agents in the salvage of failing random-pattern skin flaps in rats. *Arch Facial Plast Surg* 1999; 1:27-32.
113. Huemer GM, Froschauer SM, Pachinger T, Kwasny O, Schoffl H. A comparison of pretreatment with a topical combination of nonivamide and nicoboxil and surgical delay in a random pattern skin flap model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2009; 62:914-9.
114. Rashid MA, Akita S, Razzaque MS, Yoshimoto H, Ishihara H, Fujii T, Tanaka K, Taguchi T. Coadministration of basic fibroblast growth factor and sucrose octasulfate (sucrafate) facilitates the rat dorsal flap survival and viability. *Plast Reconstr Surg* . 1999; 103:941-8.
115. Soydan AT. Random paternli dorsal deri fleplerinin yaşam oranlarının arttırılmasında yeni bir yöntem: botulinum toksini. Uzmanlık tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, İstanbul-Türkiye, 2008.

116. COHEN S. : *Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. The Journal of Biological Chemistry*, 237 (5) 1555-1563 1962.
117. GREGORY H. : *Isolation an structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor. Nature*, 257, 325-327 1975.
118. COSTRINI N.V., BECK R. : *Epidermal growth factor urogastrone receptors in normal human liver and primary hepatoma. Canser*, 51, 2191-2196 1983.
119. ROTHE M., FALANCGA V.: *Grovvth factors. Arch. dermatol.* 125, 1390-1398 1989.
120. TAUBER J.P., TAUBER M .T. : *Grovvth factors. Nucl. med. biol.*, 14 (4) 407-419 1937.
121. . Scott J, Patterson S, Rall L, Bell GI, Crawford R, Penschow J, Niall H, Coghlan J. *The structure and biosynthesis of epidermal growth factor precursor. J Cell Sci. Suppl* 1985;3:19-28.
122. CARPENTER G., COHEN S. : *Epidermal growth factor. Ann. rev. biochem.* 68, 194-216 1979.
123. YATES R. NANEY L.B., GATES R.E., KING L.E. : *Epidermal grovvth factor and related grovvth factors. Int. journal of dermatology*, 30 (10) 687-693 1991.
124. Tang X, Liu H, Yang S, Li Z, Zhong J, Fang R. *Epidermal Growth Factor and Intestinal Barrier Function. Mediators Inflamm.* 2016;2016:1927348.
125. CONTRAN R.S., KUMAR W., ROBBINS S. L. : *Robbins pathologic basis of disease 4 th. ed. WB. Saunders Comp. Philadelphia p: 73, p: 184* 1989.
126. BUCKLY A., DAVIDSON M.J., KAMERATH C.D., Wolt T.B., WOODWARD C.S. : *Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. Proc. natl. acad. sci. USA* 82, 7340-7344 1985.
127. GOSPODAROW'ICZ D., BROWN K.D., BIRDWELL C.D., ZETTER B.R. : *Control of proliferation of human vascular endothelial cells. J. celi biology* 77 774-778 1978.
128. GOSPODAROWICZ D., GREENBURG G. : *The effects of epidermal and fibroblast grovvth factors on the repair of comeal endothelial vvound in bovine corneas maintained in organ culture. Exp. eye res.* 28 147-157 1978.
129. İhsan Levent ARAL, Nadir GÜNGÖR, Tülin OYGÜR, Leyla CİNEL. *EPIDERMAL BUYUME FAK-TÖRÜNÜN (EGF) DERİ ALLOGREFTLERİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN. HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI G.Ü. Dişhek. Fak. Der. Cilt XII, Sayı 1, Sayfa 47-53.* 1995.
130. Kondo I, Shimizu N. *Mapping of the human gene for epidermal growth factor receptor (EGFR) on the p13 leads to q22 region of chromosome 7. Cytogenet Cell Genet.* 1983;35:9-14.
131. Yan F, Cao H, Cover TL, Washington MK, Shi Y, Liu L. *Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. J Clin Invest.* 2011;121:2242-53.

132. Hormi K, Lehy T. Developmental expression of transforming growth factor- α and epidermal growth factor receptor proteins in the human pancreas and digestive tract. *Cell Tissue Res.* 1994;278:439-50.
133. Ji Min Kim, Jung Eun Choo, Heun Joo Lee, I Ki Nam Kim and Sung Eun Chang. Epidermal Growth Factor Attenuated the Expression of Inflammatory Cytokines in Human Epidermal Keratinocyte Exposed to *Propionibacterium acnes*. *Ann Dermatol.* 2018 Feb;30(1):54-63.
134. Casacó A. Ledón N. González A. Merino N. Pérez R. Topical Anti-Inflammatory Activity of Human Recombinant Epidermal Growth Factor. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1999;12:79–84.
135. KONGSHAVN PAL, BLISS J.O. : Effects of Mouse submandibular gland extract on survival of H-2 incompatible skin allografts. *Immunology* 19 363-367 1970.
136. Chantal Ethier, Valerie-Ann Raymond, Lina Musallam, Robert Houle, Marc Bilodeau. Antiapoptotic Effect of EGF on Mouse Hepatocytes Associated With Downregulation of Proapoptotic Bid Protein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003 Aug;285(2):G298-308.
137. Amar B. Singh, Keisuke Sugimoto, and Raymond C. Harris. Juxtacrine Activation of Epidermal Growth Factor (EGF) Receptor by Membrane-anchored Heparin-binding EGF-like Growth Factor Protects Epithelial Cells from Anoikis While Maintaining an Epithelial Phenotype. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* VOL. 282, NO. 45, pp. 32890–32901, November 9, 2007.
138. Yan F, Cao H, Cover TL, Washington MK, Shi Y, Liu L. Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. *J Clin Invest.* 2011;121:2242-53.