

T1825



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

**RATLARDA NÖROKUTANÖZ FLEPLERİN
YAŞAYABİLİR ALANLARININ ARTIRILMASI
AMACIYLA VEGF'NİN KULLANILMASI**

+

Uzmanlık Tezi

Dr. Gülsüm TETİK MENEVŞE

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Kemal İSLAMOĞLU

*"Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca 2004.04.0103.024 Proje
No ile desteklenmiştir"*

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Faydalanılabilir"

Antalya, 2005

TEŞEKKÜR

1998 dönem birincisi olarak mezun olduğum Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinde, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı'nın yetiştirdiği bir uzman olmanın verdiği sevinç ve onurla,

Büyük özverilerle benim bugünlere gelmemi sağlayan anneme ve babama,

Bu zorlu süreçte destek ve yardımlarını esirgemeyen eşime ve varlıkları ile bana güç veren kardeşlerime,

Uzmanlık eğitimi sürecimde büyük emek ve katkıları olan öğrencisi olmaktan büyük onur ve gurur duyduğum değerli hocam, Sayın Prof. Dr. H. Ege Özgentaş'a,

Tez çalışmalarımda ve tüm uzmanlık eğitim süresince büyük emek ve yardımları ile beni destekleyen hocam, Sayın Doç. Dr. Kemal İslamoğlu'na,

Uzmanlık eğitimi sürecimde destek ve katkılarını her zaman gördüğüm hocalarım, Doç. Dr. Koray Coşkunfırat ve Yrd. Doç. Dr. Ömer Özkan'a,

Birlikte zevkle çalıştığım arkadaşlarım, Dr. Mustafa Dikici, Dr. İlkay Yıldırım, Dr. Özlenen Doğan, Dr. Asım Uslu ve Dr. Anı Çinpolat'a,

Plastik Cerrahi Kliniğinin tüm hemşire ve personeline,

Tez çalışmamda histopatolojik değerlendirmeleri yapan Prof. Dr. Akif Çiftçioğlu ve Dr. İbrahim Başsorgun'a, Radyolojik çalışmalarda yardımcı olan Prof. Dr. Oğuz Bircan'a, İstatistik çalışmalarında yardımcı olan Dr. Hakan Gülkesen'e,

Tez çalışmamı yaptığım Akdeniz Üniversitesi deney hayvanları ünitesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Şakir Atalay, Erol Nizamoğlu ve diğer çalışanlarına

TEŞEKKÜR EDERİM

Dr. Gülsüm TETİK MENEVŞE
Antalya, 2005

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1 – 2
2. GENEL BİLGİLER	3 - 4
3. GEREÇ VE YÖNTEM	5 – 12
3.1 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF 165) Hazırlanışı	5
3.2 Gruplar	8
3.2.1 Grup I: Nörokutanöz ada flebi (N=10)	8
3.2.2 Grup II: Cerrahi delay-Nörokutanöz ada flebi (N=10)	8
3.2.3 Grup III: VEGF-Nörokutanöz ada flebi (N=10)	8
3.2.4 Grup IV: Greft (N=10)	9
3.3 Yaşayabilir Alanların Ölçümü	12
3.4 Histopatolojik İnceleme	12
3.5 Mikroangiografik İnceleme	12
3.6 İstatistiksel Analiz	12
4. BULGULAR	13 - 30
4.1 Flep Canlılığının Değerlendirilmesi	13
4.2 Mikroangiografik Değerlendirme	18
4.3 Histopatolojik Değerlendirme	20
4.4 İstatistiksel Analiz Sonuçları	24
5. TARTIŞMA	31 – 54
SONUÇ	55
ÖZET	56 – 57
KAYNAKLAR	58 – 69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bFGF	Beta Fibroblast Growth Factor
cNOS	Constitutive Nitric Oxide Syntase
IL-1	Interleukin-1
iNOS	Inducible Nitric Oxide Syntase
kDa	Kilodalton
MDA	Malonyldialdehyde
NO	Nitric Oxide
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PIGF	Plesental Induced Growth Factor
TGF- β	Transforming Growth Factor-beta
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-alfa
VEGF	Vascular endothelial growth factor

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 3.1. VEGF 165	7
Şekil 3.2. Flep dizaynı	9
Şekil 3.3. Nörovasküler Pedikül	10
Şekil 3.4. Nörokutanöz sinir üzerinde eleve edilmiş flep	10
Şekil 3.5. Flebe VEGF enjeksiyonu	11
Şekil 4.1. Flep grubu	15
Şekil 4.2. Delay grubu	15
Şekil 4.3. VEGF grubu	16
Şekil 4.4. Greft grubu	16
Şekil 4.5. Grupların Ortalama Yaşayabilir Flep Alanları (%)	17
Şekil 4.6. Flep grubu mikroangiografisi	18
Şekil 4.7. Delay grubu mikroangiografisi	19
Şekil 4.8. VEGF grubu mikroangiografisi	19
Şekil 4.9. Flep grubunda canlı alandan alınan biopside az sayıda damar yapısı görülmekte (mavi ok: damar yapıları) (HEX 100)	21
Şekil 4.10. Flep grubunda pedikülden alınan biopside A: Arter V: Ven S: Sinir yapıları görülmekte (HEX200)	21
Şekil 4.11. Delay grubunda canlı alandan alınan biopside artmış damar yapıları görülmekte (mavi ok: damar yapıları) (HEX100)	22
Şekil 4.12. Delay grubunda pedikülden alınan biopside A: Arter V: Ven S: Sinir yapıları görülmekte (mavi ok: artmış damar yapıları) (HEX100)	22
Şekil 4.13. VEGF grubunda canlı alandan alınan deri biopsisinde çok sayıda matür damar yapıları görülmekte (mavi ok: damar yapıları)	23
Şekil 4.14. VEGF grubunda pedikülden alınan biopside A: Arter V: Ven S: Sinir yapıları görülmekte Pedikül çevresinde artmış, matür damarlar izlenmekte (mavi ok: artmış damar yapıları) (HEX100) (HEX100)	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No:

Çizelge 4.1. Grupların Yaşayabilir Flep Alanları (%)

14

1. GİRİŞ

Travma, tümör eksizyonu ve kongenital deformiteler nedeniyle vücudun değişik bölgelerinde oluşan tam tabaka defektlerin rekonstrüksiyonu amacıyla kullanılan farklı flep seçenekleri bulunmaktadır. Vücudun belirli bir bölgesindeki defekti onarmak amacıyla defekte taşınan ve kendi kan akımını üzerinde barındıran doku parçasına flep denir. Bir flep başarısız olduğunda yapılacak sonraki operasyonlar, artmış morbidite, muhtemel fonksiyon kaybı ve artmış maliyetle sonuçlanmaktadır. Kardiorespiratuar sorunları olan yaşlılarda flep başarısızlıkları daha yıkıcı olmaktadır. En morbid flep komplikasyonu total veya parsiyel flep nekrozudur. Nekrozun primer nedeni, yetersiz arteriel ve/veya venöz kan akımıdır. Özellikle flebin distali nekrozdan en çok etkilenen kısımdır.

Değişik anatomik bölgelerdeki kan akım kaynakları araştırılmış ve bunlara bağlı olarak değişik flepler tanımlanmıştır. Bu fleplerdeki kan akımını kuvvetlendirmek ve olası flep nekrozunu en aza indirmek amacıyla değişik cerrahi teknikler ve farmakolojik ajanlar kullanılmıştır (1-6). Flep canlılığını artırabilmek için, cerrahi delay işlemi uzun zamandır kullanılmaktadır. Cerrahi delay, flebin tam olarak elevasyonundan ve defekte yerleştirilmesinden 1 veya 2 hafta öncesinde tüm kenarlarının insizyonunu takiben eleve edilmeden tekrar yerine sütürasyonu veya flebi besleyen damarların bağlanıp kesilmesi suretiyle flebin damarlanmasını ve iskemiye dayanıklılığını artırmak amacıyla yapılan bir işlemdir. 16 yüzyılın başlarında bu teknik kullanılarak fleplerdeki nekrozların önlenileceği fark edilmiştir (7-9). Delay fenomeninin etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu konuda değişik hipotezler bulunmaktadır. Delay fenomenindeki kritik faktörlerin aydınlatılması cerrahi işlem kullanılmaksızın bu faktörleri kullanarak aynı etkiyi yaratabilme olanağı verecektir. Bu durum "farmakolojik delay" olarak adlandırılır. Yetersiz flep perfüzyon sorununu çözmek amacıyla yara iyileşmesinde faydalı olan polipeptid büyüme faktörlerinin etkilerinden yola çıkılarak yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir. VEGF bu faktörlerden en çok araştırılan ve sonuçta etkileri en iyi aydınlatılmış ajandır. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), bilinen en güçlü angiogenetik ajandır (10). VEGF, vasküler permeabilityyi artırır; endotelial hücre

büyümesini güçlendirir ve angiogenesisi indükler (11). Rat ve tavşan kornealarında, koryoallantoik membranda ve tavşan kemik greft modelinde yapılan çalışmalar ile VEGF'nin angiogenesisi stimüle ettiği invivo olarak kanıtlanmıştır (12). "Tümör angiogenezis faktör" olarak da invivo tanımlanmıştır (13). Daha önce tanımlanan pek çok büyüme faktörünün aksine, VEGF'nin yüksek afinite gösterdiği reseptörlerin vasküler endotelial hücrelerde sınırlı olması angiogenesisinde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. VEGF hücre yüzeyindeki reseptörleri aracılığıyla, endotelial hücre migrasyonunu, proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu sağlayabilmek için kapiller filizlerin invaze olabilecekleri ekstraselüler matriksin oluşumunu sağlayacak enzimlerin üretimini stimüle etmektedir.

Bazı durumlarda defekte komşu bölgelerde skar veya travma nedeniyle rekonstrüksiyonu sağlayacak uygun doku bulunamayabilir. Lokal fleplerin pedikülü olabilecek major arterler zarar görmüş olabilir. Bu yüzden lokal flepleri kullanmak mümkün olmayabilir. Bu durumda serbest flep seçeneği bulunmaktadır. Ancak serbest flep cerrahisi gelişmiş ekipman, cerrahi tecrübe ve yüksek maliyet gerektirdiğinden her zaman uygun bir seçenek olmamaktadır. Ayrıca travmadan zarar görmüş alanda uygun alıcı damar bulunamayabilir. Bu durumda son zamanlarda popülerite kazanan ve klinikte geniş uygulama alanı bulan nörokutanöz flepler uygun rekonstrüksiyon seçeneği haline gelmektedir. Nörokutanöz fleplerin pek çok avantajı bulunmaktadır: Büyük damarların sakrifikasyonunu ve serbest flep cerrahisinde olduğu gibi, özel cerrahi ekipman ve özel tecrübe gerektirmezler. Ne var ki; sınırlı boyutlarda dizayn edilebilmeleri nörokutanöz fleplerin dezavantajını oluşturmaktadır. Nörokutanöz fleplerin daha geniş boyutta kaldırılabilmesi, doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda daha güvenli biçimde kullanılabilmesine olanak tanıyacaktır.

Bu amaçla, çalışmamızda, ratta tanımlanmış olan nörokutanöz flep modelinde VEGF kullanılarak nörokutanöz fleplerin yaşayabilir alanlarının artırılması amaçlanmıştır. VEGF'nin flep yaşayabilirliği üzerindeki etkisi, flep damarlanmasını artıran başka bir yöntem olan cerrahi delay fenomeni ile karşılaştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

1892'de Quenu ve Lejars (14), periferik sinirlerin kan akımların anatomisi hakkında tam ve detaylı bir çalışma yapmışlardır. Derinin vaskülaritesinin kısmen sinirlerin etrafındaki damarlara bağı olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu damarların, dolaşımın ana aksına katkıları olduğunu, deri ve subkutanöz doku ile kollateral anastomozları bulunduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada, kutanöz sinirlerin hepsine arteria nervorumun eşlik ettiğini bildirmişlerdir. Bu gözlemler 1936'da Salmon tarafından desteklenmiştir (15).

Kutanöz sinirlerin çevresindeki paranöral ve içerisindeki intranöral damarlar bir vasküler ağ oluşturarak üzerlerindeki derinin vaskülarizasyonuna katkıda bulunmaktadır. Bu bilgilerin ışığı altında nörokutanöz flep konsepti gelişmiştir. Nörokutanöz fleplerin vaskülarizasyonu, sinirin uzunluğu boyunca yer alan (ekstresek) ve sinirin içerisinde bulunan (intresek) arterioller tarafından sağlanmaktadır. İntresek ve ekstresek vasküler ağlar arasında anastomozlar mevcuttur. Ekstresek arterioller, siniri uzunluğu boyunca defalarca delmektedir. Venöz drenaj, derin venöz ağa dökülen ve artere eşlik eden venlerle sağlanmaktadır (16).

Vasküler permeabilite faktör" veya "vaskülotropin" olarak da bilinen VEGF, heparine bağlanan glikoproteindir. 45 kDa homodimer olarak sekrete edilir (17, 18). Yapısal olarak (Platelet Derived Growth Factor) PDGF ile benzerdir (19). VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plental büyüme faktörü (PIGF) olarak bilinir. VEGF-A en baskın proteindir. VEGF-A'nın birçok varyantı vardır. VEGF 165 hücre ve dokulardaki major isoformudur (20).

VEGF ilk olarak tümör hücrelerinden sekrete edilen, dolaşan makromoleküller için lokal damarlarda permeabiliteyi artıran bir protein olarak tanımlanmıştır. Daha sonra, embriyoda angiogenesisteki rolü ortaya konmuştur (21, 22). Yara iyileşmesinde rol oynayan önemli bir sitokindir (23). Endotelial hücre mitojenidir; reseptörleri sadece endotelial hücrelerde bulunur (17, 24). Endotelial hücrelere spesifik iki ana aktivitesi bulunmaktadır:

- Proteinlere ve diğler moleküllere karşı endotelial hücrelerin permeabilitesini artırmak ve monositlerin endotel tabakasına migrasyonunu stimüle etmek,
- Lokal endotelial hücre proliferasyonunu ve vasküler hiperpermeabiliteyi güçlendirmek.

Hiperpermeabilite, fibrinojen ekstravazasyonuna ve fibrin matriks oluşumuna neden olur. Bu da fibroblast migrasyonunu indükler. Hiperpermeabilite ve endotelial hücre proliferasyonu birlikte güçlü angiogenik etkiyi yaratırlar.

Önceki çalışmalarda VEGF'nin fizyolojik ve patolojik angiogenesisi regüle ettiği bildirilmiştir. İnvivo olarak tümör hücrelerinden VEGF sentezlendiği ve bu durumun angiogenesis ve tümör stroma formasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir (25).

VEGF endotel hücrelerinden Nitrik Oksit (NO) sentezini stimüle ederek vazodilatasyona neden olmaktadır (26). Dokuda hipoksi veya endotel hasarı varsa, VEGF protein ekspresyonunda artış ortaya çıkmaktadır (27). VEGF'nin iskemik myokard, akciğer, iskelet kası ve santral sinir sisteminde de arttığı gösterilmiştir (28-31). VEGF hormonal olarak düzenlenmektedir (32).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, ağırlıkları 200-260 gr. (ortalama 230 gr.) arasında değişen 44 adet dişi Wistar cinsi rat kullanılmıştır. Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Komitesi'nin izni ve onayı ile yapılmıştır. Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Çalışma her grupta 10 hayvan olacak şekilde ayrılan 4 grupta yapılmıştır:

Grup I: Nörokutanöz ada flebi (N=10)

Grup II: Cerrahi delay-Nörokutanöz ada flebi (N=10)

Grup III: VEGF-Nörokutanöz ada flebi (N=10)

Grup IV: Graft (N=10)

Çalışmamızda, cerrahi ve mikroangiografik işlemlerin yapılması aşamasında ratlara genel anestezi uygulanmıştır. Genel anestezi, 100 mg/kg intraperitoneal ketamine ve 20 mg/kg intramuskuler xylazine ile sağlanmıştır. Tüm cerrahi işlem ve değerlendirme çalışmaları ısı kontrollü cerrahi odalarda yapılmıştır. Cerrahi işlem öncesinde, ratların sol uyluk bölgesi ve tüm alt ekstremitesi tıraşlanmıştır. Operasyon alanı povidon iyodin ile temizlenmiştir. Cerrahi prosedürlerde steril aletler kullanılmıştır. İnsizyonlar 4/0 ipek ile sütüre edilmiştir. Damarı bağlamak için 5/0 ipek kullanılmıştır. Operasyondan sonra Tramadol HCl (Contromol) ile 20 mg/kg dozunda analjezi sağlandıktan sonra ratlar ayrı kafeslere konularak, geleneksel yem ve su ile bakımları yapılmıştır. Tüm cerrahi prosedürler aynı cerrah tarafından ve aynı teknikle uygulanmıştır.

3.1. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF 165) Hazırlanışı

Recombinant Human Vascular Endothelial Growth Faktör165 aminoasitlik izoformu (VEGF 165), Chemicon International (Temecula, CA) firmasından liyofilize, 10 mikrogram doz içeren ambalajında sağlanmıştır (Şekil 3.1). Kullanım aşamasına kadar -20°C'de saklanmıştır. Cerrahinin yapılacağı günde, 5 ml. %0.9 izotonik solüsyonu kullanılarak liyofilize form solüsyon haline getirilmiştir. Her bir rat için 2 mikrogram/ml VEGF içerecek şekilde 1 ml. solüsyon, enjektörlere alınmıştır. İnjesiyonlar dental enjektörle yapılmıştır. Solüsyonlar +4°C'de saklanarak 2 saat içerisinde kullanılmıştır.

“Vasküler permeabilite faktör” veya “vaskülotropin” olarak da bilinen VEGF, heparine bağlanan glikoproteindir 45 kDa homodimer olarak sekrete edilir (17, 18). Yapısal olarak (Platelet Derived Growth Factor) PDGF ile benzerdir (19). VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plesental büyüme faktörü (PIGF) olarak bilinir. VEGF-A en baskın proteindir. VEGF-A'nın birçok varyantı vardır. VEGF 165 hücre ve dokulardaki major isoformudur (20).

VEGF ilk olarak tümör hücrelerinden sekrete edilen, dolaşan makromoleküller için lokal damarlarda permeabiliteyi artıran bir protein olarak tanımlanmıştır. Daha sonra, embriyoda angiogenesisteki rolü ortaya konmuştur (21, 22). Yara iyileşmesinde rol oynayan önemli bir sitokindir (23). Endotelial hücre mitojenidir; reseptörleri sadece endotelial hücrelerde bulunur (17, 24).

Endotelial hücrelere spesifik iki ana aktivitesi bulunmaktadır:

- Proteinlere ve diğer moleküllere karşı endotelial hücrelerin permeabilitesini artırmak ve monositlerin endotel tabakasına migrasyonunu stimüle etmek,
- Lokal endotelial hücre proliferasyonunu ve vasküler hiperpermeabiliteyi güçlendirmek.

Hiperpermeabilite, fibrinojen ekstravazasyonuna ve fibrin matriks oluşumuna neden olur. Bu da fibroblast migrasyonunu indükler. Hiperpermeabilite ve endotelial hücre proliferasyonu birlikte güçlü angiogenik etkiyi yaratırlar.

Önceki çalışmalarda VEGF'nin fizyolojik ve patolojik angiogenesisi regüle ettiği bildirilmiştir. İn vivo olarak tümör hücrelerinden VEGF sentezlendiği ve bu durumun angiogenesis ve tümör stroma formasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir (25).

VEGF endotel hücrelerinden Nitrik Oksit (NO) sentezini stimüle ederek vazodilatasyona neden olmaktadır (26). Dokuda hipoksi veya endotel hasarı varsa, VEGF protein ekspresyonunda artış ortaya çıkmaktadır (27). VEGF'nin iskemik myokard, akciğer, iskelet kası ve santral sinir sisteminde de arttığı gösterilmiştir (28-31). VEGF hormonal olarak düzenlenmektedir (32).



Şekil 3.1. VEGF 165

3.2. Gruplar

3.2.1. Grup I: Nörokutanöz ada flebi (N=10)

Nörokutanöz ada flep modeli olarak daha önce Gürünlüoğlu ve arkadaşları tarafından ratlarda tanımlanmış, uyluğun anterolateralinde yerleşen nörokutanöz ada flebi seçilmiştir. Modelde flebin yaşayabilir alanı 2x1 cm olarak bulunmuştur (33). Uyluğun anterolateralinde, flebin uzun ve kısa akslarının kesiştiği nokta anterior superior iliak spine ile diz arasındaki hattın merkezine yerleşecek şekilde 3x3 cm boyutlarında cilt adası belirlendi (Şekil 3.2). Sol uyluk bölgesinde kasıktan alt bacağa doğru uzanan yaklaşık 4 cm. uzunluğunda oblik insizyon yapıldı. Bu insizyondan safen nörovasküler pediküle ulaşılarak ekspozite edildi (Şekil 3.3). Süperfisiyel epigastrik arter ve ven bağlandı ve kesildi (Şekil 3.4) Bu pedikülden laterale uzanarak uyluğun anterolateralinin derisini innerve eden kutanöz sinir operasyon mikroskobu yardımıyla bulundu. Flebin elevasyonuna, lateral, superior ve inferior kenarlarının insizyonu ile başlandı. Flep lateralden mediale doğru derin fasyayı içermeksizin eleve edildi. Son basamakta medial insizyon yapılarak, flep, sadece kutanöz sinir, yandaş damarları ve onları çevreleyen 0.5 cm. genişliğinde süperfisiyel fasyaya bağlı olarak ada flebi şekline getirildi. Daha sonra flep orijinal yatağına 4/0 ipek ile sütüre edildi.

3.2.2. Grup II: Cerrahi delay-Nörokutanöz ada flebi (N=10)

Nörokutanöz ada flebi dizayn edildikten sonra, flebin tüm kenarlarına cilt-ciltaltı insizyonlar yapıldı. Flep eleve edilmeksizin yapılan insizyonlar 4/0 ipek ile sütüre edildi. Bu işlemden 7 gün sonra yukarıda tanımlandığı şekilde nörokutanöz ada flebi eleve edildi. Flep orijinal yatağına 4/0 ipek ile sütüre edildi. Flebe herhangi bir madde enjekte edilmedi.

3.2.3. Grup III: VEGF-Nörokutanöz ada flebi (N=10)

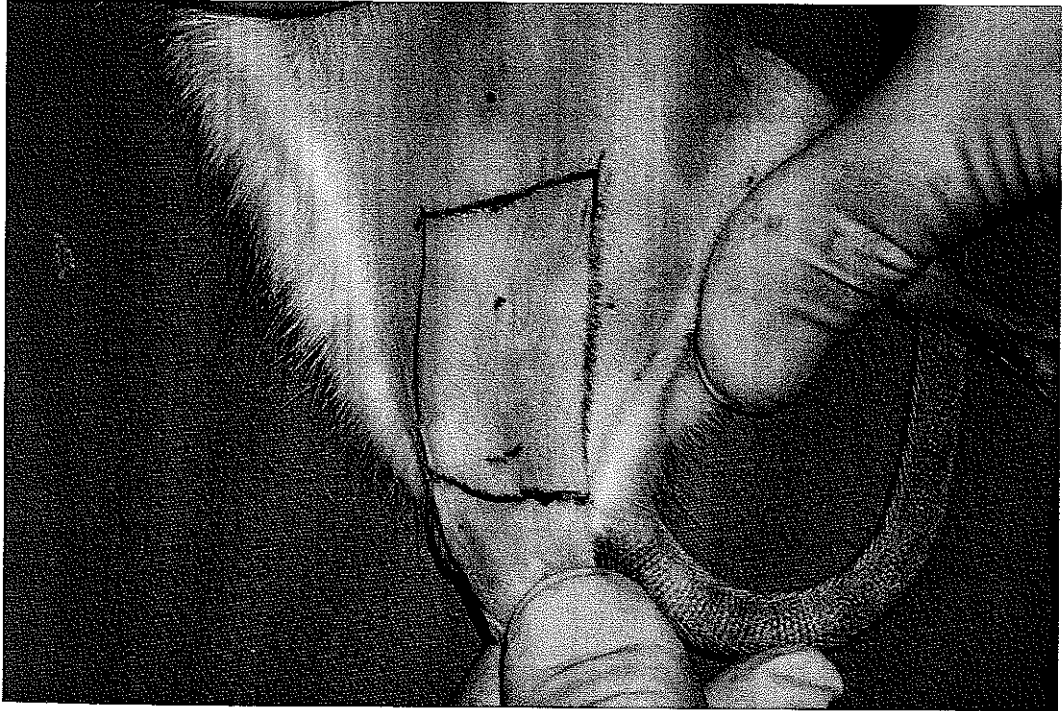
Nörokutanöz flep Grup I'de tanımlandığı şekilde kaldırıldı. Sayfa 5'de tanımlandığı şekilde hazırlanan 2 mikrogram/ml içeren 1 ml. VEGF solüsyonu her

flebe subdermal olarak pediküle zarar vermemeye özen gösterilerek enjekte edildi (Şekil 2.5). Flep orijinal yatağına 4/0 ipek ile sütüre edildi.

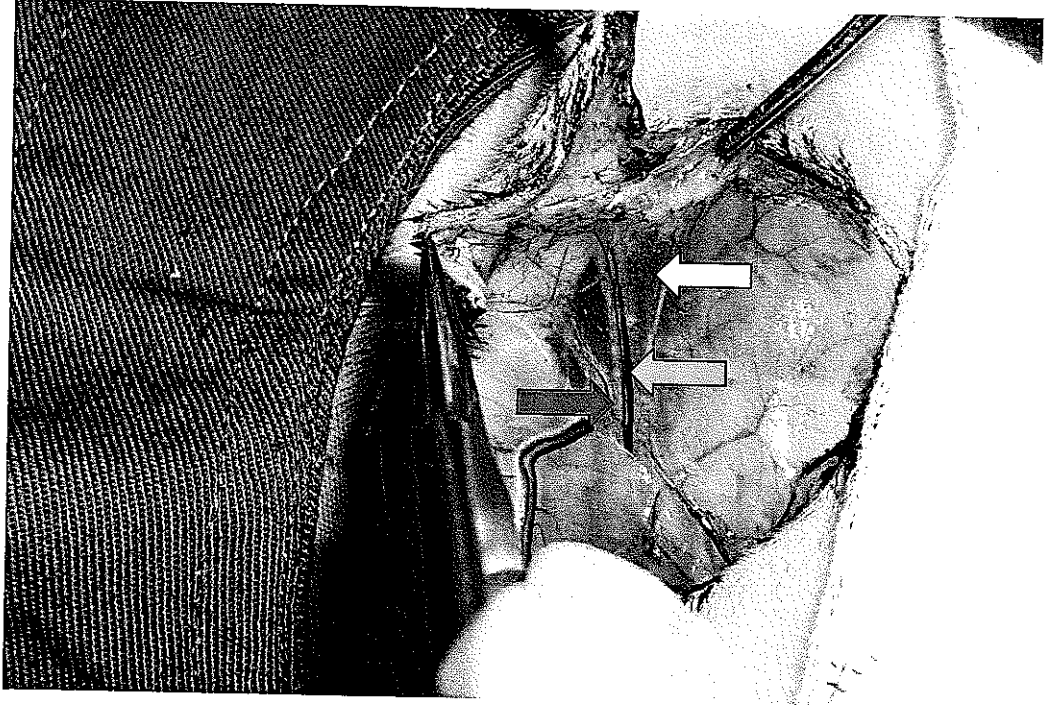
2.2.4. Grup IV: Greft (N=10)

Yukarıda tanımlandığı gibi flepler eleve edildi. Nörovasküler pedikül bağlanıp kesildi. Deri adası greft olarak orijinal yatağına 4/0 ipek ile sütüre edildi.

5. günün sonunda 4 gruptaki tüm ratlarda fleplerin yaşayabilir alanlarının değerlendirilmesi için, digital fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekildi. Hayvanlar anestezi altında iken mikroanjiyografik değerlendirme yapıldı. Bu işlemlerden sonra ratlara yüksek dozda anestezik madde verilerek ötenazi yapıldı. Histopatolojik değerlendirme için fleplerin canlı ve nekroze alanlarından ve pedikülden ratlara ötenazi yapıldıktan sonra biopsiler alındı.

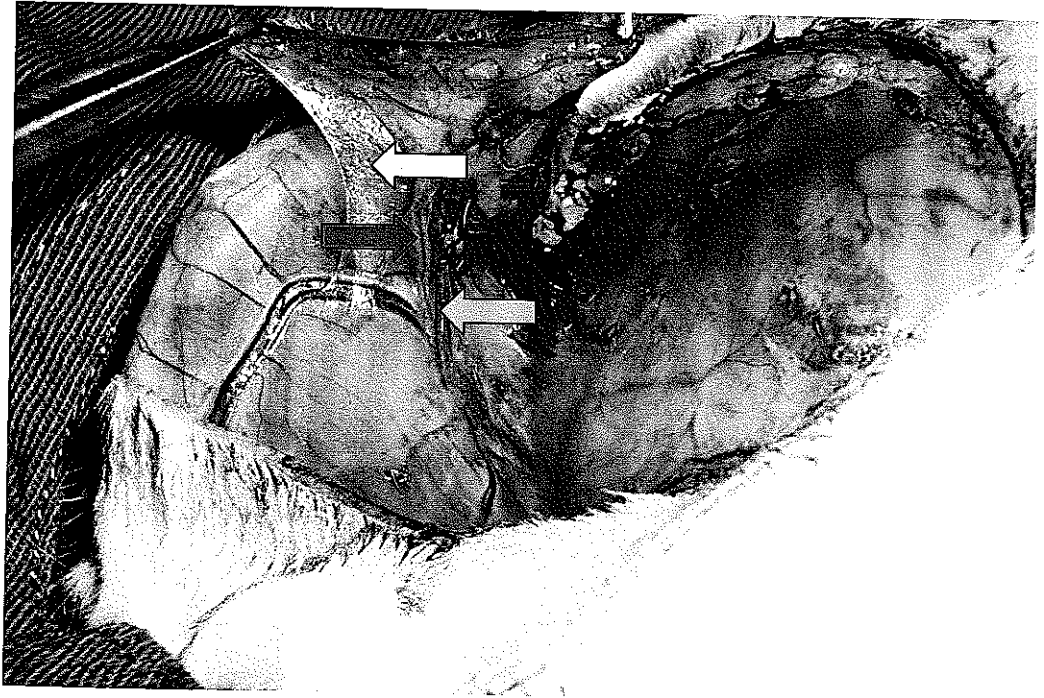


Şekil 3.2. Flep dizaynı.

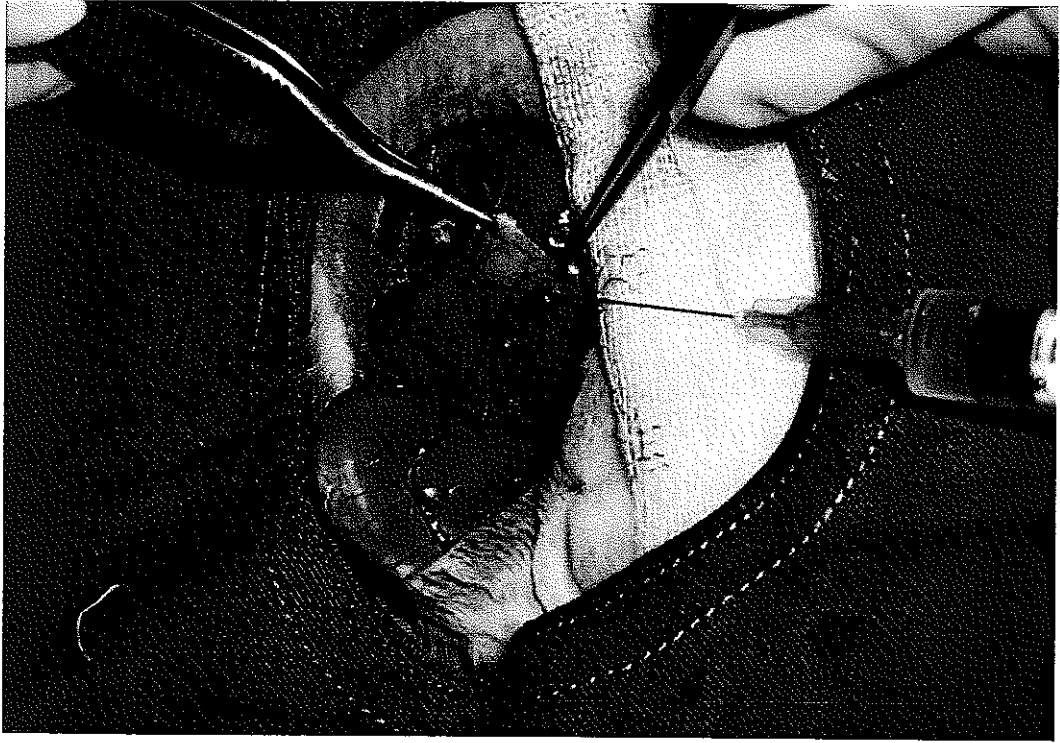


- Süperfişiel fasya
- Süperfişiel epigastrik arter-ven
- Kutanöz sinir

Şekil 3.3: Nörovasküler Pedikül



Şekil 3.4: Nörokutanöz sinir üzerinde eleve edilmiş flep



Şekil 3 5: Flebe VEGF enjeksiyonu

3.3. Yaşayabilir Alanların Ölçümü

Operasyondan sonra 5. günde fleplerin fotoğrafları digital fotoğraf makinesi ile çekildi. Görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı Yaşayabilir flep alanları bir bilgisayar programı (Image Pro Express 4.0) kullanılarak hesaplandı. Yaşayabilir alanlar oran (%) olarak belirtildi.

3.4. Histopatolojik İnceleme

Operasyondan sonra 5. günde fleplerin canlı, nekroze alanlarından ve pedikülden olmak üzere üç farklı bölgesinden histopatolojik inceleme için doku örnekleri alındı. %10 Formalin içeren şişelere konuldu. Histopatolojistler tarafından uygun kesitleri alınarak Hematoksilen Eozin ile boyama yapıldı. Örnekler iki histopatolojist tarafından değerlendirildi. Preperatlarda neoangiogenesis, nekroz ve paranöral ve intranöral damarlar araştırıldı.

3.5. Mikroangiografik İnceleme

Operasyondan sonra 5. günde ratlara genel anestezi verildikten sonra, sağ arteria karotis komunise 22 gauge intravenöz kateter yerleştirildi. Heparinize solüsyon ile damarlar yıkandıktan sonra, izotonikle dilüe edilmiş yaklaşık 75 ml. %20 'lik baryum sülfat çözeltisi 20 cc. lik enjektörler ile basıncı parmakla ayarlanarak, 15-20 dakika içerisinde radyopak madde flep kenarından sızınmaya kadar rata enjekte edildi. Rat, yaklaşık 20 dakika buzdolabında bekletildikten sonra nörokutanöz ada flebi pedikülünü de içerecek şekilde eleve edilerek rattan ayrıldı. Ayarları 22 Kv., 9.2 mA/sec , 0.4 mA olan mammografi makinesinde 20 cm mesafesinden flebin x-ray filmleri çekildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 10.0 (Statistical Package for Social Sciences) yazılımı kullanıldı. Tüm grupların yaşayabilir alan/total flep alanı oranlarının karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farkı analiz etmek için ikili olarak Mann-Whitney-U testi kullanıldı ve alınan sonuçlarda Bonferroni düzeltmesi yapıldı. P değeri <0.05 olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma 44 rat üzerinde yapılmıştır. İki hayvan postoperatif ikinci gün ölüm, bir hayvan autocannibalism ve bir hayvan kesi yeri infeksiyonu nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır. Gruplardaki denek sayısı 10'a tamamlanmıştır.

4.1. Flep Canlılığının Değerlendirilmesi

Tüm gruplardaki flepler operasyon sonrasındaki 1, 3 ve 5. günlerde değerlendirildi. Nekrozların en erken 3. günde başladığı ve 5. günde son halini aldığı görüldü.

Dört gruba ait yaşayabilir flep alanları % olarak Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

I. grup olan nörokutanöz flep grubunda yaşayabilir flep alanı ortalama 29.7 ± 1.43 olarak bulundu (min: %21, max: %34) (Şekil 4.1).

II. grup olan cerrahi delay işlemi yapıldıktan 1 hafta sonra kaldırılan nörokutanöz flep grubunda yaşayabilir flep alanı 41.3 ± 3.24 olarak bulundu (min: %24, max: %57) (Şekil 4.2).

III. grup olan flep kaldırıldıktan hemen sonra VEGF verilen nörokutanöz flep grubunda yaşayabilir flep alanı 94.2 ± 1.46 olarak bulundu (min: %89, max: %100) (Şekil 4.3).

IV. grup olan flebin greft haline getirildiği kontrol grubunda ise 5. günün sonunda canlı alanlarının olmadığı tespit edildi (Şekil 4.4).

Tüm grupların ortalama yaşayabilir alan karşılaştırılması Şekil 4.5'de gösterilmiştir.

Greft grubunda (Grup IV), yaşayabilir alan olmadığı için istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Diğer 3 grup arasında yaşayabilir alan açısından Kruskal-Wallis testine göre istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$). Bu sonuç üzerine 3 grup arasında Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı ve sonuçlara Bonferroni düzeltmesi uygulandı.

Flep grubu (Grup- I) ve delay grubu (Grup-II) arasında yapılan karşılaştırmada $p=0.015$ ($p < 0.05$),

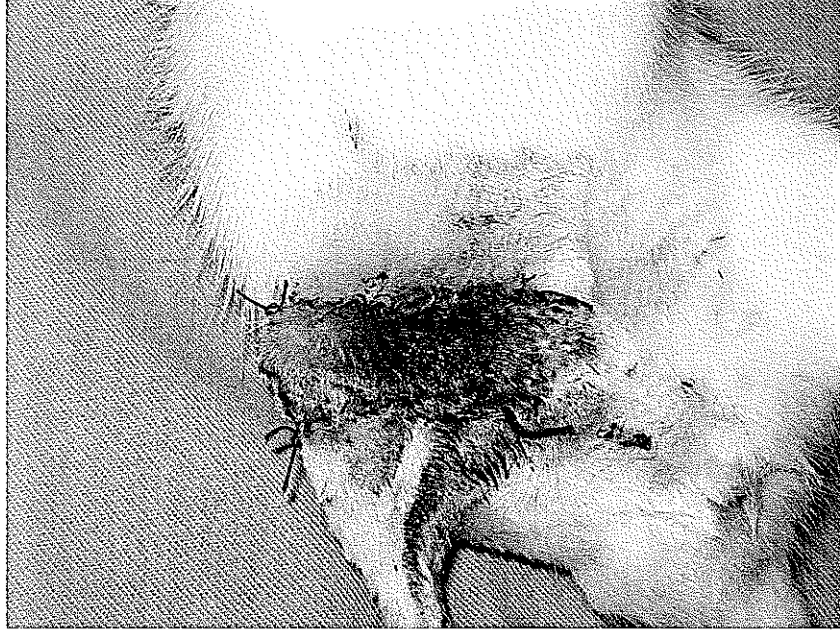
Flep grubu (Grup- I) ve VEGF grubu (Grup-III) arasında yapılan karşılaştırmada $p=0.001$ ($p < 0.05$),

Delay grubu (Grup-II) ve VEGF grubu (Grup-III) arasında yapılan karşılaştırmada $p=0.001$ ($p<0.05$) bulundu.

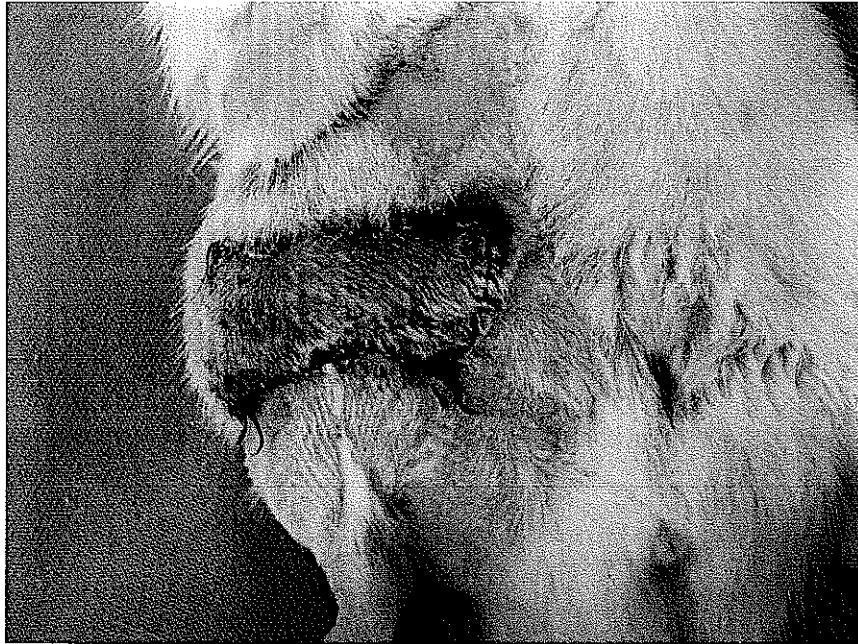
Alınan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p<0.05$).

Çizelge 4.1: Grupların Yaşayabilir Flep Alanları (%)

Denek No	Greft Grubu (%)	Flep Grubu (%)	Delay Grubu (%)	VEGF Grubu (%)
1	0	21	38	94
2	0	29	47	100
3	0	27	30	93
4	0	37	53	88
5	0	34	57	100
6	0	29	40	89
7	0	31	49	96
8	0	28	36	90
9	0	34	24	100
10	0	27	39	92
ORT	0	29,7±1.43	41,3±3.24	94,2±1.46



Şekil 4.1: Flep grubu



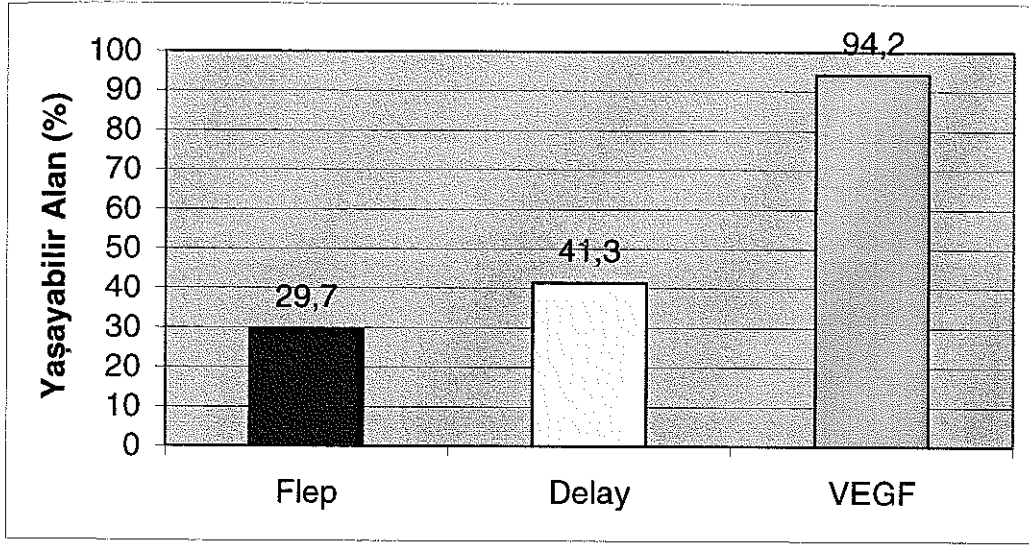
Şekil 4 2: Delay grubu



Şekil 4.3: VEGF grubu



Şekil 4.4: Greft grubu



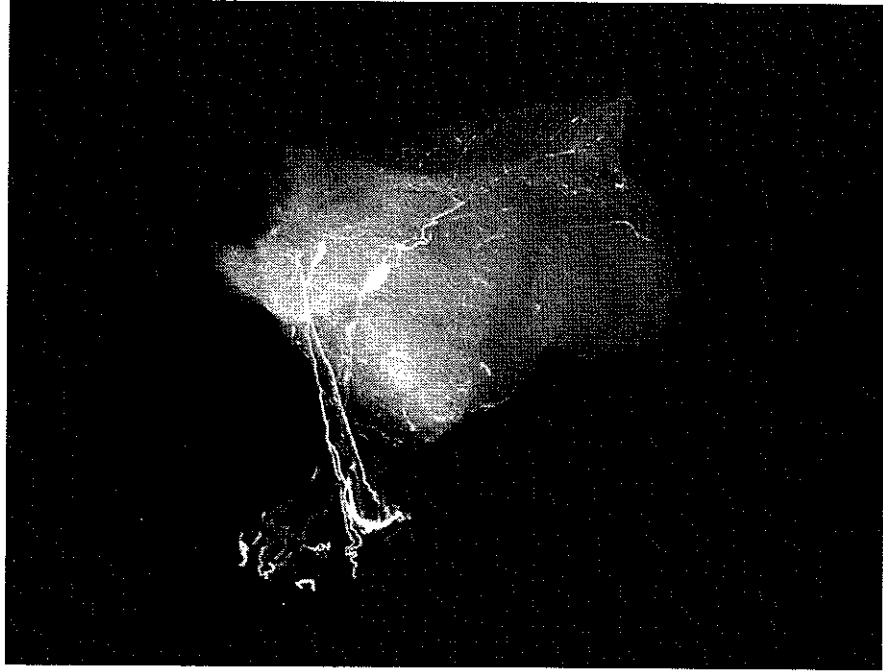
Şekil 4.5: Grupların Ortalama Yaşayabilir Flep Alanları (%)

4.2. Mikroangiografik Değerlendirme

Flep grubunda nörovasküler pedikülden distale doğru gidildikçe damar kalibrelerinin incel­içi, görüntünün zayıfladığı ve vasküler ağın yoğunluğunun azaldığı görülmüş­tür (Şekil 4.6).

Delay grubunda, flep grubu ile karşılaştırdığında pedikülden çıkan ağın yoğunluk ve kalibresinin arttığı görülmüş­tür (Şekil 4.7).

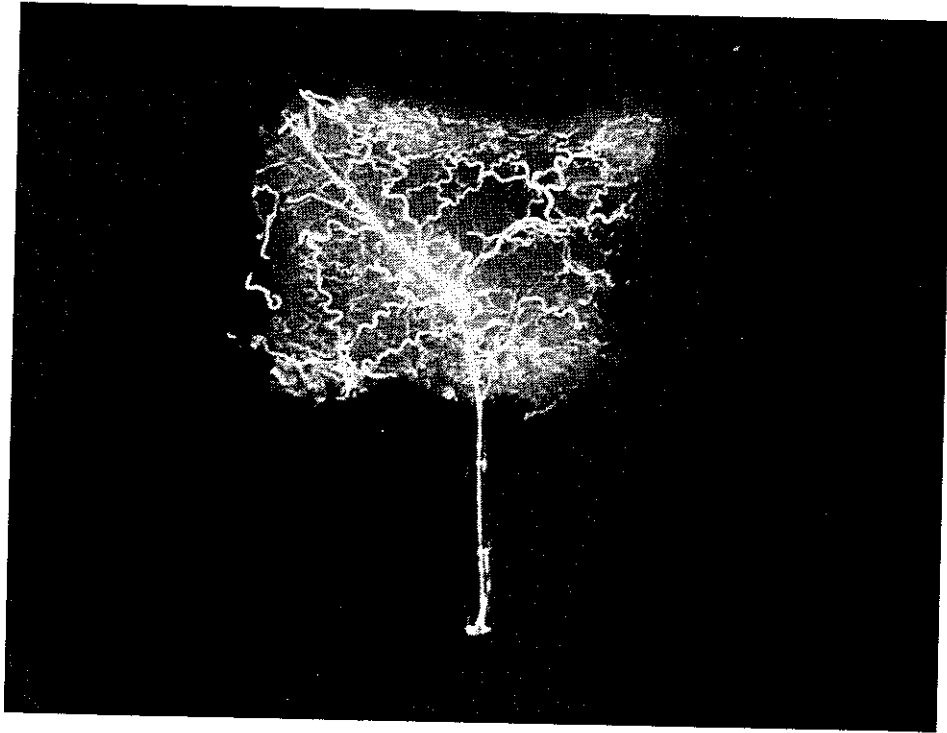
VEGF verilen grupta flep ve delay grupları ile karşılaştırdığında, pedikülden itibaren yaygın ve yoğun bir damar ağı izlenmiş­tir. Ayrıca bu damarların çapının pedikülden itibaren genişlediği, görüntünün daha net olduğu gözlemlendi (Şekil 4.8).



Şekil 4.6.: Flep grubu mikroangiografisi



Şekil 4.7: Delay grubu mikroangiografisi



Şekil 4.8: VEGF grubu mikroangiografisi

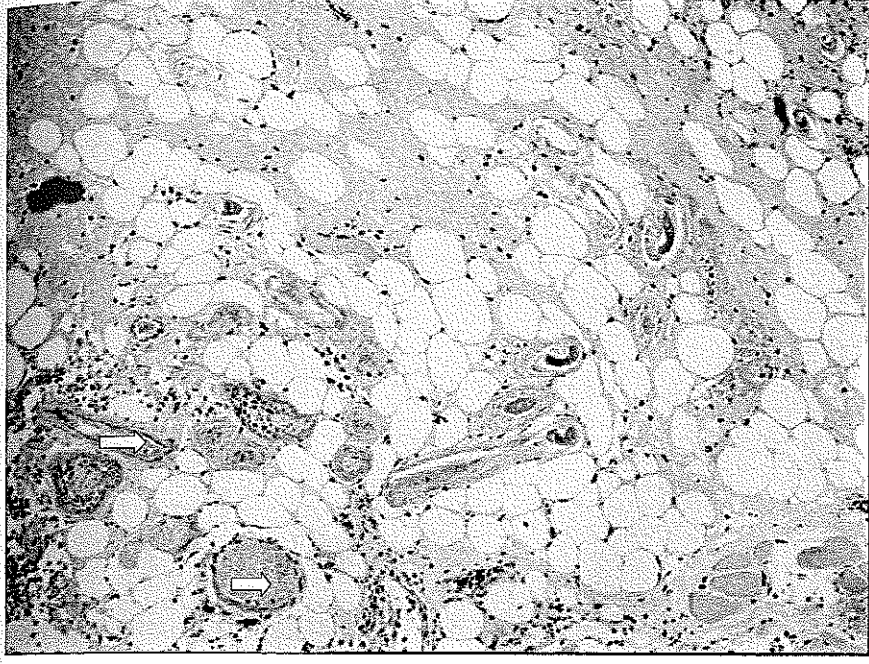
4.3. Histopatolojik Değerlendirme

Greft grubunda makroskopik görüntü ile uyumlu olarak tüm deri katlarında nekroz görüldü

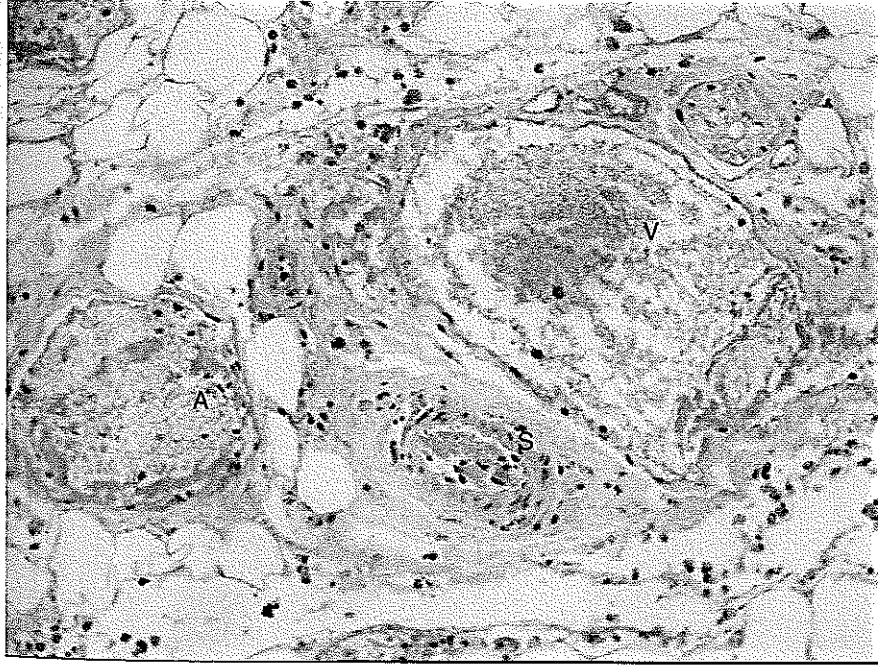
Flep grubunda canlı deri adasından alınan biyopsilerde, epitel bütünlüğünün yer yer bozulduğu, iltihabi hücre infiltrasyonu olduğu izlendi. Ayrıca birim alana düşen damar yoğunluğunun az olduğu görülmüştür (Şekil 4.9). Pedikülden alınan örneklerde sinire eşlik eden damarlarda cidarının incelendiği kimi yerlerde muskuler tabakanın kaybolduğu ve damar duvarında fibrinoid nekroz tespit edildi. Damar lümeninde nekrotik materyal gözlemlendi (Şekil 4.10).

Delay grubunda ise, canlı alandan alınan biyopsilerde epitelin daha intakt olduğu görüldü. Birim alana düşen damar yoğunluğunda flep grubu ile karşılaştırıldığında artış olduğu görüldü (Şekil 4.11). Pediküldeki damarlarda flep grubuna göre bütünlüğün bir miktar daha fazla korunduğu saptandı (Şekil 4.12).

VEGF verilen grupta nekroze alandan alınan deri biopsilerinde, nekrozun yüzeyde değil, daha alttaki tabakalarda yoğunlaştığı dikkat çekmiştir. Canlı alandan alınan deri biopsilerinde, epitelde herhangi bir deformasyon belirtisi olmadığı, epitelin ve eklerinin son derece matür ve intakt olduğu gözlemlendi. Birim alana düşen damar yoğunluğunda her iki gruba göre belirgin artış olduğu görüldü (Şekil 4.13). Pedikülde damar bütünlüğünün korunduğu, damar duvarlarının intakt olduğu, lümenin kan hücreleri ile dolu olduğu izlendi (Şekil 4.14). Delay grubunda artmış olarak görülen damar yapılarının daha immatür olduğu, tam bir lümen oluşturamadıkları saptanmışken, VEGF verilen grupta artmış olan tüm damarların intakt lümenleri olduğu izlendi. Lümen içinin matür endotel hücreleri döşerken, delay yapılan grupta yeni oluşan endotel hücrelerinde aynı matürite izlenmemiştir.



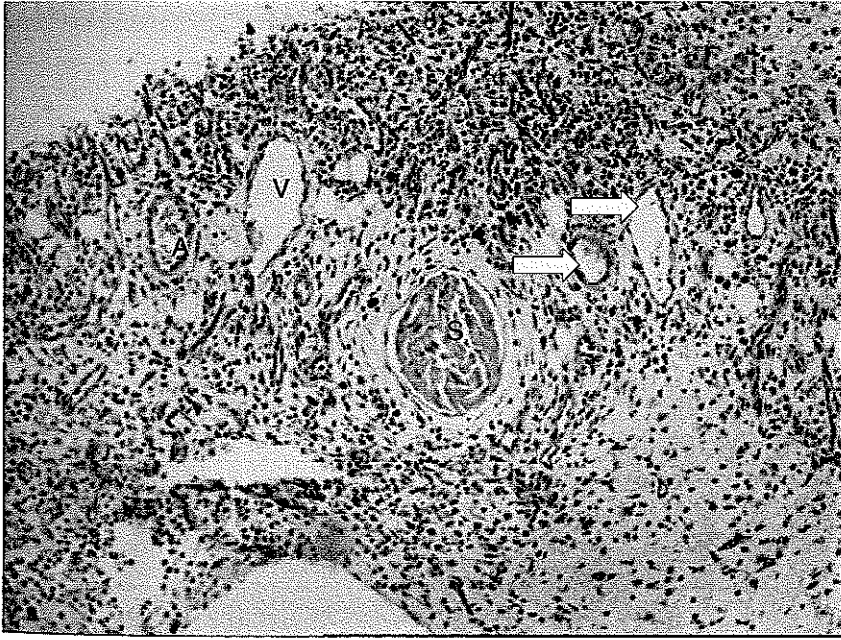
Şekil 4.9: Flep grubunda canlı alandan alınan biopside az sayıda damar yapısı görülmekte (mavi ok: damar yapıları) (HEx 100)



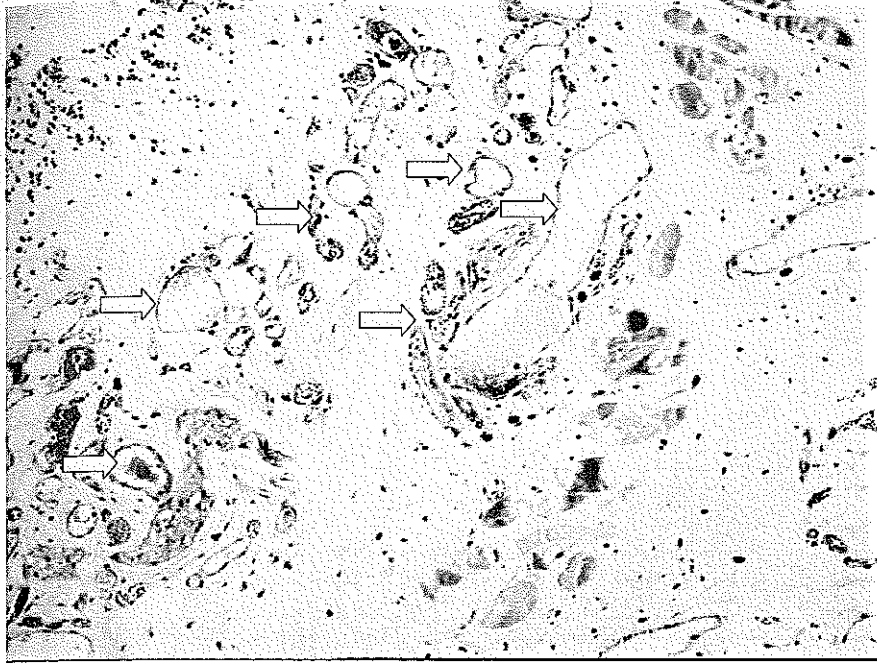
Şekil 4.10: Flep grubunda pedikülden alınan biopside A: Arter V: Ven S: Sinir yapıları görülmekte (HEx200)



Şekil 4.11: Delay grubunda canlı alandan alınan biopside artmış damar yapıları görülmekte (mavi ok: damar yapıları) (HEEx100)



Şekil 4.12: Delay grubunda pedikülden alınan biopside A: Arter V: Ven S: Sinir yapıları görülmekte (mavi ok: artmış damar yapıları) (HEEx100)



Şekil 4.13: VEGF grubunda canlı alandan alınan deri biopsisinde çok sayıda matür damar yapıları görülmekte (mavi ok: damar yapıları)



Şekil 4.14: VEGF grubunda pedikülden alınan biopside A: Arter V: Ven S: Sınır yapıları görülmekte Pedikül çevresinde artmış, matür damarlar izlenmekte (mavi ok: artmış damar yapıları) (HEx100) (HEx100)

4.4. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Explore

GRUP

Case Processing Summary							
		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	GRUP	N	Percent	N	Percent	N	Percent
YUZDE	Flap	10	100,0%	0	,0%	10	100,0%
	Delay	10	100,0%	0	,0%	10	100,0%
	VEGF	10	100,0%	0	,0%	10	100,0%

Descriptives				
	GRUP		Statistic	Std. Error
YUZDE	Flap	Mean	29,7000	1,4380
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	26,4471
			Upper Bound	32,9529
		5% Trimmed Mean	29,7778	
		Median	29,0000	

	Variance	20,678	
	Std. Deviation	4,5473	
	Minimum	21,00	
	Maximum	37,00	
	Range	16,00	
	Interquartile Range	7,0000	
	Skewness	-,226	,687
	Kurtosis	,444	1,334
Delay	Mean	41,3000	3,2457
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	33,9578
		Upper Bound	48,6422
	5% Trimmed Mean	41,3889	
	Median	39,5000	
	Variance	105,344	
	Std. Deviation	10,2637	
	Minimum	24,00	
	Maximum	57,00	
	Range	33,00	
	Interquartile Range	15,5000	

VEGF

Skewness		-,091	,687
Kurtosis		-,585	1,334
Mean		94,2000	1,4667
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	90,8822	
	Upper Bound	97,5178	
5% Trimmed Mean		94,2222	
Median		93,5000	
Variance		21,511	
Std. Deviation		4,6380	
Minimum		88,00	
Maximum		100,00	
Range		12,00	
Interquartile Range		10,2500	
Skewness		,175	,687
Kurtosis		-1,532	1,334

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	GRUP	N	Mean Rank
YUZDE	Flap	10	6,90
	Delay	10	14,10
	VEGF	10	25,50
	Total	30	

Test Statistics(a,b)	
	YUZDE
Chi-Square	22,735
df	2
Asymp. Sig.	,000
a Kruskal Wallis Test	
b Grouping Variable: GRUP	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	GRUP	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Flap	10	6,90	69,00
YUZDE	Delay	10	14,10	141,00
	Total	20		

Test Statistics(b)	
	YUZDE
Mann-Whitney U	14,000
Wilcoxon W	69,000
Z	-2,724
Asymp. Sig. (2-tailed)	,006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,005(a)
a Not corrected for ties	
b Grouping Variable: GRUP	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	GRUP	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Flap	10	5,50	55,00
YUZDE	VEGF	10	15,50	155,00
	Total	20		

Test Statistics(b)	
	YUZDE
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	55,000
Z	-3,790
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000(a)
a Not corrected for ties	
b Grouping Variable: GRUP	

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	GRUP	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Delay	10	5,50	55,00
YUZDE	VEGF	10	15,50	155,00
	Total	20		

Test Statistics(b)	
	YUZDE
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	55,000
Z	-3,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000(a)
a Not corrected for ties	
b Grouping Variable: GRUP	

5. TARTIŞMA

Geniş ve derin doku defektleri travma, tümör eksizyonu veya kongenital deformiteler sonucunda oluşmaktadır. Flep cerrahisinin amacı, bu doku defektlerini, defektin bulunduğu alanın form ve fonksiyonunu restore edecek şekilde onarmaktır. Geniş deri ve derialtı dokularının alınması ve bu dokuların donör alanın kan akımına bağımlı şekilde pedikülü ile birlikte yara veya doku defekti olan alana taşınması, pediküllü flep tekniğini oluşturur. Eğer yara veya doku defekti uzak bir alanda ise, aktarılacak doku kendisini besleyen kan damarı ile birlikte donör alandan ayrıldıktan sonra defekt alanındaki kan damarlarına anastomoz yapılmak suretiyle kan akımı sağlanırsa otojen doku transplantasyonu veya serbest flep cerrahisi gerçekleştirilmiş olur (34, 37).

Yumuşak doku defektlerinin örtülmesi altta yatan arter, tendon, kemik ve sinirler gibi önemli yapıların ekspoze olması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu amaçla deri flepleri kullanıldığında, yalnızca anında örtme sağlanmış olmaz; ayrıca daha sonradan yapılacak tendon ve sinir greftlemesi gibi işlemlerin yapılabilmesine olanak tanınmış olur. Ayrıca deri flepleri ile özellikli alanlara hassas dokuları taşımak mümkündür. Deri flepleri kontrakte olmazlar, büyümeleri normal şekilde gerçekleşir ve ekspande bile olabilirler. Bununla birlikte deri flep cerrahisi detaylı anatomi bilgisi ve derinin vasküler beslenme kaynaklarının bilinmesini gerektirir (38).

Pearl ve arkadaşları (39, 40), deriye olan kan akımının dört farklı tabakadan geldiğini bildirmişlerdir. Bu tabakalar; subdermal, subkutanöz, fasyal ve muskuler tabakalardır. 1973'de McGregor ve Morgan (41) random ve aksiyel flep terimlerini ilk olarak ortaya atmışlardır. Random flepler subdermal ve subkutanöz vasküler ağdan beslenmektedir. Aksiyel paternli fleplerin beslenmeleri bir damardan sağlanır. Aksiyel paternli flepler, içerdiği dokuya bağlı olarak kutanöz, fasyokutanöz veya muskulokutanöz olabilirler (42). Aksiyel kutanöz flepler, kökleri direkt olarak ana damara bağlı arterler ile beslenirler. Bu damarlar Salmon (15) tarafından direkt kutanöz arterler olarak isimlendirilmiştir. Direkt kutanöz arterler, genellikle venleri ile birlikte deriye paralel olarak subkutanöz dokuda seyrederek ve vücudun spesifik alanlarında sınırlandırılmışlardır. Bir deri flebine

bu damarlar dahil edilirse (örneğin; aksiyel paternli flepler), random paternli fleplerden daha geniş deri adalarının alınabilmesine olanak tanınmış olur (43).

Serbest doku transferleri son zamanlarda popüler olan rekonstrüktif seçenekler arasında yer almaktadır. Kimi durumlarda defekte komşu bölgelerde rekonstrüksiyonu sağlayacak lokal dokular skar veya travma nedeniyle uygun olmayabilir veya bu lokal dokuların defekte transfer edilmeleri kısıtlı rotasyon arkları nedeniyle güçlük arz edebilir. Lokal fleplerin pedikülü olabilecek major arterler zarar görmüş olduğunda, bu flepleri kullanmak mümkün olmayabilir. Bu durumda serbest flep seçeneği vardır. Ancak serbest flep cerrahisi gelişmiş ekipman, cerrahi tecrübe ve yüksek maliyet gerektirdiğinden her zaman uygun bir seçenek değildir. Ayrıca travmadan zarar görmüş alanda uygun alıcı damar bulunamayabilir. Bu durumda son zamanlarda popülerite kazanan ve klinikte geniş uygulama alanı bulan nörokutanöz flepler uygun rekonstrüksiyon seçeneği haline gelebilir.

Nörokutanöz flepler geniş rotasyon arkları sayesinde uzaktaki defektlere kolayca taşınabilirler. Ayrıca diseksiyonlarının kolay olması, gelişmiş ekipmana gerek duyulmaması, operasyon zamanının kısa olması genel durumu bozuk olan hastalarda yapılabilmesine olanak tanımaktadır. En büyük avantajı; major damarların sakrifikasyonuna gerek duyulmadığı için kullanılacağı ekstremitenin dolaşımını tehlikeye sokmamasıdır. Geniş travmalarda, bölgedeki major damarların hasar gördüğü durumlarda, uygun bir rekonstrüksiyon seçeneği haline gelmektedir.

Nörokutanöz flep konseptinin gelişmesine öncülük edecek olan ilk çalışma Quenu ve Lejars tarafından yapılmıştır: 1892'de Quenu ve Lejars (14), periferik sinirlerin kan akımların anatomisi hakkında detaylı bir çalışma yapmışlardır. Derinin vaskülaritesinin kısmen sinirlerin etrafındaki damarlara bağlı olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu damarlar, dolaşımın ana aksına katkıda bulunurlar ve deri ve subkutanöz doku ile kollateral anastomozları vardır. Yazarlar bu makalede, hiçbir kutanöz sinirin arteria nervorumuza olamayacağını bildirmişlerdir. Bu gözlemler 1936'da Salmon tarafından desteklenmiştir (15).

Deri ve sinirler arasındaki bu ilişkinin temeli embriyonik gelişim basamaklarında yatmaktadır. Embriyonik ekstremitte kökleri oluşur oluşmaz,

sinirler damarların büyümesine rehberlik ederler (44). Deri ve sinirler embriyonik gelişim içerisinde ektodermden köken alırlar. Bu gelişimin sonucu olarak vasküler kaynak açısından deri ve sinir arasında özel bir ilişki ortaya çıkmaktadır (44). Periferal sinirler uzunlukları boyunca, bol damarlanmaya sahiptirler. Bu damarlanma, sinirlerin kendi içerisindeki anastomozları ve tekrarlayan ayrımları boyunca devam eder. Böylece, hiç kesintisiz bir intranöral vasküler ağ oluşur (45). Diğer yandan, yakınındaki eşlik eden arterlerin oluşturduğu vasküler pleksus, ekstrensek veya paranöral vasküler sistem olarak bilinir (46, 47). Bu perinöral vasküler ağdan deriye doğru olan kan akımının tanımlanması nörokutanöz flep konseptinin gelişmesine neden olmuştur (48-50).

Nörokutanöz fleplerin vaskülarizasyonu, sinirin uzunluğu boyunca olan ve sinirin içerisinde bulunan arterioller tarafından olmaktadır. Venöz drenaj, derin venöz ağa dökülen ve artere eşlik eden venlerle sağlanmaktadır (16)

Nörokutanöz fleplerde pedikül genellikle derin fasyayı ve kutanöz veni içermektedir. Kutanöz venin venöz drenajda rol oynadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte kutanöz venin bizzat kendisinin, flep kan akımını güçlendiren bir vasküler sistem olduğu bilinmektedir (51-53). Bizim çalışmamızda kullanılan modelde (33), herhangi bir perivenöz arteriel desteği elimine etmek için kutanöz ven pediküle ilave edilmemiştir. Bu bilgi ışığında bizim kullandığımız modelin gerçek bir nörokutanöz flep olduğu söylenebilir. Venöz drenaj, muhtemelen pedikül boyunca uzanan ince venüller aracılığıyla olmaktadır. Bu deneysel nörokutanöz ada flebi modelinde (33) pedikülü; kutanöz sinir ve onun perinöral damarları ve süperfisiel fasya sribi oluşturmaktadır. Süperfisiel fasya ince nöral kan damarlarının deriye ulaşabilmesi için bir konnektif doku çatısı rolü oynamaktadır. Ratlar, normalde insanda olan subkutanöz yağ dokusunu içermezler. Gürünlüoğlu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (54) diseksiyonlar esnasında ratların süperfisiel fasyal sistem içerdiklerini gözlemlemişlerdir. Ratlardaki bu fasyal sistemin insanlarda subkutanöz vasküler pleksus (süperfisiel fasyal sistem) ile benzer role sahip olduğu düşünülmüştür (34). Nörokutanöz fleplerin yalnızca bu subkutanöz nörovasküler pedikül üzerinde kaldırıldığı başarılı klinik çalışmalar vardır (55). Gürünlüoğlu ve arkadaşlarının tanımladığı model (33) klinik verileri destekleyerek ve nöral vasküler ağ ve süperfisiel fasyal

sistem arasındaki ilişkiyi deneysel olarak göstermiştir. Bu durum, derin fasyayı içermeyen kaldırılan nörokutanöz fleplerin yaşayabilirlik mekanizmasını aydınlatmaya yardımcı olabilir.

Literatürde yer alan deney hayvanlarında tanımlanmış diğer nörokutanöz flep modelleri vardır:

Bir çalışmada ratlarda safen nörokutanöz ada flep modeli ve vasküler kaynağı araştırılmıştır (56). Bu çalışmada tanımlanan nörokutanöz flep modelinde pediküle safen ven dahil edilmiştir. Bu yüzden gerçek nörokutanöz flep modeli olarak değerlendirilemeyeceği için çalışmamızda model olarak tercih etmedik.

Başka bir çalışmada (57), tavşan kulağında sadece sensitif sinir pedikülü üzerinde kaldırılan kutanöz kartilaj flebi tanımlanmıştır. Bu modelde flep boyutunun küçük (2x2 cm) pedikülünün kısa (1 cm) olması gibi sınırlamaları olduğu bildirilmiştir.

Ratlarda lateral femoral kutanöz sinirin pedikül olarak kullanıldığı deneysel bir çalışmada tanımlanan flebin anatomik ve klinik uygulamaları rapor edilmiştir (58). Bu flebin, pedikülün dar olması ve bir pivot point sınırlandırmasının bulunmaması avantajları olarak bildirilmiştir.

Nörovasküler flep kavramına öncülük edecek bu anatomik çalışmalarını takiben klinikte nörovasküler fleplerin kullanımı gündeme gelmiştir (48). Masquelet ve arkadaşlarının yaptığı alt ekstremitede sensitif süperfisiyel sinirlerin vasküler ağı ile beslenen deri adası flepleri ile ilgili deneysel çalışmadan sonra nörokutanöz flepler, alt ve üst ekstremitenin yumuşak doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda geniş uygulama alanı bulmuş ve popülerize olmuştur.

Alt ekstremitede, özellikle diz bölgesi gibi rekonstrüksiyonu zor olan bir bölge için tanımlanmış olan flepler vardır. Ancak bu fleplerin deri adaları çok geniş ve doku kitleleri çok fazla olduğu için, iyi estetik sonuçlar alınmamaktadır. Bu bölgede özellikle küçük boyuttaki defektlerin rekonstrüksiyonu için kullanılacak nörokutanöz flepleri araştırmak amacı ile Masquelet ve arkadaşları bir anatomik ve klinik çalışma yapmıştır (48). Safen, sural ve süperfisiyel peroneal sinirin vaskülarizasyonları ve bu bölgelerdeki derinin beslenmesine olan katkılarını araştırmışlardır. Her bir sensitif sinirin, izledikleri yol boyunca, zengin vasküler ağa sahip olduğu ve üzerlerindeki deriye birçok dal

verdiği görülmüştür. Kutanöz dalların sinirin suprafasyal planda izlediği yolda olduğu gözlemlenmiştir. Safen sinir bacakta daima suprafasyal olarak seyretmektedir. Sural ve süperfisiel peroneal sinirlerin ise bir bölümde subfasyal olarak seyrettiği görülmüştür. Bir sensitif sinirin suprafasyal bölümünde subkutanöz dokunun diseksiyonu ile sinirin vasküler aksından kaynaklanan yüksek konsantrasyonda kutanöz dallar görülmektedir. Ayrıca, sinirin vasküler aksı, derin ana arterden gelen perforatörlerle anastomoz yapmaktadır. Bu anatomik çalışma ışığında Masquelet ve arkadaşları nörokutanöz ada flebi konseptine uygun olarak, klinikte uygulanma biçimini aşağıdaki şekilde bildirmişlerdir:

1. Deri adasının dizaynı, sinirin suprafasyal olduğu bölgede yapılmalıdır.
2. Flep derin fasyayı içermelidir.
3. Pedikül; sinir, perinöral vasküler ağ ve varsa süperfisiel veni içeren subkutanöz ve fasyal dokudan oluşmalıdır.
4. Süperfisiel ven, sinirin izlediği yol boyunca sinire rehberlik eder.
5. Teorik olarak flebi distal veya proksimal pediküllü olarak kaldırmak mümkündür. Çünkü derin damarlarla olan anastomozları mevcuttur. Sural sinirin peroneal arterle, safen sinir, posterior tibial arterle, süperfisiel peroneal sinirin ise anterior tibial arterle anastomozları mevcuttur.

Bu çalışmanın klinik kısmında anatomik bulguların rehberliğinde 6 adet nörokutanöz flep yapılmıştır. Flep boyutları 4x3 cm. ile 5x3 cm. arasında değişmektedir. Tüm flepler tamamen yaşamış ve komplikasyonla karşılaşmamıştır. Distal pediküllü flepler dahil venöz konjesyona rastlanmamıştır. Ağrılı nöroma oluşumu gözlenmemiştir. Derin fasyanın nörovasküler aksı korumak ve diseksiyonu kolaylaştırmak için pediküle dahil edilmesi gerektiği bildirilmiştir. Lateral kalkaneal flep nörokutanöz ada flebinin ilk tanımlandığı flep olarak kabul edilebilir (59-61)

Diğer taraftan başka çalışmacılar, flebe derin fasyanın ilave edilmesinin bazı avantajları olduğunu bildirmişlerdir. Bu avantajlar; suprafasyal pleksus boyunca flebin perfüzyonunun artırılması ve diseksiyonun daha kolay yapılmasıdır (62, 63).

Bununla birlikte Bertelli tarafından yayınlanan deneysel çalışmada bildirildiği üzere (16) nörokutanöz flep pedikülüne derin fasyanın ilave edilmesi, flebin canlılığı açısından gerekli değildir. Bizim deneysel flep modeli olarak kullandığımız modelin yapıldığı çalışmada ise alınan sonuçlarla bu konuda Bertelli ile aynı fikirde olduklarını belirtmişlerdir (33). Ancak Bertelli'nin bu çalışmada, ratlarda süperfisiel fasyal sistemin önemi üzerinde durmadığı, Gürünlüoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise (33), süperfisiel fasyal sistemin nörokutanöz flebin vaskülarizasyonu ile yakından ilişkili olduğuna inanıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, kutanöz sinir ve ona eşlik eden arterlerin (paranöral ve intranöral arterler) süperfisiel fasya aracılığı ile geldiği gözlenmiştir. Kutanöz perforatörler yoğun dermal vasküler pleksus oluştururlar ve üzerinde yatan deriyi beslemektedirler. Süperfisiel veni pediküle dahil etmek mümkün değilse, pedikülün içindeki venöz ağ sayesinde venöz drenaj sağlanacaktır.

Çalışmamızda kullanılan mikroanjiyografik yöntemle gözlemlenmiştir ki; pedikülden gelen vasküler ağ, süperfisiel fasya aracılığıyla deriye taşınmaktadır. Bir kısmı canlı olan flebi mikroangiografik çalışma için diseke ederken süperfisiel fasya, diseksiyon esnasında zarar görmüştü. Bu flepte yaptığımız mikroangiografik çalışmada vasküler ağın görüntülenemediği tespit edilmiştir. Bu sonuç literatürde bildirildiği üzere (33, 34), süperfisiel fasyal sistemin vasküler ağın deriye taşınmasında önemli rol oynadığı görüşünü desteklemektedir.

Nörokutanöz flepler, duyuşal flepler değildir. Sinirin neresinden sensitif dallarının çıktığı bilinmemektedir. Ana sorun süperfisiel sensitif sinirin sakrifiye edilmesidir (48)

Nörokutanöz flep konsepti ile, özellikli alanları kapatabilecek küçük fleplerin dizayn edilmesine olanak tanınmıştır. (48).

Alt ekstremitede nörokutanöz fleplerin kullanımını rapor eden pek çok çalışma bulunmaktadır:

Serkan Yıldırım ve arkadaşları (64), diabetik hastalarda ayağın distalinde oluşan yaraların rekonstrüksiyonunda nörokutanöz flepleri kullanmışlardır. Literatürde diabetik ayak yaralarının tedavisi için, peroneal arter flebi (65), anterior tibial arter flebi (66) ve posterior tibial arter flebi (67) bildirilmiştir. Bu prosedürlerde bacağın major arterleri sakrifiye edilmektedir. Ana damarların

kullanılmadığı fleplerde (68, 69), venöz akım sorunu ve rotasyon arklarının sınırlı oluşları dezavantaj oluşturmuştur. Masquelet ve arkadaşlarının (48) tanımladığı alt ekstremitte ve ayağın orta-geniş defekterinin rekonstrüksiyonunda kullanılabilecek, sural ve safen sinirlerin etrafındaki vasküler ağın kullanıldığı distal tabanlı nörokutanöz flepler yaygın kullanım alanı bulmuşlardır. Çünkü bu flepler, minimal morbidite ve maksimal rekonstrüktif kapasiteye sahiptir. Literatürde diabetik hastalarda bu fleplerin kullanılabileceğini destekleyen çalışmalar mevcuttur (70-74). Bu fleplerin avantajları; kolay ve hızlı diseksiyonları, kolay planlama, major arterlerin korunması, geniş rotasyon arkı, iyi yapısal uyum sağlaması ve debulking işlemini gerektirmemesidir. Bu flepler ağırlık taşıyan alanların rekonstrüksiyonunda da kullanılabilir. Ana dezavantajı ise, ayağın sensory sinirinin sakrifiye edilmesi ve donör alanda hissizlik olmasıdır. Diabetik hastalarda kronik yaralar nöropatiye sekonder olduğu için, diabetik nöropati sural tabanlı nörokutanöz fleplerin kullanımının bir diğer avantajıdır. Şöyle ki; sural sinirin sakrifikasyonu zaten azalmış olan ayak sensasyonuna ek yük getirmemektedir. Bu yüzden hastalar ayaklarında oluşacak hissizlikten şikayetçi olmamışlardır.

Serkan Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (76), kronik kalkaneal osteomyelit tedavisinde bu flepler tercih edilmiştir. Bu flepler göreceli olarak geniş boyutta kaldırılabilirler. Flebin bir kısmı deepitelize edilerek kemik kavitesinin doldurulmasında kullanılabilir. Ölü alanları doldurmak için genellikle kas flepleri kullanılsa da, bu çalışmada nörokutanöz fleplerin bu amaçla kullanılabileceği ve kemik infeksiyonlarını tedavi edecek yeterli vaskülariteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu seride kullanılan flep boyutları, 8x11 cm ve 13x11 cm olarak bildirilmiştir. Serkan Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmaya Günter German tarafından gönderilen tartışmada kendi serilerinde diabetik hastalarda sural flepleri başarıyla kullanamadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca 65 hastalık serilerinde fleplerin distal kısımlarında parsiyel nekroza rastlamışlardır. Günter German'ın serisinde parsiyel nekroz oluştuğunu bildirdikleri bu distal kısım, Serkan Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (76) deepitelize edilerek, ölü boşluğun doldurulmasında başarıyla kullanılmıştır. Kendi serilerinde vakaların %30 unda debulkinge gerek duymuşlardır. Sonuçta

nörokutanöz fleplerin ayak bileği çevresindeki defektlerin tedavisinde kullanışlı olduğu fikri desteklenirken, bu fleplerin hızlı, güvenli, kullanımının kolay ve komplikasyonsuz flep olduğu fikri Günter German tarafından paylaşılmamıştır. Kendi deneyimlerine göre vardıkları sonuç, sural arter flebinin morbiditenin yüksek olduğu hasta grubunda amputasyondan önce son seçenek olduğudur. Bu fleplerin, düşük riskli, genç ve posttravmatik hasta popülasyonunda güvenli ve kullanımının kolay olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, diabet, venöz yetmezlik ve arteriel oklüziv hastalık varlığında kullanımlarını önermemişlerdir.

Başka bir çalışmada (50), distal tabanlı sural nörokutanöz flep olan posterolateral malleolar flep topuktaki defektlerin rekonstrüksiyonunda başarıyla kullanılmıştır. Arteriel yetmezliği olan ve nabızları alınamayan bir hastada bile komplikasyonsuz olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada (50) 14 vakalık seri bildirilmiştir.

Pedro Cavadas tarafından yapılan çalışmada ters akımlı safen nörokutanöz ada flebi 5 vakada uygulanmıştır. Bu flebin avantajı olarak, achill tendonunu donör alan olarak riske atmadığı, hasta supin pozisyonda iken kaldırılabilirdiği ve safen sinirin sakrifiye edilmesinin sorun yaratmadığı bildirilmiştir (70).

İlk olarak Masquelet tarafından tanımlanan distal tabanlı sural arter flebi, Morimasa Hasegawa tarafından yapılan 21 vakalık bir seride kullanılmıştır (49). Hastalarda ayağın lateral kısmında hipoestezi bildirilmiştir. Flep boyutları 10x13 cm'dir. Bir hastada derin fasya flebe dahil edilmemiş ve distal tip nekrozuna rastlanmıştır.

Antonio Costa Ferreira ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada distal tabanlı sural arter flebi 36 vakada uygulanmıştır (77). Yapılan cerrahi prosedürün kısa ve diseksiyonun kolay olması medikal durumu bozuk hastalarda bu flebin kullanılmasını avantajlı hale getirmiştir. Geniş rotasyon arkı sayesinde ayak sırtı ve topuğun inferioruna uzanım gösterebildiği bildirilmiştir. Flep eni 4 cm den küçük ise, donör alan primer kapatılabildiği için ve major arterlerin sakrifikasyonu gerekmediğinden dolayı bu flebin, major arterlerin zarar gördüğü travmatik vakalar için uygun olduğu söylenmiştir. Bu çalışmadaki en geniş flep boyutları 9x12 cm olarak bildirilmiştir. Dezavantajları olarak sural sinir sakrifikasyonu ve donör alan skarı rapor edilmiştir.

Serkan Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada (78), nörofasyokutanöz flepler cross-leg olarak kullanılmıştır. Bu çalışmadaki vakalarda, lokal fasyokutanöz ve muskulokutanöz flepler önceki operasyonlara ait çok sayıda insizyon skarı nedeniyle kullanılamaz halde bulunmaktadır. Deri, kaslar ve subkutanöz doku, fibrotik niteliktedir. Serbest flep için uygun alıcı damar bulunamadığı bildirilmiştir. Bu durumda, karşı alt ekstremiteden yapılacak flepler gündeme gelmiştir. Klasik cross-leg flebinde alıcı sahanın vaskülarizasyon zamanı 2-3 haftayı bulmaktadır. Ancak bu çalışmada kullanılan nörofasyokutanöz cross-leg flebinde ise, flebin alıcı sahadan neovaskülarizasyonu daha hızlı olmuş ve 12-16. günde flep pedikülünden ayrılmıştır. Bu sayede ekstremitelerin immobilizasyonu ve kontraktür oluşumu gibi sorunlar minimize edilmiştir. Ayrıca, geniş rotasyon arki sayesinde hastaya daha rahat bir pozisyon verilebilmiştir.

Anatomik ve hayvan çalışmalarının ışığında, üst ekstremitte cerrahisinde sensoriel sınırların içinde ve etrafında seyreden damarlarla beslenen kutanöz flepler son zamanlarda bildirilmiştir (16, 79-82). Nörovasküler kutanöz ünite konsepti geliştikten sonra (16) bu flepler “nörokutanöz flepler” (80) olarak adlandırılmışlardır.

Berteli ve arkadaşları, 44 vakalık bir seride nörokutanöz fleple olan tecrübelerini bildirmişlerdir. Yaptıkları diseksiyonlarda, vasküler anastomozların kutanöz sinir seviyesinde olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu yüzden nörokutanöz flep diseksiyonunda, derin fasyayı flebe dahil etmenin deneysel (16) ve klinik açıdan bir faydası olmadığını kaydetmişlerdir. Bu yüzden nörokutanöz fleplerin, “fasyokutanöz flep” olarak adlandırılmaması ve sınıflandırılmaması gerektiğini bildirmişlerdir. Aslında, birçok fasyokutanöz flep, diseksiyonları esnasında kutanöz siniri de içerdikleri için “nörokutanöz flep” olarak adlandırılmıştır (48, 83). Bu çalışmada, derin fasyayı içermeksizin, önkolun posterior kutanöz sinirinin üzerindeki alandan güvenli deri fleplerinin kaldırılabileceği gösterilmiştir. Bu seride donör alan morbiditesi minimal olarak bildirilmiştir. Hastalardan hiçbirisi sensoriel kayıptan veya ağırlı nöromalardan şikayetçi olmamışlardır. Bunun nedeni, geride kalan sinirin denerve alanda yeni sinir uçları oluşturabilmesi olarak bildirilmiştir (84)

Nörokutanöz flepler venöz flep değildir. Çünkü arteriel ağ, anatomik çalışmalarda net bir şekilde gösterilmiştir. Bunun ötesinde, postoperatif flep davranışı arteriel flep şeklindedir. Bununla birlikte, daha önceden yapılan bazı çalışmalarda venöz flep olarak yanlış tanımlamalar yapılmıştır (51, 85-87). Gerçekte venöz duvarlar, nörokutanöz arterler tarafından vaskülarize olmuştur. (16,82) Çünkü, Shalaby ve Saad venlerin çevresindeki areolar dokuda bir veya daha fazla arteriolün olduğunu göstermişlerdir (51). Bertelli'nin yaptığı bir çalışmadaki diseksiyonlar bu sonuçları desteklemektedir (82).

Palmar bölgenin geniş defektlerinde nörokutanöz fleplerin kullanılabilceği kaydedilmiştir(38) Bu bölgede kutanöz fleplerin uygun olmadığı, kas fleplerinin ise duysal olmaması nedeniyle bu bölge defektleri için uygun olmadığı bildirilmiştir. Ulnar sinirin dorsal dalına bağı olarak kaldırılacak nörokutanöz flep, bu çalışmada 3 vakada palmar defektlerin rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır. Ayrıca bu flepte ulnar sinirin dorsal dalının bazı fasiküllerinin digital sinire anastomozu ile flebin duysal hale getirilebileceği bildirilmiştir(38) Bu çalışmada radial süperfisiel sinirin donör alan morbiditesinin fazlalığı ve nöromaya neden olduğu için nörokutanöz flep dizaynında kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir (38).

Bertelli tarafından yapılan 44 vakalık bu serideki tecrübelerine dayanarak, önkolda distal tabanlı flepler kaldırılacağı zaman, defekte mümkün olduğunca yakın olması önerilmiştir. Uzun subkutanöz pedikül ve uzun subkutanöz tünel kullanılmaması ve lateral önkol kutanöz sinirlerinin kullanılmasının daha güvenli olduğu bildirilmiştir (38).

Paranöral damarların boyutu, kutanöz sinirin boyutu ile orantılıdır. Bu durum nörokutanöz flep planlanırken gözönünde bulundurulmalıdır. Yalnızca, kas gövdeleri arasından çıktıklarında kutanöz sinirler iyi gelişmiş damarlarca takip edilirler ve bu durumda bu bölgelerden daha geniş fleplerin güvenli olarak kaldırılabilceği rapor edilmiştir (38).

Önkolun posterior kutanöz sinirinin serbest nörokutanöz flebi, lateral kol flebi ile karşılaştırıldığında bazı avantajları içermektedir. Bunlar; uzun vasküler ve sinir pedikülü olması, derisinin ince olması ve kutanöz sensory teritorisinin daha iyi tespit edilebilir olmasıdır(38). Serbest posterior önkol nörokutanöz flebi

genişletilmiş lateral kol flebi ile karıştırılabilmesine rağmen bu flepler tamamen farklıdır (88). Bertelli'nin yaptığı bu çalışmanın sonucunda, nörokutanöz fleplerin üst ekstremitenin deri defektlerinin onarımında uygun olduğu bildirilmiştir. (38). Flep boyutları 4x10 cm. olarak bildirilmiştir. Proksimal tabanlı fleplerin, elin dorsalinde distal tabanlı fleplerde olduğu gibi son derece güvenli olduğu, vakaların çoğunda donör sahanın primer kapatılabileceği, donör alan morbiditesinin minimal olduğu rapor edilmiştir. Zira hastalar sensory defisite ait şikayette bulunmamışlardır. Radial, unlar, posterior interosseöz damarlar gibi ana damarlar korunmuş olacaktır.

Bir çalışmada, alt ekstremitede elektik yanığına bağlı doku defekti olan 14 hastaya sural ve safen distal pediküllü nörofasyokutanöz flebi uygulanmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (89). Ayrıca bu çalışmada pediküle cerrahi delay işlemi uygulanarak klasik çalışmalarda olan flep genişliği 3.5 cm'den 5 cm'e çıkarılmıştır.

Bir çalışmada, uyluğun anteromedialinden hazırlanan lateral femoral sirkumfleks arterin kutanöz dalından distal pediküllü nörokutanöz flep kullanılmıştır (90).

Bertelli tarafından yapılan bir anatomik, deneysel ve klinik çalışmada, önkoldaki nörokutanöz flepler araştırılmıştır (16). Önkolda lateral ve medial kutanöz sinirler 20 taze insan kadavrasında değerlendirilmiştir. Ratta bu sinirlerin vaskülarizasyonları anatomik çalışma ile araştırılmış ve bu alanda nörokutanöz ada flepleri lateral önayak kutanöz siniri ve medial önayak kutanöz siniri tabanlı olarak kaldırılmıştır. İnsan ve hayvan sinirlerinin etrafında, istikrarlı bir arteriel longitudinal pleksus olduğu ve kutanöz perforan arterlerle bağlantılı olduğu görülmüştür. Tüm deneysel fleplerin tam olarak yaşadığı bildirilmiştir. Bu bilgilerin ışığında 3 hastada nörokutanöz ada flepleri kaldırılmıştır (16). Fleplerin maksimum boyutu 4x5 cm olarak bildirilmiştir. Hayvan deneyleri, bu fleplere derin fasyanın dahil edilmesinin gerekli olmadığını desteklemiştir. Ratlarda, insanlarda bulunan subkutanöz doku olmadığı için, pedikülde fasyanın yokluğu kaldırılan ada flebinin vaskülarizasyonun sadece küçük sinir damarlarından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır (16).

Berteli ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer anatomik ve klinik çalışmada, el sırtında retrograd akımlı olarak 5 adet nörokutanöz flep donör sahası olduğu bildirilmiştir (81). Bu alanlardan kaldırılacak flepler, interdigital web sahasında (flep rotasyon noktası) paranöral damarlar ve palmar digital arterler arasındaki seri anastomozlar ile retrograd olarak kanlanmaktadır. Rotasyon arkları geniş, proksimal ve orta falanksları kapatmak için kullanışlı flepler olduğu bildirilmiştir. İnterfalangeal eklem veya daha distalde olan, paranöral damarlar ve palmar digital damarlar arasındaki anastomozlar ile sağlanan retrograd akım, Flint'in 1955 yılında yaptığı çalışmada bildirilmiştir (91). Bu fleplerin rotasyon arki, 4-5 cm. pediküle sahiptir. Başparmağın tüm yüzeyini kaplamaya olanak tanır. Flep sinirinin bir kollateral palmar sinirle yapacağı cerrahi anastomoz ile duyuşal flepler ve radial sinirin dorsal lateral dalının paranöral arteriel damarları ile metakarpal kemikten kaldırılacak kemik fragmanın beslenmesi sağlanarak osteokutanöz flepler hazırlanabileceği rapor edilmiştir (81).

Bertelli ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada (82), önkolun distal 1/3 ünün rekonstrüksiyonu için ters akımlı nörokutanöz ada flebi dizayn edilmiştir. Önkoldaki kutanöz sinirlerin vaskülarizasyonu 15 taze kadavra çalışması ile değerlendirilmiştir. Kutanöz sinirlerin vaskülarizasyonlarının derinin vaskülarizasyonu ile yakından bağlantılı olduğu bulunmuştur. Önkolda kutanöz siniri takip eden vasküler ağ olduğu gözlemlenmiştir. Venöz drenaj, derin venöz ağa drene olan ve eşlik eden venlerle sağlanmaktadır. Retrograd akım, distal nörokutanöz perforatörlerle sağlanmaktadır. Bu kadavra çalışması sonrasında, 3 klinik vakada bu flep başarıyla kullanılmıştır. Flep boyutları en fazla 4x5 cm olarak tasarlanmış ancak 5.5x8.5 cm'e kadar kaldırılmıştır.

Isenberg tarafından bir vaka sunumu yapılmıştır (92). 9 yaşında başparmakta degloving yaralanması olan bir çocuğa parmak replantasyon yapılmış ancak başarılı olunamamıştır. Bunun üzerine, ters akımlı nörokutanöz radial arter ada flebi yapılarak başparmak rekonstrüksiyonu başarıyla tamamlanmıştır.

Distal deri iskemik nekrozu deri flep cerrahisinin en yaygın komplikasyonudur. Ancak patojenik mekanizması henüz tam net değildir. Bu konuda genel fikir birliği, önceden tahmin edilemeyen vazospazm, tromboz ve yetersiz vaskülaritenin patogeneizde rol oynayan ana faktörler olduğudur. Flep

iskemik nekrozunun etkili klinik tedavisi bulunmamaktadır (93). Nekrozun primer nedeni, yetersiz arteriel ve/veya venöz kan akımıdır. Özellikle flebin distal kısmı nekrozdan en çok etkilenen kısımdır. Fleplerdeki kan akımını kuvvetlendirmek amacıyla değişik cerrahi ve farmakolojik yöntemler kullanılmıştır (1-6). Yetersiz deri flep perfüzyon sorununu çözmek amacıyla yara iyileşmesinde faydalı olan polipeptid büyüme faktörlerinin etkilerinden ilham alarak yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir (94).

Tümör dokularında ve normal dokuda bulunan büyüme faktörlerinin invivo olarak direkt ve indirekt yollarla angiogenesisi stimüle ettikleri bulunmuştur. Bu büyüme faktörlerinden bazıları angiogenik ajanlar olarak bilinirler ve invivo ve invitro olarak yeni damarların büyümesini indüklerler (95). Bu faktörler başarıyla izole ve pürifiye edilmiştir. Bu faktörlerden en çok araştırılanı, beta-fibroblast growth faktördür (bFGF). Uhl ve arkadaşları subdermal bFGF injeksiyonu ile saçsız fare kulak modelinde flep nekrozunu önlemeyi başarmışlardır (96). Ishuguro ve arkadaşları ratlarda random deri flep modelinde subkutanöz bFGF ile flep canlılığının arttığını göstermişlerdir (97). HOM ve arkadaşları, tavşan kulağı ada flebinde topikal endothelial cell growth faktör kullanarak canlılığı artırmışlardır (98). Im ve arkadaşları, ratta random deri flebinde subdermal FGF injeksiyonu ile canlılığın arttığını göstermişlerdir (99). Khouri ve arkadaşları, iskemik rat flep modelinde flep altına FGF injeksiyonu ile canlılığın arttığını göstermişler ancak aşamalı flep transfer modelinde bu sonucu alamamışlardır (100). Hayward ve ark, ratlarda dorsal flep modelinde FGF nin lokal infiltrasyonu ile flep canlılığında artış olmadığını bildirmişlerdir (101). Büyüme faktörlerinden en önemlisi olan VEGF tanımlanmış en güçlü angiogenik faktördür. "Vasküler permeabilite faktör" veya "vaskülotropin" olarak da bilinen VEGF, heparine bağlanan bir glikoproteindir. 45 kDa homodimer olarak sekrete edilir (17, 18). Yapısal olarak PDGF ile benzerdir. VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plental büyüme faktörü (PIGF) olarak bilinir. VEGF-A en baskın proteindir. VEGF-A'nını birçok varyantı vardır. VEGF 165 hücre ve dokulardaki major isoformudur (20).

VEGF ilk olarak tümör hücrelerinden sekrete edilen, dolaşan makromoleküller için lokal damarlarda permeabiliteyi artıran bir protein olarak

tanımlanmıştır. Daha sonra, embriyoda angiogenesisteki rolü bildirilmiştir (21,22). Endotelial hücre permeabilitesini, büyümesini ve migrasyonunu artırmak, angiogenesisse engel olacak ekstracelüler matriksi sindiren proteaz üretimini yönetmek VEGF nin görevleridir (22).

VEGF yara iyileşmesinde rol oynayan önemli bir sitokindir (23). Endotelial hücre mitojenidir, reseptörleri sadece endotelial hücrelerde bulunur (24, 17). Önceki çalışmalarda VEGF'nin fizyolojik ve patolojik angiogenesisi regüle ettiği bildirilmiştir. Lokal endotelial hücre proliferasyonunu güçlendirmektedir. Endotelial hücrelere spesifik iki ana aktivitesi vardır. Bunlar; proteinlere ve diğer moleküllere karşı endotelial hücrelerin permeabilitesini artırmak ve monositlerin endotel tabakasına migrasyonunu stimüle etmektir. Hiperpermeabilite, fibrinojen ekstravazasyonuna ve fibrin matriks oluşumuna neden olur. Bu da fibroblast migrasyonunu indüklemektedir. Hiperpermeabilite ve endotelial proliferasyon birlikte güçlü angiogenik etkiyi yaratırlar. İnvivo olarak tümör hücrelerinden VEGF sentezlendiği ve angiogenesis ve tümör stroma formasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir (25). VEGF hormonal olarak regüle edilmektedir (32).

Rat ve tavşan kornealarında, koryoallantoik membranda ve tavşan kemik greft modelinde yapılan çalışmalar ile VEGF'nin angiogenesisi stimüle ettiği invivo olarak kanıtlanmıştır (12). VEGF, "tümör angiogenesis faktör" olarak invivo olarak tanımlanmıştır (13). Daha önce tanımlanan pek çok büyüme faktörünün aksine yüksek afinite gösterdiği reseptörler vasküler endotelial hücrelerde sınırlı olması, angiogenesiste önemli rolü olduğunu göstermektedir. Hücre yüzeyindeki reseptörleri aracılığıyla endotelial hücre migrasyonunu, proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu sağlayabilmek için kapiller filizlerin invaze olabilecekleri ekstracelüler matriksin oluşumunu sağlayacak enzimlerin üretimini stimüle etmektedir. VEGF'nin aksine pek çok bilinen angiogenik faktörün, vasküler endotelial hücreler üzerine direkt mitojenik etkisi bulunmamaktadır (102). VEGF endotel hücrelerinden NO sentaz stimülasyonu ile vazodilatasyona neden olmaktadır (26). Dokuda hipoksi veya endotel hasarı varsa, VEGF protein ekspresyonunda artış gözlemlenmektedir (27).

Myokardial iskemi, retinal hastalıklar, tümör büyümesi ve deri fleplerinde VEGF'nin indüklediği angiogenesis gösterilmiştir (10, 21, 22, 103,104,105).

İnfarktlı alana infiltrate olan mikrodamarlar çok yüksek düzeyde yüksek afiniteli VEGF reseptör mRNA'ları salgırlar. Reseptörlerin adları "flk-1" ve "flt-1" olarak tanımlanmıştır. Buna bağlı olarak, infarkt alanına yakın canlı myositlerde artmış VEGF ekspresyonu görülür (106).

VEGF proteinin yarı ömrü normal şartlarda 30-45 dakika iken, iskemik koşullarda bu biyolojik aktivite 6-8 saate kadar ulaşır (107).

Özellikle rat, tavşan ve domuzda derinin iskemiye tolerans zamanı 6-13 saat arasındadır (108,109). Bu süre insan derisi ile benzerdir (110). Ancak VEGF'nin angiogenezi kurması 24-72 saattir (111). Cerrahi anında veya 12 saat öncesinde VEGF 165 proteini veya gen tedavisi ile etki gerçekleşene kadar, flep cerrahisi esnasında kritik deri iskemi zamanı geçmiş olacaktır (10, 20,112, 113, 114, 115, 116). VEGF 165'in domuz deri flebinde potent vazodilatatör olduğu ve bu etkinin endotel kaynaklı gevşetici faktör nitrik oksit (NO) aracılığıyla olduğu görülmüştür (117). Bu vazodilatatör etki, deri flep canlılığını artırmak için verilen akut lokal VEGF 165 protein veya gen tedavisinde pivot noktayı oluşturmaktadır. C. Pang tarafından bildirilen bir çalışmada, VEGF enjekte edilen deri flebinde kan akımı, kontrol grubuna göre artmıştır. Ayrıca kontrol grubunda pedikülden 6 cm öteye kadar kan akımı varken, VEGF grubunda bu mesafe 9 cm'e çıkmış bu da distal iskemik nekrozun daha az gözleneceğinin göstergesi olarak kabul edilmiştir. Cerrahiden 45 dakika önce verilen NOS inhibitörü bu etkiyi %80 oranında bloke etmiştir. VEGF, deri flebinin canlılığını doz bağımlı olarak artırmıştır. En fazla artış 2 mikrogram VEGF verildiğinde görülmüştür. %28 oranında oluşan bu artış klinikte deri flep cerrahisinde çok önemlidir. Çünkü maksimum etki bu doz ile sağlanmıştır. Kan akımı post-operatif 6. saatte artarken, bu noktada kapiller yoğunlukta bir artış gözlenmemiştir. 9 saat sonra alınan biopsilerde kapiller yoğunluk aynı iken, 7 günde alınan biopsilerde tedavi grubunda kapiller yoğunluğun artmış olduğu görülmüştür. 9 ve 12 saat sonra tedavi grubunda derideki NO içeriğinde artış görülmüştür. VEGF aracılı NO üretimi NOS protein ekspresyonunu artışı ile birlikte NOS aktivitesinin artışı ile stimüle olmaktadır. Bu gözlem sonucunda; cerrahi sonrası erken dönemde VEGF'nin vazodilatatör etkisi ile cerrahi travma sonrası gelişen vasospazmı azaltmakta, sonraki dönemde, VEGF'nin angiogenik etkisi kapiller yoğunluğu artırmakta ve bunlara bağlı olarak

kan akımı ve canlılığı özellikle flebin distalinde olmak üzere artmaktadır. Diğer yandan, rat abdominal arteriel deri flebinin pannikulus karnosusu içine VEGF 165 injeksiyonunun flep canlılığını artırmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada VEGF dozu 1 mikrogram olarak kullanılmıştır. Bu doz kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, deri flep canlılığının %24 oranında artırmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmemiştir. Bu amaçla efektif doz 2 mikrogram olarak bildirilmiştir (118).

Takeshita ve arkadaşları, VEGF'nin tek intraarteriel injeksiyonu sonrasında tavşanın iskemik arka ayak modelinde revaskülarizasyonda önemli artış olduğunu göstermişlerdir (21). Anjiografik olarak kollateral damarları ve histolojik olarak kapiller yoğunluğun arttığını göstermişlerdir. Bu iskemik model, insandaki ciddi alt ekstremitte arteriel oklüzyonunda olan iskemiye taklit etmek amacıyla geliştirilmiştir.

Tavşan arka ayağında iskemi modelinde VEGF taşıyan adenovirüs vektörü verildikten sonra, angiogenesisinde artma görülmüş ancak geniş damarlarda büyüme görülmemiştir. Bu çalışmada kollateral kan akımında değişiklik olmamıştır. Bu durumda VEGF'nin periferik veya myokardial iskemi tedavisi için uygun olmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır (119).

Pu ve arkadaşları, (120) tavşan arka ayak iskemik modelinde intramusküler VEGF injeksiyonu sonrasında, VEGF'nin sadece iskemik ekstremitede revaskülarizasyon yaptığını ve normal tarafta etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Direkt intraarteriel injeksiyon VEGF konsantrasyonunu ve etkilenen tarafta lokal dolaşımdaki aktiviteyi optimize etmektedir.

Padubidri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, flebin yetersiz vasküler kan akımı ve azalmış doku oksijen basıncına sahip distal parçasındaki iskemi, gen ekspresyonuna ve angiogenik büyüme faktörlerinin transkripsiyonuna ve bununda sonuçta endotel hücrelerinde mitozise iskemik alanda eşzamanlı yeni damar oluşumuna neden olduğu düşünülmüştür (10). Flepte hipoksik hasar sırasında VEGF varlığı vasküler permeabiliteyi artırıp endotelial hücre proliferasyonunu indüklemektedir. Bu verilere dayanarak, flep kaldırılmadan önce hipoksik ortam oluşmayacağı için VEGF'nin de etkisini gösteremeyeceği düşünülebilir.

Bununla beraber, VEGF'nin yarı ömrü kısa olduğu için, VEGF'yi flep kaldırılmadan önceki günlerde vermek faydalı olmadığı bildirilmiştir.

İskemik hasar esnasında serbest radikallerin önemli mediatörler olduğu bilinmektedir. Selüler ve intraselüler membranların ve intraselüler proteinlerin peroksidasyonu sonucunda geriye dönüşümsüz hücre hasarı oluşmaktadır. Malonyldialdehyde (MDA) seviyesi serbest radikallerle ilişkisi olan lipoperoksidasyon indikatörüdür Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada random paternli deri flep modelinde iskemik hasarda endojen VEGF seviyesi ve endojen VEGF üretimi ile lipoperoksidasyon arasındaki ilişki araştırılmıştır (20).

MDA seviyeleri arasında 12 saat sonra flebin üç mesafesinde fark bulunmamaktadır 24 saat sonra distal kısımdaki MDA seviyesinde önemli oranda artış gözlenmiştir. Cerrahi süresince endojen VEGF seviyesinin normal dokuda düşük olduğu, 6 saat sonra hafifçe yükseldiği, 12 saat sonra ise flebin orta kısmında önemli oranda arttığı gözlenmiştir. Distal kısımda ise artmamıştır. 24 saat sonra distal kısımdaki seviye orta kısımdan önemli oranda düşük bulunmuştur Proksimalde ise yükselmediği ve düşük kaldığı saptanmıştır. Bu durum VEGF'nin orta dereceli iskemide arttığını, ciddi iskemide azaldığını göstermektedir. Bu çalışmada, dışarıdan VEGF verilen grupta flep canlı alanı %89 iken, kontrol grubunda %64 olarak tespit edilmiştir.

Kryger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (113), random paternli deri flebinin canlılığı üzerine VEGF'nin etkisi ve VEGF'yi değişik yollarla vererek bu yollardan hangisinin en etkili verilme yolu olduğu araştırılmıştır. Verilme yolları; tek doz 50 mikrogram intravenöz; 24 saat ara ile 3 doz intravenöz; tek doz 1 mikrogram 1cc. subdermal; tek doz 1 5 cc, 1 mikrogram subfasyal ve alıcı yatağa topikal uygulama olarak belirlenmiştir.

5 gün sonra yapılan değerlendirmede, yaşayan alan kontrol grubunda %66, tedavi gruplarında %78-91 arasında değiştiği görülmüştür. Bu değer, multipl injeksiyonlarda en yüksek, topikalde en düşük olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada en etkili yöntemin multipl yüksek konsantrasyon sistemik bolus olduğu görülmüştür. Topikal ve multipl sistemik verilme arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. Bu durumun, faktörün hızlı metabolik yıkımına bağlı

olabileceği düşünölmüştür. Subdermal yol ile multipl sistemik verilme arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Hipokside VEGF yarı ömrü 4 kata kadar uzar. Bu durum tek doz uygulamada alınan etkili sonucu açıklamaktadır. Daha önceki çalışmalarda alıcı sahanın flebin revaskülarizasyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (121). Bu sonuca bağlı topikal uygulamada da flep canlılığının artışını açıklanabilmektedir.

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (116) rat TRAM flep modelinde intraarteriel, intravenöz, ve subkutanöz yollarla verilen VEGF'nin TRAM flep canlılığına etkisi araştırılmıştır. İntravenöz ve intraarteriel yolla verilen VEGF ile alınan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Subkutanöz yolla alınan sonuç, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında flep viabilitesinin anlamlı oranda arttığı görölmüştür. Flep canlı alanı kontrol grubunda 6 cm iken, subkutanöz VEGF ile bu değer 17 cm'e çıktığı gözlenmiştir. Bu da VEGF'nin preoperatif angiogenesisi indükleyerek farmakolojik delay etkisi yaratarak flep canlılığını artırdığını göstermektedir. Bu sonuçlarla, en etkili uygulama şeklinin subkutanöz yol olduğu tespit edilmiştir.

Bu bilgilerin ışığı altında, çalışmamızda, subdermal yol tercih edilmiştir. Verilişinin kolay olması, ek bir kateterizasyon gerektirmemesi ve sistemik yüksek dozlarda hayvanda oluşabilecek yan etkilerin önlemesi amacıyla çalışmamızda subdermal yol kullanılmıştır.

Diğer bir çalışmada VEGF sistemik olarak tek doz bolus verilmiş ve kapiller yoğunlukta önemli artış olduğu gösterilmiştir (122). Başka bir çalışmada, VEGF osmotik pompa ile 28 günde kontrollü olarak verilmiş ve angiogenesisin ve vasküler perfüzyonun arttığı gösterilmiştir (123). Bunun yanında böyle güçlü bir faktörün sistemik kullanımının yan etkileri ilerideki çalışmalarda araştırılmalıdır.

VEGF taşıyan gen vektörününün direkt olarak hayvana verilmesi ile de neovaskülarizasyonda önemli artış olduğu görölmüştür (124).

VEGF'nin direkt olarak aksiyel paternli deri flebinde pediküle verilmesi etkili bulunmuştur (10). Tüm bu veriler, veriliş yoluna bakılmaksızın VEGF'nin güçlü bir angiogenik etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

VEGF proteininin yarı ömrü normal şartlarda 30-45 dakika iken, iskemik koşullarda bu biyolojik aktivite 6-8 saate kadar ulaşır (107). Birçok inflamatuvar

sitokinin iskemik hasar sonrası doku cevabını başlattığı, devam ettirdiği ve düzenlediği bilinmektedir. Bazı sitokinlerin (IL-1) ve büyüme faktörleri (TGF-beta, bFGF) angiogenesis süresince VEGF seviyesini artırıcı şekilde etkiledikleri görülmüştür (125). VEGF ayrıca, epidermal büyüme faktörü, konnektif doku büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörünün salınımını artırmaktadır (125). Dışarıdan VEGF verilmesi sonrasında bu faktörlerin regülasyonlarının araştırılması, VEGF'nin flep canlılığı üzerine olan etkisini anlamak için gerekli bilgileri verebilir.

TNF-alfa ve IL-1 proinflamatuvar sitokinlerdir. Bu sitokinler monosit-makrofaj hücreleri tarafından üretilirler ve bakterilere veya hasara karşı verilen host cevabının immün kaskadının başlatılması için zorunlu elemanlardır (125). TNF-alfa ve IL-1 in flep canlılığı üzerine olan etkileri henüz tam araştırılmamıştır (125). Y. Pang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, dorsal iskemik rat deri flep modelinde, dışarıdan verilen VEGF ile IL-1 seviyesi tedavi edilen veya edilmeyen grupta değişmemiş olmasına rağmen, TNF-alfa seviyesinin VEGF verilen grupta önemli derecede azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlarla, TNF-alfa inhibisyonunun VEGF aracılı iskemik flep canlılığını artırmada bir rol oynayabileceği düşünülmüştür. Aynı çalışmada ayrıca, büyüme faktörlerinin regülasyonu üzerine VEGF'nin etkisi araştırılmıştır. VEGF verilen ve verilmeyen grupta bu büyüme faktörlerinin mRNA'larına rastlanmamıştır. Buna dayanarak; VEGF'nin bu büyüme faktörlerinin regülasyonunu etkilemediği veya ilk 24 saatin, tedaviden sonra büyüme faktörlerinin üretimi için çok erken bir dönem olduğu bildirilmiştir (125). Bu büyüme faktörlerinin flep canlılığını artırdığı gösterilmiştir. Etkileri, fibroblast ve keratinosit proliferasyon ve migrasyonunu aktive ederek, ekstracelüler matriks ve kollojen oluşumunu sağlamak ve angiogenesisi indüklemektir (126,127).

NO endojen olarak nitrik oksit sentaz aracılığıyla L-Arjininden sentezlenen yüksek reaktif serbest radikaldir. Nitrik oksit, hem yıkıcı, hem de koruyucu etkiye sahiptir. NO fizyolojik şartlarda "constitutive nitrik oksit sentaz (cNOS)" vasıtasıyla sentezlenir. Reseptörleri aracılığıyla bazal vazodilatör ton sağlar (128). Ayrıca platelet agregasyon ve adezyonunu inhibe eder. "İnducible nitrik oksit sentaz (iNOS)" ile üretilen NO ise, makrofajların mikrobial patojen ve tümör

hücrelerini yıkıcı etkisine aracılık eder (128). Yi Pang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (125) VEGF'nin iNOS üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Y Pang'ın yaptığı çalışmada görülmüştür ki; VEGF ile tedavi edilen grupta iNOS ekspresyonu azalmıştır. Bu sayede NO'nin yıkıcı formunun oluşumu da azaltılmış olmaktadır. Bu durum daha önceki çalışmalarda iNOS inhibisyonu ile artan flep canlılığı şeklinde alınan sonuçları (129) desteklemektedir. Bu çalışmada alınan sonuç ile C. Pang'ın çalışması arasında ilk bakışta çelişki var gibi görünmektedir. Şöyle ki; C.Pang, VEGF'nin vazodilatatör etkisinin NO aracılı olduğunu ve NOS inhibitörü verildiğinde VEGF'nin vazodilatatör etkisininin inhibe olduğunu bildirmiştir. Ancak C. Pang'ın çalışmasında dikkat çektiği nokta; VEGF injeksiyonu sonrasında post-operatif 9 ve 24 saatlerde seviyelerinde artış tespit edilen NOS'm cNOS formu olduğudur. Bu sonuç, kültüre insan endotelial hücrelerinde VEGF 165 verilmesi ile 6 saatte başlayan ve 9 saatte artan cNOS gen ekspresyonu ile desteklenmektedir (93). VEGF ile iNOS seviyeleri arasında zaten bu tip bir ilişki tespit edilmemiştir. Bu yüzden VEGF erken dönemde VEGF reseptör-2 aracılığıyla fosfolipaz-C ve protein kinaz-C aktivasyonu ile inozitol 1, 4, 5-trifosfat aktivitesini artırmakta buna bağlı olarak hücre içi kalsiyum salınımı olmakta ve NO'nin sentez ve salınımı artmaktadır (93). Ayrıca kalsiyum, NO sentesi için NOS'ı aktive etmektedir (93).

Rat gracilis kas flep modelinde yapılan bir çalışmada, dışarıdan verilen VEGF'nin flep canlılığında önemli derecede artışa neden olduğu gösterilmiştir (130). Kontrol grubunda 12 flebin 5 tanesi canlı iken, VEGF verilen grupta 12 flebin 11 tanesi canlılığını korumuştur.

Yapılan bir diğer çalışmada, rat vertebra arteri prefabrike flep modelinde tek topikal uygulanan VEGF ile flep canlılığının arttığı gösterilmiştir (131). Kontrol grubunda 5. haftanın sonunda yaşayan flep alanı % 17.5 iken VEGF verilen grupta bu oran % 66.7'ye ulaşmıştır

VEGF ve NO substratı olan L- arjinin ile rat epigastrik flep modelinde yapılan bir çalışmada flep canlılığında artış tespit edilmiştir (132). Flep canlılığındaki artış, flep damarlanmasının ve/veya perfüzyonunun artmasına bağlanmıştır. Artmış kapiller yoğunluk, kollateral damar formasyonu ve vazodilatasyon deneysel çalışmalarda alınan sonuçlardır.

Lubiatowski adenovirüs aracılı VEGF gen transferi ile, rat epigastrik flebinde canlılığın arttığını göstermiştir (133).

Yapılan bir çalışmada (134) ratta tüp haline getirilmiş pediküllü flep modelinde, flebin alıcı sahasına subkutanöz VEGF enjeksiyonu sonrasında, pedikül normal süresinden daha erken ayrıldığında flep canlılığının arttığı görülmüştür. Pedikül 4. günde ayrıldığında 5. günün sonunda VEGF grubunda flep canlı alanı % 80.9 iken, kontrol grubunda bu oran % 27.9 olarak bildirilmiştir. VEGF'nin klinikte kullanılması kabul gördüğü zaman, dışarıdan verilen VEGF'nin, tüp flep matürasyonunu güçlendirerek pedikül ayrılmadan önce delay süresini kısaltabileceği fikrini düşündürmektedir. Böylece hastanın hospitalizasyon süresini kısaltmak ve erken mobilizasyona geçmek mümkün olabilecektir.

Flep canlılığını artırabilmek için, cerrahi delay işlemi uzun zamandır kullanılmaktadır. 16 yüzyılın başlarında bu teknik kullanılarak fleplerdeki nekrozların önlenebileceği fark edilmiştir (3,4,5). Son 50 yılda teknik ve anatomik bilgilerin gelişmesiyle birlikte cerrahi delay değerini kaybetmiş gibi görünse de, TRAM flep gibi önceden kestirilemeyen nekrozların görüldüğü fleplerde halen değerini korumaktadır. Delay fenomeninin etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu konuda değişik hipotezler bulunmaktadır. Bir görüşe göre, iskemide ortaya çıkan ve hasarlanmış damar ve sinirlerde vazokonstriksiyona neden olan hiperadrenerjik sürece neden olan ajanlar delay ile temizlenmektedir (136). Bir diğer görüş ise, arteriovenöz şantların açıldığına ilişkindir (137). En çok kabul gören görüş ise, yakın vasküler terörler arasındaki normal şartlarda kapalı olan bağlantı damarlarının (choke vessel) iskemi sonucunda açılmasıdır (138).

Delay fenomenindeki kritik faktörlerin aydınlatılması cerrahi işlem kullanılmaksızın bu faktörleri kullanarak aynı etkiyi yaratabilme olanağı verecektir. Bu durum "farmakolojik delay" olarak adlandırılmaktadır. Sitokinler, küçük proteinlerdir ve inflamasyon, skar oluşumu ve kan damarı oluşumu gibi olaylarda önemli rolleri vardır. IGF, FGF, PDGF, VEGF bu sitokinlerden en önemlileri ve en çok araştırma yapılanlarıdır. Lineaweaver tarafından yapılan bir çalışmada, cerrahi delay işleminde VEGF'nin rolü araştırılmıştır (139). Bu çalışmada, cerrahi delay yapılan fleplerde, IGF ve PDGF mRNA ekspresyonlarında artış tespit edilmemiştir. Ancak, FGF ve VEGF

ekspresyonlarında önemli derecede artış tespit edilmiştir. Bu bulgular göstermektedir ki, VEGF cerrahi delay fenomeninde önemli rol oynamaktadır. VEGF'deki artışın, cerrahi delay prosedürünün yarattığı parsiyel iskemi ile indükleniyor olabileceği düşünülmüştür. Delay fenomenindeki kan akımındaki artışın, angiogeneze bağlı olup olmadığı çelişkilidir.

Pang ve arkadaşları, domuz random flebinde cerrahi delay uygulandıktan 2-3 gün sonra yaptıkları çalışmada, arterlerin yoğunluğunda herhangi bir artışa (neovaskülarizasyona) rastlamamışlardır (140). Otörler bu bulguya dayanarak, delayin etkisinin angiogeneze bağlı olmadığını bildirmişlerdir. Nörohumoral maddelerin lokal salınımı sonrasında, vazodilatasyona bağlı olarak flep canlılığının arttığını savunan görüşler rapor edilmiştir (140).

Lineaweaver tarafından yapılan çalışmada ise, cerrahi delayin geç döneminde angiogenezde artış tespit edilmiş ve bu durum, VEGF ve FGF artışına bağlanmıştır. Vazodilatasyonun ise VEGF'nin endotel hücrelerinde NO sentezi uyarıcı etkisine bağlı olduğu rapor edilmiştir (139). Bu sonuçlara dayanarak, VEGF'nin delay fenomeninin önemli bir elementi ve farmakolojik delayin potansiyel ajanı olabileceği sonucu çıkarılmıştır.

Hisham Seify ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (141) TRAM flep üzerinde cerrahi delay ve VEGF'nin etkileri karşılaştırılmıştır. Cerrahi delay yapılan aynı zamanda intramuskuler VEGF verilen grupta (%96.6) flep canlı alanında kontrol grubuna (%50) ve sadece delay yapılan gruba (%83) göre daha fazla artış olduğu görülmüştür.

Akyürek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sural nöral ada flebi, delay yapıldıktan sonra alt ekstremitelere rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır. Tüm fleplerde tam yaşayabilirlik tespit edilmiştir (58).

Son zamanlarda rekonstrüktif alanda kullanılan flep seçenekleri arasında nörokutanöz flepler geniş kullanım alanı bulmuştur. Diseksiyonlarının kolay olması, uzun operasyon zamanı ve özel cerrahi deneyim ve ekipman gerektirmemesi, donör alan morbiditelerinin kabul edilebilir olması ve major arterlerin sakrifiye edilmesini gerektirmemesi bu fleplerin avantajlarıdır. Bu yüzden çalışmamızı nörokutanöz flepler üzerinde yaptık.

Deney hayvanı olarak, kolay elde edilebilir olması ve anatomilerinin insan anatomisi ile benzerlik göstermesi nedeniyle ratlar tercih edilmiştir.

Ratlarda tanımlanmış flep modelleri; (33, 56, 57, 58) arasından, Gürünlüoğlu ve arkadaşları tarafından bildirilen ratın uyluğunun anterolateralinde dizayn edilmiş nörokutanöz flep modelini tercih ettik. Çünkü; bu modelde flebin pedikülü; safen nörovasküler pedikülden ayrılarak uyluğun lateral derisini innerve eden kutanöz sinir, bu sinirin etrafındaki ve içerisindeki paranöral ve intranöral vasküler pleksus ve bu pleksusun deriye ulaşmasına aracılık eden süperfisiyel fasyal strubini içerdiği için gerçek bir nörokutanöz flep modelidir (33).

Çalışmamızda bu nörokutanöz flep modelinde tanımlanan optimal canlı alanının artırılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla, farmakolojik ve cerrahi yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerin etkinliği birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda farmakolojik yöntem olarak üzerinde en çok çalışma yapılan ve alınan sonuçların pek çok otorite tarafından desteklendiği bir popliteal büyüme faktörü olan VEGF kullanılmıştır. Nörokutanöz fleplerin yaşayabilir alanlarının VEGF'nin etkisi ile artabileceği hipotezi ile çalışmamız dizayn edilmiştir. Orijinal flep modelinde tanımlanan flep boyutları 1x2 cm olarak bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada bu flep boyutlarını 3x3 cm olarak belirlenmiştir.

Delay ve VEGF'nin çalışmamızdaki nörokutanöz flep modeli üzerine olan etkileri karşılaştırıldığında her ikisinin de flep canlılığını istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı görülmüştür. Flep canlı alan oranı; flep grubunda %29.7±1.43, delay grubunda % 41.3±3.24, VEGF grubunda % 94.2±1.46 olarak bulunmuştur. Bu bulgular literatürdeki VEGF'nin flep canlılığını artırdığı sonuçları destekler niteliktedir (10, 20, 116, 130, 131, 132, 134, 139, 141)

VEGF'nin yaşayabilir alanı cerrahi delay yönteminden daha etkili bir şekilde artırdığı görülmüştür. Bu sonuç VEGF'nin iki mekanizmalı etkisine atfedilebilir. VEGF hem erken dönemde vazodilatasyonla kan akımını artırmakta hem de, geç dönemde angiogenezisi indükleyerek flep canlılığını artırıcı etkisini göstermektedir (93). Ayrıca literatürde rat modelinde TRAM flep üzerinde yapılan ve delay ile VEGF'nin etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmada alınan sonucu desteklemektedir (141).

Histopatolojik değerlendirmede aldığımız sonuçlarda, VEGF verilen grupta ve delay grubunda, flep grubu ile karşılaştırıldığında damarlanmanın arttığı görülmüştür. VEGF grubunda görülen damar yapılarının delay grubundaki damar yapılarına göre, daha matür, lümenleri net olarak gözlenebilen, muskuler ve intimal tabakalarının daha intakt olduğu görülmüştür. Aldığımız bu sonuç literatürde bildirilen VEGF'nin angiogenesis üzerine olan kuvvetli etkisini desteklemektedir (25, 103-105, 106).

Mikroangiografik değerlendirmede damarlanmanın cerrahi delay yapılan grupta ve VEGF verilen grupta pedikülden başlayarak distale doğru gidildikçe arttığı, ancak bu artışın VEGF verilen grupta daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda bu etki mikroangiografi tekniği ile gösterilmediği için bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Sonuç olarak yaptığımız bu deneysel çalışmada, ratta dizayn edilen nörokutanöz flep modelinde, flep canlı alanının VEGF ile anlamlı olarak artırıldığı ve bu artışın cerrahi delayden daha üstün olduğu görülmüştür.

SONUÇ

Çalışmamızda, ratta tanımlanmış olan nörokutanöz flep modelinde VEGF kullanılarak nörokutanöz fleplerin yaşayabilir alanlarının artırılması amaçlanmıştır. VEGF'nin flep yaşayabilirliği üzerindeki etkisi, flep damarlanmasını artıran başka bir yöntem olan cerrahi delay fenomeni ile karşılaştırılmıştır.

Delay yapılan ve VEGF verilen grupta, flep grubuna göre flep yaşayabilir alanında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Bu artışın VEGF verilen grupta delay yapılan gruba göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular histopatolojik olarak ve mikroangiografik çalışmalar ile aldığımız sonuçlarla desteklenmiştir. Aldığımız sonuçlar literatür verilerini destekler niteliktedir.

Bu sayede, gelecekte VEGF'nin klinik uygulamaları başladığı zaman, yukarıda belirttiğimiz avantajları olan nörokutanöz flepler, daha geniş boyutlarda kaldırılabilir ve daha büyük doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda başarıyla kullanılabilir.

Daha sonraki çalışmalar, VEGF mekanizmasını aydınlatmaya ve dozaj ve optimal verilme yolunu bulmaya yönelik olmalıdır.

ÖZET

Son zamanlarda rekonstrüktif alanda kullanılan flep seçenekleri arasında nörokutanöz flepler geniş kullanım alanı bulmuştur. Diseksiyonlarının kolay olması, uzun operasyon zamanı ve özel cerrahi deneyim ve ekipman gerektirmemesi, donör alan morbiditelerinin kabul edilebilir olması ve major arterlerin sakrifiye edilmesini gerektirmemesi bu fleplerin avantajlarıdır.

Çalışmamızda, ratta tanımlanmış olan nörokutanöz flep modelinde VEGF kullanılarak nörokutanöz fleplerin yaşayabilir alanlarının artırılması amaçlanmıştır. VEGF'nin flep yaşayabilirliği üzerindeki etkisi, flep damarlanmasını artıran başka bir yöntem olan cerrahi delay fenomeni ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamız, ağırlıkları 200-260 gr. (ortalama 230 gr.) arasında değişen 44 adet dişi Wistar cinsi rat üzerinde yapılmıştır. 4 rat gelişen komplikasyonlar nedeniyle çalışma dışı bırakılarak her grupta 10 rat olacak şekilde 4 grup belirlenmiştir: Grup I: Nörokutanöz ada flebi; Grup II: Cerrahi delay-Nörokutanöz ada flebi; Grup III: VEGF-Nörokutanöz ada flebi; Grup IV: Greft.

I. grupta ratta uyluğun anterolateralinin derisini innerve eden kutanöz sinir ve fasya içeren pedikül üzerinde nörokutanöz flep kaldırılmıştır. II. grupta flebe cerrahi delay yapıldıktan sonra bir hafta beklenmiştir. Bu sürenin sonunda nörokutanöz flep kaldırılmıştır. III. gruba nörokutanöz flebin kaldırılmasını takiben 2mikrogram/ml dozunda 1 cc. VEGF165 solüsyonu subdermal olarak verilmiştir. IV. grupta flebin pedikülü tamamen kesilerek deri adası greft haline getirilmiştir. Eleve edilen tüm flepler orijinal yatağına sütüre edilmiştir. Orijinal flep modelinde tanımlanan flep boyutları 1x2 cm olarak bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada bu flebin boyutları 3x3 cm olarak dizayn edilmiştir.

5 günün sonunda fleplerin yaşayabilir alanlarının fotoğrafları çekildikten sonra bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Bir bilgisayar programı (Image Pro Express 4.0)yardımıyla yaşayabilir alanlar % olarak hesaplanmıştır. Histopatolojik değerlendirme için fleplerin canlı ve nekroze alanlarından ve pedikül

bölgelerinden biopsiler alınmıştır. Flebin vaskülarizasyonunu değerlendirmek için mikroangiografik çalışma yapılmıştır.

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 10.0 (Statistical Package for Social Sciences) yazılımı kullanıldı. Tüm grupların yaşayabilir alan/total flep alanı oranlarının karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farkı analiz etmek için ikili olarak Mann-Whitney-U testi kullanıldı ve alınan sonuçlarda Bonferroni düzeltmesi yapıldı. P değeri <0.05 olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Flep canlı alan oranı; flep grubunda %29.7±1.43, delay grubunda %41.3±3.24, VEGF grubunda %94.2±1.46 olarak bulunmuştur. Delay ve VEGF'nin çalışmamızdaki nörokutanöz flep modeli üzerine olan etkileri karşılaştırıldığında her ikisinin de flep canlılığını istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı görülmüştür. VEGF'nin yaşayabilir alanı cerrahi delay yönteminden daha etkili bir şekilde artırdığı görülmüştür.

Histopatolojik değerlendirmede aldığımız sonuçlarda, VEGF verilen grupta ve delay grubunda, flep grubu ile karşılaştırıldığında damarlanmanın arttığı görülmüştür. VEGF verilen grupta daha fazla damarlanma görülmüştür. Oluşan damarların delay yapılan gruptaki damar yapılarına göre daha intakt ve daha matür yapıda oldukları izlenmiştir.

Mikroangiografik değerlendirmede damarlanmanın cerrahi delay yapılan grupta ve VEGF verilen grupta pedikülden başlayarak distale doğru gidildikçe arttığı, ancak bu artışın VEGF verilen grupta daha belirgin olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak yaptığımız bu deneysel çalışmada, ratta dizayn edilen nörokutanöz flep modelinde, flep canlı alanının VEGF ile anlamlı olarak artırıldığı ve bu artışın cerrahi delayden daha üstün olduğu görülmüştür. Bu durum ileride, pek çok avantajı olan nörokutanöz fleplerin daha geniş boyutta ve daha güvenilir olarak elde edilebilmelerine imkan tanıyacaktır.

KAYNAKLAR

- 1) Angel MF, Ramasastry SS. Augmentation of skin flap survival with allopurinol. *Ann Plast Surg* 1987; 18: 494-497
- 2) Green CJ, Dhimi L. The effect of desferrioxamine on lipid peroxidation and survival of ischemic island skin flaps in rats. *Br J Plast Surg* 1989; 42: 565-569
- 3) Nichter LS, Sobieski MW. Augmentation of critical skin flap survival following ibuprofen therapy 1986; 16: 305-311
- 4) Rohrich RJ, Cherry GW. Enhancement of skin flap survival using nitroglycerin ointment *Plast Reconstr Surg* 1984; 73(6): 943-947
- 5) Manson PN, Narayan KK. Improved survival in free skin flap transfers in rats. *Surgery* 1986; 99(2): 211-214
- 6) Grossman JAI, McGonagle RN. The effect of hyaluronidase and dimethyl sulfoxide (DMSO) on experimental skin flap survival. *Ann Plast Surg* 1983; 11: 222-226
- 7) Haughey BH, Panje WR. Extension of the musculocutaneous flap by surgical delay. *Arch Otolaryngol.* 1985; 111: 234-240
- 8) Taylor GI, Corlet RJ. An anatomical review of the delay phenomenon, II: clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 408-416
- 9) Attinger CE, Picken CA. Minimizing pectoralis myocutaneous flap loss with the delay principle. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 114: 148-157
- 10) Padubidri A, Browne E. Effect of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) on survival of random extension of axial pattern skin flaps in the rat. *Ann Plast Surg* 1996; 37: 605-611
- 11) Keck PJ, Huser SD. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 1989; 246: 1309-1312
- 12) Connolly DI, Heuvelman DM. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest* 1989; 84: 1470-1478

- 13) Plate KH, Brier g, Weich HA. Vascular endothelial growth factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature* 1992; 359: 845-848
- 14) Quenu J, Lejars F. Etude sur les vaisseaux sanguins des nerfs. *Arch Neurol* 1892; XXIII: 1-33
- 15) Salmon M. Les arteres de la peau. Paris: Masson, 1936: 1-122
- 16) Bertelli JA. Neurocutaneous axial island flaps in the forearm: anatomical, experimental and preliminary clinical results. *Br J Plast Surg* 1993; 46: 489-496
- 17) Houck KA, Leung DW, Rowland AM. Dual regulation of vascular endothelial growth factor bioavailability by genetic and proteolytic mechanisms. *J Biol Chem* 1992; 267: 26031-7
- 18) Park JE, Keller GA. The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of extracellular matrix-bound VEGF. *Mol Biol Cell* 1993; 4: 1317-26
- 19) Tischer E, Mitchell R, Hartmann I. The Human gene for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1991; 266: 11947-11954
- 20) Zhang F, Oswald T, Lin S, Cai Z. 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; 56: 653-659
- 21) Takeshita S, Zheng LP. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994; 93: 662
- 22) Ferrara N, Davis-Smyth I. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4
- 23) Brown LF, Yeo KI, Berse B. Expression of vascular permeability factor (VEGF) by epidermal keratinocytes during wound healing. *J Exp Med* 1992; 176: 1375-1379
- 24) Jakeman LB, Winer J, Bennet GL. Binding sites for vascular endothelial growth factor are localised on endothelial cells in adult rat tissues. *J Clin Invest* 1992; 89: 244-253

- 25) Dvorak HF, Sioussat TM, Brown LF. Distribution of vascular permeability factor (VEGF) in tumors: concentration in tumor blood vessels. *J Exp Med* 1991; 174:1275-1278
- 26) Yang R, Thomas GR, Bunting S. Effects of vascular endothelial growth factor on hemodynamics and cardiac performance. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 838-844
- 27) Zachary I. Vascular endothelial growth factor. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 1169-74
- 28) Banai S, Shweiki D. Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischemia: implications for coronary angiogenesis. *Cardiovasc RES* 1994; 28: 1176-9
- 29) Cobbs CS, Chen J, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor in transient focal cerebral ischemia in the rat. *Neurosci Lett* 1998; 249:79-82
- 30) Chritou h, Yoshida A. Increased vascular endothelial growth factor production in the lungs of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Moll Biol* 1998; 18: 768-76
- 31) Baumgartner I, Pieczek A, Manor O. Constitutive expression of ph VEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patient with critical limb ischemia. *Circulation* 1998; 97: 1114-23
- 32) Shweiki D, Itin A, Neufeld G. Patterns of expression vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. *J Clin Invest* 1993; 91: 2235-2243
- 33) Gürünlüoğlu R, Bayramiçli M, Sönmez A, Numanoğlu A. A neurocutaneous Island flap model: An experimental study in rats. *Ann Plast Surg* 2000; 44: 53-58
- 34) Daniel RK and Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: *Plastic Surgery*, edited by Mc Carty JG. Philadelphia, PA: Saunders, 1990; 1: 225-378
- 35) Forrest CR, Pang CY, Lindsay WK. Dose and time effects of nicotine treatment on the capillar blood flow and viability of random pattern skin flaps in the rat. *Br J Plast Surg* 1987; 40: 295-299

- 36) Forrest CR, Pang CY, Lindsay WK. Pathogenesis of ischemic necrosis in random pattern skin flaps induced by long-term low-dose nicotine treatment in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1991; 87: 518-527
- 37) Grab WC. Techniques in plastic surgery. In: *Plastic Surgery*, edited by Grabb WC and Smith JW Boston, MA:Brown and Little, 1986; 3-74
- 38) Berteli JA. Neurocutaneous Island flaps in upper limb coverage: Experience with 44 clinical cases *J Hand Surg* 1997; 22A: 516-526
- 39) Pearl RM, Johnson D. The vascular supply to the skin: anatomical and physiological reappraisal. Part I. *Ann Plast Surg* 1983; 11:99-105
- 40) Pearl RM, Johnson D. The vascular supply to the skin: anatomical and physiological reappraisal. Part II. *Ann Plast Surg* 1983; 11: 196-205
- 41) Mc Gregor IA, Morgan G. Axial and random pattern flaps. *Br J Plast Surg* 1973; 26: 202-213
- 42) Lister GD. Skin flaps. In: Gren DP, ed. *Operative hand surgery*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1993: 1741-1822
- 43) Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. London: Churchill Livingstone, 1986: 91-112
- 44) Keith A. *Human Embryology and Morphology*, 6th ed. London, 1949
- 45) Sunderland S. Blood supply of the nerves of the upper limb in man. *Arc Neurol Psychiatry* 1945; 53: 91-115
- 46) Taylor GI. Nerve grafting with simultaneous microvascular reconstruction *Clin Orthop* 1978; 133: 56-60
- 47) Breidenbach W, Terzis JK. The anatomy of free vascularized nerve grafts *Clin Plast Surg* 1984; 11(1): 65-71
- 48) Masquelet AC, Romana MC, Wolf G. Skin island flaps supplied by the vascular axis of the sensitive nerves: anatomic study and clinical experience in the leg. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 1115-1121
- 49) Hasegawa M, Torii S, Katoh H. The distally based superficial sural artery flap. *Plast Reconstr Surg* 1994; 93: 1012-1020
- 50) Oberlin C, Azoulay B, Bhatia A. The posterolateral malleolar flap of the ankle: a distally based sural neurocutaneous flap-report of 14 cases. *Plast Reconstr Surg* 1995; 96: 400-405

- 51) Shalaby HA, Saad MA. The venous island flap: is it purely venous? *Br J Plast Surg* 1993; 46: 285-287
- 52) Thatte RL, Thatte MR. The saphenous flap. *Br J Plast Surg* 1989; 42(4): 399-404
- 53) Nakajima H, Imanishi N, Fukuzumi S. Accompanying arteries of the cutaneous veins and cutaneous nerves in the extremities: anatomical study and a concept of the venoadipofascial and/or neuroadipofascial pedicled fasciocutaneous flap. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 779-791
- 54) Gürünlüoğlu R, Bayramiçli M, Doğan I. Use of fascial grafts as an interface in flap prefabrication: an experimental study. *Ann Plast Surg* 1999; 43(1): 42-48
- 55) Berteli JA, Kaleli T. Retrograde-flow neurocutaneous island flaps in the forearm: anatomic basis and clinical results. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95(5): 851-859
- 56) Doğan I, Zhang F. Saphenous neurocutaneous island flap model in the rat: evaluation of vascular supply. *Ann Plast Surg* 1999; 43: 416-420
- 57) Salgarello M, Selvaggi G. Neurocutaneous island flap : an experimental model using the rabbit ear. *Ann Plast Surg* 2004; 53(2): 146-149
- 58) Akyürek M, Şafak T, Sönmez E, Özkan Ö. A new flap design: neural island flap. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114(6): 1467-1477
- 59) Grabb WC, Argenta LC. The lateral calcaneal artery skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1981; 68: 723-726
- 60) Yanai A, Park S, Iwao T. Reconstruction of a skin defect of the posterior heel by a lateral calcaneal flap. *Plast Reconstr Surg* 1985; 75: 642-645
- 61) Gang RK. Reconstruction of a soft tissue defect of the posterior heel with lateral calcaneal artery island flap. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79: 415-419
- 62) Pontén B. The fasciocutaneous flap: its use in soft tissue defects of the lower leg. *Br J Plast Surg* 1981; 34: 215-220
- 63) Cormack GC, Lamberty BGH. A classification of fasciocutaneous flaps according to their patterns of vascularization. *Br J Plast Surg* 1984; 37: 80-87

- 64) Yıldırım S, Akan M, Aköz T. Soft-tissue reconstruction of the foot with distally based neurocutaneous flaps in diabetic patients *Ann Plast Surg* 2002; 48: 258-264
- 65) Torri S, Namiki Y. Reverse flow island flap: clinical report and venous drainage. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79: 600-609
- 66) Satoh K, Yoshikawa A. Reverse flow anterior tibial tibial flap type III. *Br J Plast Surg* 1988; 41: 624-627
- 67) Liu K, Zhutian L. The reverse flow posterior tibial tibial island flap. Anatomic study and 72 clinical cases. *Plast Reconstr Surg* 1990; 86: 312-316
- 68) Donski PK, Fogdestam I. Distally based fasciocutaneous flap from the sural region. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1983; 17: 191-196
- 69) Carraquiry CE. Heel coverage with a deepithelialized distally based fasciocutaneous flap. *Plast Reconstr Surg* 1990; 85: 116-119
- 70) Cavadas PC. Reversed saphenous neurocutaneous island flap: clinical experience. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99: 1940-1946
- 71) Jeng SF, Wei FC. Salvage of the distal foot using the distally based sural island flap. *Ann Plast Surg* 1999; 43: 499-505
- 72) Coşkunfirat OK, Velidedeoğlu HV, Şahin Ü. Reverse neurofasciocutaneous flaps for soft-tissue coverage of the lower leg. *Ann Plast Surg* 1999; 43: 14-20
- 73) Huisinga RL. The distally based sural artery flap. *Ann Plast Surg* 1998; 41: 58-65
- 74) Fraccalvieri M. The distally based superficial sural flap: our experience in reconstructing the lower leg and foot. *Ann Plast Surg* 2000; 45: 132-139
- 75) Rajajic N. The distally based superficial sural flap for reconstruction of the lower leg and foot. *Br J Plast Surg* 1996; 49: 383-389
- 76) Yıldırım S, Gideroğlu K, Aköz T. The simple and effective choice for treatment of chronic calcaneal osteomyelitis: neurocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111: 753-762

- 77) Ferreira AC, Reis J, Pinho C. The distally based island superficial sural arter flap: clinical experience with 36 flaps *Ann Plast Surg* 2001; 46: 308-313
- 78) Yıldırım S, Akan M, Gideroğlu K, Aköz I. Use of distally based saphenous neurofasciocutaneous and musculofasciocutaneous cross-leg flaps in limb salvage *Ann Plast Surg* 2001; 47: 568-574
- 79) Berteli JA, Khoury Z. Vascularization of lateral and medial cutaneous nerves of the forearm: anatomic basis of neurocutaneous island flap on the elbow. *Surg Radiol Anat* 1991; 13: 345-346
- 80) Berteli JA, Khoury Z. Radial and ulnar nerve vascularization in the hand: anatomical basis of neurocutaneous flap. *Surg Radiol Anat* 1992; 14: 87-88
- 81) Berteli JA, Khoury Z. Neurocutaneous island flaps in the hand: anatomical basis and preliminary results *Br J Plast Surg* 1992; 45: 586-590
- 82) Berteli JA, Kaleli I. Retrograde flow neurocutaneous island flaps in the forearm: anatomical basis and clinical results *Plast Reconstr Surg* 1995; 95,5: 851-859
- 83) Taylor GI. The neurovascular territories of the skin and muscles: anatomic study and clinical implications. *Plast Reconstr Surg* 1994; 94: 1-36
- 84) Livingston WK. Evidence of active invasion of denervated areas by sensory fibers from neighboring nerves in man *J Neurosurg* 1947; 4: 140-146
- 85) Suzuki Y, Isshiki N. Viability and quantitative dermofluorometry of experimental arterialized and non-arterialized venous flaps. *Br J Plast Surg* 1993; 46: 273-277
- 86) Smith RJ, Fukua K. Role of perivenous tissue and recipient bed in the viability of venous flaps in the rabbit ear flap *Br J Plast Surg* 1994; 47: 10-14
- 87) Berteli JA. Neurocutaneous flap *Br J Plast Surg* 1994; 47: 143-144
- 88) Arnez Z, Tyler M. The radial forearm-lateral arm mega free flap. *Br J Plast Surg* 1995; 48: 27-29

- 89) Yıldırım S, Akan M, Gideroğlu K, Aköz T. Distally-base neurofasciocutaneous flaps in electrical burns *Burns* 2002; 28(4): 379-385
- 90) Malikov S, Valenti P. Le lambeau neurocutané de la face antéro-interne de cuisse a pédicule distal *Chir Plast Esth* 1999; 44: 531-540
- 91) Flin MH. Some observations on the vascular supply of the nail and terminal segment of the finger *Br J Plast Surg* 1955; 8: 186
- 92) Isenberg JS. Reverse neurocutaneous radial arter island flap salvage of a rodeo thumb degloving injury in a nine-year-old *J Reconstr Microsurg* 1999; 15: 573-576
- 93) Khan A, Pang CY. Acute local subcutaneous VEGF 165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and mechanism *Am J Physiol* 2004; 287: 1219-1229
- 94) Schott RJ, Morrow LA. Growth factor and angiogenesis *Cardiovasc res* 1993; 11: 222-226
- 95) Folkman J, Klagsburn M. Angiogenetic factors *Science* 1987; 235: 442-447
- 96) Uhl E, Barker JH, Bondar I. Improvement of skin flap perfusion by subdermal injection of recombinant human basic fibroblast growth factor. *Ann Plast Surg* 1994; 32: 361-366
- 97) Ishiguro N, Yabe Y. Basic fibroblast growth factor has a beneficial effect on the viability of random skin flaps in rats *Ann Plast Surg* 1994; 32: 356-360
- 98) Hom DB, Baker SR. Utilizing angiogenetic agents to expedite the neovascularization process in skin flaps. *Laryngoscope* 1998; 98: 525-526
- 99) Im MJ, Kim YS, Edwards RJ. The effect of bovine basic fibroblast growth factor on skin flap survival in rats. *Ann Plast Surg* 1992; 28: 242-245
- 100) Khouri RK, Brown DM. The effect of basic fibroblast growth factor on the neovascularization process: skin flap survival and staged flap transfers *Br J Plast Surg* 1991; 44: 585-588
- 101) Hayward PG, Alison WE. Local infiltration of an angiogenetic growth factor doesn't stimulate the delay phenomenon *Br J Plast Surg* 1991; 44: 526-529

- 102) Leung DW, Cachianes G. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306-1309
- 103) Takeshita S, Pu I. Intramuscular administration of vascular endothelial growth factor induces dose-dependent collateral artery augmentation in a rabbit model of chronic limb ischemia. *Circulation* 1994; 90: 228-234
- 104) Taub PJ, Marmur JD. Locally administered vascular endothelial growth factor cDNA increases survival of ischemic experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 2033-38
- 105) Lantieri LA. Vascular endothelial growth factor expression on expanded tissue: A possible mechanism of angiogenesis in tissue expansion. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101: 392-397
- 106) Li J, Brown LF. VEGF, flk-1 and flt-1 expression in a rat myocardial infarction model of angiogenesis. *Am J Physiol* 1996; 270: H1803-11
- 107) Shima DT, Deutch U. Hypoxic induction of VEGF in human epithelial cells is mediated by increases in mRNA stability. *FEBS Lett* 1995; 370: 203-207
- 108) Angel MF, Ramasastry SS. The critical relationship between free radicals and degrees of ischemia: evidence for tissue intolerance of marginal perfusion. *Plast Reconstr Surg* 1988; 81: 233-239
- 109) Kerrigan CL, Daniel RK. Critical ischemic time and the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1982; 69: 986-989
- 110) May JW, Gallico GG. Upper extremity replantation. *Curr Probl Surg* 1980; 17: 633-717
- 111) Petterson A, Nagy JA. Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular growth factor. *Lab Invest* 1997; 80: 99-115
- 112) Gürünlüoğlu R, Özer K, Skugor B. Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene. *Ann Plast Surg* 2002; 49: 161-169
- 113) Kryger Z, Zhang F. The effect of VEGF on survival of random flap in the rat: examination of various routes of administration. *Br J Plast Surg* 2000; 53: 234-239

- 114) O'Toole G, Mac Kenzie D. VEGF gene therapy in ischemic rat skin flaps
Br J Plast Surg 2002;55: 55-58
- 115) Pu LLQ, Ahmed S. Endothelial cell growth factor enhances
musculocutaneous flap survival through the process of neovascularization
Ann Plast Surg 1999; 42: 306-312
- 116) Zhang F, Fisher K, Komorowoska-Timek E. Improvement of skin paddle
survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat
TRAM flap model Ann Plast Surg 2001; 46: 314-319
- 117) Ashrafpour H, Pang CY. Vasodilator effect and mechanism of action of
vascular endothelial growth factor in skin vasculature Am J Physiol Heart
Circ Physiol 2004; 286: H946-H955
- 118) Connolly DT, Heuvelman DM. Tumor vascular permeability factor, an
endothelial cell growth and angiogenesis J Clin Invest 1989; 359: 1470-
1478
- 119) Hershey JC, Baskin EP, Corcoran HA. Vascular endothelial growth factor
stimulates angiogenesis without improving collateral blood flow following
hindlimb ischemia in rabbits Heart Vessels 2003; 18: 142-149
- 120) Pu LQ, Sniderman AD. Angiogenic growth factor and revascularization of
the ischemic limb: evaluation in a rabbit model J Surg Res 1993; 54: 575-
583
- 121) Wang HJ. Recipient bed vascularity and the survival of ischemic flaps Br J
Plast Surg 1997; 50: 266-271
- 122) Bauters C, Asahara I. Site-specific therapeutic angiogenesis after systemic
administration of vascular endothelial growth factor J Vasc Surg 1995; 21:
314-324
- 123) Hopkins SP, Bulgrin JP. Controlled delivery of vascular endothelial growth
factor promotes neovascularization and maintains limb function in a rabbit
model of ischemia J Vasc Surg 1998; 27: 886-894
- 124) Tsurumi Y, Kearney M. Treatment of acute limb ischemia by
intramuscular injection of VEGF gene Circulation 1997; 96: 11382, 388

- 125) Pang Y, Lineaweaver WC, Lei MP, Oswald I. Evaluation of the mechanism of vascular endothelial growth factor improvement of ischemic flap survival in rats 2003; 112: 556-564
- 126) Slavin J. The role of cytokines in wound healing *J Pathol* 1996; 178:5-14
- 127) Greenhalgh DG. The role of growth factor in wound healing *J Trauma* 1996; 41: 9105
- 128) Moncada S, Palmer RM. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, pharmacology *Pharmacol rev* 1991; 43: 109-127
- 129) Knox LK, Stewart AG, Hayward PG. Nitric oxide synthase inhibitors improve skin flap survival in the rat *Microsurgery* 1994; 15: 708-711
- 130) Kryger Z, Doğan T, Zhang F. Effects of VEGF administration following ischemia on survival of the gracilis muscle flap in the rat *Ann Plast Surg* 1999; 43: 172-178
- 131) Li QF, Reis ED, Zhang WX. Accelerated flap prefabrication with vascular endothelial growth factor *J Reconstr Microsurg* 2000; 16: 45-49
- 132) Komorowska-Timek E, Timek I, Brevetti LS. The effect of single administration of vascular endothelial growth factor or L-Arginine on necrosis and vasculature of the epigastric flap in the rat model *Br J Plast Surg* 2004; 57: 317-325
- 133) Lubiawski P, Goldman CK, Gürnlüoğlu R. Enhancement of epigastric skin flap survival by adenovirus-mediated VEGF gene therapy *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 1986-93
- 134) Zhang F, Richards L, Angel MF. Accelerating flap maturation by vascular endothelial growth factor in a rat tube flap model *Br J Plast Surg* 2002, 55: 59-63
- 135) Özgentaş HE, Shenaq S, Spira M. Study of the delay phenomenon in the rat TRAM flap model *Plast Reconstr Surg* 1994; 94: 1018-1024
- 136) Pearl RM. A unifying theory of the delay phenomenon-recovery from the hyperadrenergic state *Ann Plast Surg* 1981; 7: 102-112
- 137) Yanay E, Baruchin A. Effects of tissue expansion on secondary ischemic tolerance in experimental free flaps *Ann Plast Surg* 1982; 4: 115-118

- 138) Coşkunfırat O, Okşar HS, Özgentaş HE. Effect of the delay phenomenon in the rat single perforatör based abdominal skin flap model Ann Plast Surg 2000; 45: 42-47
- 139) Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W. Vascular endothelial growth factor, surgical delay, and skin flap survival Ann Surg 2004; 6: 866-875
- 140) Pang CY, Forrest CR, Neligan PC Augmentation of blood flow in delayed random skin falps in the pig: effect of lenght of delay period and angiogenesis Plast Reconstr Surg 1986; 78: 68-74
- 141) Seify H, Bilkay U, Jones G. Improvement of TRAM flap viability using human VEGF-induced angiogenesis: a comparative study of delay techniques Plast Reconstr Surg 2003; 112: 1032-1039

AYDINIZ UNIVERSITESI
TIBBİ KÜTÜPHANESİ