

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

RATLARDA DORSAL ADA FLEBİ YAŞAYABİLİRLİĞİ İLE SCUBE 1 (Signal Peptide-CUB-EGF Domain-Containing Protein 1) DEĞERLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Elvan BAYRAKTAR

TRABZON - 2013

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

RATLARDA DORSAL ADA FLEBİ YAŞAYABİLİRLİĞİ İLE SCUBE 1 (Signal Peptide-CUB-EGF Domain-Containing Protein 1) DEĞERLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Elvan BAYRAKTAR

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Murat LİVAOĞLU

TRABZON - 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Flep Cerrahisinin Tarihsel Gelişimi	3
2.2. Fleplerin Sınıflandırılması.....	4
2.3. Derinin Kanlanması.....	6
2.3.1. Derinin Kanlanmasının Sınıflandırılması.....	7
2.3.1.1. Direkt Kutanöz Damarlar	8
2.3.1.2. İndirekt Kutanöz Damarlar.....	10
2.3.2. Pleksuslar	10
2.3.3. Anjiyozom.....	14
2.4. Kanlanmasına Göre Deri Flepleri	16
2.5. Deri Fleplerinin Kanlanmasında Fizyopatogenez	18
2.6. Perforatör Flepler	20
2.7. Flep Kaybının Nedenleri	23
2.8. Ratlarda Dorsal Derinin Kanlanması	24
2.9. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı	27
2.9.1. İskemi	27
2.9.2. Reperfüzyon	30
2.9.3. İskemi Reperfüzyon Hasar Mekanizmaları.....	31
2.9.3.1. Lökosit - Endotel Etkileşimi (Nötrofillerin Rolü).....	32
2.9.3.2. Serbest Radikaller	34
2.9.3.3. Komplement, Mast Hücre ve immün Kompleksler.....	38
2.9.3.4. Trombosit-Endotel Etkileşimi	39
2.10. SCUBE 1	41
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	44
3.1. Deney Protokolü.....	44

3.2. Laboratuvar İncelemesi: SCUBE 1 Düzeyinin Belirlenmesi	48
3.3. İstatistiksel Verilerin Analizi	49
4. BULGULAR	50
4.1. Biyokimyasal Sonuçlar	50
4.1.1. Serum SCUBE 1 Sonuçları	50
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ.....	62
7. ÖZET	63
8. SUMMARY	64
9. KAYNAKLAR.....	65

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Reaktif Oksijen Ürünleri ve Kimyasal Gösterimleri	34
Tablo 2. SCUBE 1 Standart Grafiği	49
Tablo 3. Tüm Gruplara Ait Serum SCUBE 1 Düzeyleri	51
Tablo 4. Serum SCUBE 1 Ortalama Değerleri	51
Tablo 5. Grupların Kendi İçinde 6. Saat ve 7. Günde Karşılaştırıldığında Elde Edilen P Değerleri.....	51
Tablo 6. SCUBE 1 Bar Grafiği	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Deri Fleplerinin Sınıflaması	5
Şekil 2. Beslenme Tipine Göre Deri Flepleri	6
Şekil 3. Derinin Katları	7
Şekil 4. Muskulokutanöz ve Septokutanöz Arterler	9
Şekil 5. Septokutanöz Arter Örnekleri	9
Şekil 6. Kutanöz Makrosirkülasyon	11
Şekil 7. Derinin Beslenmesi; Mikrosirkülasyon (Arter, Arteriol, Kapiller Sistemi)	12
Şekil 8. Michel Salmon'un Tariflediği Vasküler Deri Bölgeleri	15
Şekil 9. Taylorun Tarif Ettiği Vücuttaki Başlıca Anjiozomlar	15
Şekil 10. Kanlanmasına Göre Deri Flepleri; Random ve Aksiyel Flepler	17
Şekil 11. Dominant Kutanöz Perforatörler	22
Şekil 12. Üç Farklı Perforatör Tipi: 1) İndirekt Kas Perforatörleri, 2) İndirekt Septal Perforatörler, 3) Direkt Perforatörler	22
Şekil 13. Ratlarda Dorsal Derinin Kanlanması	26
Şekil 14. Ratlarda Dorsal Deri Kanlanmasının Anjiogram Görüntülenmesi	26
Şekil 15. Hücre Membranı Normal İyon Dengesi	28
Şekil 16. Reperfüzyon Hasarı	33
Şekil 17. Ksantin Oksidaz Yoluyla Reaktif Oksijen Türlerinin Üretimi	37
Şekil 18. SCUBE 1	43
Şekil 19. Ratlarda DCIA Perforatör Bazlı Dorsal Ada Flebinin Tasarımı	45
Şekil 20. DCIA Perforatörleri Üzerinden Flebin Kaldırılmış Hali, (Kontrol Grubundan Bir Rat).	46
Şekil 21. Kontrol Grubundan Bir Ratta Perforatörlerin Gösterilmesi	46
Şekil 22. Birinci Grupdaki Bir Ratta Sağ DCIA Perforatörünün Bağlanması	47
Şekil 23. Fleblerin Yerine Sütürasyonu	47
Şekil 24. Kontrol Grubundaki İki Rata Ait Fleblerin 7. Gün Görünümleri	48
Şekil 25. İkinci Gruptaki Bir Ratta Sağ ve Sol DCIA Perforatörlerinin Bağlanması	48

KISALTMALAR

SCUBE-1	: Signal peptide –CUB-EGF domain–containing protein
ECM	: Extra Cellular Matrix
EGF	: Epidermal Growth Factor
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
vWF	: von Willebrand Factor
ACS	: Acute Coronary Syndrome
LAT	: Large vessel Atherothrombotic
TRAM	: Transverse Rectus Abdominus Muscle
DIAP	: Deep Inferior Epigastric Perforators
LTA	: Lateral Thoracic Artery
PIA	: Posterior Intercostal Artery
DAG	: Diacylglycerol
PIP₂	: Phosphatidylinositol Biphosphate
IP₃	: Inositol Trisphosphate
PNL	: Polymorphonuclear Leukocyte
I-R	: Ischemia-Reperfusion
ROS	: Reactive Oxygen Scavenger
XO	: Xanthine oxidase
TNFα	: Tumor Necrosis Factor α
ICAM-1	: InterCellular Adhesion Molecule-1
PECAM-1	: Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecule-1
SOD	: Super Oxid Dismutase
NO	: Nitric Oxide
PAF	: Platelet Activating Factor
FFA	: Free Fatty Acid
vWF	: von Willebrand Factor
PTCA	: Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty
ApoJ	: Apolipoprotein J

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Joe McCarthy tarafından “problem çözme uzmanlığı” olarak tanımlanan Plastik Cerrahinin en önemli problemi doku kayıplarının onarılmasıdır (1). Fonksiyonel ve estetik olarak memnun edici sonuçları olan, vasküler bir destekle vücudun bir bölgesinden başka bir bölgesine aktarılabilen doku parçaları olan flepler, doku kayıplarının onarımında sıklıkla kullanılırlar (2).

Bu majör avantajlara rağmen, fleplerde bozulmuş dolaşıma bağlı ayrılma, nekroz ve kayıp meydana gelebilir. Fleplerin yaşayabilirliklerini ve dolayısıyla cerrahi sonucu etkileyen intrinsik ve ekstrinsik faktörler vardır. Flep bileşimi ve oranı, donör alan özellikleri ve çeşitli sistemik hastalılar (Diyabet, periferik damar hastalıkları, sigara kullanımı) bu faktörlerden bir kaçıdır (3). Özellikle izole perforatör damarlardan beslenen perforatör fleplerde; Vazospazm, perforatör sayısının az olması, perforatör çapının ince olması, flep boyutlarının geniş olması, arteryel trombus, venöz konjesyon veya venöz trombus gelişmesi, flep altında veya flep pedikülüne yakın bölgede hematoma ve enfeksiyon gelişmesi (4-6) flepte tehlikeye neden olmaktadır. Flep hazırlandıktan sonra gerek ameliyat sırasında gerekse ameliyat sonrası devrede oluşabilecek komplikasyonların erken devrede tespiti ve flebin nekroz olmadan kurtarılması, flebin bir takım yöntemler kullanılarak kısa aralıklarla yakından takibine bağlıdır.

Flep nekroz olasılığını nekroz başlamadan gösterebilecek bir parametre, erken önlem alınmasını sağlayarak, uzun süre devam eden pansuman takiplerini, hastaneden yatış süresini, mortaliteyi, yatış maliyetini azaltarak vakaları ikinci bir prosedürden kurtarmış olacaktır. Flep monitorizasyonunda birçok klinik parametre mevcuttur ve pratikte de kullanılmaktadır. Flep monitorizasyonu için rengin gözlenmesi, kapiller dolma ve el doppleri ile yapılan klinik testler hala birçokları tarafından altın standarttır (7). Ancak günümüzde bu konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında kullanımları daha kolay olan

kan akımındaki tehlikeyi önceden tespit edebilecek diğer monitor metodları için net endikasyonlar vardır (8).

Tüm bunlara rağmen güvenilir biyokimyasal parametre sayısı ise yok denecek kadar azdır. Literatür incelendiğinde, sadece kan alma yöntemiyle bakılabilecek yeni bir yeni trombosit endotelial adezyon molekülü olarak bulunan SCUBE 1 in iskemi parametresi olabileceği düşünülmektedir.

SCUBE 1 (signal peptide-CUB-EGF domain-containing protein 1) yeni tanımlanmış erken embriyogenez sırasında üretilmeye başlanan ve trombosit ve endotel hücrelerinde bulunan hücre yüzey glikoproteinidir. SCUBE1 hücre yüzeyine yapışan oligomerlerden oluşmaktadır.

Bu protein N-terminal sinyal peptid dizisini takip eden, 9 adet birbiri ardına düzenlenmiş EGF benzeri tekrarlar, bir ara bölge, sisteinden zengin tekrar motifleri ve C terminalinde bir CUB alanından oluşur. Bu moleküller inaktif trombositlerdeki alfa granüller içinde depolanır, trombin tarafından aktivasyondan sonra trombosit yüzeyine transloke olur, küçük çözünür parçalar şeklinde salgılanır ve trombüs içine katılır. İnsanda ilerlemiş aterosklerotik lezyonların subendotelial matrixinde immunohistokimyasal olarak SCUBE1 birikimi saptanmıştır.

SCUBE1 proteininin olabilecek nekrozun erken tanısı ve prognozu açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir. Trombosit aktivasyonu ve agregasyonu akut koroner sendrom ve akut iskemik inmedeki iskemik komplikasyonlardan, periferik damar oklüzyonuna bağlı iskemi ve iskelet kası iskemisinden sorumludur. Literatürde SCUBE 1 ile çok çalışma yapılmadığı ve Dao-Fu Dai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SCUBE 1 proteininin iskemik semptomların başlangıcından 6 saat sonra tespit edildiği bu yüzden sensitif olmadığı fakat akut trombotik hastalıklarda iyi bir marker olabileceği belirtilmiştir (9). Ancak SCUBE 1 in flep yaşayabilirliği ile ilişkisini gösteren çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, iskemi göstergesi olarak daha önce belirlenen SCUBE 1 in perforatör flepler için biyokimyasal bir iskemi markırı olup olmadığının tespit edilmesidir. Bu amaçla ratlarda üç ayrı dorsal ada flep modeli oluşturuldu. Belirli zamanlarda alınan periferik kanda, SCUBE 1 değerlerine bakıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilerek flep yaşayabilirliği üzerine etki edip etmedikleri tartışıldı.

2. GENEL BİLGİLER

Flep plastik cerrahide sık kullanılan bir terim olup vasküler desteği ile birlikte vücudun bir yerinden başka yerine getirilen dokuyu tanımlar. Kökeni 16.yy da Hollanda dilinde kullanılan, “geniş ve gevşek asılıp tek tarafından tutturulmuş” anlamına gelen “flappe” kelimesinden gelmektedir (10).

Flep cerrahisinde amaç kompleks doku defektlerinin fonksiyonel ve estetik yönden en iyi şekilde benzer dokularla kapatılması ve minimal donör alan deformitesi bırakmasıdır (11). Flepler, cerrahi onarım yapılacak defektin özelliklerine göre planlanır, vasküler beslenmesi korunarak deri, kas, kemik, yağ ya da fasya dokularından bir veya birkaçını içerebilirler (12).

2.1. Flep Cerrahisinin Tarihsel Gelişimi

Bilinen ilk flep cerrahisi Hindistan’ da M.Ö.600’de Samhita Susruta’nın yanak flebi kullanarak nazal rekonstrüksiyonu uygulamasıdır (13-15).

Flep cerrahisinde önceleri dokunun, komşuluğundaki defektif bölgeye taşınmasını sağlayan lokal transpozisyon, rotasyon, ilerletme flepleri kullanılmıştır (14).

İtalyan Cerrah Gaspare Tagliacozzi (M.S.1545-1599) tarafından, burun rekonstrüksiyonu için ön kol derisini kullanmasıyla uzak flepler uygulanmaya başlamıştır (14,15).

19. yüzyılda Von Graefe ve Dieffenbach, alın flebi kullanarak gerçekleştirdikleri burun rekonstrüksiyonlarını yayınlamışlardır (18,19).

Bakamjian’ın 1965’de deltopektoral flebi ve McGregor–Jackson’un 1972’de kasık flebini tarif etmeleriyle aksiyel flepler uygulanmaya başlamıştır. Aksiyel flepler, flebi besleyen özel arter ve veni bulunan, yaşayabilirliği güvenilir olan fleplerdir (13-15).

Aksiyel fleplerin 1960-1970'li yıllarda birbiri ardına tanımlanmasıyla birlikte, kas ve kas-deri flepleri de kullanılmaya başlanmıştır (13). 1970'li yıllarda Milton ve Daniel tarafından derinin dolaşımı incelenmiş, fleplerde kan desteğinin önemi ortaya konulmuştur (14).

1973'de Daniel, Taylor, O'Brien, Harii tarafından insanda ilk kez fleplerin besleyici vasküler veya nörovasküler pedikülü ile birlikte verici alandan alınıp, uzaktaki alıcı alan nörovasküler sistemine mikrocerrahi teknikle taşınması tanımlanmıştır, böylece serbest fleplerin (mikrovasküler free flep transferi) dönemi başlamıştır (13,14).

1980'li yıllarda fasyokutanöz, osseöz, osteokutanöz flepler birbiri ardına tanımlanmış ve yaygın uygulanma olanağı bulmuştur. 1906'da Tansini tarafından tanımlanan latissimus dorsi kas flebi 1980'li yıllarda oldukça popüler olmuştur (13).

1981'de Ponten, fasyo-kutan flepleri tarif etmiştir. Fasyokutan fleplerin tarifinden sonra aksiyel fleplerin kullanımı daha da artmıştır (13,14).

1987'de Taylor tarafından deri fleplerinin dolaşımının anlaşılması için anjiyozom kavramı ortaya atılmıştır. Kas-deri flepleri incelendiğinde deri flebinin beslenmesi için kasın kendisinin gerekli olmadığı, kastan deri ve deri altı dokuya giden perforatör damarlar korunduğu sürece flebin iyi şekilde beslendiği gözlenmiştir. Sonuçta sadece deri ve deri altı dokusunu besleyen damarsal pedikülün genelde kas içinden ana kaynak damara doğru korunarak dikkatli bir diseksiyonla takip edilmesiyle elde edilen perforatör flepler doğmuştur. Perforatör flep terimini ilk defa, 1989 yılında Koshima ve Soeda kullanmışlardır (16).

2.2. Fleplerin Sınıflandırılması

Flepler için 1990'da Daniel ve Kerrigan tarafından bugünde hala geçerliliğini koruyan; vasküler flep mobilizasyonuna, kanlanmasına ve içerdiği dokulara göre üç grupta toplanan sınıflandırma yapmışlardır (Şekil 1-2) (17). Ancak perforatör fleplerdeki gelişmelerle birlikte sınıflamaya perforatör flepler de dahil edilmiştir (14). Perforatör flepler, flebi besleyen kaynak artere göre isimlendirilir. Genelde fasyokutan flepler olmalarına rağmen kas, kemik ve sinir yapıları flebe dahil edilebilir (11).

Deri fleplerinin sınıflaması

Flep transfer tekniğine göre flepler :

- Lokal flepler
 - İletme flepleri
 - Rotasyon ve transpozisyon flepleri
 - İnterpolasyon flepleri
 - Pediküllü flepler
 - Subkutanöz flepler
- Uzak flepler
 - Direkt flepler (ör: Kasık flebi)
 - Tüp flepler
 - Mikrovasküler flepler (ör: Serbest flepler)

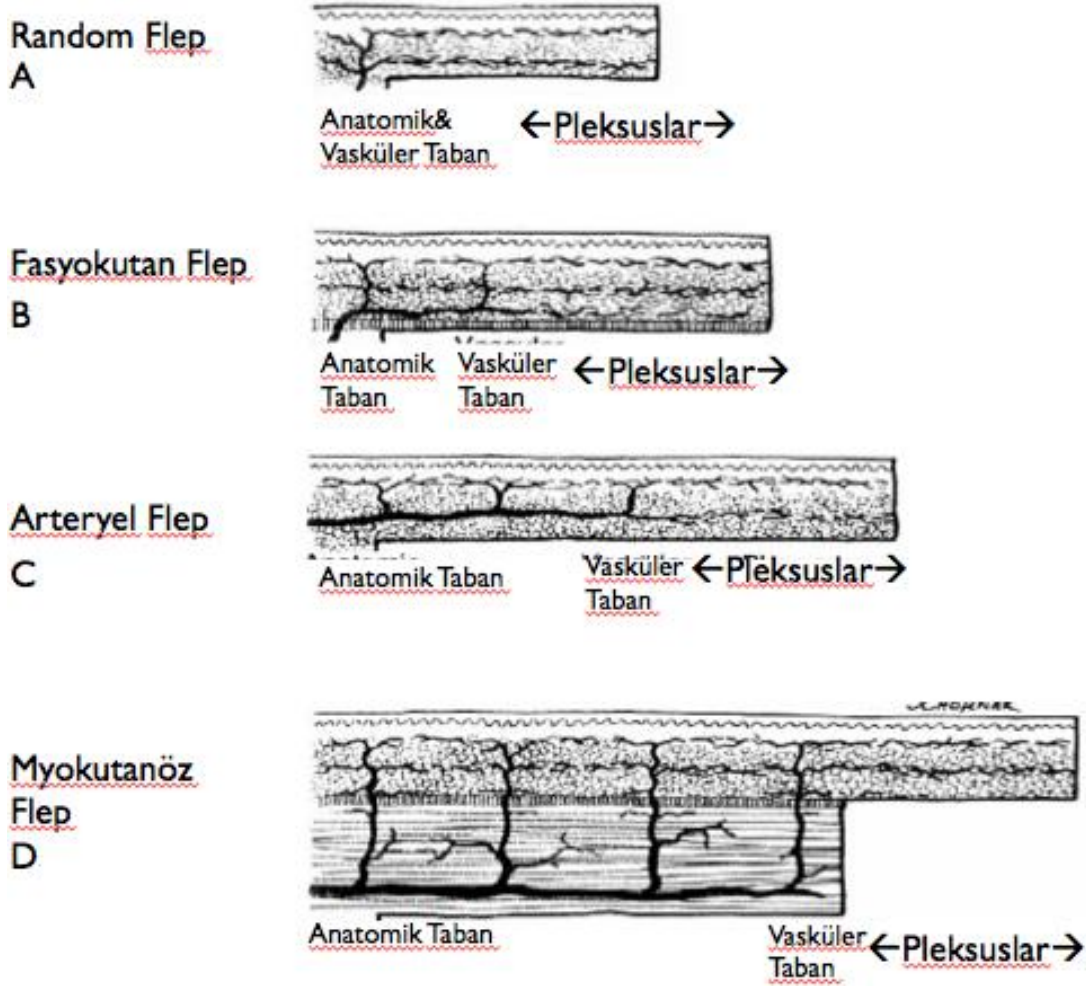
Beslenme tipine göre flepler :

- Muskulokutanöz arterden beslenen flepler
 - Random kutanöz flepler
 - Myokutanöz flepler
- Septokutanöz flepler
 - Fasyokutanöz flepler
 - Aksiyel arteryel flepler

Flepte bir araya gelen dokulara göre flepler :

- Kutanöz flepler
- Fasyokutanöz flepler
- Myokutanöz flepler
- Kas flebi ±deri greftleri
- Osteokutanöz flepler
- Sensoriyel flepler

Şekil 1. Deri Fleplerinin Sınıflaması, (11).



Şekil 2. Beslenme Tipine Göre Deri Flepleri, (11).

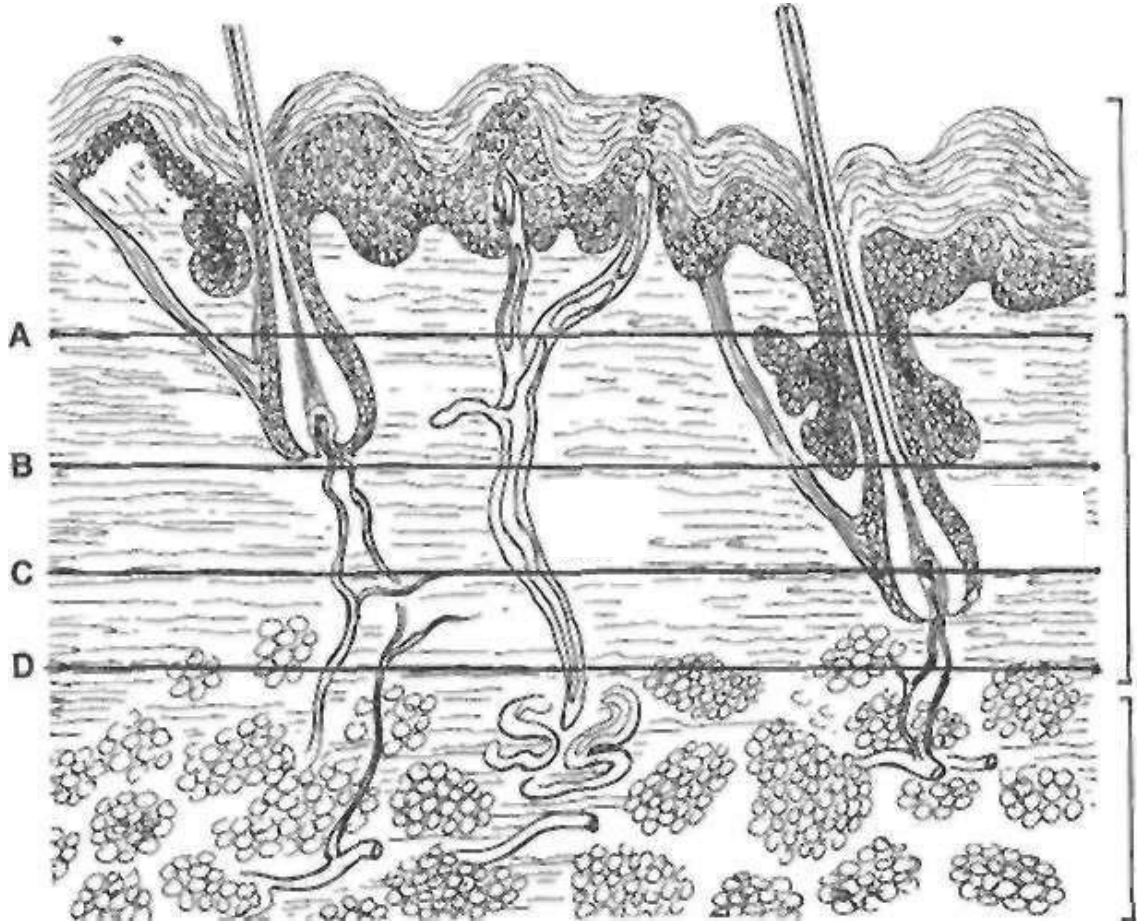
2.3. Derinin Kanlanması

1889'da Manchot (18) 1893'de Spalteholz (19) ve Salmon (1936) (20) gibi anatomistler deriyi kanlandıran damarlarla ilgili çalışmalar yapmışlar, ancak bu konu üzerinde yeterince durulmamış. Dünya cerrahları fleplerde en-boy oranına dikkati çekerek o bölgedeki mevcut herhangi bir damar üzerinden (random flepler) deri fleplerini random olarak planlamışlardır.

Yeni flep olarak bir çok farklı isimde tarif edilen fleplerinde temelde aynı flepler olduğu görülmüştür. Converse sınıflandırma için en doğru yaklaşımın "flebin vasküler temeli" olduğunu bildirmiştir (21).

Deri vücudun en büyük organıdır, yokluğu yaşamla bağdaşmaz. Ana görevlerinden biri homeostazisi sağlamaktır. Dermal ve subdermal pleksusdaki zengin kutanöz arter ve

ven ağı ve deri bileşenlerinin metabolik ihtiyaçlarının az olması nedeniyle derinin yaşayabilirliği mevcut dolaşımın küçük bir kısmıyla sağlanır, buda deri fleplerindeki çeşitliği ve yaşayabilirliği arttırmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Derinin Katları, (21).

2.3.1. Derinin Kanlanmasının Sınıflandırılması

Dokuların kanlanması **segmental, perforatör ve kutanöz** arterlerden sağlanır. Segmental arterler, direkt olarak Aorta'dan köken alırlar ve gövde ile ekstremiteleri kanlandıran büyük ana damarlardır. Segmenter damarlar derin dokulardan yüzeysel dokulara doğru giderken her biri vücudun belirli bölgesinde üç boyutlu doku bloklarını besleyen damarlar verirler. Perforatör damarlar ise segmental ile kutanöz damarlar arasındaki bağlantıyı sağlarlar. Bu damarlar kaslar arasındaki fibröz septaları izleyerek bazıları direkt olarak deriye, çoğu ise kas içine giden dallara ayrılırlar (21). Direkt olarak

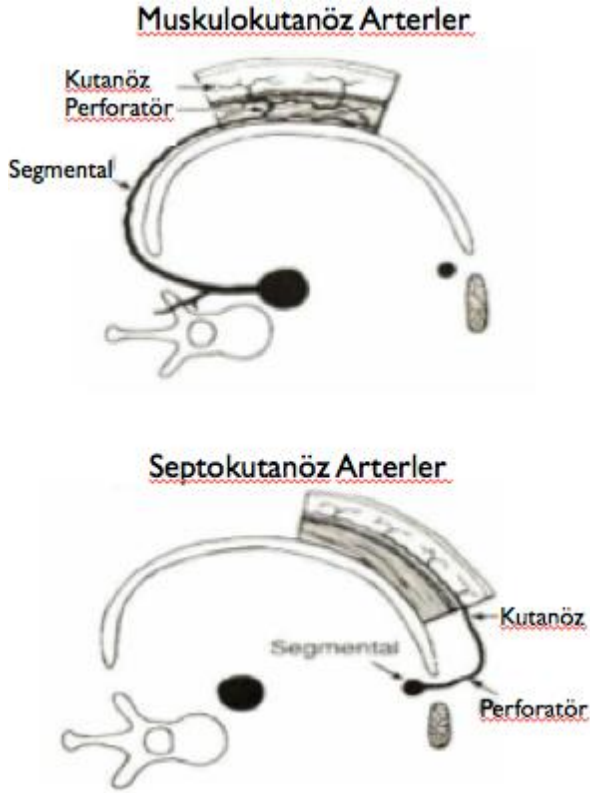
deriye giden damarlara septokutan damarlar, kaslar içinden geçerek deriye ulaşan damarlara muskulokutan damarlar denir. Deri altında bir aks boyunca uzayıp sonra deriye giren damarlara direk kutanöz damarlar denir (Şekil 4-5) (21).

1983 yılında Spalteholz kutanöz damarları besledikleri alanlardaki rollerine göre ana (dominant) ve minör (bütünleyici) olarak iki gruba ayırmıştır (19). Zamanla bu sınıflama “perforatör flepler” üzerine ilginin artmasıyla modifiye edilmiştir.

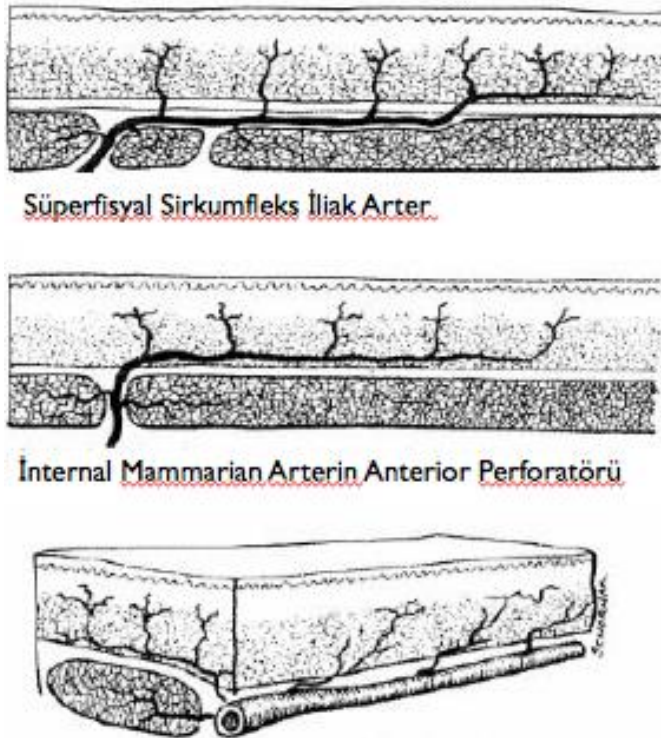
2.3.1.1. Direkt Kutanöz Damarlar

Septokutan ve muskulokutan olarak deriye doğru ilerleyen direkt kutanöz damarlar; faysa, subkutan yağdokusu ve deri içinde sırasıyla, faysal (subfasyal ve prefasyal), subkutanöz, subdermal, dermal, subepidermal pleksusu oluştururlar ve deriyi beslerler (Şekil 6) (14,21). Bu damarların besledikleri alanın beslenmesine primer (dominant) katkıları vardır. İnsanda derinin kanlanması muskulokutanöz ve septakutanöz arterler aracılığı ile olur (Şekil 4-5). Fasyokutan flep, septokutan bir damar üzerinden güvenle hazırlanabilir. Deriye paralel olarak seyreden septokutan arterler çok sayıda yan dallar vererek geniş boyutlu arteryel fleplerin hazırlanmasına olanak verirler (22).

Muskulokutan arterler kası besledikten sonra üzerinde yer alan dermal pleksusa doğru ilerleyen ana damarlardır. Random deri flebi, deri ve derialtı dokusu içerir ve pedikülünden giren muskulokutan damarlarla beslenir. Kas-deri flebi ise kas dokusunu besleyen muskuler arterlere ek olarak çok sayıda uç muskulokutan arterden de kanlanan oldukça güvenilir fleplerdir (22).



Şekil 4. Muskulokutanöz ve Septokutanöz Arterler, (17).



Şekil 5. Septokutanöz Arter Örnekleri, (21).

2.3.1.2. İndirekt Kutanöz Damarlar

Kaynak arterlerden köken alan bu damarlar derin fasyanın dış tabakasını delmeden önce vertikal veya oblik olarak genellikle kası ve derin dokuları deler (Şekil 5) (17). Bunlar kasları veya derin dokuları besleyen damarların terminal dalları olarak çok fazla sayıda olan küçük damarlardır. Kasa giren bu damarlar büyük ve küçük olsun direkt kutanöz ağı oluşturan aynı damar ağı ile devam ederler.

Genel olarak baktığımızda; kutanöz arterler kasların arasında veya içinde derin dokuların bağ dokusu çatısını takip eder ve derin fasyanın dış yaprağının altında değişken bir uzaklıkta ilerler (17). Genellikle belirli sabit noktalardan kutanöz perforatörler olarak bu yapıları delerler. Derin fasyayı geçtikten sonra fasya ve alt yüzdeki yağ dokusunu besleyen dallar vererek, değişken bir mesafede derin fasyanın yüzeyinde ilerler. Daha sonra subkutan yağ dokusunun lobülleri arasında kıvrılarak ilerler, sonunda deriyi beslemek için tekrar değişken mesafelerde ilerleyecekleri subdermal pleksusa ulaşırlar. Kutanöz arterler ve venler uzun kanallar veya damar sisteminin oluşturduğu zincir sistemi ile beraber ilerler (Şekil 4) (13).

Kutanöz perforatörlerin çapı ve uzunluğu değişken olmakla birlikte hepsi birbirleriyle bağlanarak, dermis, subdermis, subkutanöz yağ dokusunun altında ve derin fasyanın dış yüzeyinde özellikle iyi gelişmiş horizontal tabaka halinde üç boyutlu “vücut örtüsü” oluşturur.

2.3.2. Pleksuslar

Deriye ait beş farklı vasküler pleksus mevcuttur. Bunlar fasyal pleksus, subkutanöz pleksus, subdermal pleksus, dermal pleksus ve subepidermal pleksustur (Şekil 6-7) (4,21).

Fasyal Pleksus: Subfasyal ve prefasyal olarak ayrılır. Prefasyal pleksus, fasyal pleksus sisteminin dominant pleksusudur. Vücut bölgesine göre bazen muskülokutanöz bazen de septokutanöz arterden dominant olarak dal alırlar.

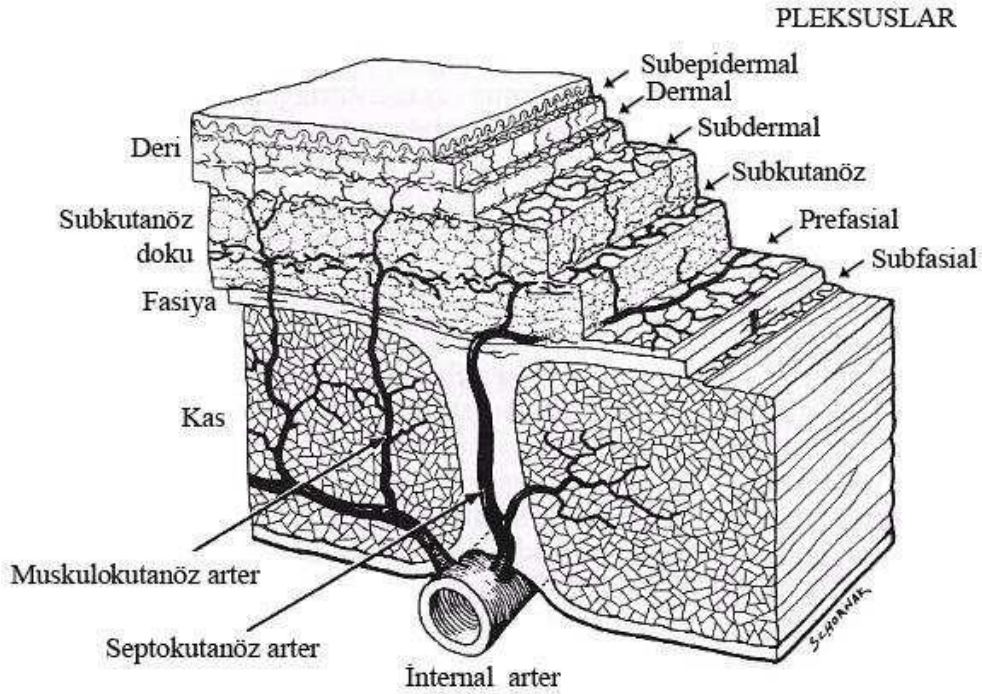
Subkutanöz Pleksus: Her iki arterden de (muskülokutanöz ve septokutanöz) dallar alarak oluşur.

Kutanöz (subdermal) Pleksus: Oblik ve vertikal yönde yoğun damar arklarından oluşur.

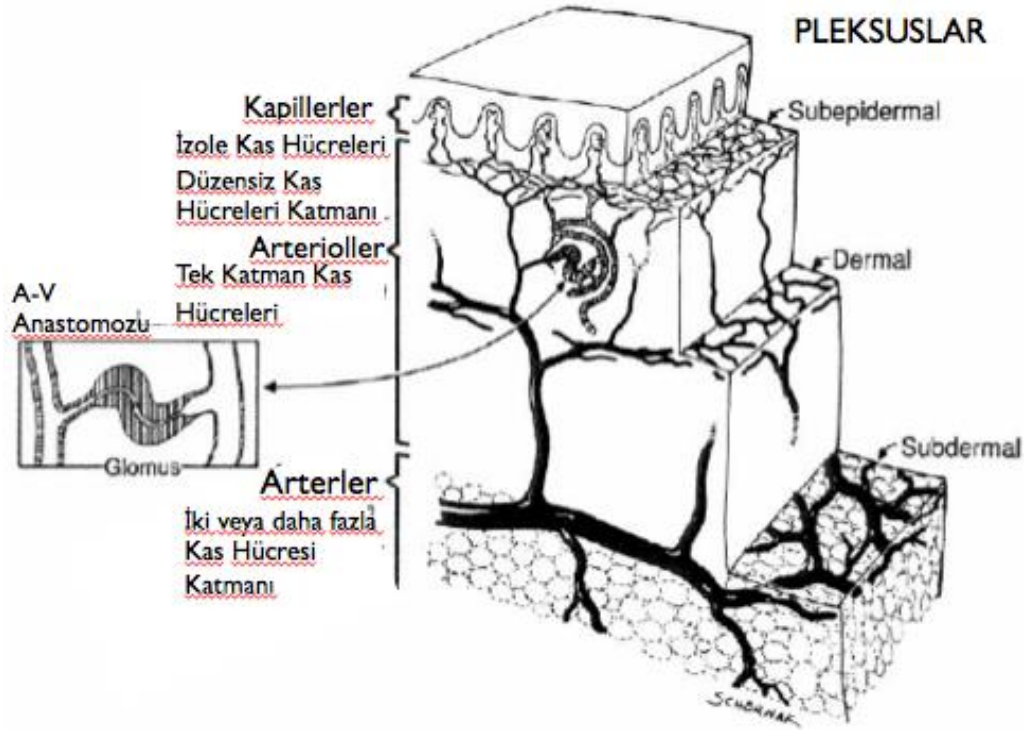
Dermal ve Subepidermal Pleksuslar: Derinin gerçek sirkülasyonunu sağlarlar. Dermiste ve dermal papillarda bulunurlar.

Deride kapillerlerin yoğunluğu 150/mm² dir. Kapillerler subepidermal pleksusta yer alır ve primer besleyici fonksiyona sahiptir. Dolaşımın yaklaşık %70'i deride termoregülasyonun sağlanması için kullanılır. Deriye olan kan dolaşımının sadece %1-20'si beslenme içindir (21).

Derinin mikrodolaşımı, arteriollerle başlar ve terminal arterioller, prekapiller sfinkterler, kapillerler, postkapiller venüller, arteriovenöz anastomozlar, toplayıcı venüllerle sonlanır (12,17).



Şekil 6. Kutanöz Makrosirkülasyon, (21).



Şekil 7. Derinin Beslenmesi; Mikrosirkülasyon (Arter, Arteriol, Kapiller Sistemi), (1).

Birbirlerine komşu kutanöz damarlar arasındaki bağlantı ya çapı değişmeyen gerçek anastomozlarla veya çapı daralmış ‘choke’ anastomotik damarlarla olur. Bu ‘choke’ anastomozlar deri ve deri altı dokuda daha fazladır ve sağlam deriye kan akımının regülasyonunda önemli olabilir. Bu ‘choke’ damarlar flep ucu ve flep tabanı arasındaki flebe kan akımına başlangıçta direnç sağlayarak deri flebi sağ kalımında önemli rol oynar (23). Arterde emboli veya injüriye bağlı akım kesildiğinde kan akımı farklı basınçlardaki kollateral arteriyollere doğru yayılır. Kollaterallerdeki kan akımı arttığında damar duvarındaki kayma basıncıda artar ki buda olasılıkla vasküler endoteli aktive eder (24).

Endotelial hücreler monosit kemoatraktan protein_1 gibi sitokinler salgırlar ve inflamatuvar kaskadı başlatırlar. Dolaşan nötrofil ve makrofajlar damar duvarına göç ederler. Makrofaj akümülyasyonu maximum oklüzyondan 3 gün sonra olur. Kollateral damarlar büyümeye devam ederken damarlar tirbuşon şeklini alır (25). Arteriyel oklüzyondan 2 gün sonra damar duvarındaki hücrelerin yarısında mitoz için markırlar görünür (önceden damar tıkanıklığı olan herhangi bir hücre ile karşılaştırıldığında) (26). Bu Dhar and Taylor’ un choke damarlar ile ilgili yaptığı çalışmaya karşılık gelir. Çalışmalarında BrDU alımı ve boyama ile hücrelerin bölündüğünü tespit ettiler (27).

Arteriyogenezisle karakterize bu durum choke damar büyümesini ifade eder. Genişleyen bu 'choke' damarlar gerçek anastomoz çaplarına ulaşarak distal flebe kan akımını arttırmırlar. Sempatik tonusun gevşemesinden dolayı 'choke' damarlarda biraz genişleme olsada, esas etki ameliyattan sonraki 48-72 saatte görülür. Bu durum, damar duvarı elemanlarının hipertrofi ve hiperplazisi ve lümen çaplarının artmasıyla sonuçlanan aktif bir sürecin sonucudur (27).

Kutanöz venlerde subdermisde belirgin tabakalanma gösteren birbirleriyle bağlantılı kanallardan oluşan üç boyutlu bir ağ oluşturur. Bu venlerin çoğu kanı belirli bir yöne yönlendiren kapakçıkları olmasına rağmen sıklıkla avalvüler venler ile bağlıdırlar. Bu avalvüler venler valfleri ters yöne açılabilen komşu venöz adalar arasında akımın iki yönlü olmasına imkan tanıyarak akım ve basınç dengesini sağlar. Dermal ve subdermal pleksustan gelen venler ya sıklıkla kutanöz sinirlerle ve zincir gibi bağlanmış longitudinal arter sistemi ilişkili geniş çaplı venlerin oluşturduğu "çevre yolu" horizontal sistemindeki venöz drenajı ya da alternatif olarak derin fasyayı delen kutanöz arterlerle beraber aşağı dik olarak inen ortak bir kanaldan çevresel tarzda venöz drenajı toplar. Bu perforan venler direkt ve indirekt kutanöz arterlerle beraber kalarak en sonunda derin dokudaki kaynak arterlerin vena komitantesine drene olur. Böylece deri vücutta bölgeden bölgeye çapı, şekli, yoğunluğu ve yönü değişen damarlardan oluşmuş devamlılık gösteren arter ve ven ağı ile beslenir ve drene olur (27).

Tüm fleplerin özellikle de fasyokutanöz ve septokutanöz fleplerin planlanmasında damarların bağ dokusu çatısını izledikleri gerçekliği esastır. Sıklıkla karışan yüzeysel ve derin fasyanın arasındaki ayırım önemlidir. Yüzeysel fasya dermisi derin fasyanın dış tabakasına bağlayan bal peteği şeklinde gevsek bağ dokusudur. Derin fasya da genellikle yüzeysel fasyaya göre daha az esnek olan bal peteği şeklinde bağ dokusudur. Derin fasya gövdede bir kılıf, ekstremitelerde ise bir çorap gibi kasları sarar. Bazı yerlerde yoğun bazı yerlerde gevsek intermusküler septaları ile periostla devam ettiği yerlerde dış tabakayı iskelete asar. Derin fasya bu septalardan ve periosttan kasların içine intramusküler septa olarak devam eder. Kutanöz peforatörler genellikle kaynak arter veya onun kasa verdiği dallardan birinden kasa girmeden önce veya sonra çıkarlar ve derin fasyanın dış tabakasını delmek için sırasıyla direkt veya indirekt kutanöz damarlar olarak derin fasyanın intermusküler veya intramusküler konnektif dokularını takip ederler (27). Kutanöz damarların bir kısmı sinir, periost ve bazı bezler gibi diğer derin yapılara giden dallardan

köken alırlar. Kutanöz damarlar derin fasyadan çıktıktan hemen sonra dermise ulaşmak için yüzeysel fasyanın bağ dokusu çatısını takip eder. Bazı bölgelerde bağ dokusu içerisinde ilerleyen arterlerin pulsasyonuna ve venlerin genişlemesine imkân tanıyacak şekilde gevşektir. Diğer bölgelerde bağ dokusu derin fasyanın dış tabakası, intermusküler septa ve periost gibi yoğun fibröz kılıflar oluştururlar. Böyle yerlerde damarlar yoğun fasyanın içinde değil yanında veya üzerinde ilerler (27).

Damarlar doku planlarına sabit kenarlardan geçerek, hareketli planlarda da ilerleyerek dağılırlar. Bu düşünce ile damarların derin fasyadan sabit yerlerde çıktığı görülebilir. Uzun ve güvenli flepler derinin sabit olduğu yerlerde aksı, derinin en hareketli olduğu hatta paralel olarak planlanmalıdır. Sabit noktalar arasındaki mesafe arttıkça güvenli flep boyutları da artar (27).

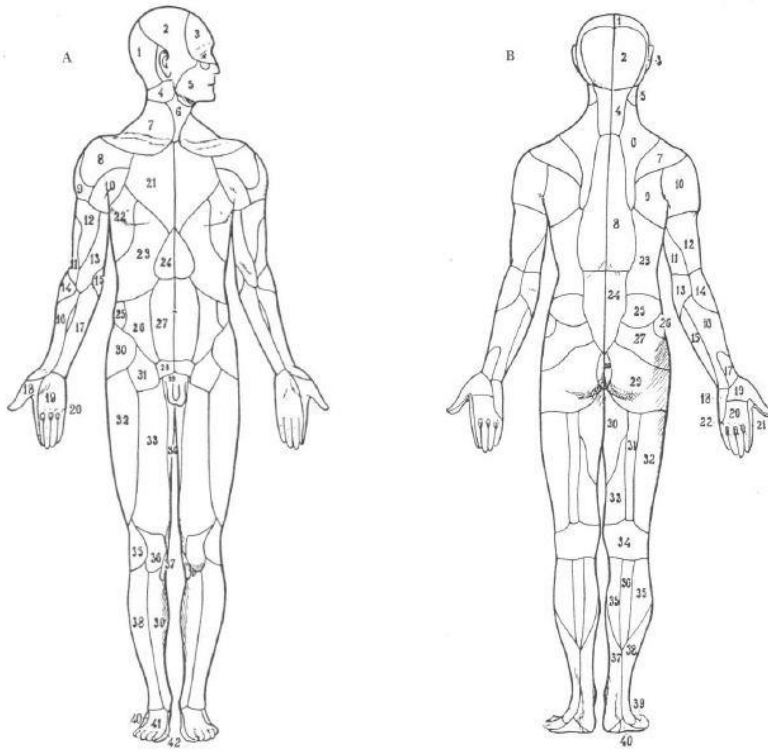
Damarlarda denge kuralı Debreuil-Chambardel tarafından tarif edilmiştir (20). Temel olarak bu kavrama göre “aynı bölgedeki anatomik adaları besleyen komşu arterler birbirleriyle ters bir ilişki içindedirler”. Eğer bir damar küçükse diğeri bunu dengelemek için büyüktür ya da bu durumun tersi geçerlidir (27).

2.3.3. Anjiyozom

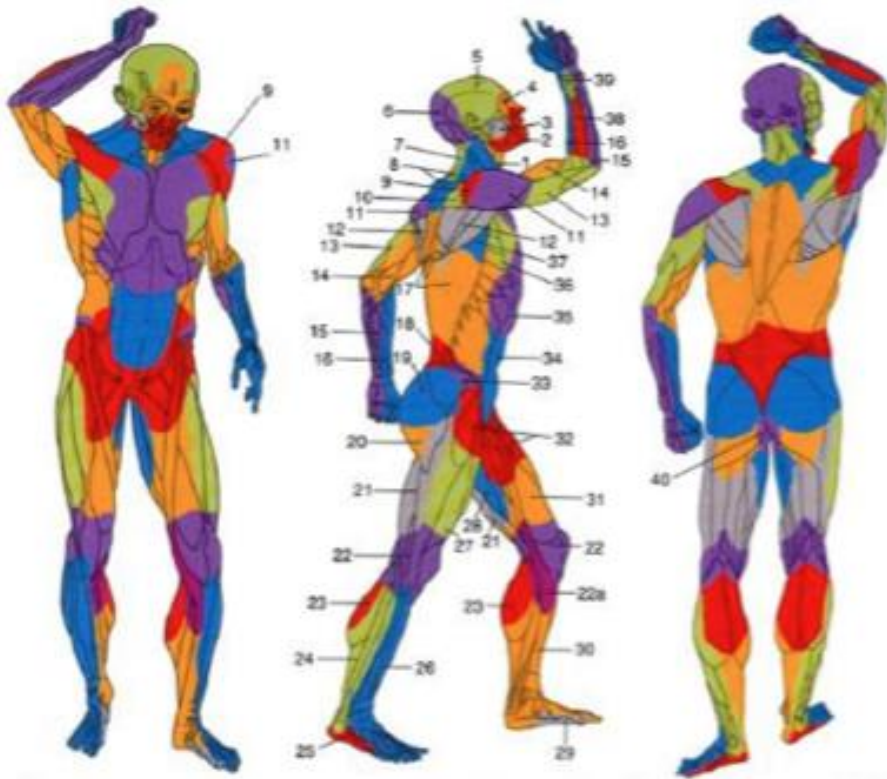
Carl Manchot 1889’da cildin damarsal beslenmesiyle ilgili ilk çalışmayı yapmıştır. Kaynak damarların ayrı ayrı cildi beslediği alanları tespit etmiştir. Michel Salmon 1936’da, anatomik diseksiyonun yanında oksid enjeksiyonu ile radyolojik görüntüleme de faydalanmıştır (21) (Şekil 8).

Taylor ve Palmer 1987’de yaptıkları çalışmayla anjiyozom konseptini tanımladılar. Spesifik arteri ve veni olan üç boyutlu bileşik doku bloklarına “angiosome” adını vermişler ve bu spesifik ana arteri “kaynak arter” (source) olarak adlandırmışlardır (21). Bu anjiyozomları besleyen arterler muskulokutan veya septokutan kaynaklı olabilir (Şekil 9).

Her bir anjiyozom komşu doku blokları yada komşu anjiyozomlarla bağlantılıdır. Anjiyozomlar arasındaki bağlantıyı, çapında değişiklik olmayan gerçek (basit) arterler yada çapı küçülebilen “choke” damarları denilen küçük çaplı anastomoz damarları sağlamaktadır. Ven dolaşımı da arteryal dolaşım gibi organize olmakta ve bir ana ven tarafından drene edilen üç boyutlu bileşik vücut bölgesi “venozome” olarak adlandırılmıştır.



Şekil 8. Michel Salmon'un Tariflediği Vasküler Deri Bölgeleri, (21).



Şekil 9. Taylorun Tarif Ettiği Vücuttaki Başlıca Anjiozomlar, (28).

Başlıca anjiyozomlar (Şekil 9'daki numaraların açıklamaları) : (1) thyroid, (2) facial, (3) buccal (internal maxillary) (4) ophthalmic, (5)superficial temporal, (6) occipital, (7) deep cervical, (8) transverse cervical, (9) acromiothoracic, (10)supracapular, (11) posterior circumflex humeral, (12) circumflex scapular, (13) profunda brachii, (14)brachial, (15) unlar, (16) radial, (17) posterior intercostals, (18) lumbar, (19) superior gluteal, (20) inferior gluteal, (21) profunda femoris, (22) popliteal, (22A) descending geniculate (saphenous) (23) sural, (24)peroneal, (25) lateral plantar, (26) anterior tibial, (27) lateral femoral circumflex, (28) adductor(profunda), (29) medal plantar, (30) posterior tibial, (31) superficial femoral, (32) common femoral,(33) deep circumflex iliac, (34) deep inferior epigastric, (35) internal thoracic, (36) lateral thoracic, (37) thoraco-dorsal, (38) posterior interosseous, (39) anterior interossous, (40) internal pudendal.(28)

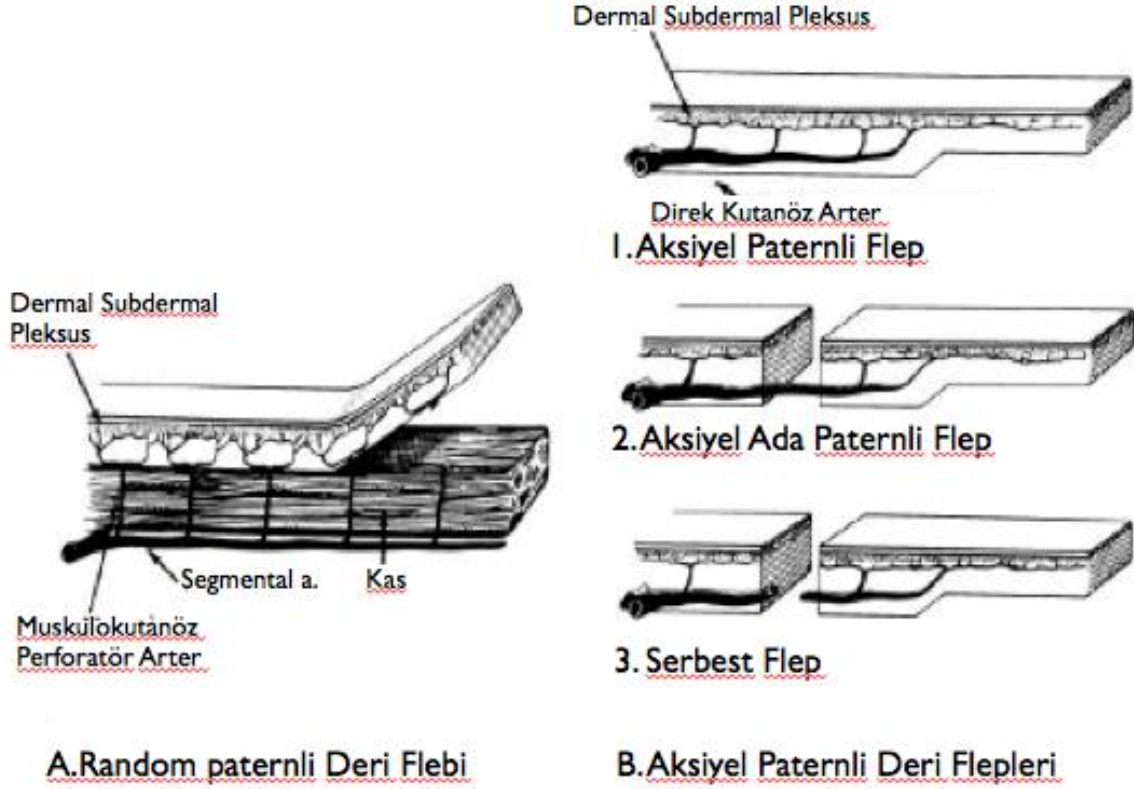
Taylor isimlendirilmiş kaynak arterlere göre vücudu 40 anjiyozom bölgesine ayırmıştır. Kan dolaşımının bu şekilde organize olmuş olması tek bir arter ve ven pedikülü üzerinde deri, kas ve kemik gibi çeşitli dokuları barındıran kompozit fleplerin hazırlanmasına olanak verir (21).

Bir deri flebinde birden fazla anjiyozom varsa, pedikülün üzerindeki anjiyozom bölgesinin beslenmesinde sorun olmaz ve bitişik bir anjiyozom da güvenle flebe dahil edilebilir. Ancak ardışık üçüncü veya dördüncü damarsal alanlar flebe dahil edildiğinde, bu bölgelerle flebin pedikülüne yakın olan anjiyozom arasındaki choke damarların açılmaması sonucu nekroz oluşur (ör: pediküllü TRAM flebinde nekrozun distal bölgelerde görülmesi).

2.4. Kanlanmasına Göre Deri Flepleri

Başlangıçta deri ve deri altı doku, yaranın yanından veya uzağından random paternli flep olarak kaldırılırdı. Bu flepler zayıf ve değişken dolaşımlarından dolayı sıklıkla kısmi veya tam flep nekrozu ile sonuçlanırdı. Random flep, cildin dolaşımı dikkate alınmadan kullanılan fleplerdir. Random fleplerde pedikülden spesifik bir arter ve ven geçmez, flep herhangi birinin ağırlıklı olmadığı dermal ve subdermal pleksustan beslenir. Vücudun herhangi bir bölgesinden hazırlanabilir. Random flepler, transpozisyon tekniğine göre (rotasyon veya ilerletme), şekillerine göre (z plasti, tüp flepler), gidecekleri yere göre (lokal veya bölgesel) sınıflandırılmaktadır (17). Random fleplerin sınırlı kan akımları

nedeni ile, en/ boy oranları sınırlı tutulmak zorundadır. Örneğin ağız-yüz bölgesinde en/boy oranı 1/3-1/4 olabilirken alt ekstremitde bu oran yaklaşık 1/1 dir (17,29). Random flepler uygun şekilde kullanılır ve sınırlamalar göz önünde bulundurulursa tüm vücuttaki küçük defektleri kapamada güvenilir ilk seçenektir (Şekil 10).



Şekil 10. Kanlanmasına Göre Deri Flepleri; Random ve Aksiyel Flepler, (1).

Aksiyel fleplerde flebin içinde uzunlamasına seyreden anatomik olarak tanımlanan arter bulunmaktadır ve flebin pedikülünden spesifik arter ve ven girer (1). Aksiyel fleplerin boyları direkt kutanöz arterin boyuna ek olarak, dermal-subdermal pleksusla beslenen distal kısmı da bulunur, bu nedenle boyu random fleplerden daha uzun olacak şekilde planlanabilir. Aksiyel flepler; yarımada, ada veserbest flepler olarak da hazırlanabilir.

Bir defekte yerleştirilen aksiyel paternli dokunun hacmi ve güvenilirliği herhangi bir random dolaşıma sahip flepten belirgin olarak daha fazladır. Bu fleplerin kısıtlaması yalnızca pediküllü olarak hazırlandıklarında rotasyon arklarının sınırlı olmasıdır. Yalnızca

alıcı damarların uygunluğu ile sınırlanmış olan mikrovasküler serbest doku aktarım teknikleri ile bu kısıtlamanın üstesinden gelinmiştir.

2.5. Deri Fleplerinin Kanlanmasında Fیزیopatogenez

Flep canlılığı, onun metabolik ihtiyacı ve kan akımı arasındaki dengeye bağlıdır (30). Flep elevasyonu, flebe giren damar kesildiği için flep distali iskemik olur. Yirmidört saatteki mikrodolaşımın durumu flebin hangi oranda canlı kalacağını belirler. Flep elevasyonundan sonra hemodinamik, anatomik ve metabolik değişiklikler flebin geleceğini belirler.

Daniel ve Kerrigan'a göre deri kan akımı sistemik ve lokal faktörlerin, makroskobik düzeyde arter-ven, mikroskobik düzeyde ise arteriol-kapiller-venül ve arteriovenöz anastomozlara yaptığı etkilerle düzenlenmektedir. Random ya da aksiyel pediküllü flepler için trombozun nedeni genellikle mikrosirkülasyondaki yavaşlayan akıma bağlıdır (17).

Deri kan akımını etkileyen sistemik faktörler; sempatik adrenerjik sinirler (vazokonstrüktör), Serotonin (vazokonstrüktör), Tromboksan A_2 (vazokonstrüktör), Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (vazokonstrüktör), Prostaglandin E_1 (vazodilatasyon), Prostaglandin I_2 (prostosiklin) (vazodilatasyon), Bradikinin (vazodilatatör), Histamin (vazodilatatör), Lökotrien C_4 ve D_4 (vazodilatasyon) gibi nöromediatörler ve anemi (hemodilasyonla kanakımı artışı) gibi durumlardır (17).

Deri kan akımını etkileyen lokal metabolik faktörler; hiperkapni (vazodilatatör), hipoksi (vazodilatatör), sigara, asidoz (vazodilatatör) ve hiperkalemi (vazodilatatör) dir (12,17).

Deri kan akımını etkileyen lokal fiziksel faktörler; lokal hipertermi (vazodilatasyon), lokal hipotermi (vazokonstrüktör), miyojenik refleks (vazokonstrüksiyon) dir (12,17). Flep elevasyonu dokunun kan akımını sağlayan dikkatlice oluşturulmuş dengenin ciddi şekilde bozulmasına neden olur. Sempatik innervasyon akut bir şekilde kaybolur ve spontan olarak vazokonstrüksiyona neden olan nörotransmitterler salınır (17). Bununla birlikte akım sağlayan damarların fiziksel olarak ortadan kalkması flebin kenarlarında akut iskemiyeye neden olur. Bunu takip eden 24 saat içinde bu alanlardaki mikrosirkülasyonun durumu flebin ne kadarlık bir kısmının yaşayacağını belirler. Banbury ve ark. Kremester kasının periferik mikrosirkülasyonunda trifazik, dinamik cevap tariflemişlerdir. Buna göre

başlangıçtaki **akut hiperadrenerjik fazı**, ciddi vazodilatasyona neden olan **nonadrenerjik faz** izler ve en son olarak artmış kapiller perfüzyon, vazoaaktif maddelere aşırı cevap ile **duyarlılaştırılmış faz** ortaya çıkar (31).

Flebin kaldırılmasından sonra ortaya çıkan hemodinamik, metabolik ve anatomik değişiklikler sonucu belirlerler. Kerrigan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda flep elevasyonundan sonra ilk 6-12 saatte pedikülün tabanında kan akımı korunurken, distalde kan akımı normalin %20'sine düşer. Akım ilk 1-2 haftada normalin %75'ine 3-4 haftada %100'üne ulaşır. Flebin iskemik bölümüne kademeli olarak pedikülden gelen longitudinal akımın yanında, flep tabanından inoskülyasyon ve neovaskülarizasyonla ek akım sağlanır.

Flebin kaldırılmasını takiben şu olaylar olur: Vasküler pedikül kesildiği anda primer iskemi periyodu başlar. İlk 12-18 saat kan akımı dramatik olarak azalır. Deri flepleri 6 saat iskemiyeye maruz kalırlarsa yaşayabilirler. Anastomoz bittiğinde ve mikro vasküler klempler kaldırıldığında reperfüzyon evresi başlar. Eğer flebin kaldırılması ve primer iskemi evresinde problem yoksa reperfüzyon ile dokulara ulaşan kan primer iskeminin geçici etkilerini düzelterek dokuyu yeniden besler. 6-12 saat arası iskemilerde flepte geriye dönebilen hemodinamik ve hücresele olaylar ortaya çıkar. Eğer kan akımında bir durma olursa sekonder iskemi periyodu başlar. 12 saatin sonunda geri dönüşümsüz hasarlanma oluşur ve eğer tekrar kan akımı sağlanabilirse reperfüzyon hasarı meydana gelir ve flep için öldürücü olabilir (12).

Primer iskemide perfüzyon basıncı düşer. Vazokonstrüksiyon oluşur. İskemik dokuda hızlı bir şekilde karbondioksit (CO₂) ve laktik asit seviyeleri artarken; oksijen (O₂), glukoz ve ATP seviyelerinin düşmesiyle birlikte anaerobik metabolizmaya dönüş gerçekleşmektedir. Prostosiklin (PG-I₂) ve tromboksan seviyeleri önemli miktarda artar. Glukoz ve glikojen tüketimi iskeminin derecesiyle orantılı olarak artar; glukoz tüketimi 3 günde pik yapar ve 7. günde normale döner (12). Sonraki 12-24 saatte sempatik nörotransmitterler kaybedilir. Flebin yataktan beslenmesi sonraki 2-3 gün içinde olur. Flep perfüzyonu aşamalı olarak restore edilir. Sıklıkla flebin distali 6-12'inci saatlerde iskemiktir. Geri dönen akım reperfüzyon hasarına neden olur. Anaerobik metabolizmaya geçiş toksik süperoksit radikallerini aşırı artırır. İskemik periyod sonrasında reperfüzyon sırasında O₂ yeniden girdiğinde reaksiyon ilerler ve primer olarak süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidrosit radikalleri üretilir. Bu radikaller lokal akut inflamasyonu, adezyonu ve lökositlerin birikimini başlatarak mikrovasküler kapanmaya neden olan

hücrel olaylarla endotel hasarı oluşturur, sonuçta süperoksit anyonu ve diğer O₂ radikalleri direkt olarak hücrel hasara yol açar (12).

Kerrigan ve arkadaşlarının belirttiğine göre flep iskemisine yol açan üç durum mevcuttur: Flep mevcut kan destegine göre büyük planlanmış olabilir, artelyel tromboz olabilir veya venöz tromboz olabilir (32).

Distal iskemi nispeten büyük kitleli olarak planlanmış fleplerde distal zonda ortaya çıkar. Global iskemi arteriyel veya venöz obstrüksiyona bağlı tüm flepte ortaya çıkar. Global venöz iskemi, global arteriyel iskemiyeye göre flep canlılığına daha fazla zarar verir (33). Random flepler veya aksiyel fleplerin random kısmı için aşamalı iskemi modeli söz konusudur. Flep pedikül tabanından uca doğru ilerleyici iskemiyeye sahiptir. Devam eden bir İ-R (İskemi-Reperfüzyon) hasarı mevcuttur (34). Random ya da aksiyel pediküllü flepler için trombozun nedeni genellikle mikrosirkülasyondaki yavaşlayan akıma bağlıdır. Bunun nedenleri flep planının kötü olması, İ-R hasarı, sistemik faktörler (hipotansiyon, hipovolemi, hipotermi, sepsis, sigara, vazokonstriktörler) ve fiziksel bası (hematom, flebin yerleşme problemi, pedikülde katlantı) olarak sayılabilir. Serbest flepler için anastomoz alanının trombozu flep kaybının nedenidir; anastomoz bölgesinde tromboz kötü tekniğe bağlı protrombotik damar adventisiası veya mediyasının lümenindeki kanla karşılaşmasına bağlıdır (32). Arteriyele nispeten venöz yetmezlik pediküllü flep kaybının öncelikli nedenidir. Arteriyel ve venöz iskemi deneysel modellerinde venöz iskeminin daha şiddetli hasar verici olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda sekonder iskemi primer iskemiden daha fazla hasar vermiş, eşit ölçüdeki venöz yetersizlik arteriyel yetersizliğe göre daha çok hasar vermiştir (35).

Fleplerde deri ve fasya, iskemiyeye kattan daha dayanıklıdır. İki saatten daha uzun normotermik iskemide nekroza ait lekeli alanlar ortaya çıkmaya başlar (34).

2.6. Perforatör Flepler

İzole bir veya birkaç perforatör damar tarafından beslenen deri ve subkütanöz dokudan oluşan flep, perforatör flep olarak tanımlanır. Latince bir şeyi delmek anlamında olan “perforate” den köken almaktadır (36).

İlk defa 1988 de Kroll ve Rosenfield, sırtta orta hat defekti için perforatörden beslenen flep tanımlamış, daha sonra 1989 da Koshima ve Soeda, derin inferior epigastrik

damarların paraumbrikal perforatörleri ile beslenen oldukça ince paraumbrikal flep için “Perforatör flep” tanımlamasını yapmışlardır (16).

Taylor, üsteki subkütan dokuyu ve deriyi beslemek için derin fasyanın dış tabakasını delen herhangi bir damarı perforatör olarak tanımlamıştır. Yapılan anatomik çalışmalar sonunda insan vücudunda çapları 0,5 mm den büyük 374 adet perforatör damar tanımlanmıştır (Şekil 11) (28).

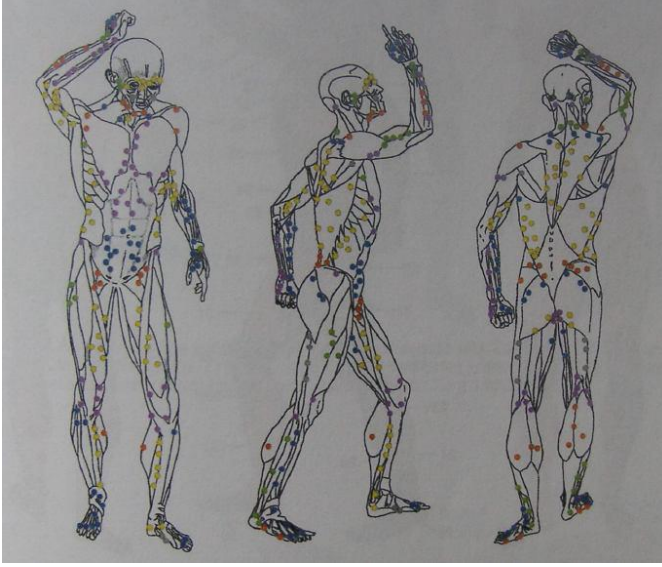
Koshima, 1993’de Gluteal Arter Peforatör flebi’ni tanımlamış, bu flebi ilk kez pediküllü olarak sakral yaraları kapatmak için kullanmıştır (37). 1995’de Allen ve Tucker, gluteal arter peforatör flebini meme rekonstrüksiyonunda free olarak kullanmışlardır. 1995’de Angrigiani ve arkadaşları latissimus dorsi muskulokutan flebinden torakodorsal arter perforatör bazlı sadece cilt ve subkutan dokuyu içeren flebi geliştirmişlerdir (38). 2002 yılındaki konsensüs toplantısında “perforatör flep cilt ve subkutan yağ dokusunu içerir” diye tanımlanmıştır. Ayrıca üç ayrı tip perforatör damar tanımı yapıldı, buna göre perforatörler (Şekil 12) (36,39).

- İndirekt kas perforatörleri, derin fasyayı delmeden önce kas içinden geçerler (ör: Derin İnférieur Epigastrik Arter Perforatör flebi),
- İndirekt septal perforatörler, intermuskülerseptumdan geçerek derin fasyayı delerek ciltte ulaşırlar (ör. Anterolateral uyluk flebi),
- Direkt perforatörler, sadece derin fasyayı delerek ciltte ulaşırlar (ör: Kasık flebi)

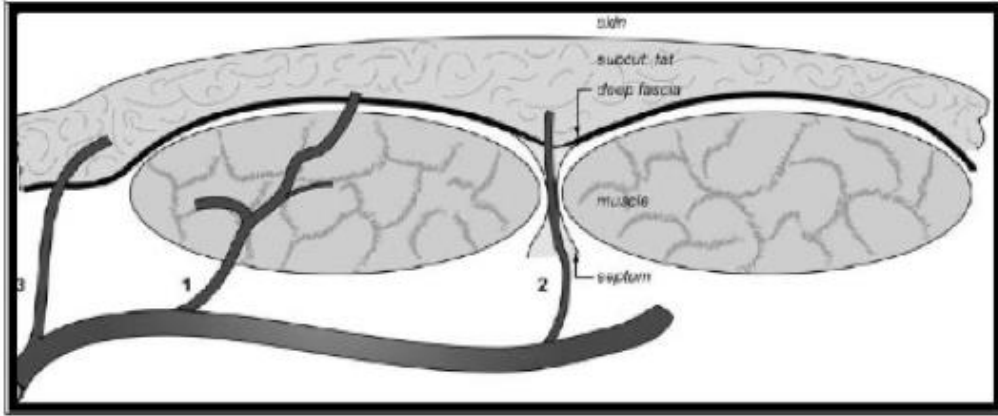
Perforatör fleplerin günümüzde en anlaşılır ve en kolay isimlendirme şekli; flebi besleyen kaynak artere göre yapılanıdır. Örneğin; Derin İnférieur Epigastrik Arter Perforatör (DİEAP) flebi gibi (11).

Eğer bir damardan potansiyel multipl perforatör flepler kaldırılacaksa her bir flebin adı anatomik bölgeye veya kasa göre olacaktır. Bunun tipik örneği lateral circumflex femoral arterden beslenen Tensor fasya lata perforatör flebi ve anterolateral uyluk flebidir (39).

Perforatör flepler meme rekonstrüksiyonu, gövde-kol-bacak yumuşak doku defektleri rekonstrüksiyonu, baş-boyun rekonstrüksiyonunda kullanılabilirler (39-44).



Şekil 11. Dominant Kutanöz Perforatörler, (21).



Şekil 12. Üç Farklı Perforatör Tipi: 1) İndirekt Kas Perforatörleri, 2) İndirekt Septal Perforatörler, 3) Direkt Perforatörler, (45).

Perforatör flepler kaldırılırken deri-deri altı insizyonundan sonra flebin perforatör damarı korunarak mikrocerrahi yöntemiyle perforatör damar kaynak artere doğru veni ile birlikte diseke edilir. Perforatörün diseksiyonu sırasında perforatörün çıkış yerine göre kas içi veya septal mesafe geçilir. Böylece flebin damar pedikülü mümkün olduğunca uzatılarak 10-12 cm uzunlukta pedikül elde edilebilir (39,46,47).

Daha sonra pedikül üzerinden defektif alana doku nakledilir. Eğer istenirse perforatör flepler serbest flep olarak da kullanılabilirler (32). Perforatör fleplerin en önemli avantajı verici alan morbiditesinin düşük olmasıdır, ameliyat sonrası dönemde iyileşme zamanını

kısaltır. Sadece derinin gerekli olduğu bir rekonstrüksiyonda fasya, kas ve sinirler tamamen korunarak flep hazırlanabilir (11,39).

Perforatör damarların disseksiyonunun zor olması, perforatör fleplerin en önemli dezavantajıdır. Perforatör disseksiyonu, ameliyat zamanını uzatmakta ve hastanın daha fazla anesteziye maruz kalmasına yol açmaktadır (11,46,48).

Perforatör damarlarının pozisyon ve büyüklüğünün değişkenlik göstermesi diğer bir dezavantajıdır. Perforatörler disseksiyon sırasında travmatize olmaya eğilimlidir yumuşak doku desteğini kaybeden perforatörlerde bükülme ve dirsekleşme oluşabilmekte ve bu durum vazospazm ve trombus gibi komplikasyonların gelişme eğilimini artırmaktadır (11,49,50). Perforatör fleplerde muskulokutan fleplere göre daha fazla yağ nekrozu riski vardır (51).

İdeal perforatör flebin güvenilir kan desteği olmalıdır, 0,5 mm'den daha geniş bir veya daha fazla perforatör olmalıdır, pediküller yeterli uzunlukta olmalıdır, flep kaldırıldıktan sonra donör alan primer kapatılabilmelidir (11).

Derin inferior epigastrik perforatör flep, özellikle donör saha morbilitesinin düşük olmasından dolayı ilk tanımladığı 1989 yılından itibaren otolog meme rekonstrüksiyonunda sık uygulanan, en popüler perforatör flep olmuştur (4).

2.7. Flep Kaybının Nedenleri

Kerrigan'a göre flep kaybının nedenleri; 1- Ameliyat öncesi kötü flep dizaynı ve tasarım hatası, 2- Hastanın premorbid durumu, 3- İntraoperatif teknik hata, 4- Anastomoz yapılan fleplerde alıcı damarların kötü durumu veya kötü alıcı damar seçimi, 5- Ameliyat sonrası olarak pedikülde bükülme (uygun olmayan yerleştirme), 6- Bası olması (hematom vs), 7- İnfeksiyon, 8- Arteriyel tromboz, 9- Venöz tromboz, 10- Distal iskemidir (17).

Kerrigan'a göre distal flep nekrozu, pediküle uzak mesafede perfüzyon basıncında düşme veya küçük arteriollerde vazokonstrüksiyondan dolayı yetersiz kan akımının bir sonucudur (12). Ayrıca mikrosirkülasyonu etkileyen sistemik faktörler (sepsis, hipotansiyon, sigara kullanımı, vazokonstriktörler), iskemi-reperfüzyon hasarı flep kaybına neden olabilmektedir (12,52,53).

Tsuzuki ve arkadaşları arteriyal giriş devam ettirildiği takdirde, hafif venöz yetmezliğin flep canlılığını etkilemediğini ancak, arteriyal giriş bozulduğu zaman hafif

venöz yetmezliğin bile flep canlılığını azaltacağını tespit etmişlerdir (54). Perforatör fleplerde, perforatör damarların beslediği alan genelde sınırlı bir bölgeyi kapsadığından flep boyutları geniş tutulduğu zaman arteriyal veya venöz yetmezlik oluşabilmektedir. Ayrıca perforatör damarlar ince ve nazik yapıları nedeniyle flep disseksiyonu sırasında kolaylıkla hasarlanabilir ve arteriyal veya venöz yetmezlik gibi sorunlar görülebilir (39).

Perforatör flep başarısında ameliyat sırasında dolaşım problemi olan riskli flep ya da flep bölgesinin belirlenip önlem alınması önemlidir. Ayrıca operasyon sırasında flebin rengine, perforatör damarın çapına bakılarak ya da venlerin çapı değerlendirilerek risk analizi yapılmaktadır. Blondeel, DIEP flebi ile meme rekonstrüksiyonu uygulamalarında yüzeyel inferior epigastrik venin çapının 1,5 mm. den büyük olmasını venöz yetmezlik açısından riskli olarak değerlendirmekte ve önlem alınmasını önermektedir (55).

2.8. Ratlarda Dorsal Derinin Kanlanması

Flep yaşamı çalışmalarında ilaçların ve hücrelerin etkilerini sensitif ve doğru yansıtabilecek bir flep modeli gerekiyordu (56). Rat dorsal ada flebi ilk kez 1965 de McFarlane tarafından tanımlanmıştır (57) ve flep fizyoloji çalışmalarında çok sık kullanılan bir deneysel model haline gelmiştir. Çünkü bunlarda operasyon, düşük maliyetli ve kolaydı (58). Zamanla çeşitli otörler boyutları 2x7cm den 5x10 cm arasında değişen ve pedikül bazı (kraniyal veya kaudal) farklı dizaynlar tanımladılar. Random fleplerin ciddi dezavantajları vardı. Her bir hayvandan sadece bir flep kaldırılıbiliyordu ve cerrahi ve farmakolojik olarak vasküler pedikülün manüplasyonu imkansızdı. Ayrıca değişken kan sirkülasyonu ve deri vaskülaritesinde farklar, önlenemeyen deri nekrozuna sebep oluyordu. Sonuçta random paternli flep modelleri dorsal deri fleplerinin yaşam sürelerindeki geniş farklılıklardan dolayı kabul edilmedi. Bu tutarsızlıktan dolayı çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak imkansızdı (59-61).

Rekonstrüktif cerrahi çalışmalarda random paternli flep kullanımının önemli ölçüde azalmasından sonra, flebin vaskülaritesinin daha iyi anlaşılması için, axial paternli dorsal ada flebi kullanımı gerekli oldu (58).

Son zamanlarda cerrahi tekniklerin ilerlemesi ve vasküler yapının anlaşılmasıyla, random paternli flep üzerine axiel paternli fleplere büyük bir talep oldu (56). Rat dorsumunda bir alanda genişletilmiş dorsal flebin vasküler anatomisi ilk kez 1992 de

Taylor ve Minabe tarafından tanımlanmıştır (62). Buna göre rat dorsal derisi üç damar tarafından kanlandırılıyor.

Bu damarlar: lateral torasik arter (LTA), posterir interkostal arter (PIA) ve derin circumfleks iliac arter (DCIA) dir (62).

Bu üç damarın kullanıldığı axial paternli bir rat dorsal fleb ilk kez 1992 de Syed ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bundan sonra model daha da geliştirilmiştir (63,64) (Şekil 12), (56).

Yang ve arkadaşlarının 1999 da yaptıkları çalışmada multipl vasküler adalı deri flep modellerini belirlemek için, rat dorsal derisindeki vasküler anatomi tanımladılar (58). Çalışmada rat dorsal derisini kanlandıran üç kutanöz perforatör olan derin circumflex iliac arter (DCIA), posterior interkostal arterlerden biri (PIA) ve lateral torasik arter (LTA) in, çapları uzunlukları ve kaynakları belirlenmiş (58). Rat dorsal derisinin kanlanmasının orijini değişkendir (58). Hayvanların %85 in de rat dorsal derisinin orta bölgesi 12. PIA in büyük bir kutanöz perforatöründen predominant olarak beslenir. %5 vakada büyük bir kutanöz perforatör 11. PIA den kalkar. %10 unda PIA serilerinde ve 13. Kosta arkasında kostoabdominal arterden kalkar (58). Ratlarda dorsal deri kanlanmasının anjiogram ile görüntülemesi şekil 14 de gösterilmiştir (56) (Şekil 14).

Komşu vasküler adalar arasında direk ve choke anastomozlar gösterilmiştir. Anastomozlar orta hatta çaprazlaşmıştır (58). Flep distalde ünilateral DCIA bazlıdır ve ipsilateral PIA nın büyük perforatörünün vasküler adasını ve LTA in dorsal dalı ve kontrlateraldeki DCIA, PIA ve LTA bölgelerini içerir (58).

Flap marjini (62-65):

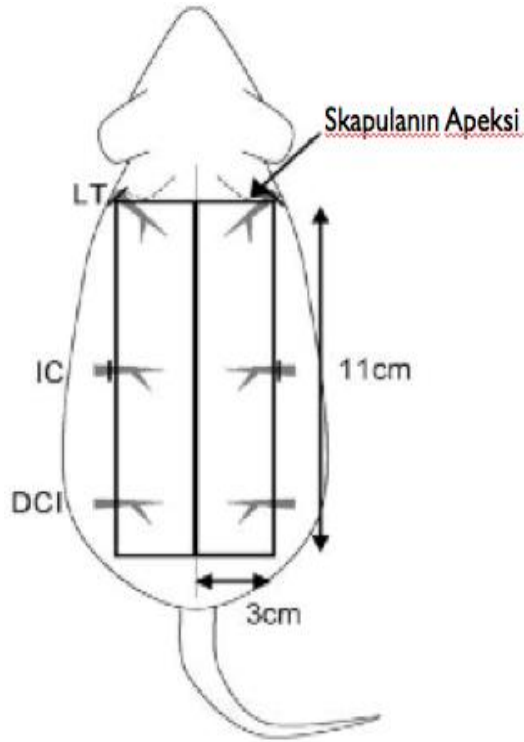
Lateral marjinler: Orta hattın her bir tarafındaki 3 cm genişliğindeki alan

Medial marjin: Orta hattın dorsali

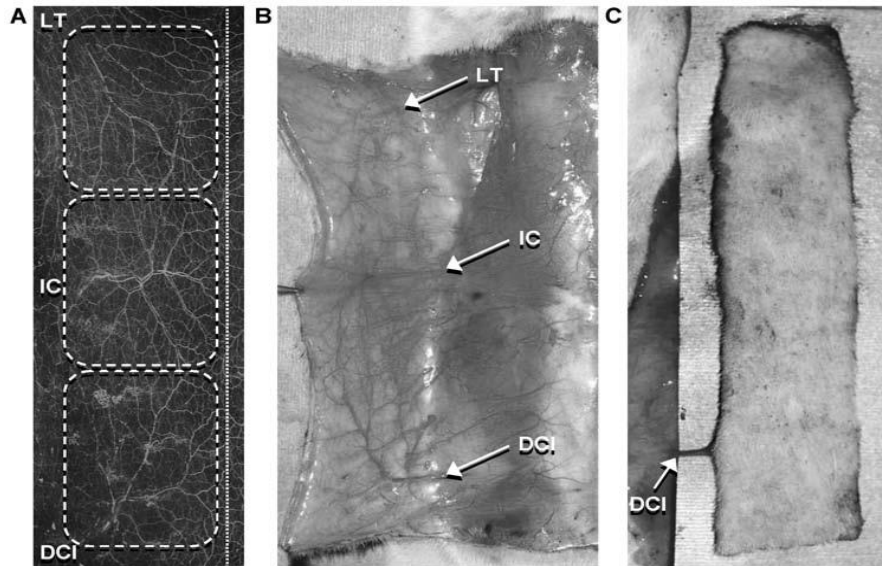
Distal marjin: Skapula apexlerini birleştiren orta hatta dik çizgi

Proksimal marjin: İliak krestlerin kaudallerini (58) birleştiren orta hatta dik ve distal sınırın 11 cm distalinde ki çizgi.

Her bir ratta komşu iki simetrik rektanguler flepler (her biri 11x3 cm) (56) yada orta hattın ayrılmazsa tek bir rektanguler flep şeklindedir.



Şekil 13. Ratlarda Dorsal Derinin Kanlanması, (56). Dorsal alanda 11x3cm'lik iki adet rektangüler fleb tasarlanmış. Flepler üç kutanöz perforatör içerir. LT, lateral torasik damarlar; IC, posterior interkostal damarlar; DCI, derin cirkümfleks aliac arter.



Şekil 14. Ratlarda Dorsal Deri Kanlanmasının Anjiogram Görüntülenmesi, (56).

2.9. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı

İskemi-reperfüzyon hasarı, iskemik bir dönem sonrası dokunun mikrodolaşımının tıkanması ve bunun sonucunda reperfüze dokuların nekrozu diye tanımlanabilir (66). Uzun süren iskemik dönem sonrası flepte oluşan kaybın nedeni birden çok faktöre bağlıdır. Bunlardan en çok bilinenleri oksijen radikallerinin salınması, trombosit agregasyonu ve lökositlerin yaptığı hasardır (67).

2.9.1. İskemi

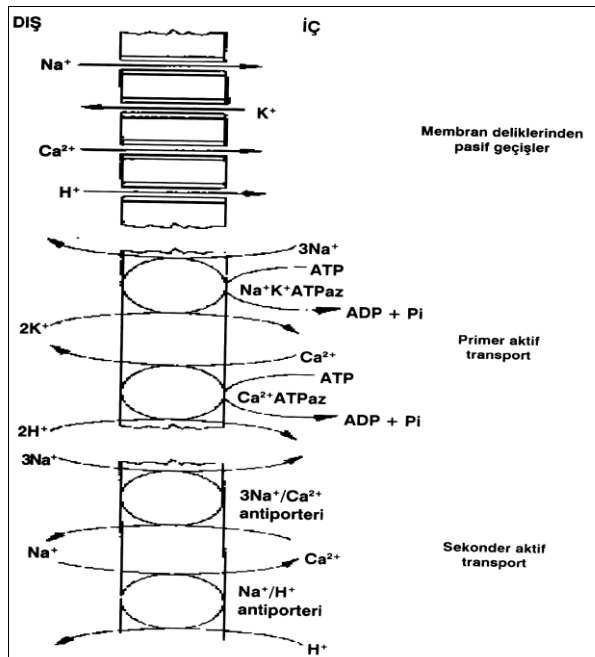
Akut iskemilerde doku hasarın temel nedeni, oksijen ve enerji kaynaklarının tüketilmesi ve anaerobik metabolizmanın egemen olmasıdır. Fizyolojik olarak kasın enerji kaynağı olan kimyasal ürünler adenosin trifosfat (ATP) ve kreatinin fosfokinaz (CPK)'dır. İskemiden sonra ATP depoları inorganik fosfat ve kreatinin ATP ye çevrilmesi ile üç saate kadar başlangıç düzeyinde tutulabilir (68). Ancak iskemi devam ettiği takdirde enerji eksikliğine bağlı olarak aşağıdaki olaylar oluşur:

1. Asidoz: Doku hipoksiyle aerobik oksidasyonda azalma ve ATP miktarında düşme olur. Bu durum adenosin difosfat (ADP) ile fosfat birikimine ve "Embden-Meyerhoff" yolundaki anaerobik glikolizde artmaya neden olur. Sonuçta laktik asit ve pürivik asit birikir. Laktat artışı ve H^+ birikimi ile doku pH'sı düşer. Laktik asit ve düşük pH, protein denatürasyonu, enzim fonksiyonlarında bozulma ve serbest radikal oluşumu, gibi iskemik hasar oluşturan etkenlerin gelişimini artırır (69).

2. Makromolekül sentezinin durması: ATP seviyesindeki azalma ile birlikte polisakkarid fosfolipid nükleik asit ve proteinlerin spontan veya enzim kaynaklı parçalanmalarının ardından bu yapı taşlarının yeniden sentezlenememesi nedeniyle hücre bütünlüğü bozulmaya başlar. Aynı zamanda hücre içi Ca^{+2} artışının neden olduğu fosforilaz, lipaz, proteaz ve endonükleaz enzim aktivasyonları da bu parçalanmaya katkıda bulunur (69).

3. İyon dengesinin bozulması: İskeminin süresi ve ciddiyetine göre hücre membranının fizyolojik bütünlüğü bozulmaya başlar. İskemiden ilk etkilenen organel mitokondridir. ATP miktarındaki net azalma Na^+/K^+ ATPaz enzimini inhibe eder. Buna bağlı olarak hücre içi Na^+ ve su artışı ile hücrede şişme meydana gelir. Hücre dışı K^+ artar. Na^+ artışı ile Na^+/Ca^{+2} ve Na^+/H^+ değişim sistemleri aktive olur. Sonuçta hücre içine Ca^{+2}

ve H^+ akışı başlar. Hücre içi Na^+ artışı membranda depolarizasyon yaparak, geçici açılan voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının açılmasına ve hücre içi Ca^{+2} miktarının artmasına neden olur. Hücre içinde Ca^{+2} artması sonucunda fosfolipaz aktivitesi artarak fosfolipidlerin parçalanmasına neden olur. Araşidonik asit ortaya çıkarak serbest radikal oluşturan siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolları aktive olur (70). Sitoplazmada artan serbest Ca^{+2} , Ca^{+2} 'a bağımlı ATP'az enzimini aktive ederek hücre içi ATP daha hızlı tüketilir (69-71). Yüksek Ca^{+2} seviyeleri mitokondri iç zarına etki ederek oksidatif fosforilasyonu ve ATP yapımını azaltır (71). Ayrıca yüksek Ca^{+2} seviyeleri serbest radikal oluşumunu artırır (72). Yüksek Ca^{+2} seviyelerinin, proteaz aktivasyonunu sonucu ksantin oksidaz enziminin iskemik dokuda ortaya çıkmasında, nötral proteazlar ve lizozomal proteazların aktivasyonu ile hücre iskeleti protein yapıların yıkılması sonucu geri dönüşümsüz hasarda rol oynadıkları ortaya konmuştur (69). Hücre membranı normal iyon dengesi Şekil 15'te gösterilmiştir.



Şekil 15. Hücre Membranı Normal İyon Dengesi, (69).

İskemi hasarının gelişmesinde son derece önemli olan hücre içi Ca^{+2} artışı başlıca üç yolla olmaktadır:

a - Hücre dışından Ca^{+2} girişi:

ATP'in tükenmesi ile birlikte aktif Na^+ transport pompaları (Na^+/K^+ ATPaz, Na^+/Ca^{+2} ve Na^+/H^+ değişim sistemleri) bozulmaktadır (69).

b- Hücre içi Ca^{+2} depolarından Ca^{+2} serbestlenmesi:

Hücrelerde belli uyarılarla hücre içi depolardan hücre membranı reseptörü aracılığı ile Ca^{+2} serbestlenmesi gerçekleşmektedir. Agonistin G proteini aracılığı ve fosfalipaz C (PLC) ile eşlenmiş olarak bulunan reseptöre bağlanması, fosfotidil inozitol bifosfat (PIP_2)'ın diaçilgliserol (DAG) ve inozitol trifosfat (IP_3)'a ayrılmasına neden olmaktadır. IP_3 , endoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımını gerçekleştirmektedir (69).

c- İntrasellüler Ca^{+2} düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması:

Hücre içine giren veya intrasellüler olarak salgılanan Ca^{+2} iki şekilde tamponlanmaktadır. Bunlardan birincisi kalmodilin gibi efektör bir proteine veya kalsibindin gibi özel bağlayıcı proteine bağlanarak gerçekleşmektedir. Ca^{+2} negatif gruplara bağlanarak tamponlanması, hidrojen iyonunun tamponlanması ile benzerlik gösterdiğinden, Ca^{+2} ve H^+ aynı tampon bölgeleri için yarışa girerler. Bu nedenle, iskemi sonucu gelişen asidozda Ca^{+2} bu bağlanma bölgelerinden salınmaktadır. Hücre içi Ca^{+2} un bir diğer tamponlanma şekli de hücre içi organeller tarafından tutulma yoluyla'dır. Kalsiyumun endoplazmik retikulum, mitokondri gibi organallerce tutulması enerji gerektiren bir olaydır.

Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu hızla artınca mitokondri büyük miktarlarda Ca^{+2} 'u tutar. Bunun için mitokondri iç membranının elektriksel potansiyeli gerekmektedir. Bu potansiyel de sadece O_2 ve ATP varlığında oluşturulabilmektedir. Mitokondrinin çok miktarlarda Ca^{+2} tutması mitokondrial hasarı oluşturan en önemli nedenler arasındadır (69). İntrasellüler Ca^{+2} artışını tamponlayan mekanizmalar arasında bulunan mitokondride kalsiyum tutuluşu iskemi sırasında mitokondrinin Ca^{+2} ile aşırı yüklenmesine neden olmaktadır. İskeminin ilk dakikalarında oksijen konsantrasyonu düşüklüğüne bağlı olarak durma noktasına gelen hücrenin solunum fonksiyonları ve ATP sentezi, mitokondrideki bu Ca^{+2} birikimi ile daha da bozulmaktadır. Böylece hücrede ATP eksikliği ile başlayan iskemik sürecin gelişiminde, hücre içi Ca^{+2} artışının bir sonucu olarak ATP sentezi giderek azalmakta ve olaylar kısır bir döngü içine girmektedir (69).

4. ATP yıkım ürünlerinin birikimi: İskemide enerji eksikliği sonucu gelişen olayların bir diğer sonucu da ATP yıkım ürünlerinin birikmesidir. İskemi sırasında ATP oluşumunun bozulmasına karşın, mevcut ATP'nin hidrolizi sürmektedir. ATP hidrolizi ile hipoksantin, ksantin gibi pürin metabolitleri hücre içinde birikmektedir. Bu metabolitlerin reperfüzyon sırasında ortama gelen moleküler oksijenin ksantin oksidaz tarafından kullanılarak meydana gelen reaksiyonları, serbest radikallerin en önemli kaynağını oluşturmaktadır (73).

İskeminin süresi, şiddeti ve hücrenin tipine göre hasar geri dönüşümsüz hale gelerek hücre ölümü gerçekleşir. İskeminin süresi doku hasarının ciddiyetini belirler. Primer iskemide yapısal ve metabolik değişiklikler şunlardır:

- 1) Endotelyal şişme, vazokonstrüksiyon ve interstisyel ödem neticesi kapiller çapın daralması,
- 2) Lökositlerin birikimi ve lökositlerin proteolitik enzimleri ve reaktif oksijen türlerini salıvermeye hazırlanmaları,
- 3) Endotelyal hücrelerde metabolik disfonksiyon neticesi vazodilatörleri sentez ve salıvermede azalma, çevredeki vazokonstriktörlerin yıkımında azalma
- 4) Hücre membran disfonksiyonu ve hücre içi ve dışı toksin birikimi,
- 5) Enzim sisteminin inflamatuvar mediatör yapımını düzenlemesi (74).

2.9.2. Reperfüzyon

Çalışmalar göstermiştir ki iskemi sonrası erken reperfüzyonda kan akımı normalin üzerinde artmıştır ancak bu akım daha geç dönemde azalır (75). Mikrovasküler cerrahide flebin kaldırılıp anastomozunun yapılacağı zamana kadar geçen süre primer iskemi süresidir. Anastomozdan sonra meydana gelen hadiselerle flebin yaşayacağı sonraki iskemiye sekonder iskemi denir. Sekonder iskemi sonrası dolaşımın tekrar kurulmasından sonra oluşan reperfüzyonu flepler primer iskemide olduğu kadar tolere edemeyebilirler (75). Flep kaybı daha büyük oranda bu dönemde meydana gelir. Sekonder iskeмиyle primer iskemi arasındaki süre 24 saat ve daha az ise flep canlılığı sekonder iskemide primer iskemiden daha fazla hasar görür.

Primer iskeмиyle sekonder iskeми arasında 72 saat ve daha fazla zaman varsa flep canlılığı sekonder iskemide primer iskemidekiyle eşit düzeyde zarar görür. Sekonder

iskemide analiz edilen biyokimyasal değisiklikler ksantin oksidaz ve malondialdehit düzeyinin yükselmesi, süperoksit dismutaz ve ATP'nin azalmasıdır (74).

İ-R sonrası oluşacak hasar değişik etkenlere bağlıdır. Bunlar, doku tipi, ısı, iskemi süresi, perfüzyon basıncı, farmakolojik tedavi ve fizyolojik önkosullanma olarak sayılabilir. Reperfüzyon hasarı anastomoz bölgesindeki problemlerden ziyade mikrosirkülasyonda ortaya çıkar ve inflamatuvar karakterdedir (74).

Reperfüzyon hasarındaki yol şöyledir; hücreler iskemik ancak nekrotik değildir, fakat, biyokimyasal olarak, reperfüzyonla hücreler bütünlüğünü kaybedecek durumdadır. Kurtarılabilecek hücre reperfüzyonla yeni hasar görür ve hücre ölümü gerçekleşir (76).

Yeni hasar, reoksijenasyon sonrası parankimal ve endotelial hücrelerce ve infiltratör lökositlerce üretilen serbest oksijen radikallerince başlatılır (77). Süperoksit anyonlar reperfüzyon dokularında, hasar görmüş mitokondriden oksijenin kısmi redüksiyonu ile veya oksidazların etkisiyle lökositlerden, endotelial hücrelerden veya parankimal hücrelerden açığa çıkar (76). Reaktif oksijen türleri, mitokondrial permeabilite geçişini daha da artırarak hücre ölümüne neden olurlar (77).

İskemi, parankimal ve endotelial hücrelerde sitokin yapımı ve adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu ajanlar reperfüzyon dokuda lökositlerin tutulmasına yol açar. Oluşan inflamasyon ek hasara neden olur (77).

İ-R ile ilişkili olarak damarlardaki hasar incelenmiş ve en önemli hasarın postkapiller venüllerde olduğu izlenmiştir. İ-R da venüler cevabın karakteristiği lökosit-endotelial hücre adezyonu, transendotelial lökosit migrasyonu, platelet lökosit agregasyonu, albumin agregasyonu ve artmış oksidan yapımıdır (77).

2.9.3. İskemi Reperfüzyon Hasar Mekanizmaları

İskeminin hücresel hasarı insanlarda, deney hayvanlarında, hücre kültür sistemlerinde çok yaygın olarak çalışılmıştır. İskemiye tolerans hücrenin tipine ve yaşına bağlıdır. Örneğin, insanlarda kas dokuda normotermik ısıda kritik iskemi zamanı 2 saatten fazla iken, jejunumda 30 dakikalık iskemide histolojik değişiklikler oluşmaya başlar (76).

İskeminin erken döneminde oksidatif fosforilasyon durur, adenosin trifosfat (ATP), glikolizisten sağlanır, ancak akabinde glikojen depoları boşalır, laktat ve diğer toksik metabolitlerin birikimiyle sonuçlanır ve hücre içi asidoz olur. İskemide kandan inflamasyon bölgesine toplanan lökositlerin yanı sıra o bölgede bulunan doku makrofajları,

mast hücreleri endotel hücreleri proinflamatuvar medyatörleri (lökosit adezyon molekülleri ve sitokinler) üretme yeteneğine sahiptir . Sonuç itibariyle iskeminin hücrel etkileri proinflamatuvar duruma yol açar (78).

2.9.3.1. Lökosit - Endotel Etkileşimi (Nötrofillerin Rolü)

Membran fosfolipidlerinin yıkımına neden olan lipoksijenaz ve siklooksijenaz yoluyla kimyasal mediatörlerin salınımı lökositler, özellikle polimorfonükleer lökositler (PNL) olan nötrofiller için kemotaktiktir. Araşidonik asit metabolitleri, özellikle lökotrienler, nötrofillerin ve trombositlerin vasküler endotelyuma yapışmasına, dolayısıyla inflamatuvar yanıtı yol açan, kemoatraktan maddeleri ve adezyon moleküllerini salgılamalarına neden olur (79,80) ve postkapiller venüllerin permeabilitesini artırır.

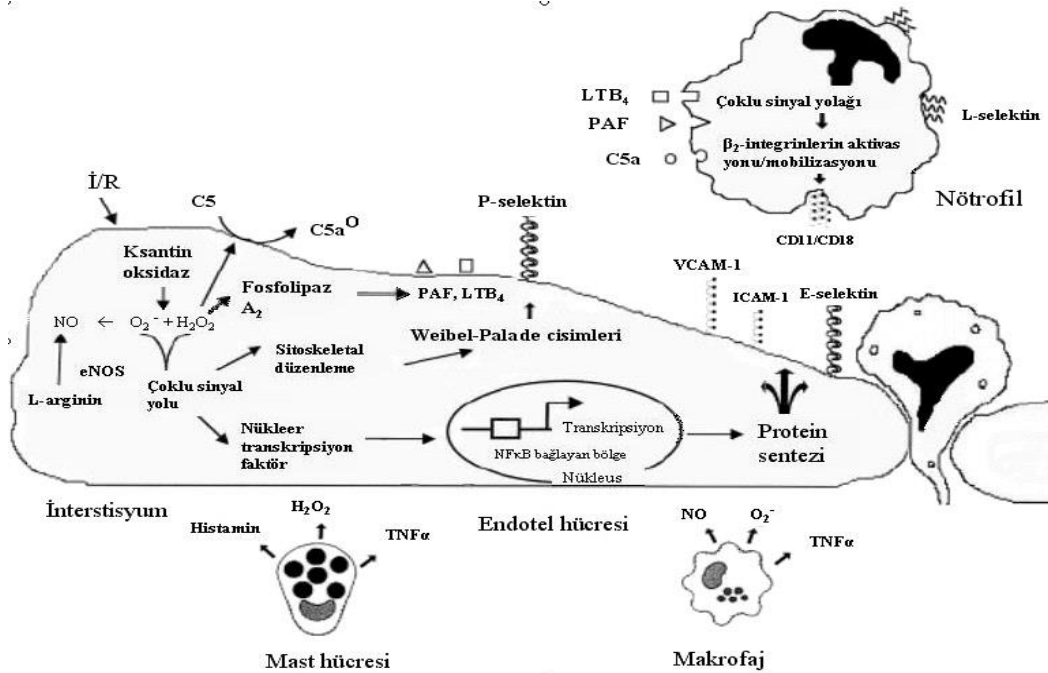
Bu reperfüzyon hasarının şiddetini belirler. Vasküler endotel hücreler lökositler için bağlanma yeridir. Lökositler P seletin, L seletin gibi adezyon molekülleriyle ve interselüler adezyon molekülü ile vasküler endotelyuma bağlanırlar. İskemi sırasında bu moleküllerin vasküler endotelyumda ekspresyonunda artış, reperfüzyonda daha şiddetli lökosit endotel etkileşimine yolaçar. Lökositler lizozim salarlar, reaktif oksijen türleri (ROS) üretirler, daha fazla nötrofil için kemotaktik ajan salarlar. Bu faktörler İ-R hasarı için önemlidir çünkü lökosit sayısı azaltılmış hayvanlarda reperfüzyon hasarı azaltılmıştır (76).

Nötrofillerin kemotaksisine neden olan en önemli etken, ksantin oksidaz (XO) reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalleridir. Reoksijenasyon ile aktive olan ve lökosit akümülyasyonunda görev üstlenen diğer ajanlar ise, kompleman 5a (C5a) kompleman 3a (C3a), araşidonik asit metabolitleri, özellikle lökotrien B4 (LB4), nitrik oksit (NO), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin -1, 6, 8 (IL-1, 6, 8), gamma interferon ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi sitokinlerdir (81). Kemotaktik faktörlerin sentezi ve salınması ile birlikte, hem lökosit hem de endotel hücresinde lokalize olan adhezyon moleküllerinin artışında başlamaktadır. Lökosit-endotel etkileşimini sağlayan adhezyon molekülleri, glikoprotein yapısındadırlar.

Lökositlerin endotelle ilişkileri ve ekstravaze olmaları basamaklar halindedir. İlk basamakta zayıf adezyon (rolling) gerçekleşir. Endotelial p-seletin ile lökosit yüzeyindeki P-seletin glikoprotein-1 etkileşim halindedir. Sonraki basamak güçlü

adezyondur (firm adhesion), lökosit CD11a/CD18 gibi β -integrinleri veya Mac-1 kompleksiyle, endotelial interselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasında güçlü yapışma olur. Lökositlerin interstisyel alana geçişleri ise endotelial hücrelerin komşu birleşim bölgeleri boyunca yerleşmiş platelet-endotelial hücre adezyon molekülü-1(PECAM-1) ile sağlanır. Ekstravaze lökositler ROS, proteaz ve elastaz salarak mikrovasküler permeabiliteyi artırır, ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümü meydana getirirler (78). Şekil 15'te lökositlerin transmigrasyonu görülmektedir. Reperfüzyon döneminin en önemli mikrovasküler patolojisi olan kan akışının geri dönmemesi fenomenine (no reflow), aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı ve nötrofillerin kapillerlerdeki agregasyonları ile kan akımının geri dönmemesine engel olan kapiller tıkaçları oluşturduğu bildirilmiştir (82). Nötrofiller bozulan mikrovasküler bariyerden, dokuya geçerken beraberinde damar içi sıvı da dokuya kaçarak, ödem oluşumuna neden olur. Geri dönüşümsüz hasar, bu noktada “No Reflow” fenomeni ile ortaya çıkar. Bu fenomen mikrovasküler bariyerin bozulması ile dokuya kaçan sıvının, interstisyel basıncı arttırarak, kapillerleri sıkıştırması ve kan akımını durdurması şeklinde tanımlanır. Dokudaki kan akımı, kapiller düzeyde engellenerek, hücre beslenmesi bozulur (83).

Şekil 16'da lökositlerin transmigrasyonu görülmektedir.



Şekil 16. Reperfüzyon Hasarı, (84).

2.9.3.2. Serbest Radikaller

Dengeli moleküllerin dış yörüngelerinde birbirine zıt yönde dönen elektron çiftleri bulunur. Elektron çiftleri molekülü kararlı halde tutar. Reaktif türlerin ise dış yörüngelerinde çift olmayan elektron bulunur. Elektron kazanan ya da kaybeden molekül radikal haline gelebilir ve kararlı durumu bozulabilir (73). Çok kısa yaşam süreli ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapıldırlar ve tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler (70,85).

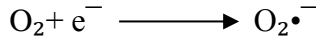
Serbest radikaller çeşitli biyokimyasal reaksiyonları katalize ederler. Hücrenin mitokondrial enerji metabolizmasında, prostaglandin sentezinde, fagositozda, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol alırlar (70,85-87). Serbest radikaller özellikle reperfüzyonun ilk dakikalarında ortaya çıkar ve hücresel membranların lipid peroksidasyonuna yol açar (88,89).

Canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için oksijen mutlak gereklidir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (Tablo 1). Oksidatif fosforilasyon sürecinde oksijenin çoğu en son suya indirgenir. Fakat bu süreçte metabolize olan oksijenin yaklaşık %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez ve reaktif oksijen türleri olarak da adlandırılan yüksek derecede reaktif ürünler oluşur (70,85,86).

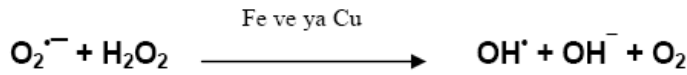
Tablo 1. Reaktif Oksijen Ürünleri ve Kimyasal Gösterimleri

Süperoksit radikali	$O_2 \cdot^-$
Perhidroksi radikali	$HO_2 \cdot^-$
Hidroksil radikali	$HO \cdot$
Peroksil radikali	$ROO \cdot$
Alkoksil radikali	$RO \cdot$
Singlet oksijen	1O_2
Nitrit oksit	NO_2
Peroksinitrit	$ONOO^-$
Hidrojen peroksit	H_2O_2
Organik hidroperoksi	$ROOH$

Süperoksit radikali: Tüm aerobik hücrelerde oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (70).

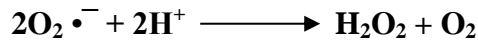


Süperoksit radikali; elektron transport zinciri, sitokrom P450 sistemi, hemoglobin ve katekolaminlerin oksidasyonu, ksantin oksidaz, prostaglandin metabolizmaları ve diğer çeşitli biyolojik reaksiyonlar sonucu oluşur (90). Başlıca kaynağı elektron transport zincirinde elektronların oksijene taşınması sırasında meydana gelen elektron sızıntısıdır (91). Bazı durumlarda süperoksit radikalının yapımı hücre fonksiyonları için gerekli olmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositler yabancı organizmaları öldürmek için bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler (70). Genel olarak reaktivitesi düşük olan süperoksit radikalının asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metal iyonları ile hidroksil radikali oluşturmak için reaksiyona girebilmesidir (70, 87).



Perhidroksi Radikali: Çok reaktif bir radikal olup, hücre membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir (85).

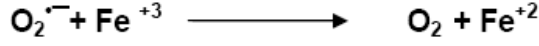
Hidrojen Peroksit: Moleküler oksijenin iki elektron alması veya süperoksit radikalının bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir. Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksit radikalının dismutasyonu ile olur. Bu dismutasyon ya spontandır veya süperoksit dismutaz enzimi (SOD) tarafından katalizlenir (70).



Biyolojik zarları kolayca geçebilen hidrojen peroksit, yapısında paylaşılmamış elektron içermediği için radikal özelliği taşımaz. Reaktif bir tür olarak bilinmesinin nedeni; Cu, Fe gibi metal iyonları varlığında hidroksil radikalının öncülü olmasıdır (85).

Hidroksil Radikali: Reaktif oksijen türleri içerisinde bilinen en güçlü ve en reaktif radikaldir (70,85). Yarılanma ömrü çok kısadır ve bu nedenle oluştuğu yerde veya onun çok yakınlarında etkisini gösterir (70,87). Hidroksil radikali canlılarda başlıca şu mekanizmalarla oluşabilir (70,85):

1. Fenton reaksiyonu: Hidrojen peroksit Fe^{+2} ve diğer geçiş metalleri varlığında indirgenerek OH^{\bullet} radikali meydana gelir.



2. Haber-Weiss reaksiyonu: Hidrojen peroksit, süperoksit anyon radikali ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur. Bu reaksiyon demir ve bakır tarafından katalizlenir.



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da, hidroksil radikali oluşur. Hidroksil radikalleri canlı hücrelerde bulunan her moleküle saldırıp hasar verebilir. DNA ile etkileşimleri sonucu baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir. Proteinlerde proteolitik yıkımlara, fonksiyon bozukluklarına neden olabilirler. Hücre zarındaki yağ asitleriyle etkileşerek lipid peroksidasyonunu başlatırlar; bu durum da zar yapısının bozularak geçirgenliğinin artmasına ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilir (70,85).

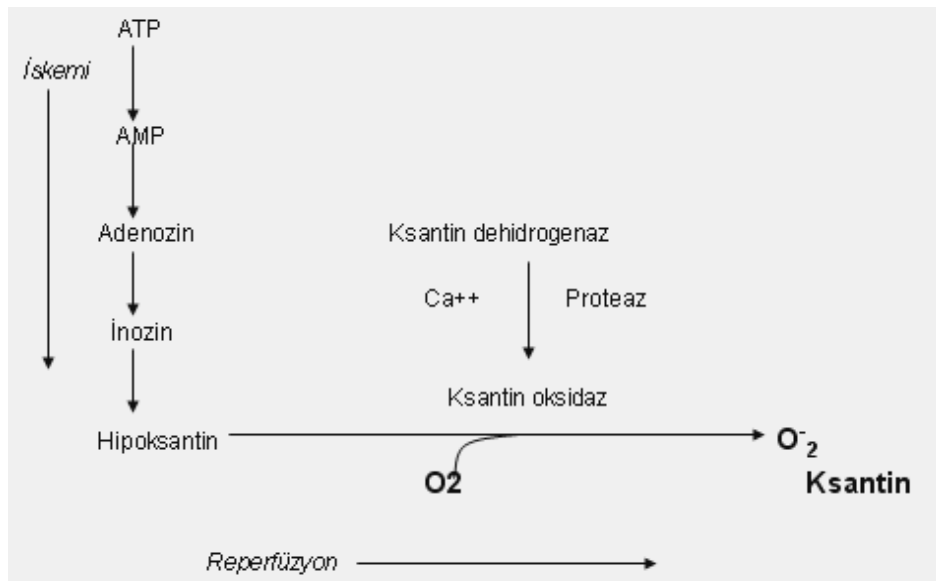
Singlet Oksijen: Oksijenin elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucunda kendi dönüş yönünün ters yönünde olan farklı bir orbitale yer değiştirmesi sonucu oluşur. Yapısında ortaklanmamış elektronu olmadığı halde serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır (70).

Nitrik Oksit (NO): Damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L arjinin'den sentezlenir. Yarılanma ömrü, moleküler oksijen ile hızlı reaksiyonundan dolayı atmosferik şartlar altında oldukça kısadır. Kan basıncı, guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Nötrofiller tarafından üretilen süperoksit anyon radikalinin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (92). NO'in aşırı üretimi toksik etkili olabilir. NO'in kimyasal olarak aktivitesi yüksek değildir ancak belli şartlar altında oldukça toksik ürünler oluşturabilir. NO ve süperoksitin reaksiyona girmesiyle peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit, direkt olarak proteinleri hasara uğrattır ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}), azot dioksit (NO_2^{\bullet}) ve nitronyum iyonu (NO_2^{+}) gibi toksik ürünlere dönüşür(87). Peroksinitritin, protein tiol grupları, tirozin kalıntıları ve fosfolipidlere ilgisinden dolayı reaktivitesi yüksektir. Bu nedenle protein ve lipidlerin oksidasyonuna neden olur (93,94).

Peroksil Radikali: Poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında meydana gelir ve yarılanma ömrü uzundur. Zincir reaksiyonunun ilerlemesini sağlar (95).

ROS özellikle endotel hücrelerinde, hücre membranını lipid peroksidasyonuna uğratarak direkt hasar yapar. Fosfolipaz A₂ aktivasyonu ile membran fosfolipidlerini araşidonik aside yıkar. Araşidonik asit lökositler için aktivasyon ve kemotaksis uyarımı olan tromboksan A₂ ve lökotrien B₄ için öncüdür (96). Lökositlerden serbestleşen faktörler vazokonstriksiyon ve platelet agregasyonunu indükleyerek azalmış doku perfüzyonuna neden olurlar. Peroksinitrit, yüksek derecede reaktif yan üründür, serbest radikal nitrik oksitle ilişkiye girdiğinde oluşur ve protein, lipid ve DNA'yı ileri derecede oksidize edebilir (76).

Normal şartlarda nükleotid metabolizmasında hipoksantin, ksantin dehidrogenaz enzimiyle ksantine yıkılır. İskemi sırasında ksantin dehidrogenaz enzimi ksantin oksidaza dönüşür ve oksijeni kullanan bu enzim iskemik durumda fonksiyon göremez ve hipoksantin birikir. Reperfüzyonla oksijen tekrar sağlanınca, ksantin oksidaz enzimi biriken hipoksantini yıkar. Böylece reaktif oksijen türleri üretimine neden olur (78). Şekil 17'de İ-R'da ksantin oksidaz yoluyla olan reaktif türlerin oluşma mekanizması gösterilmektedir (12). Ksantin oksidaz inhibitörü allopürinol kullanılarak yapılan çalışmalarda oksidatif stresin azaltıldığı ayrıca gösterilmiştir. Hasarın erken döneminden sonra endotele yapışan lökositler oksidatif stresin önemli kaynağı olurlar (97).



Şekil 17. Ksantin Oksidaz Yoluyla Reaktif Oksijen Türlerinin Üretimi, (12).

ROS çiftlenmemiş elektronları olan yüksek derecede anstabil oksijen molekülleridir. Çeşitli biyolojik molekülleri (protein, lipid, DNA gibi) oksitleme kapasitesine sahiptirler. ROS konsantrasyonu; glutatyon, süperoksit dismutaz ve katalazın antioksidan aktivitesi ile sıkıca kontrol altında tutulur. ROS'un kaynağı hücreden hücreye değişir. Örneğin akciğerde reperfüzyon hasarından sonra sitokrom P450 ROS'un major kaynağı iken, retinal endoteliumda ksantin oksidaz (XO) ve siklooksijenaz ROS'un major iki kaynağıdır. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP) oksidaz, lökositlerde ROS'un ana kaynağıdır. Ancak NADP oksidazın inhibisyonu reperfüzyon hasarını iyileştirmez. Bu durum NADP oksidaz eksikliği olan deneysel ratlar kullanılarak desteklenmiştir. ROS'un kaynağı değişiktir ve reperfüzyon hasarındaki tek etken değildir (76).

ROS ayrıca nükleer faktor- κ B gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek lökosit adezyon molekülleri ve sitokinlerin gen ekspresyonunu uyarır. Böylece ROS, İ-R sonrası lökositlerin aktivasyon, kemotaksis ve endotelial yapışmasını artırır (78).

Şekil 15'te ROS yoluyla başlayan inflamatuvar kaskad görülmektedir.

2.9.3.3. Komplement, Mast Hücreleri ve immün Kompleksler

İskemi reperfüzyon, komplement aktivasyonu ve değişik proinflamatuvar mediatörlerin oluşumuyla sonuçlanır ki, bunlar vasküler homeostazisi değiştirir. Bu proinflamatuvar ajanların en güçlüsü C5a'dır. C5a lökositleri aktive ederek onların vasküler endotele adezyonunu artırır. Ayrıca komplementler endotelial nükleer faktor- κ B yi aktive ederek lökosit adezyon molekülünün, transkripsiyon ve ekspresyonunu artırır. Komplement kaskadı sonucunda oluşan C5b-9 vasküler tonusu değiştirir (78).

Smith ve arkadaşları (76), 1983'de reperfüze miyokardiyumda terminal kompleman komponentlerinin depolandığını göstermiştir. Kompleman alternatif yolu ile reperfüzyon hasarında anahtar mediatördür. Membran atak kompleksi (Mac, C5b-9) oluşumu hücre membranına delikler açarak hasar yapar.

Kompleman aktivasyonu ile kemotaktik ajan (C5a) ve anaflatoksin (C3a, C5a) salınır, bunlar mast hücrelerinin degranülasyonuna yol açarak, histamin, serotonin ve diğer mediatörleri serbestleştirir. Kompleman miktarının azaltılmasıyla, hayvanlarda reperfüzyon hasarının şiddeti azaltılmıştır.

Şekil 16'da komplement C5'in lökosit kaynaklı hasarda oynadığı rol görülmektedir

2.9.3.4. Trombosit-Endotel Etkileşimi

Trombositler ve endotelin karşılıklı etkileşiminin, pıhtı oluşumunda önemli rolü vardır. Endotel tarafından sentezlenen Prostaglandin I₂ (PGI₂) bir vazodilatatördür ve trombosit agregasyonunu inhibe eder, oysa trombosit kökenli tromboksan A₂ (TXA₂) trombosit agregasyonunu aktive eder. PGI₂ ve TXA₂ nin bu etkileri trombosit fonksiyonlarını değerlendirmede ince bir denge oluşturur, oluşan bir endotel hasarı hemostatik tıkaç oluşumuna yol açar (98).

A) Endotel

Endotelyal hasar son derece trombojenik subendotelyal ECM'i açığa çıkarır, trombositlerin yapışmasına ve aktive olmasına yol açar. Trombositlerin aktivasyonu dramatik şekilde, şekil değişikliği (küçük yuvarlak diskten, yüzey alanının belirgin arttığı düz plak şekline) ve sekretuar granüllerin salınmasıyla sonuçlanır. Dakikalar içerisinde, salınan aktive eden, sonunda trombin oluşumu ile sonuçlanan *invivo* yolda major role sahiptir. Trombin dolaşan fibrinojeni fibrine dönüştürür, bir fibrin ağı birikimi oluşturur. Trombin aynı zamanda daha fazla trombosit toplanması ve granül salınımını da uyarır. (sekonder ürünler hemostatik tıkaç oluşturmak üzere ilave trombositleri olay yerine çekerler (primer hemostaz) (98).

Hasar yerinde açığa çıkan doku faktörünün (faktörIII, tromboplastin) faktör 7 ile birleşmesi koagülasyon zincirini başlatır (hemostaz) (98).

Ayrıca endotel hasarı subendotelyal kollajene trombosit yapışması ile sonuçlanır; bu trombositlerin kollajen ve diğer yüzeylere bağlanması için esansiyel bir kofaktör olan von Willebrand faktör (vWF) ile oluşur. Büyük ölçüde endotel tarafından sentezlenirler. Endotelin kaybı vWF'in bazal membrana bağlanmasına yol açar; sonrada plateletler glikoprotein Ib reseptörleri ile bağlanırlar (98). Endotel hücreleri temelde, antiplatelet, antikoagülan ve fibrinolitik özellikler sergilerken, zedelenme ve aktivasyondan sonra çok sayıda prokoagülan aktivite sergileme kapasiteleri vardır.

B) Trombositler

Yüzeyinde integrin ailesine ait bir çok glikoprotein reseptörü bulunduran, trombositler iki tip granül içerirler:

- Alfa granülleri; membranları üzerinde, bir adezyon molekülü olan P-Selektini eksprese ederler. Trombin tarafından trombositler aktive edilirken P-selektinin yüzeye ekspresyonu sırasında yeni bulunan bir molekül olan alfa granüllerdeki SCUBE 1'inde yüzeye ekspresyonu gözlemlenir (99). Ayrıca fibrinojen, fibronektin, faktör 5 ve 8, trombosit faktörü 4 (heparin bağlayıcı bir kemokin), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve transforme edici büyüme faktörü α (TGF α) içerirler (98).
- Yoğun cisimcikler ya da δ granüller; adenin nükleotidleri (ADP ve ATP), iyonize kalsiyum, histamin, serotonin ve epinefrin içerirler.(98)

ECM içerikleri (en önemlisi subendotelyal kollajen) ve vWF gibi proteinlerle damar hasarı sonrası temas eden trombositlerde üç değişiklik olur. 1) yapışma ve şekil değişikliği, 2) sekresyon ve 3) kümeleşmedir (98).

(1) Trombosit Adezyonu (yapışması)

Trombositlerin ECM e adezyonu büyük ölçüde vWF ün, trombosit yüzey reseptörleri ve açığa çıkmış kollajen arasında köprü görevi yapması ile olur (98). SCUBE 1 trombosit adezyonunda fibrinojen, vWF ve fibronektini içeren ECM komponentinin proteinlerinden birisidir (99).

(2) Sekresyon

Adezyonun hemen ardından her iki tip granülün de içerikleri salınır. Spesifik trombosit yüzey reseptörlerine bir çok değişik agonist bağlanabilir ve bu, granüllerin içeriklerinin salınımına yol açan hücre içi fosforilasyon zincirini başlatır. ADP trombosit agregasyonu için en önemli medyatördür. Trombosit aktivasyonu fosfolipid komplekslerinin yüzey ekspresyonunu artırır, bu da intrensek pıhtılaşma yolundaki koagülasyon faktörleri ve kalsiyum için iyi bir bağlanma yeri oluşturur (98).

(3) Trombosit Agregasyonu (Kümeleşmesi)

ADP'ye ek olarak trombositler tarafından sentezlenen tromboksan A₂ (TXA₂) de önemli bir uyarandır. Bu ikisi büyümekte olan trombosit agregatının oluşumu için otokatalitik bir süreci başlatırlar. Bu primer agregasyon geri dönüşümlü bir olaydır.

Ancak pıhtılaşma zincirinin aktivasyonu sonucu oluşan trombin geri dönüşsüz hemostatik tıkaç oluşumunda etkili olan iki süreçte yer alır (98).

Trombin, trombosit yüzey reseptörüne (PAR: proteazla aktive olan reseptör) bağlanarak; ADP ve TXA₂ ile birlikte, daha çok trombosit agregasyonuna neden olur. Bu durumu takip eden trombosit kontraksiyonu geri dönüşsüz bir şekilde trombosit kitlesi meydana getirir. Bu kitle kalıcı sekonder hemostatik tıkaçı oluşturur. Trombin aynı zamanda pıhtı tıkaçının içinde ve çevresinde fibrinojeni fibrine dönüştürerek bu alanın stabil kalmasında rol alır. Lökositler, adezyon molekülleri aracılığı ile trombositlere ve endotele yapışarak, tromboza eşlik eden inflamatuvar yanıtta katılırlar. Ayrıca trombinde bu olaya, nötrofil ve monosit adezyonunu doğrudan uyararak ve fibrinojeni yıkarak oluşturduğu kemotaktik özellikteki fibrin yıkım ürünleri aracılığı ile katılır (98).

C) Trombosit Aktive Eden Faktör (PAF)

Trombosit agregasyonuna ve degranülasyona sebep olması nedeniyle bu şekilde adlandırılan trombosit (platelet) aktive eden faktör (PAF), çok sayıda inflamatuvar etkiye sahip olan fosfolipid türevi medyatördür. Asetil gliserol eter fosfokolin yapısındadır. Fosfolipaz A₂ etkisiyle nötrofil, monosit, bazofil, endotel hücresi ve trombositlerin membran fosfolipitlerinden üretilir. PAF, hedef hücreleri, spesifik G-protein-bağlı bir reseptör yoluyla doğrudan etkiler. Trombositleri uyarmasının yanı sıra; vazokonstriksiyon ve bronkokonstriksiyona sebep olur. Vazodilatasyonun stimüle edilmesinde ve damar geçirgenliğinin arttırılmasında histaminden 100 ila 1000 kez daha güçlüdür. Lökosit adezyonunda, kemotaksiste, lökosit degranülasyonunda ve oksidatif reaksiyonlarda artışı kapsayan çoğu inflamasyon reaksiyonlarına neden olabilir (98).

2.10. SCUBE 1

SCUBE 1 (signal peptide-CUB-EGF domain-containing protein 1) SCUBE gen ailesinin, yeni tanımlanmış bir üyesidir. Memelilerde SCUBE 1' den SCUBE 3 'e kadar isimlendirilen üç farklı izoformu vardır. Bu genler, proteinin etkili yapısında en az beş tanımlanabilen motif de, 988 aminoasitle organize olmuş polipeptid molekülleri için kodlanmıştır. Bu protein N-terminal sinyal peptid (22 aminoasit) dizisini takip eden, 9 adet birbiri ardına düzenlenmiş EGF benzeri tekrarlar, büyük bir N glikolize ara bölge, 3

sisteinden zengin tekrar motifleri ve C terminalinde bir CUB alanından oluşur. SCUBE 1 salgılanabilen, erken embriyogenez süresince belirlenen hücre yüzey proteindir (99).

Western blot analizinde trombositlerdeki SCUBE 1 in moleküler kütlesi 135 kDa olarak gösterilmiştir (100). İn situ hibridizasyonla endotelde SCUBE 1 cDNA fragmanı 22q13 kromozomunda lokalize olarak bulunmuştur (101).

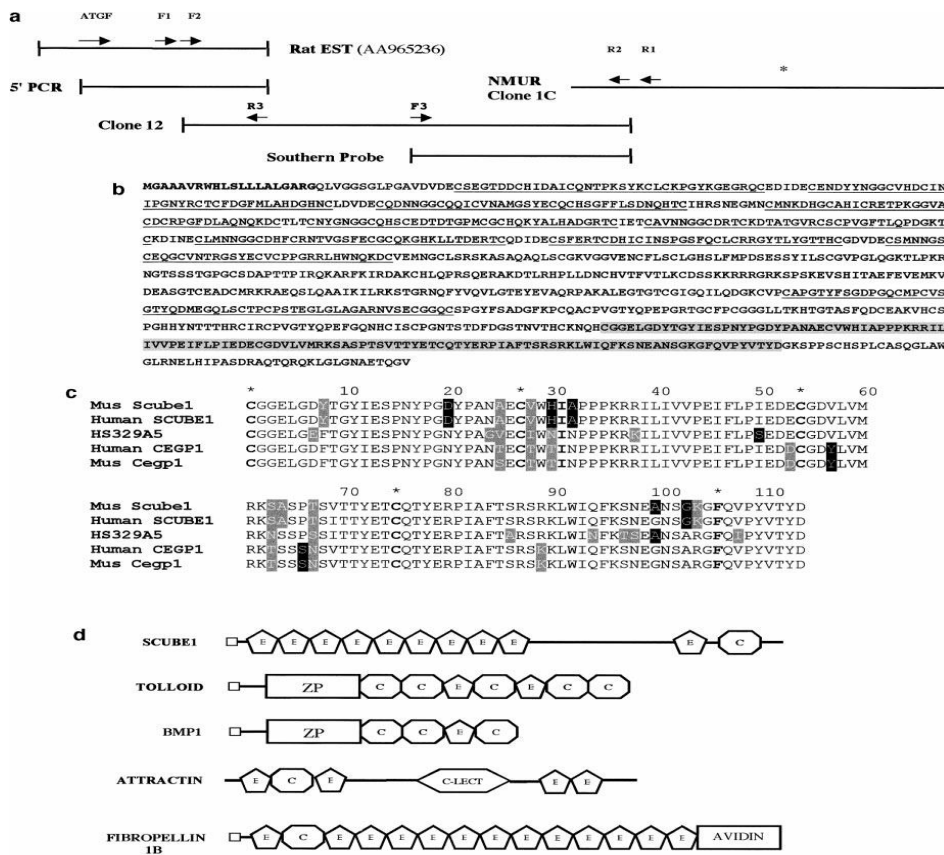
SCUBE 1 genlerinin fare embriyogenezisi sırasında ekstremite tomurcukları, gonadlar, santral sinir sistemi, dijital mezenşim ve dermomiyotom içeren dokuların gelişiminde predominant olarak salgılanarak bu dokuların gelişiminde önemli role sahip olabileceği gösterildi (99).

SCUBE 1 molekülleri, inaktif trombositlerde alfa granüller içinde depolanır, trombin aracılıklı uyarılan ve aktifleşen trombosit yüzeyine transloke olur, küçük çözünür parçalar şeklinde salgılanır ve trombüs içine katılır(102). İnsanda immunohistokimyasal olarak immunreaktif sinyalde mikrovasküler endotel hücrelerinde zayıf bir şekilde gösterilirken trombositlerde organize trombus içinde fibrinden zengin alanlarda güçlü bir şekilde gösterilmiştir (101). Endotelde sentezlenen SCUBE 1 trombus formasyonu esnasında fibrin pıhtısına hapsedikten sonra dolaşımdan efektif olarak kalkar. Trombin tarafından trombositler aktive edilirken P-selektinin yüzeyde ekspresyonunda sonucunda SCUBE 1' in de yüzeyde ekspresyonu gözlemlenir (99). Trombin trombositlerdeki SCUBE 1'in total miktarının %50 sinin sekresyonunu indükler. Aterosklerotik lezyonların subendotelial matrixinde immuno histokimyasal olarak SCUBE 1 birikimi saptanmıştır. SCUBE 1 trombosit adezyonunda fibrinojen, vWF ve fibronektini içeren ECM komponentinin proteinlerinden birisidir. SCUBE 1'in aminoterminaldeki EGF benzeri tekrarlar ve karboksil CUB fragmanları glutatyon S-transferazla yapışkan etkileşime aracılık eder. Şekil 18'de SCUBE 1 in rat ve insanlarda karşılaştırmalı açık dizilimleri gösterilmiştir (99). CUB alanı PDGF ailesinin iki yeni üyesi olarak tanımlanmış olup proteolitik ayrılımda gereklidir ve SCUBE 1 sekrete edilir edilmez, proteolitik ayrılma için substrat olabilecektir. Amino ve karboksil uçlarının eklenmesi sırasıyla FLAG ve Myc ikili bir epitopuyla işaretlenmiş SCUBE 1 HEK- 293 T hücrelerinden eksprese edilir (100).

SCUBE 1 başlıca trombositlerden derive olan matrix bağımlı veya çözünen formları trombosit-trombosit veya trombosit-matrix etkileşiminde adheziv bir rol oynayabileceği gösterilmiş olup, kardiyovasküler sistemde biyolojik olarak önemli yeni bir moleküldür (99).

Platelet aktivasyonu ve agregasyonu akut koroner sendrom (103) ve akut iskemik inmedeki (103) iskemik komplikasyonlardan sorumludur. Literatürde SCUBE 1 ile çok çalışma yapılmamıştır. DAO-FU DAİ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SCUBE 1 proteinin ACS ve LAT inmede ortalama semptomlarının başlangıcından en erken 6 saat sonra tespit edildiği pik değerleri başlangıçtan 36 saat - 60 saat olan ve başlangıçtan 96 saat den daha geç olmayan düşme olduğunu tespit etmişler, bu yüzden sensitiv olmadığı fakat akut trombotik hastalıklarda iyi bir marker olacağını belirtmişlerdir. Ancak kronik koroner arter hastalıklarında artmaz (103).

İnsan SCUBE 1'i 22q13.3 de D22S1179 ve D22S282 arasında pozisyonlandırılmış, fare SCUBE 1'in santral sinir sistem gelişiminde eksprese olduğu ve EGF motif-containing geniyle kanser progresyonu arasında ilişki araştırıldı. Bazı serilerde 22q kromozomunun delesyonu gösterilde ve bu bölgede bu SCUBE 1'in görevi onaylandı (101). Ayrıca SCUBE1 proteini nekroz olmadanda artabilmesi nedeniyle Akut İskemik İnme hastalarında tanı ve prognoz açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 18. SCUBE 1, (99).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Yaptığımız çalışma randomize kontrollü hayvan deneyidir. Deneysel çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezinde, Etik Kurul ve Deneysel Hayvanları Alt Komisyonu onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi.

Ratlar deney öncesi ve yedi gün süren tüm çalışma süresince normal gün ışığından faydalanan, 18–20°C sıcaklığa sahip laboratuarda su ve yeme istedikleri zaman ulaşabilecekleri kafesler içine tek tek yerleştirildi. On sekiz tane yaklaşık 250-300 gr. ağırlığındaki Sprague Dawley cinsi dişi rat kullanılmıştır. Ratlar 1 den 18'e kadar numaralandırılmıştır.

3.1. Deney Protokolü

Çalışmada, her biri altışar rattan oluşan toplam üç grup mevcuttu. Birinci grup ratlardan kaldırılan sağ ve sol DCIA pediküllü rektangüler dorsal ada flebinin bu pediküllerinin hiçbirini bağlanmadan, II. grupta sağ DCIA pedikülü bağlanarak, III. grupta ise flebin her iki DCIA pedikülü de bağlanarak iskemi oluşturacak şekilde plan yapıldı.

Tüm ratlarda prosedür öncesi preanestezik-analjezik, sedatif ilaç olarak 5mg/kg Xylazine ve anestezi ajanı olarak 50 mg/kg ketamin intraperitoneal yolla verildi. Anestezi derinliği iskelet kas tonusuyla izlendikten sonra, ratlar pron pozisyonda yatırıldı, ekstremiteleri lastikler ile zemine tespit edildi. Yüz üstü yatırılan hayvanın sırtı tıraş edildikten sonra flep boyutları cilt kalemi ile çizildi. Flebin alt sınırı her iki iliak krestten geçen çizgide, üst sınırı ise her iki skapula tipinden geçen çizgide, flebin sağ ve sol yanları orta hattan her iki tarafa 3 er cm uzaklıkta olan dik çizgilerle dik şekilde birleştirilerek (11cm dikey düzlem x 6 cm yatay düzlem boyutlarında) tasarlandı (Şekil 19) Çizim işleminden sonra cerrahi alan betadin (%10 povidon iyot çözeltisi) solüsyonu ile cerrahi

saha temizliği yapıldı. Tüm gruplarda çizime uygun olarak, cilt flebinin sınırları deri kası (panniculus carnosus) flebe dahil olacak şekilde kesildi.

Daha sonra flep kranial taraftan kaudal tarafa doğru, rat dorsumundaki kaslar üzerindeki kansız plandan diseke edildi. Bu sırada her iki lateral torasik ve posterior intercostal arterler kesildi, iki DCIA perforatör ortaya çıkana kadar diseksiyona devam edildi. Venöz dönüş için sol taraftaki DCIA perforatörü üzerindeki 1 cm lik cilt insize edilmedi. Böylece tüm flepler iki taraf DCIA perforatörden beslenecek şekilde kaldırılmış oldu (Şekil 20). Pedikülün etrafında ince bir bağ dokusu bırakılarak flebin pedikülünün gerilmesi engellendi. Flep 4-0 keskin ipek sütürlerle yerine dikildi (Şekil 23). Cerrahi sonrası povidon-iodin ile pansuman yapıldı. Grup 1 kontrol grubu olarak belirlenmiş olup flep kaldırıldıktan 6 saat sonra ve 7. gün kan alındı (Şekil 21). Grup 2 de sağ taraf DCIA pedikülü ipek sütür materyali ile bağlanıp 6 saat sonrave 7. gün kan alındı (Şekil 22). Grup 3 de her iki DCIA pedikülü ipeksütür materyali ile bağlanarak 6 saat sonra ve 7. Gün kan örneği alındı (Şekil 25). İlk 6. Saat kanları rat kuyruk venlerinden alındı. 7. gün kanları ise abdominal aortadan alındı. Şekil 24'de kontrol grubundaki iki rata ait fleplerin 7. gündeki nekrozları görölmektedir. Böylece her bir rat için 2 adet 1 ml kan alındı. Kanlar sitratlı tüplere konularak 1000 spm de 15 dakika boyunca santrifüj edildi.



Şekil 19. Ratlarda DCIA Perforatör Bazlı Dorsal Ada Flebinin Tasarımı



Şekil 20. DCIA Perforatörleri Üzerinden Flebin Kaldırılmış Hali, (Kontrol Grubundan Bir Rat).



Şekil 21. Kontrol Grubundan Bir Ratta Perforatörlerin Gösterilmesi



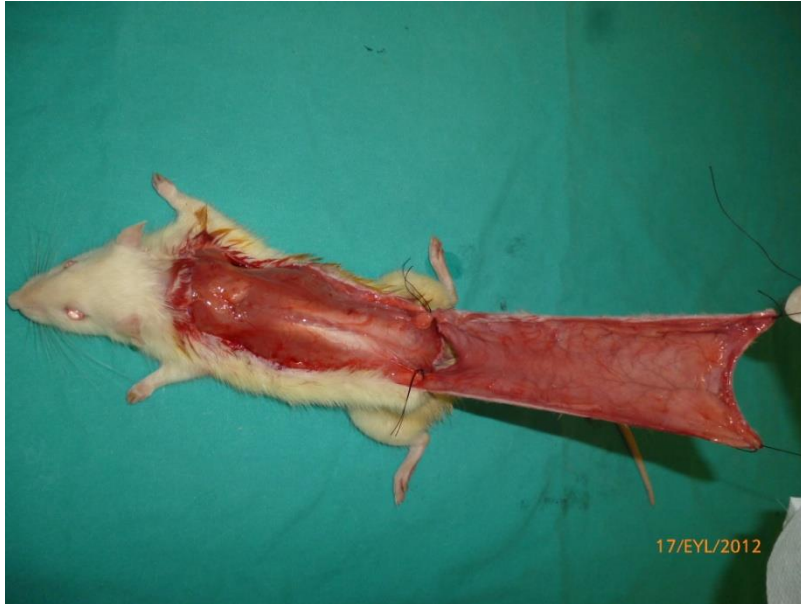
Şekil 22. Birinci Grupdaki Bir Ratta Sağ DCIA Perforatörünün Bağlanması



Şekil 23. Fleblerin Yerine Sütürasyonu



Şekil 24. Kontrol Grubundaki İki Rata Ait Fleblerin 7. Gün Görünümleri



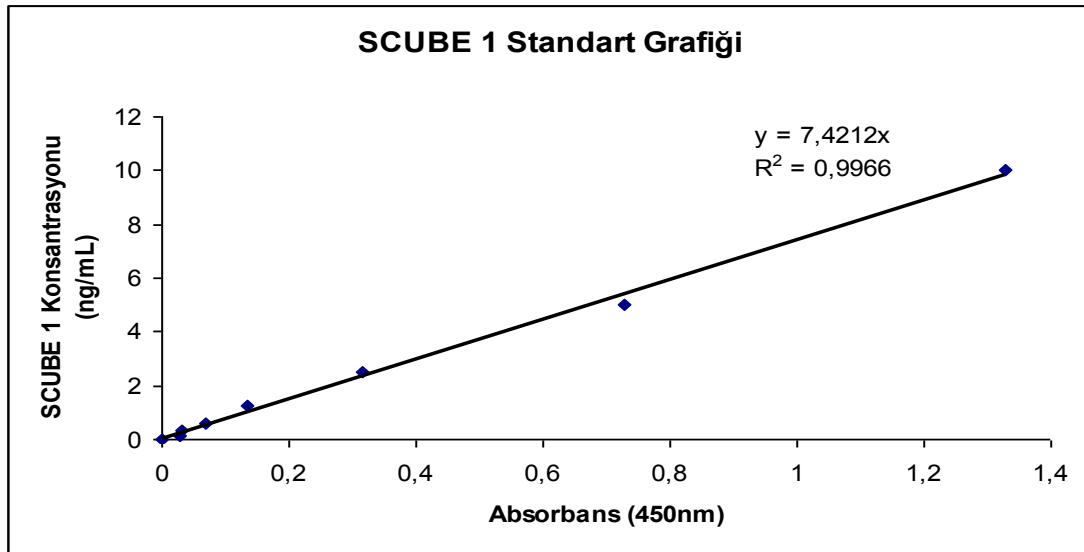
Şekil 25. İkinci Gruptaki Bir Ratta Sağ ve Sol DCIA Perforatörlerinin Bağlanması

3.2. Laboratuvar İncelemesi: SCUBE 1 Düzeyinin Belirlenmesi

Serum SCUBE 1 düzeyleri ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile ticari kit kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü (Cusabio Biotech Co., Catalog No. CSB-E16229R , P.R.China). Örnek ve reaktifler oda sıcaklığına getirildikten sonra örnekler seyreltme tamponuyla 1/10 kat seyreltilti. Çalışma pleytinde

belirlenen kuyucuklara 100 µL standart örnekleri ve seyreltilmiş rat serum örnekleri ayrı ayrı eklenerek oda sıcaklığında 2 saat 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda kuyucuklar yıkanmadan kuyucuklar içindeki sıvılar uzaklaştırıldı. Sonra her kuyucuğa 100 µL Biotin-antibody eklendi ve 1 saat 37 °C’de tekrar inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda kuyucuklar yıkama tamponuyla dört kez yıkandıktan sonra kuyucuklara 100 µL HRP-avidin çözeltisi ilave edildi ve 1 saat 37 °C’de yeniden inkübasyona bırakıldı. Tekrar yıkanan kuyucuklara 90 µL TMB substrat çözeltisi ilave edildi ve karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda reaksiyonu durdurmak için 50 µL stop solüsyonu eklendi ve absorbanslar 450 nm’de VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) mikroyok okuyucu ile ölçüldü. Rat serum örneklerine ait serum SCUBE 1 konsantrasyonları aşağıdaki standart grafiği yardımı ile hesaplandı (Tablo 2) ve sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.

Tablo 2. SCUBE 1 Standart Grafiği



3.3. İstatistiksel Verilerin Analizi

Ölçüm verilerin özetlenmesinde ortalama standart sapma değerleri kullanıldı. Gruplar arasında, SCUBE 1 değerleri yönünden karşılaştırılırken, Kruskal Wallis varyans analizi Post-Hoc karşılaştırmalarda yanılma düzeyi aşağı çekilerek Mann Whitney U testi kullanıldı. Her bir grubun zaman içindeki değişimleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

4.1.1. Serum SCUBE 1 Sonuçları

Biyokimyasal inceleme sonucunda tüm gruptaki SCUBE 1 düzeyleri, kanların alındığı zaman dilimlerine göre iki ayrı sonuçta değerlendirilmiştir. Buna göre:

SCUBE 1 (1); postoperatif 6. saatte,

SCUBE 1 (2); postoperatif 7. günde alınan periferik kandaki serum SCUBE 1 düzeylerini göstermektedir.

Çalışmamızda tüm ratlara ait SCUBE 1 değerleri Tablo 3'te gösterilmektedir. Sonuçlar incelendiğinde grup 2 (DCIA 1) SCUBE 1 değerleri 6. saat ve 7. günde diğer gruplarla karşılaştırıldığında yüksek olduğu ancak bu yksekliliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü p değerleri sırayla $P=0,692$; $P=0,055$ (Tablo 4). Gruplara ait ortalama SCUBE 1 düzeylerini gösteren bar grafiği tablo 6'de verilmiştir. Kontrol grubu SCUBE 1, 6. saat ve 7. gün ortalama değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi $P=0,600$. Aynı şekilde DCIA 1 grubu SCUBE 1, 6. saat ve 7. gün ortalama değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi $P=0,917$. Benzer şekilde DCIA 2 grubu SCUBE 1, 6. saat ve 7. gün ortalama değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi $P=0,917$.

Kontrol grubu ve DCIA 1 grubu 6. saat SCUBE 1 ortalama değerleri karşılaştırıldığında $P=0,818$ bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bu anlamsızlık 7. saat değerlerinde de mevcuttu ve $P=0,065$ şeklindeydi. Kontrol grubu ve DCIA 2 grubu 6. saat SCUBE 1 ortalama değerleri karşılaştırıldığında $P=0,485$ bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Aynı şekilde bu anlamsızlık 7. saat değerlerinde de mevcuttu ve $P=0,240$ olarak bulundu. DCIA 1 ve DCIA 2 grubu 6. saat SCUBE 1 ortalama değerleri karşılaştırıldığında $P=0,589$ bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bu anlamsızlık 7. saat değerlerinde de mevcuttu ve $P=0,065$

şeklindeydi. Grupların kendi içinde istatistiksel olarak karşılaştırıldığında elde edilen P değerleri Tablo 5’te verildi.

Tablo 3. Tüm Gruplara Ait Serum SCUBE 1 Düzeyleri

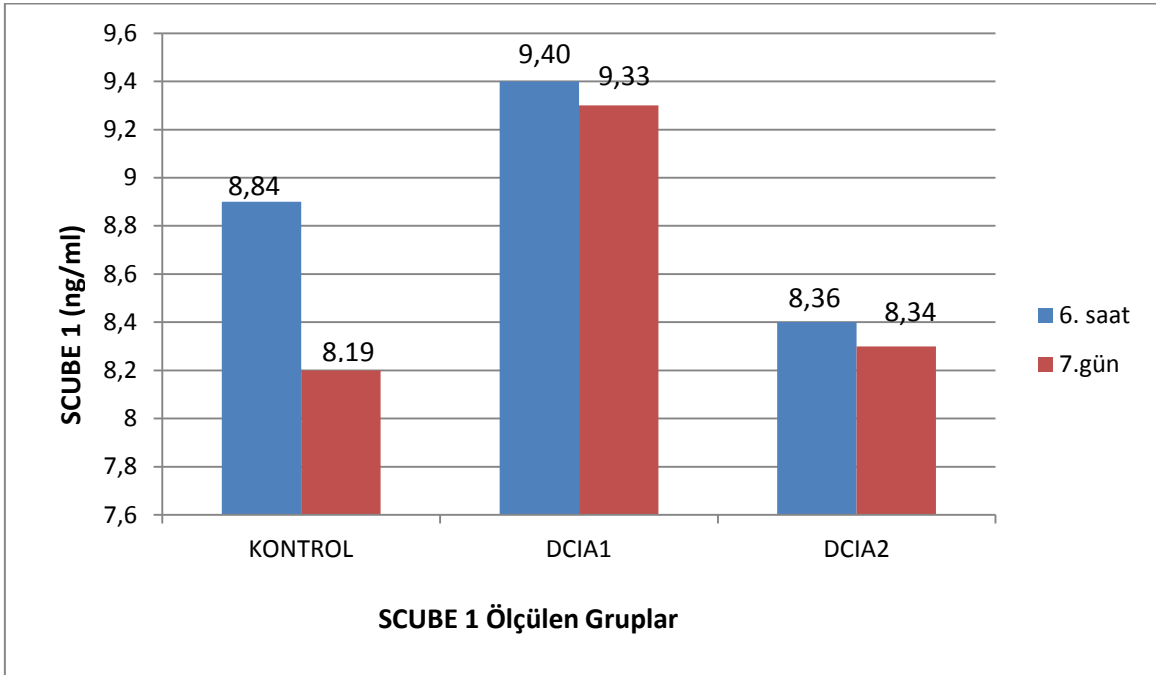
Grup adı		SCUBE 1 Değerleri (ng/mL)	
		6. saatte	7. günde
Grup 1	Kontrol-R-1	8,97	6,20
Grup 1	Kontrol-R-2	8,72	12,47
Grup 1	Kontrol-R-3	6,92	7,24
Grup 1	Kontrol-R-4	8,19	8,30
Grup 1	Kontrol-R-5	8,40	7,37
Grup 1	Kontrol-R-6	11,87	7,57
Grup 2	DCIA 1-R-1	6,54	6,22
Grup 2	DCIA 1-R-2	8,42	6,92
Grup 2	DCIA 1-R-3	11,76	4,76
Grup 2	DCIA 1-R-4	12,34	13,02
Grup 2	DCIA 1-R-5	7,67	12,37
Grup 2	DCIA 1-R-6	9,67	12,73
Grup 3	DCIA 2-R-1	8,37	7,98
Grup 3	DCIA 2-R-2	8,59	7,74
Grup 3	DCIA 2-R-3	6,89	8,70
Grup 3	DCIA 2-R-4	10,11	7,43
Grup 3	DCIA 2-R-5	8,34	8,40
Grup 3	DCIA 2-R-6	7,87	9,82

Tablo 4. Serum SCUBE 1 Ortalama Değerleri

	KONTROL	DCIA1	DCIA2	P
6. SAAT	8,9±1,6	9,4±2,3	8,4±1,0	0,692
7. GÜN	8,2±2,2	9,3±3,8	8,3±0,9	0,055
P	0,600	0,917	0,917	

Tablo 5. Grupların Kendi İçinde 6. Saat ve 7. Günde Karşılaştırıldığında Elde Edilen P Değerleri

	P	
	6. SAAT	7.GÜN
KONTROL- DCIA1	0,818	0,065
KONTROL- DCIA2	0,485	0,240
DCIA1- DCIA2	0,589	0,065

Tablo 6. SCUBE 1 Bar Grafiği

5. TARTIŞMA

Rekonstrüktif cerrahide fleblerin kullanımı cerrahi ve teknik ayrıntıların başarı oranlarında artma ile standart haline gelmiştir(104). Flap mikrosirkülasyonunun değerlendirilmesi olumlu sonuçlar elde etmede esastır, ve bu preoperatif intraoperatif ve postoperatif değerlendirmeyi içerir. Deneysel çalışmalarda tehdit altındaki flepleri kurtarmak için klinik monitörlerin kullanıldığı ve bu tehlikeye girmiş serbest fleplerin yaklaşık %77 nin kurtarıldığı gösterilmiştir (105).

Flep yaşayabilirliklerini; dolayısıyla cerrahi sonucu etkileyen intrinsik ve ekstrinsik faktörler vardır. Bu faktörler arasında flep bileşimi ve oranı, donör alan özellikleri ve çeşitli sistemik hastalılar (diyabet, periferik damar hastalıkları, sigara kullanımı) gösterilebilir (3). Buna bağlı olarak flep kayıpları tromboz, eksternal bası, damar katlanması veya hematoma nedeniyle arteriyel veya venöz blokaja bağlı olabilmektedir. Bu tür olaylardaki bir flep, vasküler pedikülündeki injurinin düzeltilmesi ve erken müdahale ile genellikle kurtarılabilir (105). Damar tıkanıklığının farkedilmesi ve anastomoz hattının revizyonuna kadar geçen kritik iskemi süresinin domuzlarda hazırlanan deri fleplerinde 7 saat olduğu bildirilmiştir. Dolaşım 8-12 saat süreyle tekrar sağlanamazsa, flebin kurtarılması imkansız hale gelir. Mevcut kanıtlar ve uzman görüşleri böyle bir operasyonda başarı şansı, kurtarmayı denemenin zamanlamasının çok önemli olduğu şeklindedir ve bu monitor tekniklerinin bir çok farklı tipiyle, tehlikedeki flep damarlarının erken tespiti ve müdahalesi ile aşılmasını gerektirir (106).

Flep monitorizasyonunda farklı tekniklerle geniş bir alan tanımlanmıştır, fakat birkaç çalışma uygun bir klinik sonucu çalışmanın primer son noktası olarak kullanmış, böylece her teknik de diğerlerinin üzerine eklenecek ipuçları elde edilmiştir. Flep monitorizasyonu için yalnız klinik izlem ya da pulse oksimetre, perfüzyon fotopletismografi, yüzey ısısının ölçülmesi, florometre, mikrodializ, ultrason, implante (Cook-Swartz) dopler probu, lazer dopler flowmetre, empedans pletismografi, konfokal mikroskopi, ortogonal polarize ışık,

nükleer tıp, subkutanöz pH ölçümü, hidrojen klirensi ve beyaz ışık spektrometri monitor teknikleri gibi cihaz gerektiren teknikler ya da kan da bakılabilen iskemi biyomarkırları kullanılır. Plastik cerrahi ünitelerinin araştırmalarında doku aktarımlarının izlemindeki monitörler için metod seçimi ve uygulamada önemli farklılıklar gösterirler (107). Bu, flep monitorizasyonu için geçerli bir altın standart olmadığını düşündürür (106).

Monitorizasyonun amacı, uzun yıllardır bilinen kısa bir peryottan sonra irreversibl hale gelebilen flep iskemisindeki iskemik bir injurinin hızlıca tanımlanmasıdır(106). 1978 de no reflow fenomeninin tanımlanması önemli bir bilgidir; reversibilite iskemi zamanıyla yakından ilişkilidir, çünkü ödem ve mikrovasküler trombozdan yalnızca birkaç saat sonra flap kurtarma umudu elimine edilir.

Creech ve Miller flep monitörü için kriterleri temel hatlarıyla özetlediler.

İdeal Monitör Teknikleri Aşağıdaki Gibi Olmalıdır

- Hasta ve flep için zararsız
- Hızlı, tekrarlanabilir, güvenilir, kaydedilebilir ve cevabı hızlı
- Doğru ve ucuz
- Objektif ve tüm flep türleri için geçerli
- Sirkülasyon bozukluğu geliştiğinde tecrubesiz personeli uyaracak basit bir ekranı olan donanıma sahip olacak (108)

Bugüne kadar ki metodların hiç birinde bu tatmin edici kriterler mevcut değildi. Bu durum monitor için mevcut tekniklerin seçimindeki genişlikle de ortadadır. Monitorun etkinliği için optimum test; kurtarma oranıdır ki bu gerçek tehlikedeki bir flebi kurtamak için erken müdahaleye izin verecek bir monitor tekniğindeki yeterlidir. Postoperatif izlemin önemli rolü pedikülün açıklığı ve vasküler anastomozun izlenmesidir.

Klinik İzlem

Flep monitörü için güncel standart monitör klinik yatak başı izlemdir. Klinik gözlem mikrocerrahi üniteleri arasında nispeten benzerdir ve flep rengi, ısısı, kapiller dolum ve kanama gibi flepteki perfüzyonunun yeterliliğinin ölçülmesidir (106). Post operatif ilk birkaç günde bu metodlarla düzenli olarak izlenen bazı ünitelerde flep kurtarma oranları %80 in üzerindedir. Ancak günümüzde bu konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında kullanımları daha kolay da olsa kan akımındaki tehlikeyi önceden

tespit edebilecek diğer monitor metodları için net endikasyonlar vardır (7). Flebin üzerine parmakla basılınca oluşan beyazlığın, parmak çekildikten sonra kaybolma süresinin uzaması, kapiller tekrar dolunun yavaşladığını ve arterial yetmezlik olduğunu gösterir. Flep renginin soluk veya beyaz olması ya da mor olması durumu kanlanma durumunda bir sorun olduğunu gösteren belirtilerdir. Ancak bu ve benzeri takiplerin süreklilik ifade etmemesi, cerrahın bu yöntemleri çok kısa aralıklarla uygulama imkanı veya zamanının olmaması, ve değerlendirmeler arasında farklar ortaya çıkması bu metodları tartışılır ve güvenilir hale sokmuştur. Hatta bazı flepler örneğin inguinal flep veya latissimus dorsi serbest flebi, ameliyat sonrası ilk günlerde tipik olarak soluk renk almaktadır. Disa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gömülü serbest fleplerde mikrosirkülasyondaki tehlikenin açıkça izlenemediğini ve kurtarma oranının % 0 olduğu vurgulanmıştır (105).

Chubb ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada venöz trombozide flep kurtarılmasının arteriyelden çok daha önemli olduğunu ve serbest flepler için alıcı alan da klinik gözlem için yanlış pozitif oranlarda etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (109). Altın standart olan bu formlar alternatif monitör teknikleriyle karşılaştırılmalı ve birleştirilmelidir.

Oximetri

Oksijenlenmiş arteriyel hemoglobinin (SaO₂) saturasyonunu değerlendirmek için çok yaygın kullanılan iyi bilinen tekniktir. Flep yaşamını değerlendirmede transkutanöz oksijen saturasyonunun implante oksimetre propları ve transflektans proplar flep yaşamını değerlendirmede başarıyla kullanılmıştır (110). Fakat flep kurtarma oranları esasında oksimetrenin klinik monitörler üzerinde açık avantajlarını gösteren yeterli çalışma yoktur.

Benzer bir teknik Near-infrared spektroskopisi (NIRS) ile umut verici sonuçlar elde edilmiş. Oksimetreye üstünlüğü; arterial ve venöz oklüzyon arasında klinik fark için doku hemoglobin içeriğini tespit edebilmesidir (111). Hashimoto ve arkadaşları flep tehlikesini tespit için daha iyi bir metod olarak CO₂ monitor (112) önermişler, ancak takip eden çalışmalar yapılmamıştır. Bu cihazların kullanımının klinik yararları henüz açık değildir.

Fotoplestismografi

Multidalgaboyu fotoplestismografik sensor; iki kızıl ötesi ve iki kırmızı seramik tepesi LEDs (Tepe emisyon dalga boyları sırasıyla 940 nm ve 660nm) ve fotodiyot (400-1100 nm arasına sensitif spektral aralıkta 7.5 mm² aktif alanı olan basit fotodiyot) (113).

SaO₂ monitör yöntemiyle benzerlik gösterir, non invazivdir, perfüzyonu tespit eder. Preoperatif intaroperatif ve postoperatif olarak başarılı şekilde kullanılmıştır. Umut vaat eden bu çok sensitif cihazların etkisini görmek için daha çok klinik çalışma gerekmektedir.

Cook-Swatz Implante Doppler Prop

Serbest flep ameliyatlarında, damar anastomozlarındaki kan akımını izlemek için kullanılan implante monitor yöntemidir. Cerrahi yaranın başında ve sonunda ince halka şeklindeki prob, yatak başında transportabil monitor ile bağlantılıdır. Eğer bir çok anastomoz yapılmışsa çeşitli problemler kullanımına uygundur. Bir damarı spesifik bir yerinden direk izlemeye izin verir, böylece pedikül direk gözlenmiş olur.

Cook-Swartz probu serbest flep operasyonlarına spesifik olarak ilk kez 1988 de geliştirilmiştir (114). Önce arteriyel anastomoz takibi için kullanıldı ama takip eden çalışmalarda, özellikle venöz tromboz takibi için venöz anastomoz alanında daha sensitif olduğu görülmüştür. Klinik izlemele karşılaştırıldığında flep kurtarma oranlarının yüksek olduğu görülmüştür (106).

Bir çalışmada bir vakada sistemdeki silikon kaf vende kinge sebep olduğu için flepde venöz tromboz görülmüştür. İki vakada dopler kristaline bağlı silikon kaf tel geri çekilirken ayrılmamıştır. Bazı vakalarda sistem çalıştırılmamıştır (8).

Cook Swartz probunda yanlış pozitiflik olabilir. Cerrah venöz pedikül etrafına probu yerleştirmeyi ve eğmeyi iyi öğrenmemiş olabilir veya prob bozuk olabilir (114). Bu problemlerden dolayı bir çok çalışma rapor edilmemiştir. Daha güvenli ve kolay teknikler için çalışmalar yapılmaktadır.

Mikrodiyaliz

Distal sonda semipermeabl bir membrana sahip çift lümenli katater dokuya yerleştirilir. Katater izotonik bir tamponla perfüze edildi. Membran boyunca konsantrasyon gradienti ekstraselüler sıvı ile tampon arasındaki düşük molekül ağırlıklı maddelerin geçişine izin verir. Diyalizat toplanmakta ve analiz edilmektedir (115). Bu tetkikte kullanılan tipik moleküller laktat, glukoz, gliserol ve piruvattır. Eğer katater yanlış yerleştirilirse katater etrafındaki hematoma veya hematoma ile ilgili sonuçlar karışabilir. Buda flep nekrozunda yanlış yorumlamaya ve gereksiz cerrahiye sebep olabilir (115).

Katater etrafındaki hematoma ultrasonla gözlemlenebilir ama bu süreklilik arz eden zaman alıcı bir işlemdir (106). Sorensen serbest jejunum flebinde flepteki tehlikeyi erkenden tanımlamak için mikrodializ kullanmıştır (116).

Bir çok otör mikrodializ ve implante ultrason gibi yöntemleri diğer klinik monitörlerle karşılaştırdığında diğerlerine üstünlüğü olan yararları gösterememişler. İzlem için tek başına mikrodializ kullanıldığında yanlış pozitiflik oranlarında artış görülmüştür. Bu teknik, yüksek yanlış pozitif oranlarına sahip olduğu için başarısızdır, diğer monitor metodlarıyla beraber kullanılmalıdır (106).

Yüzey Isı Ölçümü

Flep monitörü için kullanılan eski ve basit bir yöntemdir. 1983 de bir çalışmada flep monitörü için vasküler pediküle ısı probu yerleştirilmiş. Umut verici olsada izleyen çalışmalar yapılmamıştır. Issing ve Naumann, ısı değişikliklerini önemli bulmuşlar fakat flep iskemisinden 15 saat sonra olmuş.

Florometri

Bu teknik ilk olarak 1940 da pediküllü fleplerin yaşam alanlarını tespit etmek için kullanılmış. Çalışmalar pediküllü fleplerin yaşamlarını kesin olarak tahmin ettiğini gösterdi. Bu teknik daha sonra serbest fleplerin monitörü için kolayca uygulanmış. Silverman ve arkadaşları tarafından tanıtılan fiber-optik florometri floroseinli perfüzyon kadar eliminasyonun monitöründe izin verir (117).

Bu teknik son derece sensitiftir, pedikül içindeki trombozisin yanı sıra flep nekroz alanını tespit edebilir. Bununla birlikte potansiyel yan etkilere sahip floroseinin injeksiyonu uzmanlık gerektirir. İndosiyanin yeşili floroseinden daha daha güvenli olabilir (118). Florometri floroseinin muhtemel potansiyel yan etkilerinden dolayı popüler hale gelmemiştir.

Ultrason

Dopler ultrason pedikül akımını değerlendirmek için klinik gözlemlere ek olarak kullanılır. Implante Cook-Swartz dopler probu uygulamasından dolayı teknik olarak ayrı bir tek stant olarak değerlendirilmez. Dermal mikrosirkülasyon ölçümlerinde kullanılan kontrast harmonik ultrason (ICG-FA) ile elde edilen sonuçlarla yüksek korelasyon

göstermiştir (119). Ultrason kullanımındaki potansiyel sorunlar kontras maddeye tekrar eden maruziyet ve flep tehlikesinden klinik olarak şüphenmeyle flebin ultrasonla muayenesi arasındaki potansiyel uzun peryodu içerir.

Bu teknik sınırdaki vakalarda güvence için ve klinik değerlendirmeye ek olarak iyi bir şekilde kullanılabilir.

Laser Doppler Flowmetre

Lazer Doppler Flowmetre flepte kan akımındaki hızlanmayı tespit etmek için flebe lazer ışını veren değişik bir doplerdir ve doku perfüzyonunu ölçer. Bu metodun kullanımında olabilecek bozukluğun nedeni intertisyel olarak rastgele hücre hareketlerini bilmemek ve bunların hız ve yayılımlarını benzer varsaymaktır (120). Basit ve noninvaziv yöntemdir, gömülü flepler monitorize edilebilir ve doku kan akımının kalitatif ölçümlerini verir. Deri kan akımı monitorizasyonu olan Doppler flowmetre ile bir çok çalışmada karşılaştırma gereklidir. Flepteki tehlikenin klinik işaretleri başlamadan birkaç saat önce bir uyarı sağlar.

Empedans Pletismografi

Uygulamada elektriksel empedansla torasik kan akımı değerlendiren araştırma tekniğidir. Küçük bir elektrod dizisiyle geliştirilmiş elektrik akımı dalgası kutanöz serbest flep içinden geçer ve küçük bir volume karşı voltajı ölçer. Flep içindeki pulsatil akımların voltaj değişikliğini grafiksel oynatımla gösterir. Perfüzyonun sürekli değerlendirilmesine izin verir. Pedikül obstrüksiyonunu, pedikülün durumunu, arterial veya venöz blokajı hızlıca tespit eden invazif bir tekniktir. Diğer tekniklerle karşılaştırma yapılmamıştır (121).

Konfokal Mikroskopi

İyi bilinen laboratuvar tekniğidir. Dokularda sanal bölümler oluşturmak için lazer teknolojisi kullanılır. Serbest fleplerin kapiller bozukluğunu değerlendirmek üzere uygulanır. Postoperatif kapillerlerin değerlendirilmesi için arteriel ve venöz perfüzyondaki tehlikeyi değerlendiren bir araçtır. Bu teknikle ilgili klinik çalışma yoktur ileri araştırmalar gerektirmektedir (122).

Ortogonal Polarize Işık

Derideki mikrosirkülasyonun durumunu tespit için polarize ışık kullanılan tekniktir. Polarize yeşil ışık (548nm) deri üzerinde parlar ve bu ışık belirli bir oranda kaynaktan geriye doğru yansır. Işığın orijinal polarizasyonu için 90 derecede direk ışık içinden geçen bir ışın ayırıcı ikinci bir polarizer yerleştirilir. Görüntülenebilen hemoglobin tarafından Rayleigh saçılması yoluyla yalnızca ışıktaki polarizasyon değişikliği geçirir. Flep nekrozunun doğru tahmini için hayvan çalışmalarında bu teknik kullanılmıştır ve bir çok araştırmacı tarafından önerilmiştir. Ancak serbest flep monitorizasyonunda bu modelin kullanıldığı klinik çalışma yoktur (123).

Nükleer Tıp

Doku perfüzyonunun direk ölçümü için radyoaktif izotoplar kullanılabilir. İzotopun injeksiyonundan sonra sintigrafi ile ölçümler yapılabilir. İzotopların metabolik olarak inaktif olduğu ve dokulara serbestçe difüze olduğu varsayılır. Bu tekniğin bir avantajı parsiyel flep hipoperfüzyonu alanını gösterebilmesidir.

Kullanılan izotoplar ^{85}Kr , ^{133}Xe , ^{22}Na ve $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dur. Aygıt ve Sarıkaya flep yaşamını göstermede bu tekniğin başarısını gösterdiler. Fakat bir takım problemlerle karşılaşmış. İzotopun difüzyonuna izin vermek için radyoaktif maddenin injeksiyonu ile sintigrafi arasında makul bir zaman olmalı. Bu zaman geçikmesi flep kurtarma oranlarını iyileştirmez ve klinik yararı azaltır. Özellikle vaskülarize kemik aktarımlarında ameliyat sonrası 5-7 günler arasında yapılan teknisyum 99 kemik skeni, güvenilir ve faydalı sonuçlar vermektedir ancak ideal yöntem, hem gözle görülebilen hem de vücut içine gömülen, dıştan görülemeyen fleplerin de takibine olanak sağlamalıdır (106).

pH Ölçümü

Raskin ve arkadaşları ilk olarak taşınabilir implante pH monitorunu tanımlamışlar. Hayvan çalışmaları arteriel oklüzyon başlangıcından kısa bir süre sonra ve başka bir çalışmada da venöz oklüzyon sırasında pH değerlerinin düştüğünü gösterir. Hızlı ucuz devamlı bir şekilde kullanılabilir. pH ölçümleri pediküldeki tehlikeyle doku asidozu arasındaki geçikmeden dolayı flep tehlikesinin tanısında geçikmeye sebep olabilir (106).

Hidrojen Klirensi

Bu teknik dokulardaki H_2 konsantrasyonlarının vücuttaki empedans değişikliği nedeniyle kullanılır. İlgili dokulardaki H_2 konsantrasyonlarındaki bozulma elektrotlar tarafından kaydedilir. Klirensin matematiksel analizi doku 100 g başına milimetre cinsinden dakikadaki kan akım değerleri olarak ifade edilir. Doku perfüzyonunun ölçümünde nispeten basit güvenilirdir ve gömülü fleplerde zamandaki bir çok noktada ölçülebilir sonuçlar sağlayabilir. Bu teknik için daha çok çalışmalar gereklidir (106).

Flep yaşamından endişelendiğinde bunu göstermek için bir çok klinik parametre olmasına rağmen bu tekniklerin klinik çalışmaları yoktur veya yok denecek kadar azdır.

Akut iskemik bir durumun diyagnozunda çok önemli zorluklardan biri irreversibl injürü meydana gelmeden önce iskemik süreci erken tespit edebilecek biyomarkırların teşhisidir. Oysaki sadece kan alma yöntemiyle bakılabilecek pratikte kullanılan güvenilir biyokimyasal iskemi parametreleri vardır ancak sayısı oldukça azdır. Çağdaş tıp da akut bir iskemi markırını varlığı karşılanmamış büyük bir ihtiyaçtır (124).

İskemi sonrası serum FFA seviyeleri adipoz doku lipolizisin artması ve yağ asit tüketiminin azalması sonucunda artar. Bundan dolayı serum FFA seviyelerinin ölçümleri kardiyak injürünün erken tespitinde önerilir ki bu nekroz biyomarkırlarından daha önceki bir değişikliktir. Alan M. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada perkutanöz transluminal koroner anjioplasti (PTCA) geçiren hastalarda ADIFAB kullanılarak serum bağlanmamış FFA seviyelerine bakıldı. Prosedürden 5 dakika önce ve 30 dakika sonra FFA seviyelerine bakıldı. 22 hastanın tümünde post-PTCA seviyeleri pre-PTCA seviyelerinden çok daha yüksek bulundu (125,126).

Miyokart iskemili hastalardaki serum albuminin cobalt için metal bağlama kapasitesi sağlıklı kişilerdeki albuminden daha düşüktür (127).

İskemia modifiye albumin (IMA) ve myeloperoksidaz ACS da kullanılmak için Food and Drug Administration onayı almıştır, fakat klinik kullanımı sınırlıdır. Bununla birlikte İMA daha geniş bir veritabanına sahiptir (124).

Livaoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada rektus abdominus kas flebi yaşayabilirliği ile serum IMA seviyeleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Flep iskemisi oluşturulduğunda ilk 1. saateki yükseklik anlamlı bulundu (128). Gündüz ve arkadaşları mezenterik iskemi ve serebrovasküler olaylarda ve, Türedi ve arkadaşları pulmoner

emboli de IMA seviyelerindeki yüksekliği göstermişlerdir (69). Ancak kesin bir iskemi markırı ifadesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Cubedo ve arkadaşları akut miyokart infarktüsünün erken fazında ki hastalarda Apolipoprotein J (Apo J) nin serum profilinde değişiklikler tespit ettiler. Apo J anti inflamatuar özellikleri olan HDL ilişkili bir glikoproteindir ve iskemik bir proçesde, glukolize serum izoformları düşer. Esrarengiz olan Apo J nin biyolojik önemi henüz pusludur (129).

Biz çalışmamızda sadece kan alma yöntemiyle bakılabilecek, yeni bir iskemi parametresi olan SCUBE 1 in, bu amaçla kullanılabileceğini düşündük.

ACS (Akut Koroner Sendrom) veya AIS(Akut İskemik İnme) nın erken değerlendirilmesinde iskemi kesin olarak dışlanamaz (89). Hücre injurisinin sürecinden ziyade hücre ölümüne odaklanıldığından, nekrozu önlemek için, kabiliyetimizi kaybettik (124).

SCUBE 1 erken embriyogenez sırasında üreilmeye başlanan, trombosit ve endotel hücrelerinde bulunan hücre yüzey glikoproteindir. SCUBE 1 hücre yüzeyine yapışan oligomerlerden oluşmaktadır. İmmunhistokimyasal çalışmalarda ilerlemiş aterosklerotik lezyonu olan hastaların subendotelyal matriksinde SCUBE 1 birikimi gözlenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda SCUBE 1 proteininin yeni platelet – endotelyal adhezyon molekülü olarak kullanılabileceği ve akut koroner sendromda myokardiyal iskemi, akut iskemi ataklara bağlı iskemi, periferik damar oklüzyonuna bağlı iskemi ve iskelet kası iskemisinde patolojik rol alabileceği düşünölmektedir (103).

Akut koroner sendrom troponin ile dışlanmayabilir. Strok alanlarında hiçbir marker olmaması ile daha ileri görüntöleme yöntemlerinin kullanılması (komputorize tomografi/manyetik rezonans anjiografik görüntöleme ve perfüzyon çalışmaları) hem zaman hemde değişikliklerde yorumlama yapmak için ve böylece cerebral olayları hızlıca dışlamak için çok zordur (124).

6. SONUÇ

SCUBE 1 biyolojisi iskeminin oluşumu ile tutarlı görünmektedir. Ancak bizim çalışmamızda sadece grup ikide yükseklik bulunmasına rağmen sonuç anlamlı çıkmamıştır. Böylece dorsal ada fleplerindeki iskeminin belirlenmesiyle SCUBE 1 değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığından dolayı perforatör fleplerde bir iskemi markırı olarak kullanılamıyacağını düşündük.

SCUBE 1'in henüz çok yeni bir markır olması, yapılan çalışma sayısının az olmasından dolayı kullanımı kısıtlanabilir. Daha kapsamlı ve ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

RATLARDA DORSAL ADA FLEBİ YAŞAYABİLİRLİĞİ İLE SCUBE 1 (Signal Peptide-CUB-EGF Domain-Containing Protein 1)DEĞERLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Amaç: Flep hazırlandıktan sonra gerek ameliyat sırasında gerekse ameliyat sonrası devrede oluşabilecek komplikasyonların erken devrede tespiti ve flebin nekroz olmadan kurtarılması, flebin bir takım yöntemler kullanılarak kısa aralıklarla yakından takibine bağlıdır. Bunun için bir çok değişik yöntem kullanılmaktadır. İdeal yöntem, hem gözle görülebilen hem de vücut içine gömülen, dıştan görülemeyen fleplerin de takibine olanak sağlamalıdır. Flep nekrozu başlamadan nekrozu gösterebilecek bir parametre erken önlem alınmasını sağlayabilecektir. Bu da ikinci bir prosedurdan vakaları kurtarmış olacaktır. Flep monitorizasyonunda birçok klinik parametre olmasına rağmen pratikte kullanılan güvenilir biyokimyasal parametre sayısı oldukça azdır. Bu amaçla sadece kan alma yöntemiyle bakılabilecek yeni bir iskemi parametresi olan SCUBE 1'in bu amaçla kullanılabileceğini düşündük.

Yöntem: Bu çalışmada ratlarda dorsal ada flep yaşayabilirliği ile SCUBE 1 değerleri arasındaki ilişki değerlendirildi. Bunun için her biri altışar rattan oluşan toplam üç grup oluşturuldu. Birinci grup ratlardan kaldırılan sağ ve sol DCIA pediküllü rektanguler dorsal ada flebinin bu pediküllerinin hiçbirini bağlanmadan, II. grupta sağ DCIA pedikülü bağlanarak, III. grupta ise flebin her iki DCIA pedikülü de bağlanarak iskemi oluşturacak şekilde plan yapıldı. Cerrahi prosedürü izleyen postoperatif 6. saate ve 7. günde serum SCUBE 1 ne bakıldı. Her bir grup arasında ve iki farklı zamanda ki SCUBE 1 değerleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Sadece DCIA'in tek taraflı bağlandığı ikinci grup postoperatif 6. saat ve 7. Gün SCUBE 1 değerlerinde yükseklik örüldü. Ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$)

Sonuç: SCUBE 1 perforatör fleplerde biyokimyasal bir iskemi markırını olarak kullanılmamalıdır.

8. SUMMARY

THE RELATIONSHIP BETWEEN DORSAL ISLAND SKIN FLAP VIABILITY AND VALUE OF SIGNAL PEPTIDE –CUB- EGF DOMAIN CONTAINING PROTEIN 1(SCUBE 1) LEVELS IN RATS

Objectives: Early identification of complications that may arise after flap preparation, during or after surgery, and saving the flap without necrosis developing depends on monitoring of the flap at close intervals using a variety of methods. Several different techniques can be employed. The ideal technique will permit monitoring of both visible flaps and also those placed inside the body and invisible from the outside. A parameter that can show necrosis before it begins will permit early precautions to be taken. And that will spare cases a second procedure. Although there are several clinical parameters in flap monitorization, the number of biochemical markers that can reliably be used in practice is very low. We thought that SCUBE 1, a novel parameter of ischemia that can be tested simply through blood collection, could be used for that purpose.

Methods: This study evaluated the relation between dorsal island flap viability and SCUBE 1 values in rats. Three groups consisting of six rats each were established. Right and left dorsal island flaps pedicled on the DCIA were harvested from the first group with no clamping of any pedicle. Ischemia was established by clamping the right pedicle in the second group and both DCIA pedicles in the third group. Serum SCUBE 1 levels were examined at the 6th hour and 7th day following the surgical procedure. SCUBE 1 values were compared between the groups and at both different times.

Results: Elevation in SCUBE 1 levels were seen at the 6th hour and 7th day postoperatively in the second group, in which the DCIA was clamped unilaterally. However, this was not statistically significant ($p>0.05$)

Conclusion: SCUBE 1 should not be used as a biochemical marker of ischemia in perforator flaps.

9. KAYNAKLAR

1. Thorhe CH. Techniques and principles in plastic surgery. In: Aston SJ, Beasley RW, Bartlett SP, Thorhe CH. (Eds.). Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th Edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 2007.
2. Hoopes JE. Pedicle flaps-An overview. In: Krizek J, Hoopes JE (Eds.). Symposium on Basic Science in Plastic Surgery. St Louis, Mosby, vol 15, 28; 241-259, 1976.
3. Nezami B. G, Talab S. S, Emami H, Assa S, Rasouli M. R, Asadi s, Tavangar S. M. And Dehpour A.R. Chronic Upregulation of the Endogenous Opioid System Impairs the Skin Flap Survival in Rats, 2009 Nov, Annals of Plastic Surgery: 63(5):558-563
4. Gill PS, Hunt JP, Guerra AB, Dellacroce FJ, Sullivan SK, Boraski J, Metzinger SE, Dupin CL, Allen RJ. A 10-year retrospective review of 758 DIEP flaps for breast reconstruction. Plast Reconstr Surg. 2004 April; 113(4): 1153-60.
5. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin surgery. In: McCarthy JG. (Ed). Plastic Surgery. Philadelphia. WB Saunders, 1990: 275-328.
6. Celik N, Wei FC. Technical tips in perforator flap harvest. Clin Plast Surg. 2003 Jul; 30(3):469-72.
7. Whitaker IS, Gulati V, Ross GL, Menon A, Ong TK. Variations in the postoperative management of free tissue transfers to the head and neck in the United Kingdom. Br J Oral Maxillofac Surg 2007;45:16e8.
8. Smit J.m, Klein S, Jong E.H, Zeebregts C.J, Bock G.H, Werker P.M.N, Value of the Implantable Doppler system in Free Flap Monitoring, [http:// dx.doi.org/10.1016/j.bjps.2012.03.016](http://dx.doi.org/10.1016/j.bjps.2012.03.016) (erişim tarihi: 4 Nisan 2012)
9. Dai DF, Thajeb P, Tu CF, Chiang FT, Chen CH, Yang RB, Chen JJ. Plasma concentration of SCUBE1, a novel platelet protein, is elevated in patients with acute coronary syndrome and ischemic stroke. J Am Coll Cardiol. 2008 Jun 3;51(22):2173-80.
10. Erkan M. Perforatör fleplerde arteriyal supercharging ve venöz superdrainage gerekli mi? Abdominal flep modelinde hemodinamik bir çalışma, (Tıpta Uzmanlık Tezi, Tez danışmanı: Erçöçen AR). Cumhuriyet üniversitesi. Sivas. 2008.

11. Geddes CR., Morris SF., Neligan PC. Perforator flaps evolution, classification, and applications. *Ann Plast Surg.* 2003 Jan; 50(1): 90-9.
12. Vedder NB. Flap physiology. In: Mathes SJ (Eds.), *Plastic Surgery.* 2th Edidion. Saunders Elsevier. Philadelphia, 483-506, 2006.
13. Santoni Rugiu P, Sykes PJ. A history of plastic surgery. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2007.
14. Mathes SJ, Hansen SL. Flap classification and applications. In: Mathes SJ (Eds.), *Plastic Surgery.* 2th Edidion. Saunders Elsevier. Philadelphia, 365-481, 2006.
15. Morain WD. Historical perspectives. In: Mathes SJ (Eds.), *Plastic Surgery.* 2th Edidion. Saunders Elsevier. Philadelphia, 27 -34, 2006.
16. Koshima I, Soeda S. Inferior epigastric artery skin flaps without rektus abdominis muscle. *Br J Plast Surg.* 1989; 42: 645-648
17. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin surgery. In: McCarthy JG. (Ed). *Plastic Surgery.* Philadelphia. WB Saunders, 1990: 275-328.
18. 25. Manchot C. *The Cutaneous Arteries of the Human Body.* New York: Springer-Verlag, 1983
19. Spalteholz W. Die vertheilung der blutgefasse in der haut. *Arch Anat.* 1893.
20. Salmon M. Arteries of the skin. In: Taylor GI, Tempest M, eds. London: Churchill-Livingstone; 1988
21. Taylor GI, Dahar S. Vascular territories. In: Mathes SJ (Eds.), *Plastic Surgery.* 2th Edidion. Saunders Elsevier. Philadelphia, 2006, 317-363.
22. Lamberty B.G.H., Healy C.: *Flaps : Physiology , principles of design and pitfalls. Mastery of Plastic Reconstructive Surgery.* Ed.: Cohen M. Little ,Brown and Company, Boston, New York, Toronto, London, 1994; 1th Ed. 56-70
23. Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories(angiosomes) of the body: Experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg.* 1987; 40:113-141
24. Unthank JL, Sheridan KM, Dalsing MC. (2004). Collateral growth in the peripheral circulation: a review. *Vasc Endovascular Surg* 38:291-313
25. Khmelewski E, Becker A, Meinertz T, Ito WD.(2004). Tissue resident cells play a dominant role in arteriogenesis and concomitant macrophage accumulation. *Circ Res* 95:E56-E64.

26. Van Royen N, Piek JJ, Schaper W, Bode C, Buschmann I. (2001). Arteriogenesis: mechanisms and modulation of collateral artery development. *J Nucl Cardiol* 8:687-693
27. Dhar SC, Taylor GI. (1999). The delay phenomenon: the story unfolds. *Plast Reconstr Surg* 104: 2079_2091.
28. Taylor GI. The angiomeres of the body and their supply to perforator flaps. *Clin Plast Surg*. 2003 Jul;30 (3):331-42.
29. Alagöz MŞ. Elin cilt perforatörleri: Anatomik çalışma (Anatomi Doktora Tezi, Tez danışmanı: Tüccar E). Ankara Üniversitesi. Ankara. 2007.
30. Pribaz JJ, Chan RK. Where do Perforator flaps fit in our armamentarium? *Clin Plastic Surg*. 2010; 37: 571–579.
31. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, et al: Muscle flaps' triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation. *Plast. Reconstr. Surg*. 1999;104:730-737.
32. Kerrigan CL, Wizman P, Hjortdal ve Sampalis J: Global flap ischemia: a comparison of arterial versus venous etiology. *Plast Reconstr surg* 1994;93:1485-1495, discussion 1496-1497.
33. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004;24(6):468-75. Review.
34. Angel MF, Narayanan K, Swartz WM, Ramasastry SS, Kuhns DB, Basford RE, Futrell JW. Deferoxamine increases skin flap survival: additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. *British journal of plastic surgery*. 1986; 39 (4): 469-472.
35. Vedder NB. Flap Physiology. In: Mathes SJ, Hentz VR (eds), *Plastic Surgery, Volume I*. WB Saunders Company, Philadelphia 2006; pp:483-506.
36. Blondeel PN, Van Landuyt KH, Monstrey SJ, Hamdi M, Matton GE, Allen RJ, Dupin C, Feller AM, Koshima I, Kostakoglu N, Wei FC. The “gent” consensus on perforator flap terminology preliminary definitions. *Plast Reconstr Surg*. 2003 Oct;112(5):1378-83.
37. Koshima I, Moriguchi T, Soeda S, Kawata S, Ohta S, Ikeda A. The gluteal perforator-based flap for repair of sacral pressure sores. *Plast Reconstr Surg*. 1993 Apr; 91(4): 678-83.
38. Angrigiani C, Grilli D, Siebert J. Latissimus dorsi musculocutaneous flap without muscle. *Plast Reconstr Surg*. 1995 Dec; 96 (7): 1608-1614.

39. Wei FC, Celik N. Perforator flap entity. *Clin Plast Surg.* 2003 Jul; 30(3): 325-9.
40. Feller AM, Galla TJ. The deep inferior epigastric artery perforator flap. *Clin Plast Surg.* 1998 Apr; 25(2): 197-206.
41. Hofer SO, Mureau MA. Pedicled perforator flaps in the head and neck. *Clin Plastic Surg.* 2010; 37: 627–640.
42. Hamdi M, Stillaert FB. Pedicled perforator flaps in the trunk. *Clin Plastic Surg.* 2010; 37: 655–665.
43. Sauerbier M, Unglaub F. Perforator flaps in the upper extremity. *Clin Plastic Surg.* 2010; 37: 667–676.
44. Tseng CY, Lipa JE. Perforator flaps in breast reconstruction. *Clin Plastic Surg.* 2010; 37:641–654.
45. Blondeel PN, Van Landuyt K, Hamdi M, Monstrey SJ. Perforator flap terminology: update 2002. *Clin Plast Surg.* 2003 Jul; 30(3): 343-6.
46. Dancey A, Blondeel PN. Technical tips for safe perforator vessel dissection applicable to all perforator flaps. *Clin Plastic Surg.* 2010; 37: 593–606.
47. Neligan PC, Lannon DA. Versatility of the pedicled anterolateral Thigh Flap. *Clin Plastic Surg.* 2010; 37: 677–681.
48. Kaplan JL, Allen RJ. Cost-based comparison between perforator flaps and TRAM flaps for breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Mar; 105(3): 943-8.
49. Celik N, Wei FC, Lin CH, Cheng MH, Chen HC, Jeng SF, Kuo YR. Technique and strategy in anterolateral thigh perforator flap surgery, based on an analysis of 15 complete and partial failures in 439 cases. *Plast Reconstr Surg.* 2002; 109 (7): 2211-16.
50. Demir A, Acar M, Yildiz L, Karacalar A. The effect of twisting on perforator flap viability; an experimental study in rats. *Ann Plast Surg.* 2006; 56: 186-189.
51. Kroll SS. Fat necrosis in free transverse rectus abdominis myocutaneous and deep inferior epigastricperforator flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2000: 106(3):576-83.
52. Angel MF, Narayanan K, Swartz WM, Ramasastry SS, Kuhns DB, Basford RE, Futrell JW. Deferoxamine increases skin flap survival: additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. *British journal of plastic surgery.* 1986; 39 (4): 469-472.

53. Tsuzuki K, Yanai A, Tange I, Bandoh Y. The influence of congestion and ischemia on survival of an experimental vascular pedicle Island flap. *Plast Reconstr Surg.* 1989 Nov;84(5): 789-93.
54. Kerrigan CL, Daniel RK. Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg.* 1982 Nov; 70(5): 541-9.
55. Blondeel PN, Arnstein M, Verstraete K, Depuydt K, Van Landuyt KH, Monstrey SJ, Kroll SS. Venous congestion and blood flow in free transverse rectus abdominis myocutaneous and deep inferior epigastric perforator flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Nov; 106(6):1295-9.
56. Ohara H, Kishi K, Nakajima T. Rat Dorsal Paired Island Skin Flaps: A Precise Model for Flap Survival Evaluation. 2008 Dec. *Keio J Med* 57(4) :211-216
57. McFarlane R.M, De Young G, and Henry R.A. The Design of a Pedicle Flap in the Rat to Study Necrosis and its Prevention. 1965, *Plast. Reconst. Surg.* 35:177
58. Yang D, and Morris S.F. An Extended Dorsal Island Skin Flap with Multiple Vascular Territories in the Rat: A New Skin Flap Model. *Journal of Surgical Research* 1999 March, 87, 164-170
59. Khouri R.K, Angel M.F, and Edstrom L.E. Standardizing the dorsal rat flap. *Surg.* 1986, *Forum* 37: 590
60. Khouri R.K, Edstrom L.E, and Angel M.F. The Dorsal Rat Flaps: An appraisal of the Model. *Surg.* 1986. *Forum* 37:598
61. Dunn R.M, and Mancoll J. Flaps models in the Rat: A review and reappraisal. 1992, *Plast. Reconst. Surg.* 90: 319
62. Taylor G.I, and Minabe t. The Angiosomes of Mammals and other Vertebrates. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 181
63. Kayıkcıoğlu A, Akyurek M, Safak T: The Importance of Vascular Territories Designing New Experimental Skin Flaps. *Plast. Reconst. Surg* 1998; 101: 1155-1157
64. Hoşnutol M, Kargı E, Peksoy I, Babuccu O, Payaslı C. An Ameliorated in Flap Model in Rats for Experimental Research. *J Plast. Reconst Aesthet Surg* 2006; 59: 299-303
65. Syed SA, Tasaki Y, Fujii T, Hirano A, Kobayashi K: A New Experimental Model: The Vascular Pedicle Cutaneous Flap Over the Dorsal Aspect (Flank and Hip) of the Rat. *Br J Plast. Surg.* 1992; 45: 23-25
66. May JW Jr, Chait LA, O'Brien BM, Hurley JV. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1978 Feb; 61(2): 256-67.

67. Marzella L, Jesudass RR, Manson PN, Myers RA, Bulkley GB. Functional and structural evaluation of the vasculature of skin flaps after ischemia and reperfusion. *Plast Reconstr Surg*. 1988 May;81(5):742-50.
68. Haris K, Walker P, et al. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol* 1986; 250(19):H213-H220.
69. İşlekel H, İşlekel S, Güner G: Biochemical mechanism tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. Part 1:Biochemical mechanism. *Norol Bil D*,2000. 17:2
70. Mathes SJ, Nahai F: *Reconstructive Surgery: Principles, Anatomy and Technique*. Volume 11997, 39-46.
71. Schrier RW, Burke TJ: Role of calcium-channel blockers in preventing acute and chronic renal injury. *J Cardiovasc Phar*. 1991;18 (suppl. 6): 38-43.
72. Kowaltowski AJ, et al: Ca²⁺- induced mitochondrial membrane permeabilization: role of coenzyme Q redox state. *Am J Physiol*. 1995;269 C141-147.
73. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*. 1991; 161: 488-502.
74. Carrol WR, Esclamado RM. Ischemia/reperfusion injury in microvascular surgery. *Head Neck*. 2000 Oct;22(7):700-13. Review.
75. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004;24(6):468-75. Review.
76. Khalil AA, Aziz FA, Hall JC. Reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117: 1024-33.
77. Cotran R. S, Kumar V, Collins T: *Pathologic basis of disease*, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1999, W.B. Saunders Company, pp 4-28.
78. Collard CD., Gelman S. *Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury*. *Anesthesiology* 2001; 94: 1133-8.
79. Horgan MJ, Ge M, et al: Role of ICAM-1 in neutrophil mediated vascular injury after occlusion and reperfusion. *Am J Physiol* 1991; 259:L315-L319.
80. Lefer DJ, Scalia R, et al: Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischaemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest* 1997; 4: 684-691.

81. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-7.
82. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R, Koziol JA, Zoppo DGJ. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994; 25: 1847-54.
83. Gute DC, Ishida T, et al: İnflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Moll Cell Bio* 1998; 179: 169-187
84. Carden DL, Granger DN: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255-66.
85. Kılınç K., Kılınç A: Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2002; 33: 110-118.
86. Greenstock C.L: Radiation and aging: Free radical damage, biological response and possible antioxidant intervention. *Med. Hypotheses*, 1993;41: 473-482.
87. Halliwell B: Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 1994; 344: 721-724.
88. Simpson PJ, Mickelson JK, Lucchesi BR. Free radical scavengers in myocardial ischemia. *Fed proc* 1987; 46: 2413-21
89. Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation* 1989; 80: 1115-27
90. David M.G, McCord J.M: Walking a tightrope: The balance between mitochondrial generation and scavenging of superoxide anion. *Understanding the process of aging*, ed.by/ Cadenas E., Packer L., 1st. Ed., New York, 1999, p.19.
91. Beyer RE: The participation of coenzyme Q in free radical production and antioxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 1990, 8: 545-565.
92. Utsumi K, Takehara Y, Inai Y, Yabuki M, Kanno T: Oxygen-dependent regulation of biological functions by nitric oxide. The mitochondrial production of oxygen radicals and cellular aging. *Understanding the process of aging*, ed.by/Cadenas E, Packer L., 15t . Ed., New York, 1999, p.60.
93. Nakazawa H, Fukuyama N, Takizawa S, Tsuji C, Yoshitake M, Ishida H: Nitrotyrosine formation and its role in various pathological conditions. *Free Rad. Res.* 2000, 33: 771-784.
94. Çakatay U, Telci A, Kayalı R, Tekeli F, Akçay T, Sivas A: Relation of aging with oxidative protein damage parameters in rat skeletal muscle. *Clin Biochem.* 2003; 36: 51-55.

95. Halliwell B: Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *Am. J. Med.* 1991, 91: 14-22.
96. Collard CD.,Gelman S. Pathophysiology , Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001; 94: 1133-8.
97. Carden DL, Granger DN: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255-66.
98. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Temel Patoloji. Bölüm 2: 45-90 Nobel Tıp Kitabevleri, 8.Basım. Eylül 2008
99. Tu C.F.,Yan Y.T.,Wu S.Y.,Djoko B.,Tsai T.M.,Cheng C.J.Domain and Functional Analysis of a Novel Platelet-Endothelial Cell Surface Protein,SCUBE 1.*The Journal of Biological Chemistry* Vol. 283. 2008 May.18: 12478-12488
100. Yang R.B., Domingos C.K.,Wasserman S.M.,Colman S.D.,Shenoy S.,Mehreban F.,Kömüves G.L.,Tomlinson J.E.and Topper J.N. Identification of a Novel Family of Cell-surface Proteins Expressed in Human Vascular Endothelium. *J.Biol. Chem* 2002 Nov.277:46364-46373
101. Grimmond S., Larder R., Hateren N.V., Siggers P., Hulsebos T.J.M., Arkell R.,and Greenfield. Cloning, Mapping, and Expression Analysis of a Gene Encoding a Novel Mammalian EGF-Related Protein (SCUBE 1). *Genomics.* 2000 Aug.70: 74-81
102. Yang R.B., Ng C.K., Wasserman S.M., Colman S.D., Shenoy S., Mehraban F.,Komuves L.g.,Tomlinson J.E., end Topper J.N.2002.*J. Biol. Chem.* 277: 463646373
103. Dai D.F., Thajeb P., Tu C.F., Chiang F.T., Chen C.H., Yang R.B., Chen J.J. Plasma concentration of SCUBE1, a Novel Platelet Protein, is Elevated in Patients With Acute Coronary Syndrome and İschemic Stroke.*J Am Coll Cardiol.* 2008 Jun 3;51(22):2173-80.
104. Bui D.T., Cordeiro P.G., Hu Q.Y., et al. Free flap re-exploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119: 2092Y2100.
105. Disa JJ, Cordeiro PG, Hidalgo DA. Efficacy of conventional monitoring techniques in free tissue transfer: an 11-year experience in 750 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104:97Y101
106. Chubb D., MBBS, BMedSc, Whitaker I.S., BA(Hons).Evidence for Postoperative Monitoring of Microvascular Free Flaps *Annals of Plastic Surgery.*2012 Month 00
107. Jallali N., Ridha H, Butler PE. Postoperative monitoring of free flaps in UK plastic surgery units. *Microsurgery.* 2005; 25: 469-472.

108. Creech B, Miller S. Evaluation of circulation in skin flaps. In: Grabb WC, Myers MB, eds. *Skin Flaps*. Boston, MA: Little, Brown; 1975.
109. Chubb D., Rozen W.M., Whitaker I.S., et al. The efficacy of clinical assessment in the postoperative monitoring of free flaps: a review of 1140 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg*. 125:1157-1166
110. Hirigoyen MB, Blackwell KE, Zhang WX, et al. Continuous tissue oxygen tension measurement as a monitor of free-flap viability. *Plast Reconstr Surg*. 1997; 99: 763-773
111. Holzle F, Loeffelbein DJ, Nolte D, et al. Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry. *J Craniomaxillofac Surg*. 2006; 34: 25-33.
112. Hashimoto I, Nakanishi H, Takiwaki H, et al. Flap monitoring by transcutaneous pO₂ and PCO₂: importance of transcutaneous PCO₂ in determining follow-up treatment for compromised free flaps. *J Reconstr Microsurg*. 2007; 23: 269-274.
113. Zaman T., Kyriacou P.A., Development of a Reflectance Photoplethysmographic Sensor used for the Assessment of Free Flap Perfusion. 2011 Sept. 978(1):4244-4122
114. Swartz WM, Jones NF, Cherup L, et al. Direct monitoring of microvascular anastomoses with the 20-MHz ultrasonic Doppler probe: an experimental and clinical study. *Plast Reconstr Surg*. 1988; 81: 149-161.
115. Kristensen DL., Ladefoged S.A., Sloth E., Aagaard R. Microdialysis: characterisation of haematomas in myocutaneous flaps by use of biochemical agents. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2012.03.017>
116. Sorensen HB. Free jejunal flaps can be monitored by use of microdialysis *J Reconstr Microsurg*. 2008; 24: 443-448.
117. Silverman DG, Cedrone FA, Hurford WE, et al. Monitoring tissue elimination of fluorescein with the perfusion fluorometer: a new method to assess capillary blood flow. *Surgery*. 1981; 90: 409-417.
118. Eren S, Rubben A, Krein R, et al. Assessment of microcirculation of an axial skin flap using indocyanine green fluorescence angiography. *Plast Reconstr Surg*. 1995; 96: 1636-1649.
119. Prantl L, Schmitt S, Gais S, et al. Contrast harmonic ultrasound and indocyanine-green fluorescence video angiography for evaluation of dermal and subdermal microcirculation in free parascapular flaps. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2008; 38: 31-44.

120. Yvonne-Tee GB, Rasool AH, Halim AS, et al. Noninvasive assessment of cutaneous vascular function in vivo using capillaroscopy, plethysmography and laser-Doppler instruments: its strengths and weaknesses. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34: 457-473.
121. Harrison DH, Mott G. Impedance monitoring for subcutaneous free flap transfers. *Br J Plast Surg.* 1989; 42: 318-323
122. Altintas MA, Altintas AA, Guggenheim M, et al. Monitoring of microcirculation in free transferred musculocutaneous latissimus dorsi flaps by confocal laser scanning microscopy: a promising non-invasive methodical approach. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010; 63: 111-117.
123. Olivier WA, Hazen A, Levine JP, et al. Reliable assessment of skin flap viability using orthogonal polarization imaging. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112:547-555.
124. Peacock W.F., MD, FACEP. Will SCUBE 1 Solve the Ischemia Marker Deficit? *JACC.* 2008 Jun. Vol.51, 22: 2181-2183
125. Wanderer AA. Ischemic-reperfusion syndromes: biochemical and immunologic rationale for IL-1 targeted therapy. *Clin Immunol.* 2008;128:127–132.
126. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, et al. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg.* 1983; 198: 87–90.
127. Steffen U, Eisenhardt, Yvonne Schmidt, Gezim Karaxha, Niklas Iblher. Monitoring Molecular Changes Induced by Ischemia/Reperfusion in Human Free Muscle Flap Tissue Samples. *Ann Plast Surg* 2012;68: 202–208
128. Relation between serum ischemia-modified albumin levels and rectus abdominis muscle flap viability. Livaoğlu M, Arvas L, Karaçal N, Menteşe A, Karahan SC, Sözen E. *J.Craniofac Surg.* 2011 May; 22(3): 826-9. doi: 10.1097/SCS.0b013e31820f36c8.
129. Cubedo J, Padro T, Garcia-Moll X, Pinto X, Cinca J, et al. (2011) Proteomic signature of Apolipoprotein J in the early phase of new-onset myocardial infarction. *J Proteome Res* 10: 211–20