

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

DENEYSEL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇAN İNFERİOR EPİGASTRİK ADA
FLEBİNDE ADENOZİN İLE FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİNİN
ARTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
DR. ERKAN KURAL

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞRETİM ÜYESİ ÖZGEN KIVANÇ

DENİZLİ-2020

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

DENEYSEL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇAN İNFERİOR EPİGASTRİK ADA
FLEBİNDE ADENOSİN İLE FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİNİN
ARTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. ERKAN KURAL

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞRETİM ÜYESİ ÖZGEN KIVANÇ

DENİZLİ-2020

TEŞEKKÜR

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim dalındaki eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini en iyi şekilde aktarabilmek için çabalayan, çalışkanlığı ve azmiyle örnek aldığım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. B. İnci Gökalan KARA'ya sayın Dr. Öğr. Üyesi. Ramazan Hakan ÖZCAN'a ve tez hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Özgen KIVANÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deney kısımlarını gerçekleştirdiğim PAÜ Deneysel Hayvan Araştırmaları Laboratuvarı çalışanlarına ve tezimi hazırlama sürecinde yardımlarından dolayı sayın Prof. Dr. Neşe Çallı DEMİRKAN, sayın Dr. Öğr. Üyesi Erdem ÇOMUT'a teşekkür ederim.

Anabilim dalında birlikte çalıştığımız asistan arkadaşlarım, klinik hemşirelerine, sekreterlerine, personellerine ve başta Mine ŞEN olmak üzere tüm ameliyathane hemşirelerine ve personellerine teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde emeği ve desteği ile yanımda olan, benden emeğini ve özenini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Her zaman sevgisini ve desteğini yanımda hissettiğim değerli eşim Zilan ALAK KURAL'a TEŞEKKÜR EDERİM.

Dr. Erkan Kural

2020

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	XI
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
FLEPLERİN TANIMLANMASI VE SINIFLANDIRILMASI.....	2
Flep Tanımı.....	2
Flep Tarihçesi.....	2
Fleplerin Sınıflandırılması.....	4
Flep Fizyolojisi.....	5
Flep Kaybı	6
Sıçan İnferior Epigastrik Ada Flebi.....	6
SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA	9
Serbest Radikal Tanımı.....	9
Serbest Radikal Kaynakları.....	10
Serbest Radikallerin Etkileri.....	10
Antioksidan Savunma	12
İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Flep Kaybı	14
ADENOZİN	16
GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
Deney Protokolü ve Deneklerin Gruplandırılması	19
Operatif Girişim.....	19
Sakrifikasyon Protokolü	22
Değerlendirmeler	22
BULGULAR	25
Genel Bulgular	25
Yüzey Alan Değerlendirme Sonuçları	25

Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları.....	28
TARTIŞMA... ..	35
SONUçLAR... ..	43
KAYNAKLAR	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	: Adenozin Difosfat
AMP	: Adenozin Monofosfat
AR	: Adenozin Reseptörü
ATP	: Adenozin Trifosfat
CPA	: N6-Cyclopentyladenozin
CTGF	: Bağ Doku Büyüme Faktörü
DAG	: Diaçil Gliserol
DNA	: Deoksiribonükleik asit
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ENT1/ENT2	: Nükleozit Taşıyıcı sistem
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HNE	: Hidroksinonenal
HOCl	: Hipokloröz asit
KO	: Ksantin Oksidaz
KDH	: Ksantin Dehidrogenaz
LOOH	: Lipidhidroperoksit
MDA	: Malondialdehit Asit
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NECA	: Nonselektif Adenozin Reseptör Agonisti
NO	: Nitrik Oksit
NO•	: Nitrik oksit
NO ₂ •	: Azot dioksit
O ₂ •-	: Superoksit
¹ O ₂	: Singlet oksijen
O ₃	: Ozon
ONOO-	: Peroksinitrit
•OH	: Hidroksil
PAÜHDYEK	: Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
PGE ₁	: Prostaglandin E ₁
PGF ₂ α	: Prostaglandin F ₂ α
PGI ₂	: Prostaglandin I ₂

PLD	: Fosfolipaz D
ROS	: Rekatif Oksijen Türleri
RO•	: Alkoksil
ROO•	: Peroksil
-SH	: Kükürt
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TXA2	: Tromboksan A2
YE	: Yüzeyel Epigastrik

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1: Sushruta burun rekonstrüksiyonu, MÖ 600.....	2
Şekil 2: Gaspare Tagliacozzi burun rekonstrüksiyonu 1597.....	3
Şekil 3: Derinin dolaşımı.....	4
Şekil 4: İinferior Epigastrik flebin kanlanması 1. Femoral arter; 2. Yüzeysel epigastrik arter; 3. Yüzeysel epigastrik arterin mediyal dalı; 4. Yüzeysel epigastrik arterin lateral dalı.....	8
Şekil 5: Lipit peroksidasyon reaksiyonları.....	11
Şekil 6: Antioksidanların sınıflandırılması.....	13
Şekil 7: Grupların flep nekroz oranlarının ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.....	28
Şekil 8: Grupların nötrofil infiltrasyonu değerleri ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.....	31
Şekil 9: Grupların neoanjiogenez değerleri ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.....	33
Şekil 10: Grupların kollajenizasyon değerlendirmelerinin ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.....	34
Resim 1: Kasık flebinin planlanması.....	20
Resim 2: YE pedikül üzerinde flebin ada haline getirilmesi.....	21
Resim 3: YE pedikülün klemlenerek iskemi oluşturulması.....	21
Resim 4: Deney hayvanının post op görüntüsü.....	22
Resim 5: Adobe Photoshop CS6 ile flep yüzey alan ölçümü.....	23
Resim 6: Grup 1’de bulunan fleplerin nekroz oranları.....	25
Resim 7: Grup 2’de bulunan fleplerin nekroz oranları.....	26
Resim 8: Grup 3’te bulunan fleplerin nekroz oranları.....	26
Resim 9: Grup 4’te bulunan fleplerin nekroz oranları.....	26
Resim 10: Grup 1’de histopatolojik kesit görüntüsü (10X).....	29
Resim 11: Grup 1’de üst dermiste yoğun nötrofil infiltrasyonu (20X).....	29
Resim 12: Grup 3’te anjiogenez artışının görülebildiği kesit görüntüsü(20X).....	30
Resim 13: Grup 4’te yoğun kollagenizasyon artışının izlendiği kesit görüntüsü (10X).....	30

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Reaktif oksijen ürünleri.....	9
Tablo 2: Adenozin reseptörleri ve etki mekanizmaları.....	18
Tablo 3: Histopatolojik skorlama.....	24
Tablo 4: Gruplarda flep nekroz oranları.....	27
Tablo 5: Flep nekroz oranlarının ortalamaları ve standart sapmaları	27
Tablo 6: Fleplerde histopatolojik değerlendirme sonuçları.....	31
Tablo 7: Nötrofil infiltrasyonu değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.....	31
Tablo 8: Neoanjiogenez değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.....	32
Tablo 9: Kollajenizasyon değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.....	33

ÖZET

Deneysel iskemi reperfüzyon modeli oluşturulan sıçan inferior epigastrik ada flebinde adenozin ile flep yaşayabilirliğinin artırılması

Dr. Erkan Kural

Flep yaşayabilirliğinde önemli bir problem olan iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik günümüzde birçok yöntem denenmektedir. Adenozin doğal bir nükleozid olup vücudumuzda birçok fizyolojik olayda sentezlenip kullanılmaktadır. Adenozinin iskemi, hipoksi ve travma gibi durumlarda üretimi artar ve önemli bir lokal düzenleyici görev üstlenir, ayrıca güçlü bir antioksidandır. Bu çalışmada klinikte karşılaştığımız önemli bir sorun olan iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesi amacıyla adenozin kullanımının etkinliğini araştırılmıştır. Bu amaçla 28 adet sıçan grup 1 ve 2’de 6, grup 3 ve 4’te 8 sıçan olmak üzere randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Sıçanların karnında medialde orta hat çizilerek yukarıda ksifoidi aşağıda simfizis pubisi ve lateralde arka aksiller çizgiyi geçmeyecek şekilde 3,5x5,5 cm boyutlarında epigastrik flep planlandı. İlk grup kontrol grubu olup 8 saatlik iskemi ardından herhangi bir işlem yapılmadı. İkinci gruba 8 saatlik iskemi ardından enjeksiyon stresine bağlı oluşan iskeminin artıp artmayacağını belirlemek için İ.P salin uygulandı. Üçüncü grup 8 saat iskemi sonrası 45 µg/kg/gün adenozone intravenoz olarak uygulandı. Dördüncü grupta 8 saatlik iskemi sonrası İ.P adenozin 180 µg/kg gün olarak uygulandı. 7. günün sonunda sıçanlar sakrifiye edildi. Flepler, nekrotik alanın tüm flep alanına oranı fotoğraflanarak değerlendirildi. Histopatolojik olarak nötrofil infiltrasyonu, kollajenizasyon ve kapiller damarlanmada artış değerlendirildi. Sonuç olarak adenozin kullanımının sıçan aksiyel paternli deri fleplerinde iskemi reperfüzyon hasarı sonrası kollajen üretimini ve anjiogenezi artırdığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Adenozin, flep, iskemi reperfüzyon, sıçan kasık flebi, sıçan inferior epigastrik ada flebi

ABSTRACT

Enhancement of flap viability in the rat inferior epigastric island flap with adenosine in an experimental ischemia reperfusion model.

Dr. Erkan Kural

Many methods are currently being tried to prevent ischemia reperfusion injury, which is an important problem for flap viability. Adenosine is a natural nucleoside that is synthesized and used in many physiological events in our body. The production of adenosine increases in conditions such as ischemia, hypoxia and trauma, and it plays an important role as local regulator. It is also a powerful antioxidant. In this study, the effectiveness of adenosine use was investigated in order to prevent ischemia reperfusion injury, which is an important clinical problem. For this purpose, 28 rats were randomly divided into 4 groups as 6 rats in groups 1 and 2, 8 rats in groups 3 and 4. In the abdomen of the rats, midline was drawn medially and an epigastric flap with a size of 3.5x5.5 cm was planned, not exceeding the xiphoid, symphysis pubis and laterally the posterior axillary line. The first group was the control group and no drug was given after ischemia. I.P saline was administered to the second group after ischemia. The third group was administered intraperitoneally to 45 µg / kg / day adenosine after 8 hours of ischemia. In the fourth group, after 8 hours of ischemia, I.P adenosine was administered as 180 µg/kg day. After 7 days, rats were sacrificed. Flaps were evaluated by photographing the ratio of the necrotic area to the whole flap area. Histopathologically, neutrophil infiltration, collagenization, and increase in capillary vasculature were evaluated. In conclusion, it was observed that the use of adenosine increased collagen production and angiogenesis after ischemia reperfusion injury in rat axial pattern skin flaps.

Keywords: Adenosine, flap, ischemia reperfusion, rat groin flap, rat inferior epigastric island flap

GİRİŞ

Konjenital veya sonradan edinilen defektlerin uygun form ve fonksiyon ile onarımı plastik cerrahinin temel uğraş alanıdır. Flepler uzun süredir bu amaçla kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda flep fizyolojisini etkileyen birçok durum tanımlanmasına rağmen, flep kaybı halen plastik ve rekonstrüktif cerrahi için ciddi bir problemdir. Deneyimli plastik cerrahların yaptığı serbest fleplerde total flep kaybı %1-5 arasında iken kısmi flep kaybı serbest fleplerde %7-20, pediküllü fleplerde %20-33 arasındadır. Bu komplikasyonların oluşmasında iskemi ve sonrasında oluşan reperfüzyon hasarı büyük rol oynamaktadır. Plastik cerrahide flep sağkalımı; hasta seçimi, cerrahi teknik, iskemi süresi gibi faktörler ile direkt olarak ilişkilidir. İskemi özellikle flep cerrahisi ve replantasyonlarda oldukça önemlidir[1]. Flep yaşayabilirliği için önemli bir problem olan iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik günümüzde birçok yöntem denenmektedir. Flep delay (geciktirme) ve medikal tedaviler başlıca yöntemlerdir. Adenozin dokularda birçok fizyolojik olayda sentezlenen ve kullanılan doğal bir nükleoziddir[2]. İskemi, hipoksi ve travma gibi durumlarda sentezi artar ve lokal metabolik düzenleyici olarak önemli görevler üstlenir. Vazodilatasyon etkisi ile dokuda iskemiye bağlı oluşacak hasara karşı koruyucu etkileri vardır [3]. Adenozin kardiyolojide ritim düzenlemek amacıyla kullanılmaktadır. Ancak güçlü bir antioksidan olması nedeni ile özellikle karaciğer, kalp, kas ve beyin iskemi reperfüzyonundaki koruyucu etkisini gösteren birçok çalışma yapılmıştır [3-6]. Bu çalışmada klinikte karşılaşılan ve önemli bir sorun olan iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesi amacıyla adenozinin etkinliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

FLEPLERİN TANIMLANMASI VE SINIFLANDIRILMASI

Flep tanımı

Çeşitli kompozisyonlara sahip, kendi damarsal desteği ile donör alandan alıcı alana transfer edilebilen bir doku birimine flep denmektedir [7]. Flepler, deri, fasya, kas, kemik, tendon, sinir içerecek şekilde veya bunların herhangi bir kombinasyonu şeklinde planlanabilir. Deri flepleri kanlanması yetersiz defektlerin ve tam kat deri defektlerinin onarımında, yaşamsal dokuların örtülmesinde fonksiyonel ve estetik sahalarda estetik açıdan tatmin edici sonuç elde edebilmek için en uygun seçenektir.,

Flep Tarihi

M.Ö 600 yılında Sushruta 'nın burun rekonstrüksiyonu için alın ve yüzde pediküllü flepleri kullandığı bilinmektedir (Şekil 1). 1597'de Gaspare Tagliacozzi burun rekonstrüksiyonunda koldan tüp haline getirdiği pediküllü flebi kullanmıştır (Şekil 2). Bu flepler vasküler anatomileri bilinmeden deneme ve tecrübe esas alınarak bulunmuştur[8].



Şekil 1: Sushruta burun rekonstrüksiyonu, MÖ 600[8]

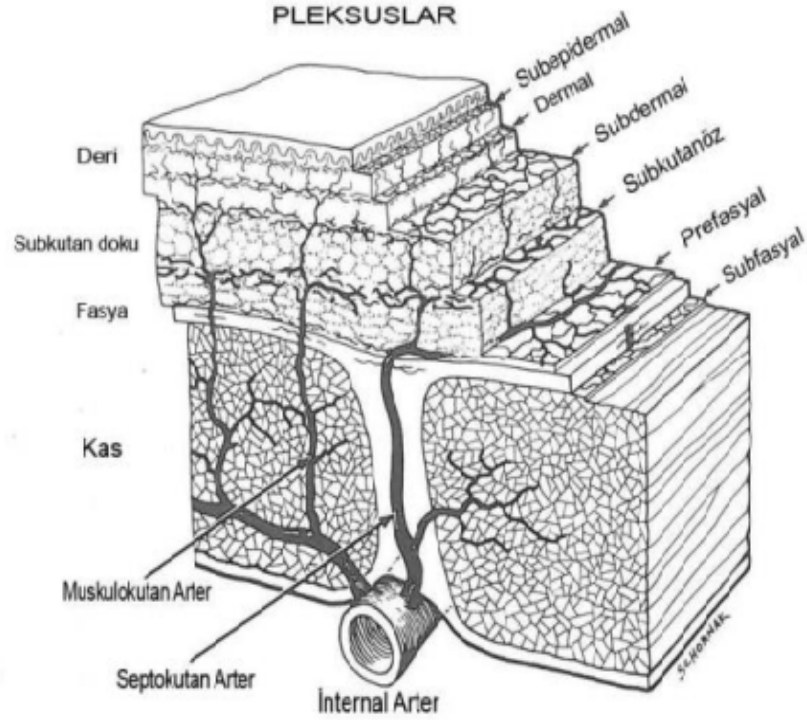


Şekil 2: Gaspare Tagliacozzi burun rekonstruksiyonu 1597[8].

Vasküler anatomi hakkındaki yetersiz bilgi flep dizaynları için engel oluşturmuştur. Carl Manchot 19. yüzyıl sonlarında ve Michel Salmon 1930'lu yıllarda deri ve yumuşak dokuların vasküler anatomisini inceleyen ilk araştırmacılar olmuşlardır[8]. 1950-1975 yılları arasında dönemin en önemli gelişmesi Gwyn McGregor ve Ian A. Morgan tarafından fleplerde random ve aksiyel dolaşım kavramlarının ortaya atılması ve tam olarak açıklayamamasalar dahi aralarında bazı farkların olduğunu belirtmeleridir. Fasya-deri ve kas-deri fleplerinde cerrahi tekniklerin hızlı gelişmesine ek olarak ameliyat mikroskopunun kullanıma girmesiyle birlikte serbest doku aktarımları ortaya çıkmıştır[9].

1977'de Ralph Ger ilk defa kas ve kas-deri fleplerini, 1981'de Bengt Ponten fasyokutan flepleri tarif etmiştir[10, 11]. 1981'de Mathes ve Nahai kas fleplerini vasküler anatomilerine göre sınıflamışlardır. 1987'de ise Taylor anjiozom kavramını tarif etmiş ve vücudu bir arterden kaynaklanan ve alt gruplara ayrılabilen kırk adet anjiozom bölgesine ayırmıştır. Anjiozom bir kaynak arterin beslediği cilt alanına

denir. Taylor ve Palmer 1987 yılında yaptıkları çalışmada ile bu alan içerisinde fleplere kan desteği sağlayan üç boyutlu damar ağı olduğunu belirtmişlerdir [12] (Şekil 3).



Şekil 3: Derinin dolaşımı[13].

Fleplerin sınıflandırılması

Flepler genel olarak alıcı saha kanlanmasının yetersiz olduğu bölgelerde ve estetik açıdan greftlerin tolere edilemediği durumlarda tercih edilirler. Yetersiz kan akımı olan bölgelerde greftin difüzyonla beslenmesi sağlanamadığından, flep ile rekonstrüksiyonu gereklidir[14]. Flepleri değişik özelliklerine göre sınıflandırmak mümkündür.

1. Kompozisyonuna Göre Flep Sınıflandırılması;

Bu sınıflamada flepler içerdikleri dokunun çeşidine göre sınıflandırılırlar.

- Deri flepleri
- Fasiyokutan flepler
- Kas ve kas-deri flepleri
- Osseokutanöz flepler

2. Hareket Şekline Göre Flep Sınıflandırılması;

A. Lokal Flepler:

- Rotasyon Flebi
- Transpozisyon Flebi
- İnterpolasyon Flebi
- İlerletme Flepleri

B. Uzak Flepler:

- Direk Flepler
- İndirekt Flepler: Tüp Flepler
- Serbest Flepler

3. Vasküler Anatomiye Göre Flep Sınıflandırılması;

- Random Flepler

Flep dolaşımını sağlayan dominant, belirgin bir pedikül yoktur.

Flep, dermal, subdermal pleksus tarafından beslenir.

- Aksiyel Flepler

Flep direkt kutanöz arter yani anatomik olarak tanımlanmış damarlar tarafından beslenir.

Flep Fizyolojisi

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahinin temelini oluşturan flep cerrahisinde başarılı sonuçlar elde edebilmek için anatomik yapılar ve flep fizyolojisi hakkında iyi bilgi sahibi olmanın önemi büyüktür.

Fleplerde makro dolaşım ve mikro dolaşım olmak üzere iki dolaşım sistemi mevcuttur. Makro dolaşım flep planlaması ve tanımında kullanılır. Mikro dolaşım ise flebin ana arter ve venlerinden köken alan arteriol, kapiller, venül ve arteriyovenöz anastomozlar gibi dokulara oksijen ve besin sağlayan, dokulardan ise karbondioksit ve diğer atık ürünleri uzaklaştıran yapılardır. Mikro dolaşım flebin makro dolaşımı sayesinde oluşur. Ancak kanlanmanın büyük kısmı mikro dolaşım seviyesinde olmaktadır[15]. Yaşlanma, radyasyon, sigara ve yanıklar mikro dolaşımı olumsuz etkilerler

Deri kan akımı sistemik ve lokal etki mekanizmaları ile kontrol edilmektedir. Sistemik kontrol, nöral ve humoral regülasyon ile olmaktadır. Nöral regülasyon predominanttır ve esas olarak sempatik lifler ile α -adrenerjik reseptörler üzerinden

vazokonstriksiyon yaparak; β -adrenerjik reseptörler üzerinden vazodilatasyon yaparak etkisini gösterir[16]. Humoral regülasyon, sistemik vazoaktif maddeler üzerinden etkilidir. Epinefrin ve norepinefrin α -adrenerjik reseptörler üzerine etki ederek vazokonstriksiyon yaparlar. Diğer önemli vazokonstrüktör maddeler serotonin, tromboksan A2, prostaglandin F2 α 'dır. Vazodilatatör maddeler ise prostaglandin E1 (PGE1), prostaglandin I2 (prostosiklin), histamin, bradikinin, lökotrien C4 ve lökotrien D4'tür.

Kan akımının lokal kontrolü başka deyişle otheregülasyonu, vücudun pek çok bölgesinde kontrol mekanizmasıdır. Hiperkapni, hipoksi, asidozis gibi metabolik faktörler vazodilatasyon yaparlar. Ek olarak fiziksel faktörlerin pek çoğu da kan akımı regülasyonunda etkilidir. Artmış doku perfüzyon basıncı myojenik refleksi tetikler. Bu da vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. Lokal hipotermi lokal kan akımını azaltarak direkt vasküler düz kaslara vazokonstrüktör etkide bulunur. Hipertermi de bunun tersi etkiye sahiptir. Kanın akışkanlığı ile ilgili faktörler sadece anormal durumlarda kan akımına etki eder[17].

Flep Kaybı

Flep kaybı, plastik cerrahide önemli bir sorundur. Kerrigan deri flep kaybını intrinsek ve ekstrinsek faktörlere bağlamıştır. Ekstrinsek faktörler; enfeksiyon, arterioskleroz, hipotansiyon, hipovolemi, hipotermi, malnütrisyon gibi sistemik durumları ve bası, gerilim, damar içi trombus oluşumu ve pedikül katlanması gibi lokal nedenleri içerir[18]. Bu nedenler iyi planlanmış ameliyat öncesi hazırlıklar ve ameliyat sonrası müdahalelerle önlenir.

Bilinen tek intrinsek faktör ise deri flebindeki besleyici kan akımının uygunsuzluğudur. Bu durum, flepte kısmi ya da tam iskemiye neden olur ve flep nekrozu oluşturur[19]. İntrinsek faktöre bağlı flep kayıplarında birçok farmakolojik ajan hem flep canlılığını artırmak hem de cerrahi geciktirme olayını anlamak için kullanılmıştır.

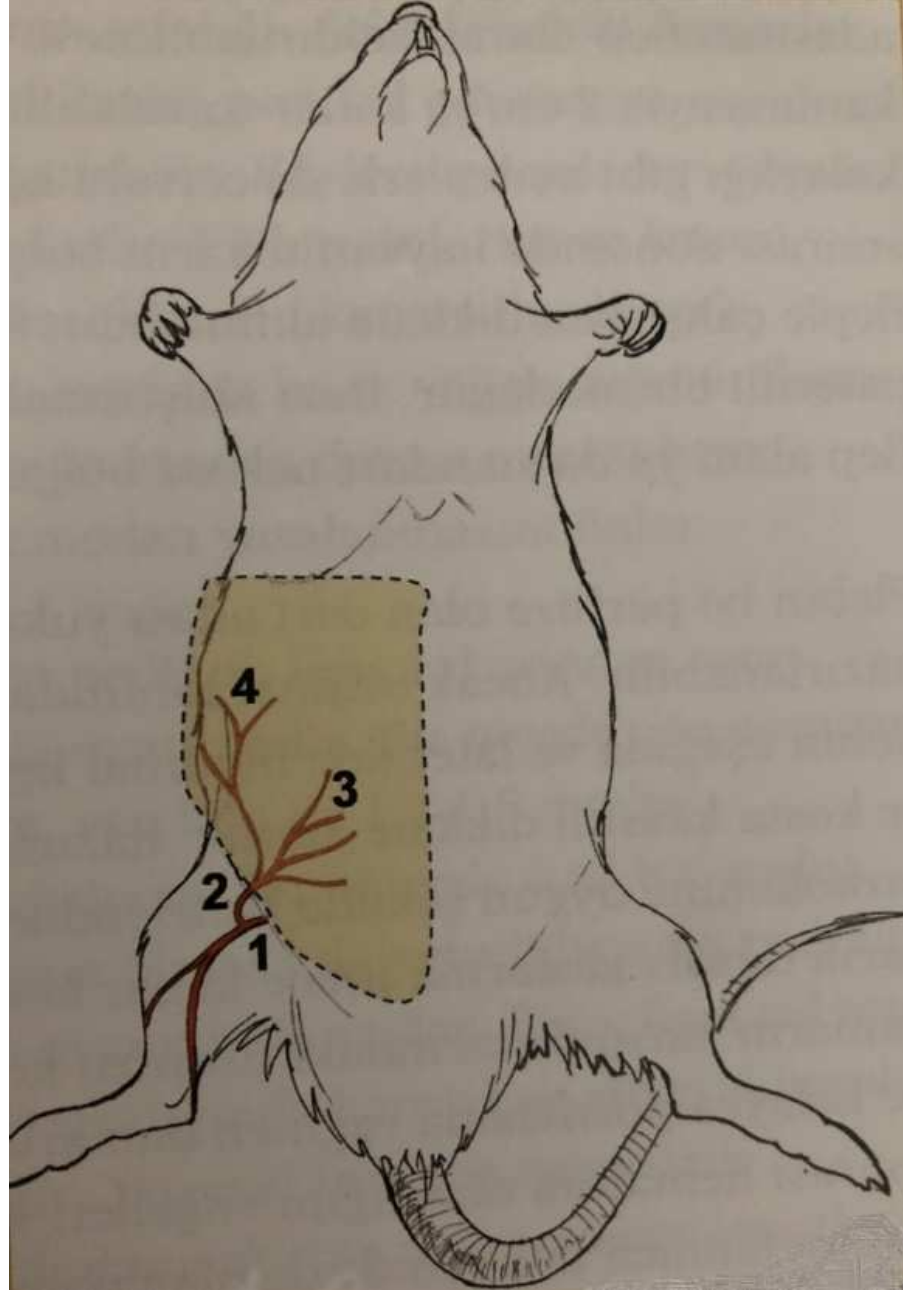
Sıçan İinferior Epigastrik Ada Flebi ve Anatomisi

Sıçanın karın derisi, mikrocerrahi çalışmalar açısından uygun pek çok flebi barındırır[20]. Sıçanlarda karın ve göğüs ön yüzündeki deri dolaşımı dört ana sistemden kanlanır. Bunlardan en önemlisi yüzeysel epigastrik (YE) damarlarıdır.

Ksifoid kıkırdak ve pubis arasında kalan karın cildinin kraniyal bölümünde uzun torasik arter hâkimdir. Bu arter aksiller sistemden köken alır. Yüzeysel epigastrik arterden gelen dolaşım, aynı taraftaki toraks derisinin aşağı yarısını, uzun torasik arterden gelen dolaşım ise aynı taraftaki karın derisinin kraniyal yarısını besleyebilir

Yüzeysel epigastrik damarların diseksiyonu, ortaya konulması ve kasık flebinin diseksiyonu teknik açıdan kolaydır, femoral damarlar mikrocerrahi anastomoz için uygun çapa sahiptir. Pedikülü femoral arter ve ven de katılarak 2 cm'ye kadar uzatılabilir. YE arterin femoral arterden çıktığı noktada çapı 0.6 mm iken YE ven femoral venden çıktığı noktada 0.8-1 mm çapındadır. Bu damar kasık yağ yastıkçığı içinde iki dala ayrılır[21]. YE damarların lateral ana dalı, karın derisi lateralinin arka aksiller çizgiye kadar olan bölümüne kan sağlar. Bu dal ön ve arka aksiller çizgiler arasında kalan bölgede sırttan gelen iliolumber dallarla birleşir. Karın derisinin orta bölümü, orta çizginin her iki yanında bulunup klavikuladan pubise kadar uzanan rektus abdominis kasları perforatörlerinden kan alır. Bu kastan gelen perforatörlerin tümü üzerindeki deriyi tek başına besleyebilecek kadar gelişkin değildir. Bununla birlikte bu perforatörler bazı yazarlarca etkin bir dolaşım kaynağı olarak belirtilmiştir[22, 23].

Mikrocerrahi gereksinimi olan çalışmalarda sık kullanılan deri flebi modellerinden biri kasık flebidir. Bu flep 1967 yılında Strauch ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Kolay hazırlanması nedeniyle deneysel araştırmalarda yaygın olarak kullanılır[24]. Bu flebin sınırları, dikey olarak ksifoid kıkırdaktan pubise çizilen çizgi ile yanlarda aksilla çizgileri arasında, yatay olarak da kosta kavsi ile inguinal ligaman arasındadır(Şekil 3). Yeni mikrocerrahi teknikler, vazodilatatör ajanların etkileri ve geciktirme işleminin sonuçları bu flep üzerinde kolaylıkla çalışılabilir. İlk tanımlandığı çalışmada kullanılan 6x4 cm boyutlu flep tasarımından başlayarak çeşitli boyutlarda dörtgen flepler kullanılmıştır. Farklı tasarımlar arasında ortaya çıkan tutarsızlıkları gidermek için kasık flebinin damar anatomisini esas alan bir çalışma Petry ve Wortham tarafından 1984'te yapılmıştır[21]. Pedikül damarlarına eşlik eden inferior epigastrik sinirin duyu sağladığı deri bölgesini Hirigoyen ve arkadaşları belirlemiştir[25]. Bu nedenle inferior epigastrik sinirin innerve ettiği bu flep duyulu olarak kaldırılabilir. Ameliyat sonrasında flebin izlenmesi kolaydır. Ameliyat sonrası dönemde sıçanın ameliyat alanını yeme olasılığı nedeni ile dikkatli olunmalıdır. Flebin innervasyonu korunarak bu sorun aşılabilir.



Şekil 4:İnferior epigastrik flebin kanlanması 1. Femoral arter; 2. Yüzeysel epigastrik arter; 3. Yüzeysel epigastrik arterin mediyal dalı; 4. Yüzeysel epigastrik arterin lateral dalı. (Bayramiçli, M., Deneysel Mikrocerrahi, Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri)

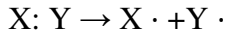
SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA

Serbest Radikal Tanımı

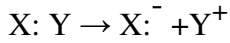
Oksijen insan yaşamı için çok elzem olmasına karşın, dokularda doğal olarak üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir[26]. Serbest radikaller, atomlarının dış orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Serbest radikaller, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftir. Yarı ömürleri çok kısadır. Normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler[27, 28]

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler[29]:

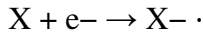
1- Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında, ortak elektronlardan bir tanesinin kalarak homolitik bölünmesi.



2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı.



3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Organizmalarda hücrelerin çoğunluğu, kendilerini serbest radikallerin hasar verici etkilerinden koruyacak hücre içi ve hücre dışı kimyasal mekanizmalarla donatılmış antioksidatif korunma sistemine sahiptirler[30].

Tablo 1: Reaktif oksijen ürünleri[31]

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil (\bullet OH)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Alkoksil ($RO\bullet$)	Singlet oksijen (1O_2)
Peroksil ($ROO\bullet$)	Ozon (O_3)
Superoksit ($O_2^{\bullet-}$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Nitrik oksit ($NO\bullet$)	Lipidhidroperoksit ($LOOH$)
Azot dioksit ($NO_2\bullet$)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)

Serbest Radikal Kaynakları

Ekzojen kaynaklar

Radyasyon

Antineoplastik ajanlar

Bağımlılık yapan maddeler: alkol ve uyuşturucu maddeler

Ksenobiyotikler (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)

Stres; strese katekolamin düzeyi artar ve artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi artmaktadır.

Endojen kaynaklar

Küçük moleküllerin otooksidasyonu: tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, antibiotikler vs.

Enzimler ve proteinler: ksantinoksidaz, triptofandioksijenaz, hemoglobin

Mitokondrial elektron transport zinciri

Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b5)

Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler

Plazma membranı: lipoksijenaz, prostoglandinsentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu

İskemi, travma

Solunumsal patlama[32]

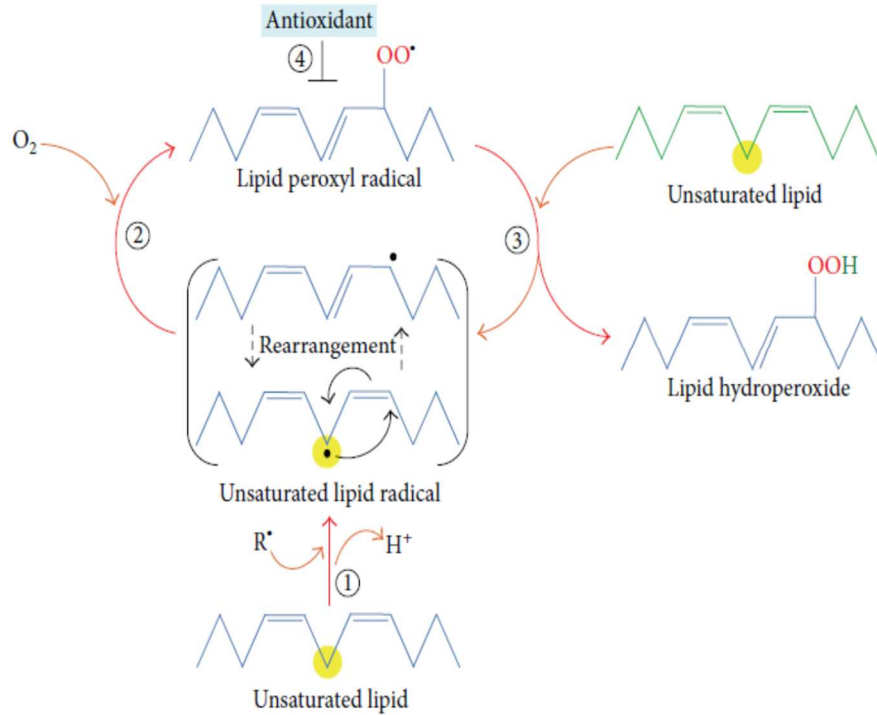
Serbest Radikallerin Etkileri

Lipit peroksidasyonu

Biyolojik sistemlerde serbest radikal $O_2^{\bullet-}$ ve $\bullet OH$ dir. Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre zarı yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal olay olarak tanımlanmaktadır. Hücre membranındaki yağ asitlerinin doymamış bağları ve kolesterol serbest radikallerle kolay bir şekilde reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna sebep olurlar[33]. Lipit peroksidasyonunda asıl etkili radikalin $\bullet OH$ olduğu düşünülmektedir. Serbest radikalin doymamış yağ asidi zincirinde bulunan α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaşması ile peroksidasyonu başlamaktadır. Hidrojen atomunun uzaklaşması ile lipit radikali oluşur. Kararsız yapıya sahip olan bu radikal oksijen ile

tepkimeye girerek lipit peroksit radikalini meydana getirir. Lipit peroksit radikalleri de zar yapısında bulunan diğ er doymamış yağ asitlerini etkiler ve yeni radikallerin oluşmasında neden olur. Ayrıca kendisi de açığ a çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Bu nedenle reaksiyon otokatalitik bir şekilde meydana gelmektedir[34].

Lipit peroksidasyonu, lipit hidropeksitlerinin hidroksinonenal (HNE) ve malondialdehit (MDA) gibi bileşiklere dönüşmesi ile son bulur. Bu bileşikler proteinlere ve DNA' ya bağlanarak kalıcı değışikliklere sebep olurlar. Peroksidasyonla oluşan MDA membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Lipit radikalleri hidrofobik yapıda olduğundan, reaksiyonların çoğ u membrana bağılı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskositesi ciddi şekilde etkilenir. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, membrana bağılı enzim ve reseptörlerin inaktivasyonu ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değıştirir[35].



Şekil 5: Lipit peroksidasyon reaksiyonları[35]

Proteinler üzerine etkileri

Proteinler lipitler ile kıyaslandığında serbest radikal hasarına daha dayanıklıdır. Doymamış bağ ve kükürt (-SH) içeren aminoasitlerden meydana gelmiş proteinler kolaylıkla okside olurlar. Aktifleşmiş oksijen radikalleri proteinlerin primer, sekonder ve tersiyer yapılarını etkiler[36]. Enzimler protein yapıdadırlar, enzim aktivitelerinde azalma olduğunda veya denatüre olduklarında fonksiyonlarını yerine getiremezler. Primer yapının oksidatif modifikasyonu sekonder ve tersiyer yapı değişmelerine neden olur[32].

Karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikallerin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi, glikoliz yoluyla ATP sentezinin azalması ve ATP kullanımının artması şeklindedir. Monosakkaritlerin oto oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit ve peroksitler meydana gelir. Serbest radikaller DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Süperoksit ve hidrojen peroksitin in vitro olarak hiyaluronik asidi parçaladığı ve viskozitesini azalttığı gösterilmiştir[37].

Nükleik asit ve DNA üzerine etkileri

Hidroksil radikali başta olmak üzere serbest radikaller, siklobutan pirimidin dimerleri, dipirimidinler, tek zincir kırılmaları, DNA-protein çapraz bağları oluştururlar. DNA polimerazı inhibe ederler. Hücrede mutasyon ve ölüme neden olurlar. DNA serbest radikallerden kolayca etkilenir. Sebebi de hidroksil radikalının, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebildiği içindir. Bazı serbest radikaller de DNA tamir enzimlerini etkileyerek hasara yol açarlar[38].

Antioksidan Savunma

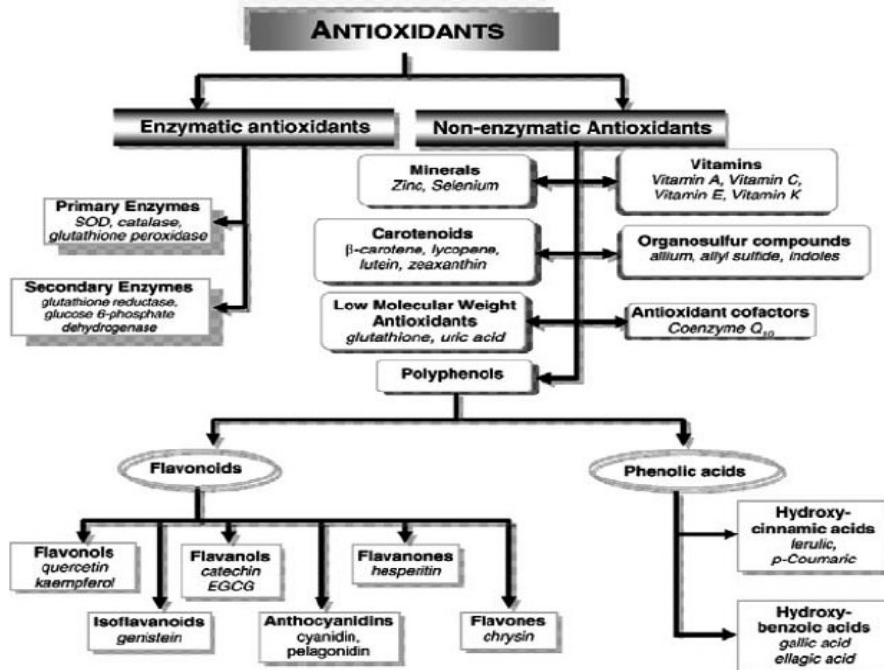
Canlılarda antioksidanlar ve serbest radikallerin düzeyleri arasında hassas bir denge vardır[33]. Bu dengenin antioksidanlar yönüne kayması halinde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin bu zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar bulunmaktadır. Bu koruyucu mekanizmaların bir kısmı serbest radikal oluşumunu önlerken, bir kısmı da oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu işlevleri yapan maddelere genel olarak 'Antioksidanlar' bu maddelerin geneline de 'Antioksidan savunma sistemi' denir[39].

Glutasyon, ubikinol ve ürik asit gibi bazı antioksidanlar vücuttaki normal metabolizma sırasında üretilir[40]. Vücutta serbest radikalleri temizleyen birkaç enzim sistemi olmasına rağmen, vitamin E (α -tokoferol), C vitamini (askorbik asit) ve β -karoten esansiyel antioksidanlar da bu görevi üstlenirler. Vücut bu mikro besinleri üretemez, bu yüzden diyetle alınmaları gerekir[41].

Antioksidanlar serbest radikal temizleyici, hidrojen verici, elektron verici, peroksit parçalayıcı, tekli oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjik ve metal şelatlayıcı maddeler olarak görev yaparlar. Hem enzimatik hem de nonenzimatik antioksidanlar ROS'u detoksifiye etmek için hücre içi ve hücre dışı ortamda bulunurlar[42].

Antioksidanların iki temel eylem mekanizması olduğu düşünülmektedir[43]. Birincisi, antioksidanın, sistemdeki serbest radikallere bir elektron verdiği bir zincir bozucu mekanizmadır. İkinci mekanizma ise zincir başlatıcı katalizörü söndürerek ROS / reaktif nitrojen tür başlatıcıların (ikincil antioksidanlar) uzaklaştırılmasını içerir. Antioksidanlar, elektron bağıışı, metal iyon şelasyonu, ko-antioksidanlar veya gen ekspresyon regülasyonu gibi farklı mekanizmalarla biyolojik sistemlere etki edebilirler[44].

Antioksidan savunma mekanizması enzimatik ve non-enzimatik (Şekil 6) antioksidanları içermektedir[45].



Şekil 6: Antioksidanların sınıflandırılması[46]

İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Flep Kaybı

Flep cerrahisinde keşfedilen önemli yeniliklere ve kullanılan ajanlara rağmen hala iskemi reperfüzyon hasarına bağlı flep kayıpları önemli bir sorundur ve flebin kısmi kaybının altında yatan temel nedenlerden biridir [47]. Flep kaldırıldıktan sonra perfüzyon basıncının düşmesiyle gelişen lokal iskemi vazodilatasyona yol açar ve iskemik hasarın gelişmesi için gerekli olan mediyatörlerin salınma süreci başlar[18, 48, 49].

Vasküler yetmezliğin pediküllü fleplerdeki kayıplara etkileri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Venöz yetersizliğin, yeterli arteryel akım olsa bile flep kaybına neden olabileceği gösterilmiştir[50]. Serbest doku aktarım ameliyatlarında venöz oklüzyon, arteryel oklüzyona göre daha sık görülmektedir ve düzeltilmezse flep kaybı ile sonuçlanır. Deneysel modellerde yapılan çalışmalarda primer venöz iskemi arteryel iskemiye göre daha ciddi gözükmektedir[51-53].

İskemi hasarı oluşturan süreçlerin başlamasında tetikleyici nokta, hücrenin enerji depolarının belirli bir seviyenin altına inmesidir. Kritik iskemi süresi; kan akımının durmasından sonra, dokunun canlı kalması ve enerji depolarının eşik seviyenin altına inmesine kadar geçen maksimum süredir. Bu süre aşıldığı zaman doku perfüzyonu yeniden sağlansa dahi doku hasarı kaçınılmazdır[54, 55]. Bu durum, daha sonra oluşacak, yıkım potansiyeli çok daha fazla olan ve serbest oksijen radikallerinin oluşmasıyla tetiklenen reaksiyonlara zemin hazırlamaktadır[54, 56, 57].

İskemik dokuda anaerobik metabolizma aktif hale gelir. Hipoksi dokuda iyon yükü değerlerinin değişimine, ATP/ADP oranının azalmasına ve mitokondriyal geçirgenliğin bozulmasına reaktif moleküllerin oluşumuna sebep olmaktadır. Aynı zamanda hücre savunmasını da zayıflatmaktadır[58-60]. Anaerobik metabolizmaya birlikte süperoksit radikallerin üretiminde olan artış direkt sitotoksik etki gösterebilir veya daha da önemli olarak, lokal akut inflamasyonun, sonrasında endotel hasarın ve hücresel olaylarla mikrodolaşımın iflasının gelişeceği lökosit adezyonu ve agregasyonun tetikleyicisi olarak rol alırlar. Flepte vücudun en önemli koruyucu enzimi olan süperoksit dismutaz düzeylerinde de düşmeye neden olur[61-63].

Serbest oksijen radikalleri hematoma ilişkili flep nekrozunda da önemli rol oynarlar. Demir ve hemoglobin, hidroksil radikalleri başta olmak üzere birçok

radikalin oluşacağı kimyasal reaksiyonlara katılırlar. Deneysel olarak deferoksamin hematom varlığında flep sağ kalımını artırdığı ortaya konmuştur[64].

İskeminin olduğu dönemde hücre içerisinde metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi ile hücrede oksidatif fosforilasyon azalır, buna bağlı olarak hücrenin enerji depoları azalır ve hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur [65]. Sonuçta hücre içinde Ca^{2+} ve Na^+ konsantrasyonları artar ve hücre içerisinde Ca^{2+} iyonunun artışı hücre için sitotoksiktir[66]. Aynı zamanda bu dönemde hücrede iyon miktarlarının değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış olurken antioksidan enzimlerin oluşumunda ise azalma olur. Bu durum reperfüzyon dönemindeki hasara karşı hücreyi dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde ATP kullanımı devam eder ve ATP'den AMP ve adenozin oluşur. Artan adenozin hızla hücre dışına difüze olur ve hipoksantin ve inozine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu ATP yıkımının artması, dokuda hipoksantin ve ksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar[67]. Reperfüzyon sonrası ortama gelen oksijen iskemide oluşan hipoksantin ve diğer metabolitlerle reaksiyona girer ve süperoksit anyon oluşur. Bu anyon doğrudan hücre hasarı yapar. İkincil bir mekanizma da oksijen metabolitleri tarafından reperfüzyon sahasına nötrofil göçü sonrası gerçekleşir. Damar içinde hızla nötrofil birikimiyle nötrofillerden sentezlenen mediatörler yüzünden perfüzyonun düşmesine neden olur bu da iskemi–reperfüzyonla ilişkili “no-reflow fenomenine” neden olur[68-71].

Normal zamanda hipoksantin ürik asite metabolize edilir ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD^{+} 'dir (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu).. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle $\text{KDH} \rightarrow \text{KO}$ 'a dönüşmesi nedeniyle hipoksantin ürik asite dönüşümü Ksantiz Oksidaz tarafından gerçekleşir ve burada ise elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanılır[72]. İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinin anlaşılması için çeşitli faktörler üzerinde durulmuş ve çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık olan, hücresel ve humoral olaylardır[73]. Özellikle; serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleri en önemli iskemi-reperfüzyon hasarı nedenlerindedir.

ADENOZİN

Adenozin, bir pürin bazı olan adenine, bir pentoz halkasının eklenmesiyle oluşan doğal nükleoziddir[2]. Hücrelerin içinde ve dışında sentezlenebilmekte ve kullanılmaktadır. İlk olarak 1929 yılında adenozinin çeşitli fizyolojik olaylarda önemli rol üstlendiği fikri ortaya atılmıştır. İlk olarak kalp kasından salgılandığı bulunan bu molekülün kalp kasında kasılma gücünü etkili bir şekilde azalttığı hem de arterlerde vazodilatasyona neden olan hücre dışı bir sinyal molekülü olduğunu gösteren bir çalışma yapılmıştır[74]. Adenozinin, etkilerini kendine özgü reseptörler üzerinden oluşturduğu 1974'te anlaşılabilmiştir. Hipoksi, iskemi, stres travma, nöbet, ağrı ve inflamasyon gibi durumlarda üretiminin arttığı gözlemlenmiştir[75].

Adenozinin merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik olayların gelişiminde rolü bulunmaktadır. Hücresel enerji ihtiyacının akut olarak yetersiz kaldığı durumlarda, özellikle iskemi reperfüzyon hasarında önemli bir lokal düzenleyicidir. Metabolizma hızındaki artış veya oksijen ihtiyacında artma ne kadar fazla ise, vazodilatasyona neden olan maddelerin oluşumu da o kadar fazladır. Bu maddeler adenozinin yanı sıra histamin, laktik asit karbondioksit, adenozin fosfat bileşikleri, hidrojen iyonu, bradikinin ve prostaglandinlerdir. Adenozin, vazodilatasyon yoluyla dokuya kan akımını artırır ve stres altındaki dokunun enerji gereksinimini azaltması nedeni ile dokuyu iskemiden koruyan en önemli lokal vazodilatatördür. İskemiye bağlı gelişebilecek hasara karşı koruyucudur[76]. Adenozin, bu rollerini en çok; kalp, beyin, böbrek, endotel hücreleri, lökositler ve trombositler gibi iskemiye duyarlılığı en fazla olan doku ve hücre gruplarında oluşturur.

Adenozinin en önemli kaynağı hücre içinde devamlı kullanılan adenozin trifosfat (ATP) ve siklik adenozin monofosfat (cAMP)'dır[77]. Bu nükleotidler hücrede önce adenozin monofosfat (AMP)'a yıkılır. Ardından oluşan AMP hücresel 5'-nükleotidaz enzimi ile katalizlenen biyokimyasal bir reaksiyon ile adenozine dönüştürülür[78]. Canlılarda bir diğer önemli adenozin kaynağı katekolaminlerin ve histaminin yıkılması sırasında ortaya çıkan ve hidroliz ile adenozine çevrilen S-adenozil homosisteindir. Normal oksijenlenen dokularda, adenozinin büyük kısmı S-adenozil homosistein yolundan elde edilir[79]. Hipoksik şartlarda ise asıl yolak ATP yolağıdır. ATP hücre dışında üretilen adenozinin en önemli kaynağıdır. ATP

presinaptik sinirlerin ucunda yer alan vezikül içlerinde asetilkolin dopamin, gibi nörotransmitterlerle birlikte depolanır ve nörotransmitterlerin salınımı esnasında hücre dışına salgılanır. Hücre dışında önce AMP'ye sonra ekto-5'nükleotidaz enzimi aracılığı ile adenozone dönüştürülür[80].

Sentezlenen ve salgılanan adozin iki çeşit mekanizma ile dokulardan uzaklaştırılır. Bu mekanizmalar, pürinerjik sinir ucunda nükleozit taşıyıcı sistemleri (ENT1-ENT2) aracılığı ile geri alınarak tekrar ATP sentezinde kullanılması ve adozinin enzimatik yıkımıdır. ENT1 ve ENT2 normalde hücre içine doğru görev yaparlarken iskemide ters yöne doğru çalışırlar[78]. Adozinin enzimatik yıkımında iki farklı enzim görev alır. Bu enzimler adozin kinaz ve adozin deaminazdır. Adozin kinaz sadece hücre içinde bulunurken adozin deaminaz hücrenin içinde ve dışında bulunur. Normal şartlarda taşıyıcılar ile hücre içine alınan adozin, adozin kinaz ile fosforillenerek AMP oluşturulur. Patolojik durumlarda ise adozin hücre içinden dışına çıkar ve adozin deaminaz aktivitesi ile AMP oluşturulur[81].

Pürinler ile pürinlerin nükleozit ve nükleotid formları, hücre içi ve hücreler arasındaki iletişimde önemli rol oynarlar. Bu iletişim, hücre yüzeyinde bulunan plazma membranında yer alan reseptörler ile gerçekleşir. Adozin, etkilerini G proteinine kenetli A₁, A_{2a}, A_{2b} ve A₃ reseptörleri üzerinden gösterir[82]. Adozin reseptörleri ve etki mekanizmaları Tablo 2'te gösterilmiştir[83-85]. Yapılan son çalışmalarda adozinin doku üzerinde diğer önemli koruyucu etkisini immun sistem üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Adozin salınımından sonra, hücrede aşırı immun cevabı engelleyecek güçlü bir endojen immunsüpresif etki göstermektedir[2].

Tablo 2: Adenozin reseptörleri ve etki mekanizmaları

A ₁	A _{2a} ve A _{2b}	A ₃
<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Adenilat siklaz inhibe edilmesi<input type="checkbox"/> K-ATP kanallarının aktive edilmesi<input type="checkbox"/> N, P ve Q tipi kalsiyum kanallarının inaktive edilmesi<input type="checkbox"/> Fosfolipaz C'nin aktive edilmesi<input type="checkbox"/> Hücrel membranların stabilize edilmesi<input type="checkbox"/> Nötrofillerin aktive edilmesi ve kemotaksisin artırılması<input type="checkbox"/> Lipid peroksidasyonunun engellenmesi<input type="checkbox"/> Katekolamin salınımının baskılanması<input type="checkbox"/> Antilipolitik etkiler<input type="checkbox"/> Hücre içi laktat üretiminin ve buna bağlı asidozun azaltılması<input type="checkbox"/> Reperfüzyon ardından ksantin oksidaz enzimi aracılığıyla superoksit oluşumunun azaltılması	<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Adenilat siklazın aktive edilmesi<input type="checkbox"/> N tipi kalsiyum kanallarının aktive edilmesi<input type="checkbox"/> Nötrofillerden serbest oksijen radikallerinin salınımının inhibe edilmesi<input type="checkbox"/> Trombosit agregasyonunu inhibe edilmesi	<ul style="list-style-type: none"><input type="checkbox"/> Adenilat siklaz inhibe edilmesi<input type="checkbox"/> Fosfolipaz C/D Aktive edilmesi

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alınan (PAUHDEK-15.01.2020/1) sayılı onay sonrasında başlamıştır. Çalışma kapsamında yapılan cerrahi girişimler Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Ameliyathanesinde yapıldı ve bu laboratuvarında üretilmiş 28 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. 350-400 g arası ağırlıktaki sıçanlar randomize bir biçimde kontrol gruplarında altışar deney gruplarında sekizer adet denek olacak biçimde 4 gruba dağıtıldı. Sıçanlar gereği kadar yem ve su verilerek, gece gündüz döngüsüne uygun ışıklandırma, uygun havalandırma ve ısıtmaya dikkat edilerek bakıldı.

Deney Protokolü ve Deneklerin Gruplandırılması

Deneyde kullanılan 28 adet sıçan, randomize olarak gruplara ayrıldı. Kontrol grubu, stres grubu (n=6) ve 2 adet deney grubu (n=8) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Tüm sıçanlara 8 saat'lik iskemi uygulanması ve mikroklemp çıkarımı sonrasında

grup 1'e: Kontrol grubuna herhangi bir tedavi uygulanmadı.

grup 2'ye: Stres gurubuna intraperitoneal serum fizyolojik 0.1 cc/gün enjeksiyonu,

grup 3'e: adenzin (45 µg/kg/gün 3 eşit dozda),

grup 4'e: adenzin (180 µg/kg/gün 3 eşit dozda) verildi.

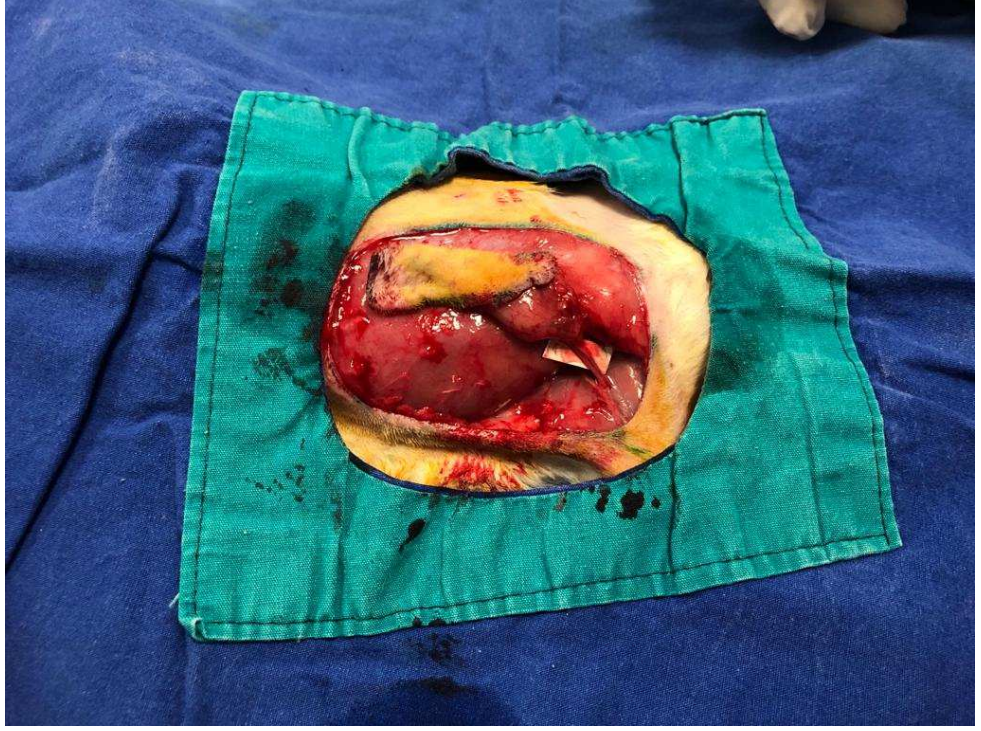
Operatif Girişim

Sıçanlara genel anestezi için intraperitoneal olarak 60 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür verildi. Sıçanların karın bölgeleri tıraşlandıktan sonra iyodin solüsyon ile silindikten sonra steril olarak örtüldü ve operasyona başlandı. 5,5x3,5 cm boyutundaki standart flep taslağı pubisin 1 cm üstünden orta hatla birleştirilerek sağ karın bölgesinde inferior epigastrik ada deri flebi çizildi (Resim 1). Flep superiordan inferiora doğru disseke edilerek inferior epigastrik arter-ven-sinir pedikülü temel alınarak kaldırıldı (Resim 2). Pedikül çevre dokulardan serbestlendi. Grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4'te bulunan sıçanlarda pedikül akımı mikroklemp ile bloke edildi (Resim 3). Deri flebi daha sonra yerine iade edildi ve flep üstü kapalı olacak şekilde pansuman yapılarak operasyon sonlandırıldı.

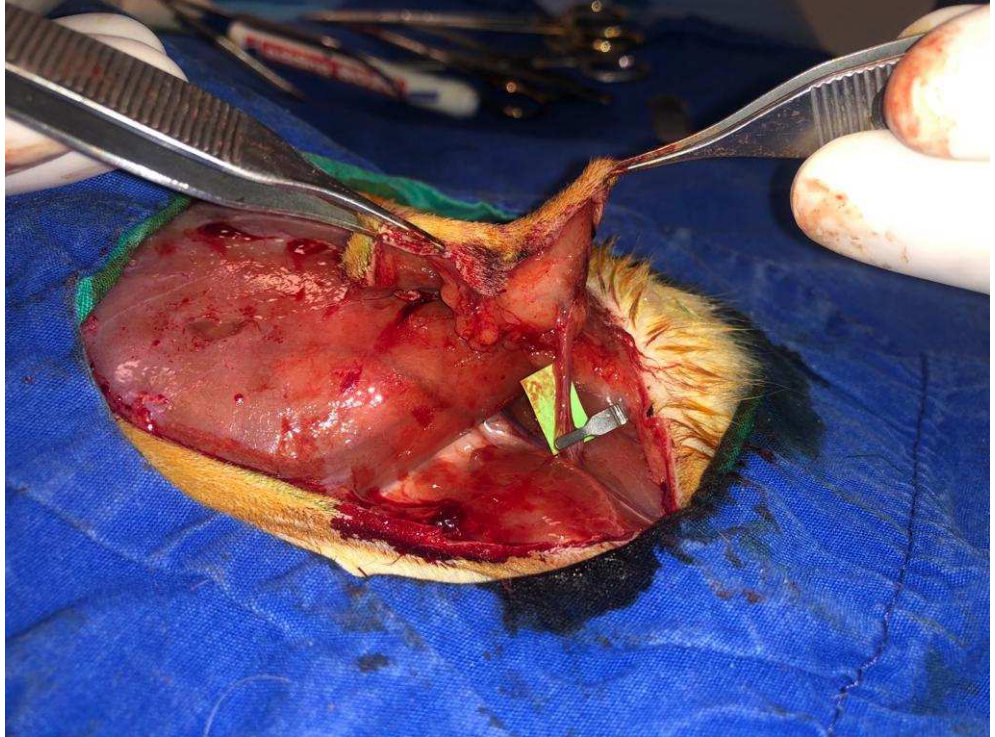
İlk operasyon sonrasında itibaren sıçanlar tekli kafeslere alındı. Standart koşullar altında ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, %40-60 bağıl nem ve 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık ışık periyodu) yeteri kadar yem ve su verilerek barınmaları sağlandı. İlk operasyondaki işlemlerden sonra klemp alınması için 8. saatte sıçanlara genel anestezi verilerek ikinci operasyon gerçekleştirildi. Klempin alınması için flebin pediküle yakın olan kısmındaki dikişler açılarak mikro klemp ortaya kondu. Pedikül üzerindeki klemp alındı, sağma yöntemi uygulanarak arteriel ve venöz akımın döndüğü görüldükten sonra flep yine aynı yerine adapte edildi. (Resim 4). Daha sonra uygun şekilde pansuman yapılarak sıçanlar tekli olarak kafeslere alındı.



Resim 1: Kasık flebinin planlanması



Resim 2: YE pedikül üzerinde flebin ada haline getirilmesi



Resim 3: YE pedikülün klemlenerek iskemi oluşturulması



Resim 4: Deney hayvanının post op görüntüsü

Sakrifikasyon Protokolü

Flep cerrahisinin 7. günü tüm sıçanların cilt flepleri suturasyon hattının etrafından histopatolojik değerlendirme için total olarak eksize edildi. Flep eksizyonlarının tamamlanması sonrası sıçanların tümü servikal dislokasyonla sakrifiye edildi.

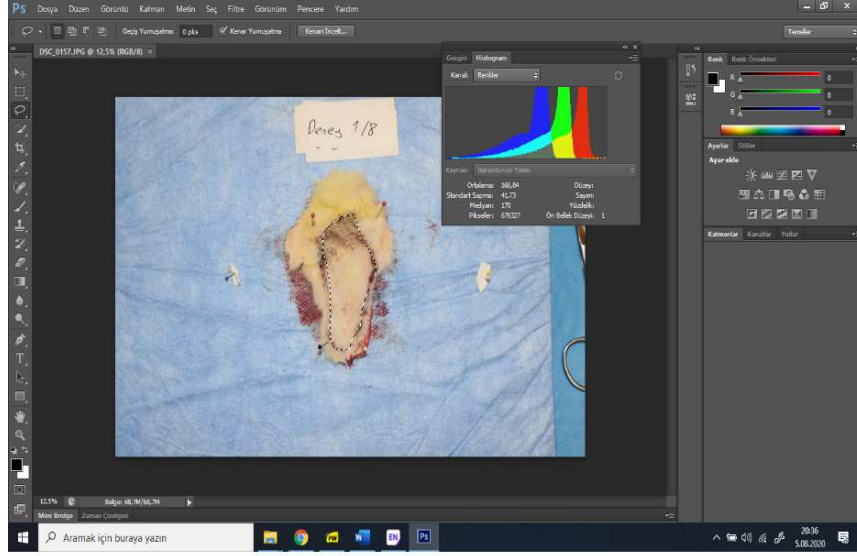
Değerlendirmeler

Yüzey Alan değerlendirilmesi

Çalışmada flep nekroz oranlarını belirleme amaçlı cilt flepleri, etraflarında yer alan 1 cm'lik sağlam dokuyla birlikte postoperatif 7. günün sonunda total olarak eksize edildi. Alınan bu flepler köpük bloklar üzerine iğnelenerek sabitlendikten sonra eşit mesafeden Nikon D3500 (Nikon Corp., JAPAN) digital fotoğraf makinası ile fotoğrafı yapıldı. Fotoğraflar Adobe Photoshop CS46 (Adobe Systems. USA) ve Windows 10 (Microsoft Corporation. USA) programı kullanılarak grafikleştirildi.

Photoshop programında, önce nekrotik alan çizimi sonra tüm flebin alan çizimi yapılarak piksel sayıları kaydedildi. Değerler birbirine oranlandı ve yüzde alan olarak

ifade edildi. Fleplerde şüpheli olarak görülen alanlar nekrotik olarak değerlendirildi (Şekil 10).



Resim 5: Adobe Photoshop CS6 ile flep yüzey alan ölçümü

Histopatolojik değerlendirme

Fleplerin histopatolojik değerlendirmesi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bir patolog tarafından değerlendirilen materyalin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin yapıldı. Kıl shaftı çevresi yangı tipi bölgeler, enfeksiyon abse odakları, granülomatöz tip reaksiyon bölgeleri değerlendirmeye alınmadı. Gruplardan yedinci günde flep nekrotik ile sağlam doku arasındaki geçiş zonundan alınan doku biopsileri %10'luk formalinde tespit edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Mikrotomla 4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler hematoksilin eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Örneklerde 10x büyütmede nötrofil miktarı, neovaskularizasyon, kollajen yoğunluğu ve homojenizasyon olmak üzere üç adet parametre göz önüne alındı. Skorlama yapılırken; nötrofil miktarı için 10x büyütmede nekrotik olmayan alandaki nötrofil odağı yoğunluğu, fibrozis değerlendirilmesi için 10x büyütmede randomize alanlardaki kollajen yoğunluğu, neovaskularizasyon için nekrozdan uzak bölgede subkutan alanda randomize 10x büyütmede damar yoğunluğuna göre değerlendirildi (Tablo 3).

Tablo 3: Histopatolojik skorlama

	Yok	Fokal	Diffüz-Yüzeyel	Diffüz-Tam Kat
Nötrofil miktarı	0	1	2	3
Kollagen artışı ve homogenizasyon	0	1	2	3
Anjiyogenesis	10x büyütmede subkutan bölgede randomize damar sayısına göre skorlandı.			

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizi için SPSS v.25 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma şeklinde gösterildi. Değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleriyle sınıandı.

Normal dağılıma uyumu tespit edilen kategorik değişkenler ile sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında ise iki alt gruba sahip olan değişkenlerde parametrik testlerden Bağımsız Gruplarda T-Testi (Independent T-Test) kullanılarak gerekli analizler gerçekleştirildi. İstatistiki anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

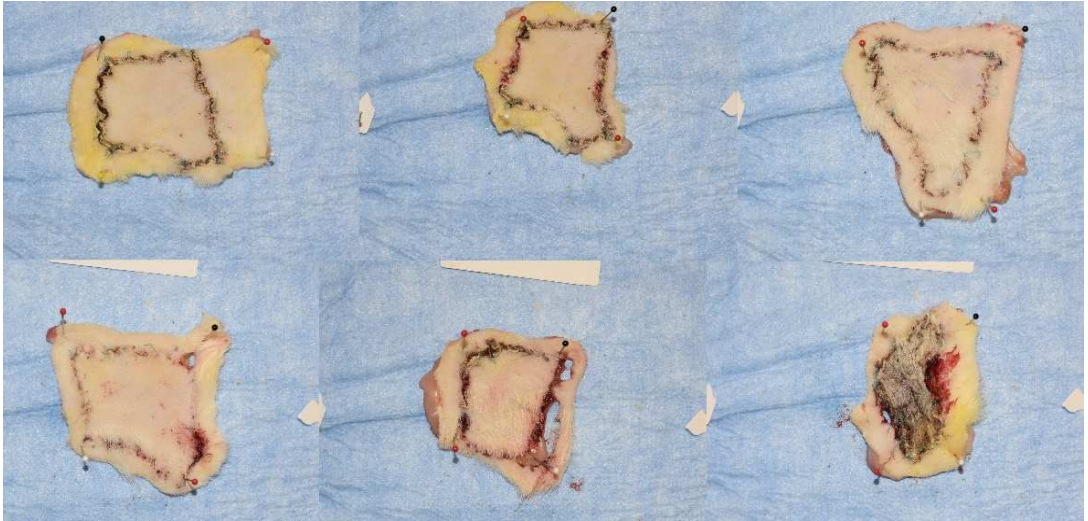
BULGULAR

Genel Bulgular

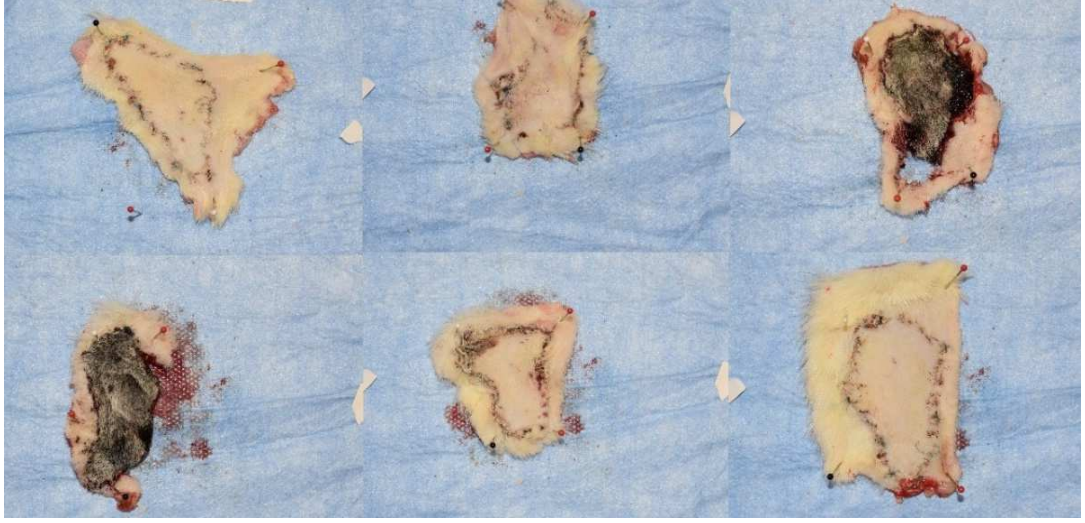
Günlük olarak takip edilen fleplerde enfeksiyon, abse, seroma görülmedi. Toplamda 5 adet flepte total nekroz görüldü. Total nekrozların 2 adedi 2. grupta iken 1. 3. ve 4. grupta birer adet olarak izlendi. Sıçan kasık flebinin, doğası gereği ya hep ya hiç flep olmasından dolayı total nekroz olumsuz bir durum olarak yorumlanmadı. Parsiyel nekroz görülen fleplerin sadece 3. ve 4. grupta olması adenozinin koruyucu etkisi olarak düşünüldü.

Flep Canlı ve Nekroz Alan Ölçümleri

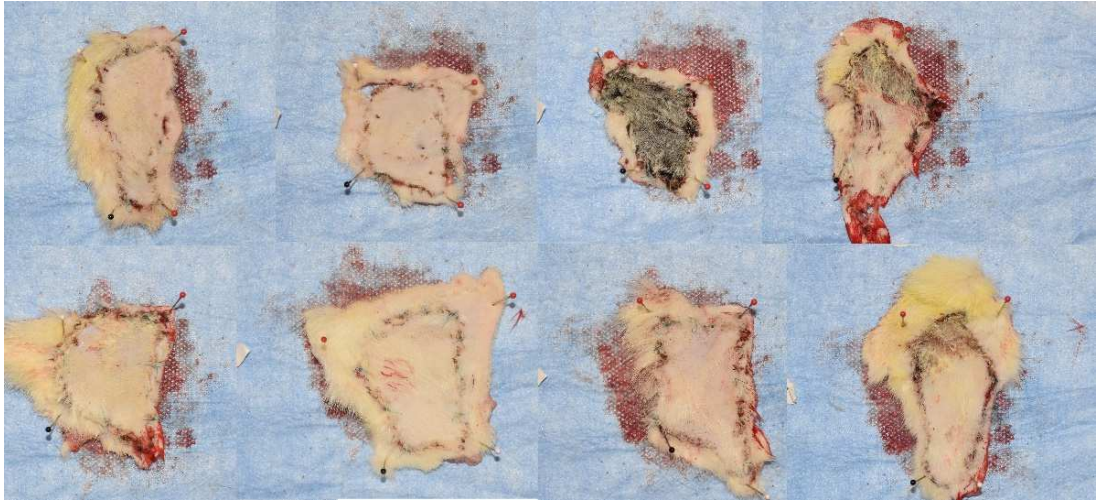
Post operatif 7. gün yapılan makroskobik ölçümlerin (Resim 6, Resim 7, Resim 8, Resim 9) sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.



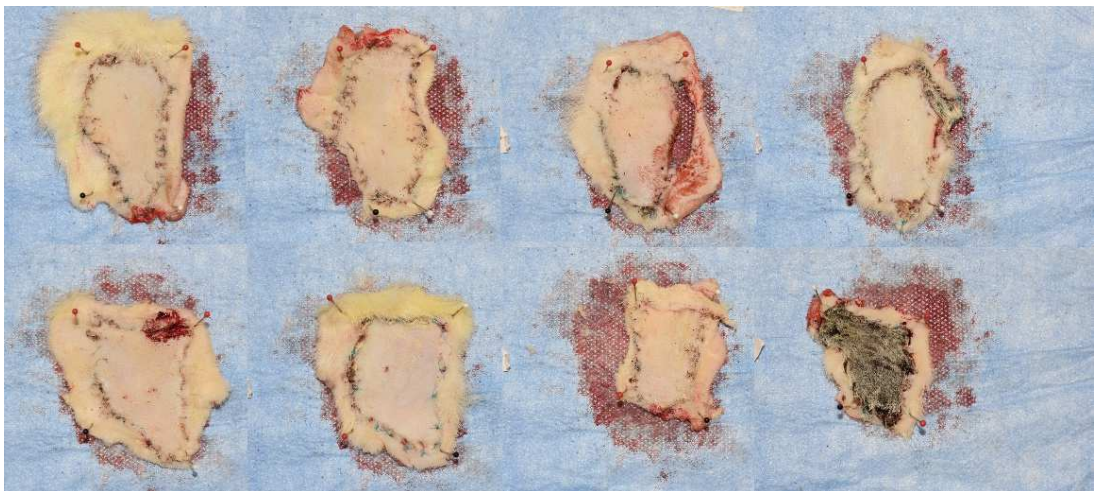
Resim 6: Grup 1'de bulunan fleplerin nekroz oranları



Resim 7: Grup 2'de bulunan fleplerin nekroz oranları



Resim 8: Grup 3'te bulunan fleplerin nekrozları



Resim 9: Grup 4'te bulunan fleplerin nekroz oranları

Tablo 4:Gruplarda flep nekroz oranları

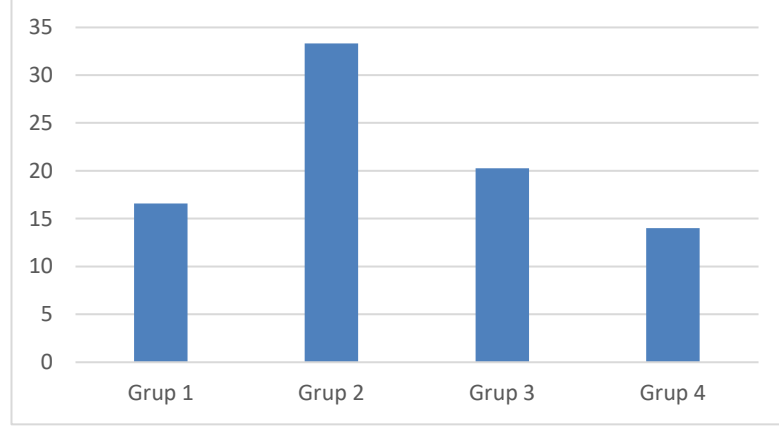
Gruplar ve Denekler		% Nekroz Oranı
GRUP-1		
Kontrol	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
	5	0
	6	100
GRUP-2		
Stres	1	0
	2	100
	3	100
	4	0
	5	0
	6	0
GRUP-3		
Adenozin 45 µg/kg/gün	1	0
	2	0
	3	100
	4	36
	5	0
	6	0
	7	0
	8	26
GRUP-4		
Adenozin 180µg/kg/gün	1	0
	2	0
	3	0
	4	12
	5	0
	6	0
	7	0
	8	100

Flep canlı kalma oranlarının ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5: Flep nekroz oranlarının ortalamaları ve standart sapmaları

Gruplar	n	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1	6	16,67	40.825
Grup 2	6	33,33	51.640
Grup 3	8	20,25	35.237
Grup 4	8	14	35.002

Fleplerde görülen nekroz oranları grup 1’de %16.6, grup 2’de %33.3, grup 3’te %20.25, grup 4’te %14 olarak hesaplandı. Şekil 7’de grupların flep sağ kalım oranlarının ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.

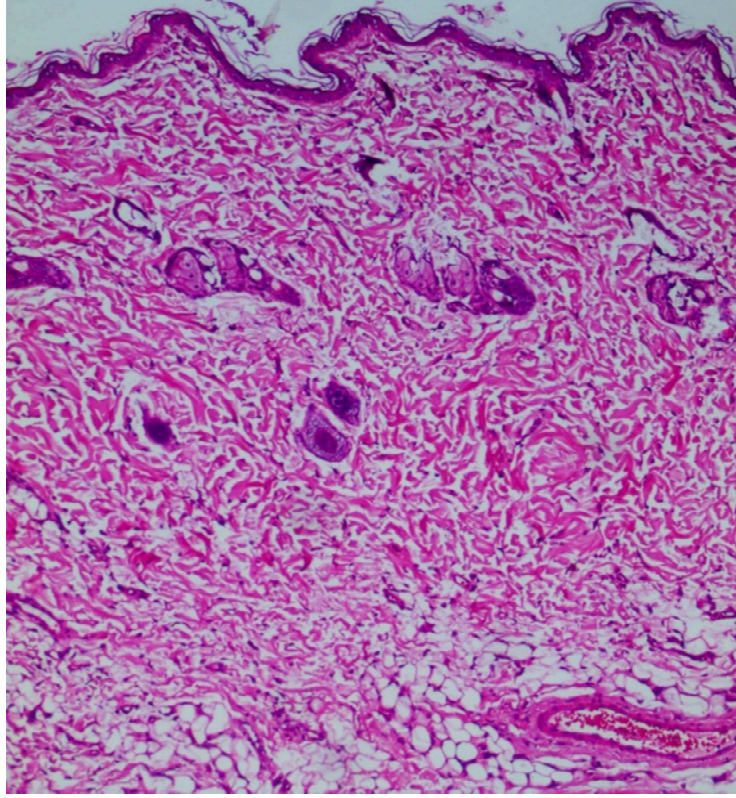


Şekil 7: Grupların flep nekroz oranlarının ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.

Test sonuçlarına göre, ($p < 0.05$) istatistiki anlamlılık düzeyinde, nekroz alanları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır.

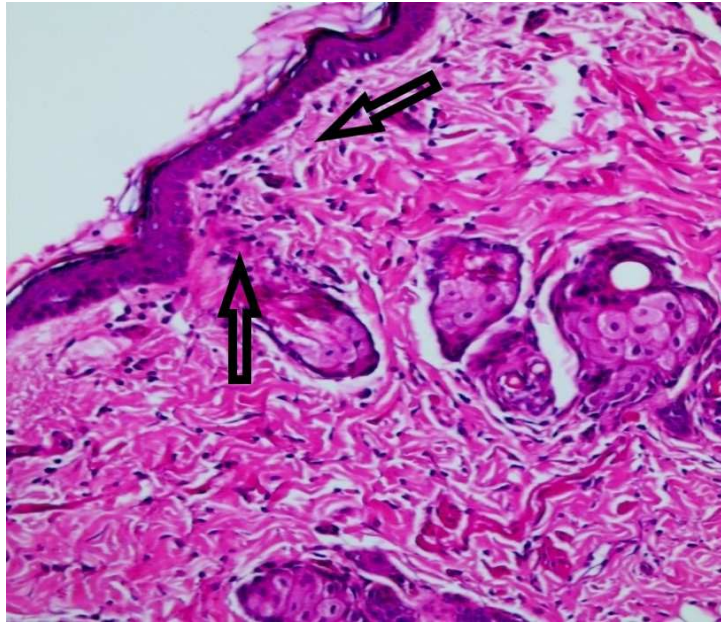
Histopatolojik Bulgular

Yedinci günde fleplerden doku örnekleri alındı. Total nekroz görülen flepler değerlendirilmeye alınmadı. Nekroz görülmeyen fleplerde ise iskemiye en duyarlı bölge olan flep distalinden doku örnekleri alındı. Doku örnekleri deneyimli patoloji tarafından hangi flebin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin nötrofil yoğunluğu, anjiogenez, kollajen yoğunluğu sıfırdan üçe kadar skorlandı. Resim 10’da histopatolojik inceleme görüntüsü verilmiştir.



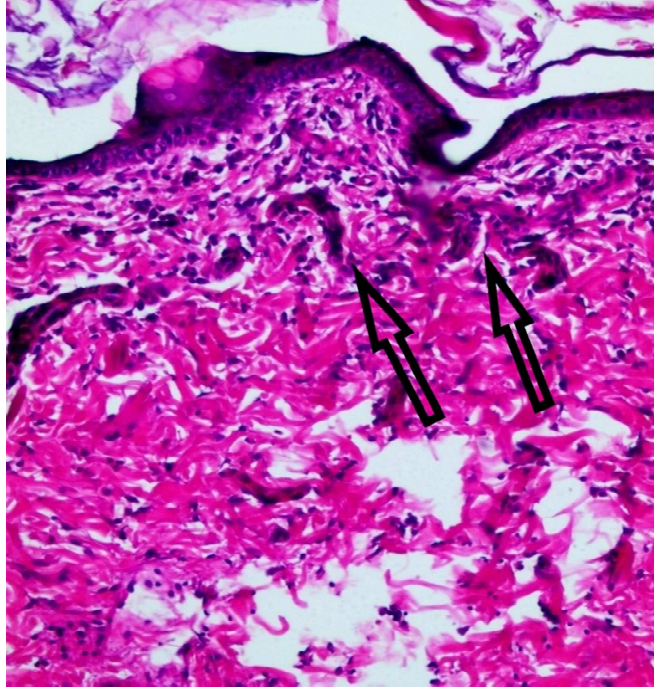
Resim 10: Grup 1'de histopatolojik kesit görüntüsü (10X).

Resim 11'de grup 1'den alınan örnek histopatolojik kesit görüntüsünde yoğun nötrofil infiltrasyonu görülmektedir. Nötrofil yoğun alan ok ile gösterilmiştir.



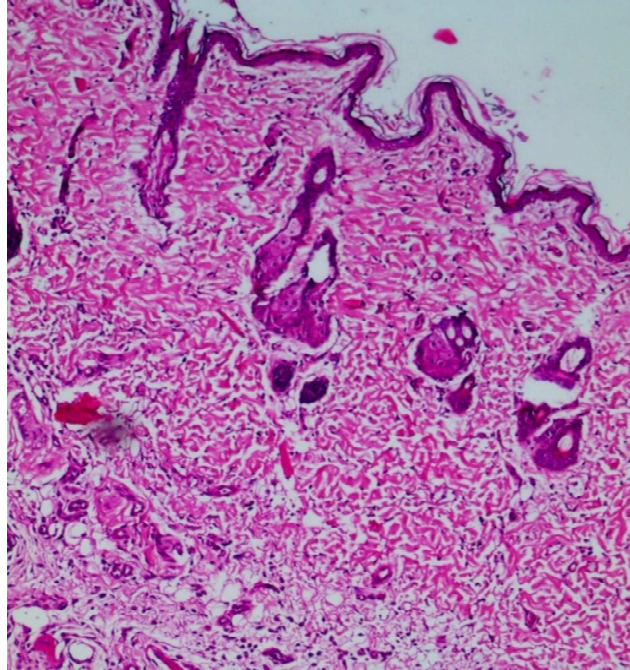
Resim 11: Grup 1'de üst dermiste yoğun nötrofil infiltrasyonu (20X)

Resim 12’de anjiogenez artışı farkedilmektedir. Vasküler açıdan yoğun alan oklar ile işaretlenmiştir. Histopatolojik sınıflamada 3’e karşılık gelmektedir.



Resim 12: Grup 3’te anjiogenez artışının görülebildiği kesit görüntüsü (20X)

Resim 13’te kollajenizasyon artışı fark edilmektedir. kıl foliküllerinin çevresinde kollajenden yoğun alanlar görülebilmektedir.



Resim 13: Grup 4’te kollajenizasyon artışının izlendiği kesit görüntüsü (10X).

Sonuçlar değerlendirme amacı ile birbirleri ile karşılaştırıldı (Tablo 6).

Tablo 6: Fleplerde histopatolojik değerlendirme sonuçları

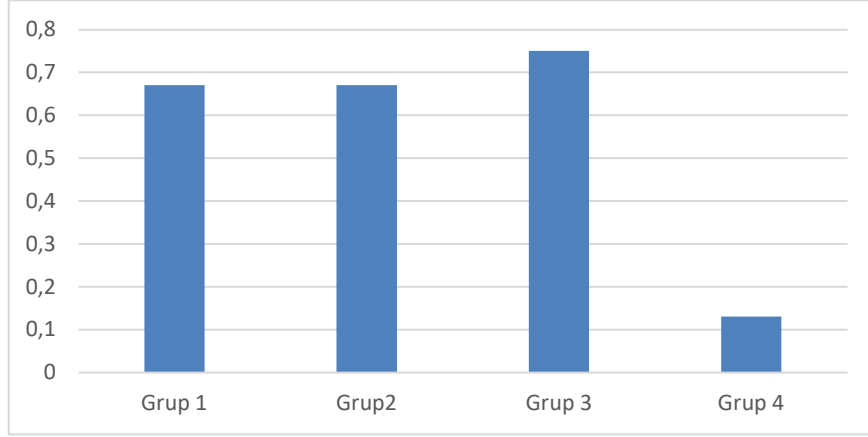
Gruplar ve Denekler	Nötrofil yoğunluğu	Anjiogenez	Kollajen yoğunluğu	
GRUP 1	1	0	1	0
	2	0	0	0
	3	0	1	0
	4	0	1	0
	5	1	1	0
	6	Total nekroz izlendi		
GRUP 2	1	0	1	0
	2	1	1	0
	3	Total nekroz izlendi		
	4	Total nekroz izlendi		
	5	1	2	0
	6	2	1	0
GRUP 3	1	2	3	1
	2	0	1	0
	3	Total nekroz izlendi		
	4	2	2	1
	5	1	3	2
	6	0	1	0
	7	0	2	0
	8	1	2	1
GRUP 4	1	0	2	0
	2	0	1	1
	3	0	2	1
	4	1	1	2
	5	0	2	2
	6	0	2	0
	7	0	2	2
	8	Total nekroz izlendi		

Nötrofil infiltrasyonu değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: Nötrofil infiltrasyonu değerlerinin ortalama ve standart sapmaları

Gruplar	n	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1	5	0.67	0.816
Grup 2	4	0.67	0.816
Grup 3	7	0.75	0.886
Grup 4	7	0.13	0.354

Nötrofil infiltrasyonu ortalamaları grup 1’de 0.67, grup 2’de 0,67, grup 3’te 0.75, grup 4’te 0,13 olarak hesaplandı. Şekil 8’de grupların nötrofil infiltrasyonu değerlerinin ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 8: Grupların nötrofil infiltrasyonu değerleri ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.

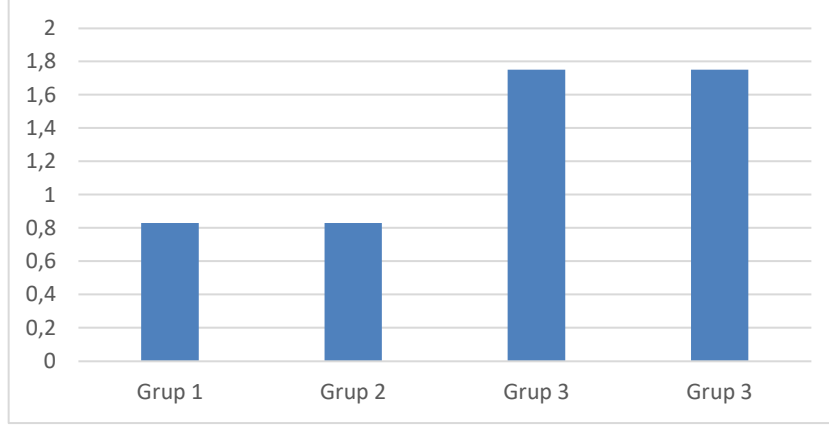
Test sonuçlarına göre, ($p < 0.05$) istatistiksel anlamlılık düzeyinde, nötrofil infiltrasyonu değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Neoanjiogenez değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8: Neoanjiogenez değerlerinin ortalama ve standart sapmaları

Gruplar	n	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1	5	0.83	0.753
Grup 2	4	0.83	0.753
Grup 3	7	1.75	1.035
Grup 4	7	1.75	0.463

Neoanjiogenez değerlendirmesi ortalamaları grup 1’de 0,83, grup 2’de 0,83, grup 3’te 1,75, grup 4’te 1,75 olarak hesaplandı. Şekil 9’de grupların neoanjiogenez değerlerinin ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 9: Grupların neoanjiogenez değerleri ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.

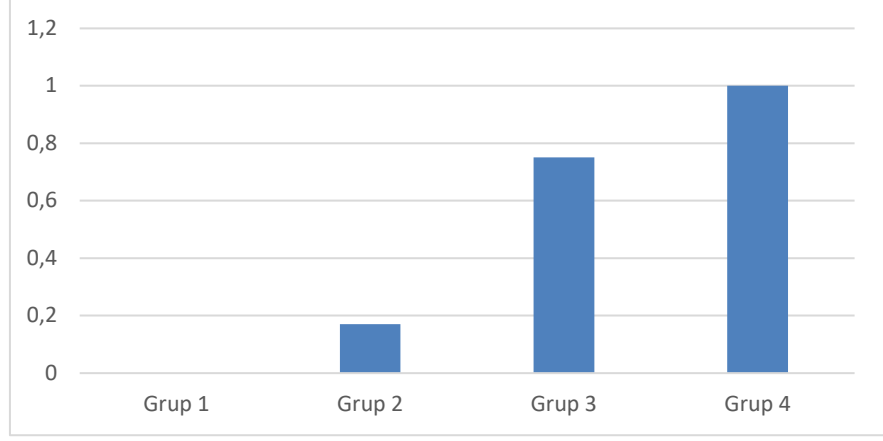
Neoanjiogenez değerlendirilmesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($p < 0,05$). Buna göre grup 4'teki bireylerin anjiogenez ($p = 0,015$) ortalamaları, grup 1 ve grup 2'deki bireylere oranla istatistiki açıdan anlamlı bir biçimde fazladır.

Gruplar kollajenizasyon açısından değerlendirildiğinde grup 1 ile grup 4 karşılaştırılmasında kollajen ($p = 0,018$), grup 2 ve grup 4 karşılaştırılmasında kollajen ($p = 0,046$) ortalamaları, grup 4'te grup 1 ve grup 2'ye oranla istatistiki açıdan anlamlı bir biçimde fazladır. Kollajenizasyon değerlendirmesi ortalamaları grup 1'de 0,00, grup 2'de 0,17, grup 3'te 0,75, grup 4'te 1,00 olarak hesaplandı (Tablo 9).

Tablo 9: Kollajenizasyon değerlerinin ortalama ve standart sapmaları

Gruplar	n	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1	5	0.00	0.000
Grup 2	4	0.17	0.408
Grup 3	7	0.75	0.707
Grup 4	7	1.00	0.926

Şekil 10'da grupların kollajenizasyon değerlerinin ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 10: Grupların kollajenizasyon değerlendirmelerinin ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Plastik ve rekonstrüktif cerrahi'de flep ile defekt rekonstrüksiyonu uzun yıllardır yapılmaktadır. Flep anatomisi, cerrahi teknikler, flep fizyolojisi hakkında geniş bilgi birikimine rağmen flep nekrozu halen önemli bir sorundur. Flep kayıplarının önemli bir nedenlerinden biri de flepte gelişen iskemi-reperfüzyon hasarıdır. Bu nedenle flep fizyolojisi hakkında daha fazla bilgi birikimi sahibi olmak ve flep nekrozunu en aza indirmek için yeni çalışmaların yapılması gereği doğmuştur.

Günümüzde flep cerrahisinde başarı oranı %90-95 oranlarına kadar ulaşsa bile, pediküllü flepler ile rekonstrüksiyonda kısmi veya tam flep kayıplarının %25-30'a kadar ulaşabildiği bildirilmiştir[86-88]. Flep kayıplarının en yaygın sistemik nedenleri; hipotansiyon, enfeksiyon, şeker hastalığı periferik arter hastalığı, beslenme bozuklukları, enfeksiyon iken lokal nedenler anastomoz trombozu, flep üzerine bası, gerginlik ve pedikül katlanmasıdır[18]. Temel olarak flep kaybının en önemli nedeni dokunun iskemik kalmasıdır.

İskemi reperfüzyon nedeni ile flep nekrozu hastanın hastanede kalış süresini uzatan ve dolayısı ile maliyetleri artıran bir durumdur. Flep cerrahisinde iskemi reperfüzyon hasarı primer ve sekonder olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalarda sekonder iskemi reperfüzyonun flebe da çok zarar verdiği görülmüştür[89]. ,

Plastik cerrahide aksiyel paterne sahip flepler yaygın olarak kullanılmaktadır. Random fleplerin aksine flep içinde seyreden ve flebi besleyen spesifik direkt kutanöz arteri ve veni bulunmaktadır. Bu durum aksiyel fleplerde güvenilirliği random fleplere göre oldukça artırmıştır. Aksiyel fleplerde flep yaşayabilirliğinde en önemli etken pedikülün korunmasıdır. Flepte dolaşım bozulduğu zaman kısmen veya total nekroz görülebilmekte sonrasında ise hem hasta hem doktor için yeni sorunlar doğabilmektedir. Flep dolaşımının bozulduğu durumlarda doku oksijenlenmesinin azalmasına bağlı olarak hücre içi metabolizma aerobik solunumdan anaerobik solunuma döner. Bu durum ATP üretiminin azalmasına, laktat miktarında artışa ve sonrasında da hücre içi pH seviyesindeki düşmelere, membran transport proteinlerinin çalışmamasına neden olur. Dolaşım normale dönünce dokuya oksijen gelmesiyle birlikte serbest oksijen radikalleri oluşumu meydana gelir. Bu maddeler aktif hallerinden dolayı hücredeki tüm yapılara toksik etki eder. Serbest radikallerin yine endotel hücrelerinde yapacağı hasar, trombosit ve nötrofillerin damar çeperine

yapışmasına yol açacak, bu da inflamasyon ve pıhtılaşma kaskadını başlatacaktır[90]. İskemi reperfüzyonun ardından oluşan hasardan esas olarak nötrofiller sorumludur. Aktif nötrofiller salgıladıkları araziidonik asit yıkım ürünleri ile trombosit agregatları ve eritsositler reperfüzyon sonrası vasküler tıkanma ve doku nekrozundan sorumludur. Yapılan çalışmalarda iskemi sonrası reperfüze dokuya infiltre olan nötrofiller ile flep kaybı arasında korelasyon bulunmuştur[61].

Uzun süreli hipoksi dönemleri, türlere göre farklılık göstermesine karşın, endotelial ödem, intravasküler sıvının ekstrasvazasyonu ve intravasküler obstrüksiyon ile karakterize fleplerinin mikro damar yapısında benzer morfolojik değişikliklere neden olur. Serbest radikal temizleyicileri kullanılarak, serbest radikallerin vasküler endotel üzerindeki toksik etkileri azaltılıp neovaskülarizasyon artırılabilir[91]. İskemi ve reperfüzyon hasarına en duyarlı bölge perfüzyonun en az olduğu flep distalidir. Bu nedenle flepte tam nekroz gelişme bile parsiyel nekroz flep distalinde oluşabilir[92]. Bu bağlamda fleplerin distalinde gelişen hasarı azaltmak ve flebin yaşayan kısmını artırmak flep cerrahisinde önemlidir[93].

Fleplerde görülen nekrozların nedeni intrensek ve ekstrensek olarak iki grupta incelenebilir. Kan akımında yetersizlik intrensek neden olarak kabul edilmekte ve flep kaybının en sık nedeni olarak göze çarpmaktadır. Ekstrensek nedenler sistemik, çevresel ve teknik olarak üç kısımda incelenebilir. Sistemik nedenler hipotansiyon, arter hastalıkları ve enfeksiyonlar, çevresel nedenler flebe bası, sıcaklık ve flepte gerginlik, teknik nedenler ise planlama ve cerrahide yetersizlik olarak sayılabilir[94]. Sayılan tüm bu nedenler flepte nekroza neden olabilmektedir. Flebin kaldırılması ardından flep distalinde yetersiz kan akımı yani inkomplet iskemi meydana gelmektedir. İskemiye bağlı olarak dokuda ATP birikimi olmaktadır. Laktat birikimi doku pH'ının azalmasına neden olur ve hücre membranında bütünlüğü sağlayan Na:K-ATPaz pompası çalışamaz duruma gelir. Bunun sonucu olarak hücre içi kalsiyum ve sodyum miktarı artar. İskemi süresi arttıkça flep nekrozu görülme ihtimalinin artması da kaçınılmaz olacaktır[95]. Bu nedenle iskemik flep nekrozunun sınırlandırılabilmesi için reperfüzyonun en kısa sürede sağlanması gerekmektedir. Uzamış iskemi süresince dokuda biriken metabolitler ve reperfüzyon sonrası mitokondrilerde üretilen reaktif oksijen metabolitleri aracılığıyla ile doku hasarı daha da artmaktadır. Reperfüzyonun iskemiye kıyasla doku hasarına daha fazla neden olduğunu düşündüren yayınlar

vardır[95]. Daha önce belirtildiği gibi flep kaldırıldığında flep distalinde kan akımı belirgin olarak azalmakta ancak çoğu durumda 24 saat sonra ciddi olarak artmaktadır. İskemiden sonra revaskülarizasyondaki yetersizlik 'no-reflow fenomeni' olarak isimlendirilmiştir. Bu durum cilt fleplerinde doku nekrozundan önce mikrovasküler tıkanma (hücresele düzeyde ödem ve adrenerjik kökenli vazokonstriksiyon), lümende tıkanma (trombosit tıkaçları), lökosit infiltrasyonu ve aktivasyonu nedeni ile meydana gelir. Başlangıçta flep distalinde görülen iskemi inkomplet iskemi özelliğindedir. Bu inkomplet iskemi sırasında gelişen hasardan hücresele seviyede nötrofil aktivasyonuna bağlı inflamatuvar yanıt ve oluşan ödem, endotel hasarı ve trombosit aktivasyonu sonucu lümen içi trombus oluşumu rol oynamaktadır[96]. Komplet iskemi sonrasında total doku hasarı geliştiğinden inkomplet iskemik alanda iskemik hasarın azaltılması ve dokunun reperfüzyon hasarı sürecine girmeden normal reperfüzyon sürecine girerek flep sağkalımının artırılması önemli bir amaçtır. Bu amaçla iskemik süre ardından gelişen reperfüzyon hasarında dokunun iskemiye olan dayanıklılığının artırılmasının flep yaşayabilirliğini önemli ölçüde artıracaktır. Bu durum göz önünde bulundurularak farklı yöntem ve ilaçlar flep yaşayabilirliğini artırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır.

Flep nekrozunu azaltmak ve iskemiye dayanıklılığını artırmak için uygulanan temel iki yöntem bulunmaktadır. Bunlar delay fenomeni (geciktirme cerrahisi) ve flep damarlanmasını arttıran ilaçlar, antioksidanlar, antitrombotik ilaçlar, anti-inflamatuvar ilaçlar, dolaşım düzenleyiciler, vazodilatatörler, Na:K ATPaz inhibitörleri, fosfodiesteraz inhibitörleri, prostaglandin inhibitörleri, kalsiyum kanal blokörleri, serbest radikalleri ortadan kaldıran antioksidanlar, neovaskülarizasyon yapan farmakolojik ajanların kullanımındır[97, 98].

Delay fenomeni flep cerrahisinde flep kaybını azaltmak için ilk tanımlanan yöntemdir. Bu yöntemin flepte nekrozu azalttığı ve en etkili yöntem olduğu çalışmalarla gösterilmiştir[99]. Delay yöntemini uygulamak için iki kere cerrahi işlem yapılmalıdır. Gerek artan tedavi maliyeti gerekse artan anestezi riskleri nedeni ile hem cerrah hem de hasta için çoğu zaman ilk tercih olmamaktadır. Bu durum araştırmacıları, delay yönteminin etkisini taklit eden fakat çoklu cerrahi gerektirmeyen farmakolojik ajanları araştırmaya itmiştir. Bu ilaçları daha kolay bulabilmek için delay yönteminin altında yatan mekanizmaları anlayarak nasıl fayda sağladığını anlamaya

ve kavramaya çalışmışlardır[100]. Yapılan bir çalışmada flepte oluşabilecek nekroz oranlarını düşürmek için kullanılacak ilaç veya uygulama; uygulaması kolay olmalı, güvenli olmalı, ucuz ve operasyon sonrası kullanılabilir olmalıdır. Ayrıca etki mekanizması tam olarak bilinmeli ve kolay elde edilebilmelidir[101].

Çalışmamızda adenozinin seçilmesinin nedeni adenozinin güçlü bir antioksidan madde olması çalışmalarda flep yaşayabilirliğini artırdığının gösterilmesidir[102]. Adenozin günümüzde klinik kullanımda, güvenli ve ciddi yan etkileri olmayan bir ilaçtır. Güvenlik çalışmaları 50-100 µg/kg dozlarında kısa süreli infüzyon şeklinde yapılmıştır. Yapılan bir başka çalışmada adenozin 33, 66, 100, 330, µg/kg olacak şekilde geniş bir doz aralığında uygulanmıştır[103]. Yaptığımız çalışmada adenozin infüzyon yerine intraperitoneal enjeksiyon şeklinde uygulanacağı için dozun çalışmalarda etkisi gösterilen en düşük dozlara uygun olarak verilmesi planlandı. Bu nedenle 45 µg/kg/gün ve 180 µg/kg/gün intraperitoneal olarak üç eşit dozda verilmesi kararlaştırıldı. Adenozinin iskemik kalp hastalığı olan kişilerde bolus enjeksiyonu kontrendikedir. Adenozin yıkımının çok çabuk olması nedeni ile sentetik reseptör agonistlerine tercih edilir. Sentetik reseptör agonistleri hızlı yıkılmadığı için dirençli hipotansiyon, bradikardi, bronkospazm gibi çok ciddi yan etkiler yapabilmektedir.

Adenozin, adenozin trifosfatın (ATP) hidrolize ve defosforile edilmesiyle doğal olarak oluşan bir parçalanma ürünüdür. 5'-nükleotidaz enziminin 5'-AMP üzerindeki etkisiyle hücre içi üretilebilir. Öte yandan, hücre dışı boşlukta, ecto-5' nükleotidaz enziminin etkisiyle de adenozin oluşur[104]. Basit bir bozunma ürünü gibi görülmesinin yanı sıra adenozin, farklı adenozin reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla kan akışının, kalp atış hızının ve kalp kasılmasının düzenlenmesi gibi çok sayıda fizyolojik etkisi olduğu saptanmıştır[105]. A₁, A_{2A}, A_{2B} ve A₃ olmak üzere dört tip adenozin reseptörü tanımlanmıştır ve bu reseptörlerin hepsi G-protein bağlı reseptörlerdir. A₁ ve A₃, adenilat siklaz aktivitesini ve cAMP üretimini inhibe eden G_i aracılı reseptörlerdir, A_{2A} ve A_{2B} ise adenilat siklazı ve cAMP üretimini aktive eden G_s aracılı reseptörlerdir. Ayrıca A_{2B} reseptörleri Gq proteinlerine bağlanarak fosfolipaz C'yi aktive etmektedir[106]. Adenozin reseptörleri vücutta yaygın olarak eksprese edilir. A₁ reseptörleri, merkezi sinir sistemi, kalp kasları ve inflamatuvar hücrelerde yüksek oranda eksprese edilir. A₂ reseptörleri pre ve postsinaptik sinir

uçlarında, mast hücrelerinde, kalpte (düz kas ve endotel hücreleri) ve dolaşımdaki lökositlerde bulunur. A₃ reseptörleri kalpte (aortun endotelyal hücreleri, düz kas hücreleri), böbrekte, testiste, mast hücrelerinde, eozinofillerde, nötrofillerde ve beyin korteksinde bulunur[104, 107]

A_{2B} adenozin reseptörü (AR) alt tipi, A₁, A_{2A} ve A₃ alt tiplerine kıyasla endojen agonistine düşük bir afinite sergiler ve iskemi ve enflamasyon gibi doku hasarını takiben meydana gelen yüksek adenozin konsantrasyonlarına yanıt olarak aktive edilir[108]. Yapılan bir çalışmada, 0.1 veya 1 mM'den daha düşük konsantrasyondaki A_{2B} AR agonistlerinin endotel hücrelerinin tp formasyonu oluşumunu in vitro olarak uyaramadığını bulunmuştur[109]. Bu nedenle, A_{2B} AR, hasarlı dokuların farmakolojik onarımı için potansiyel bir hedefdir. Adenozin, önemli bir endojen pürin nkleozididir ve günümüzde, radyonüklid miyokardiyal perfüzyon görüntülemesi sırasında bir koroner vazodilatör olarak ve supraventriküler taşıkardinin klinik tedavisinde kullanılan bir metabolik algılama molekülü olarak işlev görür. İlgili veriler, adenozinin hipoksi ve iskeminin indüksiyonunu takiben üretildiğini ve doku hasarı, enflamasyon ve lokal hipoksi alanlarında biriktiğini ortaya koymuştur[110]. Ayrıca doku iskemik atağa maruz kaldığında ,VEGF'de indüklenmektedir. A_{2A} veya A_{2B} AR'ne bağlı adenozin ve VEGF salgılanmasının ilişkisi birçok çalışmada belgelenmiştir[111]. Bir alışmada, A_{2A} AR agonisti CPA'nın VEGF ekspresyonu üzerinde ihmal edilebilir bir etki yaptığını gözlemine dayanarak, adenozin ve NECA'nın VEGF'nin up-regülasyonunda A_{2A} AR yerine A_{2B}'nin rol oynadığını bulunmuştur[109]. Ayrıca, A_{2B}'nin insan mikrovasküler endotel hücrelerinde eksprese edildiğini gözlenmiştir. Eř zamanlı olarak A_{2B} AR'nin aktivasyonu, NO sentezini tetikleyerek ve merkezi EGF-R sinyal yolunu uyararak anjiyojenezde yer alan eNOS ekspresyonunu da destekler[112].

Adenozin A_{2A} reseptörü (A_{2A} AR), yara iyileşmesi ve fibrozda önemli bir rol oynar. A_{2A} reseptörü bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) sentezini uyararak kollajen üretimini doğrudan ve dolaylı olarak artırarak yara iyileşmesini destekler[113]. A_{2A} AR stimülasyonu, yara kapanmasını teşvik etmeye ek olarak, kollajen tip I ile orantısız olarak artmış kollajen tip III birikimi ile karakterize edilen skar progresyonu ve dermal fibrozisi indükler[114]. Ek olarak , kollajen sentezinin A_{2a} AR ile uyarılması, dermal fibroz, skleroderma ve siroz gibi fibroz ile karakterize patolojik durumlarda da

zararlıdır ve bleomisin ile tedavi edilen farelerde A_{2a} AR blokajı veya delesyonu sonucu dermal fibrozun önlenildiği görülmüştür[115, 116].

Hipotez doğrultusunda grup 1 (iskemi) n=6 ve grup 2'de (iskemi + intraperitoneal salin) n=6, grup 3 (45 µg/kg/gün) n=8 ve grup 4'te (180 µg/kg/gün) n=8 olarak 4 grup oluşturuldu. Birinci grup kontrol grubu olup bu grupta sadece flep elevasyonunun ardından 8 saatlik iskeminin etkisinin görülmesi amaçlandı. Stres grubunda ise 8 saatlik iskemi ardından günlük 3x1 intraperitoneal salin uygulanarak stres uygulandı. Çalışmamızda stres grubu oluşturulmasının sebebi gerek iki defa opere edilmeleri gerek İ.P enjeksiyon yapılması nedeni ile sürekli strese maruz kalan sıçanlarda stresin flep yaşayabilirliği üzerine etkisinin olup olmadığının görülmesidir. Deney 1 ve deney 2 gruplarında bulunan hayvanlara günlük olarak 3 eşit doz ve eşit aralıklarda adenozin uygulandı. Hayvanlar her kafeste 1 hayvan olacak şekilde kafeslere alındı. Grup 2'de bulunan sıçanlara (stres) İ.P salin, grup 3 ve grup 4 gruplarında bulunan sıçanlara adenozin uygulaması post-op 7. güne kadar devam edildi. 7. günün sonunda anestezi altında flepler sağlam cilt içerek şekilde eksize edildi. Fotoğraflama yapılmasının ardından flep distalinden örnekler alınarak histopatolojik inceleme için örnekler alındı.

Çalışmada fleplerde iskemi modeli oluşturması amacıyla sıçan inferior epigastrik ada flebi kullanıldı. Bu model; sıçanların kolay elde edilebilir olması, maliyetinin düşük olması ve bu flebin daha önce yapılan çalışmalarda anatomik modelinin belirlenmiş olması nedeni ile tercih edilmiştir. İnférieur epigastrik arter flebi, karın derisinin tamamının femoral sistemin dalı olan yüzeysel inferior epigastrik arterden beslenmesi nedeni ile bu tür çalışmalarda akla gelen ilk flep modelidir[20]. Bu flep mikrocerrahi gereksinimi olan çalışmalarda sık kullanılan deri flebi modellerinden biridir. Kasık flebi adı ile de bilinmektedir. Kasık flebi 1967 yılında Strauch ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Kolay hazırlanması nedeniyle deneysel araştırmalarda yaygın olarak kullanılır[24]. Bu flebin sınırları, dikey olarak ksifoid kıkırdaktan pubise çizilen çizgi ile yanlarda aksilla çizgileri arasında, yatay olarak da kosta kavsi ile inguinal ligaman arasındadır. Yeni mikrocerrahi teknikler, vazodilatör ajanların etkileri ve geciktirme işleminin sonuçları bu flep üzerinde kolaylıkla çalışılabilir. İlk tanımlandığı çalışmada kullanılan 6x4 cm boyutlu flep tasarımından başlayarak çeşitli boyutlarda dörtgen flepler kullanılmıştır. Farklı

tasarımlar arasında ortaya çıkan tutarsızlıkları gidermek için kasık flebinin damar anatomisini esas alan bir çalışma Petry ve Wortham tarafından 1984'te yapılmıştır. Bu şekilde flep lateral sınırı damar anatomisi ışığında ortaya konulmuştur[21]. Pedikül damarlarına eşlik eden inferior epigastrik sinirin duyu sağladığı deri bölgesini Hirigoyen ve arkadaşları belirlemiştir[25]. Bu bilgiler doğrultusunda 5,5x3,5 cm boyutundaki standart flep taslağı pubisin 1 cm üstünden orta hatla birleştirilerek çizilen sağ karın bölgesinde inferior epigastrik ada deri flebi hazırlandı. Bu fleplerde hayvanın ameliyat bölgesine zarar verme olasılığı bulunmaktadır. Fakat çalışmada hayvanların her kafeste 1 hayvan olacak şekilde kafeslenmesi, yara temizliğinin günlük olarak yapılması nedeni ile bu çalışmada benzer sorunlar ile karşılaşılması.

Çalışmamızda yukarıda verilen çalışmalar ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Grup 4'te (180 µg/kg/gün) yer alan sıçanlarda neoanjiogenezin grup 1'e (iskemi) ve grup 2'ye (iskemi sonrası İ.P salin) göre istatistiksel olarak artışı bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda adenozin verilen sıçanlarda, adenozin verilmeyen sıçanlara göre kollajen sentezinin artışı görülmüştür. Çalışmamız sonucu literatür ile uyumludur.

Deney sonunda her denekte fleplerin yaşayan ve nekroze alanları ölçüldü. En iyi flep yaşam oranlarının 180 µg/kg/gün adenozin uygulanan grupta olduğu görüldü. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı. Tuzlalı 2017 yılında yaptığı çalışmasında adenozinin iskemik ön koşullanma ile birlikteliğinin ve fleplerin sağkalımı üzerine olan etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada adenozin iskemik ön koşullanmaya eklendiğinde iskemik ön koşullanma grubuna göre flepte nötrofil infiltrasyonunu anlamlı olarak azalttığını tespit etmiştir[117]. He ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada adenozinin domuzlarda transvers rektus abdominus flebinde flep yaşayabilirliğini artırdığını bulmuştur[118]. Çalışmamızda nötrofil infiltrasyonu ve nekroz oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Nötrofil infiltrasyonu değerinin anlamlı bulunamamasının nedeni total nekroz görülen fleplerin olması sayılabilir. Nekroz oranlarının istatistiksel olarak anlamsız olmasının nedeni de sıçan sayısının az olması, iskemi süresinin nekroz oluşumuna neden olacak kadar uzun olmaması olabilir. Bu faktörler çalışmanın eksikleri olarak tanımlanabilir.

Bu bulgular ışığında yapılan çalışmalarda adenozinin deneysel iskemi reperfüzyon modellerinde iskemi azaltmada gerekse de iskemi reperfüzyon hasarını önlemedeki etkileri adenozinin flep iskemisini azaltmada kullanımını mümkün bir ilaç

olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan değerlendirmede, adenozin verilen gruplarda, kollajenizasyon ve anjiyogenez belirgin olarak artmıştır. Bu etkiler adenozinin büyüme faktörleri ve proaktif hücreler sayesinde flep sahasında vasküleriteyi artırıcı ve kollajen sentezini artırıcı etkinliğine bağlı olarak gerçekleşmiş olduğu düşünülebilir.

Yaptığımız çalışmada, adenozinin, iskemi reperfüzyon modeli uygulanmış sahadan kaldırılan aksiyel paternli deri fleplerinde neoanjiogenezi arttırdığını, yara iyileşmesi için elzem olan kollajen sentezini artırdığını bulunmuştur. Bu ilanın kolay elde edilmesi, ucuz olması, ameliyat sırasında ve sonrasında lokal veya sistemik olarak uygulanabilmesi nedeni ile doku rekonstrüksiyonunda kullanım alanı bulacaktır. Bu deneysel çalışmanın benzer konularda yapılacak klinik çalışmalara öncü olacağını ve adenozinin benzer sorunların düzeltilmesi için pratik uygulamalarda kullanılmasına katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

SONUÇLAR

Deneysel iskemi reperfüzyon modeli oluşturulan sıçan inferior epigastrik ada flebinde adenzin ile flep yaşayabilirliğinin artırılmasını incelediğimiz çalışmamızda elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir.

1. İskemi sonrasında kan akımı sağlandıktan hemen sonra sistemik olarak uygulanan ve 1 hafta boyunca uygulanmasına devam edilen adenzin flep nekrozunu azalttığına yönelik bir kanıt bulunmamıştır.
2. İskemi ardından uygulanan adenzinin nötrofil infiltrasyonunu azalttığını gösteren bir sonuca ulaşılmamıştır.
3. İskemi ardından uygulanan adenzin flep dokusunda anjiogenezi artırdığı görülmüştür.
4. Adenzin uygulanan sıçanlarda kollajenizasyon yüksek olarak bulunmuştur.

Çalışmada elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında iskemi reperfüzyon hasarı sonrası adenzin ile yara iyileşmesinin artacağını gösteren sonuçlara ulaşılmıştır. Yapılacak daha geniş çalışmalarda adenzinin iskemi reperfüzyon hasarı sonrası koruyuculuğu hakkında daha fazla bilgiye ulaşılabilir.

KAYNAKLAR

1. Siemionow, M. and E. Arslan, *Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers*. *Microsurgery*, 2004. **24**(6): p. 468-75.
2. Hasko, G. and B.N. Cronstein, *Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity*. *Trends Immunol*, 2004. **25**(1): p. 33-9.
3. Woolfson, R.G., C.G. Millar, and G.H. Neild, *Ischaemia and reperfusion injury in the kidney: current status and future direction*. *Nephrol Dial Transplant*, 1994. **9**(11): p. 1529-31.
4. Manintveld, O.C., et al., *Intravenous adenosine protects the myocardium primarily by activation of a neurogenic pathway*. *Br J Pharmacol*, 2005. **145**(6): p. 703-11.
5. Hu, S., et al., *Noninvasive limb remote ischemic preconditioning contributes neuroprotective effects via activation of adenosine A1 receptor and redox status after transient focal cerebral ischemia in rats*. *Brain Res*, 2012. **1459**: p. 81-90.
6. Peralta, C., et al., *The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors*. *Hepatology*, 1999. **29**(1): p. 126-32.
7. Shokrollahi, K., I. Whitaker, and F. Nahai, *Flaps: Practical Reconstructive Surgery*. 2017: Thieme.
8. Zenn, M. and G. Jones, *Reconstructive Surgery: Anatomy, Technique, and Clinical Application*. 2012: CRC Press.
9. McGregor, I.A. and G. Morgan, *Axial and random pattern flaps*. *Br J Plast Surg*, 1973. **26**(3): p. 202-13.
10. Ger, R., *The technique of muscle transposition in the operative treatment of traumatic and ulcerative lesions of the leg*. *J Trauma*, 1971. **11**(6): p. 502-10.
11. Ponten, B., *The fasciocutaneous flap: its use in soft tissue defects of the lower leg*. *Br J Plast Surg*, 1981. **34**(2): p. 215-20.
12. Taylor, G.I. and J.H. Palmer, *The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications*. *Br J Plast Surg*, 1987. **40**(2): p. 113-41.
13. Daniel, R.J.P.R.S., *Principles and physiology of skin flap surgery*. 1990. **73**: p. 225-378.
14. Brown, D.L., G.H. Borschel, and B. Levi, *Michigan manual of plastic surgery*. 2014: Lippincott Williams & Wilkins.
15. Mathes, S.J. and V.R. Hentz, *Flap physiology. Plastic Surgery*. Philadelphia PA: Saunders Elsevier, 2006. **1**: p. 483-506.

16. Daniel, R., *Principles and physiology of skin flap surgery*. Plast Reconstr Surg, 1990. **73**: p. 225-378.
17. Vedder, N., *Flap physiology*. Plastic surgery, 2006. **1**: p. 483-506.
18. Kerrigan, C.L., *Skin flap failure: pathophysiology*. Plast Reconstr Surg, 1983. **72**(6): p. 766-77.
19. Fisher, J. and M. Gingrass, *Basic principles of skin flaps*. Plastic, maxillofacial and reconstructive surgery. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997: p. 22-24.
20. Bayramiçli, M., *Deneyisel mikrocerrahi: Temel araştırma, doku ve organ nakli modelleri*. 2005: Argos.
21. Petry, J.J. and K.A. Wortham, *The anatomy of the epigastric flap in the experimental rat*. Plast Reconstr Surg, 1984. **74**(3): p. 410-3.
22. Taylor, G.I. and T. Minabe, *The angiosomes of the mammals and other vertebrates*. Plast Reconstr Surg, 1992. **89**(2): p. 181-215.
23. Dunn, R.M. and J. Mancoll, *Flap models in the rat: a review and reappraisal*. Plastic and reconstructive surgery, 1992. **90**(2): p. 319-328.
24. Strauch, B. and D.E. Murray, *Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm. in external diameter using microsurgical techniques*. Plast Reconstr Surg, 1967. **40**(4): p. 325-9.
25. Hirigoyen, M.B., et al., *Reappraisal of the inferior epigastric flap: a new neurovascular flap model in the rat*. Plast Reconstr Surg, 1996. **98**(4): p. 700-5.
26. Henry, C.J.K., *Healthy Lifestyles-Nutrition and Physical Activity*. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 1998. **49**(6): p. 493-493.
27. Halliwell, B., *Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?* Lancet, 1994. **344**(8924): p. 721-4.
28. Barber, D.A. and S.R. Harris, *Oxygen free radicals and antioxidants: a review*. Am Pharm, 1994. **Ns34**(9): p. 26-35.
29. Cheeseman, K.H. and T.F. Slater, *An introduction to free radical biochemistry*. Br Med Bull, 1993. **49**(3): p. 481-93.
30. Tunalier, Z., et al., *Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi*. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 2002.
31. Lee, B.J., et al., *The relationship between coenzyme Q10, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery disease*. ScientificWorldJournal, 2012. **2012**: p. 792756.
32. Yüksel, M., *Ultraviyole a ışığının oluşturduğu oksidatif koenzim q10 ve alfa lipoik asit'in koruyucu etkisi*. 2013, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

33. MEMİŞOĞULLARI, R., *Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi*. 2005.
34. Southorn, P.A. and G. Powis, *Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions*. Mayo Clin Proc, 1988. **63**(4): p. 381-9.
35. Ayala, A., M.F. Munoz, and S. Arguelles, *Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal*. Oxid Med Cell Longev, 2014. **2014**: p. 360438.
36. McKersie, B.D., *OXIDATIVE STRESS* 1996: University of Guelph.
37. Greenwald, R.A. and W.W. Moy, *Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid*. Arthritis Rheum, 1980. **23**(4): p. 455-63.
38. Burçak, G. and G. Andican, *OKSİDATİF DNA HASARI VE YAŞLANMA*. Cerrahpaşa tıp dergisi, 2004. **35**(4).
39. Deveci, H. and A. Güven, *Investigation of Blood MDA and GSH Levels in Cow with Mastitis*. Vol. 14. 2008.
40. Shi, H., N. Noguchi, and E. Niki, *Comparative study on dynamics of antioxidative action of alpha-tocopheryl hydroquinone, ubiquinol, and alpha-tocopherol against lipid peroxidation*. Free Radic Biol Med, 1999. **27**(3-4): p. 334-46.
41. Lobo, V., et al., *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health*. Pharmacognosy Reviews, 2010. **4**(8): p. 118-126.
42. Frei, B., R. Stocker, and B.N. Ames, *Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(24): p. 9748-52.
43. Rice-Evans, C.A. and A.T. Diplock, *Current status of antioxidant therapy*. Free Radical Biology and Medicine, 1993. **15**(1): p. 77-96.
44. Krinsky, N.I., *Mechanism of action of biological antioxidants*. Proc Soc Exp Biol Med, 1992. **200**(2): p. 248-54.
45. Matough, F.A., et al., *The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications*. Sultan Qaboos Univ Med J, 2012. **12**(1): p. 5-18.
46. Bunaciu, A.A., H.Y. Aboul-Enein, and S. Fleschin, *FTIR spectrophotometric methods used for antioxidant activity assay in medicinal plants*. Applied Spectroscopy Reviews, 2012. **47**(4): p. 245-255.
47. van den Heuvel, M.G., et al., *Review: Ischaemia-reperfusion injury in flap surgery*. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2009. **62**(6): p. 721-6.
48. Kerrigan, C.L. and R.K. Daniel, *Monitoring acute skin-flap failure*. Plast Reconstr Surg, 1983. **71**(4): p. 519-24.

49. Kerrigan, C.L. and R.K. Daniel, *Skin flap research: a candid view*. Ann Plast Surg, 1984. **13**(5): p. 383-7.
50. Fujino, T., *Contribution of the axial and perforator vasculature to circulation in flaps*. Plast Reconstr Surg, 1967. **39**(2): p. 125-37.
51. Angel, M.F., et al., *Secondary ischemia time in rodents: contrasting complete pedicle interruption with venous obstruction*. Plast Reconstr Surg, 1990. **85**(5): p. 789-93; discussion 794-5.
52. Hjortdal, V.E., et al., *Arterial ischemia in skin flaps: microcirculatory intravascular thrombosis*. Plast Reconstr Surg, 1994. **93**(2): p. 375-85.
53. Hjortdal, V.E., et al., *Venous ischemia in skin flaps: microcirculatory intravascular thrombosis*. Plast Reconstr Surg, 1994. **93**(2): p. 366-74.
54. Blaisdell, F.W., *The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review*. Cardiovasc Surg, 2002. **10**(6): p. 620-30.
55. Zahir, K.S., et al., *Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flaps in a rat model*. Plast Reconstr Surg, 1998. **102**(1): p. 140-50; discussion 151-2.
56. Maeda, M., A. Fukui, and S. Tamai, *Combined therapy with antithrombotic agents and radical scavengers for reperfusion injury of flaps*. J Reconstr Microsurg, 1991. **7**(3): p. 233-43.
57. Morris, S.F., et al., *Assessment of ischemia-induced reperfusion injury in the pig latissimus dorsi myocutaneous flap model*. Plast Reconstr Surg, 1993. **92**(6): p. 1162-72.
58. Im, M.J., et al., *Skin-flap metabolism in rats: oxygen consumption and lactate production*. Plast Reconstr Surg, 1983. **71**(5): p. 685-8.
59. Angel, M.F., et al., *Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery*. Plast Reconstr Surg, 1987. **79**(6): p. 990-7.
60. Maldonado, C., et al., *Preconditioning of latissimus dorsi muscle flaps with monophosphoryl lipid a*. Plast Reconstr Surg, 2003. **111**(1): p. 267-74.
61. Gute, D.C., et al., *Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle*. Mol Cell Biochem, 1998. **179**(1-2): p. 169-87.
62. Manson, P.N., et al., *The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps*. Annals of surgery, 1983. **198**(1): p. 87-90.
63. Pang, C.Y., *Ischemia-induced reperfusion injury in muscle flaps: pathogenesis and major source of free radicals*. J Reconstr Microsurg, 1990. **6**(1): p. 77-83.

64. Green, C.J., et al., *The effect of desferrioxamine on lipid peroxidation and survival of ischaemic island skin flaps in rats*. Br J Plast Surg, 1989. **42**(5): p. 565-9.
65. Jennings, R.B. and K.A. Reimer, *The cell biology of acute myocardial ischemia*. Annu Rev Med, 1991. **42**: p. 225-46.
66. Green, C.J., et al., *The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys*. Free Radic Res Commun, 1989. **7**(3-6): p. 255-64.
67. Orrenius, S., et al., *Calcium ions and oxidative cell injury*. Ann Neurol, 1992. **32 Suppl**: p. S33-42.
68. Calhoun, K.H., L. Tan, and H. Seikaly, *An integrated theory of the no-reflow phenomenon and the beneficial effect of vascular washout on no-reflow*. Laryngoscope, 1999. **109**(4): p. 528-35.
69. Cetinkale, O., et al., *Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury of inguinal island skin flaps in rats*. Plast Reconstr Surg, 1998. **102**(1): p. 153-60.
70. May, J.W., Jr., et al., *The no-reflow phenomenon in experimental free flaps*. Plast Reconstr Surg, 1978. **61**(2): p. 256-67.
71. Nathanson, S.E. and R.T. Jackson, *Blood flow measurements in skin flaps*. Arch Otolaryngol, 1975. **101**(6): p. 354-7.
72. Parks, D.A., T.K. Williams, and J.S. Beckman, *Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation*. Am J Physiol, 1988. **254**(5 Pt 1): p. G768-74.
73. Homer-Vanniasinkam, S., J.N. Crinnion, and M.J. Gough, *Post-ischaemic organ dysfunction: a review*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1997. **14**(3): p. 195-203.
74. Drury, A.N. and A. Szent-Györgyi, *The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart*. The Journal of physiology, 1929. **68**(3): p. 213-237.
75. Ralevic, V. and G. Burnstock, *Receptors for purines and pyrimidines*. Pharmacol Rev, 1998. **50**(3): p. 413-92.
76. Kanoria, S., et al., *Protocols and mechanisms for remote ischemic preconditioning: a novel method for reducing ischemia reperfusion injury*. Transplantation, 2007. **84**(4): p. 445-58.
77. Feldman, R., J. Meyer, and L.J.P.o.N.S. Quenzer, Massachusetts: Sinauer Associates Inc, *Stimulants: nicotine and caffeine*. 1997: p. 616-624.
78. Kayir, H. and I.T. Uzbay, *Santral Adenozinerjik Sistem ve Klinik Önemi. [Central adenosinergic system and its clinical importance.]*. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni / Bulletin of Clinical Psychopharmacology, 2004. **14**(3): p. 159-167.

79. Broch, O.J. and P.M. Ueland, *Regional and subcellular distribution of S-adenosylhomocysteine hydrolase in the adult rat brain*. J Neurochem, 1980. **35**(2): p. 484-8.
80. Fredholm, B.B., G. Fried, and P. Hedqvist, *Origin of adenosine released from rat vas deferens by nerve stimulation*. Eur J Pharmacol, 1982. **79**(3-4): p. 233-43.
81. Lloyd, H.G. and B.B. Fredholm, *Involvement of adenosine deaminase and adenosine kinase in regulating extracellular adenosine concentration in rat hippocampal slices*. Neurochem Int, 1995. **26**(4): p. 387-95.
82. Fredholm, B.B., et al., *International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors*. 2001. **53**(4): p. 527-552.
83. Ribeiro, J.A., A.M. Sebastiao, and A. de Mendonca, *Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications*. Prog Neurobiol, 2002. **68**(6): p. 377-92.
84. Dunwiddie, T.V. and S.A. Masino, *The role and regulation of adenosine in the central nervous system*. Annu Rev Neurosci, 2001. **24**: p. 31-55.
85. Stambaugh, K., et al., *A novel cardioprotective function of adenosine A1 and A3 receptors during prolonged simulated ischemia*. Am J Physiol, 1997. **273**(1 Pt 2): p. H501-5.
86. Banic, A., et al., *Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study*. Plast Reconstr Surg, 1995. **95**(7): p. 1195-204; discussion 1205-6.
87. Schusterman, M.A., S.S. Kroll, and M.E. Weldon, *Immediate breast reconstruction: why the free TRAM over the conventional TRAM flap?* Plast Reconstr Surg, 1992. **90**(2): p. 255-61; discussion 262.
88. Watterson, P.A., et al., *TRAM Flap Anatomy Correlated with a 10-Year Clinical Experience with 556 Patients*. 1995. **95**(7): p. 1185-1194.
89. Shin, M.S., et al., *Effects of 21-aminosteroid U74389F on skin-flap survival after secondary ischemia*. Plast Reconstr Surg, 1994. **94**(5): p. 661-6.
90. Akan, I.M., S. Yildirim, and K. Gideroğlu, *Salvage of flaps with venous congestion*. Ann Plast Surg, 2001. **46**(4): p. 456.
91. Kara, I.G., et al., *The effect of trimetazidine on the survival of rat island skin flaps subjected to ischemia-reperfusion injury*. Ann Plast Surg, 2001. **47**(2): p. 168-71.
92. Miyawaki, T., et al., *The effect of low-molecular-weight heparin in the survival of a rabbit congested skin flap*. Plast Reconstr Surg, 2002. **109**(6): p. 1994-9.
93. Brewer, M.B., et al., *Effects of systemic tadalafil on skin flap survival in rats*. Eplasty, 2012. **12**: p. e45.

94. de Lima Silva, J.J., et al., *Effects of Copaifera langsdorffii Desf. on ischemia-reperfusion of randomized skin flaps in rats*. *Aesthetic Plast Surg*, 2009. **33**(1): p. 104-9.
95. Wang, W.Z., R.C. Baynosa, and W.A. Zamboni, *Update on ischemia-reperfusion injury for the plastic surgeon: 2011*. *Plast Reconstr Surg*, 2011. **128**(6): p. 685e-92e.
96. Aydogan, H., et al., *Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on the ischaemia-reperfusion injury in rat skin flaps*. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*, 2006. **60**(5): p. 563-8.
97. Shalom, A., T. Friedman, and M. Westreich, *The effect of postoperative aspirin on random pattern flaps in rats*. *Am Surg*, 2007. **73**(11): p. 1126-8.
98. Wexler, M.R., et al., *The effect of phenoxybenzamine, phentolamine and 6-hydroxydopamine on skin flap survival in rats*. *J Surg Res*, 1975. **19**(2): p. 83-6.
99. Jensen, J.A., et al., *Extended skin island delay of the unipedicle TRAM flap: experience in 35 patients*. *Plast Reconstr Surg*, 1995. **96**(6): p. 1341-5.
100. Okada-Ban, M., J.P. Thiery, and J. Jouanneau, *Fibroblast growth factor-2*. *Int J Biochem Cell Biol*, 2000. **32**(3): p. 263-7.
101. Rohrich, R.J., G.W. Cherry, and M. Spira, *Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment*. *Plast Reconstr Surg*, 1984. **73**(6): p. 943-8.
102. Saray, A., A. Apan, and A. Tellioglu, *Adenosine Treatment Augments Random Flap Survival in Rats*. *Canadian Journal of Plastic Surgery*, 2001. **9**: p. 193-197.
103. Ohnishi, A., et al., *Hemodynamic effects of adenosine in conscious hypertensive and normotensive rats*. 1986. **8**(5): p. 391-398.
104. Singh, L., et al., *Mechanisms involved in adenosine pharmacological preconditioning-induced cardioprotection*. *The Korean journal of physiology & pharmacology : official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 2018. **22**(3): p. 225-234.
105. Layland, J., et al., *Adenosine: physiology, pharmacology, and clinical applications*. *JACC Cardiovasc Interv*, 2014. **7**(6): p. 581-91.
106. Headrick, J.P., et al., *Cardiovascular adenosine receptors: expression, actions and interactions*. *Pharmacol Ther*, 2013. **140**(1): p. 92-111.
107. Sachdeva, S. and M. Gupta, *Adenosine and its receptors as therapeutic targets: An overview*. *Saudi Pharm J*, 2013. **21**(3): p. 245-53.
108. Trincavelli, M.L., et al., *Allosteric modulators of human A2B adenosine receptor*. *Biochim Biophys Acta*, 2014. **1840**(3): p. 1194-203.

109. Du, X., et al., *Adenosine A2B receptor stimulates angiogenesis by inducing VEGF and eNOS in human microvascular endothelial cells*. *Exp Biol Med* (Maywood), 2015. **240**(11): p. 1472-9.
110. Ryzhov, S., et al., *Role of JunB in adenosine A2B receptor-mediated vascular endothelial growth factor production*. *Mol Pharmacol*, 2014. **85**(1): p. 62-73.
111. Cárdenas, A., et al., *Adenosine A2B receptor-mediated VEGF induction promotes diabetic glomerulopathy*. *Laboratory Investigation*, 2013. **93**(1): p. 135-144.
112. Moraes, M.S., et al., *Endothelium-derived nitric oxide (NO) activates the NO-epidermal growth factor receptor-mediated signaling pathway in bradykinin-stimulated angiogenesis*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2014. **558**: p. 14-27.
113. Perez-Aso, M., et al., *Adenosine 2A receptor promotes collagen production by human fibroblasts via pathways involving cyclic AMP and AKT but independent of Smad2/3*. *Faseb j*, 2014. **28**(2): p. 802-12.
114. Victor-Vega, C., et al., *Adenosine A2A receptor agonists promote more rapid wound healing than recombinant human platelet-derived growth factor (Becaplermin gel)*. *Inflammation*, 2002. **26**(1): p. 19-24.
115. Katebi, M., et al., *Adenosine A2A receptor blockade or deletion diminishes fibrocyte accumulation in the skin in a murine model of scleroderma, bleomycin-induced fibrosis*. *Inflammation*, 2008. **31**(5): p. 299-303.
116. Chan, E.S., et al., *Adenosine A2A receptors in diffuse dermal fibrosis: pathogenic role in human dermal fibroblasts and in a murine model of scleroderma*. *Arthritis Rheum*, 2006. **54**(8): p. 2632-42.
117. Z., T., *Rat Flep İskemi Reperfüzyon Modelinde Uzak İskemik Ön Koşullanma ve Uzak İskemik Ön Koşullanmaya Eklenen Adenozin'in Etkinliğinin Araştırılması*, in *Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı*. 2017, Ankara Üniversitesi-ANKARA.
118. He, W., J. Zhang, and A. Zhong, *[Adenosine is effective to improve the viability of the transverse rectus abdominis myocutaneous (TRAM) flap in the pig]*. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi*, 1999. **15**(6): p. 444-6.