

**TC
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA, RADYOTERAPİ SONRASI KALDIRILAN TORAKS
ARKASI FASYOKUTAN FLEPLERİNİN VEGF (VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ) İLE YAŞAYABİLİRLİĞİNİN
ARTTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖMER MUTLU

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. RAMAZAN HAKAN ÖZCAN

DENİZLİ-2013

**TC
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA, RADYOTERAPİ SONRASI KALDIRILAN TORAKS
ARKASI FASYOKUTAN FLEPLERİNİN VEGF (VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ) İLE YAŞAYABİLİRLİĞİNİN
ARTTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖMER MUTLU

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. RAMAZAN HAKAN ÖZCAN

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 10.04.2012 tarih ve 2012TPF023 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ-2013

YRD. DOÇ. DR. RAMAZAN HAKAN ÖZCAN danışmanlığında DR. ÖMER MUTLU tarafından yapılan “Ratlarda, Radyoterapi Sonrası Kaldırılan Toraks Arkası Fasyokutan Fleplerinin VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) ile Yaşayabilirliğinin Arttırılması” başlıklı tez çalışması 08/01/2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: YRD. DOÇ. DR. RAMAZAN HAKAN ÖZCAN



ÜYE: YRD. DOÇ. DR. ADEM ÖZKAN



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

18/03/2013

Prof. Dr. MUSTAFA KILIÇ ⁴



TC

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANI

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda desteğini esirgemeyen tez hocalarım Prof. Dr. İnci Gökalan KARA ve Yrd. Doç. Dr. Ramazan Hakan ÖZCAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yine cerrahi ihtisasım boyunca bilgi ve tecrübelerini samimi ve içten duygularla paylaşan hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Adem ÖZKAN ve Yrd. Doç. Dr. Dilek BAĞDATLI' ya, tez aşamasında bana destek olan Prof. Dr. Esat ADIGÜZEL' e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan aileme, desteklerinden dolayı müstakbel eşim Yeşim Özdemir' e armağan ediyorum.

Dr. Ömer Mutlu

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
ÖZET	VIII- IX
İNGİLİZCE ÖZET	X- XI
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER	4
RADYOTERAPİ	4
Radyobiyojinin tarihsel gelişimi.....	4
Radyoterapinin uygulanması.....	6
DERİ FLEPLERİNE GENEL BAKIŞ	7
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ.....	20
GEREÇ VE YÖNTEM	26
BULGULAR	45
TARTIŞMA	49
SONUÇLAR	61
KAYNAKLAR	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1 Derinin kan dolaşımı.....	12
Şekil 2 Derinin pleksusları.....	13
Şekil 3 Kapiller yatakta arteriyel kan akımı ve venöz drenaj.....	14
Şekil 4 Deri sistemi ve altta yatan kasların yüzeysel (S) ve derin (D) venöz sistemlerinin birleşik diyagramının gösterilmesi.....	16
Şekil 5 İskemi-reperfüzyon hasarı.....	21
Şekil 6 Toraks arkası flebi.....	24
Şekil 7 VEGF' nin endotel hücre üzerindeki biyolojik etkileri.....	28
Şekil 8 VEGF ligandları ve ilgili reseptörleri.....	28

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1 Gruplarda, flep nekroz alanı, oranı ve standart sapmaları.....	51

1.ÖZET

Başlık: Ratlarda, Radyoterapi Sonrası Kaldırılan Toraks Arkası Fasyokutan Fleplerinin VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) ile Yaşayabilirliğinin Arttırılması

Araştırmacının Adı, Fakültesi ve Yazışma adresi:

Ömer Mutlu

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı – Denizli

Amaç ve Hipotez:

Radyoterapi sonrası radyoterapili alanda yapılacak cerrahi girişim hipovaskülarizasyon ve yetersiz kollajen üretimi nedeniyle yara iyileşmesini geciktirerek komplikasyonlara yol açmaktadır.⁵¹ Böyle durumlarda kas-deri flepleri veya serbest kompozit doku nakilleri sıklıkla tercih edilmektedir. Alternatif olarak radyoterapili alandan aksiyal paternli fasyokutan flep kaldırılarak ve eş zamanlı flep pedikül etrafına insan kaynaklı VEGF-165aa infiltrasyonu yapılarak neovaskülarizasyon arttırılabilir. Bu da radyoterapiye bağlı bize komplikasyonların tedavisinde daha basit, daha kullanışlı ve daha pratik yöntemler ortaya koyarak hastanın hastanede kalış süresi kısalmasını sağlar.

Gereç ve Yöntem:

Her grupta 250-300 gramlık wistar ratlardan oluşmak üzere 10' arlı 3 grup oluşturuldu. 2. ve 3. gruplarda yer alan ratların sağ toraks cildine insandaki dozun karşılığı olan, düşük doz tekrarlayan seanslara eş değer gelecek, tek seans 20 Gray (2000 cGy) radyoterapi uygulandı ve 7 gün süreyle beklendi. Her 3 grupta 4 x7 cm boyutlarında 'Lateral Torasik Arter Pediküllü Fasyokutan Flepler' kaldırıldı. Literatürde topikal, subdermal, subfasyal ve intravenöz değişik dozlarda insan kaynaklı-VEGF uygulanması referans alınarak 3. grupta yer alan fleplerin pedikül etrafına 1 cc izotonik solüsyon içerisinde 1 mikrogram dozunda insan kaynaklı-VEGF-165 aa uygulandı. Kaldırılan flepler aynı cerrahi sahaya tekrar suture edildi. 7 gün süreyle flep takibi sonrası flepler etraflarında yer alan cilt ile birlikte total olarak eksizye edildi. Bu işlem sonrası ratlar sakrifiye edildi.

1. grupta: fasyokutan flep

2. grupta: 20 Gray X-ışını (7 gün süreyle takip) + fasyokutan flep + lateral torasik arter dalları etrafına 1 cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonu

3. grupta: 20 Gray X-ışını (7 gün süreyle takip) + fasyokutan flep + lateral torasik arter dalları etrafına 1 mikrogram insan kaynaklı VEGF-165aa/ 1cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonu

7 günlük süre sonunda kaldırılan flepler makroskopik analizde flep nekroz oranları açısından değerlendirildi.

Bulgular:

20 Gy radyoterapi uygulanan ciltte insan kaynaklı VEGF-165 aa'in etkisini araştıran bu çalışmada fleplerde saptanan ortalama nekroz oranları, grup 1' de %7.17, grup 2'de %28.45, grup 3'te %9.59 olarak bulundu

Sonuç:

Sonuç olarak, VEGF endotelial hücreler üzerine mitojenik etkisiyle, rat aksiyel patern deri flepleri üzerine radyasyonun neden olduğu nekroz artışını engellemektedir.

Anahtar Kelimeler: Ratlarda Toraks Arkası Fasyokutan Flepler, Radyasyon Hasarı, İnsan Kaynaklı VEGF-165aa (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

2. ABSTRACT

Title: After Radiotherapy, Elevated Thoracic Region Of The Dorsum Fasciocutaneous Flaps' Viability Enhancement With VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) At Rats

Name, School and Address:

Ömer Mutlu

Pamukkale University School of Medicine

Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery-Denizli

Aim and hypothesis:

After radiotherapy, surgical intervention in irradiated area lead to complications hipovascularization and inadequate collagen production caused delaying wound healing.⁵¹ In such cases, the muscle-skin flaps or free composite tissue transplants are often preferred. Alternatively, neovascularization production can be increased by elevation of axial-pattern fasciocutaneous flap from the irradiated area and by giving human derived VEGF-165aa around the flap pedicul. This provides us simple, useful and pratical methods for complication treatment which is depend on radiotherapy, therefore this decreases the time for patient's treatment.

Materials and Method:

Including 3 groups and each group has 10 wistar rat that is 250-300 gram. One seance 20 Gray (2000 cGy) radiotherapy, which correspond to human dosage and equivalent value of less dosage repitition, are applied to the rats' right thorax skin, which takes part in second and third groups and 7 days are waited. For each groups, 'Lateral Thoracic Artery Pedicul Fasciocutaneous Flaps' are elevated that is 4x7 cm dimension. From the literature, with referance topical, subdermal, intravenous of human derived VEGF application, 1 mikrogram dosage human derived VEGF-165 aa in 1 cc saline solution are applied to flap's pedicul around which take part in third group. Elevated flaps are sutured the same surgery area again. After flap following during 7 days, flaps are excised with around skin together totally. After this procedure rats are sacrificed.

1. group: fasciocutaneous flap

2. group: 20 Gray X-ray (flap following during 7 days) + fasciocutaneous flap + infiltration of 1 cc %0,9 NaCl (saline) solution around lateral thoracic artery branches

3.group: 20 Gray X-ray (flap following during 7 days) + fasciocutaneous flap + infiltration of 1 mikrogram human derived VEGF 165aa/ 1cc %0,9 NaCl (saline) solution around lateral thoracic artery branches

After flap following during 7 days, flaps are evaluated flap necrosis rates at macroscopic analysis

Findings:

At this study, which research effect of human derived VEGF- 165aa at 20 Gy irradiated skin, average necrosis rate are determined such as %7.17 for group 1, %28.45 for group 2, %9.59 for group.

Results:

In conclusion, VEGF which has mitogenic effect on endothelial cell prevents radiation caused necrosis increase on axial-pattern skin flap.

Keywords: Thoracic Region Of The Dorsum Fasciocutaneous Flaps At Rats, Radiation Injury, Human Derived VEGF-165aa (Vascular Endothelial Growth Factor)

3. GİRİŞ ve AMAC

Radyoterapi, sıklıkla malign tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Yüksek enerjili parçacıklar veya elektromanyetik dalgalar sayesinde tümör hücreleri üzerinde DNA hasarı yaratmak amaçlanmaktadır^{1,2} Ancak tümör olmayan dokularında etkilenmesi sonucunda deride de radyasyona bağlı olumsuzluklar sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Radyasyon, deride akut doku inflamasyonuna (ödem, vazodilatasyon ve lökosit infiltrasyonu) ve bunu takiben progresif kan damarlarının kaybına ve intersitisyel alanda fibrosizasyon yol açar.⁶²

Radyasyonlu sahada endarteritis obliterans, aşırı fibrozis, azalmış vaskülarite-kan akımı-nütrisyona bağlı yetersiz sellüler turnover izlenir. Damarlar üzerindeki etkisi sonucu hipovasküler ve hiposellüler bir ortam oluşturmaktadır.⁶³ İskemik ve sağlıksız bu yara yatakları rekonstrüksiyon yapan cerrahları tedirgin etmektedir. Radyasyonun bu ağır etkileri nedeniyle birçok malignitenin tedavisinde cerrahi girişim öncesi radyoterapi tercih edilmemektedir.

Deri vücudun en büyük organıdır. Homeostazisi sağlamak için ısı regülasyonu ana görevlerindedir. Bu önemli fonksiyon yayılım, iletim ve ışıma ile ısı değişimine imkan tanıyan ve ter bezlerini besleyen özellikle dermal ve subdermal pleksustaki zengin kutanöz arter ve ven ağı ile sağlanır. Derinin dolaşımı zengin ve geniş olmasına rağmen deri bileşenlerinin metabolik ihtiyaçlarının az olması derinin yaşayabilirliği için mevcut deri dolaşımının yalnızca küçük bir parçası yeterlidir. Bu gerçek çeşitli deri fleplerinin sağ kalımına ve tasarımına uygundur.^{10,11,13}

Flep, kan dolaşımı korunarak alıcı alandan verici alana aktarılabilen doku birimidir. Çok sayıda flep tipleri ve sınıflandırmaları mevcuttur. Flepler içerdikleri dokulara (örneğin deri, kas-deri, kemik-deri), defektle olan özel ilişkilerine (lokal, bölgesel veya uzak), kan dolaşımına (random veya aksiyel), ilişkili defekti kapatmak için hareketine göre (örneğin ilerletme, rotasyon, transpozisyon) tanımlanabilir.^{10,12}

Random paternli fleplerin aksine aksiyel paternli flepler, flebin içinde uzunlamasına seyreden ve flebin tabanının ötesine uzanan anatomik olarak tanımlanmış vasküler adası olan güvenilir bir pediküle sahiptir. Bir defekte yerleştirilen aksiyel paternli dokunun hacmi ve güvenilirliği herhangi bir random dolaşıma sahip flepten belirgin olarak daha fazladır. Aksiyel

fleplerin rekonstrüktif cerrahide belirgin etkileri olmuş ve birden fazla dokuyu içeren geniş defektlerin tedavisinde devrim yaratmıştır.¹²

Mevcut araştırmalar cilt iskemik tolerans süresinin 6-13 saat arasında değiştiğini ve rat, tavşan, domuz ve insanda benzer olduğunu göstermiştir. Bu doğrultuda hem anjiogenezi hem de vasküler permeabiliteyi endojen stimülasyonla arttıran heparin-bağlayıcı glikoprotein yapısında olan 165 aminoasit diziliminden oluşan insan kaynaklı VEGF, yetersiz doku perfüzyonu ve iskemi–reperfüzyon hasarı sonrası keratinositler, fibroblastlar ve özellikle aktif dermal vasküler yapılardan sekrete edilerek ciltteki iskemik değişikliklerin önüne geçmektedir. Yarılanma süresi 30 ile 45 dakika arasında olan insan kaynaklı VEGF'nin, iskemi durumunda biyolojik aktivitesi 6 ile 8 saate kadar uzamaktadır. Fakat kapiller yapılarda pik büyüme etkisini 3. ile 7. günler arasında göstermektedir.^{6,8}

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), potent bir endotelial hücre mitojeni ve permabilite faktörüdür. Anjiogenezi, vasküler remodelingi ve yeni doku gelişimini sağlar.⁷ Birçok araştırmacıda eksojen vasküler endotelial büyüme faktöründen yumuşak doku rekonstrüksiyon modellerinde deri fleplerinin sağ kalımını arttırılmasında faydalanmaktadır.

Radyoterapi uygulamasını takiben radyoterapi sahasında yapılacak fasyokutan veya muskulokutan fleplerin iyileşme oranlarını gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Radyasyonun flepler üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılması veya önlenmesi amacıyla radyoterapi sahasında flep cerrahisine eş zamanlı insan kaynaklı VEGF-165aa uygulaması rekonstrüksiyon seçeneklerini daha basite indirgeyebilecektir. Vasküler endotelial büyüme faktörünün flepler üzerine olan olumlu etkileri göz önüne alınarak, neovaskülarizasyon sonucunda radyoterapi verilmiş alandaki flep dolaşımında ve dayanıklılığında artış olacaktır. Bu artışın, radyasyonun flep dolaşımı üzerindeki olumsuz etkilerini düzeltereği hipoteziyle bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışmadaki amaçlar:

1. Ratlarda tek doz ışınlama ile ciltte radyasyon hasarı modeli oluşturulması
2. Radyasyon uygulanmış sağ toraks cildinden pediküllü fasyokutan flep kaldırılması
3. Pediküllü fasyokutan flep tabanına insan kaynaklı VEGF-165aa infiltrasyonu yapılan ve yapılmayan grupların kıyaslanması
4. VEGF-165aa uygulamasının radyoterapi alanında pediküllü fasyokutan flebin yaşayabilirliğine olan etkinliğinin gösterilmesi

4. GENEL BİLGİLER

Radyoterapi

Radyobiolojinin tarihsel gelişimi

1895 yılında Alman fizikçi Wilhelm Kondrad Roentgen, bir gaz deşarj tüpünden yayılan ve ışık geçirmez bir kılıf içindeki fotoğraf filmini karartan yeni bir ışın keşfetti ve o zamanlarda nitelikleri bilinmediği için bunlara X ışınları adı verildi. Bu keşifle hemen hemen aynı zamanda, 1896 ve 1898 yıllarında sırası ile, Antonie Becquerel ve Marie Curie uranyum ve radyumun radyoaktif özelliklerini buldular. Bunlar X ışınlarına çok benzeyen γ ışınları yayayan doğal radyoaktif izotoplardı. ^{1,2}

Becquerel, dalgınlıkla yelek cebine bir radyum preparatı koyarak bir süre taşıdıktan sonra, derisinde o bölgede bir yaranın oluşturduğu etkiyi ilk kez görmüştür. Daha sonra Pierre Curie bu olayı yeniden denemek amacıyla kolunun üstüne bir radyum parçası koydu ve bir süre sonra onun derisinde de bir kızarıklık ve yara oluştu. ^{1,2}

1906 yılında Bergonie ve Tribondeau'nun sıçan testisleri ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, hızlı bölünen farklılaşmamış hücrelerin radyasyona duyarlılıklarının, yavaş bölünen farklılaşmış hücrelerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. ^{1,2}

Fizik, kimya ve biyolojide kaydedilen gelişmeler, 1920'lerden başlayarak kantitatif radyobioloji dönemini başlatmıştır. Kantitatif radyobioloji kavramının getirdiği yenilik, radyasyonun canlıda oluşturduğu etkinin, canlı tarafından absorplanan radyasyon enerjisinin bir fonksiyonu olduğunu açıklamasıdır. Değişik radyasyon dozları uygulandıktan sonra, canlı kalabilen hücrelerin sayısını gösteren sağ kalım eğrilerinin ilk defa 1956 yılında Puck Marcus tarafından elde edilmesi ve bu eğrilerin istatistik analizi ile, radyasyonun etki mekanizması hakkında bazı sonuçlara varmak, kantitatif radyobioloji yardımı ile mümkün olmuştur. ^{1,2}

Radyobiolojinin bu tarihsel gelişim süreci içinde 1946 ve 1947 yılları, önemli bir dönüm noktasını oluşturmaktadır. O yıllarda sırası ile yayınlanan Lea ve Timofeeff-Ressovsky ve Zimmer'in kitapları radyobioloji ilk kez bağımsız bir bilim dalı olarak kuran eserlerdir. Bu kitaplar II. Dünya Savaşı ile çağdaş oldukları için o günlerde büyük ilgi çekmişlerdir. Bu tarihten sonra, radyobioloji artık bağımsız bir bilim dalı olarak hızla gelişmiştir. ¹

1953 yılında Gray ve arkadaşlarının oksijenin canlıları radyasyona karşı duyarlı hale getirici etkisini saptamaları, 1959 yılında Elkind ve Sutton'un radyasyon etkisi ile meydana gelen subletal hasarlar ve bunların onarımı ile ilgili bulguları da radyobiyolojide yeni ufukların açılmasını sağlamıştır.¹

Günümüzde meme, kolorektal, baş-boyun ve jinekolojik kanserler başta olmak üzere birçok malignitenin tedavisinde, ekstremitelerde koruyucu cerrahilerde ve palyatif tedavide radyoterapi multidisipliner prensipler doğrultusunda uygulanmaktadır.

Radyasyon miktarı, uygulandığı dokunun ağırlık başına absorbe ettiği enerjiye göre belirlenir. Buna göre 1 kg dokuya 1 jul enerji veren radyasyon miktarı 1 Gray (Gy)'dir.^{1,3,45}

- 1 Gy (Gray) = 100 cGy (cGray)
- 1 Gy (Gray) = 100 rad

Radyoterapinin deri üzerindeki etkileri

Deri, dışta epidermis içte bağ dokusu ile; kıl, tırnak, ter ve yağ bezleri ve duyu reseptörlerinden oluşan birleşik bir organdır. Derinin ışınlanması durumunda, oluşacak reaksiyonlara bu yapıların tümü çeşitli derecelerde katkıda bulunur.¹

Kıl kökleri çok duyarlıdır ve duyarlılık derecelerinin kıl büyüme hızı ile doğru orantılı olduğu da saptanmıştır. 4-5 Gy civarındaki ışınlamalardan sonraki birkaç hafta içinde saç ve sakallarda dökülme meydana gelir. Bu dozlarda, dökülen saçlar 1-2 ay sonra tekrar çıkar. Ancak 7 Gy ve üstündeki dozlarda depilasyon süreklidir.

Deri bezleri de kıl kökleri gibi duyarlıdır. Ancak bunlardaki hasarların onarımı daha uzun zaman alır.¹

Epidermis tabakası bir hücre yenileme sistemi içerir ve yenilenme oranı günde yaklaşık %2 'dir. Bu sebeple radyasyona karşı duyarlıdır.¹

Derinin radyasyona cevapları ile bunların dereceleri çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunların fiziksel ve biyolojik olmak üzere başlıca iki gruba ayırmak mümkündür. Doz, doz hızı, fraksiyonasyon ve uygulanan radyasyonun kalitesi gibi kriterler fiziksel faktörleri, radyasyon

uygulanan derinin vücuttaki lokalizasyonu ile yaş gibi kriterler ise biyolojik faktörleri oluştururlar. Bu faktörlere bağlı olarak, deride minimum düzeyde değişiklikler ile total nekrozlar arasındaki çeşitli derecelerde hasarlar oluşur ve bu hasarların derecesine göre, onarım olayları da hızlı ve tam olarak gerçekleşir ya da mümkün olamaz.¹

Radyoterapinin Uygulanması

Radyoterapi eksternal, internal ve brakiterapi olmak üzere üç yoldan uygulanabilir. Eksternal tedavide kaynak ile hasta cildi arasındaki uzaklık 5-350 cm.'dir. X-ışınları, Co-60 (Kobalt-60), γ ışınları ve parçacık şeklindeki (genellikle elektronlar) radyasyonlar kullanılır. Radyoaktif maddelerin, cilt üzerine, doku arasına veya doku boşluklarına yerleştirilerek uygulanmasına brakiterapi adı verilir. İnternal tedavi ise β parçacıkları ve γ ışınları veren açık kaynakların sıvı ve kolloidal radyoizotoplar vücuda uygulanmasıdır.³

Günümüzde en yaygın kullanılan eksternal tedavi cihazları lineer hızlandırıcılarıdır.⁴ Lineer hızlandırıcılar, doğrusal bir tüp sayesinde elektronlar gibi yüksek enerji yüklü parçacıkları hızlandırmak için yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalardan yararlanan cihazlardır. Yüksek enerjili elektron demetinin kendisi yüzeysel tümörlerin tedavisi için kullanılabilirken, bir hedefe çarptırılmaları sonucu elde edilen yüksek enerjili X ışınları ile derin yerleşimli tümörlerin tedavisinde de kullanılabilir.³

Radyoterapinin temel hedefi, tümörde yüksek doz sağlanırken normal dokularda mümkün olduğu kadar düşük doz oluşturmaktır. Özellikle ciltte oluşturduğu akut ve kronik etkiler, yara iyileşmesini olumsuz olarak etkilemesi, kullanımını kısıtlayıcı faktörler olabilmektedir.⁸

Deri Fleplerine Genel Bakış

Flepler; Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi'de yaygın olarak kullanılan, doku eksikliklerinin onarımı için vücudun belirli bölgelerinden hazırlanabilen, kan dolaşımı korunarak verici alandan alıcı alana aktarılan doku birimidir.^{10,11} Kapatılması güç defektlerin onarımında kullanılmaları ve yapılarının karmaşık olması nedeniyle flepler her zaman yoğun ilgi odağı olmuşlardır. Çok sayıda flep tipleri ve sınıflandırma şekilleri mevcuttur.^{9,10,11} Flepler içerdikleri dokulara (deri, kas-deri, kemik-deri gibi), defektle olan özel ilişkilerine (lokal, bölgesel veya uzak), kan dolaşımına (random veya aksiyel), ilişkili defekti kapatmak için hareketine göre (ilerletme, döndürme, transpozisyon gibi) tanımlanabilir.^{10,11,12}

Fleplerin Sınıflandırması

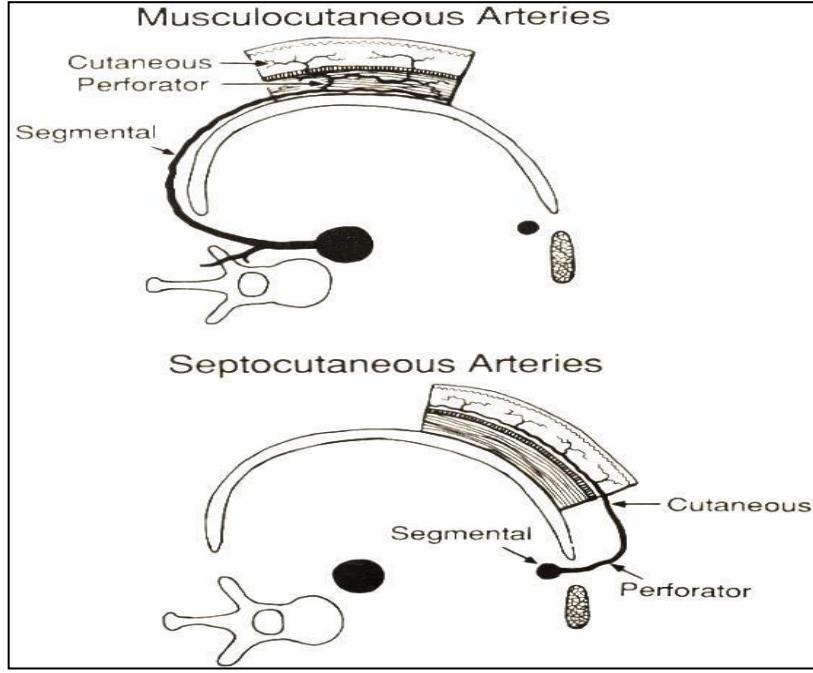
1. İçeriğine göre; deri, deri-fasya, fasya, deri-kas, kas, deri-kas-kemik, deri-kemik,
2. Defektle olan ilişkilerine göre; lokal flepler, bölgesel flepler, uzak flepler,
3. Defekte transfer ediliş yöntemlerine göre; ilerletme, rotasyon, transpozisyon, interpolasyon flepleri,
4. Kan dolaşımına göre; aksiyel ve random paternli olarak isimlendirilirler.¹⁰

Deri Flepleri

Derinin arter ve venlerinin bilinmesi flebin ve insizyonların planlanması için esastır. Deri vücudun en büyük organıdır. Homeostazisi sağlamak için ısı regülasyonu ana görevlerinden biridir. Bu önemli fonksiyon yayılım, iletim ve ışıma ile ısı değişimine imkân tanıyan ve ter bezlerini besleyen, özellikle dermal ve subdermal pleksustaki zengin kutanöz arter ve ven ağı ile sağlanır.^{10,13}

Dokuların kanlanması segmental, perforatör ve kutanöz arterlerden sağlanır.

1. Segmental Arterler, direkt olarak aortadan köken alırlar ve gövde ile ekstremiteleri kanlandıran büyük ana damarlardır.
2. Perforatör damarlar, segmental arterler ile kutanöz arterler arasında bağlantı sağlayan damarlardır.
3. Deriyi besleyen esas arterler kutanöz arterler olup, kendi aralarında muskükütan ve septokütan damarlar olarak ikiye ayrılırlar.
 - a) Muskükütan arterler, kası besledikten sonra üzerinde yer alan dermal pleksusa doğru ilerleyen ana damarlardır.
 - b) Septokütan damarlar, segmental veya musküler damarlardan kaynaklanıp kaslar arasındaki fasyal septalardan geçerek üstteki fasya ve deriyi besleyen damarlardır.

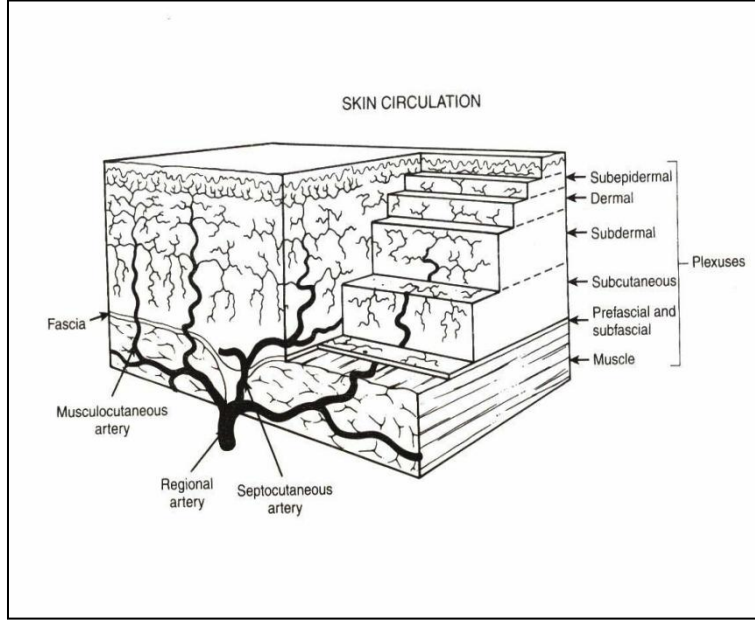


Şekil 1: Derinin kan dolaşımı ¹⁴

Derinin arteriyel dolaşımı, fasya, derialtı yağ dokusu ve deri olmak üzere üç anatomik seviyede ve altı adet vasküler pleksustan oluşur. ^{15,16} Fasyal pleksusta; kan damarları fasyanın içinde, altında (subfasyal) ve üzerinde (prefasyal) seyrederek. Baskın olan prefasyal pleksustur. Kan akımı septokütan ve muskülokütan arterlerden gelir. Özellikle ekstremitelerde göze çarpan büyük bir ağdır. ¹³

Subkutan pleksus; yağ dokusunu yüzeysel (yoğun) ve derin (gevşek) olarak iki tabakaya ayırır. Bu plan anatomik olarak platizma ve skarpa fasyasına denk düşer. Bu sistem özellikle gövdede iyi gelişmiştir. ¹³ Subdermal Pleksus; retiküler dermisin hemen altında subkutan yağın hemen üzerindedir. Bu bölge deri flebinin kenar kanamasının olduğu bölgedir. Buradan çıkan arteriyoller dermal pleksusu besler.

Dermal-Subepidermal Pleksus; papiller dermis'ten başlar, dermoepidermal bileşkeye kadar uzanır. Bu iki pleksus asıl deri kan dolaşımından sorumludur. Dermal pleksusun asıl amacı ısı düzenlemesidir. ¹³



Şekil 2: Derinin pleksusları ¹⁷

Flepler kan dolaşımına göre random tasarımı (kutanöz) ve aksiyel tasarımı (pediküllü) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. ¹²

Random tasarımı flepler, direkt kutanöz, muskülökutanöz veya fasyokutanöz damarlardan kaynaklanan arterioller tarafından perfüze edilen dermal, subdermal pleksus tarafından beslenirler. Spesifik arteriyel-venöz sistemleri yoktur. Deneysel çalışmalar ve klinik deneyimler random fleplerde en-boy oranının önemli olduğunu göstermiştir. Bu durum büyük defektlerin kapatılmasındaki güvenilirliklerini sınırlandırmaktadır. ¹²

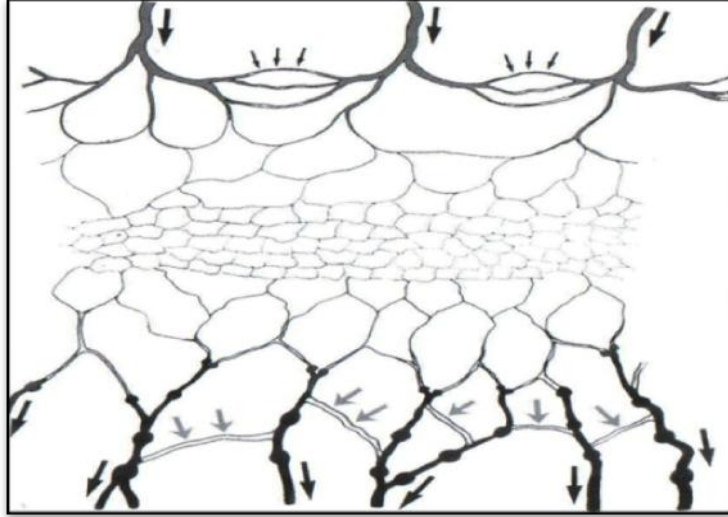
Aksiyel tasarımı flepler ise random tasarımı fleplerin aksine flebin içinde boylu boyunca seyreden spesifik direkt kutanöz arter yani tanımlanmış anatomik arteriyel-venöz damarlar içerirler. Anatomi alanındaki gelişmeler aksiyel fleplerinin güvenilirliğini arttırmış. ¹²

Defekte olan uzaklıklarına göre deri flepleri, lokal flepler ve uzak flepler olarak ikiye ayrılırlar. ^{10,12}

Mobilizasyonuna Göre Deri Flepleri, lokal flepler defekti kapatmak için sabit bir nokta etrafında döndürülenler ve ilerletilenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

Pivot nokta etrafında döndürülen flepler; rotasyon flepleri, transpozisyon flepleri ve interpolasyon flepleri olarak kendi içerisinde 3 gruba ayrılırken, ilerletme flepleri de tek

pediküllü ilerletme flebi, bipediküllü ilerletme flebi ve V-Y ilerletme flebi olmak üzere 3 gruba ayrılır. ¹²



Şekil 3 : Kapiller yatakta arteriyel kan akımı ve venöz drenaj ¹¹

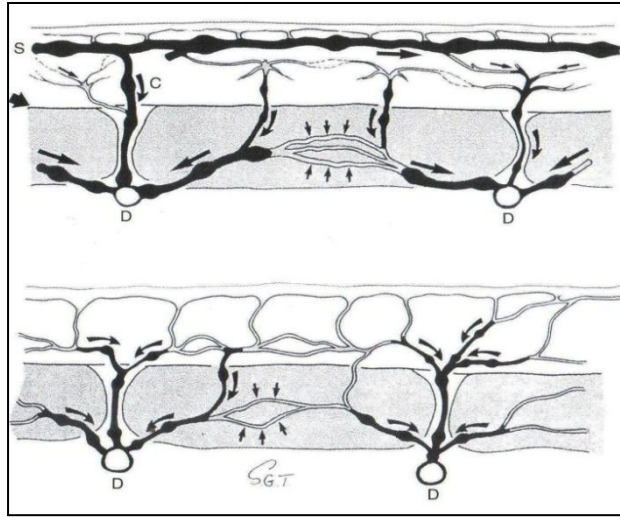
Flep Fizyolojisi ve Anjiozom Kavramı

Tüm dokularda olduğu gibi flebin vasküler dolaşımı mikrodolaşım ve makrodolaşım kısımlarından oluşmaktadır. Her iki kısım da iç ve dış faktörlere bağlıdır ve bu faktörler flep perfüzyonunu dolayısıyla flep yaşayabilirliğini etkilerler. Makrodolaşımın anatomisi flebin tanımlanmasında ve tasarımında kullanılır. Flebin ana arteriyel akımı ve venöz geri dönüşü mikrodolaşım yatağı tarafından oluşturulur, böylece flebin beslenmesi ve oksijen ihtiyacı karşılanırken karbondioksit ve metabolik atıkların flepten uzaklaştırılması sağlanmış olur. Bu mikrodolaşım düzeyi arterioller, venüller, kapiller damarlar ile arteriovenoz anastomozlar seviyesindedir ve perfüzyon kontrolünün en fazla olduğu, asıl metabolik değişimin gerçekleştiği yerdir. Taylor, potansiyel bir flebin kan akımının sadece derideki damarlara bağlı olmadığını, flebi oluşturan tüm dokulardaki damar ağının üç boyutlu yapısına bağlı olduğunu açıklamıştır. ¹¹

Deri ve derin dokuları besleyen bir ana arterin oluşturduğu alan “**anjiozom kavramı**” olarak tanımlanır. Anjiozom olarak adlandırılan 3 boyutlu anatomik vasküler alanlar deri ve kemik arasında uzanan bir kaynak arter (segmental veya dağıtıcı) ve buna eşlik eden ven(ler) tarafından beslenir. Her anjiozom eşleşen arterizom (arteriyel alanlar) ve venozom (venöz alanlar) alt gruplarına ayrılabilir. Anatomik çalışmalar vücutta yaklaşık 374 ana perforatörün olduğunu dolayısıyla henüz tanımlanmamış pek çok potansiyel deri flebi alanının olduğunu

göstermektedir. Bu tanımlamalarla anjiozomlar kompozit (karma) doku aktarımına uygun yapılardır. ^{10,18}

Her anjiozom her dokuda çapında değişiklik olmayan gerçek (basit) anastomotik arterler veya çapı küçülen choke (retiform) anastomotik damarlarla bağlantılıdır. Venöz tarafta kapaksız venler (çift yönlü veya titreşen) sıklıkla anastomotik arterlere uyarlar ve özellikle derin dokularda anjiozomun sınırlarını belirlerler. Bu choke anastomotik damarlar deride (deri ve deri altı dokuda) daha fazladır ve sağlam derinin kan akımının düzenlenmesinde önemli olabilirler. ^{10,19}



Şekil 4: Deri sistemi ve altta yatan kasların yüzeyel (S) ve derin (D) venöz sistemlerinin birleşik diyagramının gösterilmesi ¹⁰

Derinin ana görevlerinden biri ısı regülasyonudur ve bu işlev deri kan akımının düzenlenmesiyle sağlanır. Isı derinin kan akımının arttırılmasıyla dağıtılır ve deri kan akımının azaltılmasıyla muhafaza edilir. Deri kan akımının ana düzenlenmesi arteriolar düzeydedir. Sempatik tonus, prekapiller sfinkterler, arterioller ve arteriovenöz anastamozlardaki akımı düzenler. Lokal ya da sistemik sempatik tonusa cevap olarak prekapiller sfinkterlerin kontraksiyonu, kan akımının kapiller yatağı arteriovenöz anastamozlar aracılığıyla by-pass etmesine neden olur. Bunun dışında flep kan akımı; sistemik santral kan basıncı ve mikrodolaşımdaki endotel, trombosit, kan hücreleri gibi hücrel faktörlerden de etkilenir. Derinin normal kan akımı her 100 gram doku için yaklaşık 20 ml'dir. Kasların kan akımı ise bu orandan fazladır. ¹¹

Bir deri flebi boyunca kutanöz perforatörler kesilerek stratejik geciktirme işlemi (delay) yapıldığında bu choke damarlar genişleyip gerçek anastomoz çaplarına ulaşarak flep distaline giden kan akımını arttırırlar. Sempatik tonusun gevşemesinden dolayı choke damarlarda biraz genişleme olsa da esas etki ameliyattan sonraki 48-72 saatte görülür. Bu durum damar duvarı elemanlarının hipertrofi-hiperplazisi ve lümen çapının artmasıyla sonuçlanan aktif bir sürecin sonucudur.^{10,20}

Flep Kan Akımının Ayarlanması

Deri kan akımı sistemik ve bölgesel olarak düzenlenir. Sistemik kontrol nöral ve hümöral mekanizmalar kullanılarak yapılır. Nöral ayarlama predominanttır. Nöral ayarlama vazokonstriksiyonu tetikleyen α -adrenerjik reseptörler ve vazodilatasyonu tetikleyen β -adrenerjik reseptörler aracılığı ile primer olarak sempatik lifler kullanılarak sağlanır. Ayrıca arteriovenöz anastomozlar düzeyinde mevcut olan ve vazokonstriksiyonu tetikleyen serotonerjik reseptörler de nöral ayarlama da kullanılır. Sempatik lifler arteriol ve arteriovenöz anastomozlar seviyesinde vasküler düz kas tonusunu ayarlamaya çalışırlar.¹¹

Hümöral ayarlama sistemik vazoaktif maddelerin, spesifik reseptörlere etkisi sonucunda ortaya çıkar. Sistemik vazoaktif maddelerden epinefrin ve norepinefrin α -adrenerjik reseptörlere etkilidir. Diğer sistemik vazokonstriktörler; serotonin, tromboxan A2 ve PGF2 α ' dan oluşurlar. Vazodilatatörler ise PGE1, PGI2 (prostasiklin), histamin, bradikinin, lökotrien C4 ve D4' ü içerir.¹¹

Bölgesel düzeyde deri kan akımını etkileyen metabolik faktörler hiperkapni, hipoksi ve asidozdur. Bunların hepsi vazodilatasyona neden olurlar. Arteriyal perfüzyon basıncından bağımsız olarak artmış doku perfüzyon basıncı “miyojenik refleksi” tetikleyerek vazokonstriksiyon yaratır ve sabit kapiller kan akımını devam ettirmeye çalışırlar. Bölgesel hipotermi damar düz kaslarına etki gösterip vazokonstriksiyona neden olur ve lokal kan akımını azaltır. Bölgesel hipertermi ise vazodilatasyon yaratarak buna ters etki gösterir. Akışkanlık faktörleri de özellikle anormal durumlarda kan akımını etkileyebilirler. Derin anemide akışkanlık özelliği artar ve kan akımı artar. Bazı çalışmalarda bu durumun flep distalinde yaşayabilirliği arttırdığı gösterilmişse de diğer bazı çalışmalarda akışkanlığın artışının azalmış oksijen dağıtımına neden olmasından dolayı flep yaşayabilirliği üzerine hiçbir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Polistemi ve orak hücreli anemide olduğu gibi

akışkanlığın azaldığı durumlarda perfüzyon ve flebin uç kısmındaki yaşayabilirlik arasında doğrusal ilişki vardır. ¹¹

Flebin kaldırılması, dokunun kan akımını sağlayan, dikkatlice oluşturulmuş dengenin ciddi şekilde bozulmasına neden olur. Sempatik innervasyon akut bir şekilde kaybolur ve spontan olarak vazokonstrüksiyona neden olan nörotransmitterler salınır. Bununla birlikte akım sağlayan damarların fiziksel olarak ortadan kalkması flebin kenarlarında akut iskemiye neden olur. Bunu takip eden 24 saat içinde bu alanlardaki mikrosirkülasyonun durumu flebin ne kadarlık bir kısmının yaşayacağını belirler. Banbury ve ark. kremester kasının periferik mikrosirkülasyonunda trifazik, dinamik cevap tariflemişlerdir. Buna göre başlangıçtaki akut hiperadrenerjik fazı, ciddi vazodilatasyona neden olan nonadrenerjik faz izler ve en son olarak artmış kapiller perfüzyon, vazoaktif maddelere aşırı cevap ile duyarlılaştırılmış faz ortaya çıkar. ¹¹

Flebin kaldırılmasından sonra ortaya çıkan hemodinamik, metabolik ve anatomik değişiklikler sonucu belirlerler. Palmer, Nathanson, Kerrigan gibi araştırmacılar hemodinamik değişikliklerin saptanması amacıyla işaretlenmiş mikrosferler ile başarılı çalışmalar yapmışlardır. Buna göre flebin kaldırılmasından sonra pedikül tabanındaki akım aynı şekilde korunurken flebin en distalindeki akım yaklaşık 6-12 saat sonra normalin % 20' sine kadar düşer. Flep dolaşımı 1-2 hafta içinde normalin % 75' ine, 3-4 hafta içinde ise %100' e döner. ¹¹

Flebin kaldırılmasını takiben oluşan olayları özetleyecek olursak; başlangıçta besleyici damarlar ve sempatik sinirler ayrılırlar. İlk 12-18 saat içerisinde hem lökosit aracılı endotel hasarı ve sempatik vazokonstrüktörlerin salınımı hem de damarlardaki akımın akut azalması birlikte perfüzyon basıncının azalmasına neden olarak özellikle flebin distal kısmında akımın dramatik olarak azalmasına neden olur. Distal kısmın yaşamının devamlılığı besleyici damarların 6-12 saat içinde bu bölgeye ulaşması ile sağlanabilir, aksi takdirde bu doku ölecektir. 12-24 saat içinde sempatik nörotransmitterlerin azalması ve 2-3 gün içinde inoskülasyonla flep yatağından beslenmenin başlamasıyla flep perfüzyonu kademeli olarak onarılmış olur. Ancak ilk 6-12 saatte flebin distal kısmındaki ileri derecedeki iskemi sonrasında, akımın geri dönmesi reperfüzyon hasarına ve mikrovasküler dolaşımın durmasına, dolayısıyla doku nekrozuna neden olur. ¹¹

Flep Kaybı ve İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Fleplerin bazılarında distal veya periferik nekroz oluşması, bazılarında ise flepte total sağ kalımın sağlanması fleplerin doğal kan akımlarına ve iskemi toleransına bağlı olarak değişiklik göstermektedir.¹¹

Deri flepleri kas fleplerine göre çok daha az kan akımına, daha düşük metabolik ihtiyaçlara sahiptirler ve deri flebinin iskemi toleransı kas fleplerine göre çok daha fazladır. Pek çok çalışma distal flep viabilitesinin artırılması için klinikte en uygulanabilir ve güvenilir yöntem olarak geciktirme kavramı üzerinde odaklanmıştır.¹¹

Pediküllü fleplerin kaldırılmasından sonra pediküllü fleplerin yaşayan proksimal kısmında sempatektomi, katekolamin salınımı ve oluşan hasara verilen bölgesel cevap sonucunda kan akımı azalır. Distal kısımda bölgesel iskemi çok fazla vazodilatasyona neden olsa da proksimal kısımdaki yetersiz perfüzyon basıncı distaldeki kan akımını azaltacaktır. Bu şekilde flep distalindeki yetersizliğin ana sebebi yetersiz arteriyel akım olacaktır.¹¹

Arteryele karşın venöz yetmezlik, pediküllü fleplerde başlıca nekroz nedeni olmaktadır. Yeterli arteriyel akıma karşılık venöz dönüşün azalması flebin nekrozuna neden olur. Deneysel primer venöz ve arteriyel iskemi çalışmaları venöz iskeminin flep nekrozu açısından çok daha tehlikeli olduğunu göstermektedir. Benzer olarak sekonder iskemi modellerinde, sekonder iskeminin primer iskemiden, venöz yetersizliğin aynı oranda yaratılan arteriyel yetersizlikten çok daha tehlikeli olduğu saptanmıştır.¹¹

Kerrigan ve ark.' ları, üç durumda flebin tamamının nekroza gideceğini bildirmişlerdir. Bunlar; intrinsik kan akımından daha geniş hazırlanmış flepler, arteriyel tromboz ve venöz tromboz olarak sıralanmaktadır. Random ya da aksiyel tasarımı pediküllü fleplerde tromboz genellikle hatalı flep planlaması sonucunda mikrodolaşımda düşük akım paterninin gelişmesine, iskemi reperfüzyon hasarına, mikrodolaşımı etkileyen sistemik faktörlere (hipotansiyon, sepsis, sigara kullanımı, vazokonstriktörler) ya da flebin fiziksel kompresyonuna (uygun olmayan adaptasyon, king, hematoma) sekonder olarak ortaya çıkar.¹¹

Flebin kaldırılmasından sonra özellikle flebin iskemik distal kısmında çok sayıda ve ileri derecede metabolik değişiklikler ortaya çıkar. İskemik dokularda oksijen düşüşü ile anaerobik metabolizma hızlanır, glikoz ve ATP seviyelerinde hızlı düşüş, buna karşın

karbondioksit ve laktik asit seviyelerinde artış meydana gelir. Prostaglandin ve tromboksan düzeyleri ciddi şekilde yükselir. Glikoz ve glikojen tüketimi flebin iskemik ancak yaşayan bölümlerinde, iskeminin derecesine göre artış gösterir. Glikoz tüketimi 3. günde pik yapar ve 7. günde normale döner.¹¹

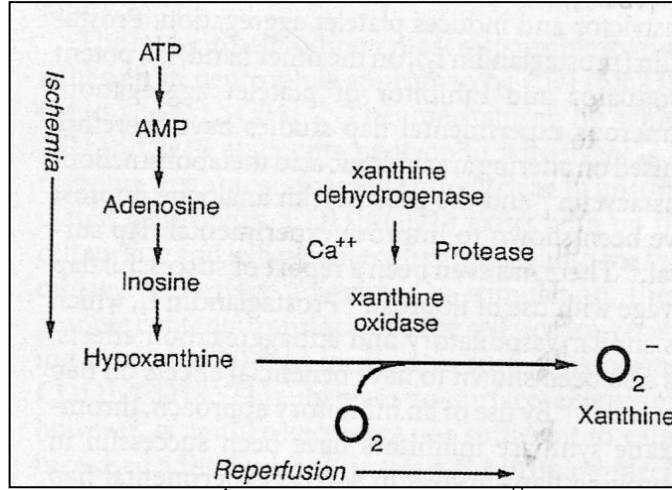
Anaerobik mekanizmaya geçişle ilişkili olarak toksik süperoksit radikallerinin üretimi artar. Toksik oksijen radikalleri direkt sitotoksik etkiye neden olabilecekleri gibi, daha önemli olarak bölgesel akut inflamasyonu tetikleyip lökositlerin adezyonuna ve birikimine, bunu takiben endotelial hasara neden olup mikrovasküler dolaşımı durdurabilirler. Vücudun anahtar koruyucu enzimi olan süperoksit dismutaz enzimi, akut flebin distal kısmında doku koruyucu mekanizma nedeniyle süperoksiti oksijene çevirerek tüketir.¹¹

İskemi sonrasında reoksijenasyon esnasında pek çok mekanizma kullanılır. Ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür, ksantin oksidaz enzimi de oksijenle birlikte iskemi boyunca ATP' nin yıkılması sonucunda ortaya çıkan hipoksantini ksantine dönüştürür. Bu esnada yan ürün olarak süperoksit anyonu oluşur. Süperoksit anyonu başka oksijen radikallerinin (hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri) ortaya çıkmasına neden olur ve bu durum direkt hücre hasarıyla sonuçlanır.¹¹

Bir kez metabolitler oluştuğundan sonra hücre hasarının iki mekanizmadan birisiyle gerçekleştiğine inanılmaktadır.¹¹

Birinci mekanizma; süperoksit radikalleri direkt endotel membranıyla reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna neden olmakta böylece membran proteinlerinin yıkımına, hücre geçirgenliğinin artmasına, sonuçta ise sitoplazmik şişme ve hücresel disfonksiyona neden olmaktadır.¹¹

İkinci mekanizma; oksijen radikallerinin özellikle süperoksit anyonun kemotaktik özellik göstererek, reperfüze alanlara nötrofil migrasyonuna ve doku harabiyetine neden olmasıdır. Damar içinde hızla nötrofil birikimi perfüzyonun ilerleyen şekilde düşmesine ve iskemi-reperfüzyonla ilişkili "no-reflow" fenomeninin oluşmasına neden olmaktadır. Nötrofiller doğrudan endotel hasarına sebep olabilecekleri gibi mikro damarlarda tıkanma yaparak da iskemiyi neden olabilirler.¹¹



Şekil 5 : İskemi-reperfüzyon hasarı ¹¹

Oksijen metabolitleri ve bunların doku hasarındaki etkileri günümüzde iyi bilinmektedir. Deneysel fleplerin iskemik distal alanlarında ksantin oksidaz gibi, serbest radikal üretiminin göstergesi olarak kabul edilen diğer bir gösterge olan malonildialdehit düzeylerinin de yüksek olduğu saptanmıştır. Deneysel fleplerde tek doz süperoksit dismutaz uygulamasının random tasarımlı fleplerin yaşayabilirliğini % 38-% 76 oranında arttırdığı saptanmıştır. Bu bulgular ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol, demir tutucu ve serbest radikal şelatörü olarak bilinen desforaksamin ile yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Ancak bu çalışmaların klinik kullanımı konusunda hala soru işaretleri bulunmaktadır. ¹¹

Reperfüzyon hasarına etkili diğer bir madde ise araşidonik asit ürünleridir. Lökotrien B₄'ü oluşturan lipooksijenaz potent bir kemoatraktandır, bu madde süperoksit anyonun oluşumunu indükler ve lökosit degranülasyonuna neden olur. Aktive nötrofiller lökotrienlerin üretimine ve inflamatuvar reaksiyonun devam etmesine neden olurlar. İskemide aktive olan siklooksijenaz, tromboksan ve PG üretimine neden olur. Tx A₂ vazokonstriksiyon yapar ve trombosit agregasyonunu indükler, PGI₂ vazodilatasyon ve trombosit agregasyonunu engelleyen etkide bulunur. Tromboksan sentez inhibitörlerinin flep yaşayabilirliğine olumlu etkileri deneysel flep modellerinde gösterilmiştir. ¹¹

Hayvan Modelleri

Deneysel araştırmalar Galen 'in ilk denemelerinden bu yana klinik hekimliğe yol gösterici olmuşlardır. Günlük klinik uygulamalarda kullanılan birçok yöntem hayvan deneyleri sonucunda bulunup, etkinliği kanıtlandıktan sonra insanlara uygulanmaktadır. ²¹ Araştırma projelerinin en önemli basamağı deneysel hayvan modelini belirlemektir.

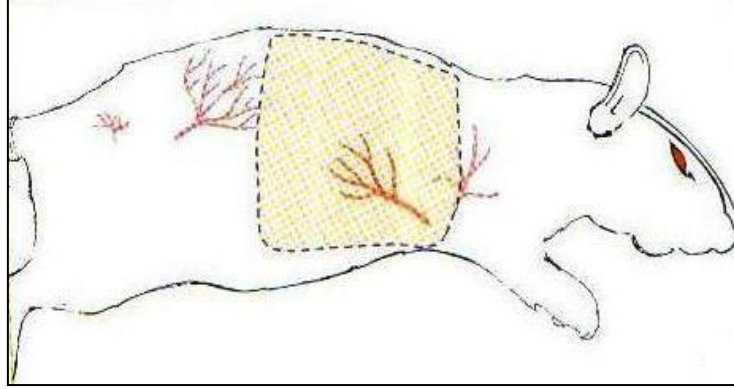
Deri anatomisi insandan önemli ölçüde farklı olmasına karşın düşük maliyetle geniş çaplı çalışmalar yapılabilmesi yüzünden sıçan, deri flebi araştırmalarının en sık yapıldığı denektir.²¹ Sıçan derisi ile insan derisi arasındaki esas farklılık sıçan derisinin dermal tabakasının altında bulunan pannikulus karnozus tabakasıdır. Kas yapısında olan bu tabaka derin kas fasyasına gevşek olarak bağlanmasına rağmen dermise sıkıca yapışmıştır. İnsanlarda, pannikulus adipozus adı verilen yüzeysel fasya ise derin fasya ile ilişkilidir. Deri yapısının farklılığına rağmen her iki türde de pannikulus tabakasının fleplere dahil edilmesi damarlanmayı arttırır. Sıçanlarda hazırlanan flepler genel olarak deri flebi, kas-deri flebi ve birleşik doku flepleri olarak gruplanabilir.¹³

Şıçan sırtından hazırlanan flep modeli, ilk olarak 1965 yılında Robert McFarlane ve ark.' ları tarafından tanımlanan kraniyal tabanlı yarımada şekilli sıçan sırt deri flebidir. O yılların gözde konularından biri olan "geciktirme kavramını" araştırmak üzere geliştirilmiş olan bu model "random" dolaşım paternine sahip kabul edilmiş ve sonraki yıllarda çeşitli araştırmalarda kabul görmüştür. Flep beslenmesinin özellikle flep geciktirme kavramının araştırıldığı modellerde standart bir nekroz alanının bulunması ve kolay hazırlanması nedeniyle bu flep sıkça tercih edilmiştir. Fleplerin vasküler temelinin daha iyi anlaşılması ile random tasarımlı fleplerin rekonstrüktif cerrahide kullanımı azalmış, yerine aksiyel tasarımlı deri fleplerinin kullanımı artmıştır.^{22,23,24,25} Ian Taylor ve Toshiharu, Minable ' ın 1992 yılında yayınladıkları ayrıntılı anatomik çalışmada memelilerdeki "anjiozom"ların tanımlanması ve bu arada sıçanın sırt bölgesinde bulunan aksiyel damarlara da değinilmesi flep araştırmalarında önemli bir dönüm noktası olmuştur. Syed ve ark.' ları aynı yıl sıçanın göğüs ve sırt bölgelerinin deri dolaşımını araştırıp, sırt bölgesinde biri lateral torasik diğeride ilyolomber damarlar üzerinde hazırlanan iki ayrı flep modeli tanımladılar.^{21,23,24,26}

Toraks arkası flebi

Toraks arkası flebi, Shamsuddin Syed ve arkadaşları tarafından 1992 yılında tanımlanmıştır. Ratlarda yaptıkları çalışmada, damar içine boya vererek kutanöz maksimus kası üzerinde bulunan daha geniş bir deri bölgesinin lateral torasik arterden kan alabildiğini göstermişlerdir. Lateral torasik-ortak torasik- aksiler damar sisteminden kan alan bölge toraks sınırlarını biraz aşmakla birlikte bu flep daha küçük planlanır. Flebin süperior kısmı skapula ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ise ön koltuk altı çizgisi arasında kalan kabaca dikdörtgen biçimli bir alandır. Flebin kranyal, kaudal ve medial kenarları kesilip derin kaslar üzerindeki gevşek plandan disseksiyon yapılırca flebin alt

yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının dağılımı görülür. Bunları izleyerek aksillaya doğru pedikül güvence altına alınarak disseksiyona devam edilir. ^{21, 27,28} Bu bilgiler ışığında çalışmamızda lateral torasik arter pediküllü aksiyel paternli deri flebi kullanılmıştır.



Şekil 6 : Toraks arkası flebi ²¹

Deri flebi çalışmalarında sonuçları etkileyebilecek birkaç nedene dikkat etmek gereklidir. Epidermin mitotik aktivitesinin flep yaşamında dikkate değer bir faktör olabileceği ve epidermal yenilenme zamanı 20°C ' lik ortam ısısında 19 gün iken bu sürenin 25-30°C arası ısılarda 8,5 güne kadar kısaldığı bildirilmiştir. Bunu yanı sıra soğuk ortam ve vazospazmında flep dolaşımını olumsuz etkileyebildiği unutulmamalıdır. Bir diğer değişken ise hayvanların cinsiyetinde ortaya çıkabilir. Dişi hayvanlardaki östrojen siklusu flep dolaşımı ve yaşama/nekroz oranlarını ve flep kontraksiyonunu etkileyerek sonuçların güvenilirliğini etkileyebilmektedir. ²¹

VEGF (VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ)

VEGF ailesine mensup olan proteinlerin vaskularite gelişiminde en önemli proteinler olduğuna genel olarak inanılmaktadır. Vaskulogenezde, ayrıca hem fizyolojik hem de patolojik angiogenezde ve lenfangiogenezde esansiyel rolleri vardır.²⁹ VEGF ailesinin içinde VEGF-A, VEGF-B, C ve D ve plasental büyüme faktörü (PIGF) yer almaktadır. ³⁰ Bunlardan, üzerinde en fazla çalışılmış olan VEGF-A'dır ve VEGF-A'nın bu konuda en önemli faktör olduğu düşünülmektedir. Koroner arter gelişimindeki rolü dışında VEGF-B hakkında çok fazla şey bilinmemektedir. VEGF-C ve D, lenfatik sistemin gelişiminde esansiyeldirler ve aynı zamanda angiogenezi ve artmış vasküler permeabilityi indükleyebilmektedirler. Her ikisi de, post-translasyonel işleme gerektiren preproteinler şeklinde sentez edilir. PIGF

adından da anlaşılacağı gibi ilk kez plasentada saptanmıştır ve normal embriyonik ya da erişkin dokularda yüksek düzeylerde eksprese edilmemektedir. PIGF patolojik angiogenez formlarında VEGF-A aktivitesini tamamladığı ve potansiyalize edebildiği gösterilmiştir.³⁰

Vegf geni - protein yapısı ve sekresyonu

İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yerleşmiştir. Kodlayıcı bölge ~14 kb'lik bir alan kaplamaktadır ve 8 exon'dan oluşmaktadır. Tek bir pre-mRNA'nın alternatif splicing'i (birleştirilmesi) çok sayıda farklı VEGF türünü oluşturur.³¹

Bir VEGF fragmanının X-ışını kristalografisi VEGF'nin, dimerik sistein-boğumlu (ilmekli) büyüme faktörü süperailisine mensup olduğunu göstermektedir. Her bir monomer, dört-zincirli bir beta tabakasının bir ucunda yer alan zincir-içi disülfid bağlı boğumlu bir motif ile karakterizedir. Bu süper-aile, alt bölümlere ayrılmaktadır. VEGF, bu alt bölümlerden platelet-kökenli büyüme faktörü (PDGF) ailesine mensuptur. Bu alt-ailede yer alan monomerler, “yan-yana” bir oryantasyonla bir arada tutulmaktadır. 2 beta tabakası, 2 kıvrımlı simetriye dik olacak bir şekilde uzanmaktadır. Tüm VEGF isoformları, kovalent bağlı homodimerler şeklinde sekrete edilir. Monomerler başlangıçta, hidrofobik bağlantılarla bir arada bulunurlar ve daha sonra, bir zincirin Cys51'i ile diğer zincirdeki Cys61 arasında oluşan disülfid bağları ile stabilize edilirler. Amfipatik bir alfa heliksini içeren sinyal peptidi, bu dimerizasyon için esansiyeldir ve sekresyon sırasında klevaja uğrayarak parçalanmaktadır. (posttranslasyonel modifikasyon).³²

Exon 3'de üç asidik rezidünün olduğunu ve exon 4'de üç bazik rezidünün bulunduğu gösterilmiştir. Bu rezidüler, sırasıyla VEGFR-1 ve VEGFR-2 reseptörlerine bağlanmak için esansiyeldir. Dimer ara biriminde VEGF'nin her bir kutbunda son derece fleksibl üç loop kümelenmektedir. Bunlardan loop-2, VEGFR-1 bağlanma determinantları içerir ve VEGFR-2'ye bağlanan karşı monomerin loop-3'üne yakın bir şekilde uzanır. VEGF'nin her bir kutbunda bu reseptör-bağlanma ara birimlerinin pozisyonlandırılması; transfosforilasyon ve sinyalleme için esansiyel olan reseptör dimerizasyonunu kolaylaştırıyor gibi görünmektedir çünkü sadece tek bir reseptör bağlanma yerinin bulunduğu mutant dimerler VEGF aktivitesini antagonize etmektedir.³²

Endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonu

Prolifere olan endotel hücreleri, yolları (yolakları) bir kez belli olduktan sonra uzak yerlere göç etmeye başlarlar. VEGF, Plasental büyüme faktörü (PLGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve bunların reseptörleri olan VEGFR2, VEGFR3 ve neuropilin-1 spesifik fonksiyonlara sahiptirler: VEGF ve reseptörü (VEGFR2) embriyonik, patolojik ve neonatal angiogenezi etkiler ancak farklı VEGF isoformlarının yada VEGF ailesi üyelerinin heterodimerlerinin bu süreçte yer almaları konusunda moleküler mekanizmalar tam netleşmemiştir. VEGF120 angiogenezi tek başına başlatabilmekte ancak bu süreci tamamlayamamaktadır.³³ VEGFR3 hem embriyonik angiogenezde yer alır³⁴ hemde patolojik angiogenezde eksprese edilirken, VEGF-C (VEGFR3'ün bir ligandıdır) erişkin patolojilerinde angiogeniktir.³⁵ VEGF-C'nin angiogenik yada lenfangiogenik aktivitesi işlenmesine bağlıdır. VEGFR1'in tirozin kinaz domaini embriyonik angiogenezi bozmamaktadır ancak VEGFR-1'in patolojik angiogenezde aldığı rol belirlenmeyi beklemektedir. Spesifik olarak PLGF'nin (plasenta kökenli büyüme faktörü) kaybı patolojik angiogenezi bozmakta ancak fizyolojik angiogenezi bozmamaktadır. VEGF-B kaybı, koroner okluzyon sonrasında koroner fonksiyonları etkilemektedir.³⁶

VEGF RESEPTÖRLERİ VE BENZERİ ETKİLİ RESEPTÖRLER

1) VEGFR-1 (VEGF RESEPTÖR 1)

VEGFR-1 ve VEGFR-2, yüksek affiniteli VEGF reseptörleridir ve VEGFR-3 ile birlikte reseptör tirozin kinazların flt alt-ailesini oluştururlar. Bu reseptörler, 7 adet ekstrasellüler immunglobulin (Ig)-benzeri domain ve bu domainleri izleyen membran-katedici bir bölge ve korunmuş bir intrasellüler tirozin kinaz domain'i ile bu domain'in arasına giren bir kinaz insert sekansı ile karakterizedir.³⁷

Farelerdeki ekspresyonu erişkinlerde ve embriyolarda endotel hücrelerine sınırlıdır. Bunun dışında ayrıca iyileşmekte olan cilt yaralarındaki neovaskularizasyonda da eksprese edilmektedir. Sessiz (inaktif durumdaki) endotel hücrelerinde olduğu kadar proliferen endotel hücrelerinde de VEGFR-1 mRNA'sının bulunması, bu reseptörün endotelin sürdürülmesinde sürekli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. VEGFR-1 vaskulogenez süresince esansiyeldir: VEGFR-1 oluşturamayan fareler embriyonik dönemde 8,5.nci günde ölmektedir.³⁷

2) VEGFR-2 (VEGF RESEPTÖR 2)

VEGFR-2 (kinaz-insert-domaini-içeren reseptör; KDR olarak da bilinmektedir) 200 – 230 kDa'luk yüksek affiniteli bir VEGF reseptörüdür.⁴¹ Ayrıca VEGF-C ve VEGF-D için de reseptör görevi yapabilmektedir. İnsanlarda, tirozin kinaz reseptörleri için yapılan endotelial cDNA taramaları sırasında tanımlanan bu reseptör, daha önceden keşfedilmiş olan fare fetal karaciğer kinazı-I (flk-1) ile %85 oranında ortak bir sekans kimliğine sahiptir. Endotel hücrelerinde mitogeneze, kemotaksise ve morfolojik değişikliklere yol açar. VEGFR-2 oluşturamayan fareler, endotelial ve hematopoietik prekursorlerin gelişiminde çeşitli defektler göstererek embriyoda 9,5.nci günde ölmektedir.³⁸

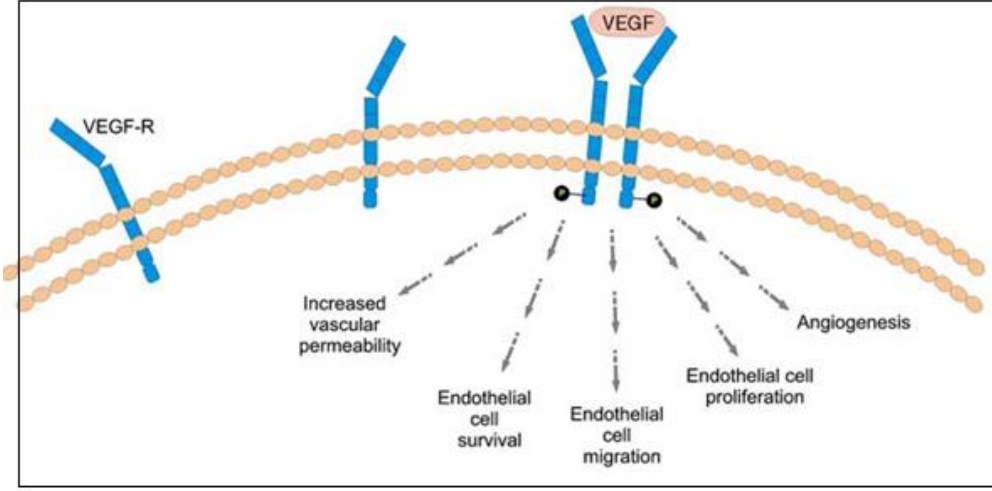
3) VEGFR-3 (VEGF RESAPTÖR 3)

VEGFR-3 (Flt-4) de reseptör tirozin kinazların flt alt-ailesinin bir üyesidir. Ancak bu reseptörün ekspresyonu esas olarak, erişkin dokuların lenfatik endoteline sınırlı gibi gözükmektedir. VEGFR-3, VEGF-C ve VEGF-D'yi bağlar ancak VEGF'yi bağlamaz. Bu reseptörün lenfangiogenezi kontrol ettiği düşünülmektedir.³⁹

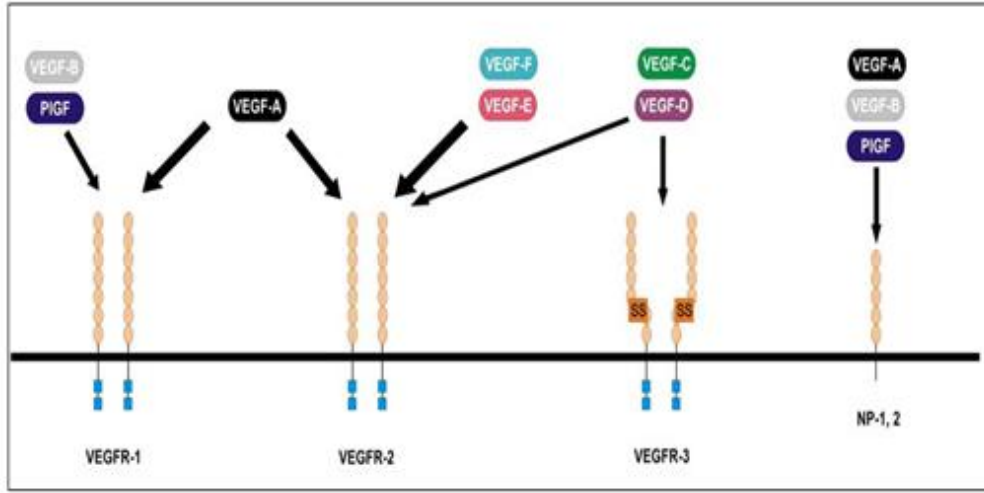
VEGF BENZERİ RESEPTÖRLER

NÖROFİLİNLER

125I-işaretli VEGF kullanılarak yapılan çapraz-bağlantı denemeleri, VEGFR'lere karşılık gelmeyen VEGF reseptörlerinin mevcut bulunduğuna işaret etmektedir. Bu reseptörler, VEGF'nin exon 7 tarafından kodlanan domain'ini tanırlar ve dolayısıyla da VEGF121'e değil ama VEGF165'e bağlanırlar. Bu tür reseptörlerden biri neurophilin-1'dir (NRP-1). NRP-1, collapsin/semaphorin ailesinin belirli üyeleri için nöronal bir reseptör olarak daha önceden karakterize edilmiş olan 120 – 130 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. NRP1'in tümör kökenli hücreler ve endotel hücreleri de dahil olmak üzere çok geniş bir doku dağılımı mevcuttur. Fare embriyolarında yapılan çalışmalar NRP1'in angiogeneze ve vaskulogeneze de bir rolünün olduğunu düşündürmektedir. Aşırı NRP-1 ekspresyonu embriyoda 17,5.ci günde aşırı derecede fazla kan damarları oluşturarak ölüme yol açmaktadır. Bu kan damarları dilate ve hemorajiye yatkın durumdadırlar. NRP1 defektif fareler embriyoda 10,5 – 12,5.cu günler arasında kardiovasküler anomaliler nedeniyle ölmektedir.^{39,40,41}



Şekil 7: VEGF' nin endotel hücre üzerindeki biyolojik etkileri ⁶⁵



Şekil 8: VEGF ligandları ve ilgili reseptörleri ⁶⁵

VEGF RESEPTÖR UYARIMI SONRASI SİNYAL İLETİMİ

VEGF reseptörleri dimerlerden oluşmaktadır. Dimer ara biriminde VEGF'in her bir kutbunda, birbirinden ayrı olan ancak iç-içe geçen, örtüşen VEGFR-1 ve VEGFR-2 bağlanma yerleri mevcuttur. VEGF üzerindeki bu yerlerde bulunan reseptör monomerlerinin etkileşimi reseptör dimerizasyonunu ve buna bağlı olarak transfosforilasyon yoluyla aktivasyonu indüklemektedir. Yani VEGF reseptöre bağlanınca monomerler dimerize olmaktadır ve intraselüler aktivasyon başlamaktadır. VEGFR-1 ve VEGFR-2 ve aynı zamanda oluşan homodimerler de heterodimerize olabilmektedir. sFlt-1 (erimiş haldeki VEGFR1) ve VEGFR-2 sinyalleme-yapmayan kompleksler oluşturabilir. *In vivo* koşullarda endotel hücreleri için mitojenik ve kemotaktik etkili olan PlGF-VEGF heterodimerleri de mevcuttur. ⁴²

VEGFR-2, endotel hücrelerinin VEGF'ye karşı verdiği hemen hemen bütün cevaplara aracılık ediyor gibi görünmektedir. Tam tersine, VEGFR-1 her ne kadar monosit migrasyonunu indükleyebilse de VEGFR-1'e yanıt olarak ortaya çıkan endotel hücre migrasyonu kesin bir şekilde gösterilememiştir. VEGFR-1 stimülasyonuna karşı belirgin endotel hücre yanıtının olmaması bazı kimselerin, VEGFR-1'in esas rolünün VEGFR-2 aracılığıyla oluşan sinyallemeyle engellenerek VEGF'i sekestire eden yalancı bir reseptör olduğu spekülasyonun öne sürülmesine yol açmıştır. Gerçekten de, tirozin kinaz domain'i bulunmayan VEGFR-1 ekspres eden fare embriyoları normal bir gelişim ve angiogenezi sergilerler. Bu farelerde sadece, VEGF-aracılı makrofaj migrasyonu etkilenmektedir.^{41,42}

5. GEREK VE YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (PAÜTF) Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu PAUHDEK-2011/032 numaralı onayı alındıktan sonra çalışmanın yürütülmesi amacıyla Pamukkale Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Koordinasyon Müdürlüğü'nden destek alındı.

Çalışma 30 adet 250-300 g ağırlığında Wistar suşu ratlar üzerinde yapıldı. PAÜTF Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı tarafından sağlanan hayvanlar yine aynı laboratuvarında 'PAÜTF Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı Usul ve İşleyiş Esasları' doğrultusunda bakıldı.

Çalışmanın Yapıldığı Bölümler

PAÜTF Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı: Tüm cerrahi işlemler steril koşullar altında PAÜTF Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Ratlar standart yem ve su ile beslenmiştir. Radyoterapi uygulaması ve cerrahi işlemler sonrasında ratların beslenmesinde sorun olmamıştır. (Resim1)



Resim 1: Ratların, deneysel hayvanlar laboratuvarındaki ortamı

PAÜTF Radyasyon Onkoloji Anabilim Dalı: Ratların, Radyoterapi planlaması ve ışınlama işlemleri PAÜTF Radyasyon Onkoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Radyasyon Uygulamaları

PAÜTF Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda ratlara 6MV enerjili X- ışını ile 2000 cGy doz verildi. Radyasyon verilmeden önce ratların, Bilgisayarlı Tomografi Simülasyonu ile üç boyutlu görüntüleri elde edildi. Tedavi Planlama Sistemi sayesinde ratların sağ toraks cildine verilmek istenen doz, Tıbbi Radyofizik Uzmanı tarafından planlandı.

Işınlama Planı

Işınlama Düzenekinin Hazırlanması

- Tek fraksiyonda ve aynı anda 3 adet ratın ışınlanması planlandı.
- Ratlar, doz dağılımına olumsuz etki yaratmayan bir köpük üzerinde ışınlandı. X- ışınlarının masadan geri saçılmasını engellemek amacıyla köpük altında 5 cm kalınlıkta dokuya eşdeğer fantom kullanıldı.
- Işın alanı, 30x4 cm² olacak şekilde açıldı.
- Radyasyon dozunu cilt üzerinde yoğunlaştırmak ve iç organlara ulaşan dozu azaltmak amacıyla 1,5 cm kalınlıkta dokuya eşdeğer 'Bolus' materyali kullanıldı. (Resim 2)
- Bolus materyali ratların sağ toraks cildi üzerine gelecek şekilde yerleştirildi. (Resim 3)



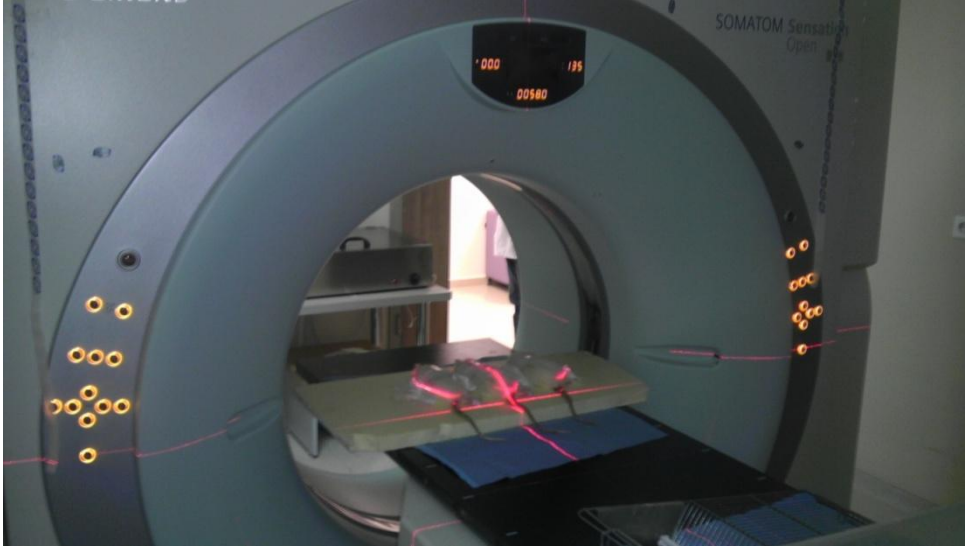
Resim 2: Bolus materyali



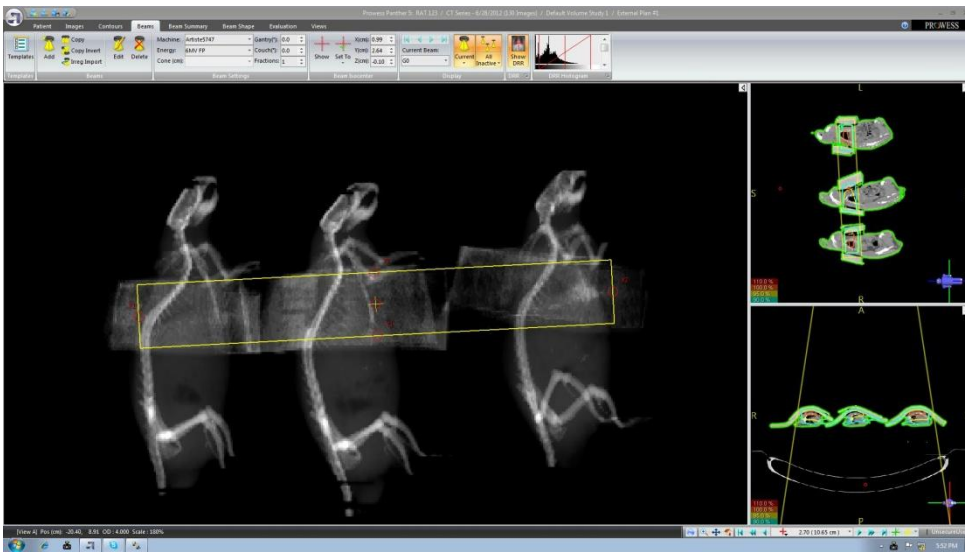
Resim 3: 1,5 cm kalınlığında Bolus materyalinin ratların üzerine yerleştirilmesi

Ratlara Verilecek Radyasyon Dozunun Belirlenmesi

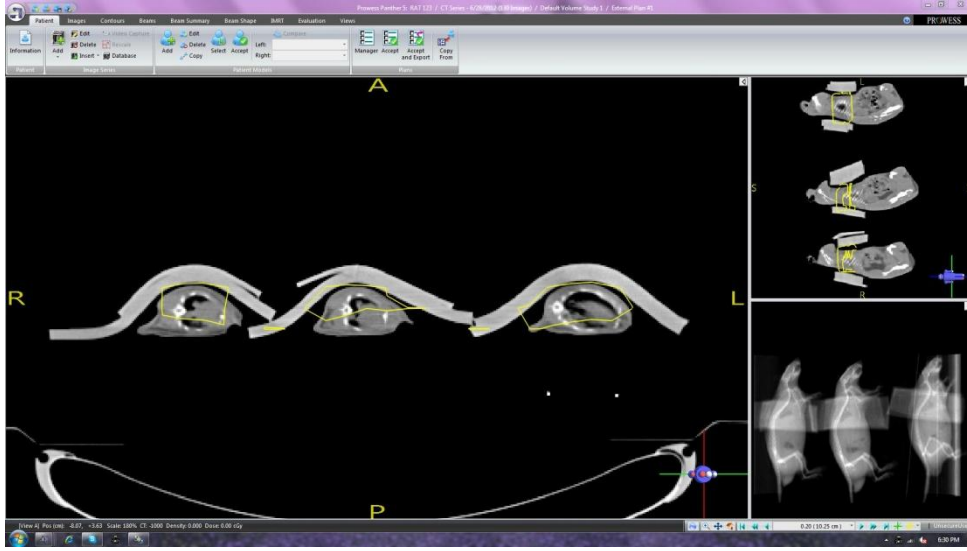
- Ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi altında Bilgisayarlı Tomografi (BT) görüntüleri alındı.(Resim 4-5)
- BT görüntüleri üzerinden Prowess Panther 5.1 Tedavi Planlama Sistemi ile üç boyutlu doz dağılımı oluşturuldu. (Resim 6)



Resim 4: Ratların, BT simülasyon cihazına yerleştirilerek görüntülerinin alınması



Resim 5: Ratların, BT kesitlerinden elde edilmiş olan Dijital Radyografi görüntüsü



Resim 6: Prowess Panther 5.1 Tedavi Planlama Sistemi ile elde dilmış olan 2000cGy' lik doz dağılımı

- 6 MV'lık X-ışını altında 1,5 cm kalınlığında Bolus üzerinde Kaynak-Cilt mesafesi (SSD), 98.5 cm iken ratların sağ toraks cildinde 2000 cGy doz oluşturan bir plan elde edildi.
- 6 MV'lık X-ışını üreten Siemens marka *ARTISTE* model lineer hızlandırıcı ile ışınlama yapıldı.

Ratların Işınlanması

Ratların Işınlanmaya Hazırlanması

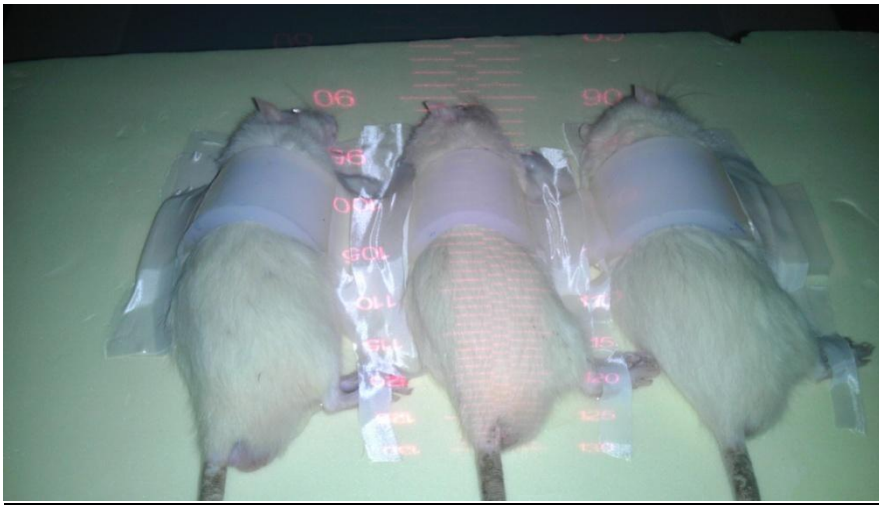
- Ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Anestezi altında ratların sağ toraks ve sırt bölgeleri tıraşlandı.
- Süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında kalan 4x7 cm boyutlarındaki flep sahası çizim kalemiyle işaretlendi.
- Işın alanı içine 3 adet rat yerleştirildi.



Resim7: Ratların, ışınlama öncesi lineer hızlandırıcı cihazına yerleştirilmesi

Ratların Işınlanması

- Anestezi altındaki ratlar, Siemens ARTISTE lineer hızlandırıcının tedavi masasına yerleştirildi. (Resim 7)
- Ratların üzerine 1,5 cm kalınlığındaki Bolus materyali koyuldu.
- Kaynak-cilt mesafesi (SSD), 98,5 cm olacak şekilde masa yüksekliği ayarlandı. (Resim 8)
- Işın alanı izosentride $30 \times 4 \text{ cm}^2$ olacak şekilde açıldı ve ratların ışınlama pozisyonları ayarlandı.



Resim 8: Işın alanı: $30 \times 4 \text{ cm}^2$; SSD:98,5 cm

- Lineer hızlandırıcı, 6 MV enerjili X-ışınları ile planlama sonucu 2000 cGy'e karşılık gelen 1900 MU (Monitor Unit) verecek şekilde ayarlandı.
- Anestezi etkisinin azalmasına bağlı hareket etme riski olan ratlar bu süre içinde kameradan takip edildi.
- Tıraşlanma nedeniyle vücut ısıları düşen ratlar, anestezi süresi geçene kadar (yaklaşık 4 saat) ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.
- Anestezi etkisinin geçmesi ardından ratlar laboratuardaki ortamlarına yerleştirildi.

Cerrahi İşlemler

Cerrahi işlemler steril koşullarda PAÜTF Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

- Ratlar, hipotermiden korunmak amacıyla cerrahi işlemler sonrası anestezi etkisi azalana kadar ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.

Sağ toraks arkası cilt flebinin kaldırılması

- Tüm cilt insizyonları ışıklı gruplarda 7 gün sonra gerçekleştirildi.
- Ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Anestezi altında ratların sağ toraks ve sırt bölgeleri tıraşlanarak cerrahi yapılacak saha ortaya çıkarıldı. (Resim 9-10)
- Cilt kalemi ile süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında yer alan 4x7 cm'lik insizyon hattı işaretlendi. (Resim 11)
- Cerrahi yapılacak alanda Polyvinylpyrolidone iod (batticon solüsyon) ile lokal saha temizliği yapıldı.
- Flebin kranial, kaudal ve medial kenarları kesilip, deri ve pannikulus karnosusu içerecek şekilde 4x7 cm'lik sahaya künt diseksiyon yapıldı. Flebin alt yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının dağılımı görüldü. (Resim 12)
- Grup 1'de kaldırılan cilt flepleri tekrar aynı sahaya 3/0 prolene ve 3/0 ipekle kontinyu suture edildi. (Resim 13)

- Grup 2’de (20 Gy radyoterapi almış) kaldırılan cilt fleplerinin tabanında yer alan lateral torasik arter dallarının etrafına 1 cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonu yapıldı. Sonrasında flepler aynı alana 3/0 prolene ve 3/0 ipekle kontinyu suture edildi.
- Grup 3’de (20 Gy radyoterapi almış) kaldırılan cilt fleplerinin tabanında yer alan lateral torasik arter dallarının etrafına 1 mikrogram VEGF 165 aa /1 cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) infiltrasyonu yapıldı. Sonrasında flepler aynı sahaya 3/0 prolene ve 3/0 ipekle kontinyu suture edildi.
- Cerrahinin 7. günü tüm ratların flepleri suturasyon hattının etrafından total olarak eksize edildi.



Resim 9: Işın almayan ratın cilt görüntüsü



Resim 10: Işınlamadan bir hafta sonraki ratın cilt görüntüsü



Resim 11: Cerrahi öncesi işaretlenmiş 4x7 cm.lik sağ toraks arkası flep alanı



Resim 12: Sağ toraks arkası cilt flebinin kaldırılması

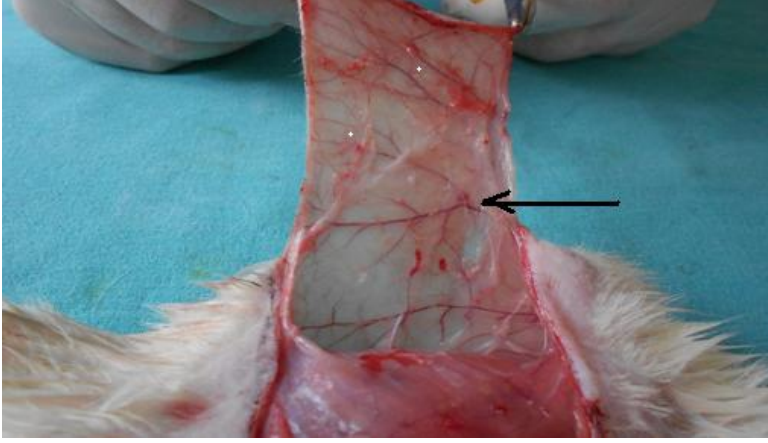


Resim 13: Sağ toraks arkası cilt flebinin suturasyonu

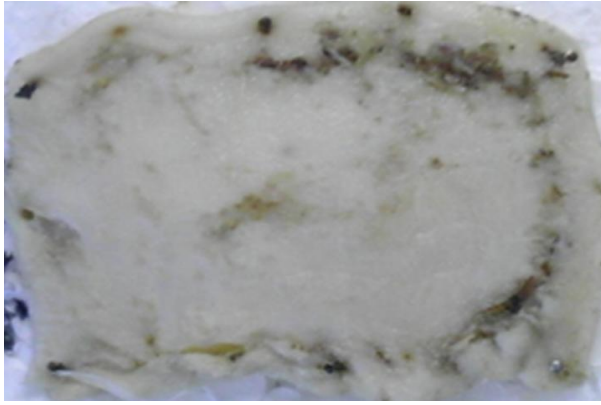
Gruplar

Grup 1

- On adet 250-300 g ağırlığında Wistar ratlardan oluşmuştur.
- Grup 1' de yer alan ratlar, sağ toraks arkası cilt flebinde yer alan değişikliklerin gösterilmesi ve grup 2 ve grup 3 ile kıyaslanması amacıyla dahil edilmiştir.
- Ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Anestezi altında ratların sağ toraks ve sırt bölgeleri tıraşlanarak cerrahi yapılacak saha ortaya çıkarıldı.
- Cilt kalemi ile süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında yer alan 4x7 cm'lik insizyon hattı işaretlendi.
- Cerrahi yapılacak alanda Polyvinylpyrolidone iod (batticon solüsyon) ile lokal saha temizliği yapıldı.
- Flebin kraniyal, kaudal ve medial kenarları kesilip, deri ve pannikulus karnosusu içerecek şekilde 4x7 cm .lik sahaya küt diseksiyon yapıldı. Flebin alt yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının dağılımı görüldü.(Resim 14)
- Grup 1'de kaldırılan sağ toraks arkası cilt fleplerinin tümü tekrar aynı sahaya kontinyu 3/0 prolene ve 3/0 ipekle suture edildi.
- Cerrahi sahaya Polyvinylpyrolidone iod (batticon solüsyon) ile pansuman yapıldı.
- Tıraşlanma nedeniyle vücut ısıları düşen ratlar, anestezi süresi geçene kadar (yaklaşık 4 saat) ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.
- Cerrahinin 7. günü tüm ratların cilt flepleri suturasyon hattının etrafından total olarak eksize edildi. (Resim 15)
- Flep eksizyonlarının tamamlanması sonrası ratların tümü sakrifiye edildi.



Resim 14: Grup 1 Işınlama yapılmamış - Sağ lateral torasik arter (ok ile işaretli)



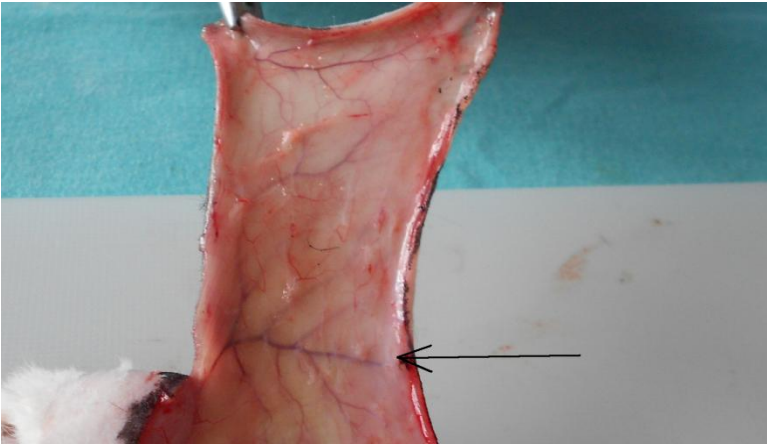
Resim 15: Grup 1 Işınlama yapılmamış - sağ toraks arkası cilt flebinin etrafındaki sağlam dokuyla eksize edilerek köpük üzerine iğnelerle tespiti

Grup 2

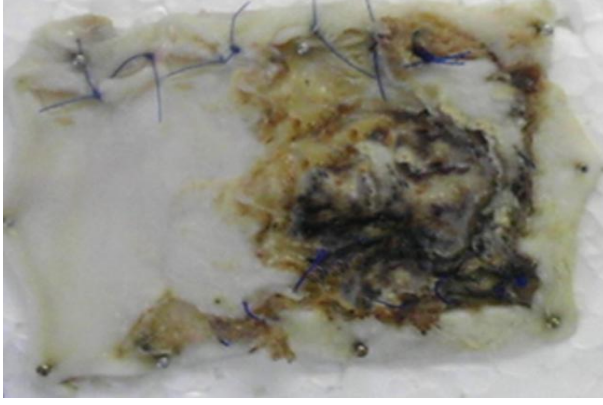
- On adet 250-300 g ağırlığında Wistar ratlardan oluşmuştur.
- Ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Anestezi altında ratların sağ toraks ve sırt bölgeleri tıraşlandı.
- Cilt kalemi ile süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında yer alan 4x7 cm'lik insizyon hattı işaretlendi.
- Grup 2'de yer alan ratlar 3-3-2-2 şeklinde gruplanarak Siemens ARTISTE lineer hızlandırıcının tedavi masasına yerleştirildi.

- Sol dekübit pozisyonunda yer alan ratların üzerine 1,5 cm kalınlığındaki Bolus materyali 4x7 cm' lik alanı örtecek şekilde yerleştirildi.
- Kaynak-cilt mesafesi (SSD) 98,5 cm olacak şekilde masa yüksekliği ayarlandı.
- Işın alanı izosentride 30x4 cm² olacak şekilde açıldı ve ratların ışınlama pozisyonları ayarlandı.
- Lineer hızlandırıcı, 6 MV enerjili X-ışınları ile planlama sonucu 2000 cGy'e karşılık gelen 1900 MU (Monitor Unit) verecek şekilde ayarlandı.
- Anestezi etkisinin azalmasına bağlı hareket etme riski olan ratlar bu süre içinde kameradan takip edildi.
- Tıraşlanma nedeniyle vücut ısıları düşen ratlar, anestezi süresi geçene kadar (yaklaşık 4 saat) ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.
- Anestezi etkisinin geçmesi ardından ratlar laboratuardaki ortamlarına yerleştirildi.
- Işınlanmış ratlar 7 gün süreyle takip edildi.
- 7 günlük sürenin sonunda tekrar ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Ratların cildi tıraşlanarak cerrahi yapılacak saha ortaya çıkarıldı.
- Cilt kalemi ile süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında yer alan 4x7 cm'lik insizyon hattı işaretlendi.
- Cerrahi yapılacak alanda Polyvinylpyrolidone iod (batticon solüsyon) ile lokal saha temizliği yapıldı.
- Flebin kranial, kaudal ve medial kenarları kesilip, deri ve pannikulus karnosusu içerecek şekilde 4x7 cm' lik sahaya künt disseksiyon yapıldı. Flebin alt yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının dağılımı görüldü.(Resim 16)
- Grup 1 ile kıyaslandığında, ışınli sahada sağ toraks arkası cilt flebinin disseksiyon işlemi esnasında pannikulus karnosusun tabanında yaygın fibrotik dokular sebebiyle disseksiyon esnasında güçlüklerle karşılaşıldı.

- Flebin alt yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının grup 1 ile kıyaslandığında sklerotik ve frajil olduğu görüldü.
- Cilt fleplerinin tabanında yer alan sağ lateral torasik arter ve dalları etrafına 1cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonu yapıldı. Sonrasında flepler kaldırıldıkları sahaya 3/0 prolene ve 3/0 ipekle kontinyu suture edildi.
- Bu işlem Grup 2' de yer alan her bir rat için uygulandı.
- Cerrahi sahaya Polyvinylpyrrolidone iod (batticon solüsyon) ile pansuman yapıldı.
- Tıraşlanma nedeniyle vücut ısıları düşen ratlar, anestezi süresi geçene kadar (yaklaşık 4 saat) ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.
- Cerrahinin 7. günü tüm ratların cilt flepleri suturasyon hattının etrafından total olarak eksize edildi. (Resim 17)
- Flep eksizyonlarının tamamlanması sonrası ratların tümü sakrifiye edildi.



Resim 16: Grup 2 ışılama yapılmış - sağ lateral torasik arter (ok ile işaretli)
Flep tabanında yaygın fibrozis



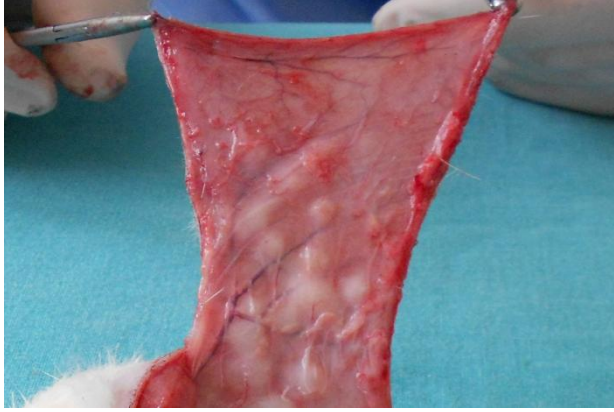
Resim 17: Grup 2 Işınlama yapılmış - sağ toraks arkası cilt flebinin etrafındaki sağlam dokuyla eksize edilerek köpük üzerine iğnelerle tespiti

Grup 3

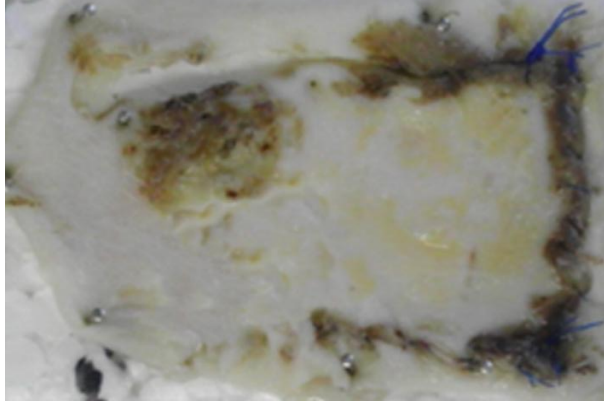
- On adet 250-300 g ağırlığında Wistar ratlardan oluşmuştur.
- Ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Anestezi altında ratların sağ toraks ve sırt bölgeleri tıraşlandı.
- Cilt kalemi ile süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında yer alan 4x7 cm'lik insizyon hattı işaretlendi.
- Grup 2'de yapılan düzenlemenin aynısı olacak şekilde ratlar 3-3-2-2 gruplandı ve Siemens ARTISTE lineer hızlandırıcınınin tedavi masasına yerleştirildi.
- Sol dekübit pozisyonunda yer alan ratların üzerine 1,5 cm kalınlığındaki Bolus materyali 4x7 cm' lik alanı örtecek şekilde yerleştirildi.
- Kaynak-cilt mesafesi (SSD), 98,5 cm olacak şekilde masa yüksekliği ayarlandı.
- Işın alanı izosentrda 30x4 cm² olacak şekilde açıldı ve ratların ışınlama pozisyonları ayarlandı.
- Lineer hızlandırıcı, 6 MV enerjili X-ışınları ile planlama sonucu 2000 cGy'e karşılık gelen 1900 MU (Monitor Unit) verecek şekilde ayarlandı.
- Anestezi etkisinin azalmasına bağlı hareket etme riski olan ratlar bu süre içinde kameradan takip edildi.

- Tıraşlanma nedeniyle vücut ısıları düşen ratlar, anestezi süresi geçene kadar (yaklaşık 4 saat) ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.
- Anestezi etkisinin geçmesi ardından ratlar laboratuardaki ortamlarına yerleştirildi.
- Işınlanmış ratlar 7 gün süreyle takip edildi.
- 7 günlük sürenin sonunda tekrar ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi yapıldı.
- Ratların cildi tıraşlanarak cerrahi yapılacak saha ortaya çıkarıldı.
- Cilt kalemi ile süperior kısmı skapula alt ucu, aşağıda toraks alt kenarı, medialde sırt orta çizgisi, lateralde ön koltuk altı çizgisi arasında yer alan 4x7 cm' lik insizyon hattı işaretlendi.
- Cerrahi yapılacak alanda Polyvinylpyrolidone iod (batticon solüsyon) ile lokal saha temizliği yapıldı.
- Flebin kraniyal, kaudal ve medial kenarları kesilip, deri ve pannikulus karnosusu içerecek şekilde 4x7 cm'lik sahaya künt disseksiyon yapıldı. Flebin alt yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının dağılımı görüldü.
- Grup 1 ile kıyaslandığında, ışınli sahada sağ toraks arkası cilt flebinin disseksiyon işlemi esnasında pannikulus karnosusun tabanında yaygın fibrotik dokular sebebiyle flep disseksiyonu esnasında güçlkle karşılaşıldı.
- Flebin alt yüzünde bulunan lateral torasik arter dallarının grup 1 ile kıyaslandığında sklerotik ve frajil olduğu görüldü.
- Cilt fleplerinin tabanında yer alan sağ lateral torasik arter ve dalları etrafına 1 mikrogram VEGF-165aa /1 cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonu yapıldı. Sonrasında flepler kaldırıldıkları sahaya 3/0 prolene ve 3/0 ipekle kontinyu suture edildi. (Resim 18)
- Bu işlem Grup 3' te yer alan her bir rat için uygulandı.
- Cerrahi sahaya Polyvinylpyrolidone iod (batticon solüsyon) ile pansuman yapıldı.

- Tıraşlanma nedeniyle vücut ısıları düşen ratlar, anestezi süresi geçene kadar (yaklaşık 4 saat) ışık kaynağı altında ısıtılarak hipotermiden korundu.
- Cerrahinin 7. günü tüm ratların cilt flepleri suturasyon hattının etrafından total olarak eksize edildi. (Resim 19)
- Flep eksizyonlarının tamamlanması sonrası ratların tümü sakrifiye edildi.



Resim 18: Grup 3 ışınlama yapılmış - sağ lateral torasik arter etrafına 1 mikrogram VEGF-165aa /1 cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonu



Resim 19: Grup 3 ışınlama yapılmış ve sağ lateral torasik arter etrafına 1 mikrogram VEGF -165aa /1 cc %0,9 NaCl (Sodyum Klorür) sıvısı infiltrasyonundan 7 gün sonra cilt flebinin etrafındaki sağlam dokuyla eksize edilerek köpük üzerine iğnelerle tespiti

Değerlendirmeler:

Klinik ve istatistiksel olarak alınmış olan kayıtlar birbirleriyle karşılaştırıldı. Klinik değerlendirme amacıyla 4x7 cm lik flep alanı içerisinde nekrotik alanın tüm flep alanına oranlaması göz önüne alındı. Veriler (Tek Yönlü ANOVA, Post Hoc Bonferoni testi) ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

1. Yüzey Alan Değerlendirmesi

Grup 2 ve grup 3'te yer alan sağ toraks ve sırt bölgesine tek fraksiyonda 2000 cGy 6 MV'lik X-ışını uygulanan ratlarda, grup 1'de yer alan ratlardan farklı olarak ciltlerinde renk değişiklikleri, kıllanmada azalma ve atrofik görüntüler dikkat çekmiştir. Cilde uygulanan radyoterapinin etkisiyle Grup 2 ve grup 3'te sağ toraks arkası 4x7 cm boyutlarındaki cilt fleplerinin disseksiyon işlemi esnasında yaygın fibrotik dokular sebebiyle disseksiyonda güçlükle karşılaşıldı. Postoperatif ikinci günden itibaren grup 2'de daha belirgin olmak üzere grup 2 ve grup 3 flep yüzeylerinde solukluk ve nekrozlar izlendi. Beşinci günden itibaren radyoterapinin oluşturduğu azalmış vaskülarite ve kan akımına bağlı grup 2 ve grup 3'te nekroz gelişimi ve demarkasyon hatları belirginleşmeye başladı. Postoperatif yedinci günde fleplerde oturmuş olan nekroz alanları görüldü.

Postoperatif 7. gün anestezi altındaki tüm ratlar sakrifiye edildi.

Sakrifikasyon Protokolü:

- Gruplarda açıklandığı gibi ratlar cerrahi işlemden 7 gün sonra sakrifiye edildiler.
- Sakrifikasyon işlemi sırasında flepteki kanlanmayı gözlemlemek için ratlara 50 mg/kg Ketalar (Ketamin) + 10 mg/kg Ksilazol (Ksilazin) ile anestezi uygulandı.
- Makroskobik olarak ciltteki değişiklikler incelendi.
- Anestezi sonrası ratların sağ toraks ve sırt bölgeleri tıraşlanarak flep etrafında yer alan sağlam alan ortaya çıkarıldı.
- 4x7 cm'lik flep insizyon hattı etrafında 1 cm lateralleri işaretlendi.
- İşaretlenen yerden pannikulus karnosusu içerecek şekilde insizyon yapıldı. Künt disseksiyonla lateral torasik arter ve dallarının dağılımı görülecek şekilde cilt flebi kaldırıldı.
- Eleve edilen flebin kanlanması ve kapiller damarların yoğunluğu incelendi.

- Transillüminasyonda kapiller damarlanmada belirgin artış değerlendirildi.
(Resim20)
- Flep eksizyonu tamamlandıktan sonra tüm ratlara servikal dislokasyonla ötenazi uygulandı.
- Alınan flepler köpük bloklar üzerine iğnelendi. (Resim21)
- Köpük bloklar üzerinde yer alan fleplerin ve nekroz alanlarının, aydıngeer kağıdı ile iz düşümü çıkarıldı.
- Aydıngeer kağıdı üzerinde yer alan flep ve nekroz alanları milimetrik kağıt ile ölçüldü.
(Resim22)
- Değerler santimetrekare ve yüzde alan olarak ifade edildi. Fleplerde şüpheli olarak görülen alanlar nekrotik olarak değerlendirildi.

2. İstatistiksel Değerlendirme

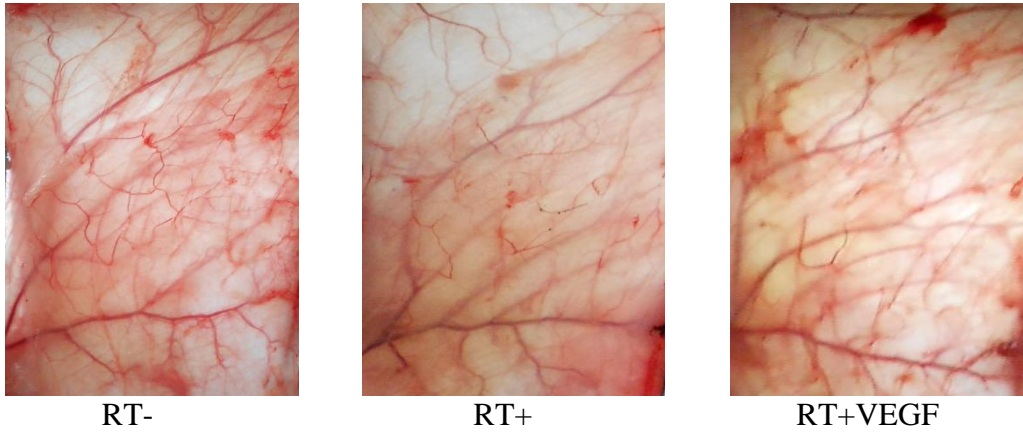
Çalışmada elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizleri ve tanımlayıcı özellikleri değerlendirildi. Verilerin ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak sayısal değerleri ile birlikte verildi. İstatistiksel analiz için tanımlayıcı testlerden Tek Yönlü ANOVA, Post Hoc Bonferoni testi, her iki grup açısından istatistik anlamlılıkta p değerinin 0,05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi. Tüm istatistiksel testlerin analizinde SPSS programı kullanıldı.

6. BULGULAR

1. Yüzey Alan Değerlendirme Sonuçları

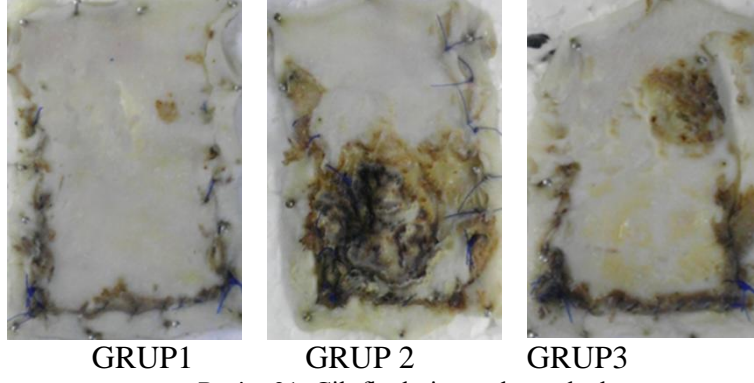
20 Gy radyoterapi uygulanan ciltte insan kaynaklı VEGF-165 aa'in etkisini araştıran bu çalışmada fleplerde saptanan ortalama nekroz oranları, grup 1' de %7.17, grup 2'de %28.45, grup 3'te %9.59 olarak bulundu. (tablo 1)

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Her grup birbirleri ile karşılaştırıldı. Grup 1 – 2 (p=0,001) ve grup 2 – 3 (p=0,002) arasında nekroz oranları ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı. Grup 1-3 nekroz oranları ortalaması birbirinden farklı olsada istatistiksel olarak anlamlı değildi.



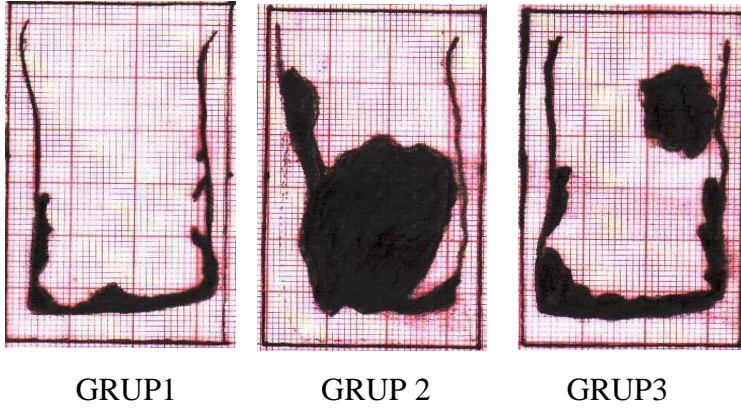
Resim 20: Transillüminasyonda kapiller damarlanmada belirgin artış

Her üç gruptan birer rat seçilerek lateral torasik arter pediküllü fasyakutan flepler kaldırıldıktan sonra transillüminasyonda değerlendirildi. Radyoterapiye bağlı olarak grup 2' de progresif kan damarlarının kaybı ve hipovasküler alanlar mevcutken grup 3'te, eş zamanlı pedikül etrafına uygulanan insan kaynaklı VEGF-165 aa etkisine bağlı olarak damarlanmada artış izlendi.



Resim 21: Cilt flepleri ve nekroz alanları

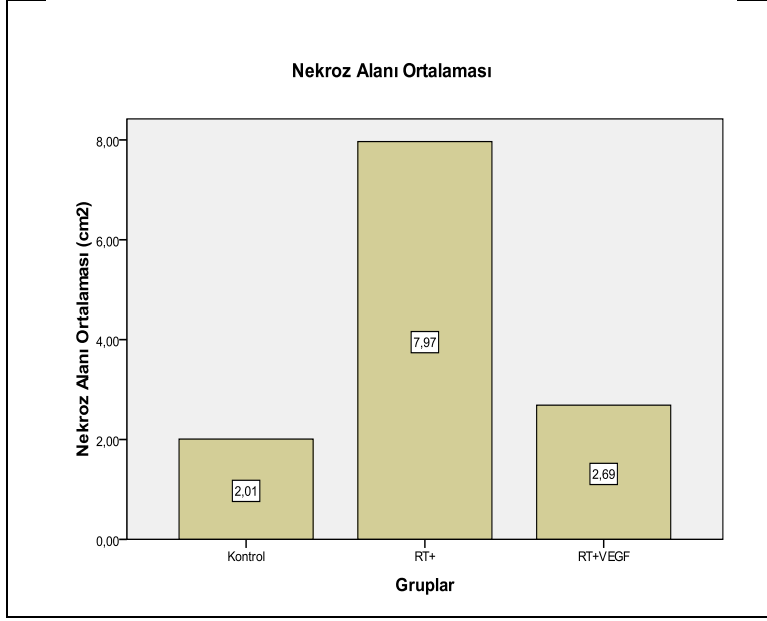
Cilt flepleri, etraflarında yer alan 1 cm'lik sağlam dokuyla birlikte total olarak eksize edildi. Alınan bu flepler köpük bloklar üzerine yaydırılarak iğnelendi. Köpük bloklar üzerinde yer alan fleplerin ve nekroz alanlarının, aydınır kağıdı ile iz düşümü çıkarıldı. Milimetrik kağıt ile ölçümler yapıldı.



Resim 22: Aydınır kağıdı ile iz düşümleri

Tablo 1: Gruplarda, flep nekroz alanı, oranı ve standart sapmaları

Gruplar	Nekroz(cm2)	Yüzde(%)
GRUP-1		
KONTROL GRUBU	4.45	15.89
	4.50	16.07
	1.55	5.53
	1.27	4.53
	1.27	4.53
	1.40	5.00
	1.90	6.78
	0.58	2.07
	1.90	6.78
1.27	4.53	
Toplam	20.09	%7.17
ortalama±SD	2,00±1,35	
GRUP-2		
RADYOTERAPİ GRUBU	18.66	66.64
	5.13	18.32
	15.90	56.78
	4.90	17.50
	6.04	21.57
	2.54	9.07
	4.66	16.64
	5.65	20.17
	8.61	30.75
7.58	27.07	
Toplam	79.67	%28.45
ortalama±SD	7,96±5,21	
GRUP-3		
RADYOTERAPİ + İNSAN KAYNAKLI VEGF GRUBU	2.33	8.32
	2.40	8.57
	1.68	6.00
	2.58	9.21
	2.33	8.32
	3.52	12.57
	3.20	11.42
	4.00	14.28
	2.94	10.50
	1.90	6.78
Toplam	26.88	%9.59
ortalama±SD	2,68±0,72	



Şekil 9: Grupların nekroz oranlarının ortalamasının karşılaştırılması

Nekroz alanı ortalaması açısından 2. grup ile 1. grup ve 3. grup arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tek yönlü ANOVA Post-Hoc Bonferoni testi). Grup 1-2 için $p=0,001$, grup 2-3 için $p=0,002$. (Şekil 9)

Bu sonuçlara göre, preoperatif dönemde radyoterapi uygulanan grup 2’de radyoterapi uygulanmayan grup 1 göre nekroz alanı ortalaması daha yüksek olduğu görüldü. Hem radyoterapi hemde VEGF-165aa uygulanan grup 3’ te, grup 2’ ye kıyasla nekroz alanı ortalamasında belirgin azalma izlendi ve grup 1 değerine yaklaştığı görüldü. Grup 2’ ye göre grup 3’ teki bu azalma VEGF-165 aa’in flep üzerine koruyucu etkisine bağlandı.

7.TARTIŞMA

Yeryüzündeki tüm canlılar, ömürleri boyunca sürekli olarak, doğal ya da yapay radyasyon kaynaklarından yaşadıkları çevreye yayılan iyonlaştırıcı radyasyonların etkisi altındadırlar. Bu sebeple, radyasyonla canlı sistemler arasındaki etkileşimlerin anlaşılması büyük önem taşır. XX. yüzyılın başından itibaren değişik radyasyon dozları uygulamaları ve canlı kalabilen hücrelerin sayısını gösteren sağ kalım eğrileri, radyasyonun etki mekanizması hakkında sonuçlara varılmasını sağlamış günümüz uygulamalarına temel oluşturmuştur. Lineer hızlandırıcıların radyoterapi uygulamalarına girmesi, radyasyonun yüzeysel bölgelere planlanan dozda uygulanabilme imkanı vermiş ve bu cihazlarla, BT ile görüntüleme ardından planlama yapılarak yüzeysel 6 cm. derinliğe kadar yerleşmiş malignitelerin tedavisinde istenilen dozda radyasyon verme imkânı sağlamıştır.^{1,4,5}

Işınlamaya bağlı bir yara, genellikle ışınlamaya bağlı olmayan bir yara kadar iyileşme göstermez. Bu nedenle, böyle hastaların yarasının tedavisi için sıklıkla plastik cerrahlara başvurulur. Genellikle ışınlanmış iki farklı hasta grubunun tedavisi için başvurulur. Birinci grupta operasyon ve radyoterapiyi birleştirilerek uygulanır. Cerrahi tümörün mümkün olduğunca çıkarmaya çalışır. Daha sonra tümör yataklarına ve kanser hücrelerinin sıçrayabileceği komşu alanlara doğrudan yüksek doz verilir. Operasyon ve radyoterapiyi birleştirilerek yapılan bu uygulamaya intra-operatif tedavi denir. İkinci grup daha önce radyoterapi almış olup yinelemiş bir tümör veya yeni bir tümöre sahip olan hastalardan oluşmaktadır.¹⁰

Intraoperatif radyoterapi hariç, tüm radyasyon tedavileri ve radyasyon yaralanmalarının da çoğu, zorunlu olarak deriyi ilgilendirmektedir. İyonize radyasyonun dokularda oluşturduğu biyolojik etkiler rad veya Gray ile ölçülür. Rad, 1 gram dokuya 100 erg enerji taşıyan ışınım miktarıdır. 1 Gray 100 rad'a eşittir.^{3,45}

Derinin radyasyona cevapları ile bunların dereceleri çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunların fiziksel ve biyolojik olmak üzere başlıca iki gruba ayırmak mümkündür. Doz, doz hızı, fraksiyonasyon ve uygulanan radyasyonun kalitesi gibi kriterler fiziksel faktörleri, radyasyon uygulanan derinin vücuttaki lokalizasyonu ile yaş gibi kriterler ise biyolojik faktörleri oluştururlar. Bu faktörlere bağlı olarak, deride minimum düzeyde değişiklikler ile total nekrozlar arasındaki çeşitli derecelerde hasarlar oluşur ve bu hasarların derecesine göre, onarım olayları da hızlı ve tam olarak gerçekleşir ya da mümkün olamaz.¹ Kıl köklerinde radyoterapiye çok duyarlıdır ve duyarlılık derecelerinin kıl büyüme hızı ile doğru orantılı olduğu da saptanmıştır. 4-5 Gy civarındaki ışınlamalardan sonraki birkaç hafta içinde saç ve

sakallarda dökülme meydana gelir. Bu dozlarda, dökülen saçlar 1-2 ay sonra tekrar çıkar. Ancak 7 Gy ve üstündeki dozlarda depilasyon sürekli dir. Baltalarlı ve ark.⁴⁶ 2006 yılında ratlarda yaptıkları çalışmada, radyoterapiye bağlı kıl kökü hasarı oluşturmuş ve Vit-D3 'ün kıl kökü üzerine koruyucu etkisini göstermişlerdir. Bağ dokusu genel olarak radyasyona geç cevap verir. Hasar boyutu bölünmüş doz miktarıyla orantılıdır. 200 cGy üzerindeki dozlarda fibrozis ve atrofi görülebilir. Tam doz radyasyon ile endotel hücreleri mezenkimal hücreler ve epitel hücrelerinin çoğalma yeteneği kaybolur. Geç devrede epidermal-dermal atrofi, vaskülarizasyonda azalma, fibrozis ve hatta doku yıkımı ile nekroz oluşabilir.^{5,47}

Aksiyel tasarımı flepler, plastik ve rekonstrüktif cerrahide oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Random tasarımı fleplerin aksine flebin içinde boylu boyunca seyreden spesifik direkt kutanöz arter yani tanımlanmış anatomik arteryel-venöz damarlar içerirler. Anatomi alanındaki gelişmeler aksiyel fleplerinin güvenilirliğini arttırmıştır. Herhangi bir nedenle flep dolaşımı olumsuz etkilendiği zaman flepte kısmen veya total nekrozlar gelişebilmekte, bu durum hem hasta hem de cerrah açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu tür fleplerin yaşayabilirliğinde en önemli etken flebin pedikülünün korunmasıdır. Flep dolaşımının bozulduğu durumlarda doku oksijen seviyesinin düşmesine bağlı olarak, hücre içi metabolizma aerobikten anaerobiğe döner. Bu, membran transport mekanizmasını bozacak olan laktat birikimine, hücredeki pH seviyesinin düşmesine ve iyonik pompalardaki ATP depolarının boşalmasına neden olur. Dolaşım normale dönüp dokuya tekrar oksijen girmesi ile birlikte serbest oksijen radikali oluşumu meydana gelir.⁴⁸ Serbest oksijen radikallerinin protein, karbonhidrat ve yağ içeren bütün hücre yapılarına toksik etkileri vardır. Daha da önemlisi, meydana gelecek endotelial hasar, trombosit ve nötrofillerin damar duvarına yapışmasına yol açacak, bu da pıhtılaşma sürecini başlatacaktır.

49

Radyasyonun ciltte oluşturduğu hipovasküler ve hiposellüler ortam göz önüne alındığında aksiyel tasarımı fleplerde de dolaşım problemi olabileceği akla gelmektedir. Flep sağkalımında tüm bu basamaklar göz önüne alındığında, kullanılacak olan ajanın bu mekanizmaların bir veya birkaçını etkileyebilecek potansiyelde olması gerekir.

Plastik ve rekonstrüktif cerrahinin sıkça yaptığı malign sebepli baş-boyun cerrahisi operasyonları sonrasında tümörün sınır pozitifliğinin (devamlılığı) veya lokal nükslerinin önüne geçmek için cerrahi yaranın iyileşmesini takiben radyasyon onkolojisi tarafından

cerrahi alana radyoterapi uygulanması tercih edilebilmektedir. Radyoterapinin etkilerine veya lokal tümör nükslerine bağlı cerrahi sahada kronik yaralar gelişebilmektedir. Bu durumda açık yaraların kapatılması amacıyla basit, kullanışlı , uygulanabilirliği kolay lokal fasyokutan flepler planabilir. Fakat radyoterapi sahasında sağlam dokularda hasar görmektedir. Buda yapılacak lokal fasyokutan flep cerrahisini engellemekte veya güvenilirliğini azaltmaktadır. Çünkü iyonize radyasyon endotelial hücre hasarına neden olur ve dokularda ilerleyici obliterasyon, kapiller sayısında azalma meydana gelir.⁵⁰

Radyasyon sonrası karşımıza sıklıkla çıkan radyoterapiye bağlı kronik yaraların temel nedenlerinden biri fibroblastların etkilenmesidir. Dermal fibroblastların etkilenmesi ve fibroblastların proliferasyonunun ve migrasyonunun azalması sonucunda yeterli ve efektif kollajen üretilmemekte, kollajen gen ekspresyonu azalmakta, kollajen matürasyonu gecikmekte ve fibroblastlardan VEGF, TGF- β , FGF, IGF-1 ve CTGF gibi büyüme faktörlerinin salınımı yetersiz olmaktadır.^{51,52}

Büyüme faktörleri epitelizasyon, anjiogenezis ve kollajen metabolizmasını düzenleyerek hücre proliferasyonu ve migrasyonunu sağlar. Böylece yara iyileşmesine katkıda bulunur. Büyüme faktörleri fibroblast hücreleri tarafından üretilir. Farklı klinik durumlarda, büyüme faktörleri yara iyileşmesini değiştirir. İki major büyüme faktörü olan Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve transforming büyüme faktörü (TGF-B1) yara iyileşmesinde direk etki eder. Anjiogenik etkili olan major büyüme faktör proteinlerinden biri vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF). Vasküler endotelial büyüme faktörü homodimerik, heparin-binding glikoproteindir (45 kDA)⁵³⁻⁵⁶ Fibroblastlarında bulunduğu birçok hücre tarafından üretilir. Endotelial hücreler üzerine güçlü mitojenik etkisi vardır ve vasküler permeabilityi artırır. Endotelial hücrelerde nitrik oksit sentaz stimülasyonu ile vazodilatasyonu, hücre migrasyonunu artırır ve apoptozu inhibe eder. Endotelial hücrelerin büyümesinde ve yaşamasında önemli rol oynar angiogenez aracılı yara iyileşmesini sağlar.⁵⁷⁻⁶¹

Ferguson ve ark.⁵² yaptıkları çalışmada ratların cildine 18 Gy X ışını tek doz fraksiyone uygulaması ardından fibroblast kültürünün yara iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Fibroblastların enjeksiyon öncesinde ışınlanmasında ise bu artışın gözlenmemesi radyasyonun fibroblast fonksiyonunu etkilediğini gösteren bir bulgu olmuştur.

Siemionow ve ark.⁶² tarafından 1999 yılında ratlara 8 Gray radyoterapi uygulayarak kremaster kas flebi kaldırmışlardır. Radyoterapi uygulanan ve uygulanmayan ve akut (4.,24.,72. saatler) ve kronik (1.,2.,12. haftalar) dönem olarak değerlendirme yapmışlardır.

Akut ve kronik dönem takipleri, hemodinamik ve lökosit-endotelyal etkileşim açısından kıyaslamışlardır. Lökosit-endotelyal etkileşimde endotelyal ödem, lökositlerin kapiller yataktan adhezyon ve migrasyonunu değerlendirilmiştir. Kremaster kasına 8 Gray radyoterapi uygulanmış olan ratlarla, radyoterapi uygulanmayan ratların akut ve kronik dönem yapılan takiplerinde hemodinamik değişiklikler olmadığı görülmüştür. Kremaster kası fleplerinin mikrosirkülasyonunda anlamlı bir değişiklik olmadığını ve hemodinamik yapılarda bu değişikliğin olmaması radyasyonun düşük dozda uygulanmış olmasına bağlanmıştır.

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda akut lokal VEGF-165 protein veya gen terapinin cilt flep sağ kalımını etkili bir şekilde arttıracığı yönündedir. Ratlarda, cilt ve muskulokutan fleplere cerrahiyle eş zamanlı olarak subkutan veya subdermal olarak VEGF-165aa enjeksiyonu, bu fleplerde cilt iskemik nekrozunu azalttığı gösterilmiştir. Rat, tavşan ve domuz cilt fleplerinde cilt iskemik tolerans süresi 6-13 saattir ve insan cildinde de benzerdir. VEGF-165aa etkisiyle anjiogenezis 24-72 saat aralığında başlar. Cerrahiden 12 saat önce veya cerrahiyle eş zamanlı olarak VEGF-165aa veya gen terapi başlanması anjiogenezis ve neovaskülarizasyon sağlayarak flep cerrahisinde cilt kritik iskemi süresinde avantaj sağlayabilir.^{6,8,63,64,65}

Wang ve ark.⁶⁶ tarafından 2011 yılında rat iskemik fleplerine adenovirus tip 2 aracılı VEGF geni transferi yapılmış, flep sağ kalımı ve anjiogenik gen ekspresyonu değerlendirilmiştir. VEGF ekspresyonunda ve flep sağ kalımında artış olduğu görülmüştür. PCR ile yapılan analizde anjiogenezi sağlayan gende ekspresyon artışı izlemiştir. Adenovirus tip 2 aracılı VEGF flep sağ kalımını arttırmış ve endojen büyüme faktörü geninin ekspresyonunu sağladığı gösterilmiştir.

Patrick ve ark.⁷ tarafından 2011 yılında ratların karın bölgesine 5 seansta toplam 40 Gy radyoterapi uygulamış, 28 günlük takip sonrası ışınlama alanından inferior epigastrik arter pediküllü fasyakutan flepler kaldırmışlardır. Çalışma grubuna topikal VEGF pDNA 165-aa rekombinant ile fibrin dolgu, kontrol grubuna sadece fibrin dolgu uygulamışlardır. Her iki grupta yer alan ratların yarısında 7. ve 14. günlerde pedikül hasarı oluşturmuşlardır. VEGF pDNA 165-aa rekombinantın etkilerini, radyoterapi uygulanmış ve iskemik hasarlı fleplerin revaskülarizasyon oranlarını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmayla radyoterapi alanında VEGF pDNA uygulanmasının flep revaskülarizasyonun ve yaşayabilirliğinin artırıldığını gösterilmiştir.

Bizde bu bilgiler ışığında çalışmamızda ratların sağ toraks cildine 20 Gy radyasyon vermeden önce ratların sağ toraks ciltlerinin, Bilgisayarlı Tomografi Simülasyonu ile üç boyutlu görüntülerini elde ettik. Radyasyon dozunu cilde yoğunlaştırmak ve iç organlara ulaşan dozu azaltmak amacıyla 1,5 cm kalınlıkta dokuya eşdeğer ‘bolus’ materyali kullandık ve radyasyonun etkisiyle hasar oluşturduğumuz ciltten lateral torasik arter pediküllü fasyakutan flepler kaldırdık. Pedikül etrafına 1 mikrogram/ 1cc izotonik solüsyon VEGF-165 aa cerrahiye eş zamanlı olarak uyguladık. Böylece vasküler endotelial büyüme faktörünün flepler üzerine olan olumlu etkileri göz önüne alarak, neovaskülarizasyon ve kollajen üretiminde artış sonucunda radyoterapi verilmiş alandaki flep dolaşımında ve dayanıklılığında artış olacağını düşünük.

Yapılan deneysel çalışmalarda, deri fleplerinde iskemi toleransının en az olduğu bölge flebin distal kısmıdır. Bu bölge, kutanöz kan akımının en az olduğu bölgedir. Flep kaldırılmasından ancak 24 saat sonra bu bölgede kan akımı belirgin olarak artmaktadır. İskemiye takiben revaskülarizasyondaki yetersizlik ‘no-reflow fenomen’i olarak tanımlanmaktadır. Cilt fleplerinde bu durum, doku nekrozundan önceki mikrovasküler tıkanma (hücrel ödem, adrenerjik kökenli vazokonstriksiyon), lümen obstruksiyonu (trombosit tıkaçları), lökositlerin infiltrasyonu ve aktivasyonu veya bunların kombinasyonları ile olur. Flep sağkalımında tüm bu basamaklar göz önünde bulundurularak geliştirilen ve geliştirilmekte olan maddelerin bu mekanizmaların bir veya birkaçını etkileyebilecek potansiyelde olması amaçlanmış ve flep sağ kalımını artırmak için çok sayıda çalışma yapılmıştır.⁶⁷

Rohrich ve ark⁶⁸. flep yaşayabilirliğini artırmaya yönelik kullanılacak ilaç veya uygulama için; kolay uygulanabilir olmalı, güvenilir olmalı, postoperatif olarak kullanılabilirliği, ucuz olmalı, etki mekanizması tam olarak bilinmeli, elde edilebilir olmalı ve flep nekrozunda koruyucu olmalı şeklinde özetlemiştir.

Flep cerrahisinde komplikasyonlardan kaçınmak için doğru flep seçim ve planlaması ile doğru cerrahi teknik şarttır.^{68,69} Bununla birlikte aynı boyut ve yerleşim bölgesinden hazırlanan fleplerin arteriyel beslenmesinde farklılıkta olabilmektedir.

Bu çalışmalardan bazılarında bakıldığında; Axfort ve ark.⁷⁰ ise yüksek doz E vitamininin iskemiye azaltıcı yönde olumlu rol oynadığını göstermişlerdir. Zaccaria ve ark.⁷¹ C vitamininin iskemi – reperfüzyon hasarını azalttığını, Manson ve ark.⁷² venöz oklüzyon ile iskemi oluşturdukları sıçan epigastrik ada fleplerinde reperfüzyon öncesinde tek doz süperoksid dismutaz uyguladıklarında, bu fleplerin %50’sinde sağkalım saptarken; kontrol

grubu fleplerinin hiçbirinin yaşamadığını görmüşlerdir. Nakatsuka ve ark.⁷³ domuzlarda deri, kas-deri fleplerinde kapiller kan akımı ve flep yaşayabilirliği üzerine glukokortikoidlerin etkinliğini araştırmışlar ve flep sağ kalımında olumlu etkileri olduğunu göstermişlerdir.

Sistemik olarak kullanılan ajanların ortaya çıkardığı yan etkiler olabileceği düşünülerek son yıllarda lokal etkili ajanlar da denenmektedir. Organik bir nitrat olan ve düz kaslarda relaksasyona yol açan nitrogliserin bu amaçla kullanılan ajanlardan biridir. Rohrich ve ark.⁶⁸ nitrogliserini deneysel rat ve domuz fleplerinde lokal olarak kullandılar ve dorsal cilt flepleri yaşam oranlarında anlamlı derecede artış olduğunu gözlemlediler. Buna benzer bir çalışma yavaş ve devamlı nitrogliserin salınımına yol açarak yarı geçirgen bir sistem ile kombine edilerek kullanılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir.⁷² Raposio ve ark.⁷³ dimetilsulfoksiti hücre membran geçirgenliğini hidrojenperoksiti ise lokal oksijen saturasyonunu arttırmak amacıyla lokal olarak kullandıkları deneysel flep modellerinde bu iki ajanın beraber kullanıldığında flep yaşam oranlarında artış kaydetmişlerdir.

Sengupta ve ark.ları^{74,75} Ginseng üzerinde uzun bir süre çalışarak; Ginseng'in yara iyileşmesinde damar gelişimini uyarıcı, tümör dokusunda ise baskılayıcı gibi davrandığını göstermişlerdir.

Deneysel olarak flep yaşam oranlarında artışa yol açan tüm bu ilaçların arasında klinikte rutin olarak kullanılan bir ajan henüz mevcut değildir.

Taylor^{76,77} cerrahi geciktirme işlemiyle flep aksı boyunca anastomotik bağlantılarda genişlemenin gerçekleşmesi sağlanarak komşu vasküler alanın flebe güvenle dahil edilebileceğini göstermişlerdir. Cerrahi geciktirme işleminin, flep yaşam alanını, oluşturduğu hipoksi ve iskemiye yanıt olarak bu choke anastomotik damarların açılması ile arttığı gösterilmekle birlikte iki ayrı operasyon gerektirmesi kullanımını sınırlamaktadır.

Serbest veya pediküllü olarak uygulanan TRAM prosedürü günümüzde meme rekonstrüksiyonunda sıklıkla kullanılan cerrahi tekniktir. Geniş yüzeyi ve uzun pedikülü olması nedeniyle tüm ağız tabanının örtülmesinde ve derin defektlerin doldurulmasında uygundur.^{14,78} Zhang ve ark.'ları³⁴ 2001 yılında ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, TRAM (transver rektus abdominis muskulokutan) flebini kullanarak cerrahi geciktirme tekniğine alternatif eksojen VEGF'nin etkinliğini araştırmışlardır. Flep kayıp oranları kıyaslandığında fark olmadığı görülmüş ve bu durum vasküler endotelial büyüme faktörün anjiyogenik etkiyle cilt zonları arasında vasküler bağlantıların gelişmesini sağladığını desteklemektedir.^{78,79}

Flep nekrozunu engellemesi açısından güvenilir bir yöntem olsa da cerrahi geciktirmenin ne gibi bir mekanizma ile yaşamı arttırdığı tam olarak anlaşılamamıştır. "

Subletal iskemi" geciktirme fenomeninin bir başlangıcı gibi düşünülmektedir. Subletal iskemi durumunda yani tam olarak yaşamı engellemeyen iskemi durumlarında doku kendini korumak için bir takım faktörleri kullanarak bir sonraki letal boyuttaki iskemiye kendisini hazırlamaktadır. Cerrahi geciktirme işleminin mekanizmasının derinlemesine incelenmesi sonucunda çeşitli farmakolojik müdahale yöntemleri bulunacaktır.^{63,78} Flep dokusuna veya sistemik olarak yapılan VEGF uygulamaları geciktirme işlemine alternatif yöntem olarak akla gelmektedir.

Tedavi edici radyasyon, yara iyileşmesinde çeşitli basamakları değiştirerek etkisini gösterir. Normal olarak yara iyileşmesi basamaklarından birini oluşturan anjiogenez radyasyon etkisiyle bozulmuştur. Yara iyileşmesinde oksijen perfüzyonunun gerekli olduğu basamaklar durur. Bunlar: Nötrofillerin antibak-teriyel aktivitesi, kollajen sentezi, epitel hücre replikasyon hızı ve anjiogenezdir. Oksijen, lizil hidrosilasyonu ve çapraz bağlanma sırasında gereklidir. Hipoksik alanda anjiogenezin artması için, periferde oksijen perfüzyonunun yüksek olması gerekmektedir. Bağ dokusunun radyasyona duyarlılığı orta derecededir; ancak fibroblastlar onarılmaz şekilde zedelenir. Fibroblastlar, başta kollajen sentezi olmak üzere dermal onarım ve yeniden şekillenme evrelerinde en önemli hücrelerdir. Klinikte, kontraktürle sonuçlanan dermal atrofi ve fibrozis görülür. Kronik radyasyon etkilerini araştırmak amacıyla radyoterapi uygulanan hastalardan hazırlanan fibroblast kültürlerinde büyümenin normal kontrollere göre çok daha yavaş olduğu görülmüştür.^{45,47,80}

Dr. Urganun⁸¹ 2011 yılında, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda 'Adipoz Kökenli Erişkin Kök Hücrelerin Radyoterapi Uygulanmış Deride Primer Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi' isimli tez çalışmasında ratların dorsal cildine 2500 cGy tek fraksiyon radyoterapi uygulamıştır. Ratların kendi yağ dokularından hazırlanan erişkin kök hücrelerinin (ADAS), radyasyon uygulanan alanda primer yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemiştir. Radyasyon sonucu ortamda artan serbest oksijen radikalleri DNA hasarı yaratarak sağlıklı hücrelere zarar vermektedir. ADAS'lar dermal fibroblastları ve keratinositleri uyararak antioksidan enzimlerin salınımını arttırmaktadır. ADAS'ların kendisi de süperoksit-dismutazın subtiplerini sekrete ederek serbest radikallere karşı hücreleri korumaktadır.⁸² ADAS'ların, radyasyon uygulanan alanda neovaskülarizasyonu ve reepitelizasyonu hızlandırdığını, preoperatif radyoterapi sonrası cerrahi uygulamaların daha güvenli olabileceği sonucuna varmıştır.

Yi Pang ve ark.⁶ tarafından 2002 yılında ratlarda vasküler endotelial büyüme faktörüyle iskemik fasyokutan fleplerin sağkalımının artırılması üzerine yapılan deneysel çalışmada, ilk gruba 1 mikrogram VEGF/ 1cc izotonik subdermal, 2. gruba 1 cc izotonik solüsyon subdermal infiltre edilmiştir. Fleplerden yapılan biyopsiler 12. ve 24. saatlerde iskemi-reperfüzyon hasarı açısından akut dönemde TNF- α ve nitrik oksit sentaz açısından değerlendirilmiştir Eksojen VEGF, iskemik fleplerde anjiogenezi indükleyerek flep yaşayabilirliğini arttırdığı, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı flebi koruduğu, proinflamatuvar sitokinleri regüle ederek sitotoksik nitrik oksiti inhibe ettiği gösterilmiştir.

Takeshita ve ark'ları⁸³ 1995 yılında tavşanların alt ekstremitelerinde femoral arteri 10 gün süreyle bağlayarak oluşturduğu iskemi-reperfüzyon çalışmasında; intravasküler olarak 500 ila 1000 mikrogram doz aralığında VEGF uygulamasını takiben 3.,5. ve 7. günlerde ekstremiteden biyopsi yapmışlar ve kontrol grubuyla kıyaslamışlardır. Bu deneysel çalışmada VEGF uygulanan grupta hemodinamik yetmezliğin azaldığı, hücre proliferasyonun ve kollateral damarların arttığını gösterilmişlerdir.

Z. Kryger ve ark.⁶³ 2000 yılında ratlarda insan kaynaklı rekombinant -VEGF kullanarak random paternli fleplerin yaşayabilirliği üzerine yaptığı deneysel çalışmada vasküler endotel kaynaklı büyüme faktörünü intravenöz 50 mikrogram tek doz, intravenöz 50 mikrogram multiple doz, 1 mikrogram subdermal, 1 mikrogram subfasyal, 1 mikrogram topikal olarak farklı alanlara farklı dozlarda uygulamışlardır. Postoperatif 5. günde yapılan değerlendirmelerde sistemik multiple doz uygulanan deneklerde flep sağ kalımı en yüksek oranla %91 iken, subdermal %88, topikal %78, kontrol grubunda %66 olarak ölçülmüştür. Bu çalışma uygulama yöntemi ve/veya doza bağlı olarak vasküler endotelial büyüme faktörünün anjiogenezisle hipoksik hasar riskini azalttığı ve flep sağ kalım oranları arttırdığını göstermektedir.

Bizim çalışmamızda, radyoterapi uygulaması sonrası 7 gün süreyle beklenmiş, radyoterapi alanından lateral torasik arter pediküllü flepler kaldırılmıştır. Sadece radyoterapi uygulanmış alandan kaldırılan fasyakutan flep nekroz oranı %28.45 iken, radyoterapi sonrası cerrahiye eş zamanlı pedikül etrafına 1 mikrogram endotel kaynaklı büyüme hormonu / 1cc izotonik solüsyon uygulanan grupta nekroz oranı %9.59 olarak ölçülmüştür. Işınlama alanında büyüme hormonun nekroz alanlarını anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir.

Khan ve ark.'ları⁸ 2004 yılında cilt fleplerinin yaşayabilirliğini arttırmak amacıyla random paternli fasyakutan fleplere subkutan 2 mikrogram VEGF-165 aa uyguladıkları deneysel çalışmada, postop 6. saatte ve 7. günde alınan biyopsi materyallerini nitrik oksit, nitrik oksit sentaz, flep sağ kalımı, flep kan akımı, kapiller dansite açısından değerlendirmeye

almışlardır. Postop. 6. saatte VEGF-165 aa uygulanan grupta kan akımında artış olduğu gözlenmesine karşın kapiller dansitede değişiklik olmadığı görülmüştür. VEGF-165 aa uygulanan grupta postop. 7. günde kapiller dansitede artışı ve nitrik oksit sentaz aktivitesi aracılı nitrik oksit üretiminde artış olduğu görülmüştür. Bu da bize cerrahi ile eş zamanlı VEGF-165 aa uygulanmasının nitrik oksit üretimin artmasına ve vazodilatör etkiyle cilt flep sağ kalımında etkili olduğunu göstermektedir.

Bu alanda yapılan birçok çalışmada, radyasyonun flepler üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılması veya önlenmesi amacıyla radyoterapi sahasında flep cerrahisine eş zamanlı VEGF uygulamasının flep sağ kalımına olumlu etki yapmaktığını desteklemektedir.

Mikrocerrahi prosedürlerinde kas dokusu sıcak iskemiyeye 2 saatten fazla tolere edemez. İyi bir planlama iskemi zamanını kısaltarak doku hasarının önüne geçilmesini sağlar. Ancak kan desteğinin yeniden sağlanmasına rağmen dolaşımın yeniden başlayamamasıyla inflamatuvar mediatörler, serbest oksijen radikalleri, mikrotrombüsler, hücre membranı instabilitesi, endotelial hasar meydana gelir. Bu durum doku ödemi, doku hasarı ve trombüs sebebiyle serbest flep kaybıyla sonuçlanır.^{68,69,84} Banbury ve ark.'ları⁸⁴ 2000 yılında subkritik iskemik kas fleplerinin tedavisinde vasküler endotelial büyüme faktörüyle perfüzyonun artırılması amacıyla yaptıkları çalışmada, ratların kremaster kasına 4 ila 6 saat süreyle iskemi uygulamış ve eş zamanlı olarak kas içine 0.1 mikrogram VEGF infiltre etmişler ve 24 saatlik sürenin sonunda akut olarak damar çapı, kapiller dansite ve lökosit-endotelial interaksiyon açısından değerlendirmişler. VEGF uygulanan grupta kontrol grubu arasında anlamlılık gösteren fark bulamamışlardır.

Literatüre bakıldığında, mevcut yayınlarda VEGF, 1 mikrogram veya daha yüksek dozlarda uygulanmış ve akut veya kronik olarak doku üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Mikrocerrahi yöntemle kas transferi sonrası mikrosirkülasyonun sürdürülmesi ve flep içerisinde trombüs gelişimini engellemek amacıyla yapılan bu çalışmada, kontrol grubuyla fark tespit edilmemesi kullanılan dozun yetersiz olduğunu düşündürmektedir.

Benzer çalışmalar incelendiğinde, vasküler endotelial büyüme faktörü tendon iyileşmesinde de denenmiş ve etkinliği araştırılmış olduğu görülmektedir. Tendonlarda vasküler yapıların ve hücrelerin azlığı sebebiyle, diğer konnektif dokularla kıyaslandığında iyileşme daha yavaş olmaktadır. Bu nedenle uygulanacak vasküler endotelial büyüme faktörü neovaskülarizasyonu ve kollajen sentezini arttırarak tendon iyileşmesine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.⁸⁶ Zhang ve ark.'ları⁸⁵ 2002 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, ratların aşıl tendonlarını yapışma yerlerinden kesip primer onarmışlar ve cerrahiye eş zamanlı onarım

alanına 100 mikrogram VEGF enjekte etmişlerdir. Erken dönem ve geç dönem yapılan takiplerde, eksojen uygulanan VEGF'nin tendon gerim gücünü ve dayanıklılığını erken dönemde arttırdığını gösterilmişlerdir.

Richter ve ark.ları⁸⁷ 2009 yılında yaptıkları çalışmada ratlara 30 Gy radyoterapi uygulanması sonrası 4 hafta süreyle takip etmişler ve radyoterapi alanına tam kalınlıkta deri grefti yerleştirmişlerdir. Deney grubunun greft tabanına 5 mikrogram VEGF uygulayıp iki haftalık izlem sonrası damar dansitesi açısından değerlendirmişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla deney grubunun greft sağ kalımı artmasına rağmen greft ile alıcı yatak arasında damarsal bağlantılar gelişmediği görülmüştür. Bu sonuç şaşırtıcı olmakla birlikte benzer çalışmaların tekrarlanması veya kısmi kalınlıkta deri grefti kullanılarak kıyaslamaların yapılması daha fazla fikir verici olacağı düşüncesindeyiz.

Radyasyon, deride akut doku inflamasyonu sonrası progresif kan damarlarının kaybına ve intersitisyel alanda fibrosizasyon yol açmaktadır.⁶² Radyasyon uygulanmış bölgelerden kaldırılan fasyokutan flepleri bu olumsuz etkilerden korumak amacıyla vasküler endotelial büyüme faktörün endotelial proliferasyonu aracılı angiogenezis etkisinden yararlanılabilir. Ancak VEGF ile yapılan çalışmaların bazılarında etkinliğinin yetersiz olduğu belirtilmiştir. Bu bize düşük dozda uygulanmış olmasına bağlı olduğunu düşündürmektedir. Cerrahisi öncesi dönemde veya cerrahiyle eş zamanlı olarak VEGF uygulanması anjiogenezis ve neovaskülarizasyon sağlayarak flep cerrahisinde cilt kritik iskemi süresinde avantaj sağlayabilir. Bizim çalışmamızla birlikte yapılan mevcut çalışmalar bunu destekler niteliktedir. VEGF'nin uygulama şeklinin ve/ veya dozunun değiştirilerek yapılacak ileri deneysel çalışmalar klinik uygulamalar için daha aydınlatıcı olacağı düşüncesindeyiz.

8. SONUÇLAR

Flep yaşayabilirliğini artırmak plastik rekonstrüktif cerrahinin tarihi kadar eski bir sorun olup, kolay kolay gündeminden çıkmayacağı anlaşılmaktadır. Flep yaşayabilirliğini artırmak için denenen yüzlerce farmakolojik ajanın klinik kullanımları çok sınırlı kalmış, ancak aralarından bazı maddeler oldukça umut vaat edici olmuştur. Vasküler endotelial büyüme faktörü bunlardan biridir. Onlarca çalışma ile etki mekanizması, fizyolojisi tanımlanmış, sentetik olarak üretilmiş ve deneysel çalışmalarda çok başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Fakat VEGF'nin insanda kullanımına henüz izin verilmemiştir.

Yaptığımız deneysel çalışmada flep yüzey alanı ölçüm sonuçları değerlendirmeleri ile radyoterapi alanından kaldırılan aksiyel paternli deri flepleri üzerine VEGF'nin olumlu etkisi olduğunu gösterdik. Flep yüzey alanı ölçüm sonuçlarımıza göre preoperatif dönemde uygulanan radyoterapiye bağlı flep nekroz oranı artmaktadır. VEGF'nin cerrahiye eş zamanlı olarak uygulanması flep üzerine koruyucu etki yapmaktadır.

Sonuç olarak, VEGF endotelial hücreler üzerine mitojenik etkisiyle, rat aksiyel patern deri flepleri üzerine radyasyonun neden olduğu nekroz artışını engellemektedir.

KAYNAKLAR :

- 1.Özalpan A. Temel Radyobioloji. Haliç Üniversitesi; (2001). 8-15, 214-6
- 2.Beyzadeoğlu M, Ebruli C. Temel Radyasyon Onkolojisi. GATA 2008. 23-5
- 3.Khan FM. The Physics of Radiation Therapy, 3rd Edition (Eds: Pine J., Standen M, Kairis LR, Boyce T). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia; 2003. 42-43, 160-161, 179, 507-17
4. Dormand EL, Banwell PE, Goodacre TE. Radiotherapy and wound healing. Int Wound J. 2005;2(2):112-27.
- 5.Dirican B. Radyoterapi teknikleri. 4. Ulusal Parçacık Hızlandırıcıları ve Uygulamaları Kongresi; 2001 Ekim 25-26; TAEK, Ankara
6. Pang Y, William C. Lineaweaver, Lei MP, Oswald T. et al, Evaluation of the Mechanism of Vascular Endothelial Growth Factor Improvement of Ischemic Flap Survival in Rats, Plast Reconst Surg, 2002;556-557
- 7.Patrick C. Angelos, Winn SR et al. Evaluating Revascularization and Flap Survival Using Vascular Endothelial Growth Factor in an Irradiated Rat Model Arch Facial Plast Surg. 2011;E1-E2
8. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, et al, Acute Local Subcutaneous VEGF165 Injection for Augmentation of Skin Flap Viability: Efficacy and Mechanism, American Physiological Society 2004: R1219-27
9. Taylor GI, Caddy JM, Watterson PA, et al. The venous territories(venosomes) of the human body: experimental study and clinical implications. Plastic Reconstructive Surgery 1990. 86-185.
10. Taylor GI. The blood supply of the skin. Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL. Grabb & Smith" s Plastic Surgery. 6th Ed, Philadelphia: Lippincott, 2007:33-41,162-8
- 11.Mathes SJ, Hentz VR. Mathes Plastic Surgery. 2nd Ed, Philadelphia: Elsevier, 2006.
12. Dhar SC, Taylor GI. The delay phenomenon: the story unfolds. Plast Reconstr Surg 1999; 104:2079-91.
13. Özkaya Ö. Amniotik membranın flep yaşayabilirliğine etkisi. Uzmanlık tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, İstanbul-Türkiye, 2007.

14. Mathes SJ, Nahai F: *Reconstructive Surgery: Principles, Anatomy and Technique*. Newyork, Churchill Livingston, 1997.
15. Achauer BM, Eriksson E, Guyuron B, Coleman JJ, Russell RC, Kolk CA. Plastic surgery indications, operations and outcomes. St. Louis: Missouri Mosby 2000:261-90.
16. Weinzweig J. Plastik Cerrahinin Sırları. Arıncı A, Çev.Ed, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2007:646.
17. Acartürk TO, Dinçyürek HD, Korkmaz Solmaz G, Dağlıoğlu K. Kademeli olarak flebi kaldırarak geciktirme ve bölgesel arterin flebe dahil edilmesinin önemi. 31. Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Ulusal Kongresi. Adana-Türkiye,17-21 Ekim 2009:259.
18. Taylor GI. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *British Journal of Plastic Surgery* 1987; 40:113-141.
19. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is a surgical delay effective? *Plast Reconstr Surg* 1995; 95:526-33.
20. Tyner TR, Shahbazian R, Nakashima J, Kane S, Sian K, Yamaguchi KT. Propofol improves skin flap survival in a rat model: correlating reduction in flap-induced neutrophil activity. *Ann Plast Surg* 2004; 53:273-7.
21. Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri. 1. Baskı, İstanbul: A4 Ofset Matbaacılık, 2005: 445-464.
22. Bobek V, Sramek D, Rokyta R, Tvrdek M. Local pharmacological preconditioning increases the survival of experimental skin flaps in rats. *Life Sci.* 2005; 77:2663-8.
23. Yang D, Morris SF. An extended dorsal island skin flap with multiple vascular territories in the rat: A new skin flap model. *J Surg Res* 1999; 87:164-70.
24. Ohara H, Kishi K, Nakajima T. Rat dorsal paired island skin flaps: a precise model for flap survival evaluation. *Keio J Med* 2008; 57:211-6.

25. McFarlane RM, Deyoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg* 1965; 35:177-82.

26. Acartürk TO, Dinçyürek HD, Dağlıoğlu K. Sıçan sırt deri flebinde yeni kavramlar ve unutulmuş bir arter: posteriyor interkostal “perforatör” arter flebi ve damarbölgelerin (anjiozomların) yeniden ve doğru biçimde tanımlanması. 31. Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Ulusal Kongresi. Adana-Türkiye, 17-21 Ekim 2009: 38.

27. Pang CY, Forrest CR, Morris SF. Pharmacological augmentation of skin flap viability: a hypothesis to mimic the surgical delay phenomenon or a wishful thought. *Ann Plast Surg* 1989; 22:293-306.

28. Kayıkçıoğlu A, Akyürek M, Safak T. The importance of vascular territories in designing new experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101:1155-7

29. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol* 2002; 29: 10–14.

30. Carmeliet P, Moons L, Luttun A, Vincenti V, Compernelle V et al. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med* 2001; 7: 575–83.

31. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, and Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3 *Circulation* 1996;93:1493-95

32. Siemester G, Marme D, and Martini Baron G. The alpha-helical domain near the amino terminus essential for dimerization of vascular endothelial growth factor. *J. Biol Chem* 1998b;273:115-120

33. Carmeliet P. et al. Impaired myocardial angiogenesis and ischemic cardiomyopathy in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF164 and VEGF188. *Nat Med* 1999;5:495-502

34. Dumont, D.J. et al. Cardiovascular failure in mouse embryos deficient in VEGF receptor-3. *Science* 1998; 282:946-9

35. Ferrara N, Alitalo K, Clinical application of angiogenic growth factors and their inhibitors. *Nat Med.* 1999;5:1359-64

- 36.Suri C. et al. Increased vascularization in mice overexpressing angiopoietin-1. *Science* 1998; 282:468–71
- 37.Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane M, Ikeda T, Tojo A, Matsushime H. and Sato M. Nucleotide sequence and expression by of a novel human reseptor type tyrosine kinase gene closely related to the fms family. *Oncogene* 1990;5:519-24
- 38.Terman BI, Dougher VM, Maglione D, Lassam N.J, Gasporadowicz D, and Bohlen P. Identification of the KDR tyrosine kinase a reseptor for vascular endothelial cell growth factor . *Biochem Biophys.Res Commun* 1992;187:1579-86
- 39.Soker S, Takashima S, Miao H, Neufeld G and Klagsbrun M. Neurophilin -1 is expressed by endothelial and tumor cells and an isoform-specific reseptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998;92:735-45
- 40.Sondel M, Loundberg G, and Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci* 1999;19:5731-40
- 41.Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, and Shibuya M. Flt -1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998;95:9349-54
- 42.Cristopher J, Robins E, Sally E. The splice variants of vascular endothelial growth factor and their receptors. *Journal of cell science* 114(5);853-65
43. Devin L, Anthony M, Matthew H, Magdalena K, James K. Growth Factor Profile of Irradiated Human Dermal Fibroblasts Using a Serum-Free Method. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2003;111: 1960-8
44. Maria S, Jared M, Stacy P, Björn K, Kagan O, Pia P, James Z. et al. Effects of 8-Gy Radiation on the Microcirculation of Muscle Flaps in the Rat. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1999; 104(5): 1372-8
- 45.Bernstein EF, Sullivan FJ, Mitchel JB: Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing. *Clinics in Plastic Surgery*, 1993; 20(3): 435-53.
46. Baltalarli B, Bir F, Demirkan N, The preventive effect of vitamin D3 on radiation-induced hair toxicity in a rat model. baharbaltalarli@yahoo.co.uk, *Life Sci.*2006 28;78(14):1646-51
47. Mustoe TA, Porras-Reyes BH: Modulation of wound healing response in chronic irradiated tissues., *Clinics in Plastic Surgery*, 1993; 20 (3): 465-72

48. Knight KR. Review of postoperative pharmacological infusions in ischemic skin flaps. *Microsurgery* 1994;15(10):675-84.
49. Russell RC, Roth AC, Kucan JO, Zook EG. Reperfusion injury and oxygen free radicals: A review. *J Reconstr* 1989;5(1):79-84.
50. Pollard J, Quan S, Kang T, Koch J. Effects of Copper Tripeptide on the Growth and Expression of Growth Factors by Normal and Irradiated Fibroblasts. *Arch Facial Plast Surg* 2005;7(1):27-31
51. Dantzer D, Ferguson P, Hill RP, Keating A, et al. Effect of radiation and cell implantation on wound healing in a rat model. *J Surg Oncol.* 2003;83(3):185-90.
52. Ferguson PC, Boynton EL, Wunder JS, Hill RP, et al. Intradermal injection of autologous dermal fibroblasts improves wound healing in irradiated skin. *J Surg Res.* 1999;85(2):331-8.
53. Houck KA, DLeung W, Rowland AM, Winer J, Ferrara N. Dual regulation of vascular endothelial growth factor bioavailability by genetic and proteolytic mechanisms *J Biol Chem* 1992;267:26031- 26037
54. Park JE, Keller GA, Ferrara N. The vascular endothelial growth factor isoforms *Mol Biol Cell* 1993;4:1317- 1326
55. Houck KA, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B, Leung DW. The vascular endothelial growth factor family. *Mol Endocrinol* 1991;5:1806- 1814
56. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;237:1- 30
57. Richter GT, Fan CY, Ozgursoy O, McCoy J, Vural E. Effect of vascular endothelial growth factor on skin graft survival in Sprague Dawley rats. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;132(6):637-41
58. Dvorak HF, Nagy JA, Feng D, Brown LF, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and the significance of microvascular hyperpermeability in angiogenesis *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;237:97- 132
59. Yang R, Thomas GR, Bunting S. et al. Effects of vascular endothelial growth factor on hemodynamics and cardiac performance *J Cardiovasc Pharmacol* 1996;27:838- 844
60. Alon T, Hemo I, Itin A, Pe'er J, Stone J, Keshet E. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity *Nat Med* 1995;1:1024- 1028

61. Moore MJ. The effect of radiation on connective tissue. *Otolaryngol Clin North Am* 1984;17389- 396
62. Siemionow M, Mee J, Porvasnik S, Krapohl B, Özer K, Piza P, Zins James. Effects of 8-Gy Radiation on the Microcirculation of Muscle Flaps in the Rat. *Plastic & Reconstructive Surgery* 1999; 104(5): 1372-78
63. Kryger Z, Zhang E, Dogan T, Chengt C, Lineaweaver WC, Buncket HJ. The effects of VEGF on survival of a random flap in the rat: examination of various routes of administration. *British Journal of Plastic Surgery* 2000; 53: 234-9
64. Xuri L, Chunsik L, Zhongshu T, Zhang FA, Pachiappan, LY, Xu H. et al. VEGF-B A survival, or an angiogenic factor? *Cell adhesion & Migration* 2009 3:4: 322-7
65. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med.* 2005;9(4):777-94
66. Wang XT, Avanesian B, Ma O, Durfee H, Tang YQ, Liu PY. Enhancement of flap survival and changes in angiogenic gene expression after AAV2-mediated VEGF gene transfer to rat ischemic flaps. *Wound Repair Regen.* 2011;19(4):498-504
67. Weinzweig J. Plastik Cerrahinin Sırları. Arıncı A, Çev.Ed, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2007:432
68. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg* 1984;73(6):943-8.
69. Karacaoğlu E, Yuksel F, Turan S, Zienowicz R. Chemical delay : an alternative to surgical delay experimental study. *Ann Plast Surg* 2002;49(1):73-81.
70. Axfort – Gately RA, Wilson GJ. Myocardial infarct size reduction by single high dose repeated log dose vitamin E supplementantation in rabbits. *Can J Cardiol* 1993;9:94-8.
71. Zaccaria A, Weinzweig N, Yoshitake M, Matsuda T, Cohen M. Vitamin C reduces ischemia – reperfusion injury in rat epigastric island skin flap model. *Ann Plas Surg* 1994;33:620-3.
72. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ. The role of oxygen radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198:87-90.

73. Nakatsuka T, Pang CY, Neligan P. Effect of glucocorticoid treatment on skin capillary blood flow and viability in cutaneous and myocutaneous flaps in the pig. *Plas Reconstr Surg* 1985;76:374.
72. Nichter LS, Sobieski MW, Edgerton MT. Efficacy of topical nitroglycerin for random pattern skin flap salvage. *Plast Reconst Surg* 1985;75(6):847-52.
73. Raposio E, Santi PL. Pharmacological enhancement of cutaneous flap survival with topical dimethyl sulphoxide and hydrogen peroxide. *Br J Plast Surg* 1998;51(7):551-4.
74. Sengupta S, Toh SA, Sellers LA et al. Modulating angiogenesis: the yin and the yang in ginseng. *Circulation* 2004; 110: 1219-25.
75. Sato K, Mochizuki M, Saiki I et al. Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of *Panax ginseng*, ginsenoside-Rb2. *Biol Pharm Bull* 1994; 17: 635-9.
76. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-1136.
77. Morris SF, Taylor I. Predicting the survival of experimental skin flap with a knowledge of the vascular architecture. *Plast Reconstr Surg* 1993;92(7):1352-1361.
78. Lineaweaver W, Lei MP, Mustain W, Oswald T, Cui D, Zhang F. Vascular Endothelium Growth Factor, Surgical Delay, and Skin Flap Survival. From the Division of Plastic Surgery, University of Mississippi Medical
79. Banbury J, Siemionov M, Porvasnik S, Petras S, Browne E. Improved perfusion after subclinical ischemia in muscle flaps treated with vascular endothelial growth factor. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106(7):1541-6
80. Doll C, Durand R, Grulkey W, Sayer S, Olivotto I. Functional assessment of cutaneous microvasculature after radiation. *Radiother Oncol* 1999;51 (1) 67- 70
81. Urgan K. Adipoz Kökenli Erişkin Kök Hücrelerin Radyoterapi Uygulanmış Deride Primer Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı.2011
82. William L, Man-Ping L, William M, O. Tanya, Dongmei C, Feng Z. et al. Vascular Endothelium Growth Factor, Surgical Delay, and Skin Flap Survival. *Annals of Surgery* 2004; 239(6): 866-75

83. Satoshi T, Susan R, Marianne K, Lu Z, Christophe B, Stuart B, Napoleone F, James S, Jeffrey I. Time Course of Increased Cellular Proliferation in Collateral Arteries after Administration of Vascular Endothelial Growth Factor in a Rabbit Model of Lower Limb Vascular Insufficiency. *American Journal of Pathology* 1995; 147(6) : 1649-60

84. Banbury J, Maria S, Stacy P, Susan P, Earl B. Improved Perfusion after Subcritical Ischemia in Muscle Flaps Treated with Vascular Endothelial Growth Factor. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2000;106: 1541-6

85. Zhang F, Liu H, Stile F, Lei MP, Pang Y, Oswald TM, Beck J, Dorsett-Martin W, Lineaweaver WC. Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plast Reconstr Surg.* 2003 Nov;112(6):1613-9.

86. Zhang F, Hao L, Frank S, Man-Ping L, Pang Y. Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on Rat Achilles Tendon Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2003;112: 1613-9

87. Richter GT, Bowen T, Boerma M, Fan CY, Hauer-Jensen M, Vural E. Impact of vascular endothelial growth factor on skin graft survival in irradiated rats. *Arch Facial Plast Surg.* 2009;11(2):110-3