



**T.C.SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**ANKARA ATATÜRK EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ**  
**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇAN**  
**MODELİNDE NÖROPATİNİN FLEP İYİLEŞMESİ ÜZERİNE**  
**ETKİLERİ**

**Uzmanlık Tezi**  
**Dr. Ersin AKŞAM**

**Ankara, 2014**

**T.C.SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**ANKARA ATATÜRK EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ**  
**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇAN**  
**MODELİNDE NÖROPATİNİN FLEP İYİLEŞMESİ ÜZERİNE**  
**ETKİLERİ**

**Uzmanlık Tezi**  
**Dr. Ersin AKŞAM**

**Tez DanıŐmanı**  
**Prof. Dr. Mustafa Erol DEMİRSEREN**

**Ankara, 2014**

## ÖNSÖZ

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi asistanlığım süresince bilgi, yetenek ve tecrübelerini benden esirgemeyerek en iyi şekilde yetiştirmemi sağlayan, olaylara ve hastalıklara farklı yönlerden bakmamı sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mustafa Erol Demirseren'e sonsuz teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım. Bana ağabeylik yapan, dertlerimi dinleyen, ameliyatlarda sabırlı olarak bizi eğiten, her zaman örnek aldığım Sayın Op. Dr. Ergin Seven'e, Op. Dr. Cemil Özerk Demiralp'e, kısa süreliğine de olsa birlikte çalışma fırsatı bulduğum Op. Dr. Ahmet Işıkdemir'e, Op. Dr. Candemir Ceran'a, Op. Dr. Fatma Betül Ak Bozkırlı'ya, portegü tutmaktan başlayıp bildiği her şeyi sıkılmadan öğretmeye çalışan Op. Dr. Kamran Efendioğlu'na, Op. Dr. Nihal İşleyen'e ve diğer kıdemlilerime, asistanlığım boyunca aynı yollardan beraber geçtiğimiz sevgili eşim, can yoldaşım Dr. Berrak Akşam'a, kıdemli asistanlığım süresince bana saygıda kusur etmeyen ve kendilerine bir şeyler öğretirken benim de bir şeyler öğrendiğim Dr. Çağla Çiçek, Dr. Soner Tezcan ve Dr. Hüsnü Hacı'ya, birlikte çalıştığımız tüm yardımcı sağlık personeli arkadaşlarıma, bu çalışma için gece gündüz demeden güler yüzüyle bana yardımcı olan Dr. Seçil Karahisar Turan'a, Adacell hayvan laboratuvarı ekibine, Fatma Duygu Özel Demiralp'e ve son olarak da hiçbir zaman benden destek ve sevgilerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ersin Akşam  
Ankara, 2014

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	i
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Diyabetes Mellitus.....	2
2.1.1. Epidemiyoloji.....	2
2.1.2. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları.....	2
2.2 Deneysel Kimyasal Diyabetes Mellitus Oluşturulması.....	13
2.3 Deneysel Yara Modelleri.....	14
2.4 Deneysel Flep Modelleri .....	16
2.5 Deneysel Modellerde Nöropatinin Değerlendirilmesi.....	16
2.5.1 Kuyruk İmmersiyon Testi .....	17
2.5.2 Sıcak Plaka Testi .....	18
2.5.3 Yürüme Testi.....	18
2.5.4 Elektromiyografi .....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1 Denekler .....	22
3.2 Gruplar.....	22
3.3 Streptozotosin ile Diyabetes Mellitus yapılması.....	23
3.4 Kan şekeri ölçümleri .....	23
3.5 Elektromiyografi ile nöropatinin tespiti .....	23
3.6 Anestezi .....	25
3.7 Cerrahi .....	25
3.8 Terminasyon.....	27
3.9. Değerlendirme .....	27
3.9.1 Genel değerlendirme .....	27

3.9.2	Elektromiyografi .....	27
3.9.3	Flep nekroz alanı .....	28
3.9.4	Histopatoloji .....	29
3.9.5	İstatistik .....	29
4.	BULGULAR.....	30
4.1	Genel Bulgular .....	30
4.2	Elektromiyografi Bulguları .....	30
4.3	Flep Nekroz Alanı Bulguları .....	31
4.4	Histopatolojik bulgular .....	32
5.	TARTIŞMA .....	34
6.	SONUÇ .....	41
7.	KAYNAKLAR .....	42
	ÖZGEÇMİŞ .....	46

## ÖZET

### **Amaç**

Bu çalışmada diyabetik ayak ülserlerinin rekonstrüksiyonunda karşılaşılan flep yaşayabilirliği ve adezyon sorunlarının diyabet ve nöropati ile olan ilişkisinin incelenmesi amaçlandı.

### **Gereç ve Yöntem**

Çalışmada toplam 30 sıçan kullanıldı. Kontrol (Grup 1, n=10) ve diyabetik (Grup 2, n=20) olarak iki grup oluşturuldu. Tüm sıçanların arka ekstremitelerinden elektromiyogram kayıtları alındı. Grup 2'de kimyasal diyabetes mellitus oluşturuldu. Dört hafta sonra elektromiyogram kayıtları tekrarlandı. Sıçanların arka ekstremitelerinin distalinde 1x1 cm'lik defekt oluşturuldu ve aynı ekstremiteden proksimal pediküllü 3x1 cm'lik random paternli deri flebiyle onarıldı. Bir hafta sonunda tüm flepler fotoğraflandı ve histopatolojik inceleme doku örnekleri alındı.

### **Bulgular**

Elektromiyogram ölçümlerinde genlik değerlerinde azalma ve gecikme sürelerinde uzama olan denekler nöropatik olarak kabul edildi ve Grup 2; 2A (nöropati olmayan diyabetik, n=12) ve 2B (nöropati olan diyabetik, n=8) gruplarına ayrıldı. Nekroz alanları karşılaştırıldığında Grup 2B'de diğer gruplara göre anlamlı artış mevcuttu. Enflamasyon belirteçleri ve vasküler proliferasyon oranları incelendiğinde Grup 2A ve 2B'de kontrol gruplarına göre artmış olduğu görüldü. Fibroblastik proliferasyon oranları karşılaştırıldığında Grup 2B sonuçlarının kontrol grubuna yakın olduğu ancak Grup 2A'da diğer gruplara göre anlamlı artış olduğu tespit edildi.

### **Sonuç**

Nöropatinin eşlik ettiği grupta vasküler proliferasyonda artışa rağmen nekroz oranında da artış görüldü. Bunun nedeninin nöropatinin mikrosirkülasyonda yol açtığı sorunlar olduğu düşünüldü. Enflamasyonda artışla birlikte beklenen fibroblastik proliferasyon artışının olmaması klinikte görülen flep adezyon sorunlarının sebebi olarak düşünülebilir. Bu sonuçlara göre; nöropati varlığında plantar bölge ülserlerinin rekonstrüksiyonunda flep cerrahisi artmış riskleri beraberinde getirdiğinden son seçenek olarak düşünülmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik Ayak, Nöropatik Ülser, Flep Yaşayabilirliği

## ABSTRACT

### **Aim**

Determining the relationship of flap viability and adhesion problems in diabetic foot ulcer reconstruction with diabetes and neuropathy is aimed in this study.

### **Materials & Methods**

Thirty rats were used in this study. Rats were divided into two groups as control group (Group 1, n=10) and diabetic group (Group 2, n=20). Lower extremity electromyography recordings were taken from all rats. Chemical diabetes mellitus were made up with streptozotocin injections. Electromyography recordings were taken at the end of 4th week. An excisional defect with dimensions of 1x1 cm was made at the distal of the hind limb of rats and reconstructed with a proximally pedicled random pattern skin flap from the same extremity with dimensions of 3x1 cm. Photos were taken at the end of first week after surgery and flap tissue were examined histopathologically.

### **Results**

According to electromyography recordings; rats with reduced amplitude and lengthened latency time were accepted as neuropathic and the second group were divided into two subgroups as diabetics without neuropathy (2A, n=12) and diabetics with neuropathy (2B, n=8). Necrotic field measurements of group 2B were higher from the other groups. When inflammation markers and vascular proliferation ratios were examined they were higher in groups 2A and 2B with reference to control group. Fibroblastic proliferation ratios of group 2B and control group were similar but it was increased significantly in group 2A.

### **Conclusion**

Neuropathy was determined to decrease flap viability by impairing microcirculation in spite of increasing vascular proliferation. The reason of flap adhesion problems seen in clinical practice may be the lack of fibroblastic proliferation which was expected with inflammatory reaction. According to these findings; reconstruction of plantar ulcers with flaps may be the last choice because of increased risks in the presence of neuropathy.

**Keywords:** Diabetic Foot, Neuropathic Ulcer, Flap Viability

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2-1 : Deneysel diyabet modelleri .....	15
Şekil 2-2 : Kuyruk immersiyon testi .....	17
Şekil 2-3 : Sıcak plaka testi.....	18
Şekil 2-4: Monopolar ve bipolar konfigürasyonun şematik gösterimi.....	20
Şekil 2-5 : Bileşik kas aksiyon potansiyeli grafiğinin şematik gösterimi .....	20
Şekil 3-1 : Sıçanlarda EMG kaydı alınması.....	24
Şekil 3-2 : Elektrodların yerleştirilmesi .....	24
Şekil 3-3 : Cerrahi planlama .....	26
Şekil 3-4 : Defekt oluşturulması    Şekil 3-5 : Cilt flebinin kaldırılması .....	26
Şekil 3-6 : Flebin ilerletilmesi    Şekil 3-7 : Defektin onarımı.....	26
Şekil 3-8 : EMG değerlerinin kaydedilmesi.....	27
Şekil 3-9 : Tüm alanın seçilmesi.....	28
Şekil 3-10 : Nekroz alanının seçilmesi.....	28
Şekil 4-1 : Ülserasyon ve nekroz    Şekil 4-2 : Ülser .....	33
Şekil 4-3 : Epitelyal hiperplazi    Şekil 4-4 : Vasküler proliferasyon.....	33
Şekil 4-5 : Fibroblastik proliferasyon    Şekil 4-6 : Enflamasyon artışı.....	33



## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2-1 : Diyabetik nöropati kategorileri .....	3
Tablo 2-2 : Wagner Sınıflaması .....	4
Tablo 4-1 : Sıçanlardaki flep nekroz alanları .....	31
Tablo 4-2 : Grupların flep nekroz alanları ortalamaları .....	31
Tablo 4-3 : Gruplara göre histopatolojik inceleme sonuçları.....	32



## KISALTMALAR DİZİNİ

DM	Diyabetes Mellitus
DPN	Diyabetik Periferik Nöropati
TURDEP	Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
TGF- $\beta$ 1	Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (Dönüştürücü Büyüme Faktörü- $\beta$ 1)
PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
PKC	Protein Kinaz C
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)
NF- $\kappa$ B	Nuclear Factor kappa B
PARP	Poly (ADP-riboz) Polimeraz
PSSD	Pressure Specified Sensory Device
MRI	Manyetik Rezonans İnceleme
STZ	Streptozotosin
EMG	Elektromiyogram
SP	Substance P
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptide
VIP	Vasoactive Intestinal Peptide
NPY	Neuropeptide Y
NGF	Nerve Growth Factor

## 1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus dünya genelinde yaklaşık 200 milyon insanı etkileyen bir sağlık sorunudur. Diyabetin kronik komplikasyonları arasında yer alan ve hasta grubunun %15'ini etkileyen periferik polinöropati ile buna bağlı oluşan ayak ülserleri ciddi morbidite ve mortalite artışına sebep olmaktadır. Günümüzde ayak ülseri oluşmasının altında yatan mekanizma için nöropatik sebeplerin vasküler sebeplerden daha önemli olduğu düşüncesi kabul görmektedir. Travma dışı alt ekstremitte major amputasyonlarının en sık sebebi diyabetik ayak ülserleridir. Ancak amputasyonla birlikte artan morbidite ve karşı tarafın amputasyon riskindeki artış ekstremitte koruyucu cerrahi yaklaşımları ön plana çıkarmaktadır. Alt ekstremitte rekonstrüksiyonu ile uğraşan her plastik cerrahın mutlaka diyabetik ayak ülserleriyle ilgili geniş deneyimi olmaktadır.

Kliniğimizde “diyabetik ayak” problemine sahip hasta grubunun tedavisinde, özellikle plantar ülserlerin rekonstrüksiyonunda flep cerrahisi tercih ettiğimizde en sık karşılaştığımız sorunların flep yaşayabilirliği ve adezyonu olduğunu fark ettik. Ancak literatürde bu sorunu açıklayabilecek net bilgilere ulaşamadık. Bu yüzden deneysel olarak planladığımız bu çalışmada; diyabetik nöropatinin flep yaşayabilirliğine etkisi ve fleplerde oluşturduğu histopatolojik değişiklikleri incelemeyi amaçladık. Bu kapsamda streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş sıçanlar nöropati bulguları gelişene kadar takip edildi. Elektrofizyolojik testler ile nöropatinin tespiti sağlandı. Arka ekstremitelerinde defekt oluşturulan ve random flepler ile defekt onarımı yapılan deneklerde flep yaşayabilirliği fotoğraflanarak incelendi. Deneyin sonlandırılmasıyla birlikte fleplerden alınan doku örnekleri ışık mikroskopunda incelenerek flep adezyonu sorununa sebep olabilecek değişiklikler araştırıldı. Nöropatinin flep yaşayabilirliği ve histopatolojik değişiklikler ile olan bağlantısı incelendi. Elde edilen veriler literatür bilgileri ile karşılaştırıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM), insülin salınımında ve/veya aktivitesindeki bozukluklar sonucu karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında aksamalara neden olan ve kronik hiperglisemi ile sonuçlanan metabolik bir hastalıktır. Vücudun insülin üretemediği Tip 1 diyabet, genellikle genç yaşta ortaya çıkmaktadır ve hastalar düzenli insülin enjeksiyonu ile hayatlarına devam edebilmektedir. Tip 2 diyabet, diyabetin en yaygın formudur ve obezite, sedanter yaşam ve sağlıksız diyetlerle ilişkili olarak genellikle geç dönemde ortaya çıkar. Bu iki temel tip dışında, gebelik döneminde ve nadiren genetik sendromlarda, pankreatit, kistik fibrozis gibi hastalıklarda ya da belirli ilaçlar, virüsler ile diyabet ortaya çıkmaktadır (1).

#### 2.1.1. Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2000 yılında dünya da yaklaşık 171 milyon diyabetli hasta varken, bu sayının 2030 yılında 366 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Türkiye’de ise 2000 yılında diyabetli hasta sayısı 2.920.000 iken, 2030 yılında sayının 6.422.000’e çıkacağı düşünülmektedir. Türkiye’de diyabet prevalansının belirlenmesi için Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması; TURDEP-I (1997-98) ve TURDEP-II (2010) çalışmaları yapılmıştır. 2000-2010 yılları arasındaki (TURDEP) kapsamında, 20 yaş üstü bireylerde, 2000 yılında diyabet prevalansının % 7,2 olduğu ve tahmini 2010 prevalansının ise %13,3’e yükseleceği bildirilmiştir (2, 3).

#### 2.1.2. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

Diyabetes mellitusun komplikasyonları akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir. Diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar hiperglisemik durum, laktik asidoz ve diyabet tedavisine bağlı olarak meydana gelen hipoglisemi koması akut komplikasyonlar içerisinde değerlendirilir.

Kronik komplikasyonlar ise makrovasküler hastalık ve mikrovasküler hastalık olarak iki ana gruba ayrılır. Hızlanmış ateroskleroz ile karakterize olan makrovasküler hastalıklar diyabetli hastalardaki en önemli morbidite ve mortalite sebebidir (4).

Mikrovasküler komplikasyonlar; retinopati, nefropati ve nöropati (periferik polinöropati ve otonom nöropati) olarak sınıflandırılabilir (Tablo 2-1). Periferik polinöropatilerde distal polinöropati en sık görülen ve ilerleyici bir tablodur. Tüm diyabet hastalarının en az %20'sinde en az bir distal polinöropati belirtisi vardır (5). Dengesiz yürüme, ataksik yürüme, el ve ayak kaslarında güçsüzlük görülür. Proprioepsiyon ve hafif dokunma duyularının azalması ile ilişkilidir. Ağrı ve ısı duyuları da azalmıştır. Dokunma duyusundaki anormal değişiklikler (alodini, ağrı) sonunda duyu kaybına doğru ilerleyebilir. El ve ayaklarda distalden proksimale “eldiven-çorap” tarzı tutulum tipiktir. Hafif temas ile aşırı hipersensitivite, yanma hissi ve ağrı özellikle geceleri belirgindir. Distaldeki polinöropati, periferik arter hastalığı, otonom defisitler ve tekrarlayan travmalar sonucu ayak ülserlerinin gelişme riski artar.

<b>Diyabetik Nöropati Kategorileri</b>	<b>Özellikleri</b>
Duyu	Isı, basınç ya da ağrıyı hissedememe
	Uyuşma, karıncalanma ya da yanma
	Ağrı duyarlılığında artış
Motor	Güç kaybı ve hareket kontrolünde yetersizlik
Otonomik	Kalp atım hızı ya da sindirim kontrolünde bozukluklar
	Anhidroz, hiperkeratoz

**Tablo 2-1 : Diyabetik nöropati kategorileri**

### **2.1.2.1. Diyabetik Ayak**

Diyabetli bir hastanın ayağında ortaya çıkan her türlü patoloji diyabetik ayak kavramını oluşturur. Bu kavram kapsamındaki patolojiler; cilt değişiklikleri (anhidro, hiperkeratoz), ağrı (kladikasyo intermitant), ayak ülserleri (vasküler, nöropatik,

enfeksiyöz), eklem ve kemik patolojileri (Aşil tendon gerginliği, “Charcot” deformitesi), amputasyon gerektirecek doku nekrozu olarak sıralanabilir.

Tüm diyabetli hastaların hayatları boyunca %20 oranında ayak problemi gelişme ihtimali vardır. Diyabetik ayak problemleri hayat kalitesini düşürür, tedavi masraflarını arttırır, major amputasyonlara sebep olur ve morbiditeyi arttırır. Travma dışı major amputasyonların yaklaşık yarısı diyabetle ilişkilidir. Alt ekstremitte major amputasyonu yapılan diyabetik hastaların relatif ölüm riski 2,5 kat artmakta ve yarısında 2 yıl içerisinde kontralateral alt ekstremitede amputasyon gerekmektedir (6). Diyabetik ayak ülserlerinde en sık kullanılan sınıflandırma Wagner tarafından yapılmıştır (Tablo 2-2) (7).

<b>Diyabetik Ayakta Wagner Sınıflaması</b>	
Evre 0	Sağlam deri ile birlikte kemik çıkıntısı ve/veya kallus oluşumu (ülserasyon için riskli)
Evre 1	Derin dokulara yayılımı olmayan yüzeysel ülser
Evre 2	Tendon, kemik, ligaman veya eklemleri tutan derin ülser
Evre 3	Apse ve/veya osteomyeliti içeren derin ülser
Evre 4	Parmakları ve/veya metatarsları tutan gangren
Evre 5	Kurtarılamayacak düzeyde ve amputasyon gerektiren topuk ve/veya ayağın bütününün gangreni

**Tablo 2-2 :** Wagner Sınıflaması

Diyabetik ayak ülserleri iskemik, nöropatik veya nöro-iskemik nedenlere bağlı olarak gelişebilir. Periferik polinöropati diyabetik ayak ülserlerinin başlıca nedenidir (8, 9).

#### **2.1.2.1.1. İskemik Nedenler**

Diyabetik hastaların %60'ından fazlasında makrovasküler hastalıklar mevcuttur. Popliteal trifürkasyonun altındaki arterler sıklıkla etkilenmişken ayak bileği ve ayağın daha küçük arterleri genellikle korunmuştur (10). Diyabetik ayak ile ilgili olarak bilinen yanlışlardan biri küçük damar hastalığıdır. Yapılan çalışmalarda diyabete özgü damar

tıkanıklığı gösterilememiştir. Femoral – popliteal by-pass yapılan diyabetik hastalarda damar direnç çalışmaları diyabet olmayan hastalardan farklılık göstermemiştir. Küçük damarlarda bazal membranda kalınlaşma olsa da intimal hiperplazi, kapiller daralma veya tıkanma tespit edilmemiştir (9).

#### **2.1.2.1.2. Nöropatik Nedenler**

Diyabetik periferik nöropati (DPN); diyabetik hastalarının %30'unu etkileyen, hastalığa bağlı ölüm oranlarını arttıran ve en sık görülen kronik komplikasyonlardandır (11). Ancak nöropatinin tanısındaki sıkıntılar nedeniyle yapılmış net bir epidemiyolojik çalışma yoktur. En sık distal, büyük fibril, simetrik polinöropati tipi görülür (12). Hastaların %32'si kronik, şiddetli ve devamlı ağrıya sahiptir. Klinik bulguları arasında, ağrılı nöropatik semptomlar ve duyu kaybı yer almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar artmış yaş ve diyabet süresi, zayıf glisemik kontrol, hiperlipidemi (özellikle hipertrigliseridemi), yüksek albuminüri ve obezitenin diyabetik nöropati gelişimine neden olan risk faktörleri arasında olduğunu belirtmektedir.

#### **2.1.2.1.2.1. Diyabetik Ayak Ülseri Oluşumunda Nöropatinin Yeri**

Diyabetik hastalarda nöropatinin gelişmesi ile birlikte ayak ülserlerinin oluşmasına yol açacak olaylar başlar. Duyu kaybı ile birlikte ayağa alınan travmalar artar. Otonom nöropati sonucu ayakta hiperkeratoz ve anhidroz oluşur; deride küçük fissürler ortaya çıkar. Bu fissürler enfeksiyöz ajanlar için bir giriş yoludur. Motor fonksiyonların kaybı ile ayak intrinsik kaslarda kontraktürler oluşur ve ayağın normal anatomik yapısı bozulur, yük dağılım bölgeleri değişir. Tüm bu komponentler birleştiğinde major amputasyonlar ile sonuçlanabilecek bir süreç ortaya çıkar.

#### **2.1.2.1.2.2. “Charcot” Deformitesi (Nöroartropati)**

Diyabetik hastaların yaklaşık %2'sinde “Charcot” deformiteleri görülür. Kısaca iyi kanlanması olan ancak duyu kaybının eşlik ettiği bir ayakta enfektif olmayan artropati olarak tanımlanabilir. Ağrıya duyarsızlık sonucu artan travmalar ile eklemlerde

hasar oluşur. Tarsometatarsal ve metatarsofalangeal eklemler %30, intertarsal eklemler %24 ve interfalangeal eklemler %4 oranında etkilenir. Bu eklemlerdeki hasarlara bağlı olarak medial longitudinal ark çöker ve yürüme bozuklukları oluşur. Bununla birlikte ağırlık noktalarında değişiklikler gelişerek ülserasyon, enfeksiyon, nekroz ve amputasyonların görülme sıklığı artar. Patoloji, ligaman hasarına sinovit ve efüzyonun eşlik etmesi ile başlar. Ağrı duyusu kaybolduğundan ekstremitenin kullanımıyla birlikte enflamatuvar süreç şiddetlenir. Eklem kapsülünün gerilmesi eklem instabilitesi ile sonuçlanır. Aktivitenin devam etmesi ile eklem kartilajında erozyon ve sinovyumda birikim oluşur. Heterotopik kemik oluşumu ve ağırlık taşıyan bölgelerde sertleşmeler görülür.

Motor nöropatinin sonucu olarak intrinsik kaslarda atrofi ve fibrozis “Charcot” deformitesinin oluşmasına katkı sağlar. Buna bağlı gelişen metatarsofalangeal eklem ekstansiyonu ve interfalangeal eklem fleksiyonu ile metatars başlarında ve falanks distallerinde bası artışı olur. Transvers ve longitudinal arkların kaybıyla yük dağılımı bozulur, metatars başlarına ve ayak orta seviyesine binen yük artar (9).

#### **2.1.2.1.2.3. Periferik Sinir Yapısı**

Periferik sinir sistemi çevreden gelen uyarıları merkezi sinir sistemine, buradan çıkan uyarıları son organlara iletmekle görevli olan nöronlardan ve bağ dokusu elemanlarından oluşmuş bir sistemdir.

Sinir sisteminin temel hücresi nörondur. Tüm nöronlar myelinli olsun ya da olmasın Schwann hücreleri tarafından desteklenmektedir. Schwann hücreleri myelin üretmek ile görevli periferik sinir sistemi elemanlarıdır. Aksonların çevresindeki myelin kalınlığı aksonun çapı ile doğru orantılıdır. Daha geniş çaplı olan motor nöronların myelin kalınlığı daha küçük çaplı olan duyu nöronlarından fazladır. Genel olarak daha kalın myelin tabakası olan nöronlar daha hızlı iletme sahiptirler (13).

Nöronların oluşturduğu sinir liflerinin her biri endonöryum denen ince kollajen liflerden oluşmuş bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Endonöryal boşlukta yoğun kapiller ağ bulunur. Kan-sinir bariyerini oluşturan bu ağ kan-beyin bariyerinden farklı olarak proteinlerin ve sinyal moleküllerinin geçişine izin verir (14). Sinir lifleri bir araya gelerek fasikülleri oluşturur. Fasiküller multilamellar kollajen bağ dokusu olan



perinöryum tarafından sarılmıştır. Periferik sinirlerin gövdesi ise fasiküllerin bir araya gelmesi ile oluşur. Periferik sinirlerin gövdesini çevreleyen gevşek bağ dokusuna epinöryum denir. Sinirlerin kanlanması epinöryal, perinöryal ve endonöryal pleksusların kompleks yapısı ve ekstrensek paranöryal damar ağı tarafınca sağlanır (15).

#### **2.1.2.1.2.4. Diyabetik Periferik Nöropati Fizyopatolojisi**

Hiperglisemi serbest radikal türlerinin oluşumuna ve sonuç olarak dokularda oksidatif strese yol açar. Oksidatif stres, oksijen ya da nitrojen türlerinin aşırı ya da eksik parçalanması sonucu enzim aktivitelerinde değişime ve lipit peroksidasyonunda artışa neden olur. Bu etmenler bir araya geldiğinde, oksidatif stresin sonucu olarak, nöronlarda doğrudan ya da endotelial fonksiyon bozuklukları aracılığıyla dolaylı olarak hasar oluşur. Aldoz redüktaz enzimi etkisiyle oluşan sorbitolun yüksek intraselüler konsantrasyonları sinirde ödeme ve fonksiyon kaybına neden olur. Sinir fasikülündeki ödeme bağlı olarak endonöral basınç artışı olur; mikrovasküler yapılara bası artar ve kan akımı azalır (16). Yüksek glikoz seviyeleri çapraz bağlı kollajen moleküllerinde artışa ve böylece ekstremitelelerdeki karpal, kubital, tarsal tünel gibi boşlukların sertleşmesine sebep olur. Sinirdeki ödem ve tüneldeki sertleşmenin kombinasyonu otonomik, motor ve duysal sinir disfonksiyonu olarak kendini gösteren “double crush” sendromuna neden olmaktadır (10).

Diyabetle birlikte diyabetik nöropatinin gelişimine neden olan, sinir sıkışmaları, lokal hipoksi, mitokondri hasarları ve sinir hücrelerinde apoptoz gibi değişimler de görülür. Diyabetik nöropatinin ana işareti ince miyelinli ve miyelinsiz fibrillerin kaybı ve sinir fibrillerinde kısmi demiyelinizasyondur.

Diyabetik nöropatinin açıklanmasında, kronik hiperglisemi, nöral fonksiyonlarda önemli olan proteinlerin nonenzimatik glikolizasyonu, nöral poliol metabolizmasında değişimler, nörotrofik faktörlerin azalması, reaktif oksijen türlerinin üretimi, mitokondriyal hasara bağlı olarak dorsal kök gangliyonlarında dejenerasyon, diyabetik sinirlerdeki kan dolaşım bozukluklarına bağlı mikrovasküler hasarlar gibi, çok sayıda patojenik mekanizma öne sürülmektedir (17).

## **2.1.2.1.2.5 Diyabetik Nöropati Gelişiminde Önemli Yolaklar**

### **2.1.2.1.2.5.1 Polyol Yolağı**

Aldoz redüktaz enzimi glikozu sorbitole çevirir, sorbitol dehidrogenaz da sorbitölü fruktoza çevirir. Her iki enzim de hiperglisemik dokularda yüksek miktarda bulunur. Hiperglisemi aldoz redüktaz yolağını öncelikli olarak aktive eder. Böylece hücre içi sorbitol miktarı artar ve hücre içinin görece hipertonic olmasına yol açar. Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) aldoz redüktaz aracılı glikozun sorbitole indirgenmesi sırasında tüketildiğı için oksidatif stres oluşumuna katkıda bulunur. Polyol yolağındaki ikinci adım; sorbitölün sorbitol dehidrogenaz aracılığıyla fruktoza çevrilmesidir. Fruktoz oluşumu glikolizasyonu artırır ve NADPH'ı azaltır ve sonrasında redoks dengesini bozar (18).

### **2.1.2.1.2.5.2 Heksozamin Yolağı**

Glikoz metabolizması süresince bazı fruktoz-6-fosfatlar glikolitik yoldan çıkarak, heksozamin yolağına girerler. Hiperglisemik koşullar heksozamin yolağına daha fazla girişe neden olur, sonuçta aşırı miktarda N-asetilglikozamine ve Sp1 aktivasyonuna yol açar. Sp1, dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor-  $\beta$ 1 - TGF- $\beta$ 1) ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gibi, glikozla indüklenen çok sayıda 'housekeeping' genin ifadesinden sorumludur. TGF-  $\beta$ 1'in aşırı ifadesi, endoteliyal fibrozis ve mezengial hücrelerin proliferasyonlarında azalmaya yol açan, kollajen matriks üretimini ve vasküler düz kas hücrelerinin mitozunu artırır (18).

### **2.1.2.1.2.5.3 Protein Kinaz C (PKC) Yolağı**

Glikoz seviyesindeki artışla uyarılan diaçilgliserol, protein kinaz yolağını aktive eder. Protein kinaz C üretiminin artışı, Protein kinaz C- $\beta$ -izoformunun özellikle üretimi, anjiyojenik protein vasküler endoteliyal büyüme faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor - VEGF), PAI-1, NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa B), TGF- $\beta$ 'nın aşırı ifadesine neden olur. PKC yolağının aktivasyonu vazokonstriksiyon ve kapiller geçirgenliğı

aktive eder, hipoksi, anjiyogenez, bazal membran kalınlaşmaları ve endotelial proliferasyona neden olarak nörovasküler kan akımında değişikliklere sebep olur. PKC aktivasyonu ayrıca Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz pompası ve düzenli sinir iletiminden sorumlu olan diğer enzimlerin fonksiyonlarında da değişikliklere neden olur. PKC inhibisyonu hem siyatik sinir kan akımını, hem de sinir iletim hızını normal seviyelere düşürdüğü bulunmuştur (19).

#### **2.1.2.1.2.5.4 Gelişmiş Glikolizasyon Son Ürünleri Yolağı**

İndirgenen şekerlerle ya da oksaldehitlerle proteinler/lipitler arasındaki enzimatik olmayan ilişkiler, gelişmiş glikolizasyon son ürünlerinin oluşumuyla sonuçlanır. Reaktif dikarbonillerin oluşumundan sorumlu üç temel yolak vardır: 1) glikoz oksidasyonu ile glioksal oluşumu; 2) Amadori (fruktoz-lizin adducts) ürünlerinin parçalanması ve 3) aberant glikolitik metabolizmasının metilglioksala aracılık etmesi (18).

#### **2.1.2.1.2.5.5 Poly (ADP-riboz) Polimeraz (PARP) Yolağı**

PARP oksidatif-nitrosatif stresle ilişkili bir çekirdek enzimidir. Serbest radikaller ve oksidantlar PARP aktivasyonunu uyarır. PARP'a bağlı anormallikler, sinir iletim hızlarının azalmasına, ince fibril nöropatlere, nörovasküler anormalliklere, retinopatiye, termal ve mekanik hiperaljeziye ve taktıl allodiniye neden olur (18).

#### **2.1.2.1.2.6 Diyabetik Periferik Nöropati Tanısı**

Diyabetik polinöropatinin tanısı detaylı hasta anamnezi, duyu ve motor semptomların muayenesi, elektrofizyolojik testler ve nöropatiye sebep olabilecek diğer sebeplerin dışlanması ile konulur. Fizik muayenede her iki ayağın incelenmesi, otonom nöropati sonucu gelişen anhidroz ve keratozun tespiti önemlidir. Patella ve Aşil tendon refleksleri, diyapozon ile titreşim duyası, monofilaman testi ile dokunma duyası, "pinprick" testi ile ağrı duyası ve ısı duyasının kontrolleri yapılır. Monofilaman testi; uygulama kolaylığı, hızlı ve güvenilir sonuçları ile öne çıkmaktadır. Bu testin 10 gr ile

hissetmeyen hastalar koruyucu duyusunu kaybetmiş olarak kabul edilir ve ülser gelişimi için 15 kat artmış riske sahiptirler (20).

Sinir iletim çalışmaları; sinir fonksiyonlarını gösteren en objektif non-invazif testlerdir. Demiyelinizasyona bağlı sinir iletim hızında yavaşlama ve akson kaybına bağlı aksiyon potansiyellerinde azalma görülür (21). Bu testler sinir fonksiyonunu sensitif ve güvenilir bir şekilde ölçmelerine rağmen diyabetik nöropatiyi diğer nöropatilerden ayıramazlar. Bu yüzden klinik bulgular ile birlikte değerlendirilmeleri gereklidir.

Ayak duyarlılığının tespitinde günümüzdeki en iyi yöntem “Pressure Specified Sensory Device” (PSSD) olarak kabul edilmektedir. Anormal duyarlılığı belirlemede %95 güvenilirliğe sahiptir. En önemli avantajı erken ve geri döndürülebilir aşamada nöropatinin tespitine olanak sağlamasıdır (22). Gereken durumlarda lateral malleol seviyesinden sural sinir biyopsisi alınarak histopatolojik inceleme ile tanı desteklenebilir (23).

#### **2.1.2.1.2.7 Diyabetik Periferik Nöropati Tedavisi**

Diyabetik polinöropatinin kanıtlanmış, etkili bir tedavisi bulunmamaktadır. Tedavinin temeli glisemik düzeyin sıkı kontrolüdür. Normoglisemik düzeyin sağlandığı vakalarda nöropati gelişiminin azaldığı belirlenmiştir. Hastaların alkol ve sigara kullanımını azaltmak yardımcı olabilir (5). Duyu kaybı geliştikten sonra ekstremiteleri travmadan korumak ve iyi bir bakım ile komplikasyonların gelişmesi önlenebilir. Hastaların bilinçlendirilmesi, ayak bakımının öğretilmesi birçok amputasyonun önüne geçecektir. Riskli hastaların rutin muayeneler ile takibi ve gerekli görüldüğünde elektrofizyolojik testlerin kullanılması nöropatinin erken tanısı için önemlidir. Nöropati erken dönemde tespit edildiğinde sinir sıkışmalarının dekompresyonu, perinöryum içi basıncın azaltılması ile sinirin mikrosirkülasyonu düzeltilerek duyu kaybının önüne geçilebilir.

Nöropatinin semptomatik tedavisinde en önemli kısım nöropatik ağrının azaltılmasıdır. Bu amaçla antidepresanlar, opioid analjezikler ve gabapentin gibi antikonvülzanlar kullanılabilir.

Diyabetik nöropatinin gelişimini durduracak sebebe yönelik ilaçlar hala çalışma aşamasındadır. Bu ilaçlardan polyol yolağına yönelik geliştirilen Sorbinil ile kısmen yarar sağlanmış olsa da ciddi deri bulguları sebebi ile çalışma durdurulmuştur. Zenarestat ise ancak doz bağımlı etki göstermiştir. Deneysel aşamada olan bir diğer ilaç Myo-inositol ise hayvan deneylerinde olumlu sonuçlar vermiştir. Heksozamin yolağı inhibisyonu için Benfotiamine, protein kinaz C yolağı için Ruboxistaurin denenmektedir. Gelişmiş glikolizasyon ürünlerinin oluşumunu engellemek için Aminoguanidine ve Asetil salisilik asit kullanılmaktadır. Bunlarla birlikte E vitamini, Resveratrol,  $\alpha$ -lipoik asit gibi antioksidanlar tedaviye eklenebilir (18).

### **2.1.2.1.3 Diyabetik Ayak Hastasına Yaklaşım**

Diyabetik ayak ülserlerinde görülen nöropatik ve vasküler değişiklikler nedeniyle hastaların preoperatif değerlendirilmesinde ek testler gerekir. Öncelikle sistemik olarak diyabetin kontrolü gerekir. Malnutrisyon, kronik böbrek yetmezliği, hipertansiyon gibi ek patolojiler stabil duruma getirilmelidir. Nöropati tek bir siniri etkileyebileceğinden ayağın duyu muayenesi eksiksiz olarak yapılmalıdır. Bu hastalarda mutlak yatak istirahati ve ayak elevasyonu; ödem ve enfeksiyonun kontrolü için şarttır. Yaranın oluşum zamanı, derinliği, lokasyonu, kemik patolojiler, kronik osteomyelit varlığı sorgulanmalıdır. Osteomyelit gösterilmesi için direk radyografi, manyetik rezonans inceleme (MRİ), kemik sintigrafisi ve gerekirse kemik biyopsileri yapılmalıdır(24). Periferik vasküler yapıların durumu non-invazif ve gerekirse invazif testler ile değerlendirilmelidir. Non-invazif olan bilgisayarlı tomografik anjiyografi vasküler yapıyı ve özellikle ateroskleroza ayrıntılı bir şekilde gösterir. İskemik ağrının eşlik ettiği ayak ülseri olguları kardiyovasküler cerrahi kliniğine konsülte edilmelidir ve gerekli durumlarda femoral-popliteal by-pass cerrahisi ile ayağın perfüzyonu artırılmalıdır. Eldiven çorap tarzı periferik nöropatinin görüldüğü olgularda sinirlerin sıkıştığı belli anatomik bölgelerde serbestleştirilmesi ile yarar sağlayabilir. Tüm nekrotik dokuların debridmanı ve pürülan kavitelelerin drenajı yapılmalıdır. Plantar apse düşünüldüğünde kültür sonucuna göre antibiyoterapisi planlanmalı ve anaerobik enfeksiyon durumlarında hiperbarik oksijen tedavisi kullanılmalıdır.

### 2.1.2.1.3.1 Diyabetik Ayak Defektlerinin Rekonstrüksiyonu

Diyabetik ayak ülserleri önce seri debridmanlar ve uygun antibiyoterapi ile rekonstrüksiyona hazır hale getirilmelidir. Rekonstrüksiyon yöntemine karar verirken defektin yeri, boyutu ve derinliği önemlidir. Yük taşıyan bölgelerden olmayan plantar bölgenin mediali ve ayak dorsumu gibi bölgelerdeki defektlerde en iyi tercih deri greftleridir. Ayağın yük taşıyan bölgelerindeki kalın ve kılsız deriyi rekonstrükte ederken benzer özellikli dokular tercih edilmelidir. Bu bölgelerde deri grefti ile onarım genellikle rekürrens ile sonuçlanacaktır. Yük taşıyan bölgelerde yeterli debridmandan sonra oluşacak defektlerin rekonstrüksiyonunda; enfeksiyon kontrolü için iyi kanlanan, sürtünme kuvvetlerine dayanabilecek kadar sağlam ve güvenilir, ayakkabı kullanımına izin verecek ölçüde düzgün kontur oluşturulabilecek bir flep seçilmelidir.

Plantar bölgedeki küçük çaplı defektlerde V-Y, bilobe, Limberg gibi lokal flepler yeterlidir. Daha büyük defektlerde geniş medial tabanlı rotasyon flepleri veya fasyakütan plantar flep tercih edilir. Kas flebinin gerekli olduğu durumlarda abduktor hallusis medialde, abduktor digiti minimi ise lateralde kullanılabilir.

Plantar topuk defektleri geniş distal tabanlı V-Y flep veya medial tabanlı rotasyon flepler ile rekonstrükte edilebilir. Medial plantar fasyakütan flep ve fleksör digiti minimi kas flebi de bu bölgedeki diğer seçeneklerdir. Topuk posteriorundaki defektler ise lateral kalkaneal fasyakütan flep veya ters akımlı sural arter fasyakütan flep ile onarılabilir (25). Distal tabanlı nörokütanöz flepler (sural ve safen sinir gibi) diyabetik hastalarda kullanılabilir (26).

Rekonstrüksiyon sonrası yeni ülser oluşumunu engellemek için eş zamanlı olarak kemik yapıların düzeltilmesi göz ardı edilmemelidir. Kemik çıkıntılar alınmalı, eklem dislokasyonları gibi deformiteler düzeltilerek yük dağılımındaki sorunlar giderilmelidir. Gergin Aşil tendonunun uzatılmasıyla diyabetik hastalardaki 2 yıl içindeki rekürrens oranlarının yarıya düştüğü belirlenmiştir (10).

Konservatif tedaviye dirençli veya minör cerrahilerle sonuç alınmadığında serbest flepler kullanılabilir. Revaskularizasyon yapılan ekstremitelerde serbest flep cerrahisi planlanırken mutlaka alıcı damar uygunluk açısından dikkatle değerlendirilmelidir. Serbest flep donör alanı seçilirken aterosklerozun daha az görüldüğü sırt bölgesi veya üst ekstremitte tercih edilmelidir. Serbest kas flepleri kolay

şekil verilebildiği için ayağın girintili çıkıntılı yapısına uyum sağlar. Ancak hacimsel flepler olduklarından ayakkabı kullanımını engelleyebilirler; kontur düzeltilmesi için ikinci cerrahi girişimlere gerek duyulabilir. İyi kanlandıkları için enfeksiyon ile mücadelede ön plana çıkan seçeneklerdir. Ancak duyuşsal komponentleri olmadıklarından nüks görölme sıklığı artmaktadır (27). Serbest anterolateral uyluk flebi gibi ince bir fasyakütan flep sürtünmeye daha dayanıklıdır, daha iyi kontur sağlar ve reinervasyon şansı daha yüksektir. Ancak diyabetik ayak hastalarının yaşı, eşlik eden koroner, böbrek ve serebrovasküler hastalıkları göz ardı edilmemeli ve uzun ameliyat sürelerinden kaçınılmalıdır.

Birinci parmaktaki defektlerde en iyi seçenek korunabilecek maksimal uzunluk korunarak falanksın amputasyonudur. Geride bırakılacak proksimal falanks proksimali lateraldeki parmakların medializasyonuna engel olacaktır. Birinci veya beşinci metatars başları üzerinde ülserasyon varsa yara debridmanı sonrası kemik eksizyonu yapılabilir ancak metatars başı tamamen eksize edilmemelidir çünkü bu durumda bir sonraki metatars başında yük artışı olacaktır. İkinci, üçüncü veya dördüncü metatarslar üzerinde ülserasyon mevcutsa metatars başlarını koruyacak şekilde boyun kısımlarına yapılacak osteotomiler ile metatars başları yüzer hale getirilebilir (9). Birden çok metatarsın amputasyonu gereken durumlarda geriye kalan yumuşak dokular güdüğü kapatmaya yetmeyebilir; serbest flepler ile onarım gerekir.

Genel durumu stabil olmayan ve uzun tedavi sürelerini tolere edemeyecek hastalarda, enfeksiyonun ve/veya osteomyelitin kontrol altına alınmadığı durumlarda diz altı amputasyon gibi daha radikal cerrahiler düşünölmelidir.

## **2.2 Deneysel Kimyasal Diyabetes Mellitus Oluşturulması**

Alloxan ve streptozotosin (STZ) hayvanlarda deneysel diyabetin indüklenmesinde kullanılan en yaygın diyabetojenik kimyasallardır. Her iki kimyasal da pankreatik beta hücrelerinde sitotoksik etki göstererek, kolay ve hızlı bir şekilde deneysel diyabet oluşturulmasında kullanılmaktadır (28).

Alloxanın diyabet oluşturduğu, pankreatik beta hücrelerinde spesifik nekrozların gözlenmesi sonucu, ilk kez 1944 yılında tespit edilmiştir (29). Sonrasında çeşitli araştırmacılar tarafından, tavşanlarda, sıçanlarda, köpeklerde ve diğör birçok memeli

türünde diyabet oluşturmak için kullanılmıştır. STZ'nin diyabetojenik etkisi alloxandan 20 yıl sonra bulunmuştur ve bu tarihten itibaren diyabet oluşturmada tercih edilen kimyasal olmuştur. STZ, alloxana göre, pankreatik beta hücreleri üzerinde daha etkili ve daha spesifiktir. STZ, *Streptomyces achromogenes* tarafından sentezlenmektedir. Ergin sıçanlarda, genellikle tek doz, 40-60 mg/kg, intravenöz STZ uygulaması, insülin bağımlı diyabetin oluşturulmasında etkili olmaktadır. Daha yüksek dozlarda, makrofaj fonksiyonlarını etkilemektedir. Uygulama bölgesi, sinirlerde hasar oluşturmamak için dikkatli seçilmelidir. Diyabetik sıçanlarda, kıllarda bozulmalar, postta sararma ve fiziksel aktivitelerde azalmalar gözlenir.

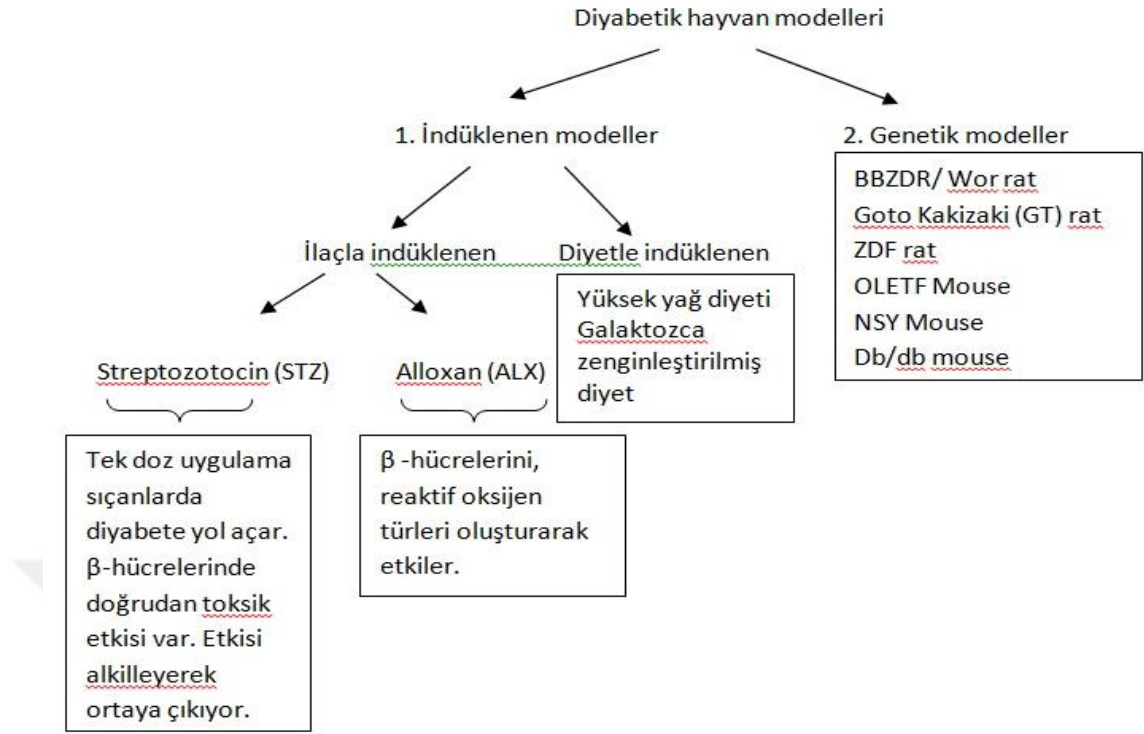
Tek doz STZ enjeksiyonu ile sıçanlar 72 saat sonunda hiperglisemik olmakta ve yaklaşık 4 hafta sonrasında nöropati gelişimini gösteren davranışsal sinyaller vermektedirler (30). Diyabetik sıçanlardaki termal noziseptif eşikler oldukça değişkenlik göstermektedir. Bazı çalışmalarda hiperaljezi gözlenirken, bazılarında herhangi bir fark bulunmamış, diğerlerinde ise termal duyu kayıpları gözlenmiştir (31).

### **2.3 Deneysel Yara Modelleri**

Deneysel yara modelleri; akut yara modelleri, iyileşme bozukluğu yaratılmış modeller ve kronik yara modelleri olarak üç ana grupta incelenebilir.

Akut yara modellerinden en çok kullanılanlar; insizyonel, eksizyonel (kısmi kalınlıkta veya tam kalınlıkta), ölü boşluk oluşturan modeller, kimyasal, termal veya radyasyon ile oluşturulan yanıklardır. İnsanlarda görülen dolaşım bozukluğu, beslenme eksiklikleri, yaşlılık ve kronik fizyolojik dengesizliklere bağlı gelişen yaraları hayvan modellerinde oluşturmak daha zorlu bir süreçtir. Hayvanlarda iyileşme bozukluğu yaratılmış yara modellerini oluşturmak için immüsupresyon (glukokortikoidler, adriamycin, tüm vücut radyasyon maruziyeti), diyabet (genetik veya kimyasal), yaşlandırma, beslenme (vitamin eksiklikleri, protein kısıtlaması, çinko eksikliği) ve böbrek yetersizliği yaratılması gibi yöntemler tercih edilir. Deneysel çalışmalarda kullanılan diyabetik hayvan modelleri Şekil 2-1'de gösterilmiştir.





**Şekil 2-1 : Deneysel diyabet modelleri**

Diyabet; arterioskleroz ile periferik dolaşımı bozması, nöropatik değişiklikler sonucu duyu kaybına yol açarak travmaya yatkın ekstremiteler oluşturması, büyüme faktörlerini ve bunlara olan duyarlılığı azaltması ile yara iyileşmesini bozar. Kimyasal ajanlar pankreastaki Langerhans hücrelerini seçici olarak harap ederek hızlı bir şekilde diyabet oluştururlar. Geri dönüşümsüz olarak hipoinsülinemi ve hiperglisemi (kan glikoz seviyesi  $>300\mu\text{g/dl}$ ) oluşur ve sıçanlar bu duruma 6 ay boyunca dayanırlar. Streptozotocin sülfat intramusküler olarak  $55\text{mg/kg}$  dozunda uygulandığında kimyasal olarak diyabet oluşturur.

Kronik yara modellerini ucuz ve yenilenebilir bir şekilde oluşturmak zorlu bir süreçtir. Venöz staz ülserleri, diyabetik ayak yaraları ve pilonidal sinüs gibi insanda sık görülen kronik yaralar hala deney hayvanlarında oluşturulamamış yara modelleridir (32).

Bu çalışmada kimyasal olarak diyabet oluşturulmuş sıçanların arka ekstremitelerinde eksizyonel olarak akut yara oluşturularak; iyileşme bozukluğu yaratılmış yara modeli ile akut yara modelinin bir kombinasyonu kullanıldı.

## 2.4 Deneysel Flep Modelleri

Sıçan deri anatomisi insandan ciddi ölçüde farklı olmasına rağmen maliyet ve ulaşılabilirlik gibi avantajları nedeniyle deri flebi araştırmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Deneysel hayvan modellerinde kullanılmak üzere pektoral deri flebi, sırt bölgesi flepleri, karın bölgesi flepleri, safen flep gibi birçok flep tasarlanmıştır (33). Bunlardan en sık kullanılanlar McFarlane sırt flebi ve kasık flebidir (34, 35). Bu fleplerin değişik modifikasyonları mevcuttur (H şeklinde insizyon yapılarak üç kenardan vasküler bağlantıyı kesmek gibi) (36, 37). Kasık flebi belli bir vasküler sistem üzerinden kaldırılan duyuşal inervasyonu olan bir flep olduğundan flep çalışmaları için iyi bir seçenektir.

Fasyokütan safen flep arka ekstermitenin ayak bileğine en yakın kısmından planlanan, safen arter ve ven tabanlı bir fleptir. Nörokütanöz ada flebi, nöral ada flebi gibi deneysel modeller tanımlanmış olsa da bu modellerin çalışmamızın amacına uygun olmadığı tespit edilmiştir (38, 39).

Çalışmamızda arka ekstremitte defektlerini onarmak için komşu dokulardan planlanacak, random paternli bir deri flebi kullanmayı tercih ettik.

## 2.5 Deneysel Modellerde Nöropatinin Değerlendirilmesi

Diyabetik hayvanlarda duyu kayıplarını gösteren çalışmalar genellikle 4-12 haftalık çalışmaları kapsamaktadır. Ancak hayvan modelleri, demiyelinizasyon, akson dejenerasyonu, fibril kaybı ya da akson rejenerasyonu gibi nöropatiyi açıkça gösteren bulgular vermemektedir. Bu nedenle diyabetik rodentler, ağrının periferik sinir dejenerasyonu ya da rejenerasyonu ile bağlantısını göstermede zayıf modellerken; duyu kayıplarıyla ilgili davranış testleri ve buna eşlik eden erken nörokimyasal ve fonksiyonel bozukluklarının araştırılmasında uygun modellerdir. Hayvan modellerinde spontan ağrının tespiti mümkün değildir. Bu nedenle dış uyarılara verilen davranışsal yanıtlar ölçülür. Kuyruk ve siyatik sinirdeki motor ve duyu sinirlerinde sinir iletimi hesaplamaları, duyu ve motor sinir fonksiyonlarının belirlenmesinde önemlidir (40). Sinir iletim hızı testi, sinir impulsu sinir boyunca ilerlerken iletim hızının derecesinin belirlenmesinde kullanılan elektriksel bir testtir ve sinir hasarı belirtilerinin tespitinde

kullanılmaktadır (28). Nöropati gelişimiyle birlikte, motor ve duyu sinirlerindeki iletim hızlarında azalmalar gözlenmektedir. Nöropati varlığının tespitinde, elektromiyogram (EMG) verileri, kuyruk immersiyon ve/veya sıcak plaka testleri gibi davranışsal testlerin kullanımı yaygındır. Diyabetik insan ve hayvanlarda nöropatinin belirlenmesinde, elektrofizyolojik ölçümler altın standart olarak bilinmektedir.

### 2.5.1 Kuyruk İmmersiyon Testi

Kuyruk immersiyon testi (sıcak suda): Sıçan kuyruğunu çekene ya da mücadele etmeye başlayana kadar, sıçanın kuyruğu  $47\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'lik sıcak suya batırılır (Şekil 2-2) (uygulamayı bırakma zamanı: 15 saniye) (41). Courteix ve ark.  $38, 40, 42, 44, 46^{\circ}\text{C}$ 'lik su banyolarında, 15 saniyelik denemeler yapmışlardır. Her bir ölçüm, en az 10 dakika aralıklarla alınmıştır (42).

Kuyruk immersiyon testi (soğuk suda): Su sıcaklığı  $10\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanır ve aynı işlem uygulanır (uygulamayı bırakma zamanı 15 saniye).



Şekil 2-2 : Kuyruk immersiyon testi

Kuyruk immersiyon testi sonuçlarının, diyabetik farelerde değişmediği ya da arttığı raporlanırken; diyabetik sıçanlarda yanıt zamanlarının arttığı ve azaldığı bildirilmiştir. Diyabetik sıçanların kullanıldığı çalışmaların çoğunda, duyu kaybının belirtisi olan, termal hipoaljezi gelişimi görülmüştür. Çalışmalar incelendiğinde, diyabetin termal hipoaljezi ve mekanik hiperaljeziye yol açtığı gözlenmiştir. Diyabetik rodentlerde periferik duyu sinirleri çok çalışılmıştır ve genellikle aktivitenin azaldığı görülmüştür. Kalın miyelinli duyu fibrillerinde iletim hızları, dorsal kök gangliyonlarındaki hücre gövdesi hacimleri ve primer afferentlerin periferik ve merkezi uzantılarının akson çapları azalmaktadır (43).

### 2.5.2 Sıcak Plaka Testi

Hayvanlar, sıcaklığı  $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'lik sıcak plaka üzerine bırakılır (Şekil 2-3). Ayağı ilk çekme hareketinin ya da sıçrama hareketinin görüldüğü zaman acı eşiği olarak belirlenir. Ayakların zarar görmemesi için süre 10 saniye tutulur. Hiperaleji ve allodini tespitinde kullanılır (41). Beyreuther ve ark. bu testi  $52,5^{\circ}\text{C}$ 'lik plaka üzerinde 30 saniye süresince uygulamıştır (44).



Şekil 2-3 : Sıcak plaka testi

### 2.5.3 Yürüme Testi

Yürüme yolu analizleri sıçanların sinir hasarlarının fonksiyonel olarak ölçülmesinde kabul görmüş, standartlaştırılmış ve sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Yürüme hareketi için gastroknemius ve antagonist kasların çalışması, duyu iletimi ve kortikal bağlantı gerekir. Yürüme yolu analizinin belli formüllere göre yapılması ile standardizasyon sağlamak ve testin duyarlılığını arttırmak mümkündür (45).

### 2.5.4 Elektromiyografi

İskelet kaslarında üretilen güç, motor nöronlardan kas fibrillerine gönderilen elektrik sinyalleri ile kontrol edilir. Bu elektrik sinyalleri, aksiyon potansiyelleridir ve kas hücre membranlarındaki hareketleri kaydedilebilir. Buna elektromiyogram sinyali denir. İskelet kası fibrilleri hem elektriksel hem mekanik özellik gösterir. Kas fibrillerinin elektriksel aktivasyonu doğrudan sinir sisteminin kontrolündedir. Elektromiyografi, kasın mekanik aktivitesini başlatan kas fibrilinin zarındaki elektriksel aktivitenin kaydı ve analizidir. Bir nöral impuls,  $\alpha$ -motor nöronda yayılıp, motor uç

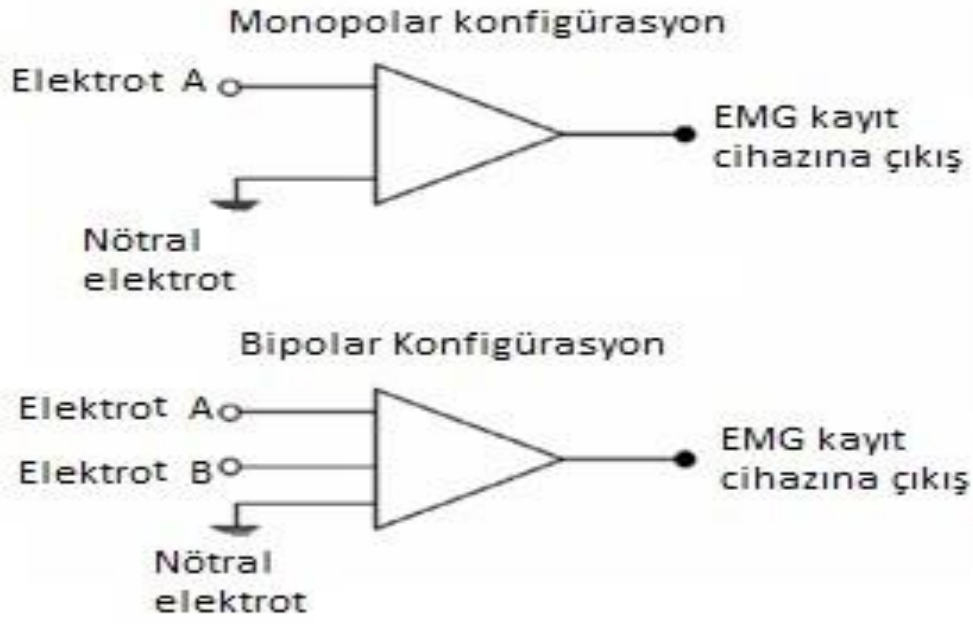
plağına ulaştığında, kas hücresi boyunca, yaklaşık 25-50 ms'lik elektromekanik gecikme sonrasında, bir depolarizasyon dalgası yayılır ve kas fibrillerinden kuvvet üretilmesiyle sonuçlanır. EMG sinyalinin orijini, kas fibrili membranındaki elektriksel aktivitedir (46).

Hem sinir, hem kas sisteminin fizyolojik fonksiyonlarının incelenmesinde kullanılmaktadır. Miyoelektrik sinyalleri, kasa yerleştirilen bir elektrotla ya da deri üzerinden yüzeysel elektrotlar kullanılarak kaydedilebilir. Kayıt alınan elektrotlara bağlı olmaksızın, tespit edilen EMG sinyalleri genellikle amplifiye edilir, filtrelenir ve analog formlarından dijital sinyal formuna dönüştürülür. Kantitatif ya da kalitatif analizler bu sinyal üzerinde yapılır. Ancak hiçbir EMG yönteminde, kaydedilen sinyal doğrudan orijinal miyoelektrik sinyali yansıtmaz (46).

#### **2.5.4.1 Elektromiyografi Sinyalinin Kaydı ve Ölçümü**

- Elektrotlar: Kas hücre membranlarında sodyum, potasyum iyonlarının akımına bağlı olarak dokular boyunca iletilen voltaj değişikliklerinin ölçülmesinde kullanılır.
- Amplifikatör: Sinyali büyütür.
- Bandwidth filtreler: Genellikle kas içi kayıtları için 10-1000 Hz ve yüzey kayıtları için 10-50 Hz filtreler kullanılır.
- Analog-dijital dönüştürücü: Sinyal gösterimi ve ölçümünde kullanılır.

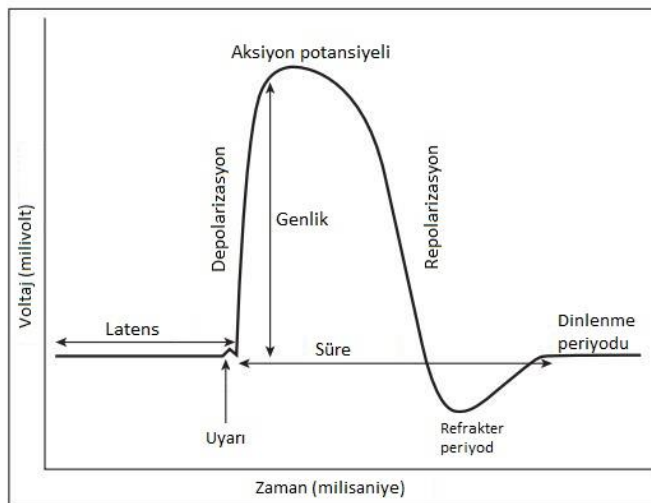
EMG aktivitesi, monopolar ya da bipolar kayıt sistemi kullanılarak kaydedilebilir (Şekil 2-4). Monopolar kayıtlar, çalışılan kasın üzerinde ya da içine yerleştirilmiş tek bir elektrot ile elektriksel olarak durgun bir bölgeye (ör; kemik) yerleştirilen ikinci bir nötral elektrottan (referans / ground) oluşur. Bipolar kayıtlar, ilgili kasın üzerinde ya da içinde iki elektrot taşır ve sistemde bir tane de nötral elektrot bulunur. Bipolar konfigürasyon, kayıt alan iki elektrot arasındaki elektriksel farkı belirleyebilir. Böylece iki elektrot arasında farklı olan sinyaller önemli ölçüde azaltılmış olur. Bipolar kayıtlar, sinyaller daha stabil olduğu için; monopolar kayıtlar ise voltajın mutlak genliği ölçülmek istendiğinde tercih edilir (46).



Şekil 2-4: Monopolar ve bipolar konfigürasyonun şematik gösterimi

#### 2.5.4.2 Elektromiyografi Sinyalinin İşlenmesi

Çoğu uygulamada, EMG sinyalinin kantitatif hale getirilmesi gerekmektedir (Şekil 2-5). En temel amaç, verilen bir bileşenin, EMG sinyalindeki ilgili genlik ya da frekansta gösterdiği özelliğin ölçülmesidir.



Şekil 2-5 : Bileşik kas aksiyon potansiyeli grafiğinin şematik gösterimi

### 2.5.4.3 Sinir İletimi Çalışmalarında Elektromiyografi Kullanımı

EMG'nin en önemli klinik uygulamalarından biri, periferik nöromusküler sistemin iletim özelliklerinin çalışılmasıdır. Bunlar, radikülopati ve nöropati gibi iletim bozukluklarının belirlenmesinde kullanılır. Duyu, motor ve karışık sinirlerdeki iletimin ölçülmesinde yüzey EMG kayıtları ve periferik sinir uyarımı yöntemleri kullanılır. EMG sinyallerinde gecikme görüldüğünde ya da uyarılan iki periferik sinir bölgesi arası mesafe ve bu bölgelere ait aksiyon potansiyelleri incelenerek iletim durumları belirlenir.

EMG'nin amacı, EMG sinyalinin genlik (amplitude) ya da frekansına bağlı olarak mevcut durumun test edilmesidir. Öncelikle, 'interference EMG sinyali' değerlendirilmelidir. Bu sinyal, çok sayıda motor birimin asenkronize ve aynı anda aktif olduğu durumda elde edilir. Hem pozitif hem negatif yönde olduğundan, sinyalin ortalaması sıfırdır. Bireyler arasında EMG genliği farklılık gösterebilir. EMG sinyali fizyolojik olmayan birçok etmenden etkilenebilir. Bunu önlemek için, EMG genliğinin bir referans değere normalize edilmesi gereklidir. Bireyler ya da gruplar arasında EMG genliğinin normalize edilmesindeki en uygun yöntem, kayıt sırasında supramaksimal elektriksel uyarı yanıtının alınmasıdır. Supramaksimal uyarı; sinirdeki tüm fibrillerde aksiyon potansiyelinin oluşmasıyla sonuçlanan, Uyarı şiddetinin yavaş yavaş artırılması sırasında, dalga genliğinin daha fazla artmadığı elektriksel uyarıdır.

Periferik sinir uyarımlarında görece senkronize motor birim yanıtları oluşur ve sonuçta toplam bileşik EMG sinyali elde edilir. Tek motor birim kayıtları tek bir aksiyon potansiyelinin kaydına yol açar. Bu durumlarda EMG sinyalinin peak-to-peak genliği ölçülebilir. Genellikle gecikme zamanı ve etki süresi de ölçülür (46). Eşik değer; motor birimlerde aksiyon potansiyelini oluşturan en düşük voltaj değeridir.

Elektrofizyolojik testler, duyu ve motor iletim hızlarını, iletilen nöral sinyalin genliğini, maksimum uyarıyla aktive olan kas fibrillerinin yoğunluğunu ve senkronizasyonunu ve kas sinir iletiminin bütünlüğünü ölçmede kullanılan objektif, parametrik ve güvenilirliği yüksek yöntemlerdir. Sinir iletim hızını etkileyen temel faktörler, geniş çaplı fibrillerin miyelinizasyon seviyesi ve bütünlüğü, yanıt veren aksonların ortalama kesit çapları, çalışılan segmentteki internodal mesafe, iyon kanallarının dağılımı ve nodlardaki mikro çevredir. Demiyelinizasyon koşulları iletim hızlarını etkilemektedir (47).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel tez çalışması için Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 02.05.2012 tarih ve 2012/6 protokol numaralı etik kurul onayı alındı. Araştırma Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından maddi olarak desteklendi. Deneyler Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne bağlı Adacell Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nda yürütüldü.

#### 3.1 Denekler

Çalışmada Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne bağlı Adacell Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nda yetiştirilmiş toplam 32 adet ağırlıkları 250-300 gram arasında olan 3-4 aylık Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Sıçanlar  $22\pm 2$  °C sıcaklıkta ve 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Deneklerin her biri ayrı pleksiglastan yapılmış kafeslerde muhafaza edildi. Herhangi bir besin ya da sıvı kısıtlaması yapılmaksızın otoklav ile steril edilmiş standart sıçan yemi ve su ile beslendi. Herhangi bir nedenle çalışma dışı kalan sıçanların yerine yeni sıçanlar konularak grupların planlanan sayıları korundu.

#### 3.2 Gruplar

Denekler rastgele seçilerek 2 gruba ayrıldı. Kontrol grubu olan 1. grup 10 adet sıçandan oluşturuldu. Yirmi adet sıçandan oluşan 2. gruba ait hayvanlara STZ enjeksiyonu yapılarak diyabet oluşturuldu. İkinci gruptaki sıçanlardan ikisinin deneyin ikinci ve üçüncü haftasında ölmesi nedeniyle yerlerine aynı işlemler uygulanan yeni sıçanlar koyuldu. Tüm gruplardaki hayvanların haftalık ağırlık ölçümleri yapıldı.

Grup 1: Kontrol grubu (n=10)

Grup 2: STZ ile diyabet oluşturulan grup (n=20)



### **3.3 Streptozotosin ile Diyabetes Mellitus yapılması**

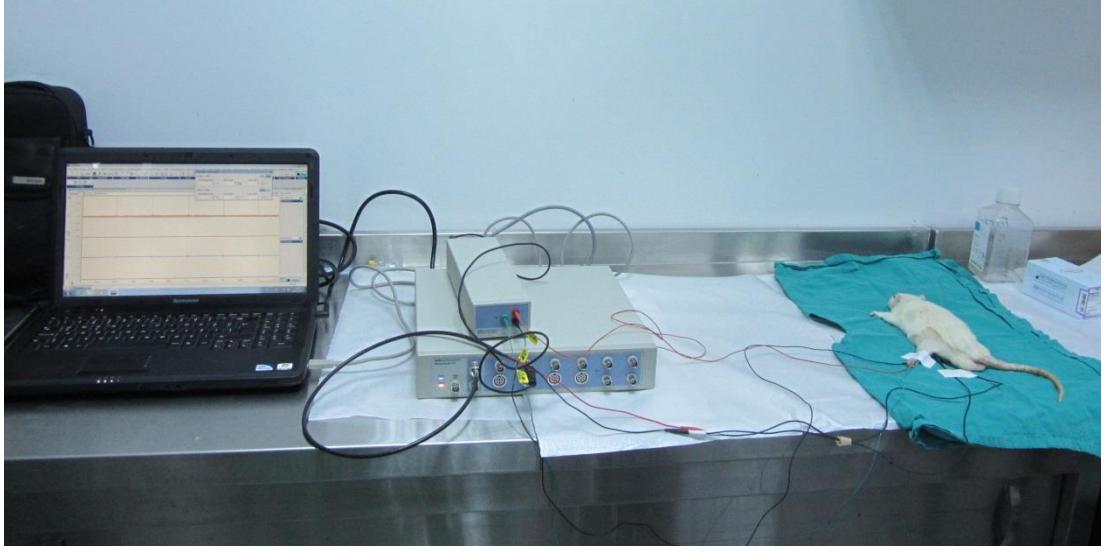
İkinci gruptaki deneklere 24 saatlik açlık sonrası 45 mg/kg tek doz Streptozotosin (Streptozocin, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO) intraperitoneal olarak uygulandı. Uygulamadan sonra hayvanlar ad libitum olarak beslenmeye devam etti. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kandan yapılan incelemede kan glikoz seviyesi 300 mg/dl ve üzeri olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Kan glikoz seviyesi ölçümleri 550 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlara 1 IU insülin subkütanöz olarak uygulandı.

### **3.4 Kan şekeri ölçümleri**

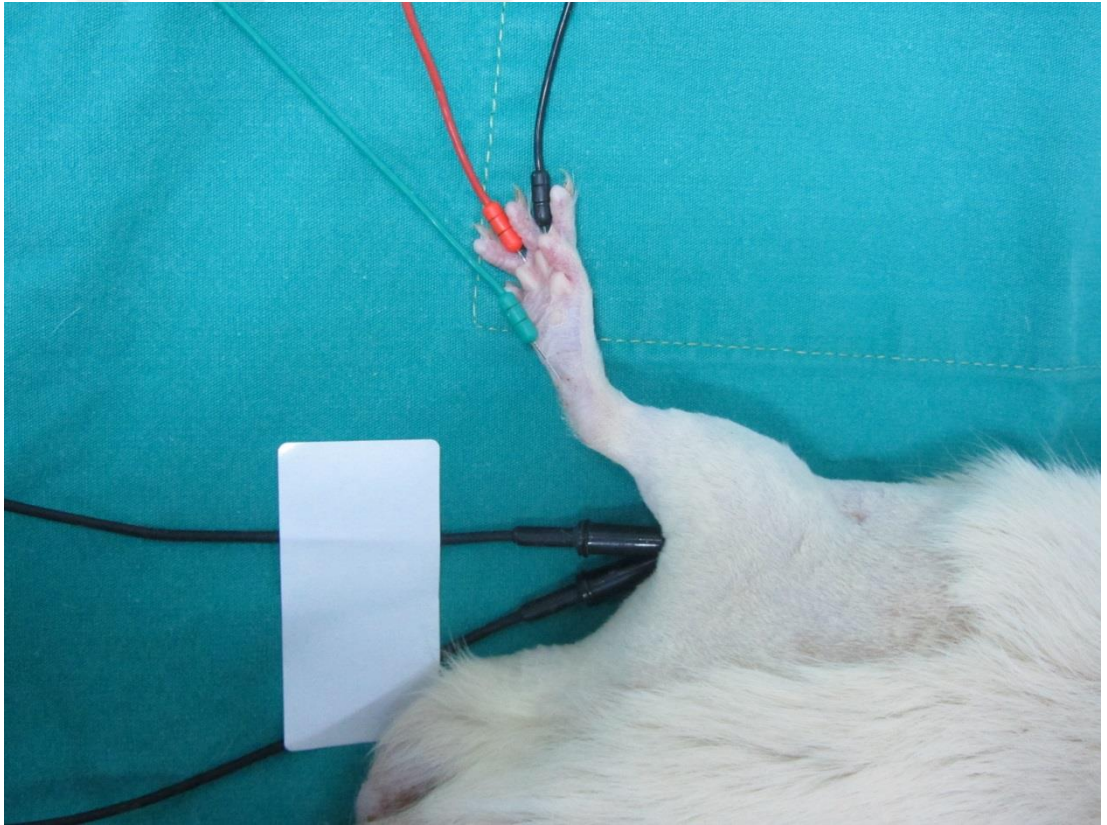
Kontrol grubunda kan şekeri ölçümleri cerrahi işlem uygulanmadan 10 gün öncesinden başlayarak terminasyona kadar geçen süre boyunca iki günde bir olarak gerçekleştirildi. İkinci grupta kan şekeri ölçümleri ise STZ uygulamasından 72 saat sonra başladı ve terminasyona kadar iki günde bir olacak şekilde yapıldı. Tüm ölçümler “GlucLeader-yasee GLM-76” (HMD Biomedical Inc. Taiwan) ile kuyruk veninden alınan kan ile gerçekleştirildi.

### **3.5 Elektromiyografi ile nöropatinin tespiti**

EMG kayıtları, ADInstruments PowerLab 8/30 (ADInstruments Pty Ltd. Australia) ile alındı (Şekil 3-1). Stimülatöre bağlı, elektriksel uyarının verildiği elektrotlar popliteal fossa bölgesine yerleştirildi (Şekil 3-2). Uyarının alındığı pozitif ve negatif elektrotlar 2. ve 3. web aralığına, toprak (ground) elektrot ise ayak tabanında deri altına yerleştirildi ve flaster ile elektrotlar sabitlendi.



**Şekil 3-1 : Sıçanlarda EMG kaydı alınması**



**Şekil 3-2 : Elektrodun yerleştirilmesi**

### 3.6 Anestezi

Deneklerin kan şekeri ölçümleri ve ağırlık ölçümleri herhangi bir anestezi uygulanmadan yapıldı. Yapılacak cerrahi işlemler öncesinde Ketamine hidroklorür (Ketalar, Pfizer - İstanbul) 50 mg/kg ve Ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer - İstanbul) 5 mg/kg ile hazırlanan karışım intraperitoneal olarak uygulanarak yaklaşık 60 dakikalık anestezi sağlandı. Anestezi derinliği kas tonusu ve parmak kıstırma yanıtları ile değerlendirildi.

### 3.7 Cerrahi

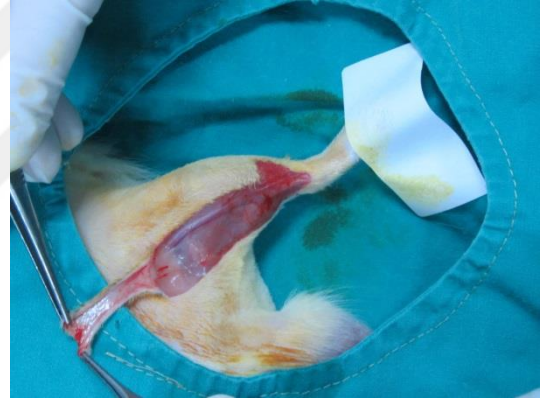
Sıçanlara belirtilen şekilde anestezi uygulandıktan sonra inguinal bölge ve arka ekstremitte bölgesi tıraş edildi ve %10 povidon iyot (Poviodeks, Kim-Pa İlaç Lab. İstanbul) ile saha temizliği yapıldı (Şekil 3-3). Sıçanlar supin pozisyonda tespit edildi ve tüm işlemler aynı cerrah tarafından uygulandı. Ekstermitenin ventral yüzündeki en distal kısımdan 1x1 cm'lik cilt dokusu eksize edilerek akut yara oluşturuldu. Hemen bu defektin komşuluğundan proksimal pediküllü olarak boyu 3 cm genişliği 1 cm olan deri ve altındaki pannikulus kasını içeren random flep eleve edildi. Flep kas üzerindeki gevşek ve avasküler planda kaldırıldı. Defekt flebin ilerletilmesi ile onarıldı. Flepler 4/0 keskin iğneli ipek sütürler ile adapte edildi (Şekil 3-4,7).



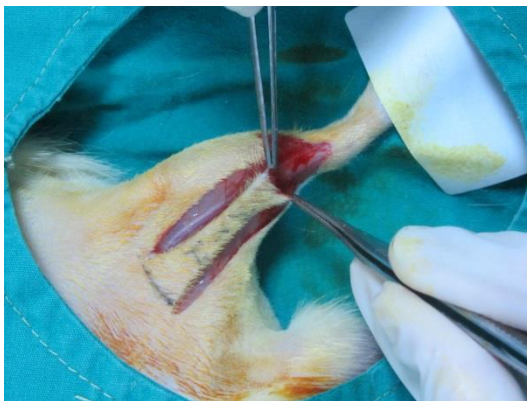
**Şekil 3-3 : Cerrahi planlama**



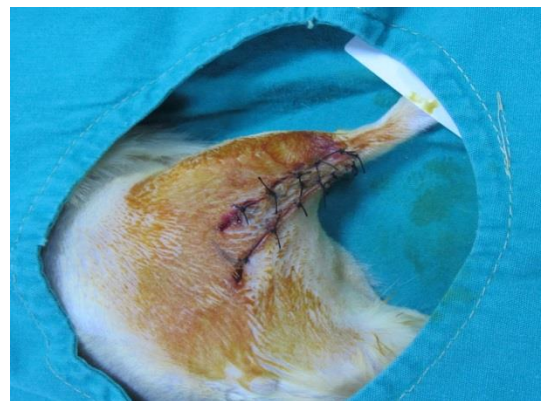
**Şekil 3-4 : Defekt oluşturulması**



**Şekil 3-5 : Cilt flebinin kaldırılması**



**Şekil 3-6 : Flebin ilerletilmesi**



**Şekil 3-7 : Defektin onarımı**

### 3.8 Terminasyon

Cerrahi işlem sonrası 7. günde tüm deneklerin flep bölgelerinin fotoğrafları Canon PowerShot SX230 HS (Canon Inc. Japan) dijital fotoğraf makinesi ile çekildi. Tüm flep dokuları eksize edilerek patolojik inceleme için %10'luk formaldehit içeren kaplara alındı. Terminasyon yüksek doz anestezi altında hayvanlardan yüksek miktarda kan alınarak (eksanguinasyon yöntemi) ile yapıldı.

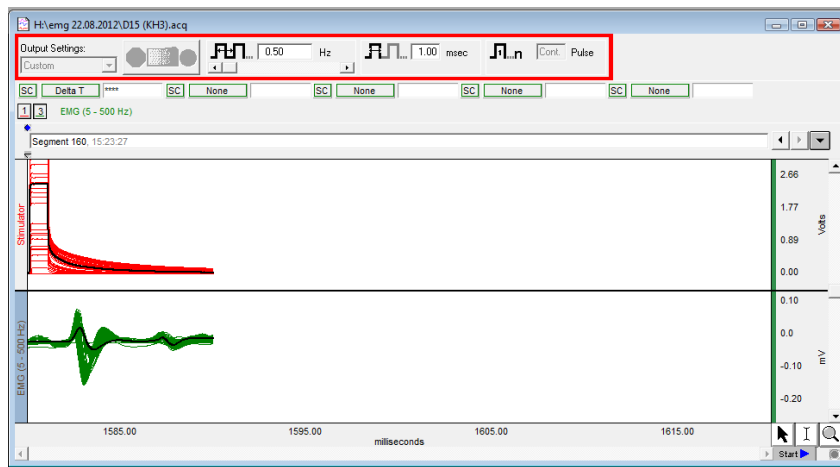
### 3.9 Değerlendirme

#### 3.9.1 Genel değerlendirme

Tüm denekler deney boyunca günlük olarak genel sağlık durumları açısından kilo değişiklikleri, davranış değişiklikleri, apse, dehidratasyon, güçsüzlük, parezi/paralizi gibi parametreler ile gözlemlendi. Haftalık olarak ağırlıkları tartıldı.

#### 3.9.2 Elektromiyografi

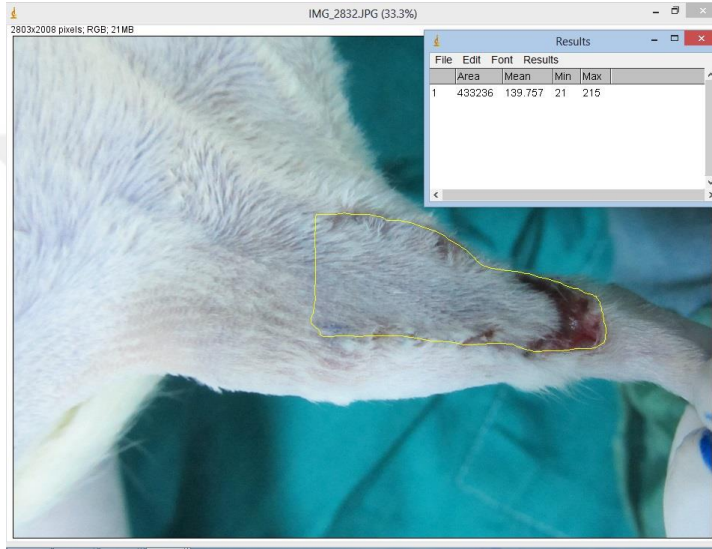
EMG kayıtları ile alınan veriler LabChart version 8 (ADInstruments Pty Ltd. Australia) yardımı ile analiz edildi. Eşik değerler ve supramaksimal uyarı değerleri kaydedildi (Şekil 3-8). EMG dalgalarının gecikme süreleri ve genlik değerleri ölçüldü.



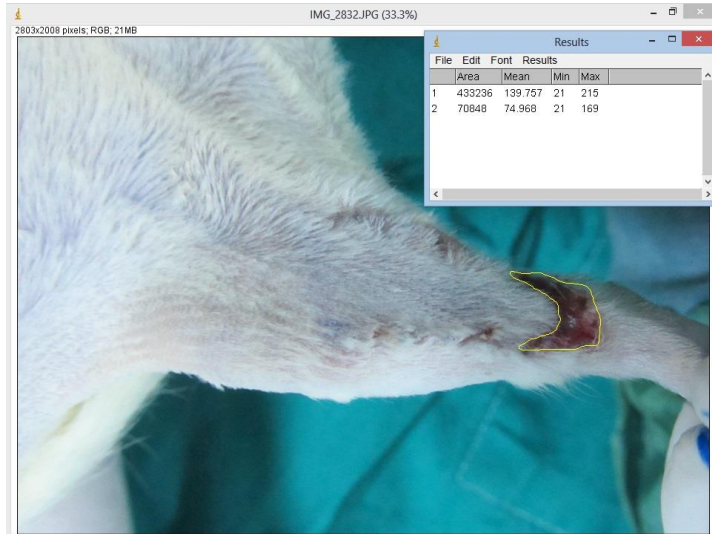
Şekil 3-8 : EMG değerlerinin kaydedilmesi

### 3.9.3 Flep nekroz alanı

Terminasyon sonrası çekilen flep bölgelerini içeren fotoğraflar bilgisayar ortamına aktarılarak ImageJ 1.46r (National Institutes of Health, USA) yardımı ile incelendi. Cerrahi işlemler sonrası oluşan yara kontraksiyonunun ölçümleri etkilememesi ve belli bir standart oluşturabilmek için nekroz alanının toplam flep alanına bölünmesi ile elde edilen yüzde değeri kullanıldı (Şekil 3-9,10).



Şekil 3-9 : Tüm alanın seçilmesi



Şekil 3-10 : Nekroz alanının seçilmesi

### 3.9.4 Histopatoloji

Alınan doku örnekleri mikroskopik inceleme için Hematoksilen Eozin boyası ile boyandı. Boyama sonrası hazırlanan preparatlar ışık mikroskopu ile preparatın hangi deney grubuna ait olduğunu bilmeyen bir patolog tarafından incelendi. Bu incelemede enflamasyonun derecesini gösterecek nötrofil, makrofaj, lenfosit varlığı, vasküler ve fibroblastik proliferasyonun derecesi kaydedildi. Bu veriler birbirleri ile kıyaslanarak 1'den 5'e kadar skorlandı (1: Çok az, 2: Az, 3: Ortalama, 4: Fazla, 5: Çok fazla) (48).

### 3.9.5 İstatistik

Bulguların istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistics v20 (IBM, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Değerlendirmede ortalama ve standart deviasyon gibi tanımlayıcı testlerle birlikte gruplar arası çoklu analizler için Kruskal Wallis testi; gruplar arası ikili analizler için Mann Whitney testi; grup içi değişimler için Wilcoxon testi kullanıldı. Değerler ortalama  $\pm$  standart deviasyon şeklinde gösterildi ve  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Genel Bulgular

Çalışmada kullanılan 30 sıçandan 2. gruba ait olan 2 sıçanın 2. ve 3. haftalarda ölmesi üzerine 2 adet yeni sıçan STZ enjeksiyonu yapılarak diyabetik hale getirildi. Deneyde toplam 32 sıçan kullanıldı. Deneklerin ağırlık ölçümlerinde %15'ten fazla kilo kaybı tespit edilmesi durumunda deneğin terminasyonu planlanmasına karşın hiçbir denekte %10'dan fazla kilo kaybı tespit edilmedi. Tüm denekler anesteziyi ve cerrahi işlemleri herhangi bir major komplikasyon olmadan iyi bir şekilde tolere etti.

### 4.2 Elektromiyografi Bulguları

Tüm deneklerin EMG kayıtları 1. ve 28. günlerde alındı. Kayıtlardan yapılan analizlerde rasgele seçilen 10 dalganın ortalama gecikme süreleri (Latency) ve genlik değerleri (Amplitude) incelendi. EMG sonuçlarını değerlendirirken insanlarda kullanılan standart değerler kullanılmayacağından; 1. grubunun 1. ve 28. günlerde ve 2. grubun ilaç verilmeden önce yapılan EMG değerleri ile bir standart oluşturuldu. Diyabetik grubun 28. günde yapılan ölçümleri bu standartlara göre değerlendirilerek gecikme sürelerinde 1 standart sapma fazla uzama ve genlik değerlerinde 1 standart sapma fazla azalma olan sıçanlar nöropati olarak kabul edildi. Böylece 2. grup ( n=20); nöropati olmayan diyabetik (2A, n=12) ve nöropati olan diyabetik (2B, n=8) olarak iki gruba ayrıldı. 2B grubu 2,5,6,11,12,16,18. ve 19 numaralı diyabetik sıçanlar tarafından oluşturuldu.

EMG sonuçlarına göre yeniden düzenlenen gruplar;

Kontrol grubu: 1; n = 10

Diyabetik grubu: 2; n = 20

Nöropati olmayan diyabetik grubu: 2A; n = 12

Diyabetik nöropati grubu: 2B; n = 8

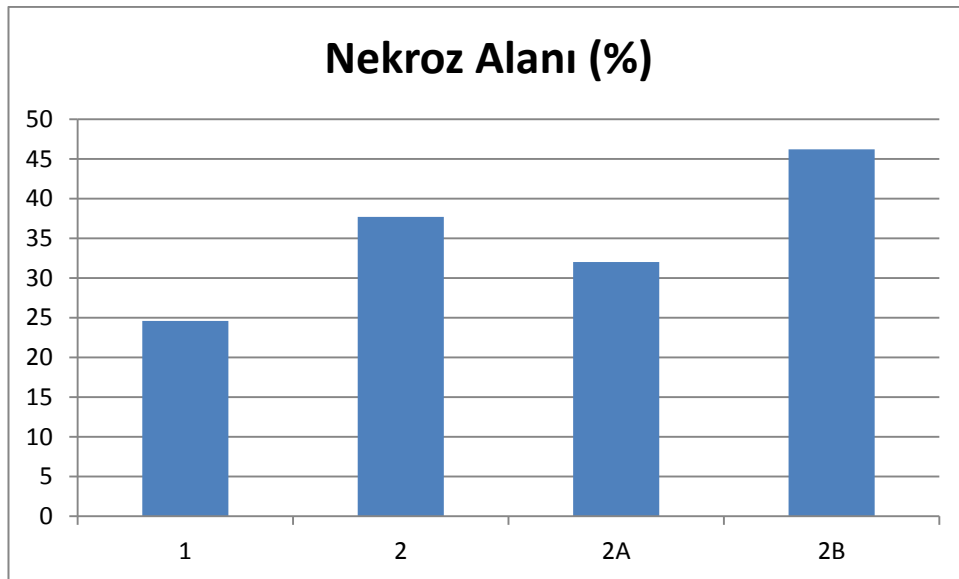


### 4.3 Flep Nekroz Alanı Bulguları

ImageJ programı yardımıyla hesaplanan flep nekroz alanları (FNA) tablo da belirtildi (Tablo 4-1). FNA değeri ortalamaları 1, 2, 2A ve 2B gruplarında sırası ile 24.6, 37.7, 32.0 ve 46.2 olarak hesaplandı (Tablo 4-2). Bu değerlerden 1 – 2B ve 2A – 2B grupları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ).

	FNA (%)		FNA (%)		FNA (%)
Kontrol 1	14	Diyabetik 1	17	Diyabetik 11	38
Kontrol 2	13	Diyabetik 2	43	Diyabetik 12	36
Kontrol 3	16	Diyabetik 3	57	Diyabetik 13	24
Kontrol 4	40	Diyabetik 4	31	Diyabetik 14	27
Kontrol 5	12	Diyabetik 5	58	Diyabetik 15	48
Kontrol 6	53	Diyabetik 6	26	Diyabetik 16	64
Kontrol 7	25	Diyabetik 7	37	Diyabetik 17	35
Kontrol 8	10	Diyabetik 8	33	Diyabetik 18	54
Kontrol 9	45	Diyabetik 9	26	Diyabetik 19	51
Kontrol 10	18	Diyabetik 10	19	Diyabetik 20	30

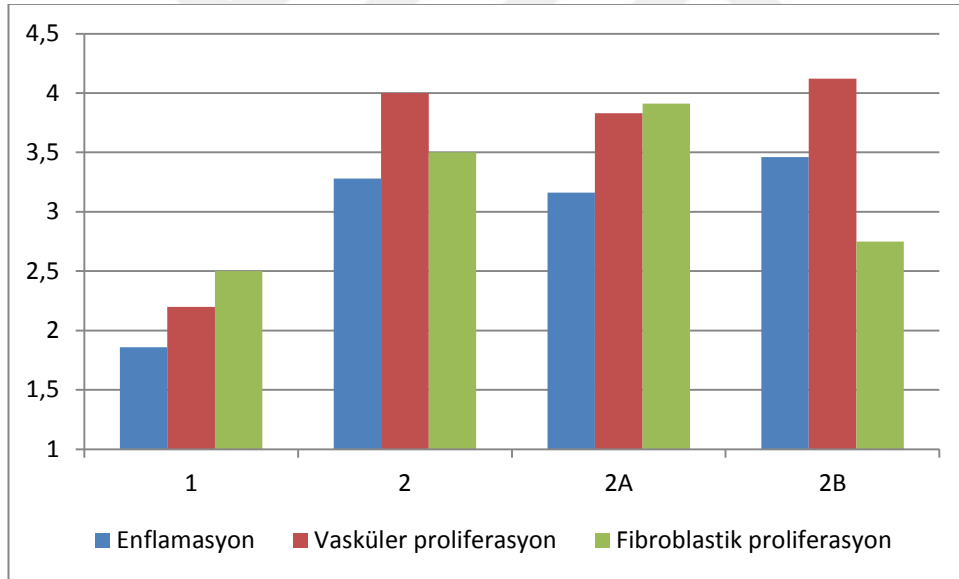
**Tablo 4-1 :** Sıçanlardaki flep nekroz alanları



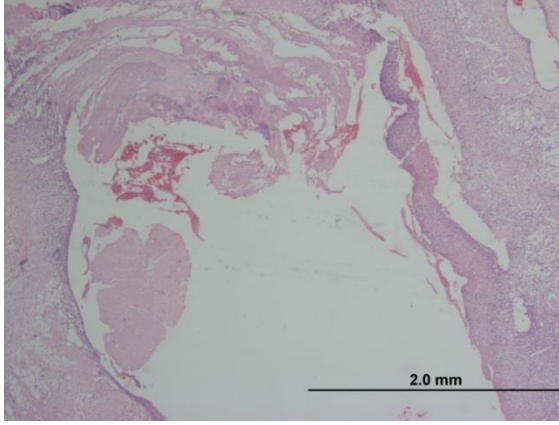
**Tablo 4-2 :** Grupların flep nekroz alanları ortalamaları

#### 4.4 Histopatolojik bulgular

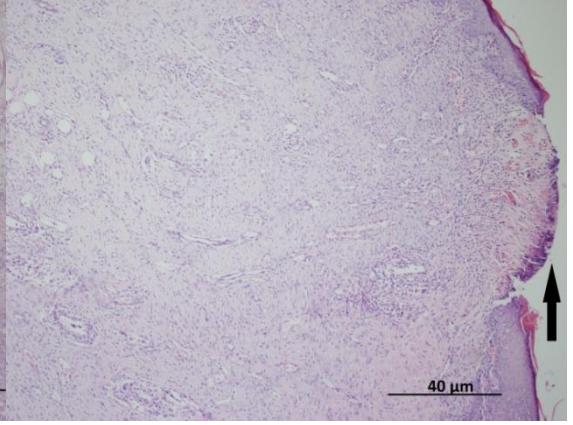
Deneklerden alınan doku örnekleri tek bir patolog tarafından, hangi preparatın hangi gruba ait olduğunu bilmeden incelenerek sonuçları 1 – 5 arası sayısal değerlere dönüştürüldü (Şekil 4-1,6). Gruplar arası farklılıklar karşılaştırıldığında enflamasyon göstergelerinin (lenfosit, monosit, nötrofil) tümünün 1. grupta; 2, 2A ve 2B gruplarına göre daha düşük oranda olduğu görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ). Ancak 2, 2A ve 2B grupları arasındaki farklılıklar anlamlı bulunmadı. Vasküler proliferasyon 2, 2A ve 2B gruplarında 1. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ), ancak 2, 2A ve 2B grupları arasındaki fark anlamlı değildi. Fibroblastik proliferasyonun 2A grubunda diğer tüm gruplara göre artmış olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). 2B grubundaki fibroblastik proliferasyon oranının 1. grup ile benzer olduğu görüldü (Tablo 4-3).



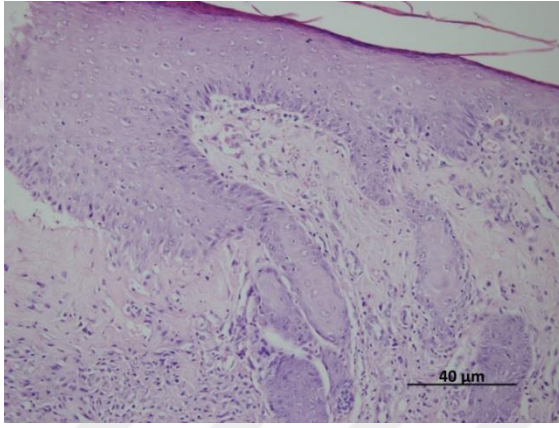
**Tablo 4-3 :** Gruplara göre histopatolojik inceleme sonuçları



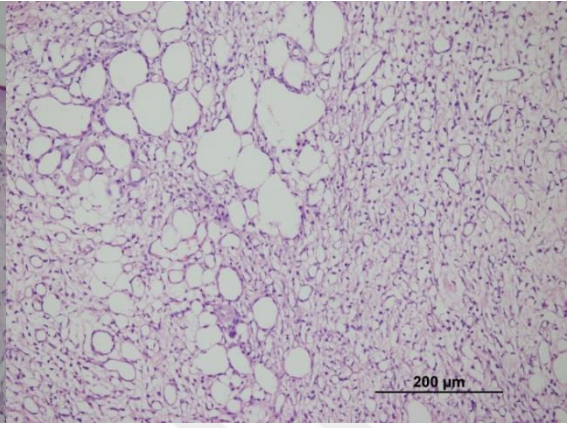
Şekil 4-1 : Ülserasyon ve nekroz



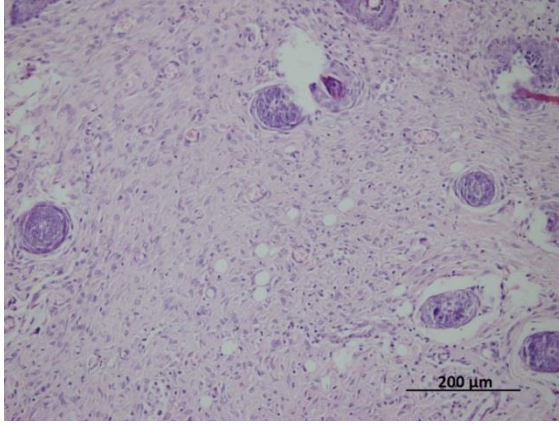
Şekil 4-2 : Ülser



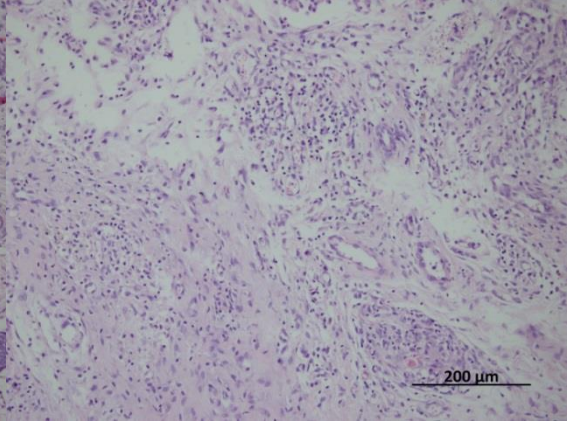
Şekil 4-3 : Epitelyal hiperplazi



Şekil 4-4 : Vasküler proliferasyon



Şekil 4-5 : Fibroblastik proliferasyon



Şekil 4-6 : Enflamasyon artışı

## 5. TARTIŞMA

Diyabetik ayak problemleri diyabetli hastaların yaklaşık %20'sinde görülmektedir. Kronik bir süreç sonucu ortaya çıkan bu komplikasyon hayat kalitesini düşüren, morbidite ve mortalite artışına sebep olan önemli bir halk sağlığı problemidir (4). Diyabetik ayak problemine sahip hastalar bir taraftan ayağa ait çeşitli sorunlar ile mücadele etmek zorunda kalırken, diğer taraftan kısır döngü nedeniyle metabolik sorunlarda artışla yüz yüze kalırlar. Bu yüzden diyabetik ayak problemlerinin gelişmeden önlenmesine öncelik verilmelidir (24). Ancak tüm önlemlere rağmen gerek hastalığın ilerleyici karakterinden gerekse hastanın yeterli özeni göstermemesinden dolayı diyabetik ayak problemleri ortaya çıkmaktadır. Diyabetik ayak sadece ayakta ülser oluşması değil birçok klinik durumu barındıran kompleks bir süreçtir.

Diyabetik ayak problemlerinin gelişmesinde nöral, vasküler ve enfeksiyöz nedenler rol oynamaktadır (49). Yüksek kan glikoz seviyeleri nedeniyle sinirlerde görülen ödem belli anatomik bölgelerde sıkışmaya yol açarak periferik nöropatiye sebep olur. Hastaların yarısından fazlasında görülen makrovasküler komplikasyonlar özellikle popliteal arter trifükasyon bölgesini etkileyerek distalde dolaşım bozukluğuna sebep olur. Ayak bileği ve ayağın daha küçük arterleri ise genellikle korunmuştur. Bu hastalarda immün sistemin baskılanmış olması enfeksiyona yatkınlığa neden olmaktadır. Diyabetik ayak problemlerine yol açan bu üç komponentin en önde geleni ise nöropatidir. Nöropati duysal, motor ve otonom sinirlerin tümünü etkiler. Duyu kaybı sonucu ayağın travmaya yatkınlığı artar. Otonom nöropati ile birlikte derinin mikrosirkülasyonu bozulur, anhidroz oluşur ve iyi bakım uygulanmadığı takdirde artmış travmaların da etkisiyle ciltte fissürler ortaya çıkar. Fissürler patolojik ajanların girişi için uygun bir yol oluşturur. Ayrıca immün cevabın azalmış olmasıyla da enfeksiyonlar daha hızlı yayılır.

Motor nöropati ise kaslarda kontraktüre sebep olur. Travmalar nedeniyle zarar gören eklemler ve kas kontraktürleri ile ayağın normal yapısı bozulur. Hasarlı eklemlerde sinovit ve efüzyon artışı olur, sonuçta eklemlerde instabilite gelişir. Plantar ark düzleşir ve yük taşıyan bölgeler değişir. Bu bölgelerde hiperkeratoz ve heterotopik ossifikasyon görülür. Ayakta enfeksiyon olmaksızın nöropati sonucu gelişen bu durum "Charcot" deformitesi olarak tanımlanır. "Charcot" deformitesi geri dönüşümsüz olarak

kabul edilir ve diyabetik hastaların %2'sinde görülür. En sık tarsometatarsal ve metatarsofalangeal eklemler (%30) etkilenir. Bunları intertarsal eklemler takip eder (%24). En az etkilenen eklemler ise %4 ile interfalangeal eklemlerdir (9). Motor nöropati sonucu oluşan kas atrofileri ve fibrozisi ile metatarsofalangeal eklemlerde ekstansiyon ve interfalangeal eklemlerde fleksiyon gelişir. Metatars başlarına ve falanks distallerine binen yük artar. Duyu kaybının eşlik ettiği olgularda bu bölgelerde ülserler oluşur. Diyabetik ayağa her ne kadar nöral, vasküler ve enfeksiyöz nedenlerle analitik bir yaklaşım yapılırsa da, bu faktörler birbiri içine geçmiş ve birbirini tetikleyen bir süreçle tabloyu oluşturmaktadır.

Diyabetik hastalardaki yaraların normal yaralardan en önemli farkı kontraksiyon göstermemesidir (50). Bunun sebebi olarak glikoz utilizasyonu ile ilişkili olan kollajen üretiminin bozulması gösterilebilir. Nöropati hem derinin mikrosirkülasyonunu hem de yara iyileşmesini etkilemektedir. Derinin vasküler yapısında gazların, besin maddelerinin ve metabolik atıkların değişiminin gerçekleştiği kısım mikrosirkülasyon olarak tanımlanabilir. Mikrovasküler yapı çapı 300µ boyutunda olan arterioller ile başlar, terminal arterioller, pre-kapiller sfinkterler, kapillerler, post-kapiller venüller, toplayıcı venüller ve 300µ boyutundaki musküler venüllerde son bulur (51). Mikrosirkülasyonun kontrolü nöral, hormonal, termal ve lokal faktörler ile sağlanır. Nörojenik ve nörovasküler yapılar tarafından kontrol edilen kapillerler ve termoregülatuar arteriovenöz şantlar nedeniyle iyi çalışan bir mikrovasküler sistem tam fonksiyone nöral sisteme ihtiyaç duyar. Venöz staz ülserleri, diyabetik hastalardaki kronik ülserler ve enflamasyon bozukluklarında ortak sorun bağ dokusu ve hemostazın nöropati nedeniyle regüle edilememesidir (52).

Nöropatinin yara iyileşmesi üzerine etkileri halen araştırılmakta olan konulardandır. Yara iyileşme bozukluklarında azalmış nöral aktivite, endotel disfonksiyonu ve mikrovasküler düzenlemenin bozulması önemli faktörlerdir (53). Vücuttaki tüm bağ dokuları sinir sistemi tarafından innerve edilmektedir ve nöropeptidler dokuların dinamik olarak regülasyonunda rol alırlar. “Substance P” (SP), “Calcitonin Gene-Related Peptide” (CGRP) gibi nöropeptidler ve innervasyon yaralanma sonrası doku hemostazında ve iyileşme sürecinde görevlidirler. Nöropeptidler proinflatuar ajanlardır. SP damar geçirgenliğini arttırarak dokularda lökosit ve sitokin artışına sebep olur (54). Azalmış nöropeptidler protein

ekstravazasyonu ve hücre göçünde düşüş ile yara iyileşmesinde gecikmeye sebep olurlar. Nöropeptidlerin diğer bir görevi fibroblast ve endotelial hücre proliferasyonunu stimule etmektir (55). İyileşmenin remodeling fazında ise anti-enflamatuar özellikleri olan “vasoactive intestinal peptide” (VIP), “neuropeptide Y” (NPY) ve galanin ön plana çıkarak SP'nin etkilerini azaltır. Diyabetik nöropatili hastalarda SP'nin oluşumunda görevli olan “nerve growth factor” (NGF) seviyeleri düşer (56, 57). Denerve dokularda iyileşmenin tüm fazlarında aksama görülür; bu mekanizma vaskülopati ve diyabetten bağımsızdır (58). Görülen yara iyileşme sorunları sadece denervasyonun vasküler sonuçları nedeniyle olmamaktadır. Denerve olan sıçan deri flepleri ciddi oranda artmış yara iyileşme bozuklukları gösterir (59). Kapsaisin ile gerçekleştirilen deneyler ile sadece duyuşal inervasyonun bozulmasının gecikmiş reepitelizasyona sebep olduğu gösterilmiştir (60).

Yara iyileşmesinde önemli yeri olan kıl folikülleri, ter bezleri gibi deri eklerinin duyuşal ve otonom sinirler ile innerve edildiği ve nöropati durumunda bu yapıların yara iyileşme sürecindeki rollerinde aksama olacağı unutulmamalıdır (61).

Nöropati ile ilişkili ülserler genellikle plantar yüzde, yük taşıyan bölgelerde ve en sık 1. metatars başı seviyesinde bulunur. Nöropatik ayaklarda %7 olan ülser sıklığı olaya diyabetin eklenmesi ile %51'e çıkar (62). Ülser zemini, kanlanması iyi olan bir yara gibidir. Bu durum otonom nöropati sonucu kapiller düzeyde mikrosirkülasyonun dengesinin bozulması ve kanın arteriyollerden direkt olarak venüllere kaçması ile açıklanabilir. Bu arteriovenöz şantlar klinikte sıçrayıcı tarzda nabız, dolgun venler ve ayakta sıcaklık artışı ile kendini gösterir. Bu durum ayağın iyi kanlandığıyla ilgili yanlış bir kanıya sebep olabilir (17). Genellikle enfeksiyon bulgularının görülmediği bu ülserlerde yaranın ve ayağın durumu iyi olarak görünse de iyileşme çok yavaştır.

Nöropatinin yara iyileşmesinde neden olduğu önemli bozukluklar nedeniyle, nöropatik ülserlerin oluşmadan önlenmesi morbiditeyi ve mortaliteyi azaltmak için önemlidir. Hastaların eğitimi, sıkı glisemik kontrol ve tuzak nöropatilerin cerrahi olarak serbestleştirilmesi ülserlerin gelişmeden önlenmesinde rol oynarlar. Ancak nöropati ilerledikten sonra yapılacak fazla bir şey yoktur. Sadece konservatif olarak nöropatik ağrıya yönelik medikal tedavi uygulanabilir (63). Diyabetik nöropatinin fizyopatolojisinde en önemli nedenin periferik sinirlerin tuzak bölgelerinde sıkışması ve yüksek glikoz seviyesinin sinirler üzerindeki etkisi gerçeğinden hareketle, sinirlerin

tuzak bölgelerinde serbestleştirilmesi ile erken dönemde süreç geri döndürülebilir. Dekompresyonun amacı duyu restorasyonunun sağlanması, ağrının giderilmesi, ülser ve amputasyonun önlenmesidir. Sinir serbestleştirme işlemleri sonunda %88 olguda ağrının giderildiği, %71’inde duyunun geri geldiği bildirilmiştir (64). Sinir serbestleştirme cerrahisinin ayak perfüzyonunu arttırdığı, ağrıyı azalttığı, hasta motivasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Diyabetik nöropatide serbestleştirmeye en uygun adaylar Wagner evre 0 ve 1 olan ve belirgin iskemisi olmayan hastalardır.

Tüm önlemlere rağmen ülser geliştiğinde hasta bir bütün olarak değerlendirilmeli ve gerekli müdahaleler yapılmalıdır. Yaranın oluşum zamanı, derinliği, lokalizasyonu ve osteomyelit varlığı sorgulanmalıdır. Diyabetin, malnütrisyonun ve diğer sistemik hastalıkların kontrolü sağlanmalıdır. Hastanın tam bir nörolojik muayenesi yapılmalıdır. Objektif kriterlere dayalı bir nörolojik muayene erken tanı için en önemli noktadır. Ayağın beslenmesi iyi olarak görünse de vasküler durumun değerlendirilmesi gerekir. Nöropatik yaraların tedavisi diğer yaralardan farklılıklar göstermektedir. Nöropatik ayak ülserlerin tedavisinde basıncın ortadan kaldırılması önem taşımaktadır. Bu amaçla basıncı azaltan ayakkabılar kullanılabilir. Kısa süreli basınç artışlarının iyileşmeyi geciktirdiği ortaya koyulmuştur (65). “Charcot” deformitesinin başlangıç aşamalarında görülen efüzyon, krepitasyon, eklem instabiliteleri ve ödem erken dönemde splintleme ile düzeltilebilir. Ancak kalıcı deformite oluşuktan sonra tedavi metatars boyun osteotomileri ile basıncın azaltılmasıdır. Negatif basınçlı yara tedavisi yara granülasyonunu, epitelizasyonu hızlandırır, kontraksiyonu artırır, eksudayı, enfeksiyona yatkınlığı ve pansuman sıklığını azaltır. İyileşme bozukluğu olan yaralarda günümüzde kullanımı artmaktadır (66).

Ancak konservatif tedavi ile her zaman yeterli sonuç alınamayabilir ve rekonstrüksiyon gerekebilir. Kliniğimizde diyabetik ayak bakımı pratik uygulamada çok önemli bir yer tutmaktadır. Her türden diyabetik ayak ülserinin konservatif ve cerrahi tedavisi uygulanırken, nöropatik ülserlerin rekonstrüksiyonunda önemli zorluklar yaşadığımızı gözlemledik. Plantar ülser nedeniyle başvuran hastalarda uyguladığımız fleplerde yara iyileşme sorunları ile karşılaştık. Fleplerin aktarılmasından sonraki erken dönemde herhangi bir sorun olmamasına rağmen geç dönemde distal bölümlerde nekroz veya flebin alıcı alana adezyon sorunları olduğunu fark ettik. Böylece plantar ülseri olan

DPN'li hastalarda flep uygulamasının iyi bir seçenek olup olmadığı sorusu kafamızda canlandı. Elbette ki plantar bölgede yük taşıyan alanlarda gelişen ülserlerin rekonstrüksiyonunda flepler tercih edilmelidir. Ancak bu fleplerin aktarılmasından sonra yara iyileşmesi sorunlarının olması; bir taraftan defekt alandaki problemin devamı, diğer taraftan yeni bir yara olarak donör alan sorunlarının ortaya çıkması, belki de daha geç dönemde olacak amputasyonun iatrojenik olarak erkene alınmasına sebep olabilir. Aslında ekstremitayı ampute etmek hastanın erkenden yaradan kurtulmasını sağlar gibi görünse de amputasyon diğer ekstremita için risk oluşturmaktadır. Alt ekstremita major amputasyonu yapılan diyabetik hastaların %50'sinde iki yıl içerisinde diğer alt ekstremitede amputasyon gerekmektedir ve ölüm riski 2,5 kat artmaktadır (6). Her cerrah amputasyon yapabilir. Ancak ekstremitayı kurtarmak zaman, çaba ve sabır gerektirir. Günümüzün modern yaklaşımında ekstremita koruyucu yöntemler tercih edilmekte ve bütün çabalar bu yönde sarf edilmektedir.

Böylece çalışmamızda diyabetik ayak ülserlerinin rekonstrüksiyonunda karşılaşılan flep yaşayabilirliği ve adezyon sorunlarının diyabet ve nöropatiyle olan ilişkisini ortaya koymak, oluşan histopatolojik değişiklikleri incelemek amaçlandı. Bu amaçla STZ ile kimyasal diyabet oluşturulan denekler 4 hafta boyunca takip edildikten sonra EMG ile nöropati varlığı tespit edildi. İnsanlarda kronik bir süreç sonucu gelişen diyabetik ayak ülserlerini sıçanlarda aynı şekilde oluşturma imkânı olmadığından arka ekstremitelerinin en distal bölgesinde 1x1 cm'lik bir defekt oluşturuldu. Akut olarak oluşturulan bu defekt 4 hafta boyunca yüksek kan glikozu seviyesinin etkileriyle birlikte kronik yara iyileşme bozukluğu modeli olarak kabul edildi. Aynı ekstremiteden 1:3 en-boy oranında planlanan random paternli cilt flebinin ilerletilmesi ile defekt onarıldı. Tüm gruplardaki fleplerde kısmi nekroz görülmesi karşılaştırma yapmaya olanak sağladı. Flep cerrahisinden 1 hafta sonra histopatolojik inceleme için fleplerden doku örnekleri alındı.

Diyabetik insanlarda yıllar boyunca yüksek kan glikozunun etkisi ve 2 ayak üzerindeki yaşam sonucu oluşan ayak problemlerini nispeten kısa deney süresinde ve 4 ayak üzerinde yaşayan sıçanlarda oluşturmak mümkün değildi (32). Oluşturduğumuz yara modeli ekstremitenin yük taşıyan bölgesinde olmadığından travmaya daha az oranda maruz kalmaktaydı. Bu nedenle insanda diyabetik ayak problemleri



oluşmasındaki etmenlerden nöropati, travma ve dolaşım bozukluğu üçlüsünden biri eksik kalmaktadır (67).

Deneysel nöropatinin tespitinde EMG ile davranışsal testler kombine edilmelidir (68). Davranışsal testler içerisinde en standartlaşmış olan yürüme testidir (21, 69, 70). Ancak arka ekstremitede yarası olan sıçanlar sakınma davranışı göstereceğinden yürüme ve sıcak plaka testlerinin kullanımı uygun değildi. Kuyruk immersiyon testi ise uygulama anındaki ortam değişkenleri ile ciddi farklılıklar gösterdiğinden güvenli bir test olarak kabul edilmedi. İnsanlarda nöropatinin tespitinde muayene bulguları ön planda iken EMG destekleyici test olarak kullanılmaktadır. Monofilaman testi, patella ve aşil tendon reflekslerinin kontrolü, titreşim ve ağrı duyusunun muayenesi ile insanlarda nöropati tanısı konulabilir (18). EMG nöropati için sensitif bir test olsa da diyabetik periferik nöropatiyi diğer nöropatilerden ayırmada başarısızdır. Nöropatinin EMG bulguları insanlar için standardize edilmişken sıçanlarda böyle bir standardizasyon bulunmamaktadır. Bu sorunu gidermek için çalışmada tüm ölçümler aynı cihaz ile aynı kişi tarafından yapıldı. Kontrol grubundan alınan iki ölçüm ve diyabet grubundan STZ enjeksiyonu öncesi yapılan ölçüm ile normal değerler elde edildi. Normal değerlerden hesaplanan ortalama ve standart sapmalara göre diyabet grubu değerlendirilerek nöropati tespiti göreceli olarak yapıldı. Her deneğin kendi değerlerindeki değişme ve normal değerlerle ilişkileri birlikte incelenerek güvenilirlik artırıldı.

Grupların nekroz alanı oranları karşılaştırıldığında nöropatinin eşlik ettiği 2B grubunda diğer gruplara göre artmış nekroz görülmektedir ( $p<0.05$ ). Nöropati gelişmeyen diyabetik gruptaki (2A) nekroz oranı kontrol grubuna göre artmış olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Bu sonuçlara göre nöropati gelişmesinin flep yaşayabilirliği üzerine diyabetten daha etkili olduğu söylenebilir.

Yapılan histopatolojik incelemede enflamasyon belirteçlerinin 2A ve 2B gruplarında kontrol gruplarına göre artmış olduğu, ancak 2A ve 2B gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Diyabet varlığının enflamasyon artışından asıl sorumlu faktör olduğu, nöropatinin farklılık yaratmadığı tespit edildi. Ancak biyopsilerin sadece 7. günde; yara iyileşmesinin enflamasyon fazının bitişinden sonraki bir günde alınması fazlar süresince olan değişimler hakkında yeterli bilgi edinilmesine engel olmaktadır.

Vasküler proliferasyon incelendiğinde 2A ve 2B gruplarında kontrol gruplarına göre artmış olduğu ancak 2A ve 2B gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Nöropati gelişen grupta yeni damar oluşumu açısından fark olmaması ancak flep nekroz alanları arasında fark olması oluşan damarlar üzerindeki nöral düzenleyici etkilerin bozulması ile nekroz alanında kayıplara sebep olduğu şeklinde yorumlanmalıdır. Gerek nöropati olsun gerek nöropati olmasın tüm diyabetik sıçanlarda enflamatuvar cevap daha fazladır bu da anjiogenezi arttıran bir faktör olarak rol oynar. Dolayısıyla grup 2’de vasküler proliferasyon daha fazla görülmektedir. Grup 2B’de vasküler proliferasyon artmış olmasına rağmen nekroz oranının grup 2A’ya göre anlamlı derecede yüksek olması nöropatinin mikrosirkülasyonu bozduğunun bir göstergesidir. Bir açıdan inefektif vasküler proliferasyon olarak yorumlanabilir.

Fibroblastik proliferasyon oranları karşılaştırıldığında nöropati gelişen grubun kontrol grubuna yakın sonuçlar verdiği ancak nöropati gelişmeyen grubun yüksek oranda fibroblastik proliferasyon gösterdiği görüldü. Nöropatinin fibroblastik proliferasyon gelişiminde azalmaya sebep olduğu görülmektedir ve bu durum nöropeptidlerdeki düşüş ile açıklanabilir.

Nöropatik ülser hastalarında görülen flep adezyon sorunları düşük fibroblastik proliferasyon ile açıklanabilir. Ancak bu durumda flepteki değişiklikler kadar alıcı yataktaki yara değişikliklerinin de etkili olduğu unutulmamalıdır. Çalışmamızda flep alıcı alandan doku örneği alınmamıştır. Alıcı alandan alınan örnek ile flep dokusundan alınan örneğin karşılaştırılması nöropatinin etkileri ve flep fizyolojisindeki değişikliklerin incelenmesine olanak tanıyabilirdi.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda nöropatinin arka ekstremitte flepleri üzerine olan etkileri incelendi. Nöropatinin vasküler proliferasyonu arttırmasına rağmen mikrosirkülasyonda yol açtığı sorunlar nedeniyle flep yaşayabilirliğinde düşüşe neden olduğu düşünülebilir. Her ne kadar klinik pratiğimizde kafamızda canlanan soruyu cevaplandırmak amacıyla oluşturduğumuz hayvan deneyi modeli bazı handikaplar içerse de bize ışık tutacak değerli sonuçlar elde ettiğimiz kanısındayız. Bu sonuçların kılavuzluğunda daha ileri çalışmalara da gerek duyulmaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre nöropati oluşturulmuş diyabetik sıçanlarda flep cerrahisi yaşayabilirlik sorunlarını içermektedir. Enflamasyonda artışla birlikte beklenen fibroblastik proliferasyon artışının olmaması flep adezyon sorunlarının sebebi olarak düşünülebilir. Tüm bu bilgiler ışığında; klinikte vücut yükünü taşıyan plantar bölgedeki nöropatik ülserlerde konservatif yöntemlerle yara kapatılmaya çalışılmalı, mümkünse flep cerrahisi son seçenek olarak düşünülmelidir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* 1996;85:291-297
2. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European journal of epidemiology* 2013;28:169-180
3. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes care* 2002;25:1551-1556
4. TEMD Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Klavuzu. Ankara; 2013
5. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care* 2005;28:956-962
6. Kucan JO, Robson MC. Diabetic foot infections: fate of the contralateral foot. *Plastic and reconstructive surgery* 1986;77:439-441
7. Wagner FW, Jr. The dysvascular foot: a system for diagnosis and treatment. *Foot & ankle* 1981;2:64-122
8. LoGerfo FW, Coffman JD. Current concepts. Vascular and microvascular disease of the foot in diabetes. Implications for foot care. *The New England journal of medicine* 1984;311:1615-1619
9. Mathes SJ, Hentz VR. Foot reconstruction, Plastic surgery. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2006, pp 1443-1450
10. Thorne C, Grabb WC, Smith JW, et al. Grabb and Smith's plastic surgery. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins,; 2007
11. Tesfaye S, Stevens LK, Stephenson JM, et al. Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycaemic control and potential risk factors: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 1996;39:1377-1384
12. Vinik AI. Diagnosis and management of diabetic neuropathy. *Clinics in geriatric medicine* 1999;15:293-320
13. Gorlich D, Mattaj IW. Nucleocytoplasmic transport. *Science* 1996;271:1513-1518
14. Allt G, Lawrenson JG. The blood-nerve barrier: enzymes, transporters and receptors--a comparison with the blood-brain barrier. *Brain research bulletin* 2000;52:1-12
15. Myers RR. Anatomy and microanatomy of peripheral nerve. *Neurosurgery clinics of North America* 1991;2:1-20
16. Tuck RR, Schmelzer JD, Low PA. Endoneurial blood flow and oxygen tension in the sciatic nerves of rats with experimental diabetic neuropathy. *Brain : a journal of neurology* 1984;107 ( Pt 3):935-950
17. Cameron NE, Eaton SE, Cotter MA, et al. Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 2001;44:1973-1988
18. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, et al. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacology & therapeutics* 2008;120:1-34
19. Nakamura J, Kato K, Hamada Y, et al. A protein kinase C-beta-selective inhibitor ameliorates neural dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1999;48:2090-2095

20. Smieja M, Hunt DL, Edelman D, et al. Clinical examination for the detection of protective sensation in the feet of diabetic patients. *Journal of general internal medicine* 1999;14:418-424
21. Daube JR. Electrophysiologic testing in diabetic neuropathy. *Diabetic neuropathy* 1987:162-176
22. Dellon AL, Keller KM. Computer-assisted quantitative sensorimotor testing in patients with carpal and cubital tunnel syndromes. *Annals of plastic surgery* 1997;38:493-502
23. Kahn R. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. Morphological and biochemical measures. *Diabetes care* 1992;15:1084-1086
24. Boulton AJ, Meneses P, Ennis WJ. Diabetic foot ulcers: A framework for prevention and care. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 1999;7:7-16
25. Demirseren ME, Gokrem S, Can Z. Reappraisal of island modifications of lateral calcaneal artery skin flap. *Plastic and reconstructive surgery* 2004;113:1167-1174
26. Yildirim S, Akan M, Akoz T. Soft-tissue reconstruction of the foot with distally based neurocutaneous flaps in diabetic patients. *Annals of plastic surgery* 2002;48:258-264
27. Hong JP. Reconstruction of the diabetic foot using the anterolateral thigh perforator flap. *Plastic and reconstructive surgery* 2006;117:1599-1608
28. SVP F, CCA DV, MM V, et al. Diabetic peripheral neuropathies: a morphometric overview. *Int J Morphol* 2010;28(1):51-64
29. Dunn JS, Duffy E, Gilmour MK, et al. Further observations on the effects of alloxan on the pancreatic islets. *The Journal of physiology* 1944;103:233-243
30. Morrow TJ. Animal models of painful diabetic neuropathy: the STZ rat model. *Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N Crawley [et al]* 2004;Chapter 9:Unit 9 18
31. Fox A, Eastwood C, Gentry C, et al. Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in the rat. *Pain* 1999;81:307-316
32. Davidson JM. Animal models for wound repair. *Archives of dermatological research* 1998;290 Suppl:S1-11
33. Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakil Modelleri. Argos; 2005
34. McFarlane RM, Deyoung G, Henry RA. The Design of a Pedicle Flap in the Rat to Study Necrosis and Its Prevention. *Plastic and reconstructive surgery* 1965;35:177-182
35. RK K, MF A, LE E. Standardizing the dorsal rat flap. *Surg Forum* 1986;37:590
36. Quirinia A, Jensen FT, Viidik A. Ischemia in wound healing. I: Design of a flap model--changes in blood flow. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery / Nordisk plastikkirurgisk forening [and] Nordisk klubb for handkirurgi* 1992;26:21-28
37. Quirinia A, Viidik A. Ischemia in wound healing. II: Design of a flap model--biomechanical properties. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery / Nordisk plastikkirurgisk forening [and] Nordisk klubb for handkirurgi* 1992;26:133-139

38. Akyurek M, Safak T, Sonmez E, et al. A new flap design: neural-island flap. *Plastic and reconstructive surgery* 2004;114:1467-1477
39. Gurunluoglu R, Bayramicli M, Sonmez A, et al. A neurocutaneous island flap model: an experimental study in rats. *Annals of plastic surgery* 2000;44:53-58
40. Shaikh AS, Somani RS. Animal models and biomarkers of neuropathy in diabetic rodents. *Indian journal of pharmacology* 2010;42:129-134
41. AS M, SL B. Neuroprotective Effect of Early Treatment with Pioglitazone and Pyridoxine Hydrochloride in Alloxan Induced Diabetes in Rats. *Pharmacologyonline* 2007;2:418-428
42. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993;53:81-88
43. Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. *International review of neurobiology* 2002;50:205-228
44. Beyreuther B, Callizot N, Stohr T. Antinociceptive efficacy of lacosamide in a rat model for painful diabetic neuropathy. *European journal of pharmacology* 2006;539:64-70
45. Dellon ES, Dellon AL. Functional assessment of neurologic impairment: track analysis in diabetic and compression neuropathies. *Plastic and reconstructive surgery* 1991;88:686-694
46. Levy JH. Biomechanics: Principles, Trends And Applications. New York: Nova Science Publishers; 2010
47. Vinik AI, Mehrabyan A. Diabetic neuropathies. *The Medical clinics of North America* 2004;88:947-999, xi
48. Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, et al. Pentadecapeptide BPC 157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries* 2001;27:817-827
49. M Yenigün, Y Altuntaş. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001
50. Komesu MC, Tanga MB, Buttros KR, et al. Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology / ISP* 2004;11:63-67
51. Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. Churchill Livingstone Edinburgh; 1994
52. Pradhan L, Nabzdyk C, Andersen ND, et al. Inflammation and neuropeptides: the connection in diabetic wound healing. *Expert reviews in molecular medicine* 2009;11:e2
53. Chao CY, Cheing GL. Microvascular dysfunction in diabetic foot disease and ulceration. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2009;25:604-614
54. Aubdool AA, Brain SD. Neurovascular aspects of skin neurogenic inflammation. *The journal of investigative dermatology Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc [and] European Society for Dermatological Research* 2011;15:33-39
55. Nilsson J, von Euler AM, Dalsgaard CJ. Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. *Nature* 1985;315:61-63
56. Anand P, Terenghi G, Warner G, et al. The role of endogenous nerve growth factor in human diabetic neuropathy. *Nature medicine* 1996;2:703-707
57. Faradji V, Sotelo J. Low serum levels of nerve growth factor in diabetic neuropathy. *Acta neurologica Scandinavica* 1990;81:402-406

58. Smith PG, Liu M. Impaired cutaneous wound healing after sensory denervation in developing rats: effects on cell proliferation and apoptosis. *Cell and tissue research* 2002;307:281-291
59. Richards AM, Mitsou J, Floyd DC, et al. Neural innervation and healing. *Lancet* 1997;350:339-340
60. Ackermann PW, Hart DA. Influence of Comorbidities: Neuropathy, Vasculopathy, and Diabetes on Healing Response Quality. *Advances in wound care* 2013;2:410-421
61. Dabby R, Vaknine H, Gilad R, et al. Evaluation of cutaneous autonomic innervation in idiopathic sensory small-fiber neuropathy. *Journal of the peripheral nervous system : JPNS* 2007;12:98-101
62. Donnan J, Ledger S. An update on the treatment and management of diabetic peripheral neuropathy. *CANNT journal = Journal ACITN* 2006;16:32-36; quiz 37-38
63. Tesfaye S, Selvarajah D. Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2012;28 Suppl 1:8-14
64. Dellon AL. Treatment of symptomatic diabetic neuropathy by surgical decompression of multiple peripheral nerves. *Plastic and reconstructive surgery* 1992;89:689-697
65. Shaw JE, Hsi WL, Ulbrecht JS, et al. The mechanism of plantar unloading in total contact casts: implications for design and clinical use. *Foot & ankle international / American Orthopaedic Foot and Ankle Society [and] Swiss Foot and Ankle Society* 1997;18:809-817
66. Desai KK, Hahn E, Pulikkottil B, et al. Negative pressure wound therapy: an algorithm. *Clinics in plastic surgery* 2012;39:311-324
67. Adler AI, Boyko EJ, Ahroni JH, et al. Lower-extremity amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory neuropathy, and foot ulcers. *Diabetes care* 1999;22:1029-1035
68. Biessels G, Bril V, Calcutt N, et al. Phenotyping animal models of diabetic neuropathy: a consensus statement of the diabetic neuropathy study group of the EASD (Neurodiab). *Journal of the Peripheral Nervous System* 2014
69. Donofrio PD, Albers JW. AAEM minimonograph #34: polyneuropathy: classification by nerve conduction studies and electromyography. *Muscle & nerve* 1990;13:889-903
70. Serafin A, Molin J, Marquez M, et al. Diabetic neuropathy: electrophysiological and morphological study of peripheral nerve degeneration and regeneration in transgenic mice that express IFNbeta in beta cells. *Muscle & nerve* 2010;41:630-641

## ÖZGEÇMİŞ

Ersin Akşam 1984 yılında Adana'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2002 yılında girdiği Hacettepe Üniversitesi İngilizce Tıp Fakültesi'nden 2009 yılında mezun oldu. 2009 yılından beri Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniğinde asistan doktor olarak görev yapmaktadır.

