

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

KARNOZİN VE DÜŞÜK MOLEKÜLER AĞIRLIKLİ HEPARİNİN
RATLARDA RANDOM PATERNLİ MC FARLANE FLEBİ
YAŞAYABİLİRLİĞİ VE PLAZMA SIVISINDAKİ MİKROBİAL
METABOLİTLERİNİN ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. Muhammed Emin ALDATMAZ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Erhan Cahit ÖZCAN

ELAZIĞ
2025

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Dr. Erhan Cahit Özcan

Plastik, Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Erhan Cahit ÖZCAN _____ **Danışman**

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Doç. Dr.

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda göreve başladığım ilk günümünden itibaren benden destek, birikim ve hoşgörülerini esirgemeyen zor geçirdiğim bazı zamanlarımda ve baş asistanlığımda yaptığım hatalar da yanımda duran doğrusunu gösteren tez danışmanım, sayın hocam Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Dr. Erhan Cahit Özcan a daima minnettar kalacağım.

Asistanlık eğitimim boyunca bana sonsuz emekleri geçen, tüm bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, vakalarımızda tüm asistan arkadaşlarımıza da desteğini her zaman veren sayın hocam Doç. Dr. M. İhsan OKUR'a sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım. Asistanlık eğitimim boyunca, bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, yanlışlarımızı bize gösteren ve daha iyi bir cerrah olma yolunda her zaman desteklerini veren ve de zor anlarımda hayat tecrübesi ile bana her zaman nasihatlarla bulunan değerli abim ve sayın hocam Dr. Fatih Çakır'a teşekkür ediyorum.

Uzun yıllar birlikte çalıştığım ve pek çok anıları paylaştığım, Anabilim Dalımızda görev yapan araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tezimin deneysel çalışmalarında benden yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. İbrahim Rahimli başta olmak üzere, Dr. Vahap Kara ve Dr. Gökhan Karagöz'e teşekkür ediyorum.

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım servis ve ameliyathane hemşirelerine ve en başta kıymetli cerrahi baş hemşiremiz, bir çoğumuzun değerli ablası sayın Aytül Sönmez'e zor zamanlarımda yanımda durduğu, bilgi ve tecrübesini her zaman bana kattığı için sonsuz teşekkür ediyorum.

Tezimin biyokimyasal çalışmalarını yapan Fırat üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Prof. Dr. Süleyman Aydın ve patolojik çalışmalarını yapan Fırat Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İbrahim Hanifi Özercan'a teşekkür ediyorum

Tez sürecimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, karşıma çıkan zorluklarda desteğini esirgemeyen, bir telefon uzağımızda olan sayın Dr. Ebru Gökdere'ye, istatistiksel çalışmasında bana yardımlarını sunan, yorumlamama katkı sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Gökhan Gökdere'ye teşekkür ediyorum.

ÖZET

Ratlarda deneysel mc farlane deri flebi modeli oluşturularak, Karnozin ve DMAH uygulamasının deri flebinde yaşayabilirlik üzerindeki etkisi ile biyokimyasal ve patolojik parametrelerle korelasyonunu değerlendirmektir.

Bu çalışmada 40 adet yaşları 0.5-1 aralığında olan Sprague Dawley türü hepsi aynı üreme döngüsü evresinde olan dişi cinsiyette rat kullanılacaktır. Çalışmadaki amacımız Karnozin ve DMAH ın random deri flep yaşayabilirliği ve plazmadaki mikrobial metobilitler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla denekler 4 gruba ayrılacaktır.

Grup 1 Deney grubu (n=10): Bu gruptaki deneklere çalışmanın 0. Günü sırt bölgesinden 3x9 cm boyutunda kaudal tabanlı random patternli dorsal cilt flebi kaldırılıp yerine tekrar iade edilecektir.7 gün boyunca günlük yara bakımı povidon iyotla yapılacaktır.

Grup 2 Karnozin grubu(n=10): Bu gruptaki deneklere grup 1 deki işlemlerin aynısı yapıp Postop 0. Gün dahil olmak kaydıyla günlük Karnozin 100mg/kg/gün dozdan intraperitoneal yolu ile uygulanacaktır.

Grup 3 DMAH grubu(n=10): Bu gruptaki deneylere grup 1 deki işlemlerin aynısı yapıp postop 0.gün dahil olmakla günlük DMAH her gün aynı şekilde 1mg/kg/gün subkutan olarak uygulanacaktır.

Grup 4 Karnozin ve DMAH (n=10): Bu gruptaki deneylere grup 1 deki işlemlerin aynısı yapıp her gün ilaçlar kombine bir şekilde grup 2 ve grup 3 de gösterilen şekilde uygulanacaktır.

Yedi günlük tedavi sonunda tüm hayvanların flepleri dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflanarak flep yaşayan alanı/flep total alanı topografik ölçümleri yapılacaktır. Flep bazının 5 cm distalinden ve nekroz sınırından anestezi altında histopatolojik incelemeler için kesitler alındıktan sonra hayvanlar dekapite edilerek mikrobial metabolitlerin araştırılması adına biyokimyasal paremetlerin çalışılması için kan örnekleri alınıp, denekler sakrifiye edilecektir.

Flep cerrahisinin en büyük sorunlarından biri flep nekrozu ve beraberinde getirdiği morbiditeler, hastane yatış sürelerinde uzama ve tekrar eden cerrahiler plastik cerrahinin en büyük uğraş alanlarındanıdır. Yaygın olarak kullanılan random paternli fleplerde de flep nekrozu kısmi veya tam olarak yaşanmaktadır. Flep beslenmesi

üzerine daha önce birçok çalışma ve farmakolojik ajan tedavisi bulunmasına rağmen Karnozin ve DMAH ın birlikte de kullanılarak random paternli flep sağkalımı üzerine ve araştırmamızda bahsi geçen biyokimyasal parametler üzerine etkisi daha önce çalışılmamıştır. Bu çalışmada iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulduktan sonra, DMAH ve Karnozinin flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkilerinin olduğu ve yukarda bahsi geçen biyokimyasal parametrelerin kontrol grubu ile değerlendirildiğinde en çok DMAH ve Karnozin verilen grupta yüksek çıkmıştır. Bu artışın iskemi tedavisinde Karnozin ve DMAH uygulama alanı bulduğunda önemli bir biyobelirteç olarak tedavinin etkinliğini ortaya koymada rolü olacağını düşünmekteyiz. Patolojik değerlendirme de nekroz, inflamasyon, ödem parametrelerinin karnozin ve kombin ilaç verilen gruplarındaki şiddet düzeyi düşüklüğü, ilaçların antienflamatuvar ve antioksidan etkinliğine bağlanmıştır.

Postoperatif 7. gün yapılan yaşayabilirlik değerlendirmesinde Karnozin ve DMAH verilen grupların yaşayan flep oranının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Histopatolojik olarak da Karnozin ve Kombin ilaç verilen grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede birim alanda daha az enflamatuvar hücre, daha az ödem ve nekroz olduğu bulundu. Biyokimyasal parametrelerde ise en çok DMAH verilen grupta ardından Karnozin verilen grupta değerler yüksek izlendi.

Çalışmamızda postoperatif 7 gün boyunca devam edilen 100 mg/kg/gün Karnozin ve 1mg/kg/gün DMAH'ın sistemik uygulamasının flep yaşayabilirliğini arttırdığı gösterilmiştir. Flep cerrahisi planlanan hastalara operasyon sonrası sistemik bir şekilde bu ilaçların tek tek ya da kombin şekilde uygulaması ile komplikasyonların, hastanede yatış süresinin, ek cerrahi girişimlerin azalacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Random paternli flep, Karnozin, Düşük moleküler ağırlıklı heparin, Mikrobiyal Metabolit

ABSTRACT

THE EFFECT OF CARNOSINE AND LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN ON RANDOM PATTERN MC FARLANE FLAP VIABILITY AND MICROBIAL METABOLITES IN PLASMA FLUID IN RATS

The aim of this study is to evaluate the effects of Carnosine and DMAH on the viability of skin flaps in an experimental McFarlane skin flap model in rats and to assess their correlation with biochemical and pathological parameters.

This study will include 40 female Sprague Dawley rats, aged between 0.5 and 1 year, all in the same reproductive cycle stage. The objective is to investigate the effects of Carnosine and DMAH on random skin flap viability and plasma microbial metabolites. For this purpose, the subjects will be divided into four groups:

Group 1 (Control Group) (n=10): On day 0 of the study, a 3×9 cm caudally based random-pattern dorsal skin flap will be elevated and then repositioned. Daily wound care with povidone-iodine will be performed for 7 days.

Group 2 (Carnosine Group) (n=10): The same procedures as in Group 1 will be applied, and in addition, Carnosine will be administered intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg/day, starting from postoperative day 0.

Group 3 (DMAH Group) (n=10): The same procedures as in Group 1 will be applied, and in addition, DMAH will be administered subcutaneously at a dose of 1 mg/kg/day, starting from postoperative day 0.

Group 4 (Carnosine + DMAH Group) (n=10): The same procedures as in Group 1 will be applied, and both drugs will be administered in combination as described in Groups 2 and 3.

After seven days of treatment, all animals' flaps will be photographed using a digital camera, and topographic measurements of the flap survival area relative to the total flap area will be performed. Under anesthesia, tissue sections will be taken from 5 cm distal to the flap base and from the necrotic boundary for histopathological examination. Afterward, the animals will be decapitated, and blood samples will be collected for biochemical parameter analysis to investigate microbial metabolites. The subjects will then be sacrificed.

One of the biggest challenges in flap surgery is flap necrosis, which leads to increased morbidity, prolonged hospital stays, and the need for repeated surgeries,

making it a major concern in plastic surgery. In commonly used random-pattern flaps, partial or complete flap necrosis frequently occurs. Although numerous studies and pharmacological treatments have been conducted on flap perfusion, the combined effect of Carnosine and DMAH on random-pattern flap survival and the biochemical parameters mentioned in this study has not been previously investigated. In this study, after establishing the ischemia-reperfusion model, Carnosine and DMAH were found to have a positive effect on flap viability. Additionally, when the biochemical parameters were compared with the control group, the highest values were observed in the group that received both DMAH and Carnosine. We believe that this increase could serve as an important biomarker in evaluating the efficacy of treatment once Carnosine and DMAH find their application in ischemia treatment. Histopathological evaluation revealed that necrosis, inflammation, and edema severity were lower in the Carnosine and combination therapy groups, suggesting that the drugs exerted anti-inflammatory and antioxidant effects.

On postoperative day 7, flap viability assessment demonstrated that the surviving flap area was significantly higher in the Carnosine and DMAH-treated groups compared to the control group. Histopathological analysis also showed that the Carnosine and combination therapy groups had statistically significantly fewer inflammatory cells, less edema, and reduced necrosis per unit area than the control group. Regarding biochemical parameters, the highest values were observed in the DMAH group, followed by the Carnosine group.

This study demonstrates that the systemic administration of 100 mg/kg/day Carnosine and 1 mg/kg/day DMAH for 7 days postoperatively improves flap survival. It is believed that systemic administration of these drugs, either individually or in combination, after surgery in patients undergoing flap procedures may reduce complications, hospital stay duration, and the need for additional surgical interventions.

Key words: Random patterned flap, Carnosine, Low molecular weight heparin, Microbial metabolite

İÇİNDEKİLER

DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Deri Anatomisi ve Kanlanması	5
1.2. Flep Fizyolojisi	6
1.3. Flep Dizaynı	7
1.3.1. Random Paternli Flap	7
1.3.2. Aksiyal Paternli Flap	8
1.3.3. Fasyokütanöz Flap	9
1.3.4. Kas Flebi	9
1.4. Fleplerin Harekete Göre Sınıflandırılması	11
1.4.1. Pediküllü Flep, Serbest Flep Ve Perforatör Flep Tanımlamaları	11
1.4.2. Flepte Delay Fenomeni	13
1.4.3. Flap Patofizyolojisi	14
1.4.3.1. Flep Yetmezliği Ve Farmakolojisi	14
1.4.3.1.1. Flep Yetmezliğinde Trombozis ve Vazospazmın Rolü	14
1.4.3.2. Flep Cerrahisinde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patogenezinde Ksantin Dehidrojenaz/Ksantin Oksidaz Enzim Sistemi	16
1.4.3.3. Flep Cerrahisinde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patogenezinde Nötrofilik Nikotinamid Adenin Difosfat (NADPH) Ve Myeloperoksidaz (MPO) Enzim Sistemi	17
1.4.3.4. Flep Cerrahisinde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patogenezinde Hücre İçi Ca ²⁺ Artışının Rolü	18
1.4.4. Flep Cerrahisinde No-Reflow Fenomeni	19

1.4.5. Flep Cerrahisinde Canlılığı Arttırmak İçin Kullanılan Medikal Tedaviler	20
1.4.5.1. Pediküllü Flep Cerrahisinde Kullanılan Medikal Tedaviler	20
1.4.5.2. Free Flap Cerrahisinde Kullanılan Medikal Tedaviler	20
1.4.5.2.1. Antikoagülan Ajanlar	20
1.4.5.2.2. Trombolitik Ajanlar	22
1.4.5.2.3. Antispazmodik Ajanlar	22
1.4.6. Mc Farlane Flebi	22
1.5. Karnozin Ve Etki Mekanizması	23
1.6. Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin Ve Etki Mekanizması	26
1.6.1. Etki Mekanizması Ve Farmakokinetik	27
1.6.2. DMAH Yan Etkileri	28
1.6.2.1. Kanama	28
1.6.2.2. Heparinin İndüklediği Trombositopeni	29
1.6.2.3. Karaciğere Yan Etkisi	29
1.6.2.4. Endokrin Sistemine Yan Etkisi	29
1.6.2.5. Osteoporoz	30
1.6.2.6. Dermatolojik Komplikasyonlar	30
1.7. Mikrobiyal Metabolitler	30
1.7.1. Trimethylamine-N-Oxide (TMAO)	32
1.7.2. İndoxyl Sulfate	33
1.7.3. S-Equol	34
1.8. İnflamasyon ve İnflamasyon Belirteçleri	36
1.8.1. Maresin-1	37
1.8.1.1. Maresin-1 in İnflamatuvar Hastalıklardaki Rolü	38
1.8.1.1.1. Nörolojik Hastalıklar	38
1.8.1.1.2. Ağrı	39
1.8.1.1.3. Solunum Hastalıkları	40
1.8.1.1.4. Diyabet Ve Obezite	41
1.8.1.1.5. Karaciğer E Olan Etkisi	41
1.8.1.1.6. Artrit	42
1.8.1.1.7. Enfeksiyöz Hastalıklar	42

1.8.1.1.8. Kardiyovasküler Hastalıklar	42
1.8.2. Relaxin	43
1.8.2.1. Relaxin Aile Peptidlerinin Yapısı	45
1.8.2.2. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Kimyasal Sentezi	46
1.8.2.2.3. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Reseptör Yapısı	47
1.8.2.2.3. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Roller	48
1.8.2.2.3.1. Relaxin-1 Ve Relaxin-2	48
1.8.2.2.3.2. Relaxin-3	51
2. GEREÇ VE YÖNTEM	52
2.1. Denekler, Barınma Ve Beslenme	52
2.2. Deneysel Protokol	52
2.2.1. Cerrahi Öncesi Hazırlık	52
2.2.2. Cerrahi Yöntem	52
2.2.3. Grup 1 (Kontrol)	54
2.2.4. Grup 2 (Karnozin)	54
2.2.5. Grup 3 (DMAH)	54
3.2.6. Grup 4 (Karnozin Ve DMAH)	54
3. BULGULAR	55
3.1. Fleplerde Nekrotik Ve Yaşayan Alanların Değerlendirilmesi	55
3.2. Fleplerin Yaşayan Ve Nekroz Olanların Topografik Olarak Değerlendirilmesi	59
3.3. Histopatolojik Değerlendirme	63
3.4. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçlarının Gruplara Göre Analizi	65
3.5. Patolojik Örneklerin Mikroskop Altındaki Görüntüsü	75
3.6. Biyokimyasal İnceleme	77
4. TARTIŞMA	83
5. KAYNAKLAR	104
6. ÖZGEÇMİŞ	142

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Fasiyokütan fleplerin Cormack ve Lamberty sınıflandırması	9
Tablo 2. Fleplerin hareket tipine göre sınıflandırılması	11
Tablo 3. Maresin-1'in dendritik hücreler (DC'ler) / makrofajlar, T hücreleri / düzenleyici T hücreleri ve nötrofiller üzerindeki etkileri	38
Tablo 4. Relaxin ailesi peptitlerinin reseptörleri, bilinen in vivo fonksiyonları ve terapötik potansiyeli	44
Tablo 5. Kontrol grubundaki topografik inceleme sonuçları	59
Tablo 6. Karnozin grubundaki topografik inceleme sonuçları	60
Tablo 7. DMAH grubundaki topografik inceleme sonuçları	60
Tablo 8. Kombine grubundaki topografik inceleme sonuçları	60
Tablo 9. Grupların TFA göre dağılımları	61
Tablo 10. Grupların YFA göre dağılımları	61
Tablo 11. Grupların YFA/TFA oranına göre dağılımları	62
Tablo 12. Kontrol grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi	64
Tablo 13. Karnozin grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi	64
Tablo 14. DMAH grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi	65
Tablo 15. Kombine grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi	65
Tablo 16. Gruplara göre histopatolojik nekroz (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	66
Tablo 17. Gruplara göre histopatolojik nekroz (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	67
Tablo 18. Gruplara göre histopatolojik inflamasyon (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	68
Tablo 19. Gruplara göre histopatolojik inflamasyon (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	69
Tablo 20. Gruplara göre histopatolojik ödem (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	71
Tablo 21. Gruplara göre histopatolojik ödem (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	72

Tablo 22. Gruplara göre histopatolojik damarlanma artışı (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	73
Tablo 23. Gruplara göre histopatolojik damarlanma artışı (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları	74
Tablo 24. Kontrol Grubu Biyokimyasal İnceleme	77
Tablo 25. Karnozin Verilen Grubun Biyokimyasal İnceleme	77
Tablo 26. Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin (DMAH) Verilen Grubun Biyokimyasal İncelemesi	78
Tablo 27. DMAH Ve Karnozin Verilen Grubun Biyokimyasal İncelemesi	78
Tablo 28. Grupların Indoxyl Sülfate göre dağılımları	78
Tablo 29. Grupların TMAO göre dağılımları	79
Tablo 30. Grupların S-Equal a göre dağılımları	80
Tablo 31. Grupların Maresin-1 göre dağılımları	81
Tablo 32. Grupların Relaxin göre dağılımları	82

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Cilt ve subkutan dokunun vasküler pleksusları.	5
Şekil 2.	Papiller dermal pleksusu gösteren çizimsel cilt kesiti.	7
Şekil 3.	Kapiller perfüzyon basıncı doep vasküler pleorustaki arteriküllerin kritik kapanma basıncının altına düştüğünde flep distal kısmı nekroza uğrar	8
Şekil 4.	Mathes ve Nehal sınıflandırması. Vasküler anatomi paterni: Tip I, tek vasküler pedikül; Tip II, dominant pedikül(ler) ve minör pediküller; tip III, iki baskın pedikül; tip IV, segmental vasküler pediküller; tip V, bir dominant pedikül ve bir ikincil segmental pedikül	10
Şekil 5.	Perfärozumun vasküler anatomisi	13
Şeki 6.	Cerrahi bir gecikme ile ve gecikme olmadan aynı flebin diyagramatik temsili	13
Şekil 7.	Cerrahi travma sonrası damar düzeyinde meydana gelen değışiklikler	15
Şekil 8.	İskemik dokuların reperfüzyonunda oksijen kaynaklı serbest radikallerin patogenezi.	16
Şekil 9.	İçsel Ca^{2+} aşırı yüklenmesinin iskemi-reperfüzyon hasarının patogenezindeki rolü.	18
Şekil 10.	Kaudal (üste) ve Cranial (altta) bazlı flep elevasyonu	23
Şekil 11.	Karnozinin yapısı	24
Şekil 12.	Karnozinin özellikleri (gerçek ve potansiyel) ve olası uygulamaları	26
Şekil 13.	Klinik kullanım için potansiyel terapötik değere sahip mikrobiyomla ilişkilendirilmiş metabolitlerin tanımlanması ve karakterizasyonunda son ilerlemeler	31
Şekil 14.	S-equol'ün vasküler endotel ve düz kas hücreleri üzerindeki etkileri	34
Şekil 15.	Relaxin peptit ailesi	43
Şakil 16.	Relaxin Aile Peptidlerinin Yapısı	45
Şekil 17.	Her bir relaxin peptit aile üyesi için temel dizilimler	46
Şekil 18.	Relaxin Ailesi Peptidlerinin Reseptör Yapısı	47
Şekil 19.	Relaxin ailesi peptidlerinin tip I GPCR'lerin sınıflandırması	48
Şekil 20.	Flebin preop görünümü ve ölçümü	53
Şekil 21.	Flep insizyonu	53
Şekil 22.	Flebin pannikulus karnosus kasını içerecek şekilde eleve edilmesi	53

Şekil 23. Flebin 4.0 prolene ile yerine iade edilip sütüre edilmesi.	53
Şekil 24. Kontrol grubundan bir örnek.	55
Şekil 25. Karnozin verilen gruptan bir örnek.	56
Şekil 26. Düşük moleküler ağırlıklı heparin verilen gruptan bir örnek.	56
Şekil 27. Düşük moleküler ağırlıklı heparin ve Karnozin verilen gruptan bir örnek	57
Şekil 28. Kontrol grubuna ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması	57
Şekil 29. Karnozin Grubuna ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması	58
Şekil 30. Kombine gruba ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması	58
Şekil 31. Düşük moleküler ağırlıklı heparin verilen gruba ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması	59
Şekil 32. Gruplardaki TFA ortalamaları	61
Şekil 33. Gruplardaki YFA ortalamaları	62
Şekil 34. Gruplardaki YFA/TFA oranlarının ortalamaları	63
Şekil 35. Histopatolojik nekroz (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	67
Şekil 36. Histopatolojik nekroz (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	68
Şekil 37. Histopatolojik İnflamasyon (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	69
Şekil 38. Histopatolojik İnflamasyon (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	70
Şekil 39. Histopatolojik Ödem (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	71
Şekil 40. Histopatolojik Ödem (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	72
Şekil 41. Histopatolojik Damarlanma Artışı (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	73
Şekil 42. Histopatolojik Damarlanma Artışı (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım	74
Şekil 43. Kontrol grubuna ait görüntü, subepitelyal bölgede nekroz, yaygın nötrofil infiltrasyonu ve ödem artışı izlenmektedir. Ok ile gösterilen yer subepitelyal nekroz hattı.	75
Şekil 44. Düşük moleküler ağırlıklı heparin verilen gruba ait görüntü. Yoğun inflamasyon ve ödem artışı izlenmekte. Ok ile gösterilen yerler sırasıyla ödem ve yoğun nötrofil gruplarını temsil ediyor.	75

Şekil 45. Karnozin grubuna ait görüntü. Subepitelyal düzeyde hafif şiddette nekroz ve damarlanma artışı izlenmekte. Ok ile gösterilen yerde damarlanma artışı mevcuttur.	76
Şekil 46. Düşük moleküler ağırlıklı heparin ve karnozin verilen gruba ait örnek.	76
Şekil 47. Gruplardaki Indoxyl Sülfate değerlerinin ortalamaları	79
Şekil 48. Gruplardaki TMAO değerlerinin ortalamaları	80
Şekil 49. Gruplardaki S-Equol değerlerinin ortalamaları	81
Şekil 50. Gruplardaki Maresin-1 değerlerinin ortalamaları	82
Şekil 51. Gruplardaki Relaxin değerlerinin ortalamaları	82



KISALTMALAR LİSTESİ

5HT2	: Serotonin
Ah3	: Arilhidrokarbon Resöptörü
ATP	: Adenozin Trifosfat
AXO3	: Arabinozilan Reseptörü
BAEC	: Bovine Aortik Endotel Hücreleri
CAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
Cu +2	: Bakır
DCIA	: Derin Sirkumfleks İliak Arter
DMAH	: Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin
EDCF	: Endotel Kaynaklı Kasılma Faktörü
EDRF	: Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü
ET-1	: Endotelin-1
FMO3	: Flavın Monooksijenaz
H2O2	: Hidrojen Peroksit
HASMC	: İnsan Aort Düz Kas Hücreleri
HBO	: Hiperbarik Oksijen
HUVEC	: İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücreleri
ICA	: İnterkostal Arter
IPA	: İndolpropionik Asit
IRI	: İskemi Reperfüzyon Hasarı
MDA	: Malondialdehid
MPO	: Myeloperoksidaz
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NE	: Norepinefrin
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
O2.	: Superoksit Radikali

OH	: Hidroksil Radikali
PGI2	: Prostatiklin
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
SOD	: Superoksit Dismutaz
TDA	: Torakodorsal Arter
TMAO	: Trimethylamine N Oksit
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
TRPV1	: Geçici Reseptör Potansiyel V1
TxA2	: Tromboksan A2
UFH	: Unfraksiyonel Heparin
Zn+2	: Çinko

1. GİRİŞ

Doku fleplerinin hazırlanması, plastik cerrahide merkezi cerrahi tekniklerden biridir ve kullanımda birçok seçenek ve varyasyon bulunur, geniş bir endikasyon yelpazesini kapsar. Flep cerrahisinin birincil amacı genellikle eksik dokuyu yeniden oluşturmak ve vücudun formunu ve işlevini geri kazandırmaktır, ancak ikincil faydalar da flep cerrahisi yapılma kararına katkıda bulunabilir. Örneğin, iyi kanlanmış kas dokusu, osteomyelit gibi doku enfeksiyonlarıyla mücadelede, ölü alanın ortadan kaldırılması ve yumuşak doku örtüsünün yeniden yapılandırılmasının yanı sıra kritik bir faktör olabilir (1).

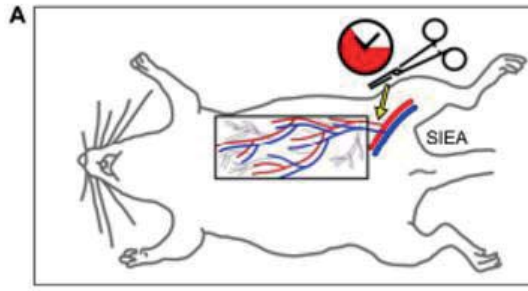
Flep cerrahisi, ancak, yara açılması, yara ayrılması veya kısmi nekroz gibi çeşitli komplikasyonlarla ilişkilidir ve bu komplikasyonların görülme sıklığı %50'ye kadar çıkabilmektedir (2).

Random paternli fleplerde kan akışı, flep tabanından geçen dermal pleksus ve/veya musküler arteriyoller tarafından sağlanır. Bu nedenle, fleplerin planlanması, doku bileşimi ve hazırlık bölgesine bağlı olarak belirli uzunluk-genişlik oranları göz önünde bulundurularak yapılır (3,4)

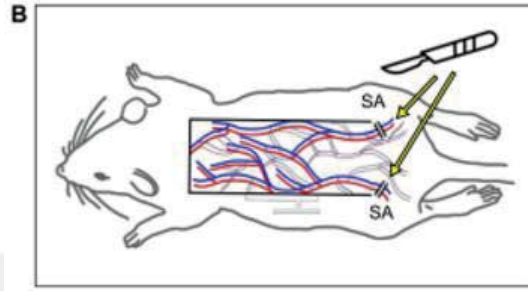
Flep kaldırılmasından sonra doku perfüzyonundaki değişikliklere katkıda bulunan ek faktörler çok çeşitlidir ve bunlar arasında sempatik denervasyonun etkileri, lokal inflamatuvar değişiklikler, artan interstisyel basınç ve flebin yara yatağından gelen neovaskülarizasyonu yer alır (5).

Bu nedenle, iskemiye bağlı hücre ölümünün dışında kalan mekanizmalar da flep doku hasarına katkıda bulunabilir. Örneğin, değişen akış hızları ve proinflamatuvar mediatörler, hem mikrotromboz hem de istilacı bağışıklık hücrelerinden kaynaklanan damar tıkanıklığı nedeniyle kapiller obstrüksiyona yol açabilecek protrombotik bir ortam oluşturur (6).

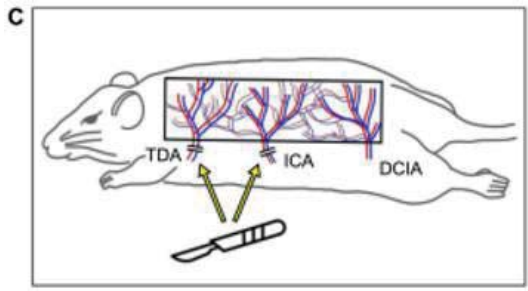
Serbest flep transferi sırasında, doku ek olarak, flebin alıcı bölgeye taşınması ve vasküler anastomozun yapılması sırasında tam iskemi dönemine maruz kalmak zorundadır. Kan akışının yeniden sağlanmasının ardından, doku reoksijenasyonu, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu ve lökositik inflamasyon nedeniyle, paradoksal olarak ek hücre hasarına yol açabilir; bu durum iskemik–reperfüzyon yaralanması (IRI) olarak da adlandırılmaktadır (7).



Yüzeysel alt epigastrik arter flebi, flebe kan akışının geçici olarak kesilmesini sağlar.



Rastgele model “McFarlane” flebi, hayvanın sırtında tasarlanmıştır. Çoğu çalışmada, flep tabanı kaudal olarak yerleştirilir ve distal flep nekrozunu sağlamak için her iki sakral arter (SA) ligatür edilir.



Daha yeni kurulan çok alanlı dorsal perforatör flebi, torakodorsal (TDA), interkostal (ICA) ve derin çevresel iliak arterin (DCIA) besleme bölgelerini kapsamaktadır. Flebi, DCIA'nın vasküler eksenı boyunca kaldırarak bu model, perforatör fleplerin fizyolojisini simüle eder

Doku hasarına yanıt olarak, sitokinler, doku bütünlüğünü yeniden sağlama amacını güden inflamatuvar bir reaksiyonu başlatmada ve sürdürmede kritik öneme sahiptir (8). Ancak, iskemik flep durumunda, bu inflamatuvar reaksiyon, reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınması ve endotel permeabilitesinin artmasıyla hipoksik doku üzerindeki stresi daha da artırarak doku ödeminin oluşumuna yol açar (9). Bu nedenle, inflamatuvar sitokinlerin salınımı ve bağışıklık hücrelerinin, özellikle nötrofilik granülositlerin, invazyonu, flep ile ilişkili iskemik-reperfüzyon yaralanmasının (IRI) belirgin bir özelliğidir (10).

İskemik hücreler veya istilacı nötrofilik granülositler tarafından oluşturulan reaktif oksijen türleri (ROS), flep dokusuna zarar verme konusunda olumsuz bir rol oynamaktadır (11).

Belirli bir miktar reaktif oksijen türü (ROS), yeterli hücrel sinyalizasyon ve apoptozun düzenlenmesi için gerekli olsa da, aşırı ROS ve diğer serbest radikallerin varlığı dokuya zarar verebilir (12).

Hücrelerin antioksidan savunmaları tükendiğinde, reaktif oksijen türleri (ROS), DNA iplikçiklerinin kırılmasına neden olarak veya proteinleri oksitleyip inaktif hale getirerek fizyolojik hücrel mekanizmaları bozmaya başlar (13).

İskemiye maruz kalan bölgede doku hasarına serbest oksijen radikallerinin “Reactive Oxygene Species (ROS)” ve nötrofil birikiminin neden olduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Bu toksisiteyi önlemek amacıyla çeşitli deneysel modellerde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, allopurinol, vitamin-C, deksametazon, karnozin, heparin ve deferroksamin kullanımının etkileri araştırılmıştır.

Karnozin, histidin ve beta alanin den oluşan bir amino asit dipeptididir ve ilk olarak 1900 yılında Gulewitsch ve Amiradzibi tarafından etten izole edilmiştir. Bu doğal olarak oluşan peptid, beyin de dahil olmak üzere çeşitli organlarda bulunur ve özellikle glial ve ependimal hücrelerde yer alır (14). Karnozinin, inme için potansiyel bir tedavi ajanı olarak son zamanlarda dikkat çekmesi, nöroprotektif yeteneklerinin gösterilmesinden kaynaklanmıştır. Önceki in vitro ve in vivo çalışmalar, karnosinin antioksidan özelliklere, sitozolik tamponlama işlevlerine ve metal/iyon şelatlama yeteneklerine sahip olduğunu ve glutamat kaynaklı toksisiteye karşı koruma sağladığını göstermiştir (15).

Son yıllarda, karnozinin iskemik beyin hasarına karşı koruyucu olduğunu gösteren sağlam bir kanıt temeli birikmiştir. Örneğin, karnozinin, kültürlenmiş nöronları oksijen ve glukoz yoksunluğundan koruduğu ve global ile serebral iskemiye içeren hayvan modellerinde nöroprotektif özellikler sergilediği gösterilmiştir (16).

Daha önce, karnozinin, reaktif oksijen türleri ve metaloproteinaz proteinlerinin seviyelerinin azaltılması gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla beyni serebral iskemiden koruduğunu gösterilmiştir (17). İlginç bir şekilde, karnozin gibi, bu bileşikler de antioksidan, proton tamponlama ve metal şelatlama yetenekleri sergilemektedir. Bu durumun, bu tür bileşiklerin iskemik beyinde koruyucu bir rolü olabileceğini önermektedir (18).

Düşük moleküler ağırlıklı heparinler (LMWH), biyolojik, farmakodinamik, farmakokinetik ve antikoagülan profillerinde ölçülebilir farklılıklara yol açan belirli

yapısal ve kimyasal varyasyonlara sahip heterojen bir antikoagülan sınıfıdır (19, 20). Düşük moleküler ağırlıklı heparinler (LMWH), tromboembolik ve iskemik inme, periferik arter hastalığı, perkütan girişimler ve gebelik, kanser, sepsis, transplantasyon ve iltihaplı hastalıklarla ilişkili trombotik süreçlerin yönetimi için trombolitik ve antiplatelet ajanların etkilerini kolaylaştırmak amacıyla da kullanılmaktadır (21). Düşük moleküler ağırlıklı heparinler (LMWH), depolimerizasyon yoluyla üretilen, D-glukozamin ve glukuronik veya iduronik asitlerin alternatif polimerleri ile karakterize edilen, unfractionated heparin (UFH) glikozaminoglikan parçalarıdır (22). Tüm düşük moleküler ağırlıklı heparinler (LMWH), unfractionated heparin (UFH) üzerinde bulunan antitrombin III'e özgü pentasakarit birimlerini içerir (21). Düşük moleküler ağırlıklı heparinler (LMWH), antitrombin III'e bağlanarak hem faktör Xa hem de faktör IIa (trombin) üzerinde inhibe edici etki gösterir, ancak faktör Xa üzerinde daha güçlü inhibitörlerdir. Ayrıca, antitrombin bağımsız etkileri artırarak doku faktörü yolunu inhibe edici salınımı, adezyon moleküllerinin modülasyonu, kan damarlarından profibrinolitik ve antitrombotik medyatörlerin salınımı, von Willebrand faktörünün salınımının baskılanması, heparin koaktör II ile etkileşim ve protein bağlanmasını teşvik ederler (23).

Genel olarak, düşük moleküler ağırlıklı heparinler (LMWH), esas olarak faktör Xa ve trombinin inhibe eder, unfractionated heparin (UFH) ile karşılaştırıldığında anti-Xa'ya karşı anti-IIa aktivite oranı daha yüksektir ve heparin koaktör II, platelet faktör 4, von Willebrand faktörü ve vasküler endotelyuma karşı daha düşük bir afiniteye sahiptir (24).

Bu özellikler nedeniyle, düşük moleküler ağırlıklı heparinlerin (LMWH), unfractionated heparin (UFH) ile karşılaştırıldığında daha az hemorajik yan etki indüklemesi ve eşit antikoagülan etkinliği koruması beklenmektedir. Ayrıca, LMWH, plateletlerle UFH'den daha az güçlü etkileşimde bulunur ve vasküler geçirgenlik üzerinde etkisi yoktur (25).

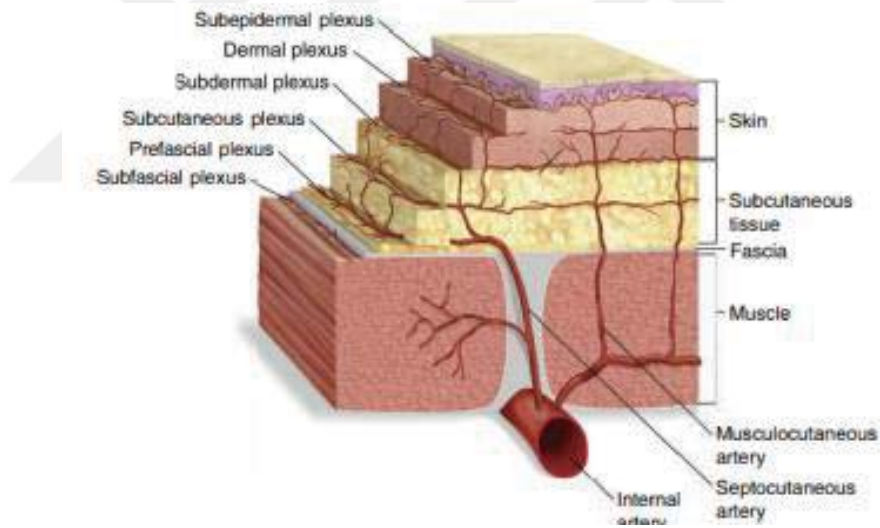
Buradan yola çıkılarak çalışmamızda vasküler dolaşımdaki vazospazm, pıhtılaşma gibi sirkülasyon bozukluğu üzerinde etkili olan DMAH ile birlikte iskemi modeli oluşturduktan sonra oluşabilecek hasarı önlemek veya en aza indirmek amacıyla bir antioksidan olan Karnozin'in kombine olarak kullanımının organizmada

inflamasyon düzeyi, nekroz/iskemi derecesi, mikrobiyata metabolitleri ve oksidasyon parametreleri üzerinde olumlu ya da olumsuz sonuçları araştırılmak istenmiştir.

1.1. Deri Anatomisi ve Kanlanması

Deri, tüm memeli yaşamı için gerekli olan önemli bir organ sistemidir. Kişiden kişiye değiştiği gibi vücudun bir bölgesinden diğerine renk, doku, kalınlık ve adneksiyal yapılar (kıl kökleri, yağ bezleri, ter bezleri, sinirler ve damarlar) açısından da farklılık gösterir. Tüysüz (pürüzsüz, kılsız) veya tüylü (tüylü) olabilir. Deri iki katmana ayrılır: epidermis (yüzeysel) ve dermis (derin) (Şekil 1) (1)

Deride iki vasküler pleksus vardır: derin vasküler pleksus ve yüzeysel vasküler pleksus (Şekil 2). Subdermal pleksus olarak da adlandırılan derin vasküler pleksus, dermis ve deri altı yağın birleştiği yerde bulunur. Retiküler dermisin üst kısmında yer alan yüzeysel vasküler pleksus, dermal papilladaki kılcak halkaların oluşmasına neden olur (26).



Şekil 1. Cilt ve subkutan dokunun vasküler pleksusları.

Cilde kan akışını sağlayan üç ana bölgesel yolak vardır: muskülokutanöz arterler, doğrudan kutanöz arterler ve septokutanöz arterler. Muskülokutanöz arterler, daha derin kas arterlerinden çıkan perforatör damarlardır. Bu arterler, ilgili kas dokusundan geçip subkutan yağ dokusuna girer ve nihayetinde subdermal ve dermal pleksuslara drene olurlar. Doğrudan kutanöz arterler, muskülokutanöz arterlere göre daha az yaygındır. Genellikle belirli, isimlendirilmiş arterler veya bu arterlerin dallarıdır ve ciltle paralel bir düzlemde subkutan dokular boyunca ilerlerler.

Doğrudan kutanöz arterlerin vücudun belirli bölgeleriyle sınırlı olduğu tanımlanmıştır ve genellikle venae comitantes olarak bilinen venlerle birlikte seyrederler. Septokutanöz arterlerden dallanabilseler de, genellikle daha büyük arterlerin isimlendirilmiş dallarıdır. Örnekler arasında süperfisiyal temporal arterin parietal ve frontal dalları, posterior auriküler arter, oksipital arter, supratroklear arter ve supraorbital arter yer alır (27).

Septokutanöz arterler, kas segmentlerini ayıran fasyal septalar boyunca ilerleyerek cilde kan akışı sağlarlar. Bu arterlerin fasyokutanöz bileşeni, deri yüzeyine paralel olarak süperfisiyal kas fasyasının üzerinde ve/veya altında seyreder ve genellikle bir çift venle birlikte bulunurlar (28).

Bu üç arter kaynağının tümü, yüzeysel yumuşak dokularda bulunan zengin pleksus ağının bileşenlerine drene olur

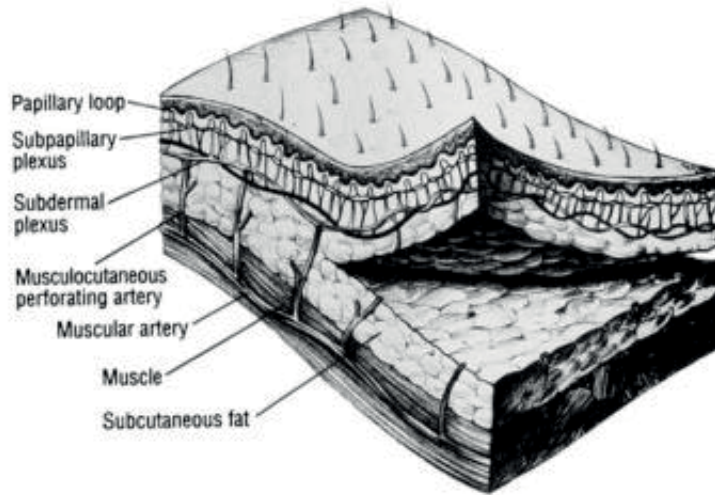
1.2. Flep Fizyolojisi

Deri vasküler anatomisi ve fizyolojisi hakkında kapsamlı bilgi sahibi olmak, lokal flep cerrahisinin önemli bir parçasıdır. Cilde damar desteği iki fonksiyona hizmet eder: beslenme desteği ve termoregülasyon. Büyük ölçüde prekapiller sfinkterler tarafından düzenlenen kılcak ağ, beslenme desteğini belirler. Prekapiller sfinkterler, lokal hipoksemiye ve metabolik yan ürünlerdeki artışa yanıt olarak vazodilatasyon yapar (29). Termoregülasyon arteriyovenöz şantlar tarafından kontrol edilir. Arteriyovenöz şantlar ve sistemik kan basıncı, prearteriyovenöz şant sfinkteri tarafından düzenlenir (30).

Normal sıcaklıklarda cilt üzerinden akan kanın akış hızının, yeterli doku beslenmesi için gereken minimum ihtiyacın yaklaşık 10 katı olduğu tahmin edilmektedir. Vücut ısındıkça, kutanöz vazodilatasyon o kadar artar ki, hipermetabolizm dönemlerinde kutanöz pleksuslardan geçen akış 6 L/dk ile 8 L/dk'ya kadar yükselebilir. Benzer şekilde, hipotermi veya aşırı yerel cilt soğutma, ciltte termoregülatuar vazokonstriksiyon yaratabilir ve bu da kan akış hızını cilt hücre beslenmesi için neredeyse yeterli olan seviyelere, hatta tamamen yetersiz seviyelere düşürebilir. Bu otonom vazokonstriktör ve vazodilatatör mekanizmalar, sistemik kan basıncının refleks kontrolüne de önemli ölçüde katkıda bulunur (31).

Cilde gelen ve cilt içindeki kan akışının değişkenliği, yeterli sistemik basınç koşullarında düzenleyici sfinkter görevi gören arteriollerin sonucudur. Bu arterioller, kutanöz subdermal ve dermal ağlar üzerinden akışı kontrol eder. Dermal ağlar, integümenter dolaşımın ana işlevlerinden sorumlu iki ana bölüme ayrılır. Retiküler dermis, cilde besin akışından sorumlu bir kapiler ağ içerir.

Prekapiller sfinkter olarak işlev gören arterioller, bu karmaşık endotelial ağ üzerinden akışı kontrol eder ve esas olarak hipoksi koşullarına ve artan metabolik taleplere yanıt verirler. Bu durum, yerel kan akışını artırmak için sfinkterin dilatasyonuna neden olur. Aksine, papiller dermis, cildin termoregülatuar ve hemodinamik işlevlerine olanak tanıyan döngüsel arteriyovenöz şantlardan oluşan bir ağa sahiptir (28).



Şekil 2. Papiller dermal pleksusu gösteren çizimsel cilt kesiti.

1.3. Flep Dizaynı

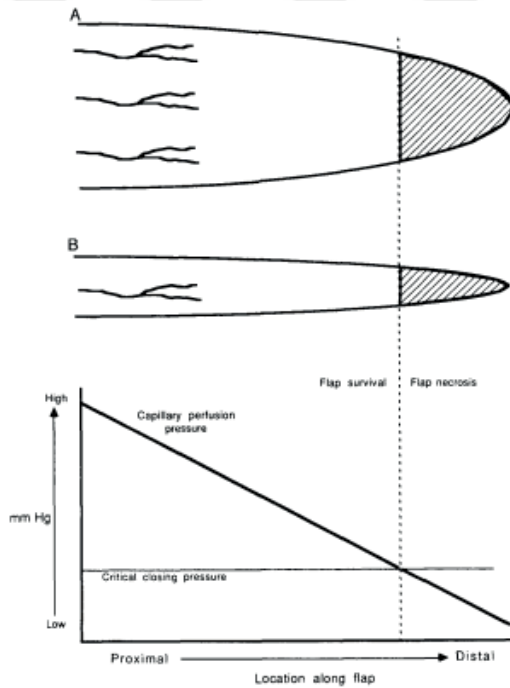
Vasküler beslenmelerine bağlı olarak dört tip flep tasarımı vardır: rastgele, aksiyel flep (arteriyel kutanöz olarak da adlandırılır), fasiyokutanöz ve kas-deri flep (Şekil 3).

1.3.1. Random Paternli Flep

Random flep, subdermal pleksusun vasküler beslenmesine bağlıdır ve bu da flebin tabanındaki isimsiz kas-kutanöz perforatörler tarafından sağlanır (32).

Random fleplerin diseksiyon düzlemi subkutan plandadır. Random flapler döndürülebilir, yer değiştirebilir, ilerletilebilir veya tüp haline getirelebilir. Flep yaşayabilirliği uzunluk genişlik oranına bağlı olmakla birlikte tam olarak öngörülemez. Başlangıçta 1:1 oranının gerekli olduğuna inanılıyordu. Ancak klinik deneyimler 3:1 ila 4:1 oranının yüzün bazı bölgelerinde uygulanabilir flepler sağladığını gösterdi (33).

Random flep sağkalımını uzunluk-genişlik oranlarına göre hesaplamak birçok açıdan hatalı olabilir. Flebin uzunluğunu belirli bir alandaki kapiller perfüzyon basıncına göre düşünmek daha iyidir (Şekil 5). Milton, daha sonra canlılığın dolaşımın derecesine bağlı olması nedeniyle uzunluk-genişlik oranı kavramını çürüttü. Ayrıca, bir domuz modelinde flep üzerinde yapılan geciktirme işlemi ile flebin boyutunu daha da artırabileceğini göstererek bu kavramını kanıtladı (34).



Şekil 3. Kapiller perfüzyon basıncı derin vasküler pleksustaki arteriollerin kritik kapanma basıncının altına düştüğünde flep distal kısmı nekroza uğrar (28).

1.3.2. Aksiyal Paternli Flep

Aksiyel fleplerin kanlanması doğrudan flebin uzunlamasına ekseninin altından geçen fasiyokütanöz arterden sağlanır. Arter bölgesinin ötesinde flebin hayatta kalması derin vasküler ve yüzeysel vasküler pleksusa bağlıdır. Uzunluk-genişlik oranı tipik

olarak random fleplerden daha yüksektir. Diseksiyon düzleminin subkutanöz yağ içindeki fasyokutanöz damarı da içermesi gerekir.

1.3.3. Fasyokutanöz Flep

Flep sınıflandırması planlanan flebin içeriğiyle başlar. En basit flep deri ve deri altı dokusunu içerir. Bunlara deri flepleri denir. Benzer bir defekte uyacak şekilde kutanöz flepler nispeten ince bir şekilde toplanabilir. Genellikle kutanöz flepteki kan akışı rastgeledir ve subdermal pleksus içinde yer alır.

Defektler daha karmaşık hale geldikçe, alınan flep de karmaşık hale gelebilir. Deri, deri altı doku ve fasyayı içeren fleplere fasyokutanöz flepler denir (35).

Fasyokutanöz flepler, 1984 yılında Cormack ve Lamberty tarafından, beslenme modellerine göre tanımlanmış ve ayrıca sınıflandırılmıştır (Tablo 4.1). Temporoparietal ve anterolateral uyluk fasyokutanöz flepleri mükemmel örneklerdir (36)

Tablo 1. Fasyokutan fleplerin Cormack ve Lamberty sınıflandırması

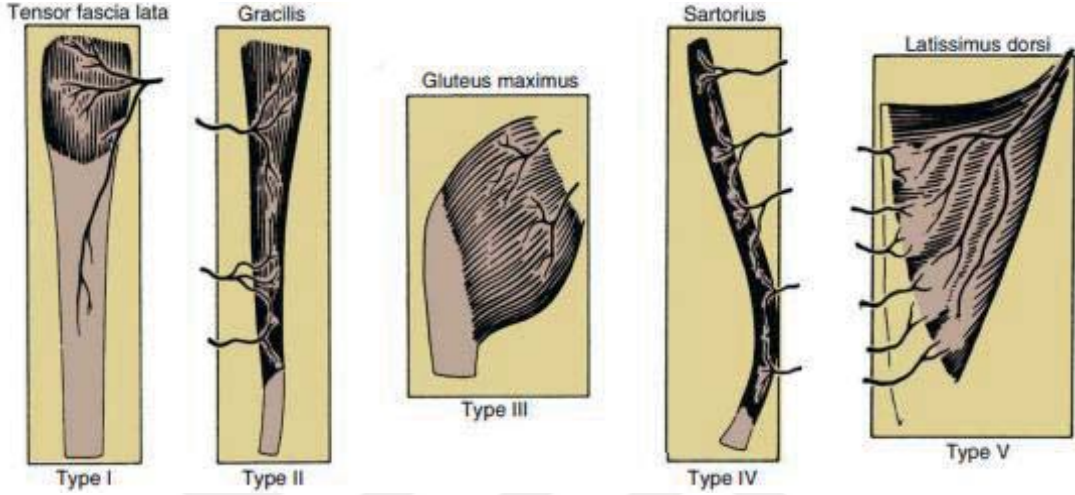
Tip	Tanım	Örnek
A	Pediküllü fasyokutanöz flep, bastaki çoklu fasyotutanöz perforatörlere bağlıdır ve flebin uzun eksenini ile yönlendirilmiştir	Yan kol Flep
B	Derin fasya seviyesinde bir pleksusu besleyen tek bir büyük ve tutarlı Eadokütajöz perforatöre bağlı olarak pediküllü veya serbest flep	Paraskapular Flep
C	Derinin kanlanması, kaslar arasındaki fasyal septumdan geçerek derin bir ağlama bölgesinden deriye ulaşan ve uzunluğu boyunca çok sayıda küçük perforatör tarafından beslenen fasyal pleksusa bağlıdır.	Radyal lorearni Flep
D	Fasyal septum, aynı arterden kan alan komşu kas ve kemik ile devamlılık içinde alınır	Serbest fibula flebi

1.3.4. Kas Flebi

Kas flepleri rekonstrüktif cerrahinin temelini oluşturur. Tek başına veya üzerine deri grefti ile birlikte kullanılabilirler. Bu flepler, ilave hacim sağlamak için üstteki deri ve yumuşak doku ile birlikte alınabilir ve miyokutanöz flepler olarak adlandırılır.

Kas ve kas deri flepleri, 1981 yılında Mathes ve Nahai tarafından doğal kanlanmalarına göre sınıflandırılmıştır (37).

Genellikle kemik dokunun açıkta olduğu alt ekstremité travması vakalarında, iyi vaskülarize kas dokusunun kapsanması istenir ve ölü alanı en aza indirmek için düzensiz bir yara yatağına uyum sağlama avantajına sahiptir. Bununla birlikte, son literatür kas ve fasyokütanöz fleplerin benzer oranlarda ekstremité kurtarma ve fonksiyonel iyileşme sağladığını göstermektedir (38).



Vasküler anatomi paterni: Tip I, tek vasküler pedikül; Tip II, dominant pedikül(ler) ve minör pediküller; tip III, iki baskın pedikül; tip IV, segmental vasküler pediküller; tip V, bir dominant pedikül ve bir ikincil segmental pedikül (37).

Şekil 4. Mathes ve Nahai sınıflandırması.

Mathes ve Nahai sınıflaması, kasların vasküler anatomisine dayanan bir sınıflamadır ve şu şekilde kategorize edilmiştir:

- Tip I: Bir vasküler pedikül (tek bir ana besleyici damar).
- Tip II: Baskın pedikül(ler) ve küçük pediküller (bir ana damar ve ek küçük damarlar).
- Tip III: İki baskın pedikül (iki ana besleyici damar).
- Tip IV: Segmental vasküler pediküller (kasın farklı bölümlerini besleyen segmental damarlar).
- Tip V: Bir baskın pedikül ve bir ikincil segmental pedikül (ana ve ek damarlar).

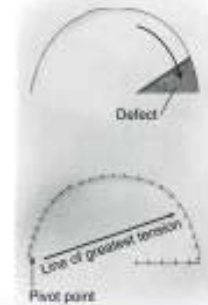
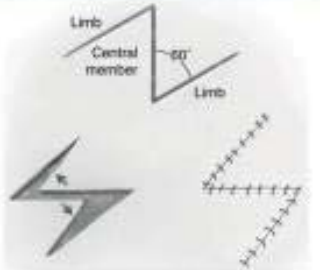
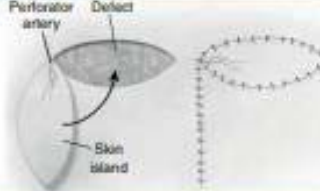
Bu sınıflama, Mathes SJ ve Nahai F tarafından yapılan deneysel ve klinik çalışmaların bir sonucudur.

1.4. Fleplerin Harekete Göre Sınıflandırılması

Bir flebi yerleştirmek için gereken hareket veya transfer türü ek bir sınıflandırma sistemi sağlar. Yeniden yapılandırılacak defektin yakınlığına göre flepler lokal, bölgesel veya uzak olarak tanımlanır. Lokal flepler, ilerletme, transpozisyon, rotasyon ve interpolasyon işlemi veya bu temel hareketlerin kombinasyonları ile bitişik bir defekte hareket ettirilir.

Bölgesel flepler, pediküllü kas flepleri gibi, yerel fleplerde görülenlerden daha büyük hareketler gerektirir. Bu flepler genellikle döndürme, ilerletme ve transpozisyon gibi hareketleri içerir. Uzak flepler, tüp flepler ve serbest flepleri kapsar.

Tablo 2. Flepların hareket tipine göre sınıflandırılması

Flap Movement	Subtypes	Illustration
Rotation	Rotation	
Advancement	V-Y Bipedicled Keystone	
Transposition	Z-plasty Rhomboid Bilateral	
Islandization	Propeller Pedicled	

Tüp flepler, bilinen en eski flep türleridir ve ilk olarak 1917'de Filatov tarafından literatürde tanımlanmıştır. Bu yöntem, bir pediküllü flebin alınmasını ve ardından "yürüyüş" olarak bilinen bir dizi transpozisyonu içerir. Her transpozisyonun

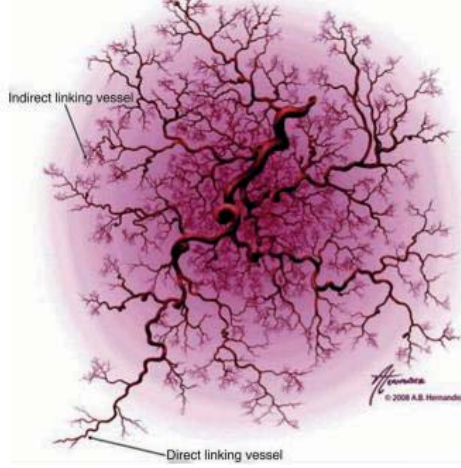
yerleştirilmesinin ardından flep, çevre dokudan neovaskülarizasyon ve damar büyümesi yoluyla yeni bir kan kaynağı edinir. Sonraki aşamada, karşıt uç transpoze edilir ve bu da flebin hareket etmesine ve kan akışının sürdürülmesine olanak tanır. Bu şekilde flep, yerleştirilmek üzere nihai hedefe "yürütülür" veya "valse" edilir; bu genellikle birkaç aşama gerektirir. Serbest doku transferinin ortaya çıkması, tüp flep kullanımını azaltmıştır; ancak, serbest doku transferi için uygun olmayan hastalarda uzak bir tüp flep hala önemli bir rol oynayabilir (39, 40)

1.4.1. Pediküllü Flep, Serbest Flep Ve Perforatör Flep Tanımlamaları

Bir flebin kanlanması ayrıca pediküllü veya serbest olarak da sınıflandırılabilir. Pediküllü flepler bilinen bir doğal vasküler pediküle bağlı kalır ve bu damarların sağladığı rotasyon veya ilerleme yayı ile sınırlıdır. Pedikül çevre dokulardan arındırılarak kesilebilir ve transfer mesafesini maksimuma çıkarmak için flep ada haline getirilebilir. Tersine, serbest bir flep, bilinen bir vasküler pedikül üzerinde kaldırılan ve alıcı bölgedeki yeni bir kan kaynağına anastomoz edilen ve büyük ölçüde mikrocerrahi teknikler gerektiren bir fleptir. Serbest flep doku aktarımında gerçek özgürlük sağlar. Bir yerden alınan flep, alıcı bölgede yeterli kan akışının mevcut olduğu varsayılarak uzaktaki bir defekti yeniden yapılandırılabilir (41).

Perforatör flepleri, adı geçen bir damardan gelen perforan arteri temel alan fleplerdir ve perforasome olarak da bilinen, perforatör tarafından perfüze edilen çevredeki 3 boyutlu doku alanını içerir. (Şekil 5) Perforan damarların cilt yüzeyine ve altındaki aksiyal damarlara dik bir düzlemde hareket ettiği düşünülebilir. Perforatörler sıklıkla cilt üzerinde elde taşınan bir Doppler kullanılarak tanımlanır ve herhangi bir flepte bir veya daha fazla perforatör bulunabilir (3, 42)

Bir perforatörün etrafında tasarlanan flepler sıklıkla kan akışının kaynaklandığı adı geçen damarın proksimal diseksiyonunu da içerir ve bu, serbest doku transferi için daha uzun pedikül uzunluğuna veya damarların daha büyük kalibresine olanak tanır. Perforatör flepler, daha önce serbest doku transferi gerektiren hem zor küçük hem de büyük defektlerin rekonstrüksiyonunda lokal flepler olarak giderek daha popüler hale gelmiştir.

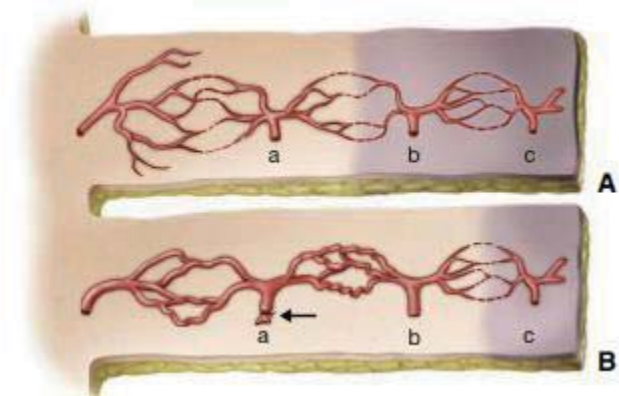


Şekil 5. Perforazomun vasküler anatomisi

Perforatörler, belirgin bir arteriyel ve venöz vasküler alana sahiptir. Bu görüntü, bir perforazomun arteriyel vasküler anatomisini göstermektedir. Perforatörün etrafında yoğunlaşmış olan damar ağına dikkat edin; bu ağ, periferine doğru giderek azalmaktadır. Büyük bağlayıcı damarlar, perforatörün kökeninden periferik yönlere doğru çoklu dallar halinde ayrılmaktadır.

1.4.2. Flepte Delay Fenomeni

Flebin nihai perfüzyonunun endişe edildiği durumlarda flep gecikmesi kullanılabilir. Gecikmiş bir flep, flebi kısmen kaldırmak ve kan akışının bir kısmını bölmek, damar genişlemesini, iskemik ön koşullamayı ve neovaskülarizasyonu uyaran ölümcül olmayan bir iskemik saldırı sağlamak için bir ön cerrahi aşamasının planlandığı fleptir. Bu, kan akışının artırılması ve ikinci aşamada flep transferinin öngörülmesi amacıyla flep dokularının oksijen seviyelerini düşürecek şekilde hazırlanmasına olanak tanır (43).



Şeki 6. Cerrahi bir gecikme ile ve gecikme olmadan aynı flebin diyagramatik temsili

Cerrahi bir gecikme ile ve gecikme olmadan aynı flebin diyagramatik temsili, nekroz hattını ve a ile b arasındaki boğucu damarlarındaki değişiklikleri göstermek içindir. B bölümünde, damar a, flep kaldırılmadan önce yapılan bir önceki operasyonla geciktirilmiştir. Boğucu damarların genişlemesine ve nekroz hattının daha distal bir konumda olmasına dikkat edin.

1.4.3. Flap Patofizyolojisi

1.4.3.1. Flap Yetmezliği Ve Farmakolojisi

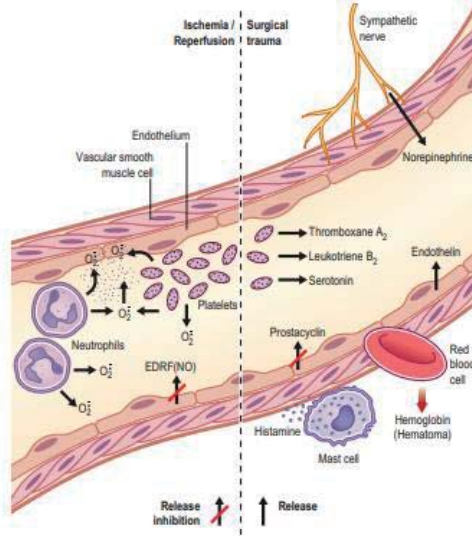
Klinik sorun hem pediküllü hem de serbest fleplerde iskemik nekroz sonucu flep başarısızlığının ortaya çıkmasıdır. Sadece serbest fleplerde deneyimli ellerde bile hastaların %5-10'unda iskemik nekroz görülür. Flap nekrozu kısmi veya total olabilir. (44, 45)

Flap yetmezliği tekrarlanan cerrahi ve uzun süreli hastanede kalmayı gerektirdiğinden zaman alıcı ve maliyetlidir. Ek olarak, tekrarlanan cerrahi, donör bölgesinde deformite ve/veya morbidite insidansını artırır ve hasta üzerinde yıkıcı etkiler yaratır. Bu nedenle pedikül ve serbest flep cerrahisinde iskemik nekrozun patofizyolojisini anlamamız gerekir çünkü bu bilgi bizi flep başarısızlığını önlemek veya kurtarmak için etkili farmakolojik tedaviler geliştirmeye yönlendirebilir.

1.4.3.1.1. Flap Yetmezliğinde Trombozis ve Vazospazmın Rolü

Klinik ve deneysel olarak iskemik nekroz esas olarak hem pedikülün hem de serbest fleplerin distal kısmında meydana gelir. Genel fikir birliği, cerrahi travmaya bağlı vazospazm ve trombozun ve yetersiz distal vaskülaritenin pedikül ve serbest flep başarısızlığında ana patojenik faktörler olduğu yönündedir ancak patojenik mekanizma hakkında çok az şey bilinmektedir (46).

Ancak normal ve hastalıklı durumlarda periferik vasküler tonusun lokal düzenlenmesinde vazoaktif nörohormonal maddelerin rolüne ilişkin yayınlanmış incelemeler mevcuttur (47). Cerrahi travma sonrası damar düzeyinde meydana gelen değişiklikler aşağıdaki şekil 7'de gösterilmiştir.



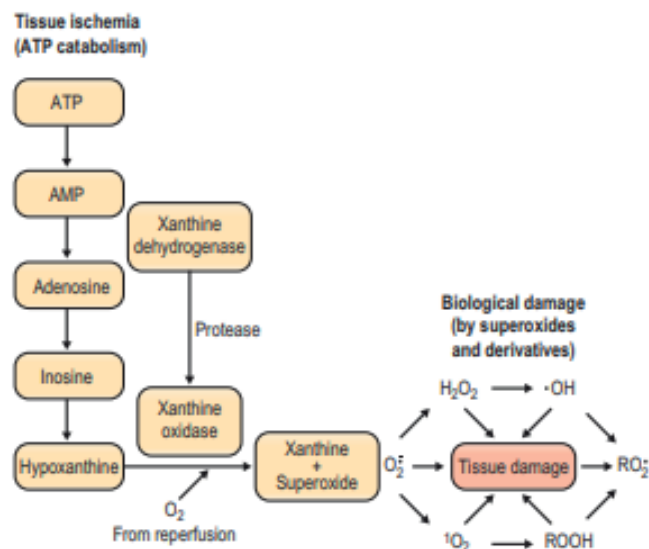
Şekil 7. Cerrahi travma sonrası damar düzeyinde meydana gelen değişiklikler

Cerrahi travmada vazokonstriksiyon ve iskemi-reperfüzyon hasarındaki vasküler zarar. Cerrahi travmada, norepinefrin sempatik sinir uçları tarafından salınır ve tromboksan A₂, lökotrien B₄ ve serotonin travma geçiren trombositler tarafından, hemoglobin ise kırmızı kan hücreleri tarafından salınarak vazokonstriksiyona neden olur. Travma geçiren endotel hücreleri, vazodilatör prostasiklin ve endotel kaynaklı gevşeme faktörü/nitrojen oksit (EDRF/NO) sentezini de azaltır. İskemik kan damarlarının reperfüzyonunda, trombositler ve nötrofiller tarafından süperoksit radikalleri (O₂•) üretilir. Bu serbest radikaller kan damarlarına zarar verebilir. Prostasiklin (PGI₂) ve nitrik oksit (NO) gibi endotel kaynaklı gevşetici faktörler (EDRF'ler), damar düz kaslarının gevşemesine neden olur ve trombosit agregasyonunu inhibe eder. Öte yandan, tromboksan A₂ (TXA₂) ve endotelin-1 (ET-1) gibi endotel kaynaklı kasılma faktörleri (EDCF'ler) vasküler tonusu artırır. Fizyolojik koşullar altında, EDCF'ler ve EDRF'ler arasındaki vasküler etki dengesi, yeterli doku perfüzyonunu korur. Ancak yukarıdaki gösterildiği gibi cerrahi travma sonucunda bir dengesizlik meydana gelebilir.

Travmatize olmuş sempatik sinir uçları norepinefrin (NE) salgılayarak vazokonstriksiyona ve trombosit agregasyonuna neden olur. Sempatik sinir uçlarından salınan NE, trombositler tarafından salınan lökotrien B₄, serotonin (5HT₂) ve TXA₂ ve travmatize olmuş damar endotel hücrelerinden salınan ET-1, özellikle küçük arterlerde vazokonstriksiyona ve intravasküler trombosit agregasyonuna neden

Sonuç olarak, cerrahi travmada lokal düzeyde vazokonstriktif ve protrombotik nörohormonal maddeler yüksek düzeyde bulunur ve bu maddeler flep cerrahisinde vazospazmı şiddetlendirerek trombozu teşvik eder. İskemik kan damarlarının reperfüzyonunda trombositler, nötrofiller ve endotel hücreleri tarafından süperoksit radikalleri ($O_2\bullet$) üretilir ve bu serbest radikaller reperfüzyon sırasında damar duvarlarına zarar verebilir.

Serbest flep ameliyatında, yeniden anastomoz öncesinde donör bölgeden alıcı bölgeye transfer sırasında deri ve kas, vasküler klemp kontrolü altında oda sıcaklığında iskemiye maruz bırakılır. İnsan kası ve derisinin sıcak iskemi süresi sırasıyla 2–2,5 saat ve 6–8 saattir. Aşırı iskemik hasar, enerji tükenmesi ve oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumundan kaynaklanan iskemi-reperfüzyon hasarına neden olabilir. Bu durum aşağıdaki şekilde izah edilmiştir.



16

Uzun süreli iskemi sırasında deri ve kastaki adenozin trifosfat (ATP), sitozolik Ca^{2+} artışıyla birlikte adım adım hipoksantine katabolize edilir. Aynı zamanda hücre içi Ca^{2+} tarafından sitozolik bir proteaz aktive edilir ve ksantin dehidrojenazı ksantin oksidaza dönüştürür (48, 49).

Reperfüzyon sırasında ksantin oksidaz, hipoksantin varlığında moleküler oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit ($\text{O}_2^\bullet$) üretir. Kararsız $\text{O}_2^\bullet$, dismutasyonla kendiliğinden H_2O_2 'yi oluşturur. Ayrıca kararsız $\text{O}_2^\bullet$ ayrıca bir geçiş metali (örneğin demir) varlığında H_2O_2 ile etkileşime girerek Haber–Weiss (Fenton) reaksiyonu yoluyla en güçlü sitotoksik hidroksil radikalini ($\bullet\text{OH}$) oluşturur (50).

Bu hipoksantin/ksantin oksidaz sisteminin iskemik sıçan derisi ve kasındaki oksiradikallerin ana kaynağı olduğunu öne süren kanıtlar vardır (51, 52). Ayrıca, allopurinol ile ksantin oksidazın katkını inhibisyonunun ve tungsten diyetiyle ksantin oksidazın tüketilmesinin, 2 saat iskemi ve 30 dakika reperfüzyona tabi olarak sahibinin elindeki kastaki mikro cerrahi tedavisi hafifletilmesi sağlanır (53).

1.4.3.3. Flep Cerrahisinde İskemi/Reperfüzyon Hasarının Patogenezinde Nötrofilik Nikotinamid Adenin Difosfat (NADPH) Ve Myeloperoksidaz (MPO) Enzim Sistemi

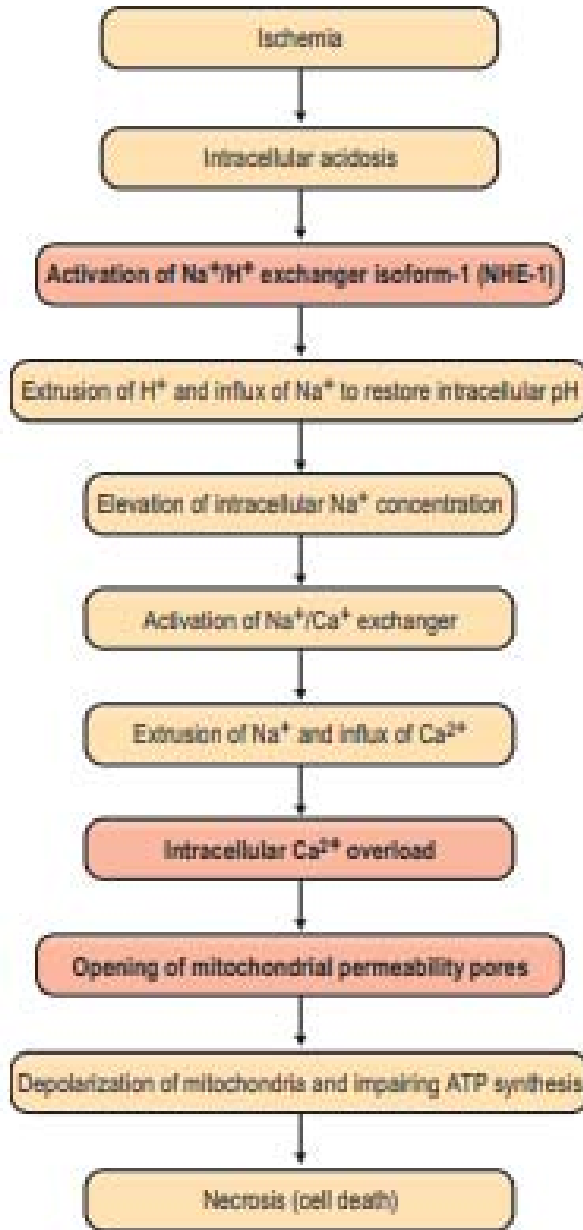
Serbest flep cerrahisinde nötrofillerin iskemi-reperfüzyon hasarında önemli bir rol oynayabileceğini gösteren birikmiş kanıtlar vardır. Örneğin, aktiveleştirilmiş nötrofillerin, NADPH oksidaz aracılığıyla büyük miktarda $\text{O}_2^\bullet$ ürettiği ve bu $\text{O}_2^\bullet$ dismutatlarının yüksek konsantrasyonda H_2O_2 ve $\bullet\text{OH}$ üreterek doku hasarına neden olduğu iyi bilinmektedir (54).

Nötrofillerde benzersiz ve bol miktarda bulunan MPO, H_2O_2 'nin güçlü bir sitotoksik oksitleyici ajan ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HOCl} + \text{H}_2\text{O}$) olan hipokloröz asite (HOCl) dönüşümünü katalize eder (55, 56).

Dahası, nötrofil-endotel adezyon moleküllerine karşı monoklonal antikörlerle tedavinin, tavşankulaklarında iskemi-reperfüzyona bağlı deri nekrozunu, sıçan epigastrik ada deri fleplerini ve domuz latissimus dorsi muskulokutanöz fleplerinde deri ve kasları zayıflattığı rapor edilmiştir (57, 58). Nötrofil-endotel adezyon moleküllerine karşı monoklonal antikörle tedavi aynı zamanda iskemi-reperfüzyon hasarının neden olduğu arteriolar vazokonstriksiyonu da hafifletti (59).

1.4.3.4. Flep Cerrahisinde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patogenezinde Hücre İçi Ca^{2+} Artışının Rolü

Son zamanlarda deneysel kanıtlar, hücre içi Ca^{2+} aşırı yükünün miyokardiyal reperfüzyon sırasında hücre ölümüne neden olmada anahtar rol oynadığını göstermiştir (59). Patogenik mekanizma aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 9. İçsel Ca^{2+} aşırı yüklenmesinin iskemi-reperfüzyon hasarının patogenezindeki rolü.

Sürekli iskemide mitokondriyal ATP sentezi durur ve glikoliz meydana gelir, bu da ATP'nin net bir şekilde parçalanmasına ve laktat ve hücre içi H^+ birikimine yol

açarak hücre içi asidoza neden olur. Bu hücre içi H^+ oluşumu, Na^+/H^+ değişim izoform-1 (NHE-1) antiporterini aktive eder ve hücre içi pH'ı eski haline getirmek için H^+ 'nın dışarı atılmasına ve hücre içi Na^+ birikmesine neden olur (60).

Enerjiye bağlı $Na^+ -K^+ -ATPaz$ pompasının inaktivasyonu nedeniyle Na^+ atılımı sınırlandığından hücre içi Na^+ birikiminde daha fazla artış olur (61, 62).

Hücre içi Na^+ konsantrasyonunun yükselmesi, Na^+ /Ca^{2+} aktivasyonu ile hücre içi Ca^{2+} artışına neden olur (63).

Bu olaylar devam ederse, sitozolik Ca^{2+} aşırı yüklenecek ve sitozolden mitokondriye önemli miktarda Ca^{2+} alımı meydana gelecek, bu da mitokondriyal Ca^{2+} aşırı yüklenmesine neden olacak⁷¹, mitokondrinin depolarizasyonuna neden olur ve ATP sentezini bozarak hücre nekrozuna neden olur (64).

1.4.4. Flep Cerrahisinde No-Reflow Fenomeni

Mays ve ark. (65) serbest flep cerrahisinde yeniden akış olmaması fenomeninin patogenezi için tavşan adası epigastrik cilt serbest fleplerini kullandı.

İskeminin endotelial ve parankimal hücrede şişmeye, kapiller lümenin daralmasına, bunun da kan hücrelerinin intravasküler agregasyonuna yol açıp, intravasküler sıvının interstisyel boşluğa sızarak ödem oluşturduğunu gözlemlendi. Bu patoloji, iskemik sürenin 1 saatten 8 saate artmasıyla birlikte artmış ve kan akışındaki tıkanıklık, iskemiden 12 saat sonra geri döndürülemez bir noktaya ulaşmış, yeniden akış olmamasına ve flebin nihai ölümüne yol açmıştır.

No-reflow fenomeninin gelişiminde üç patojenik mekanizmanın merkezi bir rol oynadığı ileri sürülmüştür: (1) endotelial ve parankimal hücrelerde hasara neden olan oksijen türevi serbest radikaller; (2) Ca^{2+} akışına izin veren bu hücre zarı hasarı, hücre içi aşırı yüke neden olur ve (3) endotel tarafından daha az damar genişletici ve antitrombotik PGI₂ sentezine ve trombositler tarafından vazokonstriktör ve trombotik TXA₂ sentezinin artmasına neden olan araziidonik asit metabolizmasındaki değişiklik. (66).

1.4.5. Flep Cerrahisinde Canlılığı Arttırmak İçin Kullanılan Medikal Tedaviler

1.4.5.1. Pediküllü Flep Cerrahisinde Kullanılan Medikal Tedaviler

NE, TXA2, 5HT ve ET-1 gibi vazokonstriktör ve protrombotik maddelerin flep cerrahisinde cerrahi travma sonucu yükseldiği bilinmektedir. Bunlar çok güçlü vazokonstriktörlerdir. Geçmişte, deri flep cerrahisindeki araştırmalar, deri flebinin canlılığını arttırmak için damar genişletici ve antitrombotik ilaçların kullanımına odaklanmıştır.

Son zamanlarda flep canlılığını arttırmaya yönelik ilaç tedavisi araştırmaları vazodilatasyona, antitromboza ve nötrofilin tutunmasının ve birikmesinin engellenmesine de odaklanmıştır (67,68).

Genel olarak, pedikül flep canlılığının artırılmasında bu damar genişletici ve antitrombotik ilaç tedavilerinin sonuçları, cerrahi gecikmeyle karşılaştırıldığında tartışmalı, sonuçsuz veya en iyi ihtimalle az oranda faydası bulunmaktaydı

Aşağıdaki ilaç kategorileri ile ne cilt kan akışının ne de yaşayabilirliğin önemli ölçüde iyileşmediğini bulduk: glukokortikoid, α -adrenoreseptör antagonistleri, vasküler düz kas gevşeticiler, β -adrenoreseptör agonisti, TXA2 sentez inhibitörü, TXA2 reseptör antagonisti, ve vazodilatör prostanoidler. Ayrıca 5HT₂ reseptör antagonistlerinin domuzda deri flep canlılığını arttırdığını ancak yararlı etkinin cerrahi gecikmeyle karşılaştırıldığında mütevazı olduğunu da bulduk (69-72).

Sonuç olarak cerrahi veya vasküler gecikmenin mekanizması açık değildir. Şu ana kadar deri flebinin canlılığını arttırmada cerrahi veya vasküler gecikmeyi taklit edebilecek etkili bir ilaç tedavisi mevcut değildir.

1.4.5.2. Free Flap Cerrahisinde Kullanılan Medikal Tedaviler

Serbest flep başarısızlığının ana nedenleri vazospazm, tromboz ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır. Günümüzde flep cerrahisinde vazospazm ve trombozu önlemek veya tedavi etmek amacıyla klinik olarak kullanılan nispeten güvenli ilaçlar bulunmaktadır.

1.4.5.2.1. Antikoagülan Ajanlar

Heparin, aspirin ve dekstran mikrocerrahide kullanılan üç yaygın antikoagülandır ancak etkinlikleri belirsizdir.

Örneğin intravenöz heparin tedavisinin tavşanda kan akışı yeniden sağlanmadan verildiğinde anastomoz trombozu sıklığını azalttığı rapor edilmiştir (73). Daha sonra, serbest flep cerrahisinde yapılan iki klinik çalışmanın sonuçları, intraoperatif düşük dozda heparin tedavisinin (intraoperatif 3000 veya 5000 ünite intravenöz) hematoma oluşumu veya intraoperatif kanama oranını artırmadığını gösterdi. Ancak bu düşük doz heparin tedavisinin de mikrovasküler trombozun önlenmesinde anlamlı bir etkisi olmamıştır (74, 75).

Açıkçası, daha yüksek bir sistemik heparin dozu gereklidir. Bazı cerrahlar, kros klempleme öncesinde intraoperatif 100-150 ünite/kg intravenöz heparin bolus enjeksiyonu ve anastomoz sonrasında kan akışı yeniden sağlanana kadar her 45-50 dakikada bir 50 ünite/kg heparin ilave enjeksiyonu önermektedir (76). Ancak bu yaygın bir uygulama değildir. Serbest flep cerrahisinde hematoma olmadan anastomoz trombozunun önlenmesi için etkili heparin dozunun belirlenmesi için daha fazla klinik araştırmaya ihtiyaç vardır.

Tavşanda düşük dozda aspirinin (10 mg/kg) trombositteki TXA2 (vazokonstriktör) oluşumunu endoteldeki PGI2 (vazodilatör) oluşumundan daha fazla azalttığı için antitrombotik etki yarattığı gözlemlendi (77). Düşük dozda aspirinin de sıçanlarda anastomatik trombozu önlediği ve mikrosirkülasyonu iyileştirdiği gözlemlendi (78).

İnsanlarda, daha düşük dozlarda aspirinin (40-325 mg), trombosit siklo-oksijenasyon TXA2 üretimini inhibe ettiği ve endotel kaynaklı PGI2 üretimini minimum düzeyde inhibe ettiği gözlemlendi (79, 80). Ayrıca oral düşük dozda aspirinin (325 mg/gün) klinik serbest fleplerde postoperatif hematoma oluşumuna neden olmadığı da rapor edilmiştir (81).

Düşük moleküler ağırlıklı dekstran 40 (MW 40 000) ve dekstran 70'in (MW 70000) insanlarda kan hacmini genişletici ve antitrombojenik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (82). Dekstran 40, serbest flep cerrahisinde trombosit agregasyonunu azaltmak ve kan akışını iyileştirmek için kullanılan en popüler dekstrandır. Ancak dekstran 40'ın aynı zamanda anafilaksi, akciğer ve beyin ödemi ve böbrek yetmezliği gibi istenmeyen yan etkileri de vardır (83).

1.4.5.2.2. Trombolitik Ajanlar

Başarısız serbest fleplerin kurtarılması için erken teşhis ve yeniden araştırma çok önemli olsa da, standart müdahalelere yanıt vermeyen flepler, oluşan trombüslerin parçalanması için trombolitiklerin seçici kullanımından fayda görebilir (84). Klinik serbest fleplerde başarıyla kullanılan yaygın trombolitik ajanlar streptokinaz ve rekombinant doku plazminojen aktivatörüdür (tPa).

1.4.5.2.3. Antispazmodik Ajanlar

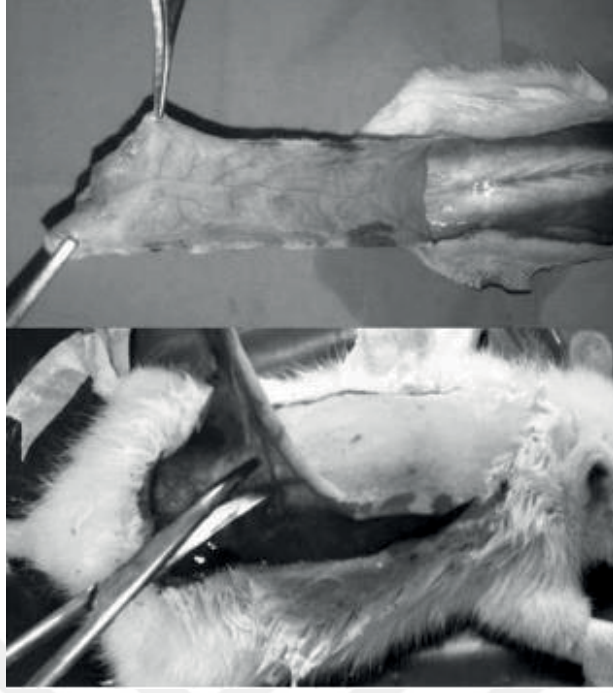
Papaverin, nifedipin ve lidokain klinik mikrocerrahide en sık kullanılan topikal antispazmodik ilaçlardır. Papaverin, özellikle spazmlar sırasında damar düz kaslarını gevşeten opiat bir alkaloiddir. Siklik adenosin monofosfatın (cAMP) parçalanmasını içeren bir enzim olan fosfodiesterazı inhibe ederek cAMP birikmesine ve vazodilatasyona neden olur (85).

Nifedipin bir kalsiyum kanal blokeridir. Etki mekanizması arteriyel düz kas hücrelerine kalsiyum akışının engellenmesi ve böylece düz kas hücrelerinin gevşemesine neden olmasıdır (86). Lidokainin vazodilatör etkisi, $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ iyon değiştirici pompası üzerindeki etkisinin, hücre içi kalsiyum içeriğinde azalmaya neden olarak vazodilatasyona yol açmasının sonucudur (86).

1.4.6. Mc Farlane Flebi

DeneySEL flep sağ kalımı çalışmalarında en sık kullanılan flepler, rat dorsumundan kaldırılan cilt flepleridir. Çeşitli ebatlardaki modifiye edilmiş McFarlane flepleri, birçok çalışmada sadece kranial bazlı değil ayrıca kaudal bazlı olarak da kullanılmıştır

DeneySEL sağ kalım çalışmalarında en sık kullanılan flepler rat dorsumundan kaldırılan cilt flepleridir. McFarlane spesifik uzunlukta olmayıp anatomik kemik işaretler arasında yer alan kendi adıyla anılan kranial bazlı dorsal rat flebini tanımlamıştır. Uzunluk-genişlik oranını 2,5/1 olarak belirleyen McFarlane panniculus carnosus içeren 10x4cm boyutlu kranial bazlı dorsal rat flebini çalışmasında kullanmıştır (87).



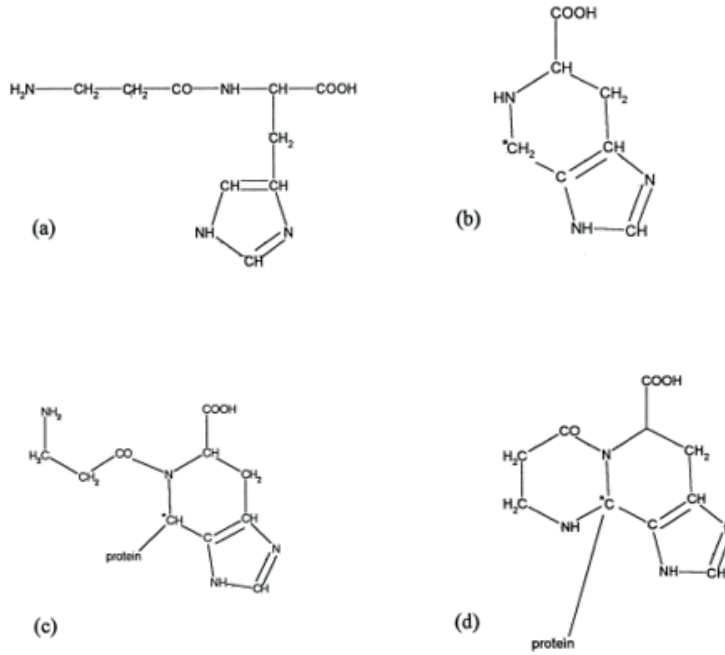
Şekil 10. Kaudal (üste) ve Cranial (altta) bazlı flep elevasyonu

Roger Khouri ve arkadaşları ise sırttaki yarımada fleplerinde tutarlı nekroz oranı sağlayıp modeli standardize etmek için eni 3 ve 4 cm olan iki farklı yarımada flep tasarımını kaudal ve kranyal tabanlı olarak kullandılar. Yaptıkları çalışmada en tutarlı nekroz oranı kaudal tabanlı hazırlanan 3 cm enindeki fleplerde ortaya çıktı. Nekroz oranının büyük varyasyonlar göstermemesi daha az sayıda hayvan kullanarak tutarlı istatistiksel sonuç almayı sağlayacağı için kaudal tabanlı "dar" flepler avantajlı kabul edildi. Halen bu modelde küçük tasarım değişiklikleri yapılabilmekle birlikte eni 3, boyu 9 cm'lik kaudal tabanlı fleplerin daha tutarlı sonuçlar verdiği ve deney gruplarında daha az hayvanla istatistiksel olarak anlamlı sonuçların alınabildiği düşünülmektedir (88).

1.5. Karnozin Ve Etki Mekanizması

Karnozin, beta-alanin ve histidin aminoasitlerinden oluşan bir dipeptittir. Karnozin sentezi, beta-alanin ve histidin'i glial hücre hatlarında ve iskelet kası hücresinde primer sentezleyen karnozin sentaz tarafından gerçekleştirilir (89).

Aşağıdaki şekil 11'de karnozinin yapısı gösterilmiştir.



Şekil 11. Karnozinin yapısı

(a) Karnozinin yapısı; (b) histidinin formaldehitte reaksiyonundan oluşan spinasinin yapısı (formal-dehit karbon atomu " ile işaretlenmiştir); (c) karnozinin bir (protein) karbonil grubuyla (karbonil karbon atomu" ile işaretlenmiştir) reaksiyonunun ürününün kuasi-lizin kalıntısı gösteren varsayımsal yapısı ve (d) karnozinin bir (protein) karbonil grubuyla (karbonil karbon atomu" ile işaretlenmiştir) reaksiyonunun ürününün alternatif varsayımsal yapısı.

Karnozin ve metabolizması hakkında pek az şey bilinmektedir; glikoliz, kas kasılması ve oksidatif fosforilasyonu düzenleyebilir, bağışıklık sistemini uyarabilir, bakır, çinko ve kalsiyumu bağlayabilir ve purinleri bağlayabilir (90) Bu da gen düzenlemesi veya sinyal iletimi potansiyel katılımını önerir (91).

Yaşlanma, oksijen serbest radikalleri tarafından indüklenen makromoleküler hasarla ilişkilidir; oksitlenmiş/çapraz bağlı/denatüre olmuş proteinler birikir. Yaşlanan proteinlerde lizin ve histidin yan zincirleri en kolay oksitlenebilen gruplardır ve karnozin her ikisine de benzer. Proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu (glikasyon) ayrıca yaşla ilişkilendirilen bir fenomendir; şeker aldehytleri protein amino gruplarıyla reaksiyona girer ve çapraz bağlı, oksitlenmiş, renkli, floresan, yüksek moleküler ağırlıklı yapılar olan ileri glikozilasyon son ürünlerini üretir. Tercih edilen

glifikasyon siteleri, yakın imidazol ve/veya karboksil gruplarına sahip amino gruplarıdır; karnozin bunlara sahiptir.

Karnozin, in vitro olarak, yaşla ilişkili değişiklikler olan protein karbonil grupları ve çapraz bağların oluşumunu engeller; bu, tercihen heksoz, pentoz ve trioz aldehitler, malondialdehit metilgliyoksal ve ketonlar ile reaksiyona girerek gerçekleşir, bu da proteinleri korur (92-94).

Karnozin ayrıca asetaldehit ve formaldehit tarafından indüklenen DNA/protein çapraz bağlanmasını da önler (95). Karnozin hem koruyucu hem de zincir kırıcı bir antioksidandır, süperoksit radikallerini dismutlar, hidroksil radikallerini temizler ve bakır iyonlarına bağlanarak ve lipid peroksidasyon ürünleriyle etkileşime girerek üretimlerini engeller. Antioksidan aktivite genellikle MDA üretimi ile ölçülür (91, 96).

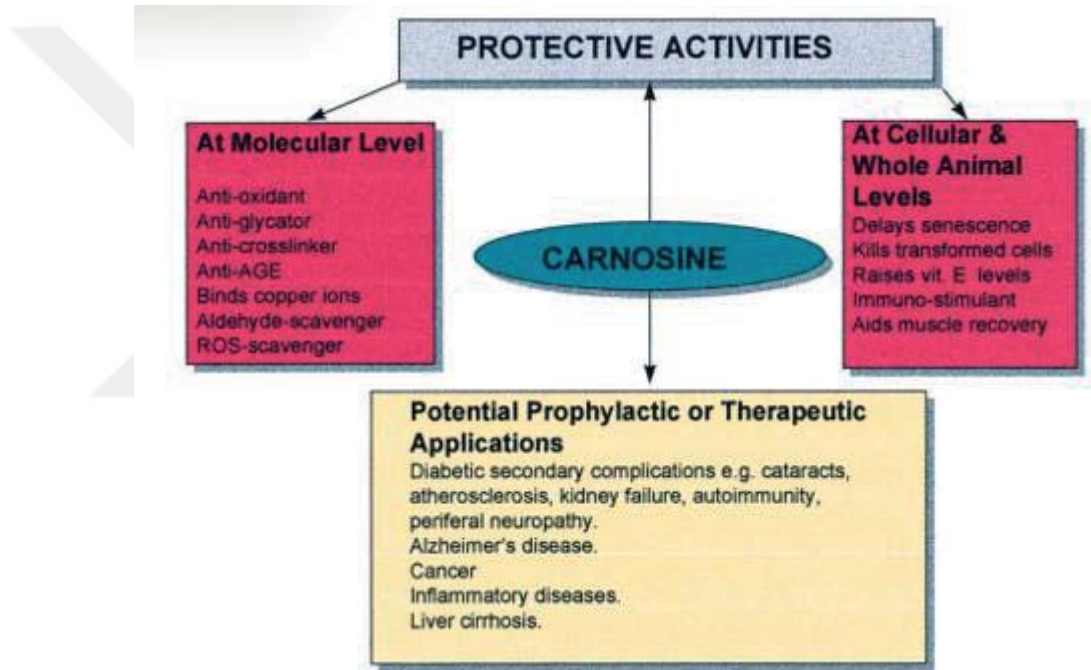
Makrofaj miyeloperoksidazı tarafından H₂O₂ ve klorür iyonlarından üretilen hipoklorit, protein çapraz bağlanmasını ve oksidasyonunu (karbonil gruplarının oluşumu) indükler. Karnozin, hipoklorit aracılı protein modifikasyonunu in vitro olarak önler (95). Çünkü hipoklorit ile reaksiyona girerek stabil bir kloramin türeği oluşturur (96). Yaşla ilişkili patolojilerle ilişkilendirilen bazı anormal proteinler (örneğin, amiloid peptitler ve AGE-proteinleri), hiperoksi, ROS ve ilgili ürünleri (örneğin, MDA) indükler; protein karbonilleri nörodejeneratif bozukluklarda artmıştır (97).

Karnozin muhtemelen: toksik ajan yapısını etkiler; AGE reseptörleri (RAGE'ler) ile veya sinyal iletimiyle müdahale eder; ROS ve son ürünlerle reaksiyona girer ve anormal proteinlerin parçalanmasını uyarır. Karnozin, şeker kaynaklı b-A4 amiloidojenik peptid agregasyonunu engeller (98).

Alzheimer hastalığının beyin amiloidi, iso- (veya b-) aspartatla zenginleştirilmiş b-pleated tabakalar içerir (99). Bu da bir yaşa bağlı değişiklik olup alfa-heliksleri destabilize eder. "Yaşlanmış" peptitlerin kendi kendini seçenekli agregasyonu, iso-aspartatları içeren zincirler arasında izin verilebilir. Karnozinler (b-peptidleri), iso-aspartat kalıntılarına hidrojen bağı oluşturabilir ve "yaşlanmış" polipeptid agregasyonunu bozabilir. Karnozin, in vitro glutatyon oksidasyonunu önler; insan lensindeki konsantrasyonu, kataraktın şiddetinin artmasıyla birlikte glutatyonla birlikte azalır.(96). Karnozin, yüksek kolesterol diyetiyle beslenen tavşanlarda katarakt oluşumunu ve aterosklerotik yağlı çizgileri engeller (100).

Ateroskleroz, hipoklorit ve MDA tarafından olası bir şekilde indüklenen protein modifikasyonları ile ilişkilidir ve karşısında karnozin koruyucudur. Karnozin kültüre edilmiş dönüşmüş hücreleri seçici olarak öldürür; ancak bunu pürivat, oksaloasetat ve alfa-ketoglutarat engeller (101). Başka bir b-peptit olan b-alethin (b-alanil-sisteamin disülfid), antineoplastik aktiviteye sahiptir ve kültüre edilmiş insan fibroblast ömür uzunluğunu uzatır (102). Patent iddiaları, karnozin ve karnozinaz inhibitörü olan bestatin'in, anti-tümör ajanlar olarak terapötik olarak kullanışlı olduğunu öne sürmektedir.

Karnozinin özellikleri (gerçek ve potansiyel) ve olası uygulamaları aşağıdaki şekil 12'de gösterilmiştir



Şekil 12. Karnozinin özellikleri (gerçek ve potansiyel) ve olası uygulamaları

1.6. Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin Ve Etki Mekanizması

Düşük molekül ağırlıklı heparinler (DMAH), 1922'de fraksiyonlanmamış heparinin keşfinden ve 1948'de sentetik kumarin türevidir olan varfarinin tanıtılmasından bu yana antikoagülasyonda önemli bir klinik ilerleme temsil eden yeni bir grup parenteral antikoagülanıdır (103). Öngörülebilir farmakokinetikleri, artan biyoyararlanımları ve daha uzun plazma yarı ömürleri, günlük bir veya iki kez doz uygulamasına olanak tanır ve rutin laboratuvar izleme ihtiyacını ortadan kaldırmıştır.

DMAH'ler, standart UFH'nin kimyasal veya enzimatik olarak bölünmesiyle elde edilen kısa heparin polimerleridir. Standart UFH, mast hücre salgı granüllerinde bulunan yüksek derecede sülfatlanmış glikozaminoglikanların bir karışımıdır. Değiştirilmiş D-glukozamin, değiştirilmiş glukuronik asit veya iduronik asit kalıntıları ile dönüşümlü olarak düzenlenmiş bir bileşikten oluşur. Bu değişiklikler, glukozamin kalıntılarının N-deasetilasyonu ve sülfatlanması ile glukozamin, iduronik ve glukuronik kalıntıların O-sülfatlanmasını içerir (103).

UFH, heterojen uzunluklarda polimerlerden oluşur ve 3 ila 40 kilodalton arasında değişen uzunluklara sahiptir, ortalama uzunluğu ise 12 ila 15 kilodalton arasındadır. Buna karşılık, DMAH'ler 2 ila 15 kilodalton arasında değişen boyutlarda olup, ortalama boyutları 4 ila 6 kilodalton arasındadır.

Ticari olarak bulunan heparinler genellikle ya sığır akciğerinden ya da domuz bağırsak mukozasından izole edilir. ABD'de bulunan tüm ticari olarak mevcut DMAH'ler domuz bağırsak mukozasından elde edilir.

1.6.1. Etki Mekanizması ve Farmakokinetik

Heparin, antikoagülan etkisini birkaç mekanizma aracılığıyla gerçekleştirir. DMAH, bu özelliklerin sadece bir alt kümesini paylaşır. Standart UFH gibi, DMAH, antitrombin III'e bağlanan belirli bir pentasakkarit dizisine sahip olması yoluyla antikoagülan aktivitesini gösterir.

Pentasakkarit dizisi rastgele dağılır ve heparin zincirlerinin yaklaşık üçte biri arasında bulunur. Antitrombin III'ün bu pentasakkarit dizisi ile etkileşimi, antitrombin III'ün daha kolay bir şekilde faktör Xa'yı bağlayıp etkisiz hale getiren bir konformasyon almasına neden olur (103-105).

UFH ve DMAH arasındaki önemli bir fark, trombin (faktör IIa) inaktivasyon yetenekleridir. DMAH, trombinin inaktivasyonunda UFH'den daha az etkilidir. UFH, ancak DMAH değil, hem trombin hem de antitrombin III ile birlikte üçlü bir kompleks oluşturur ve trombin inaktivasyonunu kolaylaştırır. Bu üçlü kompleksin oluşumu, en az 18 polisakkarit içeren uzun heparin fragmentlerinin bağlamında pentasakkarit dizisinin varlığını gerektirir; ancak bu uzun heparin fragmentleri DMAH içinde bol miktarda bulunmamaktadır.

Heparin ko-faktör II trombini etkisiz hale getirir, ancak faktör Xa'yı etkisiz hale getirmez. Bu nedenle, UFH genellikle bir anti-faktör Xa:IIa oranına sahipken (1:1), LMWH hazırlıkları, azalmış anti-IIa aktiviteleri ile tipik olarak (2:1 ila 4:1) bir orana sahiptir (104). UFH'ye kıyasla, DMAH ayrıca trombosit faktör IV inhibisyonuna artmış duyarlılık gösterir, trombosit fonksiyonu ve vasküler geçirgenlik üzerinde azalmış etkiye sahiptir (106). Plazma proteinlerine ve vasküler endotelyuma bağlanma miktarının azalması nedeniyle DMAH'nin UFH'den daha yüksek bir biyoyararlanımı, daha uzun bir yarı ömrü ve daha öngörülebilir farmakokinetiği vardır.

DMAH'nin eliminasyonu, büyük ölçüde renal atılıma bağlı olarak daha basit bir birinci düzen kinetiği izler (107). İntravenöz UFH'nin plazma yarı ömrü 60 ila 90 dakikadır. İntravenöz DMAH'nin plazma yarı ömrü 2 ila 4 saat arasındadır ve subkutan DMAH'nin yarı ömrü 3 ila 6 saattir. Tahmin edilebilir farmakokinetiği ve daha uzun yarı ömrü, DMAH'nin kullanım kolaylığını sağlar, çünkü çoğu durumda laboratuvar izlemesi olmadan günde bir veya iki kez doz verilebilir (108).

Belirli durumlarda, DMAH ile antikoagülasyon derecesinin izlenmesi gerekebilir, genellikle plazma anti-faktör Xa aktivitesi ölçülerek yapılır. Örneğin, DMAH renal olarak atıldığından, böbrek yetmezliği olan hastalarda yarı ömrü uzayabilir (109).

1.6.2. DMAH Yan Etkileri

1.6.2.1. Kanama

Kanama, oral veya parenteral antikoagülasyon tedavisi ile ilişkilendirilen başlıca komplikasyondur. Hayvan çalışmalarının verileri ve daha küçük klinik çalışmaların erken meta-analizleri, DMAH'nin UFH'ye kıyasla daha az kanama riskini desteklemiştir (110, 111).

DMAH ile tedavi edilen hastalar, normal protrombin zamanı (PT) ve aktive kısmi tromboplastin zamanı (aPTT) değerlerine sahip olmalarına rağmen antikoagülan kanama riski olabilir. Bu durum, DMAH alan hastalarda spinal veya epidural anestezi, veya lomber ponksiyon sonrası spinal veya epidural hematoma raporlarını vurgulayan Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından önemle belirtilmiştir (112). DMAH'nin antikoagülan etkisinin tersine çevrilmesi gerekiyorsa, intravenöz protamin sülfat verilebilir. Protamin sülfat, intravenöz DMAH'nin anti-IIa aktivitesini hızlı ve

tamamen nötrale edebilir; ancak DMAH'nin anti-Xa aktivitesi sadece %40 ila %70 oranında kısmen nötrale edilir (113).

1.6.2.2. Heparinin İndüklediği Trombositopeni

Heparine bağlı trombositopeni, tromboz ile birlikte veya olmaksızın, heparin tedavisi tarafından indüklenen bir trombosit aktivasyonu IgG'si tarafından neden olur. Laboratuvar testleri, heparine bağımlı IgG için standart heparin ve DMAH arasında neredeyse %100 çapraz reaktivite gösterir. Bu nedenle, DMAH genellikle heparine bağlı trombositopeni tedavisi için önerilmez (104). Ancak, DMAH kullanımı, heparine bağlı trombositopeni gelişme riskini azaltabilir. Kalça cerrahisini takiben profilaksi olarak 665 hastayı (günde iki kez 7500 IU subkutan UFH ve günde iki kez 30 mg subkutan enoksaparin) rasgele ikiye ayıran büyük çaplı çift kör klinik bir çalışmada, heparine bağlı trombositopeni (heparin tedavisinin başlamasından 5 veya daha fazla gün sonra trombosit sayısının 150.000'in altına düşmesi ve heparine bağımlı IgG antikoru için pozitif bir test) UFH ile tedavi edilen 332 hastadan 9'unda meydana geldi, LMWH alan 333 hastada ise hiçbirinde izlenmemiştir. Ayrıca, hastaların bir alt grubundaki seri kan örnekleri, heparine bağımlı IgG antikoru oluşum sıklığının UFH grubunda önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir (114).

1.6.2.3. Karaciğere Yan Etkisi

UFH veya DMAH uygulamasıyla hafif ve semptomsuz karaciğer enzimlerinde yükselmeler görülebilir. Bilirubin yükselmesi nadirdir. Bu anormallikler geçicidir ve ilacın kesilmesiyle düzelir (104, 109).

1.6.2.4. Endokrin Sistemine Yan Etkisi

Hem UFH hem de DMAH ile ilişkilendirilen nadir bir yan etki, ilişkili hiperkalemi ile birlikte azalmış aldosteron sentezidir. Aldosteron seviyeleri, heparinin kesilmesinden sonra birkaç gün içinde normale döner. Elektrolitler, değişen veya bozulmuş bir renin-angiotensin-aldosteron sistemi olan heparin tedavisi gören hastalarda izlenmelidir (104).

1.6.2.5. Osteoporoz

Uzun süreli UFH uygulamasını takiben osteoporoz rapor edilmiştir, tipik olarak yüksek dozlarda (günde en az 15.000 IU) ve genellikle 6 aydan uzun süre devam eden tedavilerde. Bu komplikasyon genellikle patolojik kırıklarla kendini gösterir (104). DMAH ile ilişkili osteoporoz riski hakkında sınırlı klinik veriler mevcuttur. Bir hayvan modelindeki veriler, DMAH'ların UFH'den daha az kemik yoğunluğu üzerinde etkiye sahip olabileceğini öne sürmektedir (115).

1.6.2.6. Dermatolojik Komplikasyonlar

Heparin ve DMAH'lar üç farklı tipte deri lezyonu ile ilişkilidir: ürtiker döküntüsü, papüller ve plaklar, ve deri nekrozu. Bu lezyonlar DMAH'larla daha az sıklıkla görülebilir, ancak bu net bir şekilde açıklığa kavuşmamıştır (116, 117)

Ürtiker döküntüsü muhtemelen lokal histamin salınımına bağlıdır ve klasik tip I anında aşırı duyarlılıkla uyumludur. Bu döküntü artık daha az görülür, muhtemelen heparinin iyileştirilmiş saflığından dolayıdır. Ticari DMAH'lar koruyucu madde içermediği ve iyi saflaştırıldığı için nadiren tip I reaksiyona neden olur (117). Kırmızı renkli, iyi sınırlanmış papüller ve plaklar gecikmiş tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonlarına sekonderdir. Bunlar enjeksiyon yerlerinde ortaya çıkar, ağrılıdır ve genellikle enjeksiyonların başlamasından 10 ila 20 gün sonra ortaya çıkarlar (118).

Deri nekrozu en ciddi dermatolojik reaksiyon olup, neyse ki nadirdir. Lezyonlar genellikle subkutan heparin enjeksiyonlarına başlama sonrası yaklaşık 1 hafta sonra ortaya çıkar, ancak 1 ila 3 gün içinde de meydana gelebilir. Lezyonlar genellikle enjeksiyon yerlerinde meydana gelir, ancak enjeksiyondan uzak bölgelerde de görülebilirler (119).

1.7. Mikrobiyal Metabolitler

Genom çapında yapılan büyük ölçekli ilişki çalışmaları (GWAS), metabolik, inflamatuvar ve nörodejeneratif bozukluklar da dahil olmak üzere modern insan hastalıklarına pek çok genetik katkıyı ortaya çıkarmıştır.

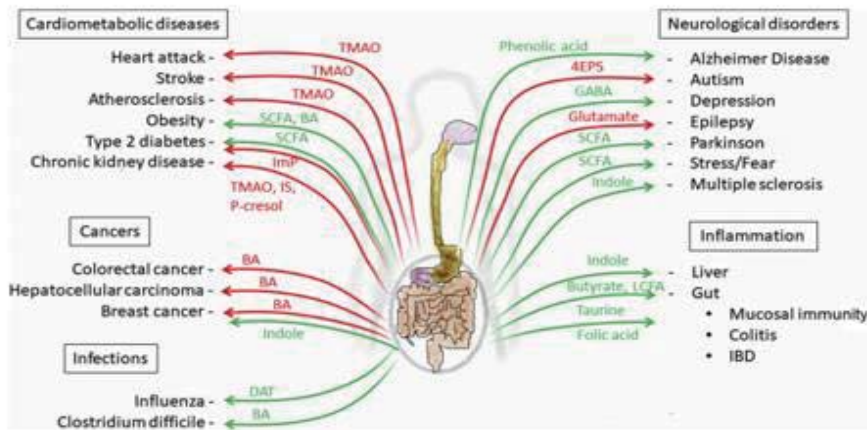
Aynı zamanda, belirli bir hastalığa genetik ilişkilerin sayısı bakımından GWAS'ın doygunluğa yaklaştığı vakalar, bu hastalıkların yalnızca insan genetik belirleyicilerinden kaynaklanmadığını öne sürmektedir. Bunun yerine, çevresel ve

yaşam tarzı faktörlerinin hastalık patogenezinde önemli bir rol oynadığı gözlenmektedir.

Çevresel maruziyetin önemli bir bileşeni, diyet ve bağırsaklarda yaşayan simbiyotik mikroplar tarafından temsil edilir. Mikrobiyota, insan hastalıklarında rol oynadığı kabul edilmiş ve bu mikroorganizmaların konak sağlığına katkıda bulunduğu mekanizmalar son on yılda yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Kommensal bakteriler, konak yanıtlarına fiziksel etkileşimler veya sistemik dolaşıma erişen ve bu şekilde insan fizyolojisini ve hastalığı etkileyen salgılanmış moleküller aracılığıyla doğrudan katılabilirler

Hedefsiz metabolomik alanındaki son teknik ilerlemeler - iyi karakterize edilmiş klinik kohortlara uygulanan ve hayvan modellerindeki mekanistik çalışmalarla birleştirilen - insan hastalığıyla ilişkilendirilen bağırsak mikroorganizmalarının ve metabolitlerinin tanımlanmasını mümkün kılmıştır. Metabolitlerin insan fizyolojisi üzerindeki yaygın ve pleiotropik etkileri göz önüne alındığında, bu moleküllerin "post-biyotik" terapiler için translasyonel potansiyeli büyüktür (120,121).

Aşağıda şekil 13'de klinik kullanım için potansiyel terapötik değere sahip mikrobiyomla ilişkilendirilmiş metabolitlerin tanımlanması ve karakterizasyonunda son ilerlemelerin geniş bir özeti sunulmaktadır. Bu metabolitler, ya sadece bakteriyel metabolizmadan türetilmiş ya da bağırsak bakterileri tarafından modüle edilen besin maddeleridir.



Şekil 13. Klinik kullanım için potansiyel terapötik değere sahip mikrobiyomla ilişkilendirilmiş metabolitlerin tanımlanması ve karakterizasyonunda son ilerlemeler

1.7.1. Trimethylamine-N-Oxide (TMAO)

TMAO, güçlü bir translasyonel potansiyele sahip mikrobiyom kaynaklı bir metabolit için örnek olabilir. TMAO, geniş bir hastalık yelpazesi ile ilişkilendirilmiştir. Kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların yanı sıra, ateroskleroz, tip 2 diyabet, miyokard enfarktüsü ve inme dahil olmak üzere (122,123). TMAO'nun kronik böbrek hastalığı ve son evre böbrek hastalığı için potansiyel bir öngörücü biyobelirteç olarak tanımlandığı çalışmalar bulunmaktadır. (124). Ayrıca, son kanıtlar TMAO'nun hafif bilişsel bozukluk ve Alzheimer hastalığı olan hastaların beyin omurilik sıvısında yükseldiğini gösterdi (125).

Başlangıçta, sonradan miyokard enfarktüsü veya inme geçiren bağımsız hasta kohortlarından elde edilen insan plazma örneklerinin metabolomik analizi, TMAO'yu artmış kardiyovasküler riskle güçlü bir şekilde ilişkilendiren bir metabolit olarak tanımlamaya yol açtı (126).

TMAO, bir diyet kaynaklı meta-organizmal yolak tarafından oluşur. Yumurta, süt, kırmızı et ve bazı deniz ürünleri, omnivorlarda esansiyel bir besin kaynağı olan kolinin kaynağı olan lipid fosfatidilkolin bakımından zengindir. Kolin ve diğer trimetilamin (TMA) içeren türler (L-karnitin; betain), bağırsak mikrobiyal TMA liazları tarafından katabolize edilir ve gaz TMA'yı oluşturur (127).

TMA hızla konak tarafından emilir, portal dolaşıma girer ve karaciğerdeki flavin monooksijenaz FMO3 tarafından TMAO'ya metabolize edilir (128). TMAO, kolesterolde değişikliklere (ters kolesterol taşınmasında azalmalar), sterol metabolizmasında ve safra asidi havuzunun boyutunda ve bileşiminde değişikliklere neden olur (129).

Farelerde 6 hafta boyunca %2 kolin diyeti ile indüklenen deneysel aterosklerozda, TMAO seviyeleri, farnesoid X reseptör antagonisti olan guggulsteron ile oral takviye ile azaltılmış ve böylece deneysel hastalık düzeltilmiştir (130). Önemli bir şekilde, mikrobiyal TMA üreten enzimi hedefleyen doğal bir inhibitör, ateroskleroz üzerine yapılan bir ön klinik çalışmada umut verici sonuçlar vermiştir (131).

Bu çaba, insan hastalıkları için yeni ilaçlar yaratmak için bir mikrobiyal enzimin hedef alınabileceğini kanıtlar niteliktedir. TMAO'nun hastalığı teşvik edici aktivitenin bir sonucu değil, nedeni olarak belirlenebileceği göz önüne alındığında,

klirik uygulama için bir sonraki adımı bu inhibitörün insanlarda güvenilirlik, etkililik ve farmakodinamiklerini belirlemek olacaktır (132).

1.7.2. İndoxyl Sulfate

Bağırsak mikrobiyotasından amino asit metabolizması, konak için biyoaktif metabolitlerin önemli bir kaynağını temsil eder (133). Esansiyel amino asidi triptofan, sadece mikrobiyal genomlarda kodlanan triptofanaz tarafından indol haline katalizlenir (134). Clostridium sporogenes tarafından dönüştürülen 3-indolpropionik asit (IPA) gibi triptofan türevleri veya Lactobacillus tarafından kodlanan triptofanaz tarafından indol-3-aldehit gibi türevler, aril hidrokarbon reseptörü (AhR) tarafından tanınır. AhR, çevresel, besinsel, mikrobiyal ve metabolik sinyalleri entegre eden ve ligana özgü, hücre tipine özgü ve bağlam özgü bir şekilde karmaşık transkripsiyonel programları kontrol eden bir ligand-aktive transkripsiyon faktörüdür (135).

AhR ayrıca mikrobiyomenin epitelyal arası lenfositler üzerindeki etkisini de aracılık eder (136). Indol-3-aldehit sinyali, AhR aracılığıyla Candida Albicans patojen enfeksiyonunda tip 3 doğal lenfoid hücrelerde IL-22 üretimini düzenler (137).

Ek olarak, diğerkonak mikrobiyot metabolitleri de AhR agonistik aktiviteye sahiptir, bunlar arasında indol-3-asetik asit, indol-3-asetilaldehit, indol-3-aldehit, 3-metilindol ve 2-(1'H-indol-3'-karbonil)-tiazol-4-karboksilik asit metil ester i (ITE) bulunmaktadır. Mevcut klinik denemeler, Friedreich ataksisi ve multipl skleroz için bir tedavi stratejisi olarak 5-HT öncüsü olan indol-3-propionik asit takviyesini değerlendirecektir. İndol, konak karaciğerk oksidazları (CYP2E1 ve SULT1A1) tarafından indoksil ve indoksil sülfata daha da dönüştürülebilir.

İndoksil sülfat, konjenital "üremik bir toksin" olarak kabul edilmekte olup, böbrek hastalığında renal atılım yoluyla konaktan uzaklaştırılması bozulmuştur (138). İndoksil sülfat ayrıca damar toksini potansiyeline sahiptir ve endotel hücrelerinde oksidatif stresi tetikleyebilir, vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasını artırabilir ve renal hastalığı olan kişilerde ateroskleroz ve sarkopeninin patofizyolojisine olası katkıda bulunabilir (138,139).

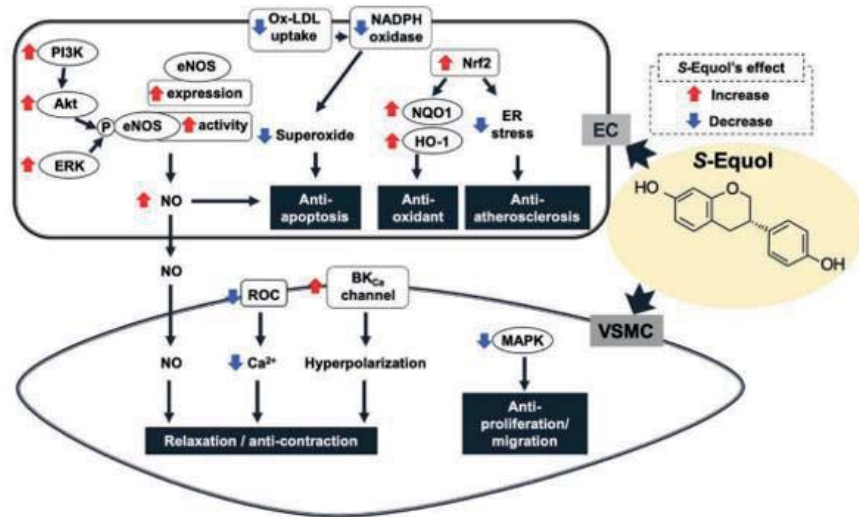
Terapötik amaçlar için indol metabolitlerini düzenlemeye yönelik birkaç girişim araştırılmaktadır. Arabinozilan oligosakkaritler (AXOS), özellikle Bifidobakteriler olmak üzere belirli kolon bakterilerinin aktivitesini uyararak umut

verici sağlık teşvik edici özelliklere sahip prebiyotik karbondhidratlardır. AXOS, indol türevleri (indoksil sülfat) düşürmek için kronik böbrek hastalığında test edilmektedir.

1.7.3. S-Equol

Equol [7-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)kroman], belirli bakteriyel biyotipler tarafından insan ve hayvan bağırsaklarında, bireyler arasında geçebilen soya izoflavonu daidzein'den üretilir (140, 141). Birçok  alışma, S-equol' n soyanın metabolik ve kardiyovasküler faydalarından sorumlu olduğunu öne sürmüştür (142, 143).

Büyük miktarda kanıt, S-equol' n sadece endotel hücrelerinde değil, aynı zamanda vasküler düz kas hücrelerinde de birçok olguyu etkileyebileceğini  ne sürmüştür. Bu durum aşağıdaki şekil 14'de gösterilmiştir.



şekil 14. S-equol' n vasküler endotel ve düz kas hücreleri üzerindeki etkileri

S-equol' n vasküler endotel ve düz kas hücreleri üzerindeki etkileri. S-equol' n anti-apoptoz, anti-oksidasyon ve anti-ateroskleroz; endotel hücrelerinde nitrik oksit üretimi; anti-proliferasyon ve/veya g  ; ve vasküler düz kas hücresi ge emesinin teşviki dahil olmak üzere çeşitli yararlı etkileri vardır.

Vasküler düz kas hücrelerinde, S-equol, insan aort düz kas hücrelerinin (HASMC'lerin) proliferasyonunu, kollajen ve toplam protein sentezini, g  n  ve mitojen-aktif olmuş protein kinaz aktivitesini konsantrasyona bağlı bir şekilde inhibe etmiştir. Bu durum, S-equol' n vasküler yeniden yapılanma ve neointima oluşumunu

engelleyerek damar sistemi üzerinde koruyucu etkiler sağlayabileceğini önermektedir (144).

Endotel hücrelerinde, S-equol, insan umbilikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC'lerde) okside olmuş düşük yoğunluklu lipoprotein tarafından indüklenen apoptozu, nicotinamide adenin dinükleotid fosfat oksidaz tarafından süperoksit üretiminin azalması ve NO üretiminin artması yoluyla baskılamaktadır (145). Formun Üstü

S-equol, bovine aortic endotel hücrelerinde (BAEC'lerde), H₂O₂ tarafından indüklenen apoptozu, hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini azaltarak ve fosforile-p38 mitojen-aktive olmuş protein kinazı ve Bcl-2 ekspresyonunu artırarak baskılamaktadır (146).

Bu bulgular, S-equol'ün endotel hücrelerinde antiapoptotik etkiler gösterdiğini öne sürmektedir. Başka bir çalışma, S-equol'ün klasik östrojen reseptörü (ER) sinyalizasyonundan bağımsız olarak ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) 1/2 ve Akt'yi aktive ederek bazal sitozolik Ca²⁺ seviyelerinde endotel NO salınımını akut olarak aktive ettiğini gösterdi (147). Vasküler tonun düzenlenmesiyle ilgili olarak, S-equol, karotis arterler, serebral arterler, aorta ve baziller arterler de dahil olmak üzere çeşitli arterlerde gevşemeyi teşvik edebilir (148, 149).

S-equol, sıçan karotis arterlerinde endotel ve nitrik oksit sentazı (NOS) ile ilgili olmayan ve K⁺ kanalına bağlı olmayan yollar aracılığıyla gevşemeyi indükler. Bu etki, anjiyotensin II ile indüklenen hipertansiyon sırasında da korunmuştur (147). İnsan rahim arterlerinde, S-equol tarafından indüklenen gevşeme, kalsiyum antagonistik etkisi aracılığıyla gerçekleşir ve bu, reseptöre bağımlı ancak voltaj bağımlı olmayan Ca²⁺ kanallarının antagonizması yoluyla olur (150). S-Equol, sıçanlarda bölgesel beyin kan akışını artırır ve sıçan beyin baziller arterlerinde konsantrasyona bağlı ancak endotelyumdan bağımsız gevşemeyi teşvik eder. Bu etki, büyük iletkenlikli Ca²⁺-aktive olan K⁺ (BKCa) kanalı aracılığıyla gerçekleşir (149).

Yüksek insülin seviyeleri, tip 2 diyabet için önemli bir patofizyolojik durumdur ve insülin direnci durumlarından kaynaklanır. Dolaşımdaki insülin seviyelerinin uzun süre yüksek kalması, vasküler hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli sistemik bozuklukları teşvik edebilir (151). Çok yakın zamanda, artan insülin seviyeleriyle uzun süreli tedavi alan karotid arterlerde, S-equol'ün serotonin tarafından indüklenen

kasılmanın artmasını engelleyebileceğini gösterdik. Bu durum, karotid arter düz kas hücrelerinde artan BKCa kanal aktivitesine bağlı olabilir (152). Bu nedenle, S-equol, yüksek insülin koşullarında ve tip 2 diyabet durumlarında vasküler disfonksiyonun gelişimini önleyebilir olabilir. Ayrıca, yüksek yağlı bir diyetle beslenen apolipoprotein E eksik farelerde (12-14 hafta boyunca 0.05% ve 0.1% S-equol tedavisi), endoplazmik retikulum stresini nükleer faktör-eritroid 2 ile ilişkili faktör 2'nin endotel hücrelerindeki aktivasyonu aracılığıyla inhibe ederek antiaterosklerotik özellikler sergilemiştir (153).

Bu in vitro ve in vivo kanıtları bir araya getirerek, S-equol'ün hem erkeklerde hem de kadınlarda kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi için feminizan östrojenlere klinik olarak daha güvenli bir alternatif gibi görüldüğü söylenebilir. Gözlemsel çalışmalar, S-equol üretiminin, obezite, hipertansiyon ve vasküler disfonksiyon gibi belirli hastalıklar veya durumlarla ilişkili olduğunu öne sürmüştür (154).

Son zamanlarda, Ahuja ve arkadaşları, Japon erkekler arasında diyetle bağlı izoflavonlar ile S-equol üretici durumu ve koroner arter kalsifikasyonu arasındaki çapraz kesitsel ilişkiyi incelediler; bu, koroner arter aterosklerozunun bir biyobelirtecidir. Sonuçları daha sonra, S-equol üretenlerin, kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak, S-equol üretmeyenlere kıyasla daha düşük koroner arter kalsifikasyonuna sahip olduğunu gösterdi. Bu nedenle, koroner arteriyel kalsifikasyon ile beslenme ile alınan izoflavonlar arasındaki ters ilişkinin olmaması, S-equol'ün besin kaynaklı izoflavonların ateroprotektif özellikleri için önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir (155).

1.8. İnflamasyon ve İnflamasyon Belirteçleri

İnsan vücudu çeşitli çevresel uyarıcılara maruz kalır ve bu uyarıcılar, zararlı antijenlere ve/veya mikroorganizmalara karşı uygun ev sahibi savunma tepkilerini harekete geçirir (156). Bir yandan, inflamatuvar tepkiler, ev sahibi savunma eylemlerini harekete geçirmek ve organ dokularının yeniden şekillenmesini sağlamak için hayati öneme sahiptir (157). Öte yandan, bazen inflamatuvar bir tepki, iltihabi yanıtı kötüleştirir ve doku hasarına ve sistemik iltihabi hastalıkların gelişimine yol açabilir (158). Çünkü inflamasyon birçok insan hastalığında rol oynamıştır, anti-inflamatuvar ajanlar çeşitli iltihabi hastalıklara uygulanmalıdır

Steroid veya steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID'ler), bu iltihabi hastalıkların tedavisi için mevcut olan ilaçlardır; ancak, bu ilaçlarla ilişkilendirilmiş yan etkiler nedeniyle dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle, iltihabi hastalıkların tedavisi için güvenli ajanların geliştirilmesi gereklidir.

Günlük diyet, insanların yaşamlarını sürdürmek için temel olan günlük yaşam tarzlarından biridir ve beslenme, vücut elementlerini ve hücre bileşenlerini içerir. Çeşitli besin maddeleri arasında yağ asitleri, hücre membranlarının bileşenleri olup hücrel sinyal iletimini düzenler (159, 160). Son araştırmalar, yağ asitlerinin insan sağlığı üzerindeki faydalı etkileri hakkındaki bilgilerimizi artırmıştır (161).

Omega-3 yağ asitleri balık yağında bol miktarda bulunur ve astım, sedef hastalığı, inflammatuar bağırsak hastalığı ve romatoid artrit gibi çeşitli inflammatuar hastalıklarda potansiyel faydaları olduğu bilinmektedir (162). Ayrıca, omega-3 yağ asitlerinden elde edilen lipid aracı metabolitler, lipid metabolizmasını, hücrel sinyalleşmeyi ve inflamasyonu düzenleyerek çeşitli fizyolojik süreçlere veya patolojik durumlara etki eder (163, 164). Maresin-1, eikosapentaenoik asitten (EPA) elde edilen önemli metabolitlerden biridir ve inflammatuar hastalıklarda çeşitli güçlü anti-inflamatuar etkiler gösterir.

1.8.1. Maresin-1

Maresin-1 ilk kez insan makrofajlarında tanımlandı ve inflammatuar çözünüm sürecinde etkin olan bir lipid aracı olduğu gösterildi. Çalışmalar, insan makrofajlarının, DHA'nın 14-lipoksilasyonu ve 13S,14S-epoksimarezinden enzimatik hidroliz yoluyla marezin-1 ürettiğini göstermiştir (165, 166). Anti-inflamatuar etkisiyle ilgili olarak, marezin-1'in nötrofil migrasyonunu bastırdığı gösterilmiştir (167).

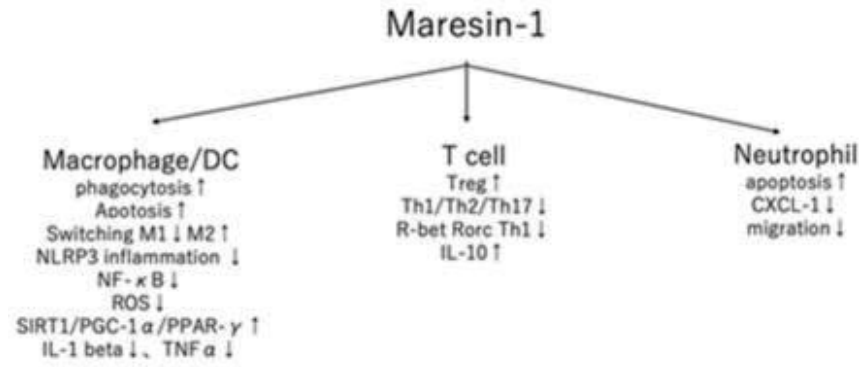
Maresin-1'in anti-inflamatuar etkisiyle ilgili olarak, CD8⁺ T hücrelerini, CD4⁺ T yardımcı (Th1) hücrelerini ve Th17 hücrelerini aktive ederek nötrofil migrasyonunu bastırdığı ve sitokin üretimini engellediği gösterilmiştir. Maresin-1 ayrıca, transkripsiyon faktörleri T-bet ve Rorc'u negatif olarak düzenleyerek Th1 ve Th17 farklılaşmasını önlerken, aynı zamanda GPR32 reseptörü aracılığıyla Foxp3⁺ düzenleyici T (Treg) hücrelerinin üretimini artırır (168).

Maresin-1'in etki mekanizmasını dikkate alarak, son bir çalışma, yani bir leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled reseptör 6 (LGR6) olmak üzere, bir

reseptörü tanımlamıştır. Bu reseptör, GPCR'ların yapısına sahiptir ve çeşitli dokularda yaygın olarak tanımlanmıştır (169). Başka bir reseptör olan retinoik asit ile ilişkili öksürük reseptörü alfa ($ROR\alpha$), nükleusta bulunmuştur (170). Maresin-1'in bağışıklık hücreleri üzerinde çeşitli etkileri olduğu gösterilmiştir. Maresin-1'in dendritik hücreler (DC'ler) / makrofajlar, T hücreleri / düzenleyici T hücreleri ve nötrofiller üzerindeki etkileri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir

Tablo 3. Maresin-1'in dendritik hücreler (DC'ler) / makrofajlar, T hücreleri / düzenleyici T hücreleri ve nötrofiller üzerindeki etkileri

Macrophage DC	Phagocytosis ↑ M2 Polarization IL-1 β ↓, TNF- α ↓, IL-6 ↓, ROS ↓
T cells	Th1, Th2, Th17 induction ↓ Treg ↑
Neutrophil	Apoptosis ↑



1.8.1.1. Maresin-1 in İnflamatuvar Hastalıklardaki Rolü

Maresin-1, özellikle nörolojik bozukluklar, ağrı, solunum yolları hastalıkları, diyabet ve obezite, karaciğer hastalıkları, artrit, enfeksiyon hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıklarda etkileri mevcuttur.

1.8.1.1.1. Nörolojik Hastalıklar

Nörolojik eylemler, insanların yaşamlarını sürdürmek için hayati öneme sahiptir ve nörolojik eylemin düzensizliği Alzheimer gibi çeşitli ciddi bozukluklara neden olur. Bu nörolojik hastalıklar için radikal bir tedavi olmadığından, yeni tedavi veya önleyici seçenekler istenir. Sürekli olarak, birkaç çalışma, maresin-1'in bu nörolojik hastalıklara karşı faydalı etkilere sahip olduğunu belirlemiştir. Fare

modellerinde, Maresin-1'in omurilik yaralanması ve serebral iskemi gibi akut nörolojik hasar üzerinde inhibe edici bir etki gösterdiği gösterilmiştir. Ayrıca, Maresin-1'in, amiloid- β protein aracılı iltihabın bir çözünümü olarak Alzheimer gibi kronik dejeneratif hastalıkların ilerlemesini engellediği gösterilmiştir (171).

Omurilik yaralanması, nörolojik dokuda inflamatuvar yanıtı hızlandırır ve nörolojik fonksiyonun gecikmiş yeniden yapılanmasına neden olur. Bu nedenle, omurilik yaralanması ile ilişkili inflamasyonun erken çözünümü, inflamatuvar bölgede aşırı bir inflamatuvar yanıtıdan kaçınmak için gereklidir. Maresin-1'in omurilik yaralanmasından sonra inflamatuvar çözünümde aktif olduğu gösterilmiştir. Omurilik yaralanması hayvan modelinde, Maresin-1, nötrofillerin çözünümünü hızlandırmış ve lezyondaki makrofaj infiltrasyonunu azaltmıştır, bu da omurilik yaralanmasından sonra nörolojik iyileşmeye katkıda bulunmuştur (172). Beyin infarktı hayvan modelinde, maresin-1 de lezyonlardaki inflamatuvar tepkileri engelledi ve nörolojik defektleri azaltmıştır (173).

Maresin-1 ayrıca nörolojik dejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilen potansiyel faydalar da göstermiştir. Örneğin, Alzheimer hastalığı temsilcisi bir nörolojik dejeneratif hastalıktır ve dünya çapında insidansı artmaktadır. Tatmin edici düzeyde klinik kullanım elde eden az sayıda tedavi seçeneği olduğundan, çeşitli araştırma yaklaşımları şu anda uygulanmaktadır. Alzheimer hastalığı hayvan modelinde, amiloid- β 42 proteini, beyinde birikmiş amiloid- β 42 proteinlerinde inflamatuvar bir yanıt oluşturarak Alzheimer hastalığının patogenezinde merkezi bir rol oynadığına inanılmaktadır. Maresin-1'in amiloid- β 42 proteini düzenleyerek, proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-6 üretimini azaltırken, anti-inflamatuvar sitokinler olan IL-2 ve IL-10 salınımını artırdığı gösterilmiştir (174, 175).

1.8.1.1.2. Ağrı

Maresin-1'in ağrıya karşı terapötik potansiyeli çeşitli hayvan modellerinde araştırılmıştır. Dorsal kök gangliyon (DRG) nöronları, nörolojik ağrıyı kapsaisin ve vinkristin sülfat enjeksiyonu ile arka pençe taban yüzeyine verilerek oluşturulmuş ve bu uyarılar, geçici reseptör potansiyeli V1 (TRPV1) aracılığında artan ağrıları tetiklemiştir, maresin-1 tedavisi ile bastırılmıştır (176). Düzgün olarak, maresin-1, TRPV1 agonisti ile indüklenen ağrı aktivasyonunu inhibe etmiştir (177).

Maresin-1'in kronik ağrıda da etkili olduğu gösterilmiştir. Omurilik L4 ile L6 omurları arasına uygulandığında analjezik etkisi 5 gün boyunca gözlemlenmiştir (178). Mekanizmaları ile ilgili olarak, Maresin-1 proinflamatuvar sitokinleri (IL-1 β , IL-18 ve TNF α) azaltmış ve hücre ölümünü bozarak ve NF- κ B/p65 aracılı iltihaplanma ve ağrının olumlu aktivasyonunu azaltarak NLRP3 inflamazomunu azaltmıştır (179). Mekanik ve termal aşırı hassasiyet, IL-1 β ve IL-18 seviyelerini artırmış ve NLRP3 inflamazom bileşenlerinin ifadesini artırmıştır, bunlar Maresin-1 tedavisi tarafından belirgin bir şekilde bastırılmıştır (180).

1.8.1.1.3. Solunum Hastalıkları

Maresin-1'in anti-inflamatuvar etkileri çeşitli solunum hastalıklarında doğrulanmıştır. Organik toz, artmış nötrofil infiltrasyonu ve TNF- α ve IL-6 üretimi nedeniyle kronik hava yolu inflamasyonunun nedeni haline gelir, özellikle obstrüktif akciğer hastalığında. Maresin-1, organik toz maruziyetinde bronşiyal epitelyal hücrelerde proinflamatuvar sitokin üretimini ve hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ifadesini bastırmıştır (181). Maresin-1, bronkoalveoler lavaj nötrofil infiltrasyonunu önemli ölçüde azaltmış ve IL-6, TNF- α ve kemokin C-X-C motif ligand 1 salgı seviyelerini düşürmüştür (182). Yüksek dozda maresin-1 tedavisi, LPS ile indüklenmiş akut akciğer yaralanması (ALI) fare modelinde akciğer inflamasyonunu bozmuştur (183).

Pulmoner fibrozis, kontrolsüz bir fibrotik yanıtla sonuçlanan ilerleyici, kronik bir akciğer epitelyum yaralanmasıdır. Epitel-mezenkimal geçişin (EMT), akciğer fibrozisinde patojenetik bir rolü olduğu düşünülmektedir çünkü epitelyal hücreleri geri dönüşümsüz olarak mezenkimal fenotipe kaydırır. TGF- β 1, akciğer fibrozisinde EMT için pozitif bir sürücü olarak rol oynar ve kolajen sentezini ve fibroblast proliferasyonunu artırır. Bronkoalveoler lavaj sıvısındaki TGF- β 1 konsantrasyonu ve fibrozis belirteçleri, fibronektin ve α -SMA gibi, maresin-1 uygulaması ile bastırılmıştır (184).

Maresin-1 ayrıca, fibroblastlarda proliferasyonu, göçü ve diferansiyasyonu bastırarak bağımlı bir şekilde decapentaplegic homolog 2/3 (Smad2/3) ve ekstrasellüler sinyal ile ilişkilendirilmiş kinaz 1 ve 2 (ERK1/2) fosforilasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (185).

Pulmoner iskemi/reperfüzyon yaralanması, pulmoner tromboliz gibi tıkanıklık bronşiyolitiye neden olur ve oksidatif stres oluşumu patogenezinde bir rol oynar. Bir çalışma, Maresin-1'in oksidatif ve antioksidan üretimini bozarak akciğer dokularının korunmasına yol açtığını göstermiştir (186).

1.8.1.1.4. Diyabet Ve Obezite

Tip 2 diyabet mellitusun gelişiminde ve komplikasyonlarında inflamasyonun rolü giderek artan dikkat çekmektedir ve insidans şu anda dünya genelinde artmaktadır. IL-1 β , IL-6 ve CRP, diyabette prognoz faktörleri olarak kabul edilir ve maresin-1 gibi anti-inflamatuar lipid aracı maddeler, bu tür yağ inflamasyonlarını birleştirerek ve insülin direncini ve adipokin salınımını değiştirerek diyabetik retinopatinin kötüleşmesini önlemelidir (187).

Maresin-1 ile tedavi edilen diyetle indüklenmiş obez farelerde TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuar sitokinlerin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, yüksek yağ içerikli diyetle indüklenen hiperkolesteroleminin maresin-1 ile iyileştiği ve maresin-1'in makrofajların onarım fonksiyonunu artırdığı ve aynı zamanda diyabetik yara iyileşme yeteneğini teşvik ettiği gösterilmiştir (188).

Obezite ile ilişkili olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), endoplazmik retikulum stresi ve açılmamış protein yanıtlarının aktivasyonu tarafından tetiklenen patolojik bir durumdur. Maresin-1'in hepatositlerin endoplazmik retikulum stresini inhibe ettiği ve kupffer hücrelerinin fagositoz aktivitesini arttırdığı ve bu sayede hepatositleri apoptozdan koruduğu gösterilmiştir (189).

1.8.1.1.5. Karaciğer E Olan Etkisi

Maresin-1'in karaciğer yaralanması üzerindeki etkileri, akut karaciğer yaralanması fare modelinde de araştırılmıştır. Maresin-1, reaktif oksijen türlerini ve IL-6, IL-1 β ve monosit kemotaksi protein-1 (MCP-1) gibi inflammatuar sitokinler ve kemokinleri inhibe etmiş ve karbon tetraklorür ile indüklenen karaciğer yaralanmasını baskılamıştır (190). Başka bir çalışmada, maresin-1'in hepatoprotektif etkisi, Boc2 (lipoksin A4 reseptör antagonist) ön işlemi ile ortadan kaldırıldı ve maresin-1'in hepatoprotektif etkisi, Akt inhibitörü ile daha da tersine çevrildi. Dolayısıyla, maresin-1 ALXR/Akt sinyal yolunun aracılığıyla karaciğerin hepatik iskemi-reperfüzyon yaralanmasına karşı korunmasını sağlamıştır (191).

1.8.1.1.6. Artrit

Birçok çalışma, maresin-1'in artrite karşı terapötik potansiyelini göstermiştir. Romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvısındaki Maresin-1 konsantrasyonunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (192). Bu bulgular, Maresin-1'in romatoid artrit gelişiminde koruyucu bir rol oynayabileceğini önermektedir. Maresin-1'in serum seviyesi, aktif romatoid artrit aksine, aktif olmayan romatoid artritte daha düşüktü. Dahası, maresin-1'in romatoid artrit hayvan modelinde inflamatuvar yanıtı baskıladığı gösterilmiştir (193). Maresin-1, osteoartritin bir koşu bandı yüklü fare modelinde intraartiküler lavaj sıvısını artırarak terapötik potansiyelini göstermiştir. Maresin-1 tedavisinin kıkırdakta tip II kollajen artışına ve sinovyumda MMP13 azalmasına neden olduğu bildirilmiştir, bu da PI3k/Akt ve NF-κB p65 yolları aracılığıyla gerçekleşmektedir (194)

1.8.1.1.7. Enfeksiyöz Hastalıklar

Enfeksiyonlar tarafından indüklenen akut inflamasyon aşırı doku hasarına neden olabilir, bu nedenle erken aşamada akut inflamatuvar yanıtın çözülmesi enfeksiyon hastalığı düzenlemesi için önemlidir. Maresin-1'in Escherichia Coli enfeksiyonu sırasında inflamatuvar immün yanıtı düzenlediği gösterilmiştir (195). Bağırsak bağlanması ve delinmesi ile indüklenen bir sepsis hayvan modelinde, Maresin-1, LPS'nin serum konsantrasyonunu azaltmış, bakteriyel temizliği teşvik etmiş ve hayatta kalımı arttırmaya ek olarak kritik organ fonksiyonlarını korumuştur (196). Ayrıca, sepsiste mitokondriyal disfonksiyon artmış ROS üretimine yol açar ve Maresin-1'in adenosin trifosfat içeriğini koruyarak mitokondriyal membran bütünlüğünü artırdığı ve ROS üretimini azalttığı bildirilmiştir (197). Maresin-1 sepsis sırasında miyokard enfarktüsünü azaltabilir ve LDH ve CK düzeylerini düşürerek M2 makrofajların diferansiyasyonunu teşvik ederek kardiyak fonksiyonun iyileştirilmesine yol açabilir (198).

1.8.1.1.8. Kardiyovasküler Hastalıklar

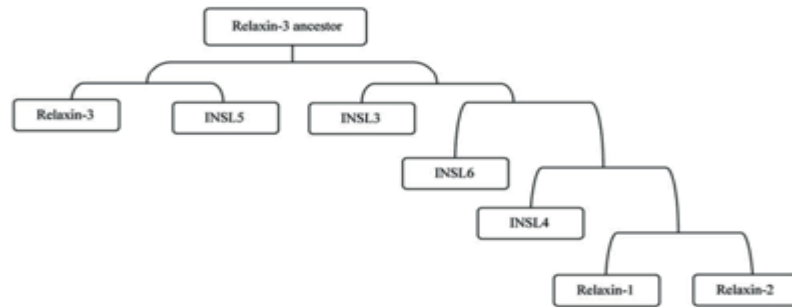
Vasküler yaralanma, bazen kan damarlarında re-oklüzyona neden olan neointima oluşumuna yol açarak inflamasyonla vasküler endotel hücrelerinin yeniden

yapılanmasını aktive eder. Maresin-1'in sistemik uygulamasının neointima oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (199).

Kronik inflamasyonun aterosklerozun nedenlerinden biri olduğuna dair bir görüş birliği bulunmaktadır. Maresin-1, aterosklerozun ilerlemesini ateroskleroz bölgesinde nekroz baskılayarak ve makrofaj birikimini azaltarak ve düz kas hücrelerinin fibroz kapak kalınlığını arttırarak inhibe etmiştir (200). Düz kas hücre spesifik TGF- β 2 reseptör-defektli fareler, yerel olarak abdominal aortik anevrizmalar oluşturmak için kullanıldı ve Maresin-1'in TGF- β 2 ve MMP2 aktivitesinden sorumlu olan LGR6 reseptör sinyalinin aracılık ettiği aortik anevrizma büyümesini baskılamıştır (201).

1.8.2. Relaxin

Relaxin, ilk olarak 1926'da Frederick Hisaw tarafından, hamile kobay veya tavşanların serumunun bakire kobaylara enjekte edilmesini takiben hayvanların interpubik bağlarının gevşemesine neden olmasıyla keşfedildi (202). Relaxin'in ilkinin yapısı, protezlerin izolasyonu ve karakterizasyonu için geliştirilen yöntemlerin 1970'lerin ortası ile 1980'ler arasında kullanıma sunulmasıyla belirlendi. Bunlar, rekombinant DNA teknolojisinin ortaya çıkması ile birlikte, relaxin'in kimyası ve fizyolojisi üzerine kapsamlı çalışmaların yapılmasına izin verdi. Bugüne kadar, relaxin'in primer yapısı yirmiden fazla türden belirlenmiştir (203, 204). Relaxin, iki peptit zincirinin üç disülfid bağı tarafından bir arada tutulduğu insülin peptitlerinin klasik yapılandırmasına sahiptir. İnsülin ile yaklaşık %25 sekans benzerliği paylaşır (205). Bu insanlardaki relaxin peptit ailesi şu anda relaxin-1, -2 ve -3 ile dört diğer insülin benzeri peptidi (INSL 3, 4, 5 ve 6) içermektedir. Aşağıdaki şekilde bu durum gösterilmiştir (206).



Şekil 15. Relaxin peptit ailesi

İnsanlar ve diğer yüksek primatlar dahil olmak üzere iki farklı formu kodlayan iki farklı gen, sırasıyla relaxin-1 ve relaxin-2 olan RLN1 ve RLN2 genleri bulunmaktadır, bu da primat evrimi sırasında atalardan kalma bir kopyalama olduğunu öne sürmektedir. İnsan RLN2 geni, diğer memeli türlerinde bulunan RLN1 geninin ortologudur (207, 208). 2002'de keşfedilen son insan relaxin üyesi (relaxin-3) olan RLN3 geni, relaxin ailesinin atal peptididir (209, 210).

Relaxin-1, -2 ve -3 peptitleri, B zincirinde bulunan ortak ve iyi tanımlanmış bir bağlanma motifine (Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val) sahip olduklarından dolayı relaxin olarak adlandırılmıştır (205, 211)

Relaxin ailesi peptitlerinin reseptörleri, bilinen in vivo fonksiyonları ve terapötik potansiyeli, aşağıda daha detaylı olarak aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

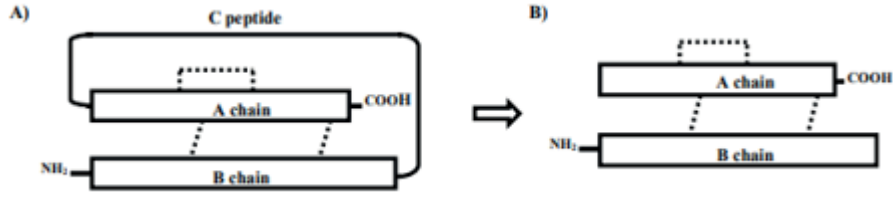
Tablo 4. Relaxin ailesi peptitlerinin reseptörleri, bilinen in vivo fonksiyonları ve terapötik potansiyeli

Relaxin Family Peptide	Receptors	In Vivo Functions	Past & Present Therapeutic Potential
Relaxin-1	RXFP1 (LGR7)	Unknown	NA
Relaxin-2	RXFP1 (LGR7)	Pregnancy processes: Remodeling and growth of the uterus, cervix and vagina throughout pregnancy. [29, 30] Promotes endometrial thickening and vascularisation for embryo implantation. [31] Development of mammary nipple. [27, 37, 38] Non-pregnancy processes: Increases sperm motility. [40] Control of blood pressure and fluid balance. [44] Release of hypothalamic hormones. [44] Cardiovascular adaptive changes such as increases in plasma volume, cardiac output and heart rate; and decreases in blood pressure and vascular resistance. [47] Increases glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in kidney. [48] Anti-fibrotic effects in skin, lungs, heart and kidneys. [54-57]	Heart failure symptoms Scleroderma Pre-eclampsia Cervical ripening Orthodontic treatment Fibrotic diseases
Relaxin-3	RXFP3 (GPCR135)	Neurotransmitter in the brain. Potential in mediating stress responses and regulating appetite. [58, 60] Anti-fibrotic effects [61]	Anti-anxiety drugs, anti-obesity drugs
Insulin-like peptide 3 (INSL3) (Relaxin-like factor: RLF / Leydig cell insulin-like: Ley-IL)	RXFP2 (LGR8)	Stimulates growth and development of the gubernaculum ligament essential for testicular descent. [63] Survival of germ cells and ovarian follicles. [68, 70]	Cryptorchidism, fertility regulation
Insulin-like peptide 4 (INSL4) (Early placental insulin-like protein: EPIL)	Unknown	Unknown	NA
Insulin-like peptide 5 (INSL5) (Relaxin insulin-like factor 2)	RXFP4 (GPCR142)	Possible role in neuroendocrine signaling and/or fat and glucose metabolism.	Orexigenic drugs
Insulin-like peptide 6 (INSL6) (Relaxin insulin-like factor 1)	Unknown	Required for the progression of spermatogenesis [75]	Fertility regulation

1.8.2.1. Relaxin Aile Peptidlerinin Yapısı

Tüm relaxin ailesi peptitleri, bir sinyal dizisi ve bir B-C-A yapısını içeren bir prohormon olarak sentezlenir (212).

Sinyal dizisi, prohormonun salgılanmasına yardımcı olurken, A- ve B-zincirlerini birbirine bağlayan ara bağlayıcı C-peptidi protein katlanmasını kolaylaştırır ve üç disülfid köprüsünün oluşumunu sağlar. Sonrasında, vücutta enzimatik kesilme işlemiyle olgun aktif iki zincirli (A-B) heterodimerik peptid üretilir ki bu sadece relaxin-1, -2, -3 ve INSL3 için gösterilmiştir. Ancak, INSL 4, 5 ve 6'nın işlenmesi hala belirsizliğini korumaktadır. A- ve B-zincirleri, her biri ikişer tane bulunan dört korunmuş sistein kalıntısı tarafından oluşturulan iki ara disülfid bağı ile kovalent olarak bağlanır. A zinciri içinde iki daha korunmuş sistein kalıntısı tarafından oluşturulan bir ekstra iç disülfid bağı bulunur. Bu durum aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (213).



Şakil 16. Relaxin Aile Peptidlerinin Yapısı

Her bir relaxin peptit aile üyesi için temel dizilimler ya belirlenmiş ya da tahmin edilmiştir. Üyeler arasında çok az dizi benzerliği bulunmaktadır. A- ve B-zincirleri arasında disülfid çapraz bağlar oluşturan altı sistein kalıntısı ve B zincirindeki tek bir glisin kalıntısı, relaxin aile üyeleri arasında yüksek derecede korunmuştur. Bu durum aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.

A chain	1	5	10	15	20																					
Relaxin-1	R	P	Y	V	A	L	F	E	K	C	C	L	I	G	C	T	K	R	S	L	A	K	Y	C		
Relaxin-2	Z	L	Y	S	A	L	A	N	K	C	C	H	V	G	C	T	K	R	S	L	A	R	F	C		
Relaxin-3	D	V	L	A	G	L	S	S	S	C	C	K	W	G	C	S	K	S	E	I	S	S	L	C		
INSL3	A	A	A	T	N	P	A	R	Y	C	C	L	S	G	C	T	Q	Q	D	L	L	T	L	C	P	Y
INSL4	R	S	G	R	H	R	F	D	P	F	C	C	E	V	I	C	D	D	G	T	S	V	K	L	C	
INSL5																										
INSL6																										

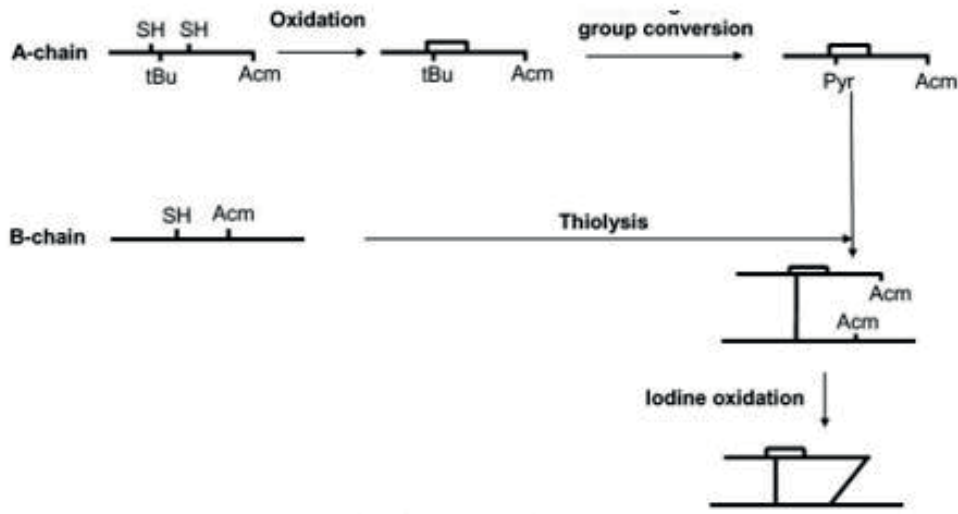
B chain																																	
Relaxin-1	K	W	K	D	D	V	I	K	L	C	G	R	E	L	V	R	A	Q	I	A	I	C	G	M	S	T	W	S					
Relaxin-2	D	S	W	M	E	E	V	I	K	L	C	G	R	E	L	V	R	A	Q	I	A	I	C	G	M	S	T	W	S				
Relaxin-3	R	A	A	P	Y	G	V	R	L	C	G	R	E	F	I	R	A	V	I	F	T	C	G	G	R	W							
INSL3	P	T	P	E	M	R	E	K	L	C	G	H	H	F	V	R	A	L	V	R	V	C	G	G	P	R	W	S	T	E	A		
INSL4	Z	S	L	A	A	E	L	R	G	C	G	P	R	F	G	K	H	L	L	S	Y	C	P	M	P	E	K	T	F	T	T	P	-
INSL5																																	
INSL6	S	D	I	S	S	A	R	K	L	C	G	R	Y	L	V	K	E	I	E	K	L	C	G	H	A	N	W	S	F	R			

Şekil 17. Her bir relaxin peptit aile üyesi için temel dizilimler

1.8.2.2. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Kimyasal Sentezi

Bireysel relaxin A- ve B-zincirlerinin bir araya getirilmesi standart Fmoc katı faz peptit sentezi (SPPS) protokolleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Otomatik peptit sentezleyiciler, mikrodalga yardımı ile veya olmadan kullanılır. Bireysel amino asit kalıntıları, 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilüronyum heksaflorofosfat (HBTU), diizopropiletilamin (DIPEA) ve N,N-dimetilformamid (DMF) karışımında aktive edilir ve kuplaj için deprotekte edilmiş reçine içeren bir reaksiyon kabına aktarılır. Büyüyen peptit zincirinin ardışık deproteksiyonu piperidin içeren DMF ile gerçekleştirilir. Peptidin reçineden ayrılması ve yan zincir koruyucu gruplarının aynı anda çıkarılması trifluoroasetik asit (TFA), 3,6-diyoksa-1,8-oktandiol (DODT), anisol ve triizopropilsilan (TIPS) içeren bir ayrılma kokteyli kullanılarak yapılır. Ayrılan peptit daha sonra dietil eter ile yıkanır ve çöktürülür. Bireysel ham relaxin A- ve B-zincirleri daha sonra şekilde gösterildiği gibi 3 disülfid bağının ardışık oluşumunu sağlamak için daha fazla kimyasal adımlara tabi tutulur (214)

1.8.2.2.3. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Reseptör Yapısı

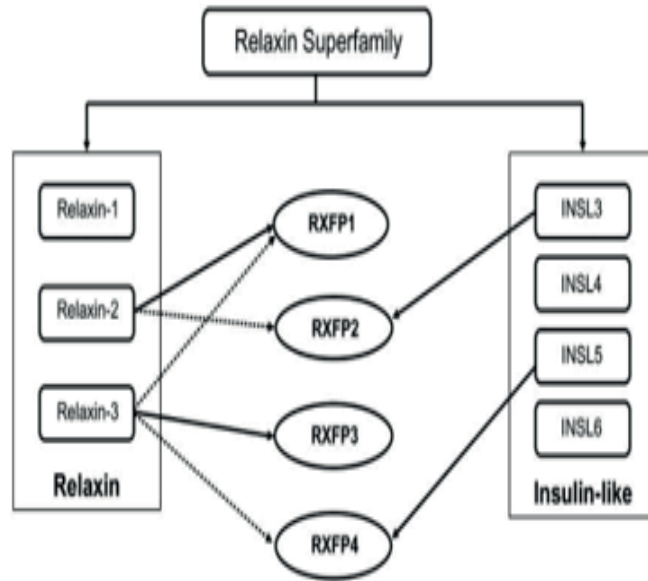


Şekil 18. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Reseptör Yapısı

Relaxin ailesi peptitleri genellikle G-protein bağlanmış reseptörler (GPCR'ler) olarak bilinen bir reseptör sınıfı ile etkileşir. Relaxin için reseptör, LGR7 olarak adlandırılan bir lösin zengini tekrar içeren GPCR (LGR)'dir. INSL3'ün reseptörü LGR8 olarak bilinir (215, 216).

LGR7 ve LGR8 her ikisi de RXFP1 ve RXFP2 olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Bunlar sınıf C LGR'lerine aittir ve %60 sekans benzerliğine sahiptir. Her iki reseptör de benzersiz bir ektopdomeine sahiptir.

Relaxin ailesi peptidlerinin tip I GPCR'leri için iki farklı sınıflandırması, hücrelerde reseptör aktivasyonuna bağlı olarak farklı etkilere sahiptir. RXFP1 ve RXFP2 aktivasyonu, sırasıyla adenilat siklazı aktive eden ve inhibe eden Gs ve Gi/oB'ye bağlanmayı sağlar, bu da genel olarak hücre içi cAMP birikimine neden olur. Tersine, RXFP3 ve RXFP4, her ikisi de inhibisyonu uyarıcı G-proteinlere bağlanır ve forskolin uyarımıyla cAMP üretimini inhibe eder. Ayrıca, relaxin ailesi peptidleri ile reseptörler arasında çapraz reaktivite bulunmaktadır. Bu durum aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 19. Relaxin ailesi peptidlerinin tip I GPCR'lerin sınıflandırması

Örneğin, relaxin, RXFP1'e ek olarak RXFP2'ye de bağlanabilir ve relaxin-3, RXFP3'e ek olarak RXFP1 ve RXFP4'e de bağlanabilir (217, 218).

1.8.2.2.3. Relaxin Ailesi Peptidlerinin Roller

1.8.2.2.3.1. Relaxin-1 Ve Relaxin-2

İnsan relaxin-2 (H2 relaxin), maymun olmayan türlerde relaxin-1'in karşılığı olduğu için her ikisi de sadece relaxin olarak adlandırılır. Relaxin, birçok türde corpus luteum ve/veya plasenta tarafından üretilen üreme hormonu olarak bilinir. Farklı türlerin serviksi, memeleri, meme uçlarını, pubik simfizi ve rahimleri üzerinde relaxinin çeşitli etkileri bulunmaktadır (219).

Relaxin, normal gebelik ve doğumun çeşitli fizyolojik süreçlerini düzenler. Ayrıca, relaxin gebelik boyunca rahim, serviks ve vajinanın yeniden şekillenmesi ve büyümesi için hayati öneme sahiptir (220).

Relaxinin artmış endometrial anjiyogenez, kalınlaşma ve kanama ile ilişkili olduğunu gösteren bir dizi çalışma yapılmıştır (221).

Domuzlarda ve maymunlarda, rahmin büyümesi ve yeniden şekillenmesi gösterilmiştir. İnsanlarda ve diğer primatlarda gebeliğin erken evrelerinde, endometriumun embriyo implantasyonu için hazırlanması amacıyla relaxinin

endometriyal kalınlaşmayı ve damarlaşmayı teşvik ettiğine dair artan kanıtlar bulunmaktadır (222)

Tersine, relaxinin gebelik ve diğer ilgili süreçlerdeki rolü, implantasyon için zorunlu olmaktan ziyade muhtemelen kolaylaştırıcıdır çünkü yumurtalıkları olmayan insanlar ve diğer primatlarda bu hala gerçekleşmektedir. Bu nedenle, yumurta bağışyla gebe kalan kadınlar, kanlarında düşük veya hiç tespit edilebilir relaxin seviyeleri olsa bile gebeliklerini sürdürebilirler (223).

Gebelik sırasında, pubik eklem kıkırdağının büyümesi ve esnekliğinin artması olur ve ayrıca, rahim ağzının yumuşatılmasıyla doğum sırasında fetüsün geçişini kolaylaştırmak ve doğum süresini kısaltmak için relaxin katkıda bulunur. Relaxin'in rahim ağzı üzerindeki etkileri, sıçan ve domuzda rahim ağırlığının yaklaşık iki kat artmasıyla görüldü (224). Gebeliğin erken ve orta dönem haftalarındaki relaxin seviyesinin artması, kadınlarda rahim ağzının uzunluğu ve çapındaki artışlarla uyumlu olabilir (225)

Relaxin seviyeleri genellikle üçüncü trimester boyunca düşük kalma eğilimindedir. Rahim, relaxinin hedef dokularından biridir ve relaxinin miyometriyal kasılma üzerindeki etkileri türler arasında değişmektedir; örneğin, relaxin sıçanlarda, farelerde ve domuzlarda rahim kasılmasını inhibe ederken, koyunlarda, ineklerde veya insanlarda etkili olmaz. Ayrıca, relaxin sıçanlarda ve farelerde meme ucu gelişiminde önemli bir rol oynar. Relaxinin gerekliliği ilk olarak immün nötralize edilen sıçanlarda fark edilmiştir; tedavi edilen sıçanlarda gelişmemiş meme uçları, yoğun kollajen lif demetleri ile doluydu ve yavrularını emziremiyorlardı (226).

Önceki çalışmalar, relaxinin sperm motilitesini etkilediğini göstermiştir. Örneğin, fizyolojik koşullar altında domuz relaxininin eklenmesi, insan sperminin insan veya sığır servikal mukusa, albümin veya tampon ile tedavi edilen sperme kıyasla anlamlı bir şekilde daha fazla penetrasyon yapmasını sağlar. Sentezlenmiş insan relaxini, domuz relaxinine kıyasla 10 ila 100 kat daha fazla etkilidir (227).

Erkeklerde relaxinin bir diğer özelliği, oositlerin fertilitesini artırma yeteneğidir. Bu, domuz relaxininin insan spermatozoalarının penetrasyon yeteneğini artırdığı zona-free hamster yumurta penetrasyon testinde gösterilmiştir. Ayrıca, domuz relaxini tedavisi, in vitro olarak spermatozoaların suboptimal konsantrasyonlarıyla fare oositlerinin fertilizasyonunu artırmıştır (228).

Relaxin, seminal plazmanın normal bir bileşeni olduğundan, insan relaxini üremeyi desteklemek veya insan infertilitesini tedavi etmek için terapötik bir ajan olarak daha da geliştirilebilir (227). Relaxin'ın beyin, kardiyovasküler sistem ve bağ dokusu homeostazı gibi diğer organ sistemlerinde de biyolojik etkileri vardır (229). Relaxin reseptörleri, subfornikal organ (SFO) ve lamina terminalis organum vasculosum (OVLT) gibi çeşitli beyin bölgelerinde yaygın olarak dağılmıştır. Her ikisi de kan basıncı ve sıvı dengesinin kontrolünde fizyolojik bir rol oynadığı gösterilmiştir (230).

Beyindeki diğer relaxin bağlanma bölgelerinin varlığı, hipotalamik hormonların salınımından sorumlu olan nörosekretöyer magnoselüler hipotalamik çekirdeklerde (paraventriküler ve supraoptik çekirdek) bulunmuştur. Bu çekirdekler, vazopressin ve oksitosin gibi hipotalamik hormonların salınımından sorumludur (230). Genel olarak, bu beyin bölgeleri, dolaşımdaki relaxin'e kolayca erişebilir ve bu durum plazma osmolalitesinin düzenlenmesinden sorumlu olabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda, gebeliğin ikinci yarısında olan farelerde, artan serum relaxin seviyeleriyle ilişkili olarak plazma osmolalitesinde bir düşüş olduğu gösterilmiş ve bu durum relaxin eksikliği olan gebe farelerde meydana gelmemiştir. Çalışmalar, gebeliğin ikinci yarısında sıçanlarda artan su tüketimi ile relaxin arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. İntraventriküler veya intravenöz relaxin, gebe olmayan sıçanlarda içme davranışını teşvik etmektedir (231, 232). Artık, gebelikle ilişkili olan plazma hacmi, kalp debisi ve kalp hızında artışları değil, aynı zamanda kan basıncı ve vasküler direncin azalmasını içeren kardiyovasküler adaptif değişikliklerde relaxinin önemli rolleri olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Gebe sıçanlarda, artmış glomerüler filtrasyon hızı ve etkili renal plazma akımı bulguları mevcuttur, bu sırada vasküler direnç, relaxin plazma seviyelerindeki artışlarla paralel olarak azalır (233).

Relaxinin yanıt olarak çeşitli doku ve organlardaki arteriyoller, kapillerler ve venüllerde yaygın bir şekilde damar genişletici etkisi bulunmaktadır (234). Relaxinin damar genişletici etkileri için önerilen mekanizmalar arasında cAMP aracılığıyla nitrik oksit sentazı (NOS) III aktivasyonu, NOS II indüksiyonu ve damar duvarlarının ekstrasellüler matriks modifikasyonu yer alır (235). Relaxin ayrıca üreme dokularında kollajen biyosentezi inhibisyonu ve kollajen parçalanmasının teşvik edilmesi gibi fizyolojik roller de oynamaktadır, ancak benzer etkileri üreme dışı dokularda da

göstermiştir. Bu, relaxinin fibrotik hastalıklar için etkili bir tedavi olarak potansiyeline işaret etmektedir. Fibrozis, kollajenler, fibronektin gibi glikoproteinler ve proteoglikanlar gibi ekstrasellüler matriks bileşenlerinin aşırı birikimini içeren bir durumdur (219)

Fibrozis, kalp, akciğer, böbrek ve deri gibi organlarda ortaya çıkar ve relaxinin kollajenin aşırı üretimini azaltmak için etki ettiği gösterilmiştir. Bu, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β 1 uyarımıyla kollajen sentezini inhibe ederken aynı zamanda matriks metalloproteinaz (MMP) tarafından indüklenen kollajen parçalanmasını artırması ve doku matriks metalloproteinaz inhibitörlerinin (TIMP'ler) etkilerini azaltması yoluyla gerçekleşir. Relaxinin anti-fibrotik etkileri, TGF- β uyarımına maruz kalan insan dermal fibroblastlarında (236), akciğer fibroblastlarında (237) ve kalp fibroblastlarında (238) gösterilmiş olup tip I ve tip III kollajenin ekspresyonunda azalmaya neden olmuştur. Yapılan in vivo kemirgen modelleri de akciğer, karaciğer ve böbreklerde anti-fibrotik etkileri göstermiştir. Yapılan çalışmalarda, relaxinin uygulanmasından sonra 2 hafta sonra indüklenmiş akciğer fibrozisine sahip farelerde alveoler kalınlaşma ve kollajen birikimi azalmıştır (237). Erkek sıçanlarda indüklenmiş karaciğer fibrozisinde, relaxin tedavisi 28 gün sonra karaciğer ağırlığını ve kollajen seviyelerini azaltırken, indüklenmiş renal fibrozis modelinde, relaxin ile günlük tedavi sonrasında serum kreatinin ve interstisyel fibrozis azalmıştır (239).

1.8.2.2.3.2. Relaxin-3

Relaxin peptit ailesinin en yeni keşfedilen üyesi, relaxin-3, özellikle beyinde bulunur, özellikle hipotalamusa projeksiyon yapan ventromedial dorsal tegmental çekirdekte (aynı zamanda nucleus incertus olarak da bilinir (240)). Relaksin-3, beyinde bir nörotransmitterdir ve kortikotropin salgılatıcı faktör sisteminin aktivasyonunu, stresle ilişkili belleği ve hipokampal theta ritminin kontrolünü içeren stres tepkilerini düzenlemede potansiyele sahiptir ve iştahı düzenlemede rol oynar (241, 242).

Sıçanlarda zorla yüzme testlerinde, relaksin-3 mRNA transkripsiyonunda artış gözlenir ki bu da relaksin-3'ün stres ve anksiyetede bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, relaksin-3 paraventriküler çekirdeğe enjekte edildiğinde doymuş sıçanlarda beslenmenin arttığı görülmüştür, bu da relaksin-3'ün besin alımının modülasyonunda olası bir rolü olduğunu gösterir (243).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Denekler, Barınma Ve Beslenme

Bu çalışma 21.02.2024 tarihinde Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (FÜHADYEK) başkanlığı toplantısında 2024/04-11 tarih protokol no ile etik kurul onayı alınarak Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen 250-300 gr ağırlığında, Sprague Dawley cinsi, 12-15 haftalık, 40 adet dişi rat kullanıldı. Denekler her grupta 10 adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Ratların, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde aynı koşullarda, standart oda sıcaklığı (21-24°C) ve normal gün ışığında her biri ayrı kafeslerde olacak şekilde toplam 8 adet kafeste 7 gün boyunca barındırıldı. Pelet forumundaki standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslenmelerine kısıtlama olmaksızın izin verildi.

2.2. Deneysel Protokol

2.2.1. Cerrahi Öncesi Hazırlık

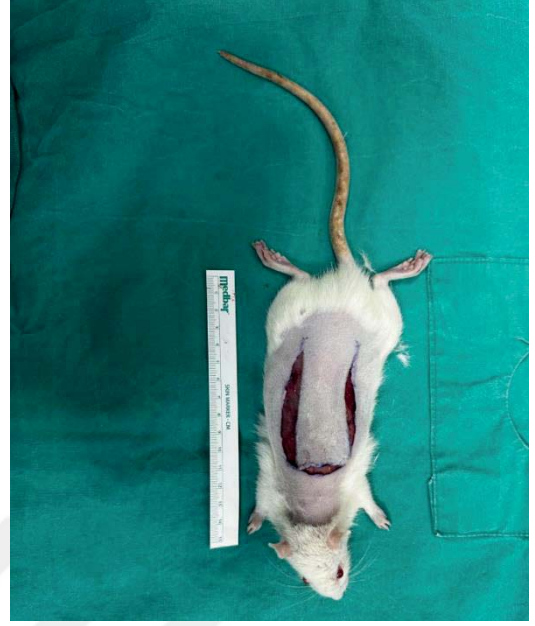
Tüm gruptaki hayvanlara aynı cerrahi yöntem uygulandı. Operasyon öncesi 50 mg/kg % 10'luk ketamin hidroklorid ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid intramusküler yoldan verilerek anestezileri sağlandı. Tüm denekler yüzüstü pozisyonda yatırılarak sırt bölgeleri tıraş edildi. Cerrahi yapılacak alanın antiseptisi polivinilpirolidon iyot solüsyon ile yapılarak cerrahi hazırlığı tamamlandı.

2.2.2. Cerrahi Yöntem

Deneklerin sırt bölgesinde skapular ve iliak çıkıntı arasında dizayn edilmiş kaudal tabanlı 3x9 cm boyutunda dorsal cilt flepleri pannikulus carnosus kasını da içerecek şekilde kaldırıldı. Flep dolaşımı makroskopik olarak en uç bölgede görülmesinin ardından flepler 4-0 propilen sütür ile dikilerek yerine iade edildi (Şekil 20-23)



Şekil 20. Flebin preop görünümü ve ölçümü



Şekil 21. Flep insizyonu



Şekil 22. Flebin pannikulus carnosus kasını içerecek şekilde eleve edilmesi



Şekil 23. Flebin 4.0 prolene ile yerine iade edilip sutüre edilmesi.

2.2.3. Grup 1 (Kontrol)

Deneklerin sırt bölgesinden 3x9 cm lik kaudal tabanlı random patternli dorsal cilt flebi kaldırılıp yerine tekrar iade edilecektir. 7 gün boyunca günlük yara bakımı povidon iyotla yapılacaktır.

2.2.4. Grup 2 (Karnozin)

Grup 1 deki işlemlerin aynısı yapılp Postop 0. Gün dahil olmak kaydıyla günlük Karnozin 100mg/kg/gün dozdan intraperitoneal yol ile uygulanacaktır.

2.2.5. Grup 3 (DMAH)

Grup 1 deki işlemlerin aynısı yapılp Postop 0. Gün dahil olmak kaydıyla günlük DMAH 1mg/kg/gün dozdan subkutan yol ile uygulanacaktır.

2.2.6. Grup 4 (Karnozin Ve DMAH)

Grup 1 deki işlemlerin aynısı yapılp her gün ilaçlar kombine bir şekilde grup 2 ve grup 3 te gösterilen şekilde uygulanacaktır. 7 günlük tedavi sonunda tüm gruptaki ratlara yeniden anestezi verilip flepler dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı. Flep bazının 5 cm distalinden ve nekroz sınırından histopatolojik incelemeler için kesitler alındı % 10'luk formaldehit tespit solüsyonuna koyuldu. Daha sonra hayvanlar dekapite edilerek biyokimyasal parametrelerin çalışılması için kan örnekleri alınıp, santrifüj cihazı yardımı ile serum sıvısı haline getirilip, eppendorf tüplerine alındı.

3. BULGULAR

3.1. Fleplerde Nekrotik Ve Yaşayan Alanların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, nekrotik alanın sınırlarının daha belirgin olması için operasyon sonrası 7. günde yapıldı. 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar ® flakon, Eczacıbaşı, İstanbul-Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun ® flakon, Bayer, Leverkusen-Almanya) intraperitoneal verilerek anestezi sağlandı. Sıçanlar prone pozisyonuna alındıktan sonra sırtlarından kaldırılan fleplerin yaşayan kısımları ile nekroze olan kısımlarını kayıt altına almak için, tüm denekler aynı mesafeden (40cm uzaklıktan) dijital fotoğraf makine ile resimleri çekilerek dijital formatta bilgisayara aktarıldı (Şekil 24-28).

Fleplerin total flep alanı ve yaşayan flep alanlarının büyüklüğü İmage J programı yardımı ile cm² gibi mutlak alan büyüklüğü hesaplanarak ölçüldü. Daha sonra oranlandı ve % olarak ifade edildi. (Şekil 29-32) Tüm deneklerin resimleri alındıktan sonra flepteki nekroz hattından ve flep bazının 5 cm distalinden olacak şekilde dokular alındı ve histolojik inceleme için %10 formol solüsyonu içine alındı. Denekler daha sonra dekapite edilerek biyokimyasal çalışma için kan örnekleri alındı ve bu şekilde kurban edildi.



Şekil 24. Kontrol grubundan bir örnek.



Şekil 25. Karnozin verilen gruptan bir örnek.

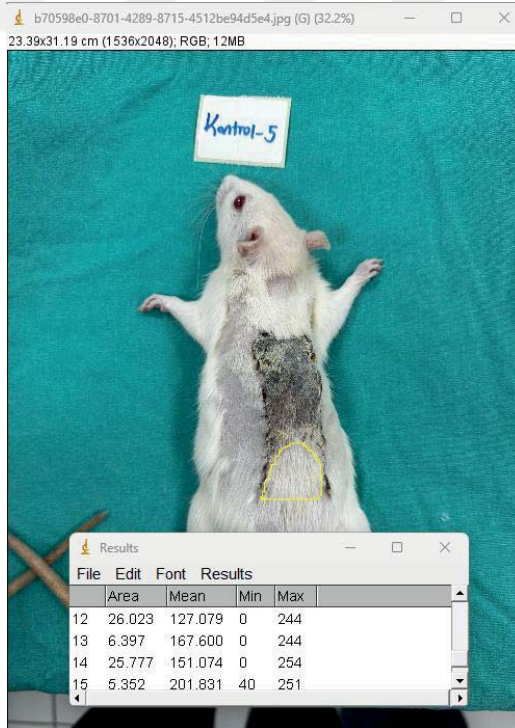


Şekil 26. Düşük moleküler ağırlıklı heparin (Cleaxane) verilen gruptan bir örnek.

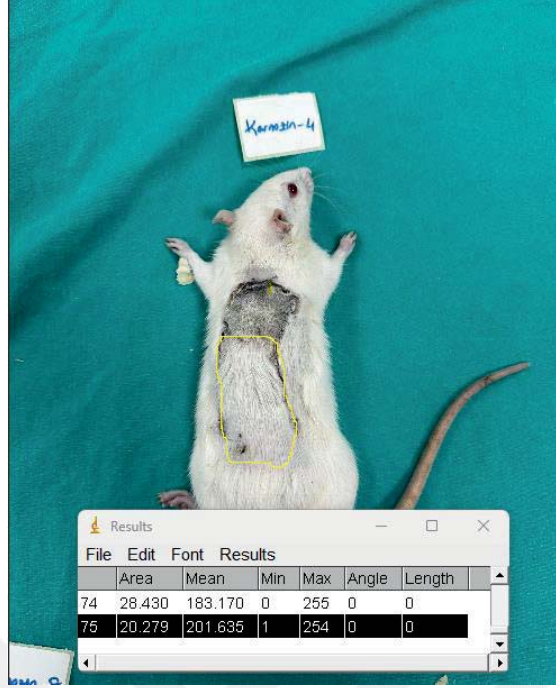


Şekil 27. Düşük moleküler ağırlıklı heparin ve Karnozin verilen gruptan bir örnek.

Daha sonra tüm deneklerin total flep alanları ve yaşayan flep alanları İmage J programı yardımı ile hesaplandı.



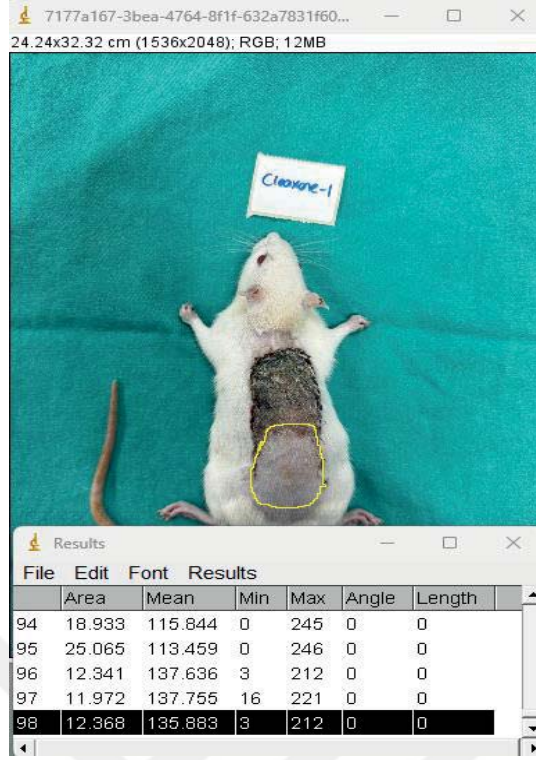
Şekil 28. Kontrol grubuna ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması



Şekil 29. Karnozin Grubuna ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması



Şekil 30. Kombine gruba ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması



Şekil 31. Düşük moleküler ağırlıklı heparin verilen gruba ait ratın yaşayan flep alanının hesaplanması

3.2. Fleplerin Yaşayan Ve Nekroz Olanların Topografik Olarak Değerlendirilmesi

Sıçanların sırtlarından kaldırılan fleplerin yaşayan flep kısımlarının alanları dijital olarak İmage J programı kullanılarak cm^2 olarak hesaplandı. Cm^2 olarak hesaplanan alanlar daha sonra flepin toplam alanına göre % olarak hesaplandı.

Tablo 5. Kontrol grubundaki topografik inceleme sonuçları

Kontrol Grup	Total Flep Alanı (TFA)	Yaşayan Flep Alanı (YFA)	YFA/TFA (%)
1	22,019	6,033	27,399
2	25,289	9,734	38,491
3	26,023	6,397	24,582
4	25,653	12,333	48,076
5	25,777	5,352	20,763
6	24,536	5,351	21,809
7	25,290	7,836	30,985
8	26,590	7,102	26,709
9	24,365	6,878	28,229
10	25,645	8,138	31,733
Ortalama Değerler	25,119±1,272	7,515±2,161	29,878±8,200

Tablo 6. Karnozin grubundaki topografik inceleme sonuçları

Karnozin Grup	Total Flep Alanı (TFA)	Yaşayan Flep Alanı (YFA)	YFA/TFA (%)
1	28,168	16,249	57,686
2	26,653	16,363	61,393
3	26,005	19,933	76,651
4	28,430	20,279	71,330
5	27,002	15,696	58,129
6	28,198	16,407	58,185
7	25,934	13,051	50,324
8	25,024	13,182	52,677
9	28,691	22,140	77,167
10	24,657	14,961	60,676
Ortalama Değerler	26,876±1,460	16,826±3,034	62,422±9,448

Tablo 7. DMAH grubundaki topografik inceleme sonuçları

DMAH Grup	Total Flep Alanı (TFA)	Yaşayan Flep Alanı (YFA)	YFA/TFA (%)
1	26,065	13,363	51,268
2	27,110	14,059	51,859
3	28,598	15,776	55,165
4	25,766	14,500	56,276
5	28,521	18,106	63,483
6	27,931	17,020	60,936
7	26,452	14,730	55,686
8	28,227	16,444	58,256
9	28,669	20,553	71,691
10	28,240	12,368	43,796
Ortalama Değerler	27,558±1,114	15,692±2,433	56,842±7,557

Tablo 8. Kombine grubundaki topografik inceleme sonuçları

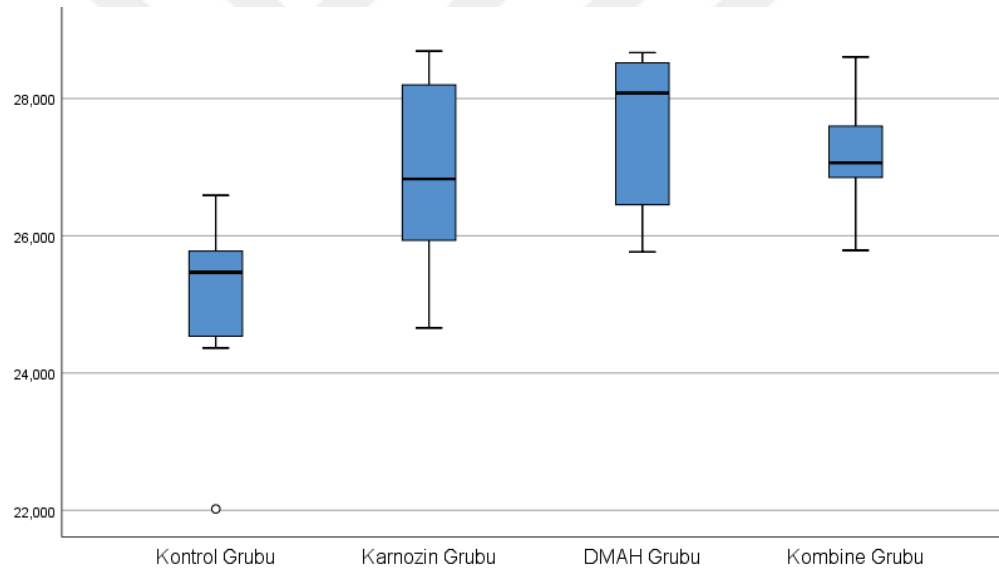
Kombine Grup	Total Flep Alanı (TFA)	Yaşayan Flep Alanı (YFA)	YFA/TFA (%)
1	26,851	16,930	63,052
2	27,598	17,333	62,805
3	27,238	15,648	57,449
4	27,116	23,779	87,694
5	25,787	22,966	89,060
6	26,207	20,146	76,873
7	27,009	19,419	71,898
8	26,890	23,678	88,055
9	28,118	20,106	71,506
10	28,605	18,152	63,457
Ortalama Değerler	27,142±0,830	19,816±2,897	73,185±11,806

Tablo 9. Grupların TFA göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	<i>p</i> değeri
TFA	Kontrol	25,119± 1,272	22,019	26,590	0,000
	Karnozin	26,876 ± 1,460	24,657	28,691	
	DMAH	27,558 ± 1,114	25,766	28,669	
	Kombine	27,142 ± 0,830	25,787	28,605	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda TFA ölçümlerine göre;

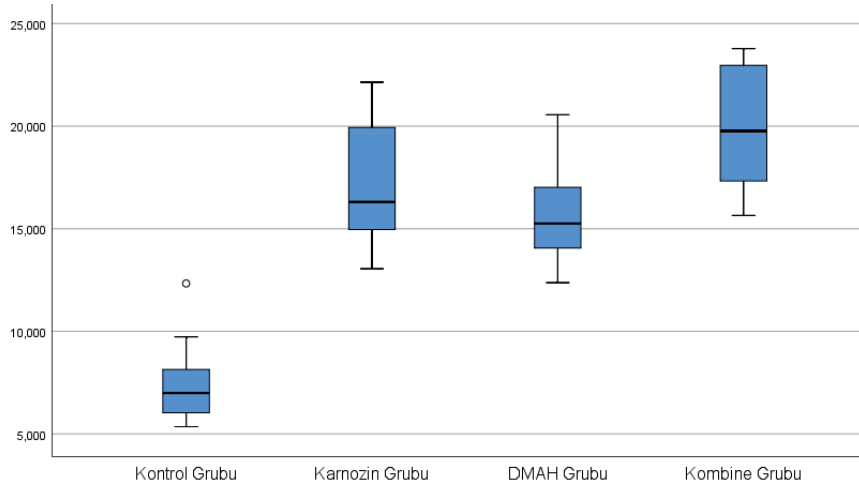
- Kontrol grubu ile Karnozin, DMAH ve Kombine gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- Karnozin, DMAH ve Kombine gruplarının kendi arasındaki ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı ($p > 0,05$) görülmüştür (Şekil 32).

**Şekil 32.** Gruplardaki TFA ortalamaları**Tablo 10.** Grupların YFA göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	<i>p</i> değeri
YFA	Kontrol	7,515± 2,161	5,351	12,333	0,000
	Karnozin	16,826 ± 3,034	13,051	22,140	
	DMAH	15,692 ± 2,433	12,368	20,553	
	Kombine	19,816 ± 2,897	15,648	23,779	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda YFA ölçümlerine göre;

- Kontrol grubu ile Karnozin, DMAH ve Kombine gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- DMAH grubu ile Kombine grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Şekil 2).



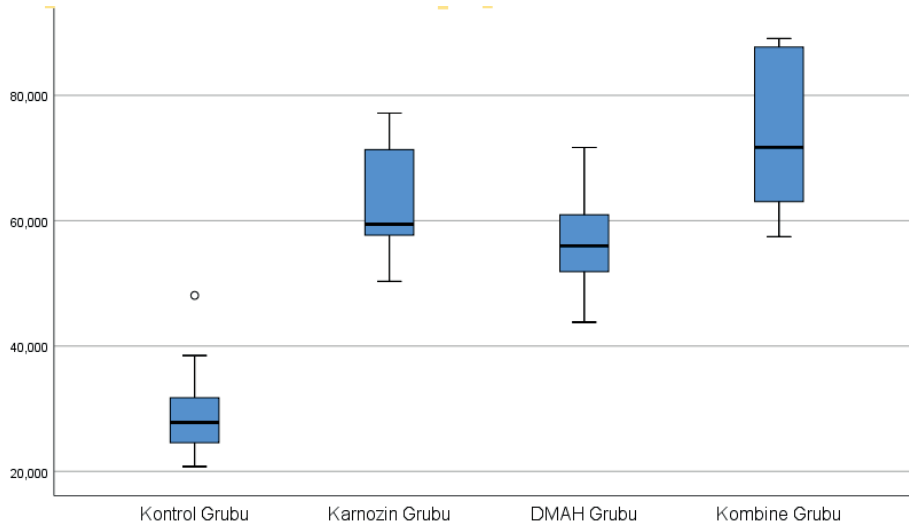
Şekil 33. Gruplardaki YFA ortalamaları

Tablo 11. Grupların YFA/TFA oranına göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	p değeri
YFA/TFA	Kontrol	29,878± 8,200	20,763	48,076	0,000
	Karnozin	62,422 ± 9,448	50,324	77,167	
	DMAH	56,842 ± 7,557	43,796	71,691	
	Kombine	73,185 ± 11,806	57,449	89,060	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda YFA/TFA oranına göre;

- Kontrol grubu ile Karnozin, DMAH ve Kombine gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- DMAH grubu ile Kombine grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür. ($p < 0,05$) (Şekil 3).



Şekil 34. Gruplardaki YFA/TFA oranlarının ortalamaları

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

7. gün sonunda, tüm deneklerin fleplerinin nekroz hattından ve flep bazının 5 cm distalinden itibaren olmak üzere patolojik örnekler alındı. Alınan örnekler %10 'luk formaldehit çözeltisi içinde fiksle edildikten sonra Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji laboratuvarına teslim edildi. Numuneler 24 saate formaldehit çözeltisi içinde tespit edildikten sonra örnekler etanol ile dehidrate edilip ksilen ile şeffaflaştırıldı. Parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınan kesitler alındı Hemotoksilen/Eozin ile boyandı. Değerlendirme numunelerin hangi gruba dâhil olduğunu bilmeyen tek patolog tarafından Olympus BX 46 ışık mikroskopunda yapıldı. Tüm örnekler de nekroz, inflamasyon, ödem ve damarlanma artışı incelendi. Yapılan incelemede histolojik değişikliğe göre derecelendirme yapıldı. Hiçbir değişiklik yoksa:0, hafif derecede bulgular varsa:1, orta derecede bulgular varsa:2 ve şiddetli derecede bulgular varsa:3 olarak derecelendirildi. Patolojik örnekler inceleme rahatlığı açısından A ve B grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Tüm örneklerde A grubu nekroz hattından, B grubu flep bazının 5 cm distalinden itibaren alınan dokuları temsil etti.

Tablo 12. Kontrol grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi

Kontrol Grup	Nekroz (A)	İnflamasyon (A)	Ödem (A)	Damarlanma Artışı (A)	Nekroz (B)	İnflamasyon (B)	Ödem (B)	Damarlanma Artışı (B)
1	2	3	1	2	3	3	3	2
2	3	3	3	2	3	3	2	2
3	3	3	2	1	3	3	2	2
4	3	3	3	3	3	3	3	2
5	3	3	1	2	3	3	1	1
6	3	3	3	1	3	3	3	3
7	3	3	2	1	3	2	2	1
8	3	3	3	2	3	3	3	3
9	3	3	2	1	3	3	1	2
10	3	3	3	3	3	3	1	1

Tablo 13. Karnozin grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi

Karnozin Grup	Nekroz (A)	İnflamasyon (A)	Ödem (A)	Damarlanma Artışı (A)	Nekroz (B)	İnflamasyon (B)	Ödem (B)	Damarlanma Artışı (B)
1	1	1	1	1	1	2	1	1
2	1	1	1	1	1	2	1	1
3	2	2	2	2	0	1	1	1
4	2	2	1	1	0	1	1	1
5	2	2	2	3	0	1	1	1
6	2	2	1	2	0	1	1	1
7	1	2	2	2	0	1	1	1
8	2	2	2	2	0	1	1	1
9	2	1	1	1	0	1	1	1
10	1	1	1	1	0	1	1	1

Tablo 14. DMAH grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi

DMAH Grup	Nekroz (A)	İnflamasyon (A)	Ödem (A)	Damarlanma Artışı (A)	Nekroz (B)	İnflamasyon (B)	Ödem (B)	Damarlanma Artışı (B)
1	3	3	1	2	3	2	2	2
2	3	3	2	1	3	2	2	2
3	3	3	2	2	2	2	1	1
4	2	2	2	1	0	1	1	1
5	3	3	2	2	2	2	1	1
6	3	3	2	1	2	3	2	1
7	2	2	1	1	0	0	1	0
8	3	3	2	1	0	0	0	0
9	3	2	2	2	0	1	1	0
10	2	2	2	1	2	2	2	2

Tablo 15. Kombine grubuna ait patolojik örneklerin derecelendirilmesi

Kombine Grup	Nekroz (A)	İnflamasyon (A)	Ödem (A)	Damarlanma Artışı (A)	Nekroz (B)	İnflamasyon (B)	Ödem (B)	Damarlanma Artışı (B)
1	2	3	2	2	0	1	1	3
2	2	2	1	1	0	1	1	1
3	3	2	2	2	0	1	1	1
4	3	3	2	2	0	1	1	1
5	2	2	2	2	0	1	1	1
6	2	2	1	1	0	1	1	1
7	2	3	1	1	0	1	1	1
8	1	1	1	1	0	1	0	1
9	0	0	1	1	0	1	0	1
10	2	2	1	1	0	1	1	1

3.4. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçlarının Gruplara Göre Analizi

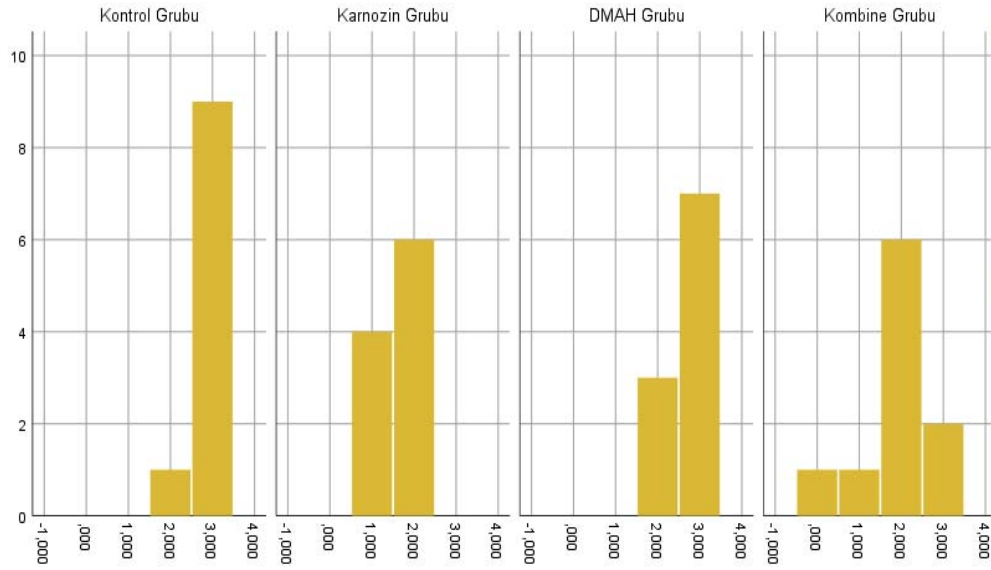
Yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler Tablo 16-23’de görülmektedir.

Tablo 16. Gruplara göre histopatolojik nekroz (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

Nekroz (A)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (2,5)	0,000
1	0 (0)	4 (40)	0 (0)	1 (10)	5 (12,5)	
2	1 (10)	6 (60)	3 (30)	6 (60)	16 (40)	
3	9 (90)	0 (0)	7 (70)	2 (20)	18 (45)	

Kontrol grubundaki deneklerin %90'ında, DMAH grubundaki deneklerin %70'inde ve Kombine grubundaki deneklerin %20'sinde şiddetli derecede nekroz saptanırken Karnozin grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede nekroz saptanmamıştır (Şekil 4). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile Kombine grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,017 < 0,05$).
- Karnozin grubu ile DMAH grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,005 < 0,05$).



Şekil 35. Histopatolojik nekroz (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım

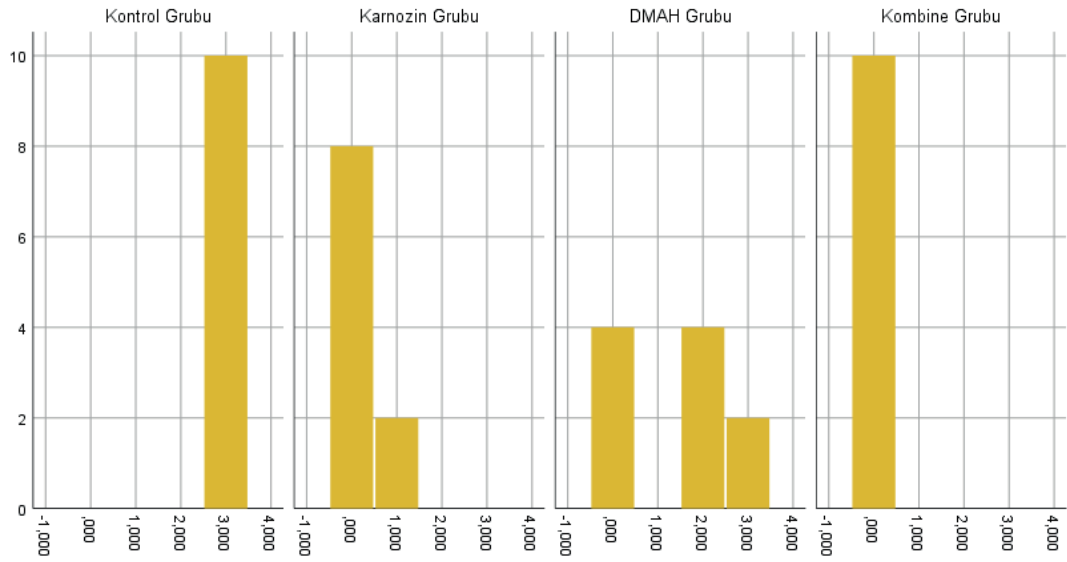
Tablo 17. Gruplara göre histopatolojik nekroz (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

Gruplar						p değeri
Nekroz (B)	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)	Toplam n (%)	
0	0 (0)	8 (80)	4 (40)	10 (100)	22 (55)	0,000
1	0 (0)	2 (20)	0 (0)	0 (0)	2 (5)	
2	0 (0)	0 (0)	4 (40)	0 (0)	4 (10)	
3	10 (100)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	12 (30)	

Kontrol grubundaki deneklerin %100’de ve DMAH grubundaki deneklerin %20’sinde şiddetli derecede nekroz saptanırken, Karnozin grubundaki ve Kombine grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede nekroz saptanmamıştır (Şekil 5). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).

- Kontrol grubu ile Kombine grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile DMAH grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,049 < 0,05$).



Şekil 36. Histopatolojik nekroz (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım

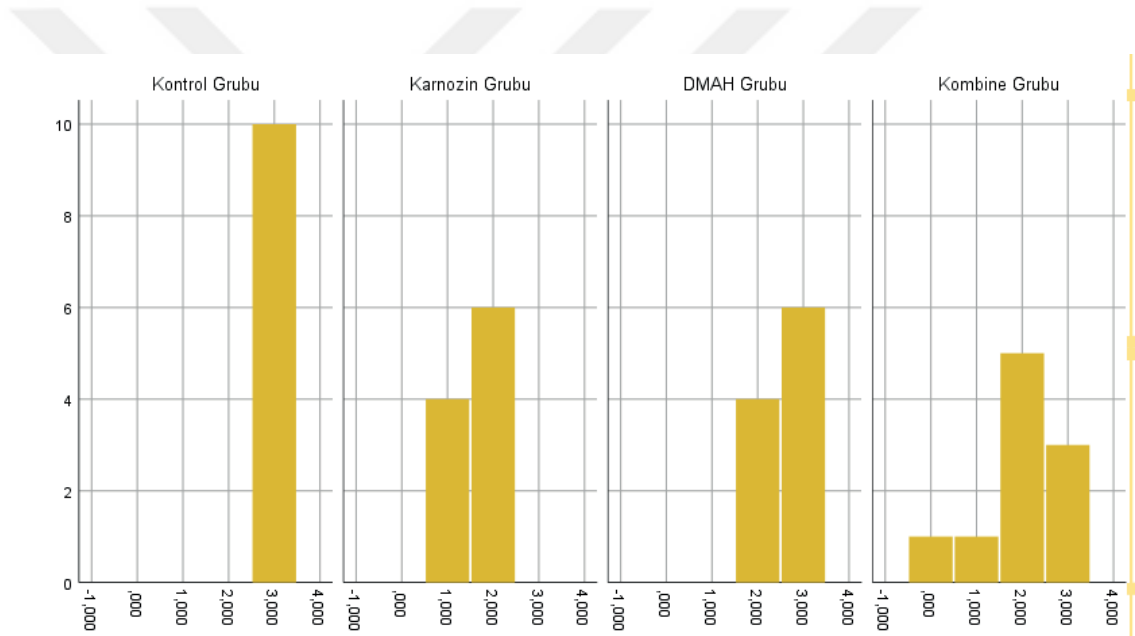
Tablo 18. Gruplara göre histopatolojik inflamasyon (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

İnflamasyon (A)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (2,5)	0,000
1	0 (0)	4 (40)	0 (0)	1 (10)	5 (12,5)	
2	0 (0)	6 (60)	4 (40)	5 (50)	15 (37,5)	
3	10 (100)	0 (0)	6 (60)	3 (30)	19 (47,5)	

Kontrol grubundaki deneklerin %100’de ve DMAH grubundaki deneklerin %60’ında ve Kombine grubundaki deneklerin %30’da şiddetli derecede iflamasyon saptanırken, Karnozin grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede inflamasyon saptanmamıştır (Şekil 6). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal

dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile Kombine grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).
- Karnozin grubu ile DMAH grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,018 < 0,05$).



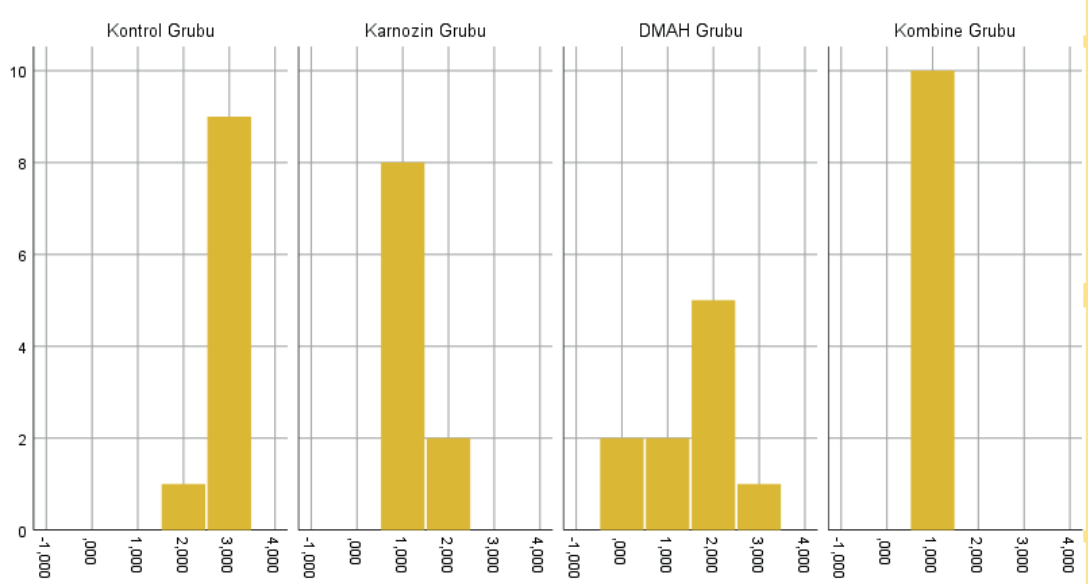
Şekil 37. Histopatolojik İnflamasyon (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılımı

Tablo 19. Gruplara göre histopatolojik inflamasyon (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

İnflamasyon (B)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	2 (5)	0,000
1	0 (0)	8 (80)	2 (20)	10 (100)	20 (50)	
2	1 (10)	2 (20)	5 (50)	0 (0)	8 (20)	
3	9 (90)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	10 (25)	

Kontrol grubundaki deneklerin %90'da ve DMAH grubundaki deneklerin %10'nunda şiddetli derecede iflamasyon saptanırken, Karnozin grubundaki ve Kombine grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede inflamasyon saptanmamıştır (Şekil 7). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile DMAH grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,011 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile Kombine grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,000 < 0,05$).



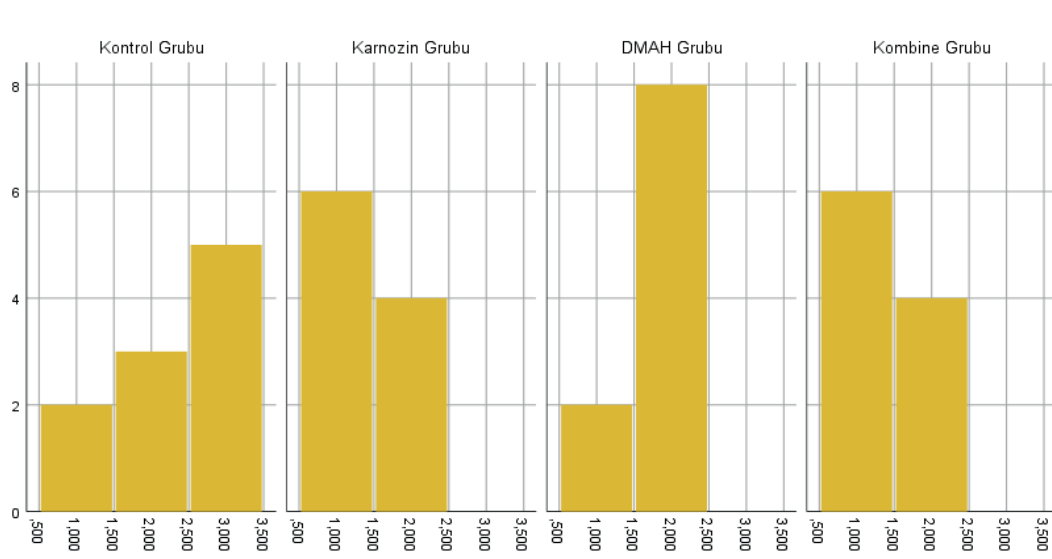
Şekil 38. Histopatolojik İnflamasyon (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılı

Tablo 20. Gruplara göre histopatolojik ödem (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

Ödem (A)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,000
1	2 (20)	6 (60)	2 (20)	6 (60)	16 (40)	
2	3 (30)	4 (40)	8 (80)	4 (40)	19 (47,5)	
3	5 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (12,5)	

Kontrol grubundaki deneklerin %50'sinde şiddetli derecede ödem saptanırken, ferri kalan diğer gruplardaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede ödem saptanmamıştır (Şekil 8). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,038 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile Kombine grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,038 < 0,05$).



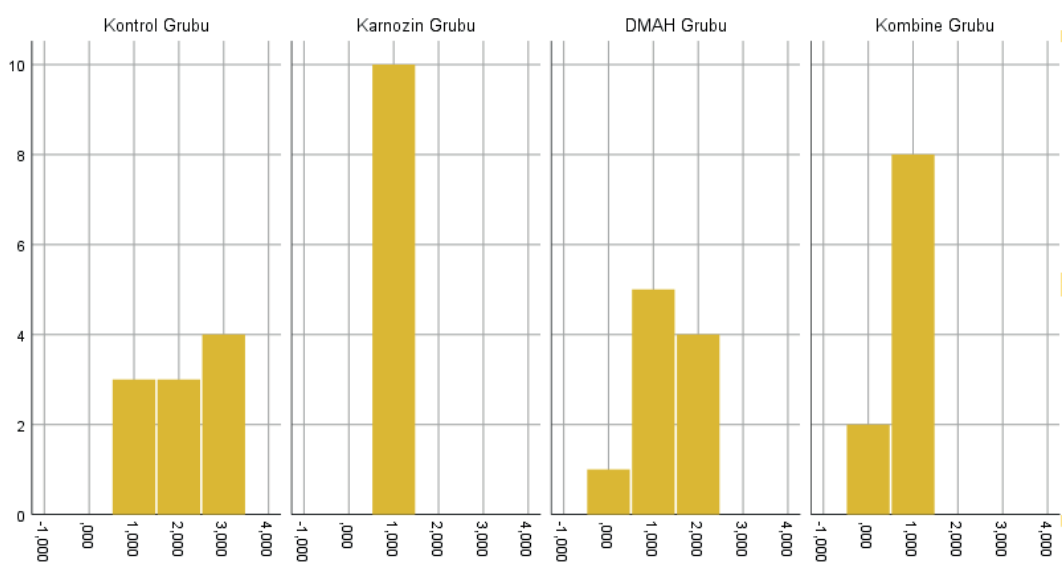
Şekil 39. Histopatolojik Ödem (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım

Tablo 21. Gruplara göre histopatolojik ödem (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

Ödem (B)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	1 (10)	2 (20)	3 (7,5)	0,000
1	3 (30)	10 (100)	5 (50)	8 (80)	26 (65)	
2	3 (30)	0 (0)	4 (40)	0 (0)	7 (17,5)	
3	4(40)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (10)	

Kontrol grubundaki deneklerin %40'ında şiddetli derecede ödem saptanırken, geri kalan diğer gruplardaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede ödem saptanmamıştır (Şekil 9). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,012 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile Kombine grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,001 < 0,05$).

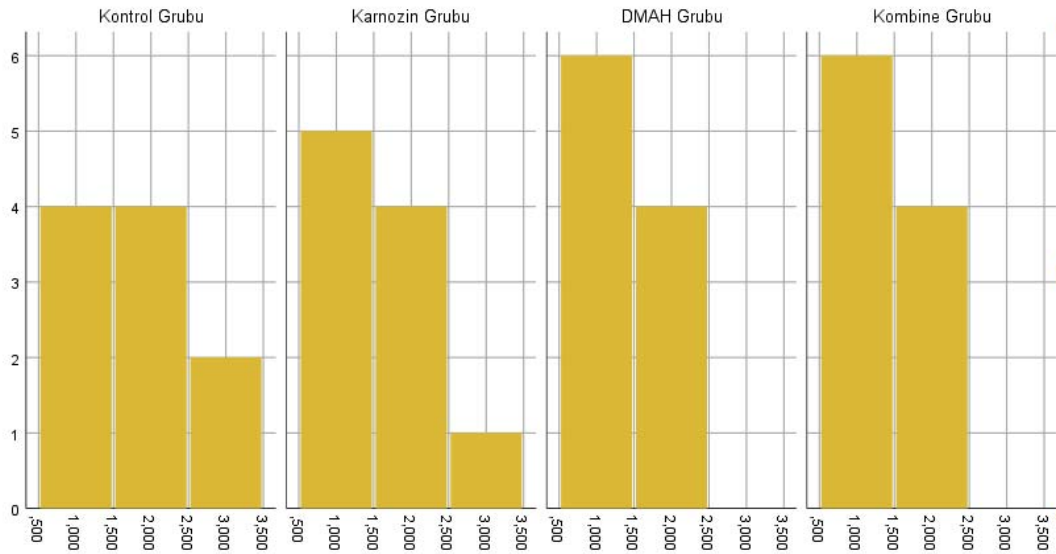


Şekil 40. Histopatolojik Ödem (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım

Tablo 22. Gruplara göre histopatolojik damarlanma artışı (A) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

Damarlanma Artışı (A)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,000
1	4 (40)	5 (50)	6 (60)	6 (60)	21 (52,5)	
2	4 (40)	4 (40)	4 (40)	4 (40)	16 (40)	
3	2 (20)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	3 (7,5)	

Kontrol grubundaki deneklerin %20'sinde ve Karnozin grubundaki deneklerin %10'nunda şiddetli derecede damarlanma artışı saptanırken, DMAH grubundaki ve Kombine grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede damarlanma artışı saptanmamıştır (Şekil 41). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$).



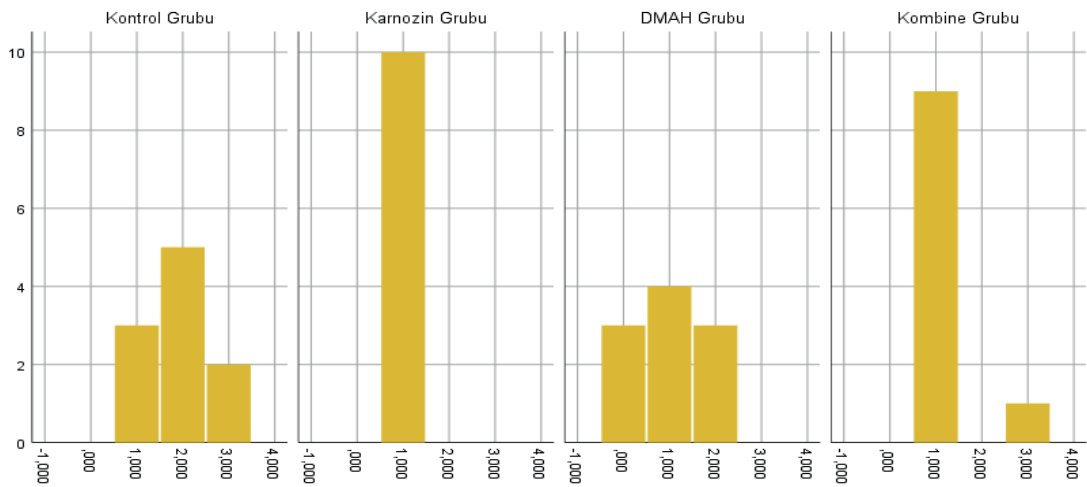
Şekil 41. Histopatolojik Damarlanma Artışı (A) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım

Tablo 23. Gruplara göre histopatolojik damarlanma artışı (B) sayı skoru ve yüzde olarak dağılımları

Damarlanma Artışı (B)	Gruplar				Toplam n (%)	p değeri
	Kontrol n (%)	Karnozin n (%)	DMAH n (%)	Kombine n (%)		
0	0 (0)	0 (0)	3 (30)	0 (0)	3 (7,5)	0,000
1	3 (30)	10 (10)	4 (40)	9 (90)	26 (65)	
2	5 (50)	0 (0)	3 (30)	0 (0)	8 (20)	
3	2 (20)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	3 (7,5)	

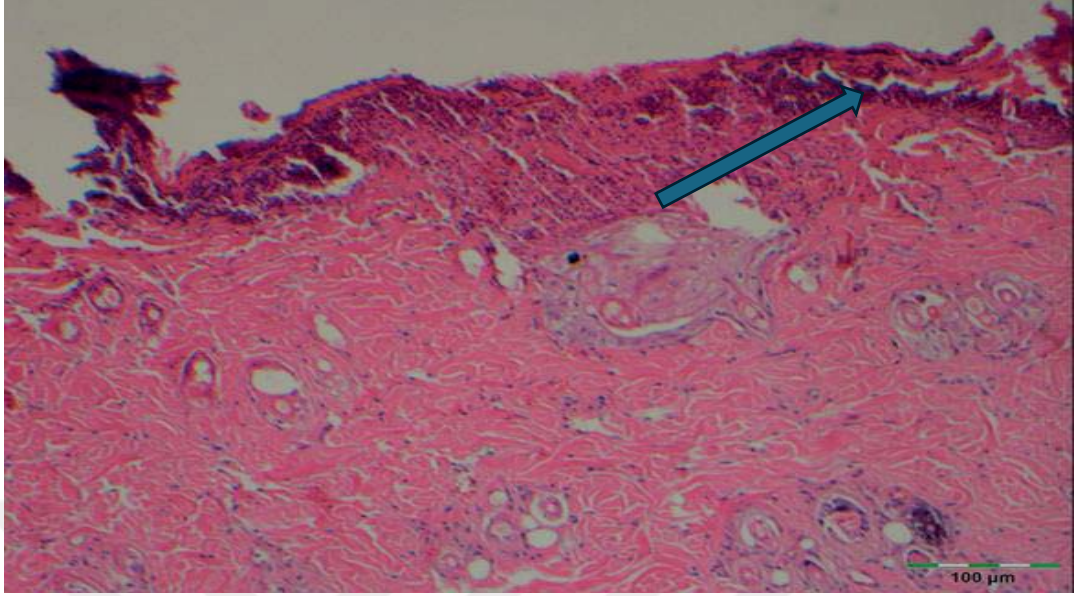
Kontrol grubundaki deneklerin %20'sinde ve Kombine grubundaki deneklerin %10'nunda şiddetli derecede damarlanma artışı saptanırken, DMAH grubundaki ve Karnozin grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede damarlanma artışı saptanmamıştır (Şekil 42). Grupların histolojik değişikliğe göre derecelendirildiği sayı skor değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş ve değişkenlerin normal dağılmadığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analiz sonucunda, histolojik değişikliğe göre grupların dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Kruskal Wallis testi yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,020 < 0,05$).
- Kontrol grubu ile DMAH grubu arasında histolojik değişikliğe göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,034 < 0,05$).

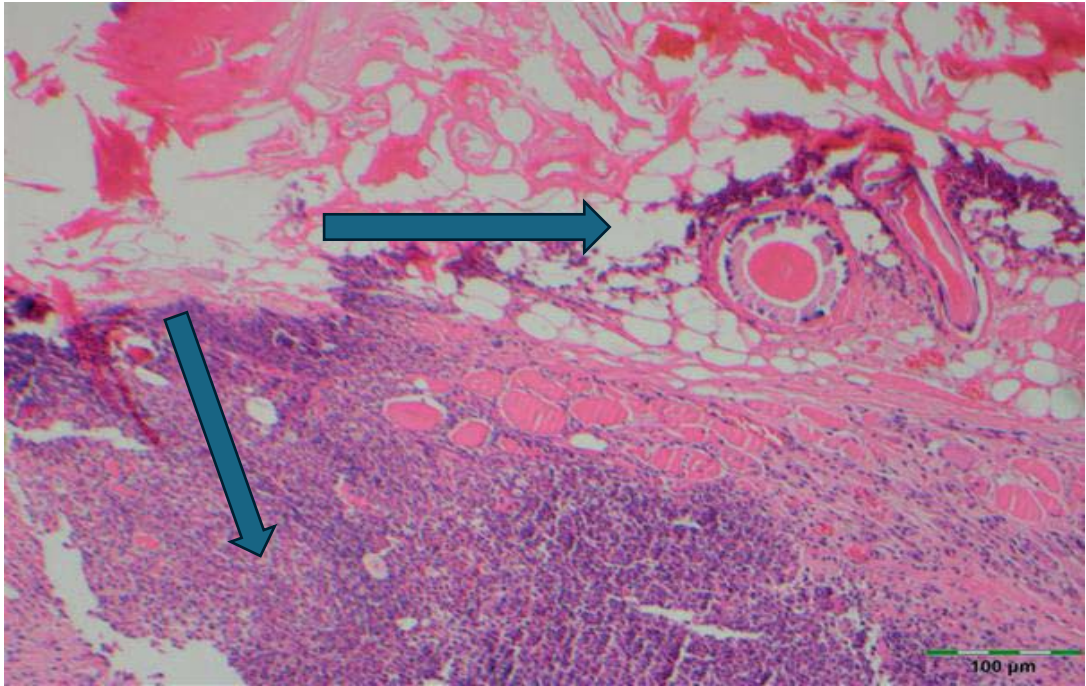


Şekil 42. Histopatolojik Damarlanma Artışı (B) skorlamasının gruplar arasındaki dağılım

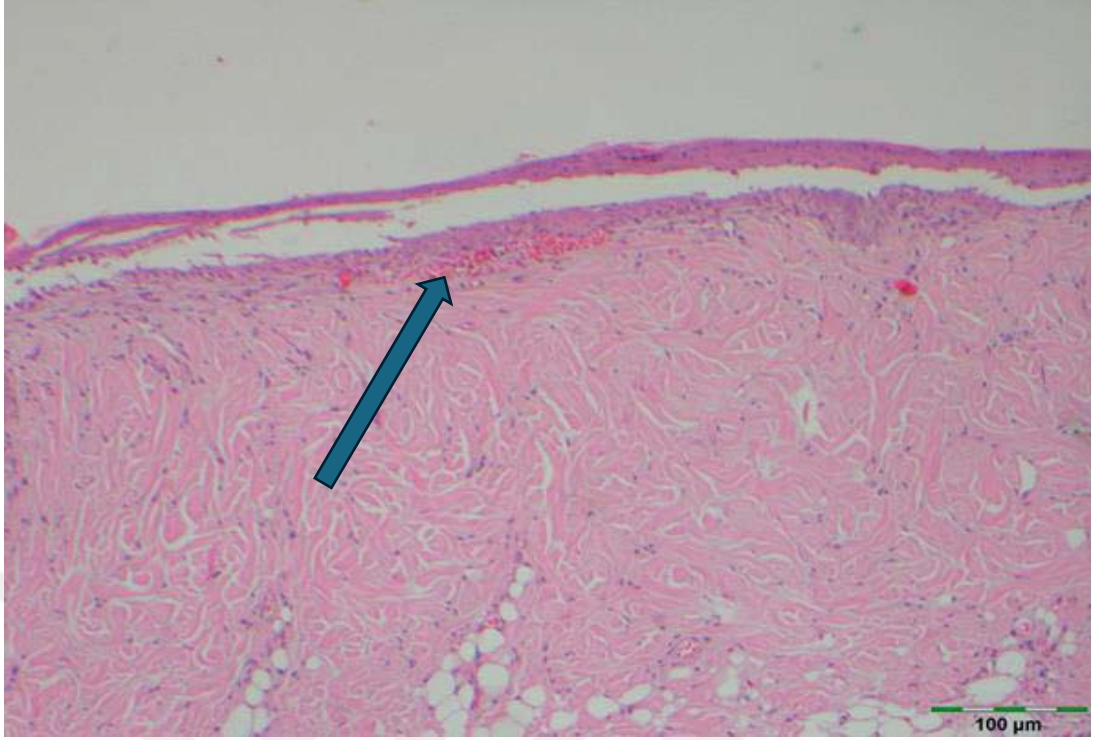
3.5. Patolojik Örneklerin Mikroskop Altındaki Görüntüsü



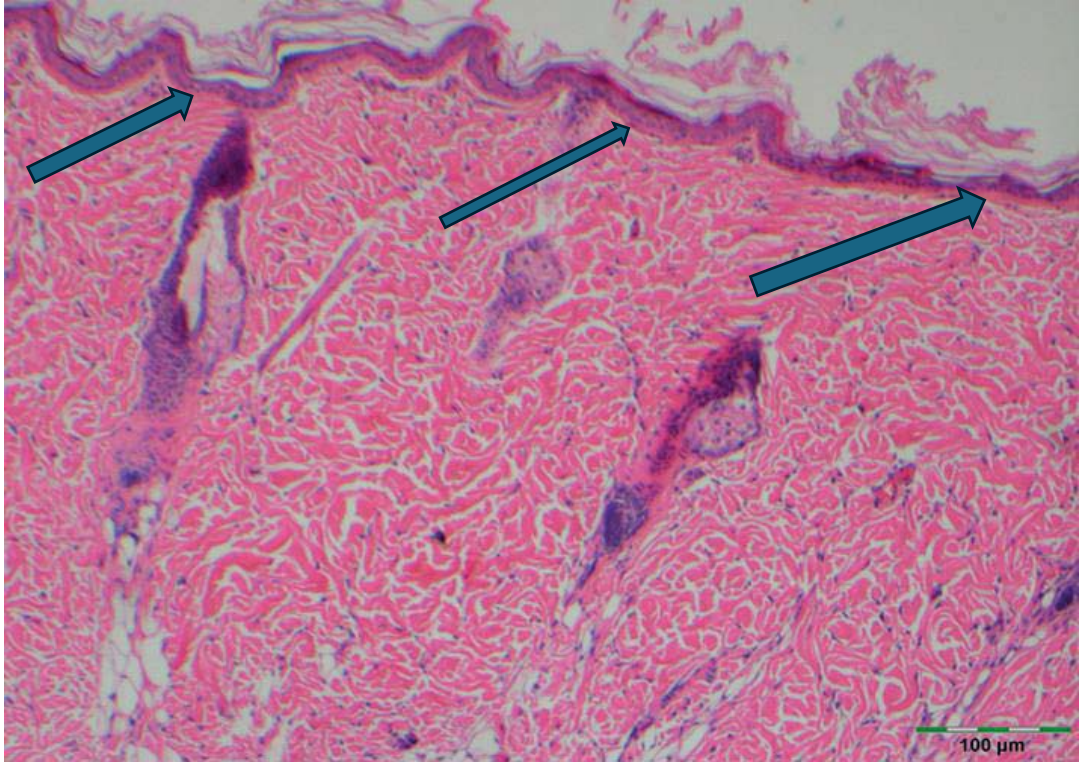
Şekil 43. Kontrol grubuna ait görüntü, subepitelyal bölgede nekroz, yaygın nötrofil infiltrasyonu ve ödem artışı izlenmektedir. Ok ile gösterilen yer subepitelyal nekroz hattı.



Şekil 44. Düşük moleküler ağırlıklı heparin verilen gruba ait görüntü. Yoğun inflamasyon ve ödem artışı izlenmekte. Ok ile gösterilen yerler sırasıyla ödem ve yoğun nötrofil gruplarını temsil ediyor.



Şekil 45. Karnozin grubuna ait görüntü. Subepitelyal düzeyde hafif şiddette nekroz ve damarlanma artışı izlenmekte. Ok ile gösterilen yerde damarlanma artışı mevcuttur.



Şekil 46. Düşük moleküler ağırlıklı heparin ve karnozin verilen gruba ait örnek.

Hafif şiddette nekroz ve inflamasyon artışı ve minimal ödem izlenmekte. Ok ile gösterilen yerlerde diğer preparatlara kıyasla epidermis bütünlüğünün korunduğu izlenmektedir.

3.6. Biyokimyasal İnceleme

Tüm deneklerden alınan kan örnekleri sarı kapaklı biyokimya tüpüne (jelli serum ayırma tüpü) alındı. Ardından tüm tüpler 3000 devir 12 dakika santrifüj edilerek -20 derecede muhafaza edildi. Ardından tüm serum sıvılarında mikrobiyal metobilitlerden; Trimetilamin -N-oksit, S Equaol, İndoxyl Sülfate ve inflamasyon belirteçlerinden; Maresin-1 ve Relaxin kitleri kullanılarak tam otomatik mikroELISA ile incelendi.

Tablo 24. Kontrol Grubu Biyokimyasal İnceleme

Kontrol	İndoxyl Sülfate (µg/mL)	TMAO (µg/mL)	Maresin-1 (ng/L)	Relaxin (ng/L)	S-Equol (ng/mL)
1	1,6	26,7	278,5	565,5	8,4
2	5,1	18,8	319,7	429,8	6,8
3	13,2	21,5	392,1	446,5	6,7
4	5,7	19	189,4	576,7	8,9
5	8,1	17,8	529,1	410,7	13,2
6	0	21,0	278,2	519,7	7,4
7	0	11,9	291,4	396,1	8,9
8	4,2	24,3	392,8	539,7	9,2
9	5,6	14,7	332	379,1	12,6
10	13,6	27,6	227,1	684,4	10,2
Ortalama Değerler	5,710±1,272	20,330±4,992	323,030±96,751	494,820±98,347	9,230±2,227

Tablo 25. Karnozin Verilen Grubun Biyokimyasal İnceleme

Karnozin	İndoxyl Sülfate (µg/mL)	TMAO (µg/mL)	Maresin-1 (ng/L)	Relaxin (ng/L)	S-Equol (ng/mL)
1	8,7	31,6	569,2	388,2	13,2
2	10,6	28,7	551,4	414,4	12,6
3	8,9	28,1	234,1	179,3	18,6
4	7,4	26,0	252,3	464,4	14,6
5	5,9	25,7	456,4	513,9	15,2
6	13,2	23,8	497,3	463,1	10,8
7	2	28,0	247,8	585,4	7
8	10,5	39,5	228,9	372	19,5
9	5,2	31,9	365,9	382,4	6,6
10	5,5	33,8	419,0	590	7,6
Ortalama Değerler	7,790±3,262	29,710±4,622	382,230±135,131	435,310±119,841	12,570±4,599

Tablo 26. Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin (DMAH) Verilen Grubun Biyokimyasal İncelemesi

DMAH	İndoxyl Sülfate (µg/mL)	TMAO (µg/mL)	Maresin-1 (ng/L)	Relaxin (ng/L)	S-Equol (ng/mL)
1	11,0	31,0	402,9	499,3	7,4
2	12,9	28,9	484,7	727,9	12,9
3	14,9	38,1	450	388,6	19,6
4	8,5	49,6	457,4	431,5	20,6
5	38,7	39,8	564,3	468,1	12,5
6	8,0	38,3	596,8	454,0	13,4
7	9,0	35,2	328,1	840,3	9,2
8	5,7	43,3	440	590,4	16,3
9	8,1	46,3	559,1	618,2	15,1
10	9,6	50,5	491	648,1	19,5
Ortalama Değerler	12,640±9,527	40,100±7,354	477,430±81,043	566,640±144,394	14,650±4,446

Tablo 27. DMAH Ve Karnozin Verilen Grubun Biyokimyasal İncelemesi

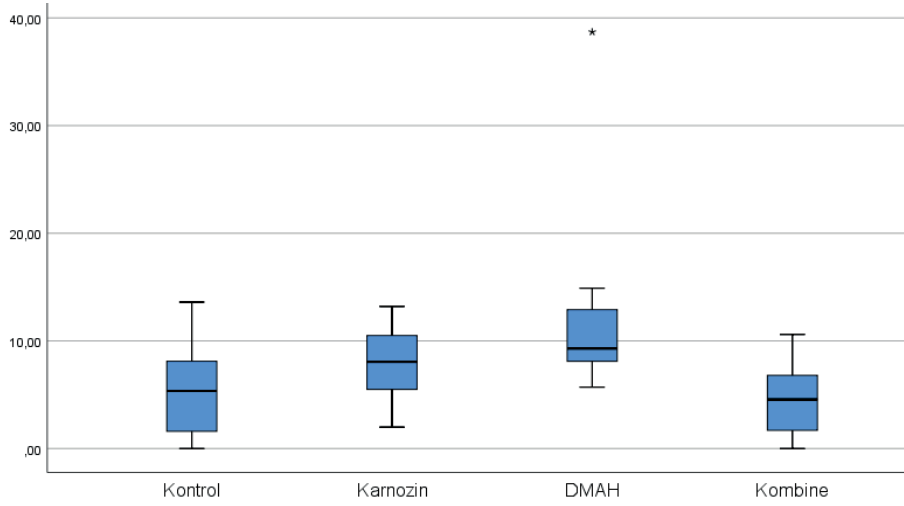
DMAH + Karnozin	İndoxyl Sülfate (µg/mL)	TMAO (µg/mL)	Maresin-1 (ng/L)	Relaxin (ng/L)	S-Equol (ng/mL)
1	5,2	38,2	332,3	347,4	7,5
2	1,7	18,5	173	449,4	5,4
3	3,9	33,4	364,1	476,4	6,2
4	10,6	32,4	431,6	422,3	7,7
5	5,6	24,4	253,3	382,4	3,6
6	6,8	18,4	296,7	558,4	9,2
7	8,4	17,5	457,1	451,9	7,5
8	2,3	18,0	412	409	7,6
9	0	18,0	202	389,9	4,4
10	1,6	22,3	264,2	508,9	16,9
Ortalama Değerler	4,610±3,350	24,110±7,741	318,630±97,428	439,600±63,242	7,600±3,684

Tablo 28. Grupların Indoxyl Sülfate göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	p değeri
Indoxyl Sülfate	Kontrol	7,515± 2,161	0,000	13,600	0,020
	Karnozin	7,790 ± 3,262	2,000	13,200	
	DMAH	12,640 ± 9,527	5,700	38,700	
	Kombine	4,610 ± 3,350	0,000	10,600	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda Indoxyl Sülfate ölçümlerine göre;

- Kombine grubu ile DMAH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$) görülmüştür (Şekil 28).



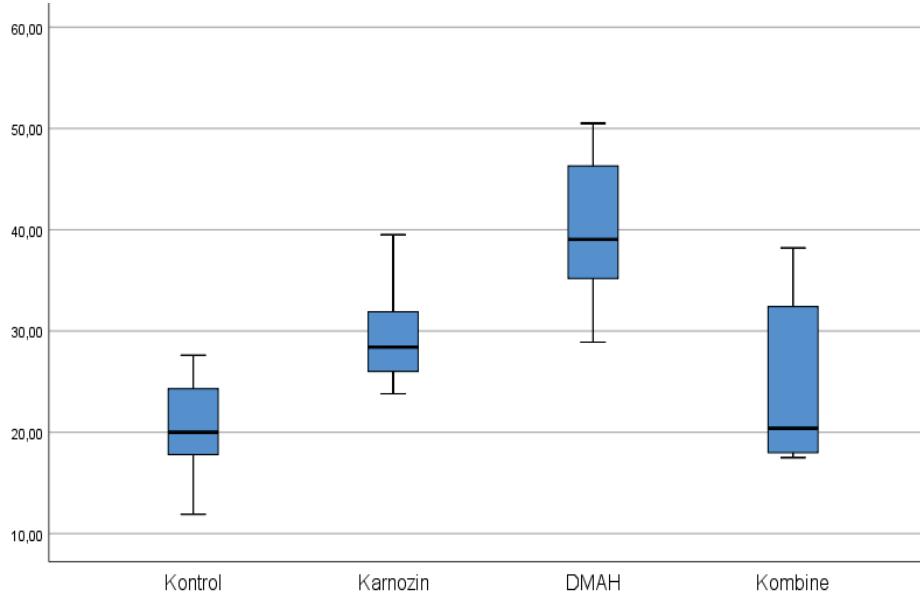
Şekil 47. Gruplardaki Indoxyl Sülfate değerlerinin ortalamaları

Tablo 29. Grupların TMAO göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	<i>p</i> değeri
TMAO	Kontrol	20,330± 4,992	11,900	27,600	0,020
	Karnozin	29,710 ± 4,622	23,800	39,500	
	DMAH	40,100 ± 7,354	28,900	50,500	
	Kombine	24,110 ± 7,741	17,500	38,200	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda TMAO ölçümlerine göre;

- Kontrol grubu ile Karnozin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
 - Kontrol grubu ile DMAH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
 - Karnozin grubu ile DMAH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
 - DMAH grubu ile Kombine grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- görülmüştür (Şekil 28).



Şekil 48. Gruplardaki TMAO değerlerinin ortalamaları

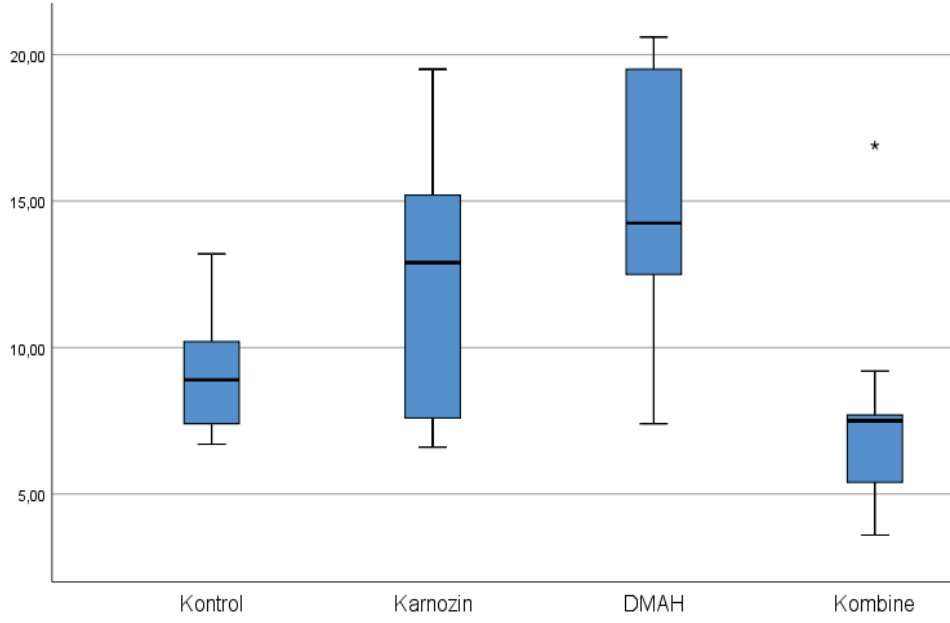
Tablo 30. Grupların S-Equal a göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	<i>p</i> değeri
S-Equal	Kontrol	9,230± 2,227	6,700	13,200	0,001
	Karnozin	12,570 ± 4,599	6,600	19,500	
	DMAH	14,650 ± 4,446	7,400	20,600	
	Kombine	7,600 ± 3,684	3,600	16,900	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda S-Equal ölçümlerine göre;

- Kontrol grubu ile DMAH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- Karnozin grubu ile Kombine grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- DMAH grubu ile Kombine grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)

görülmüştür (Şekil 14).



Şekil 49. Gruplardaki S-Equol değerlerinin ortalamaları

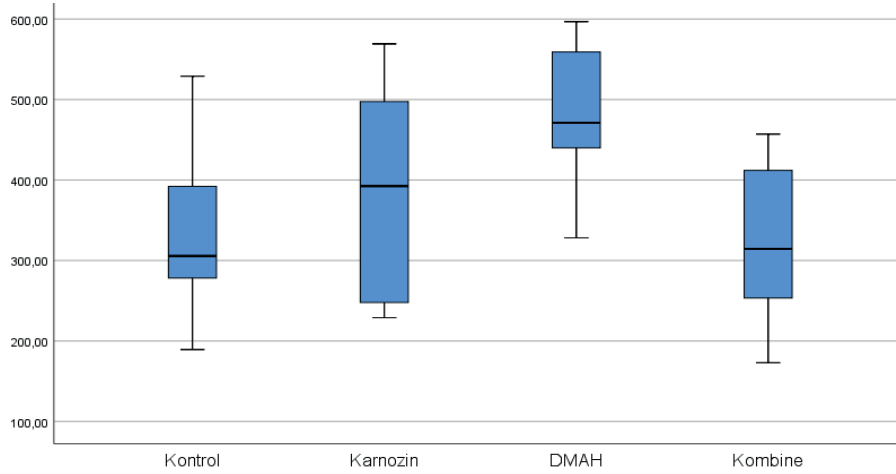
Tablo 31. Grupların Maresin-1 göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	<i>p</i> değeri
Maresin-1	Kontrol	323,030± 96,751	189,400	529,100	0,001
	Karnozin	382,230 ± 135,131	228,900	569,200	
	DMAH	477,430 ± 81,043	328,100	596,800	
	Kombine	318,630 ± 97,428	173,000	457,100	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda Maresin-1 ölçümlerine göre;

- Kontrol grubu ile DMAH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)
- DMAH grubu ile Kombine grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$)

görülmüştür (Şekil 15).

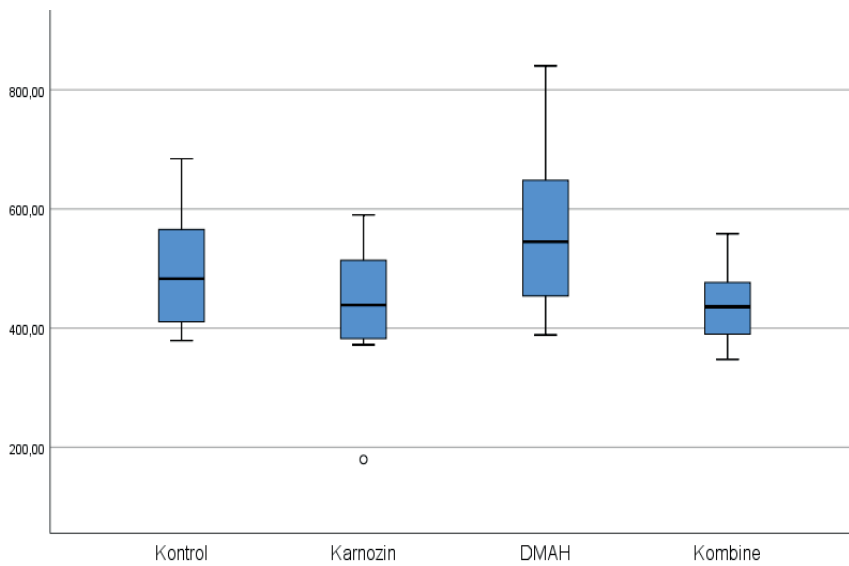


Şekil 50. Gruplardaki Maresin-1 değerlerinin ortalamaları

Tablo 32. Grupların Relaxin göre dağılımları

	Gruplar	Ortalama	Minimum	Maksimum	<i>p</i> değeri
Relaxin	Kontrol	494,820± 98,347	379,100	684,400	0,06
	Karnozin	435,310 ± 119,841	179,300	590,000	
	DMAH	566,640 ± 144,394	388,600	840,300	
	Kombine	439,600 ± 63,242	347,400	558,400	

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edilerek grupların normal dağıldı tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Yapılan analiz sonucunda Relaxin ölçümlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($p > 0,05$) görülmüştür (Şekil 51).



Şekil 51. Gruplardaki Relaxin değerlerinin ortalamaları

4. TARTIŞMA

Cerrahi flep, kendi kan akışına sahip, transfer edilebilir bir doku birimidir ve bu tür flepler, basit deri ilerletmelerinden yumuşak doku, deri, kas, kemik, yağ veya fasyayı içeren çeşitli doku türlerinin bileşenlerine kadar uzanan farklı dokulardan elde edilir. Flep cerrahisinin tarihi, Sushruta Samhita'nın MÖ 600 yılında ilk kez bir yanak flebi kullanarak burun rekonstrüksiyonu yaptığı döneme kadar uzanır. O zamandan bu yana flep cerrahisi, farklı evrelerden geçmiştir: Rönesans döneminde bitişik kusur bölgelerine ilerletme flebi ve vücudun uzak bölgelerine pediküllü fleplerin uygulanmasından, 1960'larda serbest doku transferine, 1980'lerde fasiyokütanöz (deri ve fasya), osseöz (kemik) ve osseokütanöz (deri ve kemik) fleplerin geliştirilmesine kadar uzanan bu süreç, 1990'larda perforatör fleplerin tanıtılmasıyla devam etmiştir. Tüm bu gelişmeler, rekonstrüktif cerrahinin alanını köklü bir şekilde değiştirerek genişletmiştir. Günümüzde flep cerrahileri, cilt ve cilt altı doku yaralanmalarından kaynaklanan deri kusurlarını onarmak için yaygın olarak uygulanmaktadır.

Flep cerrahisi sonrası flebin hayatta kalması, flebin distal kenarlarındaki oksijenlenmiş kan bolluğuna bağlıdır. Vasküler pleksuslardan kanın perfüzyonu, besleyici arter veya arteriolden uzaklık arttıkça azalır; bu nedenle flebin distal kısımları iskemik nekroz açısından en hassas bölgelerdir ve ciddi bir postoperatif komplikasyon olarak dikkatle yönetilmelidir. Cerrahi yöntemler en etkili tedavi seçenekleri olarak kalsa da, fiziksel tedaviler ve fiziksel faktörler, büyüme faktörleri ve ilaçlarla yapılan ön tedavi gibi diğer cerrahi olmayan yöntemler de flep yaşamını desteklemek için uygulanmaktadır (244-247).

İskemik reperfüzyon (I-R), flep kaybının (kısmi) altında yatan bir durumdur. Flep cerrahisi, rekonstrüktif cerrahide giderek daha önemli hale geldiğinden, iskemik reperfüzyon yaralanmasının nedenlerini bilmek, bunu önlemek açısından önemlidir. İskemi, belirli bir doku alanına yetersiz kan akışı durumudur (248). Eğer iskemi süresi dokunun toleransını aşarsa, bu durum inflamasyona ve sonuç olarak nekroza yol açacaktır (249). Ayrıca, reperfüzyon sonrasında bir dizi patofizyolojik olay gerçekleşir ve bu durum dokuda artan hasara yol açar (250).

Flep cerrahisinde, serbest flep bir bölgeden diğerine nakledildiğinde iskemik reperfüzyon (I-R) her zaman meydana gelir. Bu, cerrahi prosedürün bir parçasıdır ve önlenemez. Bu mekanizma birincil iskemik olarak adlandırılır. Bu I-R dönemini

takiben meydana gelen herhangi bir dolaşım bozukluğu olayı, ikincil iskemik olarak kabul edilebilir. İkincil iskemik genellikle kötü bir cerrahi teknikten kaynaklanır.

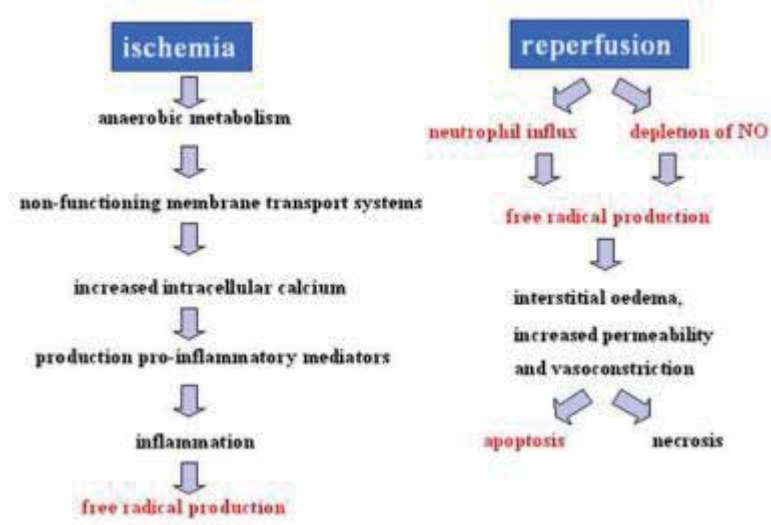
İkincil iskemide iki farklı iskemik türü arasında bir ayrım yapılabilir. Birincisi, kan akışına oranla çok büyük olan bir flep nedeniyle oluşan distal iskemidir. İkinci tür ise anastomozun başarısızlığı nedeniyle meydana gelir (251).

En sık neden, kötü teknik nedeniyle oluşan trombozdur. Diğer olası nedenler arasında alıcı kan damarının kötü kalitesi, alıcı veya verici kan damarındaki önceden var olan patolojiler (ateroskleroz) veya sistemik problemler, örneğin hipotansiyon veya hiperkoagülabilité durumu yer alır (252).

Anastomoz başarısızlığı, kan damarlarının dış mekanik sıkışmasının bir sonucu da olabilir. Örnekler arasında bir damarın kıvrılması, hematoma, aşırı sıkı yara kapanması veya bir dren tarafından sıkışma yer alır (253).

Hem arteriyel hem de venöz tıkanıklık flep başarısızlığına yol açabilir; ancak, venöz tıkanıklık daha yaygındır. Dikkate alınması gereken bir nokta, venöz tıkanıklığın arteriyel tıkanıklığa göre daha fazla doku hasarına neden olmasıdır (251, 253).

Flep iskemisi şüphesi, arteriyel veya venöz Doppler sinyallerinde veya flep cilt renginde değişiklikler meydana geldiğinde ortaya çıkmalıdır (254). Çoğu zaman bu değişiklikler belirgin bir şekilde mevcut değildir ve iskemik yaralanmanın tanınmasındaki gecikme nekroza ve bazen (kısmi) flep kaybına yol açar. Flap kaybı, birincil iskemiden ziyade ikincil iskemiden kaynaklanır (255). Hayvan çalışmaları, cilt fleplarının ikincil iskemiyi, birincil iskemiden daha az tolere ettiğini doğrulamıştır (256). Ancak, cerrahın mikroskopik cerrahi becerilerini eğitmek dışında, ikincil iskeminin önlenmesi mümkün değildir. Bu nedenle, doku hasarını azaltmaya çalışırken, (birincil) iskemik reperfüzyon (I-R) yaralanmasını azaltmaya yönelik çabalara odaklanılmalıdır. I-R mekanizmasının birkaç önemli özelliği görselle ifade edilecektir.

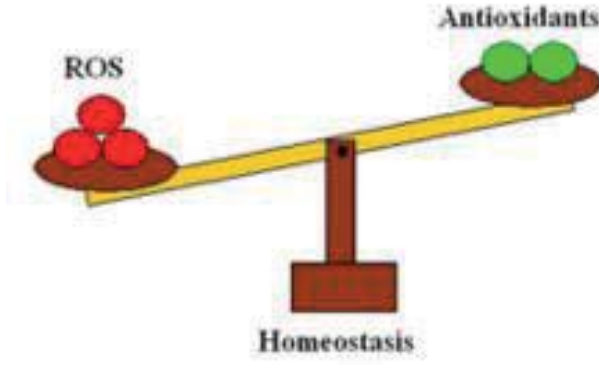


İskemik durumlar ve özellikle reperfüzyon sırasında reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. ROS, oksijen iyonları, serbest radikaller ve peroksitleri içerir ve bu, iskemi-reperfüzyon (IeR) hasarını başlatır (257).

Reaktif oksijen türleri (ROS), iki farklı süreçten kaynaklanır: endotelium hücrelerindeki ksantin oksidaz sistemi ve nötrofillerdeki Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADPH) oksidaz sistemi. Nötrofillerdeki ROS oluşumuna iskemi-reperfüzyon sırasında solunum patlaması (respiratory burst) denir. Reperfüzyon sırasında oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), mikro dolaşımı bozan bir dizi değişikliğe yol açar; örneğin, endotelium hücrelerinin şişmesi, vazokonstriksiyon ve kapiller permeabilitede artıştır (258). Bu artış, çoğu serbest flep transferinde meydana gelen cilt inflamasyonu sırasında özellikle önemlidir. Ksantin oksidaz sistemini inhibe eden allopurinolün sistemik uygulanması, ROS oluşumunu azaltır ve sıçan deri fleplerinin hayatta kalma oranını önemli ölçüde artırır (259, 260).

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize etme kapasitesine sahip bileşenlerdir ve böylece doku hasarını önlerler. Bu amaçla serbest radikallere elektron bağışında bulunurlar. Bazı antioksidanlar vücutta endojen olarak üretilir (örneğin, glutatyon (GSH), ubikinoller, ürik asit) ve diğerleri diyetle sağlanır; bunlara dışsal antioksidanlar denir (örneğin, C ve E vitamini, yağ asitleri, riboflavin ve karotenoidler). Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerini nötralize ederek doku hasarını önleyebilir. Artan ROS üretimi ve/veya azalmış antioksidan savunması, oksidatif stres olarak tanımlanabilir (261).

Oksidatif stres sırasında vücutta endojen antioksidanların artış gösterdiği bilinmektedir. Ancak reperfüzyon sırasında birçok ROS kısa sürede ortaya çıkar ve bu durum antioksidan sistemi aşırı yükler. Antioksidanlar hızla tüketilir ve vücuttaki konsantrasyonları azalır (262).



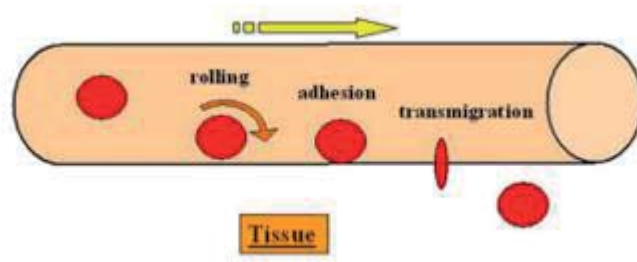
İskemi-reperfüzyon (I-R) sonrası antioksidan seviyelerindeki düşüş, bu durumdan muzdarip hastaların antioksidan tedavisinden fayda görebileceğini düşündürmektedir. Literatürde, antioksidanların I-R öncesinde veya sırasında uygulanmasının koruyucu etkileri olduğu ve uzun vadede bile organ fonksiyonlarını iyileştirdiği bilinmektedir (263, 264).

Hayvan çalışmaları, çeşitli antioksidanların uygulanmasının deri fleplerinin hayatta kalmasını ve işlevini iyileştirdiğini göstermiştir. Örneğin, glutatyon (GSH), vücudu oksidatif stresten koruyan en önemli antioksidanlardan biridir. Bir sıçan flep çalışmasında, GSH seviyeleri, I-R sonrasında kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşüktü (261).

Süperoksit dismutaz (SOD), dimetil sülfoksit (DMSO) ve C ve E vitaminleri gibi diğer antioksidanlar da doku hasarını sınırlamak için kullanılmıştır (250). Başka bir sıçan çalışmasında, antioksidan DMSO ile iskemi öncesi tedavinin, fasyokutanöz fleplerin kritik primer iskemi süresini anlamlı derecede iyileştirdiği gösterilmiştir (265). Ayrıca, C vitamini (askorbik asit) güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Sıçan epigastrik flep modelinde, reperfüzyon başlamadan önce flebin C vitamini ile perfüzyonu, flep hayatta kalma yüzdesini anlamlı derecede artırmıştır (266) Son olarak, kafeik asit fenetil ester (CAPE) ile yapılan bir çalışma, bu bileşiğin antioksidatif ve anti-inflamatuar özellikleri sayesinde sıçan deri fleplerinin hayatta kalma oranını artırdığını göstermiştir (267).

I-R hasarının ikinci önemli yönü, nötrofillerin yoğun şekilde dokuya göç etmesidir. Reperfüzyon sırasında lökositlerin toplanması, ROS oluşumunun kemotaksiye ve nötrofil infiltrasyonuna yol açan adezyon moleküllerinin aktivasyonuna katkıda bulunduğu çok aşamalı bir süreçtir (250).

Lökositlerin damar dışına çıkma süreci üç aşamaya ayrılır: yuvarlanma, sıkı yapışma ve transmigrasyon. Nötrofillerin yuvarlanması, hızlarını azaltır ve endotel ile temaslarını teşvik eder. Ardından lökositler endotelyuma sıkıca yapışır ve son olarak dokuya göç ederler.



İskemi sonrası nötrofil infiltrasyonu, çeşitli hayvan modellerinde deri flepleri üzerinde gösterilmiştir. Miyeloperoksidaz, nötrofillerde spesifik aktiviteye sahip bir enzimdir ve nötrofil akışının derecesini belirlemek için yaygın olarak bir enzim markörü olarak kullanılır. Bir sıçan çalışmasında, nekroza uğrayacak fleplerde miyeloperoksidaz aktivitesi, hayatta kalan fleplere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (256).

Nötrofiller, lokal enflamatuvar yanıtın bir parçasıdır ve solunum patlaması sırasında NADPH oksidaz sistemi aracılığıyla serbest radikaller üretirler. Nötrofil akışının engellenmesi, mevcut serbest radikal miktarını azaltacaktır. Nötrofil tükenmesinin veya nötrofil aktivasyonunun inhibisyonunun, IeR hasarını büyük ölçüde hafiflettiği gösterilmiştir (268,269).

NO'nun (nitrik oksit), I-R hasarında hem koruyucu hem de zarar verici bir rol oynadığı düşünülmektedir. NO, vasküler tonun düzenlenmesi, trombosit agregasyonu ve yapışmasının inhibisyonu, lökositlerin endotelyuma yapışmasının engellenmesi, serbest radikal süpürme, normal vasküler geçirgenliğin korunması, düz kas proliferasyonunun inhibisyonu, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve endotel hücre rejenerasyonunun uyarılması yoluyla dokuları IeR hasarından korur (270).

NO'nun çelişkili etkileri, farklı NOS izoformlarının ifadesinin bir sonucu olabilir: "konstitütif NOS" (cNOS) ve "indüklenabilir NOS" (iNOS) (271). iNOS enzimi, I-R hasarının gelişimine katkıda bulunduğu görülmektedir. Oksijen radikalleriyle kimyasal olarak reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturmaktadır. Bu durum, yağ peroksidasyonuna yol açar ve serbest radikal üretiminde artışla birlikte ek reperfüzyon hasarına neden olur. İskemide iNOS'un inhibisyonu, doku hasarını ve nekrozu azaltır (272). cNOS tarafından üretilen NO, genellikle trombositler ve nötrofillerin agregasyonu ve yapışmasını inhibe ederek koruyucu etkiler gösterir. Ancak, iskemi başlangıcında cNOS büyük miktarda NO üretir ve bu da öncüsü L-argininin yerel tükenmesine neden olur (273).

Düşük L-arginin konsantrasyonunun bir sonucu olarak, endotelyum artık NO üretemez ve bunun yerine serbest oksijen radikalleri üretilir. Bunlar, reperfüzyon sırasında üretilen serbest oksijen radikallerinin yaklaşık %70'ini açıklayabilir (274). NO konsantrasyonundaki azalma, vazokonstriksiyona, kapillerlerin nötrofiller tarafından tıkanmasına ve mikro dolaşımda trombus oluşumuna yol açar. L-arginin uygulanması, cNOS seviyesinin korunmasına yardımcı olabilir ve bu da mikro dolaşımı destekleyerek flep hayatta kalmasını iyileştirebilir (275).

Bu bağlamda, bazı antioksidanlar tedavi amacıyla kullanılmıştır ve flep yaşayabilirliğini arttırdıkları gözlemlenmiştir. Bugün için yukarıda sayılan flep yaşayabilirliğini arttıran ideal ilacın özelliklerinin tamamını içeren bir ilaç bulunamamıştır. Karnozin ve ilgili histidin içeren dipeptitler, beyin (karnozin ve homokarnozin) ve kalp (karnozin, homokarnozin ve anserinin asetillenmiş formları) dahil olmak üzere omurgalı dokularında bolca bulunur ve bu bileşikler çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynar. Karnozinin birçok işlevi vardır; anti-iskemik aktivitesi, antioksidan ve membran koruyucu özellikleri, ağır metal iyonlarıyla kompleks oluşturması ve makrofaj aktivitesinin düzenlenmesi en önemli işlevlerindendir (276).

V.P. Skulachev, çalışan kaslarda glikoliz sırasında laktat birikimi sonucu salınan H⁺ iyonlarının mobil tamponu ve taşıyıcısı olarak karnozinin rolünü tartışmıştır. Hesaplamalar, karnozinin kaslarda bulunan miktarının hücre içi pH'ı gereken sınırlar içinde tutmak için yeterli olduğunu göstermektedir (277). Karnozin ve benzeri bileşikler, demir de dahil olmak üzere geçiş metallerinin iki değerlikli iyonlarını etkili bir şekilde bağlar bu, özellikle demirin reaktif oksijen türlerinin

üretimindeki ve iskemi sırasında, yani demir birikim mekanizmalarının değiştiği durumlarda peroksidasyonun gelişimindeki rolü göz önüne alındığında büyük önem taşır. Karnozinin Cu^{2+} ve Zn^{2+} ile oluşturduğu kompleksler, süperoksit dismutaz aktivitesine sahiptir ve bu durum, dipeptidin antioksidan etkilerine katkıda bulunur (278).

İn vitro çalışmalarda, karnozin ve histidin içeren ilgili dipeptitlerin, solunum patlaması sırasında lökositlerin aktivitesini değiştirdiği, hipoklorit seviyelerini azalttığı ve süperoksit radikalının yarı ömrünü uzattığı gösterilmiştir. Bu durumda karnozin, yalnızca radikalleri yakalamakla kalmaz, aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin üretiminden sorumlu enzim sistemlerinin aktivitesini de değiştirir (279,280)

Canlı modellerinde, karnozinin antiradikal aktivitesi, oksijen radikalleri sentezinin ve beyindeki lipid peroksidasyonunun (LPO) aktive olduğu immobilizasyon ve elektriksel ağrı stresi modellerinde gösterilmiştir. Karnozin, hayvanların iyonize radyasyona [18, 19], hipobarik hipoksiye ve aşırı soğumaya karşı direncini artırarak ölüm oranını düşürmüştü ve iyileşme süreçlerini iyileştirmiştir (281, 282)

Deneyssel ve klinik terapilerde karnozin, etkili bir immünomodülatör ve anti-inflamatuar ajan olarak gösterilmiştir. Bu etkiler, karnozinin antioksidan, membran stabilize edici ve pH tamponlayıcı aktivitelerinden kaynaklanıyor olabilir (283, 284). Heparinin, antikoagülan etkisine ek olarak anti-inflamatuar ve antioksidan etkisi de mevcuttur. Bu ilaç, konvansiyonel ve düşük moleküler ağırlıklı heparin olmak üzere iki formda kullanılır (285). Düşük moleküler ağırlıklı heparin, piyasada fragment (parçalanmış) bir form olarak bulunur ve normal heparine kıyasla daha az yan etkiye sahiptir. Heparin, damarların endotel hücreleri yakınında süperoksit dismutazı serbest bırakarak onun antioksidan etkisini artırır. Ayrıca heparin, iltihaplı dokulardaki bilinen oksidanlar olan demir ve bakırın yanı sıra, serbest oksijen radikallerini de yakalayarak etkin bir şekilde antioksidan rolünü yerine getirir (287).

Heparinin lökositler tarafından NO (nitrik oksit) üretimi üzerindeki etkisi daha az ayrıntılı tanımlanmıştır. Ancak, yapılan araştırmalar, düşük antikoagülan aktiviteye sahip hem heparinin hem de düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) türevlerinin, lökositlerin yapışma, aktivasyon ve taşınması gibi farklı polimorfonükleer (PMN) hücre tepkilerini etkileyen çeşitli biyolojik işlevlere sahip olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, lökosit yuvarlanması, süperoksit anyon üretimi, homotipik agregasyon, lizozim salınımı ve PMN lökositlerin vasküler endotel hücrelerine yapışması, hem heparin hem de LMWH türevleri tarafından benzer ölçüde engellenebilir (288, 289).

Son yıllarda, heparinin antikoagülan özelliklerinden bağımsız olarak birçok anti-inflamatuar özelliğe sahip olduğu keşfedilmiştir ve klinik olarak astım, interstisyel sistit ve ülseratif kolit gibi çeşitli inflammatuar hastalıklarda başarılı bir şekilde kullanılmıştır (290, 291). Heparinin anti-inflamatuar özellikleriyle ilgili yapılan birçok gözlem arasında, heparinin inflammatuar hücrelerin dokuya göçünü engelleyebileceğini öne süren bulgular da bulunmaktadır (290, 291).

Nötrofillerin aşırı şekilde akciğerlere göçü ve aktivasyonunu içeren önemli bir inflammatuar hastalık, gelişmiş dünyada dördüncü en büyük ölüm nedeni olan kronik obstrüktif akciğer hastalığıdır (KOA). Nötrofillerden salınan elastazın, KOAH'ın patogeneğinde rol oynadığı belirlenmiştir ve bu süreci engelleyebilen bir ilaç henüz bulunmamıştır. Ancak, heparinin elastaza bağlanarak onu inhibe edebildiği gösterilmiştir (292, 293).

Heparinin, nötrofillerle ilgili inflammatuar süreçlerin birçok yönünü değiştirdiği gösterilmiştir. Örneğin, heparin interlökin-8'in nötrofillere bağlanmasını (294) ve L- ile P-selektinlerin ligandlarına bağlanmasını (295-297) engelleyebilmekte, ayrıca CD11b/CD18 (Mac-1) bağlanmasını da (298) inhibe edebilmektedir. Heparin, ayrıca nötrofillerin vasküler endotel hücrelerine yapışmasını da hem in vitro (299) hem de in vivo (300) engelleyebilir, buna ek olarak in vivo nötrofil birikimini de (301) azaltmaktadır. Nötrofil degranülasyonu ve solunum patlaması heparin tarafından inhibe edilir, ayrıca homotipik agregasyonları da (302) engellenir. Alternatif olarak, heparinin nötrofillerde apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Nötrofiller apoptoz sırasında dış uyarıcılara karşı duyarsız hale geldiğinden, heparin varlığında fMLP ve PAF'nin degranülasyonu indükleme yetkisinin azalması, heparinin apoptozun başlangıç aşamalarını indüklemesinin bir sonucu olabilir (303, 304).

Tüm bu bilimsel verilerden hareketle karnozin ve düşük moleküler ağırlıklı heparin sıçanlarda flep modeli üzerinde değerlendirildi. Hem farmakolojik çalışmalar da hem de flep çalışmalarında deneysel hayvan modeli olarak genellikle sıçanlar kullanıldığından Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar tercih edildi ve tüm denekler aynı menstrüel siklus dönemindeydi.

Random paternli deri flepleri, Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi’de en sık kullanılan flep türlerindendir. Bu fleplerin özellikle distal bölümlerinde kötü perfüzyona bağlı olarak doku kaybı gelişme riski vardır. Flep türünün seçiminde McFarlane ve arkadaşlarının tanımladığı standart dorsal sıçan flep modeli uygulandı. Deneysel yapılan çalışmamızda 4 grup oluşturulmuştur. Gruplardan 3 üne 100mg/kg/gün den karnozin intraperitoneal, 1mg/kg/gün den düşük moleküler ağırlıklı heparin subkutan yoldan verilmiştir. Enjeksiyon yapıldıktan 7 gün sonra flepler yaşayan ve nekroza giden alanları image j programı ile ölçülüp hesaplanmıştır. Çalışmanın sonunda kontrol grubunun yaşayan flep alanı ortalaması $7,515 \pm 2,161$, Karnozin verilen grubun yaşayan flep alanı ortalaması $16,826 \pm 3,034$, düşük moleküler ağırlıklı heparin verilen grubun yaşayan flep alanı ortalaması $15,692 \pm 2,433$, kombin ilaç verilen grubun yaşayan flep alanı ortalaması $19,816 \pm 2,897$ dir.

Kontrol grubu ile Karnozin, DMAH ve Kombine gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$), DMAH grubu ile Kombine grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$) görülmüştür.

Karnozin ve düşük moleküler ağırlıklı heparinin flep yaşayabilirliğini artırması antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri ile iskemi / reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisine bağlanabilir.

Yapılan histopatolojik değerlendirmede tüm örnekler de nekroz, inflamasyon, ödem ve damarlanma artışı incelendi. İncelemede histolojik değişikliğe göre derecelendirme yapıldı. Hiçbir değişiklik yoksa:0, hafif derecede bulgular varsa:1, orta derecede bulgular varsa: 2 ve şiddetli derecede bulgular varsa:3 olarak derecelendirildi. Patolojik örnekler inceleme rahatlığı açısından A ve B grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Tüm örneklerde A grubu nekroz hattından, B grubu flep bazının 5 cm distalinden itibaren alınan dokuları temsil etti.

Nekroz parametresinin A gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %90’ında, DMAH grubundaki deneklerin %70’inde ve Kombine grubundaki deneklerin %20’sinde şiddetli derecede nekroz saptanırken Karnozin grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede nekroz saptanmamıştır. Nekroz parametresinin B gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %100’ünde ve DMAH grubundaki deneklerin %20’sinde şiddetli derecede nekroz saptanırken,

Karnozin grubundaki ve Kombine grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede nekroz saptanmamıştır.

İnflamasyon parametresinin A gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %100'de ve DMAH grubundaki deneklerin %60'ında ve Kombine grubundaki deneklerin %30'da şiddetli derecede inflamasyon saptanırken, Karnozin grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede inflamasyon saptanmamıştır.

İnflamasyon parametresinin B gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %90'da ve DMAH grubundaki deneklerin %10'nunda şiddetli derecede inflamasyon saptanırken, Karnozin grubundaki ve Kombine grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede inflamasyon saptanmamıştır.

Ödem parametresinin A gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %50'sinde şiddetli derecede ödem saptanırken, geri kalan diğer gruplardaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede ödem saptanmamıştır. Ödem parametresinin B gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %40'ında şiddetli derecede ödem saptanırken, geri kalan diğer gruplardaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede ödem saptanmamıştır.

Deneklerdeki nekroz, inflamasyon, ödem parametrelerinin karnozin ve ve kombin ilaç verilen gruplarındaki şiddet düzeyi düşüklüğü, ilaçların antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliğine bağlanmıştır.

Damarlanma artışı parametresinin A gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %20'sinde ve Karnozin grubundaki deneklerin %10'nunda şiddetli derecede damarlanma artışı saptanırken, DMAH grubundaki ve Kombine grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede damarlanma artışı saptanmamıştır. Damarlanma artışı parametresinin B gruplarına bakıldığında kontrol grubundaki deneklerin %20'sinde ve Kombine grubundaki deneklerin %10'nunda şiddetli derecede damarlanma artışı saptanırken, DMAH grubundaki ve Karnozin grubundaki deneklerin hiçbirinde şiddetli derecede damarlanma artışı saptanmamıştır.

Literatürde Karnozin ve düşük moleküler ağırlıklı heparinin yeniden damarlanma durumuna ait etkisine bakıldığında, iskelet kasına uygulanan iskemi sırasında karnozin takviyesinin, iskemik kas dokusundaki HIF-1 α /VEGF seviyelerini artırarak iskemik iskelet kasında kan akışının iyileşmesini ve yeniden damar oluşumunu hızlandırdığını gösterdi (305).

Heparinin bu durumdaki etkilerine bakıldığında ise, heparin ve türevlerinin kanserde bir hayatta kalma avantajı sağladığını öne sürmektedir. Çeşitli çalışmalar, heparinlerin tümör büyüme faktörlerini veya anjiyogenezi inhibe ederek, lenfatik damar oluşumunu baskılayarak, çoklu ilaç direncini tersine çevirerek, heparinaz ve trombin üreterek veya kanser hücrelerinin vasküler endotelyuma yapışmasını engelleyerek tümör büyümesini ve metastazı baskıladığını göstermektedir (306).

Damarlanma durumuna bakılan A preparatlarındaki şiddetli damarlanma artışının Karnozin grubunda görülmesinin, ilacın anjiogenik etkisine, kombin grubunda görülmemesinin ise her iki ilacın zıt etkilerinin bir arada olmasından dolayı olduğunu düşünüyoruz.

B preparatlarında ise damarlanma durumu nedeni bilinmeyen bir şekilde beklendiği gibi gerçekleşmemiş olup, kontrol grubunda şiddetli damarlanma artışı izlenmiştir.

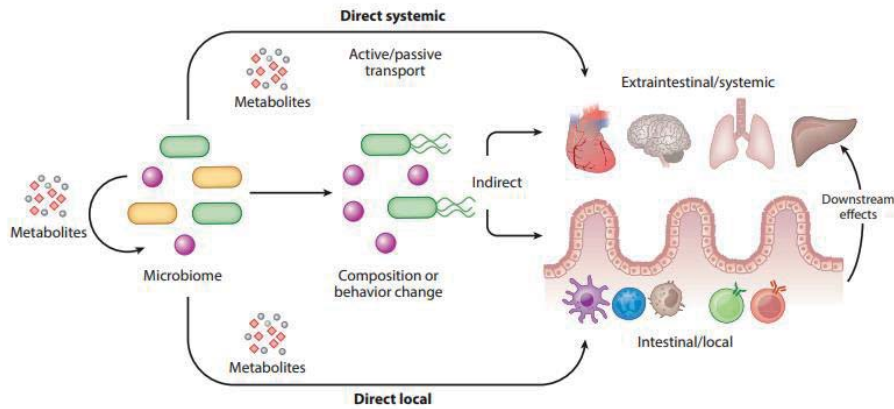
Ratlarda dorsal bölgeden planlanan random paternli yapılan flep çalışmalarında daha önceden birçok biyokimyasal parametreler çalışılmasına rağmen, mikrobiyaya metabolitleri ve inflamasyon belirteçleri bir arada araştırılmamıştır. Çalışmamızda planladığımız flep modelinde iskemi oluşturduktan sonra, deneklere Karnozin ve düşük moleküler ağırlıklı heparin verilerek mikrobiyaya metabolitleri ve inflamasyon belirteçlerini ne derecede etkilediğini ortaya çıkarmak istedik.

Metabolitler, mutualistik, kommensal ve parazitik etkileşimler dahil olmak üzere, türler arası simbiyotik ilişkilerin önemli bir itici gücüdür. Mikroorganizmalar ile çok hücreli konakları arasındaki simbiyozlar, bu ilişkileri sürdürmek için metabolitler tarafından yönlendirilen iki yönlü moleküler etkileşimlerin önemini gösteren en bilinen örneklerden bazılarıdır. Son dönemde memelilerin bağırsak mikrobiyotası üzerine yapılan çalışmalar, memelilerin gastrointestinal sisteminde yaşayan trilyonlarca mikroorganizmanın metabolik programlarını ve bu mikroorganizmaların konak fizyolojik işlevlerini nasıl desteklediğini aydınlatmaya başlamıştır.

Mikrobiyota alanı büyük ölçüde betimleyici ve korelatif olsa da, artık mikrobiyotanın metabolik durumunun konak üzerinde hücresel, doku ve fizyolojik düzeyde nasıl etkiler yarattığını ve buna karşılık konak tepkilerinin mikrobiyota tarafından nasıl algılandığını mekanistik olarak anlamaya başlıyoruz. Mikrobiyotanın

metabolik durumu tarafından yönlendirilen bu iki yönlü diyalog, bireysel konağın sağlığını ve homeostazını korumak için hayati öneme sahiptir ve bu dinamiklerin düzensizliği birçok hastalığın temel itici gücüdür.

Mikrobiyota kaynaklı metabolitler, konağın tepkilerini birçok farklı şekilde koordine edebilir. Mikrobiyal metabolitler, konak süreçlerini ve fizyolojisini düzenlemek için doğrudan konak tarafından algılanabilir. Memeli bağırsağı, mikrobiyotayı vücudun geri kalanından fiziksel olarak ayıran tek bir epitelyal tabakadan oluşur. Mikrobiyal metabolitler, bağırsak epitelyumu tarafından doğrudan algılanarak konakta yanıtları tetikler. Örneğin, bağırsak mikrobiyotası ile homeostatik bir ilişki sürdürmek için bağırsak epitelyal tabakasının bariyer bütünlüğü korunmalıdır.



Mikrobiyota tarafından üretilen metabolitler, konağa birçok yolla değişiklikler getirebilir. Bir grup mikroorganizma tarafından üretilen metabolitler, lokal ve sistemik düzeylerde doğrudan etkilere sahip olabilir. Lokal olarak, bu metabolitler bariyer fonksiyonunu ve lamina propriada bulunan bağışıklık hücre popülasyonlarını veya işlevlerini etkileyebilir. Bu yerel etkiler, aynı zamanda aşağı yönde sistemik etkilere yol açabilir. Sistemik olarak, metabolitler aktif veya pasif taşınma yoluyla bağırsak epitelinin geçerek uzak dokularda organ fonksiyonunu veya hastalık süreçlerini doğrudan etkileyebilir. Son olarak, bazı mikroorganizma grupları, mikrobiyotanın diğer üyelerini veya patojenleri etkileyen metabolitler üreterek mikrobiyotanın genel bileşimini veya bazı üyelerinin işlevini/davranışını değiştirebilir. Bu değişiklikler, konağı hem lokal hem de sistemik düzeylerde dolaylı olarak etkileyebilir.

Mikrobiyal metabolitler, bağırsak epitel hücreleri tarafından doğrudan algılanarak bariyer bütünlüğünü destekler. Epitelyal tabakanın altında yer alan lamina

propria, mukozal bağışıklık sisteminde işlev gören hücrelerin büyük bir kısmını içerir ve bu metabolitler, lamina propriadaki bağışıklık hücreleri tarafından doğrudan algılanarak konakta bir yanıt oluşturur (301, 308). Mikrobiyal metabolitler, bağırsak bariyerini geçerek bağırsak dışı hücreler ve dokular tarafından doğrudan algılanabilir ve bu da konakta fizyolojik değışiklikleri tetikleyebilir (309).

Metabolitler, aynı zamanda konak ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki iletişimi daha karmaşık ve dolaylı yollarla, birden fazla hücre türü arasındaki diyalogu içerecek şekilde düzenleyebilir. Bağırsak mikrobiyotası, yüzlerce farklı türü temsil eden trilyonlarca bakteriden oluşur. Mikrobiyotanın ekolojisi, konakla birlikte evrimleşerek şekillenmiştir. Mikroorganizmalar, topluluk yapısını korumak ve topluluk içindeki diğer türlerle rekabet etmek için küçük moleküllu metabolitleri kullanır.

Örneğin, antibakteriyel maddeler, topluluk içindeki diğer mikropları hedef alan ve mikrobiyota bileşimini etkileyen bakteriler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. İnsanlar ve hayvanlar üzerindeki korelasyonel çalışmalar, ekolojideki değışikliklerin, disbiyozis olarak adlandırılan bir durumun, konaktaki hastalık durumlarıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, mikrobiyota metabolitlerinin konağı dolaylı olarak etkileyebileceğı yöntemlerden biri, mikrobiyota ekolojisini şekillendirmektir. Bir konak hücre türü tarafından metabolitlerin algılanması, konağın diğer hücre türlerine iletişim iletmek için de kullanılabilir ve bu, hem bağırsakta hem de vücudun sistemik bölgelerinde konak tepkilerini koordine etmeye yardımcı olabilir (137, 310).

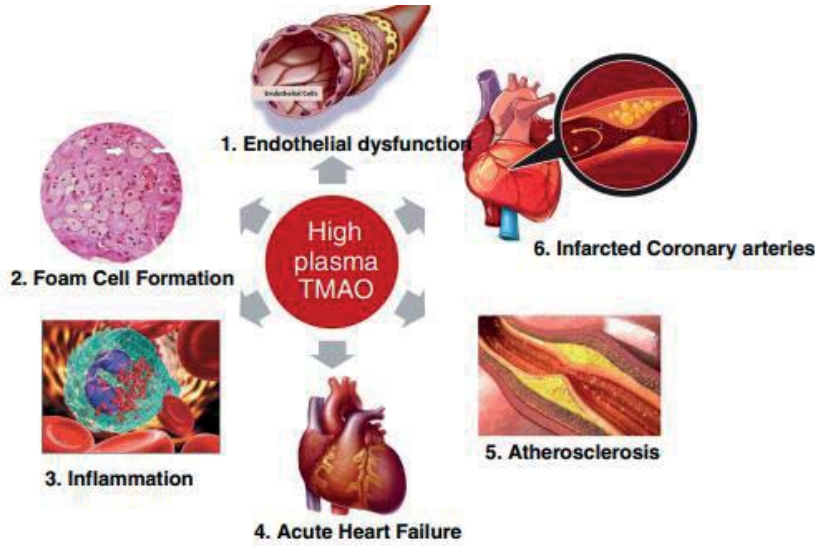
Çalışmamızda mikrobiyata metabolitlerinden Trimethylamine N-oxide, S-Equol ve İndoxyl Sülfatı ele alacak olursak; İnsan mikrobiyotası, trimetilaminin (TMA) öncülü olan trimetilamin N-oksit (TMAO) oluşumunda önemli bir rol oynar. Kalın bağırsakta bulunan mikrobiyom, karnitin ve kolini TMA'ya dönüştürebilme yeteneğine sahiptir. Bu TMA, karaciğer enzimi Flavin monooksijenaz-3 (FMO3) tarafından metabolize edilerek TMAO'ya dönüştürülür. Karnitin ve kolinin mikrobiyom tarafından TMA'ya metabolize edildiğı ve TMA'nın FMO3 ile TMAO'ya dönüştürüldüğü net bir şekilde bilinmesine rağmen, bu öncüllerin plazma TMAO düzeylerini ne kadar artırdığı ve bunun kardiyovasküler hastalık (KVH) riskini artıran metabolik değışikliklere ne ölçüde yol açtığı konusunda hâlâ sorular vardır.

Çeşitli çalışmalar, plazma TMAO konsantrasyonlarının kardiyovasküler hastalıklarla (KVH) ilişkili olduğunu göstermektedir. Örneğin, kesitsel bir çalışmada, koroner kalp hastalığı (KKH) olan hastalarda plazma TMAO seviyelerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu, tip 2 diyabet geliştirenlerde ise daha da yüksek olduğu tespit edilmiştir (311). Tip 2 diyabet, KVH riskini daha da artıran bir durumdur. Ayrıca, ilk iskemik inme geçirmiş 593 hastayı içeren prospektif bir çalışmada (312) araştırmacılar yüksek TMAO seviyelerinin sonraki KVH sorunlarıyla daha yüksek riskle ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Yükselmiş plazma TMAO seviyeleri, kalp hastalığı riskini artıran çeşitli metabolik durumlarla ilişkilendirilmiştir. Bu durumlar şunları içerir:

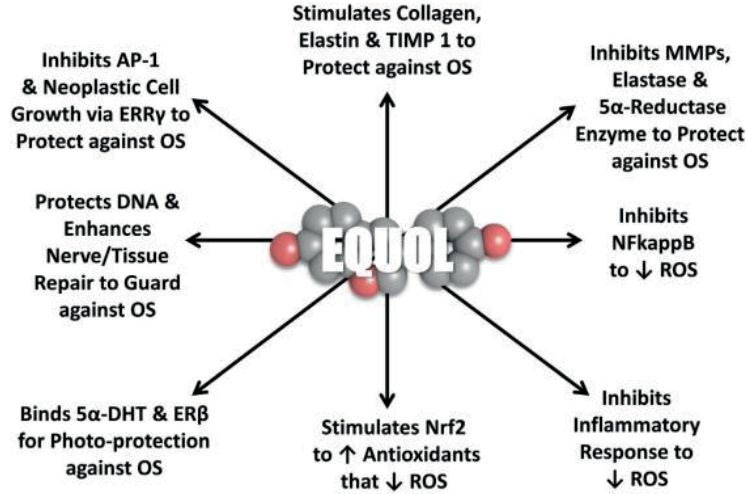
1. Endotel disfonksiyonu, HUVEC hücrelerinde incelenmiştir (313).
2. Köpük hücre oluşumu (126)
3. Damar hücrelerinde iltihaplanma (314)
4. Akut kalp yetmezliği (315).
5. Ateroskleroz (316)
6. İnfarktüs geçiren koroner arterler (317)

Bu metabolik bozukluklar, TMAO'nun kardiyovasküler sağlık üzerindeki olumsuz etkilerine katkıda bulunabilir.



S-equol, tüm soya izoflavonları arasında en yüksek antioksidan özelliklere, en yüksek biyoyararlanıma ve en yavaş temizlenme hızına sahiptir. S-equol'ün antioksidan özellikleri, in vitro çalışmalarda C ve E vitaminlerinden daha güçlüdür (318, 319).

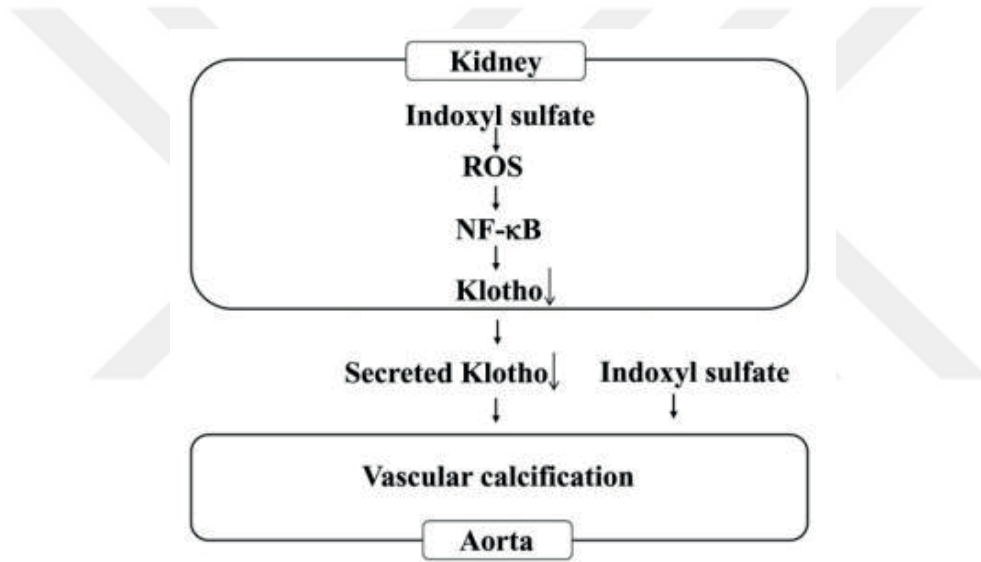
Diğer doku bölgelerinde, equol'ün sığır aort endotel hücrelerinde önemli antioksidan etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır; equol, peroksit kaynaklı hücre ölümüne karşı koruma sağlamıştır (319). Ayrıca, equol, domuz akciğer arterlerinde ve insan pulmoner arter endotel hücrelerinde oksidatif strese bağlı apoptoz ve vasküler hasara karşı koruma sağlamıştır (146, 320).



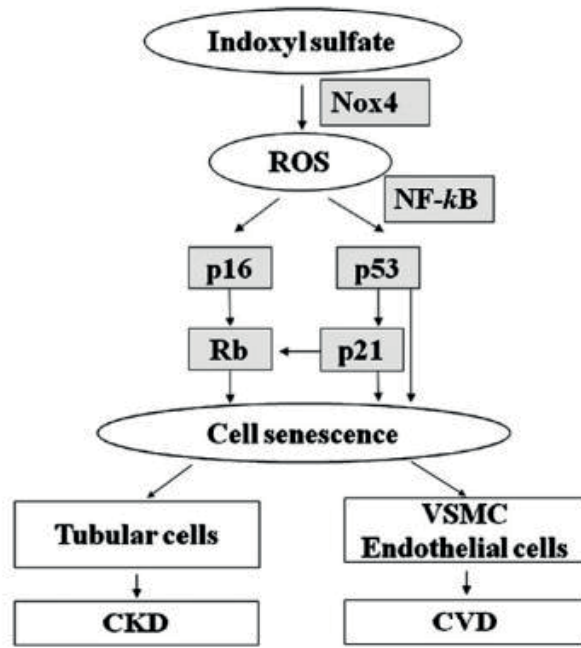
Equol, oksidatif stresi önemli ölçüde azaltmış ve sıçanları odak serebral iskemiyeye karşı korumuştur (321). Son yirmi yılda yapılan kapsamlı araştırmalar, sürekli oksidatif stresin kronik inflamasyona yol açma mekanizmasını ortaya koymuştur; bu da, kanser ve cilt hasarı da dahil olmak üzere çoğu kronik hastalığı aracılık eder (322-327). Equol un İnsan Cildindeki Olumlu Etkileri: Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) İnhibisyonu ve/veya Azaltılması ve Oksidatif Strese (OS) Karşı Koruması.

İndoksil sülfat, diyet proteininden türetilir. Protein kaynaklı triptofanın bir kısmı, bağırsak bakterileri olan *Escherichia coli* gibi bakterilerde triptofanaz tarafından indol haline metabolize edilir. İndol, bağırsaktan kana emilir ve karaciğerde indoksil sülfata metabolize edilir. Normalde indoksil sülfat idrarla atılır. Ancak CKD'de indoksil sülfatın böbreklerden temizlenmesinin azalması, serum seviyelerinin yükselmesine neden olur. Serumda indoksil sülfatın %90'dan fazlası serum albüminine bağlanmıştır. Protein bağlama yeteneği nedeniyle, hemodiyalizle atılması verimli değildir (328, 329). İndoksil sülfatın CKD sıçanlarına verilmesi, transforming growth factor beta 1 gibi profibrotik sitokinlerin gen ifadesindeki artışla birlikte CKD'nin ilerlemesini teşvik etmiştir. Ayrıca, indoksil sülfat, reaktif oksijen türlerini indükleyerek damar düz kas hücrelerini, damar endotel hücrelerini ve kalp

miyositlerini bozmaktadır.(330,331). İndoksil sülfat, hipertansif sıçanlarda osteoblast spesifik proteinlerin ifadesi ile birlikte aort kalsifikasyonunu ve aort duvarında kalınlaşmayı teşvik etmektedir. Bu nedenle, indoksil sülfat bir nefrovasküler toksindir (332). Klotho, bir anti-aging genidir ve fare Klotho genindeki mutasyonlar, erken yaşlanma sendromuna yol açar (333). Salınan Klotho proteini, hücreleri ve dokuları oksidatif strese korur. Klotho proteini, esasen böbreklerde ifade edilir. Klotho ifadesi, yalnızca hipertansif sıçanlar, 5/6 nefrektomize edilmiş sıçanlar ve diyabetik sıçanlar gibi sıçan modellerinin böbreklerinde değil, aynı zamanda CKD'li hastalarda da azalır (334,335). İndoksil sülfat, Klotho ifadesini azaltabilir ve hipertansif sıçanların böbreklerinde hücre yaşlanmasına katkıda bulunabilir (336).



İndoksil sülfatın, vasküler kalsifikasyonla ilişkili olarak böbrekte Klotho ifadesi üzerindeki etkisi. İndoksil sülfat, reaktif oksijen türü (ROS) üretimi ve nükleer faktör kappa B aktivasyonu yoluyla böbrekte Klotho ifadesini aşağı düzenler ve böbrekten salınan Klotho miktarını azaltabilir. Bu nedenle, indoksil sülfatın salınan Klotho'nun kan seviyesini azaltması, vasküler kalsifikasyonu kötüleştirir.



İndoksil sülfatın, kronik böbrek hastalığı ve kardiyovasküler hastalığın ilerlemesindeki hücre yaşlanmasını indükleyen olası moleküler mekanizması. İndoksil sülfat, tübüler hücrelerde, damar düz kas hücrelerinde ve damar endotel hücrelerinde hücre yaşlanmasını indükleyerek sadece kronik böbrek hastalığının değil, aynı zamanda kardiyovasküler hastalığın da ilerlemesini hızlandırır.

Çalışmamızda Karnozin ve DMAH uygulanan deneklerde S-Equol ve İndoxyl Sülfat seviyesi artmış olmasına rağmen, bu iki ilacın kombine bir şekilde uygulandığı deneklerde nedeni bilinmeyen şekilde bir azalma mevcut. Bu artış ve azalışların iskemi tedavisinde, Karnozin ve DMAH ın, uygulama alanı bulduğunda önemli bir biyobelirteç olarak, tedavinin etkinliğini ortaya koymada rolü olacağını düşünmekteyiz. Öte yandan TMAO nun Karnozin ve DMAH grubunda artmasının, tedavinin takibinde önemli rol olacağını düşünmekteyiz.

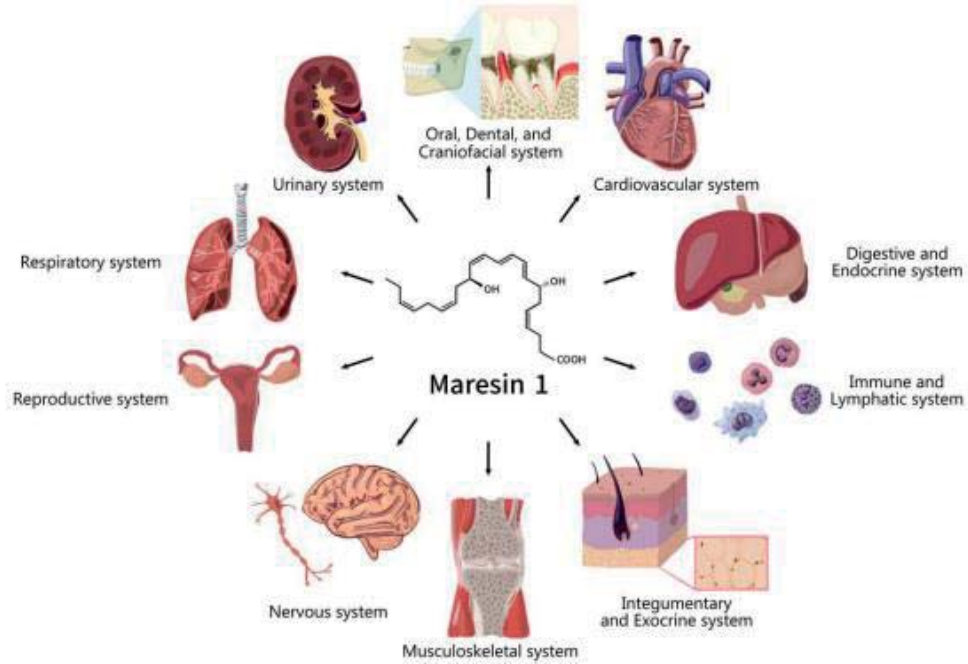
Çalışmamızda inflamasyon belirteçlerinden Maresin ve Relaxin i ele alacak olursak; Maresinler, omega-3 yağ asidi türevlerinin üyeleri olup hem anti-inflamatuvar hem de çözülme yeteneklerine sahip lipid mediatörleridir. Bu gruba maresin 1 maresin 2 ve doku rejenerasyonunda maresin konjugatı dahildir (166, 337). Maresin 1 (MaR1), anti-enflamatuvar ve çözülme destekleyen bir lipid mediyatörü olarak, ilk kez bir fare modelinde kendi kendini sınırlayan peritonit eksüdasında tanımlanmıştır. Bu keşif, MaR1'in inflamasyonun çözülmesini teşvik etmedeki rolünü göstermiştir.

Tanımlanmasının ardından, bilim insanları MaR1'in tam organik sentezini başarılı bir şekilde gerçekleştirmiş ve daha fazla çalışma ve uygulamalar için imkan sağlamıştır. Ayrıca, MaR1'in çeşitli insan doku sınırlarında bulunduğu ve insan makrofajlarının MaR1 üretebildiği tespit edilmiştir, bu da onun insan biyolojisindeki önemini ve potansiyel terapötik kullanımını ortaya koymaktadır.

MaR1 (Maresin 1), zymosan ile tetiklenen akut peritonitte polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonunu azaltabilir, makrofajların apoptotik PMNL'leri fagosite etmesini ve efferositoz sürecini destekleyebilir ve ağrıyı engelleyebilir (165, 337). MaR1, insan fagositlerini, iltihabın çözülme öncesi fazını aktive etmek için lösin açısından zengin tekrar içeren G proteinine bağlı reseptör 6 (LGR6) yoluyla düzenler. Ayrıca, MaR2 ve doku rejenerasyonunda maresin konjugatları (MCTR) da biyolojik olarak aktif bulunmuştur. MaR2 ve MCTR üzerine yapılan çalışmalar daha az olsa da, bu moleküllerin kendilerine özgü bir rolü ve henüz keşfedilmemiş potansiyelleri olduğu düşünülmektedir (169,338).

Vücut patojenlere, travmaya veya doku hasarına yanıt verdiğinde, iltihaplanma tepkileri pro-enflamatuar mediatörler tarafından yönlendirilir ve bu akut enflamatuar yanıt koruyucudur. Ancak bu süreç kontrol edilmezse, kronik inflammatuar hastalıklar gelişebilir. İdeal bir durumda, uyarıcı ortadan kalkar ve doku yavaş yavaş homeostaza geri döner. İltihabın çözülmesinin pasif bir süreç olduğu düşünülüyordu, ancak artık bunun aktif bir süreç olduğu ve pro-enflamatuar mediatörlerden pro-çözücü mediatörlere (örneğin maresin) geçişi içeren bir lipid mediatör sınıf değişimi olduğu keşfedildi.

Bu nedenle, maresinlerin kronik inflammatuar hastalıkları hafifletmek için büyük bir terapötik potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, maresin bir makrofaj tarafından üretildiğinden, doku iyileşmesi ve rejenerasyonundaki ana aktör olarak, MaR1'in farklı organlar ve sistemlerde doku rejenerasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir. İnflamasyonu ve ağrıyı baskılamak için kortikosteroidler ve NSAID'ler gibi birçok ilaç mevcut olsa da, bu ilaçların uzun vadede vücuda zararlı olabilecek yan etkileri bulunmaktadır (339, 340).



İnsan organ sistemlerine Maresin in etkileri

Çalışmamızda, en çok DMAH ve de Karnozin verilen gruplarımızda Maresin -1 in artışı görmekteyiz. İskeminin iyileşmesinde Maresin -1 artışının bir biyobelirteç olduğunu düşünüyoruz. Çünkü inflamasyonu baskılamak amacıyla kompansutuar mekanizma ile arttığını düşünmekteyiz.

Relaxin, bir peptit hormonu, üreme fizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Son birkaç on yılda, relaxinin farklı organlar üzerindeki geniş koruyucu etkileri, oksidatif stres, iltihaplanma, diyabet, anaflaksi ve yaralanma sonrası organ fibrozisi gibi çeşitli patolojik durumlarda belgelenmiştir (341,342). Relaxin'in kan damarları endotelial hücreleri üzerindeki etkileri, nitrojen oksit (NO) üretiminin artırılması, anti-inflamatuar etkiler ve anti-trombosit aktivitesini içerir (343). Relaxin'e atfedilen en eski fonksiyonlar, büyük ölçüde hamilelikle ilgiliydi; çünkü kanıtlar, relaxin'in pubik ligaman, rahim ve vajina'da ekstraselüler matrisi (ECM) yeniden şekillendirdiğini göstermekteydi (344-347). Ayrıca, hamilelikte vazodilatasyon ve artan kalp debisinden sorumlu olduğu da gösterilmiştir (348, 349). 2002 yılında, Hsu ve arkadaşları tarafından belirli relaxin reseptörleri bulunmuştur: relaxin ailesi peptit reseptörü 1 (RXFP1) ve RXFP2. RXFP1 sinyalizasyonu, incelenen hücre tipine bağlı olarak birden fazla yolu içeren karmaşık bir yapıdadır; ancak en az iki ana yolun yaygın olduğu görülmektedir: siklik AMP (cAMP) ve nitrojen oksit yolları (215, 350). Son

yıllarda, relaxin'in RXFP1 sinyalizasyonunun yanı sıra, hemodinamik ve anti-inflamatuar etkiler de gösterdiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Relaxin, endotelin-1 antagonist olarak ve glukokortikoid reseptörü (GR) üzerinde agonist olarak işlev görmektedir (351,352). Yukarda bahsedildiği gibi Relaxin birçok hastalığın patogenezinde, özellikle inflamasyon da rol almaktadır. Çalışmamızdaki iskemi modelinde ise, ortaya çıkan kan sonuçlarında; ilaç verilen tüm gruplarda ve kontrol grubunda nedeni bilinmeyen bir şekilde istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır.

Ratlarda random paternli flep yaşayabilirliği ile ilgili çalışmalara bakıldığında, Stewart ve arkadaşları hiperbarik oksijen (HBO), süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT) ve allopürinol ün random paternli cilt fleplerinin yaşayabilirliğine etkisine baktıklarında antioksidanlar ile HBO'nun birlikte uygulanması flep yaşama oranını artırırken, yalnızca HBO veya yalnızca antioksidan tedavisi bu etkiyi yaratmadığını ve biyokimyasal parametrelerden Malondialdehid (MDA) seviyesinin SOD ve CAT verilen gruplarda azaldığını gözlemlemişlerdir (353).

Zaccaria ve ark. (266), ratlarda tasarlanan epigastrik ada flebinde vitaminin C nin etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada kontrol ve vitaminin C nin verildiği iki grup oluşturulmuştur. Çalışmanın sonunda kontrol grubunda flep yaşayabilirliği ortalaması %7.5, vitamin C verilen grupta ise %25.8 izlenmiş olup, Vitamin C nin flep yaşayabilirliğini arttırdığı sonucuna varmışlardır (266).

Manson ve ark. (354), sıçan epigastrik ada flebi tasarlamışlardır. Bu çalışmada ada flebi 7 saatlik venöz oklüzyon sonrası reperfüze edilmiştir. Reperfüzyon anında kontrol grubu dışındaki deneklere şelatör ajanlar ve katalaz verilmiştir. Tüm deney gruplarında flep yaşayabilirliği 7 gün boyunca gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda Deforaksamin, EDTA, Histidin, yüksek doz Salisilat verilen grup ve Katalaz verilen grupta reperfüzyon hasarına karşı ilaçların önemli koruma sağlandığı ve flep yaşayabilirliği üzerine faydalı etki sağlandığı izlenmiştir (354).

Ashoori ve ark. (355) Deri flep nekrozunda lipid peroksidasyonunun patogenezinin değerlendirmek ve lipid peroksidasyonunu baskılamak ve flepleri kurtarmak için yeni bir bitkisel antioksidan seçmek amacıyla in vitro ve in vivo deneyler ile çalışmalar yapmışlardır. Random paternli flepler ve ada fleplerindeki kutanöz mikrozomal sistemin, oksidatif bir uyarıcı olan FeCl ile oksiradikalleri oluşturma potansiyeline sahip olup, lipid peroksidasyonu için hedef oluşturduğunu in vitro olarak göstermişlerdir. İn vivo çalışmalar ise sıçan sırt derisi rastgele flepleri ve dairesel ada flepleri kullanılarak gerçekleştirildi. Deneysel çalışmada ellagik asit,

kurkumin, klorojenik asit ve tokoferol sırasıyla kullanıldı. Sonuçlar şu şekildeydi her iki flep tipinde de lipid peroksit seviyeleri ile nekroz oranı arasında doğrudan ve zamana bağlı olduğu ve ellagik asitin deri lipid peroksit düzeylerini baskılamada ve rastgele fleplerin yaşayabilirliğini ada fleplerinden daha fazla artırmada en güçlü etkiyi gösterdiği izlenmiştir (355).

Angel ve ark. (356), serbest radikallerin hematoma kaynaklı flep nekrozunun patogeneğinde önemli bir rol oynadıkları göstermek istemişlerdir. Bu amaçla kontrol grubu ve deforaksamin verilen grup ile 5 gün boyunca flep yaşayabilirliği gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda Deforaksamin serbest radikal türlerini nötralize ederek ve demiri şelatlayarak flep yaşama oranını önemli ölçüde artırdığı izlenmiştir (356).

Literatürde düşük moleküler ağırlıklı heparin ile, ratlarda random paternli flep yaşayabilirliği üzerine etisi araştırılmış olup, Karnozin ile birlikte verildiği araştırmalar literatürde rastlanmamıştır. Yaşayan Flep alanları ve Yaşayan flep alanların, total flep alanlarına bölündüğü değerler de, en yüksek oran kombin ilaç verilen grupta, ikincil en yüksek değer Karnozin verilen ve daha sonrasında ise DMAH verilen grupta izlenmiştir.

Başta Karnozin olmak üzere, DMAH ile de elde edilen bu sonuçlara göre hastanede kalış süresi, maliyetler ve morbiditeye neden olan iskemi – reperfüzyon hasarı ve sonucundaki flep nekrozlarından koruyucu etkileri görülmekle birlikte yapılacak daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Zhang X, Yang, X, Chen, Y, Wang, G, Ding, P, Zhao, Z. Clinical study on orthopaedic treatment of chronic osteomyelitis with soft tissue defect in adults. *Int. Wound J.* 2021.
2. Fischer JP, Sieber B, Nelson JA, Cleveland E, Kovach SJ, Wu, LC. Comprehensive outcome and cost analysis of free tissue transfer for breast reconstruction: an experience with 1303 flaps. *Plast. Reconstr. Surg.* 2013; 131:195–203.
3. Saint-Cyr M, Wong C, Schaverien M, Mojallal A, Rohrich RJ. the perforasome theory: vascular anatomy and clinical implications. *Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 124, 1529–1544.
4. Memarzadeh K, Sheikh R, Blohmé J, Torbrand C, Malmjö M. Perfusion and Oxygenation of Random Advancement Skin Flaps Depend More on the Length and Thickness of the Flap Than on the Width to Length Ratio. *Eplasty* 2016;16: 12-16.
5. Lucas JB. The Physiology and Biomechanics of Skin Flaps. *Facial Plast. Surg. Clin. North. Am.* 2017; 25, 303–311.
6. Menger MD, Laschke MW, Amon M, Schramm R, Thorlacius H, Rücker M. Experimental models to study microcirculatory dysfunction in muscle ischemia? reperfusion and osteomyocutaneous flap transfer. *Langenbeck's Arch. Surg.* 2003; 388: 281–290.
7. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004; 24:468–475.
8. Zhang F, Hu EC, Topp S, Lei M, Chen W, Lineaweaver WC. Proinflammatory cytokines gene expression in skin flaps with arterial and venous ischemia in Rats. *J. Reconstr. Microsurg* 2006; 22:641–647.

9. van den Heuvel MG, Buurman WA, Bast A, van der Hulst RR. Review: Ischaemia-Reperfusion Injury in Flap Surgery. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2009; 62: 721–726.
10. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of Neutrophils in Ischemia-Reperfusion-Induced Microvascular Injury. *Am. J. Physiol.* 1987; 253: 699–703.
11. Suzuki, S, Yoshioka, N, Isshiki, N, Hamanaka, H, and Miyachi, Y. Involvement of Reactive Oxygen Species in post-ischaemic Flap Necrosis and its Prevention by Antioxidants. *Br. J. Plast. Surg.* 1991; 44:130–134.
12. Sies H. Oxidative Stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015;4:180–183.
13. Neri M, Fineschi V, Di Paolo M, Pomara C, Riezzo I, Turillazzi E. Cardiac Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines Response after Myocardial Infarction. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2015; 13: 26–36.
14. Biffo S, DeLucia R, Mulatero B, Margolis F, Fasolo A. Carnosine-, calcitonin gene-related peptide- and tyrosine hydroxylase-immunoreactivity in the mouse olfactory bulb following peripheral denervation. *Brain Res* 1990; 528:353–357.
15. Boldyrev A, Song R, Lawrence D, Carpenter DO. Carnosine protects against excitotoxic cell death independently of effects on reactive oxygen species. *Neuroscience* 1999; 94:571–577.
16. Kohen R, Yamamoto Y, Cundy K, Ames BN. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine and anserine present in muscle and brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:3175–3179.
17. Rajanikant GK, Zemke D, Senut MC, Frenkel MB, Chen AF, Gupta R, Majid A. Carnosine is neuroprotective against permanent focal cerebral ischemia in mice. *Stroke* 2007; 38:3023–3031.

18. Boldyrev A, Abe H. Metabolic transformation of neuropeptide carnosine modifies its biological activity. *Cell Mol Neurobiol* 1999; 19:163–175
19. Nader HB, Walenga JM, Berkowitz SD. Preclinical differentiation of low molecular weight heparins. *Semin Thromb Hemost* 1999;25:63–72
20. Planès A, Vochelle N, Fafola M. Venous thromboembolic prophylaxis in orthopedic surgery: knee surgery. *Semin Thromb Hemost* 1999;25:73–82.
21. Fareed J, Hoppensteadt DA, Bick RL. An update on heparins at the beginning of the new millennium. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(1):5–21.
22. Cziraky MJ, Spinler SA. Low molecular weight heparins for the treatment of deep vein thrombosis. *Clin Pharm* 1993;12:892–899.
23. Mammen EF, Arcelis J, Messmore H. Clinical differentiation of low molecular weight heparins. *Semin Thromb Hemost* 1999;25(3):135–144.
24. Friedel HA, Balfour JA. Tinzaparin: a review of its pharmacology and clinical potential in the prevention and treatment of thromboembolic disorders. *Drugs* 1994;48:638–660.
25. Martineau P, Tawil N. Low molecular weight heparins in the treatment of deep vein thrombosis. *Ann Pharmacother* 1998;32:588–601.
26. Whetzel TP, Mathes SJ: Arterial anatomy of the face: An analysis of vascular territories and perforating cutaneous vessels. *Plast Reconstr* 1992; 89:591-603.
27. Honrado CP, Murakami CS. Wound healing and the physiology of skin flaps. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2005;13:203–214.
28. Hom DB, Goding GS. Skin flap physiology. In: Baker SR, editor. *Local flaps in facial reconstruction*. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2007:15–30.
29. Granger HJ, Goodman AH, Granger N. Role of resistance and exchange vessels in local microvascular control of skeletal muscle oxygenation in the dog. *Circ Res* 1976; 38:379-385.

30. Wideman MP, Tuma RF, Mayorvitz HN: Defining the precapillary sphincter. *Microvasc Res* 1976;12:71-75.
31. Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin Proc* 2003;78(5):603–612.
32. Cormack GC, Lamberty BGH: *The Arterial Anatomy of Skin Flaps*. New York, Churchill Livingstone, 1986:21.
33. Connor CD, Fosko SW Anatomy and physiology of local skin flaps. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America* 1996; 4:447-454.
34. Milton SH. The effects of “delay” on the survival of experimental pedicled skin flaps. *Br J Plast Surg.* 1969;22:244–252.
35. Cormack GC, Lamberty BG. Fasciocutaneous vessels. Their distribution on the trunk and limbs, and their clinical application in tissue transfer. *Anat Clin.* 1984;6(2):121-131.
36. Cormack GC, Lamberty BG. A classification of fascia-cutaneous flaps according to their patterns of vascularisation. *Br J Plast Surg.* 1984;37(1):80-87.
37. Mathes SJ, Nahai F. Classification of the vascular anatomy of muscles: experimental and clinical correlation. *Plast Reconstr Surg.* 1981;67(2):177-187.
38. Cho EH, Shamma RL, Carney MJ. Muscle versus fasciocutaneous free flaps in lower extremity traumatic reconstruction: a multicenter outcomes analysis. *Plast Reconstr Surg.* 2018;141(1):191-199.
39. Filatov V. Plastic procedure using a round pedicle. McDowell F, trans. *Vestnik Oftalmol.* 1917;34:149-158.
40. Gillies H. The tubed pedicle in plastic surgery. *N Y Med J.* 1920; 111: 1-5.
41. Taylor GI, Daniel RK. The free flap: composite tissue transfer by vascular anastomosis. *Aust NZ J Surg.* 1973;43(1):1-3.

42. Morris SF, Tang M, Almutari K, Geddes C, Yang D. The anatomic basis of perforator flaps. *Clin Plast Surg*. 2010;37(4):553-570.
43. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG. An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical applications. *Plast Reconstr Surg*. 1992;89(3):408-416.
44. Weinzwieg N, Gonzalez M. Free tissue failure is not an all-or-none phenomenon. *Plast Reconstr Surg*. 1995;96:648–660.
45. Sailon AM, Schachar JS, Levine JP. Free transverse rectus abdominis myocutaneous and deep inferior epigastric perforator flaps for breast reconstruction: a systematic review of flap complication rates and donor-site morbidity. *Ann Plast Surg*. 2009;62:560–563.
46. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: McCarthy JG, ed. *Plastic Surgery*. Philadelphia: WB Saunders, 1990.
47. Rubanyi GM. Endothelium-derived vasoactive factors in health and disease. Cardiovascular significance of endothelium-derived vasoactive factors. New York: Future; 19:11-15.
48. Korthius RJ, Granger DN. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. In: Taylor AE, Matalon S, Ward PA, eds. *Physiology of Oxygen Radicals*. Bethesda, MD: American Physiological Society; 1986:217-222.
49. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol*. 1988;255:1269–1275.
50. Grisham MB. Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolite. In: Taylor AE, Matalon S, Ward PA, eds. *Physiology of Oxygen Radicals*. Bethesda, MD: American Physiological Society; 1986:1-5.
51. Im MJ, Hoopes JE, Yoshimura Y. Xanthine: acceptor oxidoreductase activities in ischemic rat skin flaps. *J Surg Res*. 1989;46:230–234.

52. Im MJ, Shen WH, Pak CJ. Effect of allopurinol on the survival of hyperemic island skin flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1984;73:276–278.
53. Smith JK, Carden DL, Korthuis RJ. Role of xanthine oxidase in postischemic microvascular injury in skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1989;257:1782–1789.
54. Thomas EL, Grisham MB, Jefferson MM. Myeloperoxidase dependent effect of amines on functions of isolated neutrophils. *J Clin Invest*. 1983;72:441–454.
55. Grisham MB, Jefferson MM, Melton DF. Chlorination of endogenous amines by isolated neutrophils. Ammonia-dependent bactericidal, cytotoxic, and cytolytic activities of the chloramines. *J Biol Chem*. 1984;259:10404–10413.
56. Grisham MB, Jefferson MM, Thomas EL. Role of monochloramine in the oxidation of erythrocyte hemoglobin by stimulated neutrophils. *J Biol Chem*. 1984;259:6757–6765.
57. Vedder NB, Winn RK, Rice CL. Inhibition of leukocyte adherence by anti-CD18 monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in the rabbit ear. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87:2643–2646.
58. Tosa Y, Lee WP, Kollias N. Monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects skin flaps against ischemia-reperfusion injury: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg*. 1998;101:1586–1594.
59. Zamboni WA, Stephenson LL, Roth AC. Ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle: CD 18-dependent neutrophil-endothelial adhesion and arteriolar vasoconstriction. *Plast Reconstr Surg*. 1997;99:2002–2007.
60. Dennis SC, Gevers W, Opie LH. Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *J Mol Cell Cardiol*. 1991;23:1077–1086.
61. Frelin C, Vigne P, Lazdunski M. The role of the Na^+/H^+ exchange system in cardiac cells in relation to the control of the internal Na^+ concentration. A molecular basis for the antagonistic effect of ouabain and amiloride on the heart. *J Biol Chem*. 1984;259:8880–8885.

62. Lazdunski M, Frelin C, Vigne P. The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. *J Mol Cell Cardiol.* 1985;17:1029–1042.
63. Yao A, Su Z, Nonaka A. Effects of overexpression of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger on [Ca²⁺]_i transients in murine ventricular myocytes. *Circ Res.* 1998;82:657–665.
64. Miyamae M, Camacho SA, Weiner MW. Attenuation of postischemic reperfusion injury is related to prevention of [Ca²⁺]_m overload in rat hearts. *Am J Physiol.* 1996;271: 2145–2153.
65. May JW, Chait LA, O'Brien BM. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1978;61:256–267.
66. Allen DM, Chen LE, Seaber AV. Pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin Orthop Relat Res.* 1995;314:122–133.
67. Ono I, Ohura T, Murazumi M. A study on the effectiveness of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) in increasing the survival length of skin flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1990;86:1164–1173.
68. Vedder NB, Bucky LP, Richey NL. Improved survival rates of random flaps in rabbits with a monoclonal antibody that blocks leukocyte adherence. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93:1035–1040.
69. Nakatsuka T, Pang CY, Neligan P. Effect of glucocorticoid treatment on skin capillary blood flow and viability in cutaneous and myocutaneous flaps in the pig. *Plast Reconstr Surg.* 1985;76:374–385.
70. Pang CY, Neligan PC, Nakatsuka T. Pharmacologic manipulation of the microcirculation in cutaneous and myocutaneous flaps in pigs. *Clin Plast Surg.* 1985;12:173–184.

71. Forrest CR, Pang CY, Zhong AG. Efficacy of intravenous infusion of prostacyclin (PGI₂) or prostaglandin E₁ (PGE₁) in augmentation of skin flap blood flow and viability in the pig. *Prostaglandins*. 1991;41:537–558.
72. Zhong A, Pang CY, Sheffield WD. Augmentation of acute random pattern skin flap viability in the pig. *J Surg Res*. 1992;52:177–183.
73. Greenberg BM, Masem M, May JW. Therapeutic value of intravenous heparin in microvascular surgery: an experimental vascular thrombosis study. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82:463–472.
74. Kroll SS, Miller MJ, Reece GP. Anticoagulants and hematomas in free flap surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1995;96:643–647.
75. Chen CM, Ashjian P, Disa JJ. Is the use of intraoperative heparin safe? *Plast Reconstr Surg*. 2008;121:49–53.
76. Jackson MR, Clagett GP. Antithrombotic therapy in peripheral arterial occlusive disease. *Chest*. 1998;114(1):666–682.
77. Moncada S, Korb R. Dipyridamole and other phosphodiesterase inhibitors act as antithrombotic agents by potentiating endogenous prostacyclin. *Lancet*. 1978;1:1286–1289.
78. Peter FW, Franken RJ, Wang WZ. Effect of low dose aspirin on thrombus formation at arterial and venous microanastomoses and on the tissue microcirculation. *Plast Reconstr Surg*. 1997;99:1112–1121.
79. Weksler BB, Pett SB, Alonso D. Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis in atherosclerotic patients. *N Engl J Med*. 1983;308:800–805.
80. Bochner F, Lloyd J. Is there an optimal dose and formulation of aspirin to prevent arterial thrombo-embolism in man? *Clin Sci*. 1986;71:625–631.

81. Chien W, Varvares MA, Hadlock T. Effects of aspirin and low-dose heparin in head and neck reconstruction using microvascular free flaps. *Laryngoscope*. 2005;115:973–976.
82. Atik M. Dextran 40 and dextran 70. A review. *Arch Surg*. 1967;94:664–672
83. Nearman HS, Herman ML. Toxic effects of colloids in the intensive care unit. *Crit Care Clin*. 1991;7:713–723.
84. Panchapakesan V, Addison P, Beausang E. Role of thrombolysis in free-flap salvage. *J Reconstr Microsurg*. 2003;19:523–530.
85. Bevan JA. Antianginal and Vasodilator Drugs. In: Bevan JA, (ed). *Essentials of Pharmacology*. Hagerstown, MD: Harper & Row; 1976:276.
86. Benowitz NL. Antihypertensive Agents. In: Katzung BG, ed. *Basic and Clinical Pharmacology*. New York: McGraw-Hill, 2004:159.
87. McFarlane Rm, Deyoung G, Henry Ra. The Design of a Pedicle Flap in The Rat to Study Necrosis and Its Prevention. *Plast Reconstr Surg* 1965; 35: 177-182.
88. Bayramicli M. Deneysel Mikrocerrahi Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri(1. Baskı). İstanbul: Argos, May 1995:451-455.
89. Bauer K, Schultz M. Biosynthesis of carnosine and related peptides by skeletal muscle cells in primary culture, *Eur. J. Biochem*. 1994; 219:43-44.
90. Neurhro KJ, Mantsch HH. Complex formation of carnosine with purine nucleotides in aqueous solution, *Z. Naturforsch*. 1979; 35: 557-561.
91. Quinn PJ, Boldyrev AA, Formazuyk VE. Carnosine: its properties, functions and potential therapeutic applications, *Mol. Aspects Med*. 1992;13: 379-444.
92. Hipkiss AR, Michaelis J, Syrris P, Non-enzymic glycosylation of the dipeptide L-carnosine, a potential antiprotein-cross-linking agent, *FEBS Lett*. 1995; 371:81-85.

93. Hipkiss AR, Preston JE, Himsworth DTM, Abbot VC, Abbot NJ. Protective effects of carnosine against malondialdehyde-induced toxicity towards cultured rat brain endothelial cells, *Neurosci. Lett.* 1997;238: 135-138.
94. Hipkiss AR, Worthington VC, Himsworth DTJ, Herwig W. Protective effects of carnosine against protein modification mediated by malondialdehyde and hypochlorite, *Biochim. Biophys. Acta* 1998; 1380:46-54.
95. Hipkiss AR, Preston JE, Himsworth DTM, Worthington VC, Keown M, Michaelis J, Lawrence JC, Mateen A, Allende L, Eagles PAM, Abbott J. Pluripotent protective effects of carnosine, a naturally occurring dipeptide, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998.
96. Boldyrev AA, Formazyuk VE, Sergienko VI. Biological significance of histidine containing dipeptides with special reference to carnosine: chemistry, distribution, metabolism and medical application, *Sov. Sci. Rev. D. Physicochem. Biol.* 1994; 13; 1-60.
97. Markesbury WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease, *Free Rad. Biol. Med.* 1997; 23: 134-147.
98. Munch G, Mayer S, Michaelis J, Hipkiss AR. Influence of advanced glycation end-products and AGE inhibitors on nucleation-dependent polymerization of amyloid peptide, *Biochim. Biophys. Acta* 1997; 1360:17-29.
99. Roher AE, Lowensen JJ, Clarke S, Structural alterations in the peptide backbone of β -amyloid core protein may account for its deposition and stability in Alzheimer's disease, *J. Biol. Chem.* 1993;268:3072-3083.
100. Michaelis J, Hipkiss AR, Panagiotopoulos S. Method for the treatment of the complications and pathology of diabetes, Approved United States Patent 1996: 561.
101. Holliday R, McFarland GA. Inhibition of the growth of transformed and neoplastic cells by carnosine, *Br. J. Cancer Res.* 1996;966-971.

102. Knight GD, Mann PL, Laubscher KH, Scallen TJ. Seemingly diverse activities of b-alethine, Cancer Res. 1994; 54:5636-5642.
103. Majerus PW, Broze GJJ, Miletich JP, Anticoagulant, thrombolytic, and antiplatelet drugs. In Hardman JG, Gilman AG, Limbard LE (ed): Goodman & Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed 9. New York, McGraw Hill, 1996:1341- 1359.
104. Hirsh J, Raschke R, Warkentin TE. Heparin: Mechanism of action, pharmacokinetics, dosing, considerations, monitoring, efficacy, and safety. Chest 1995; 108:258-275.
105. Rosenberg RD, Bauer KA: The heparin-antithrombin system: A natural anticoagulant mechanism. In Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds): Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, ed 3. Philadelphia, Lippincott, 1994: 837-860.
106. Hirsh J, Levine MN. Low molecular weight heparin. Blood 1992; 79:1-17.
107. Rosenberg RD Biochemistry and pharmacology of low molecular weight heparin. Semin Hematol 1997; 34(14):2-8.
108. Weitz JI. Low-molecular-weight heparins. N Engl J Med 1997;337(21):1567
109. Kessler CM. Low molecular weight heparins: Practical considerations. Semin Hematol 1997; 34(4):3542.
110. Leizorovicz A, Simonneau G, Decousus H. Comparison of efficacy and safety of low molecular weight heparins and unfractionated heparin in initial treatment of deep venous thrombosis: A meta-analysis. BMJ 1994;309:299-304.
111. Lensing AWA, Prins MH, Davidson BL. Treatment of deep venous thrombosis with low-molecular-weight heparins. Arch Intern Med 1995;155: 601-607.

112. Lumpkin MM Reports of epidural or spinal hematomas with the concurrent use of low molecular weight heparin and spinal/epidural anesthesia or spinal puncture. FDA public health advisory, 1997.
113. Harenberg J, Wurzner B, Zimmerman R. Bioavailability and antagonization of the low molecular weight heparin CY216 in man. *Thromb Res* 1986; 44:549-554.
114. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995; 332:1330-1335.
115. Muir JM, Hirsh J, Weitz JI. A histomorphometric comparison of the effects of heparin and low-molecular-weight heparin on cancellous bone in rats. *Blood* 1997; 89:3236- 3242.
116. Fureder W, Kyrle PA, Gisslinger H. Low-molecular-weight heparin-induced skin necrosis. *Ann Hematol* 1998; 77:127-130.
117. Wong JS Spontaneous suprachoroidal haemorrhage in patient receiving low-molecular-weight heparin (fraxiparin) therapy. *Aust N Z J Surg* 1999; 27: 433-434.
118. Mendez J, Sanchis ME, de la Fuente R. Delayed-type hypersensitivity to subcutaneous enoxaparin. *Allergy* 1998; 53:999-1003.
119. Tietge UJ, Schmidt HH, Jackel E. Low molecular weight heparin-induced skin necrosis occurring distant from injection sites without thrombocytopenia. *Journal of Internal Medicine* 1998; 243:313-315.
120. Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol* Apr 2017;17(4):219–232
121. Thaiss CA, Elinav E. The remedy within: will the microbiome fulfill its therapeutic promise? *J Mol Med (Berl)* 2017;95(10):1021–1027.

122. Bennett BJ, de Aguiar Vallim TQ, Wang Z. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. *Cell Metab* 2013;17(1):49–60.
123. Li XS, Wang Z, Cajka T. Untargeted metabolomics identifies trimethyllysine, a TMAO-producing nutrient precursor, as a predictor of incident cardiovascular disease risk. *JCI Insight* 2018;3(6):1-11.
124. Missailidis C, Hallqvist J, Qureshi AR. Serum Trimethylamine-N-oxide is strongly related to renal function and predicts outcome in chronic kidney disease. *PLoS One* 2016;11(1):e0141738.
125. Vogt NM, Romano KA, Darst BF. The gut microbiota-derived metabolite trimethylamine N-oxide is elevated in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2018;10(1):124.
126. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472(7341): 57–63.
127. Koeth RA, Wang Z, Levison BS. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013; 19(5): 576–85.
128. Zhu W, Buffa JA, Wang Z. Flavin monooxygenase 3, the host hepatic enzyme in the metaorganismal trimethylamine N-oxide-generating pathway, modulates platelet responsiveness and thrombosis risk. *J Thromb Haemost* 2018;16(9): 1857–72.
129. Ding L, Chang M, Guo Y. Trimethylamine-N-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis is associated with bile acid metabolism. *Lipids Health Dis* 2018;17(1):286.
130. Gautam A, Paudel YN, Abidin S, Bhandari U. Guggulsterone, a farnesoid X receptor antagonist lowers plasma trimethylamine- N-oxide levels: an evidence from in vitro and in vivo studies. *Hum Exp Toxicol* 2018;960327118817862.

131. Wang Z, Roberts AB, Buffa JA. Non-lethal inhibition of gut microbial Trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell* 2015;163(7):1585–95.
132. Velasquez MT, Ramezani A, Manal A, Raj DS. Trimethylamine N-oxide: the good, the bad and the unknown. *Toxins (Basel)* 2016;8(11):1-9.
133. Sridharan GV, Choi K, Klemashevich C. Prediction and quantification of bioactive microbiota metabolites in the mouse gut. *Nat Commun* 2014;5:5492.
134. Devlin AS, Marcobal A, Dodd D. Modulation of a circulating uremic solute via rational genetic manipulation of the gut microbiota. *Cell Host Microbe* 2016;20(6): 709–715.
135. Rothhammer V, Quintana FJ. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2019;19(3):184–197.
136. Cervantes-Barragan L, Chai JN, Tianero MD. *Lactobacillus reuteri* induces gut intraepithelial CD4(+)CD8alphaalpha(+) T cells. *Science* 2017;357(6353): 806–10.
137. Zelante T, Iannitti RG, Cunha C. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin 22. *Immunity* 2013;39(2):372–385.
138. Duranton F, Cohen G, De Smet R. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012;23(7):1258–1270.
139. Nakano T, Katsuki S, Chen M. Uremic toxin Indoxyl Sulfate promotes Proinflammatory macrophage activation via the interplay of OATP2B1 and Dll4-notch Signaling. *Circulation* 2019;139(1):78–96.
140. Mayo B, Vazquez L, Florenz AB. Equol: a bacterial metabolite from the daidzein isoflavone and its presumed beneficial health effects. *Nutrients* 2019; 11:2231

141. Rafii F. The role of colonic bacteria in the metabolism of the natural isoflavone daidzin to equol. *Metabolites* 2015; 5:56–73.
142. Jackman KA, Woodman OL, Sobey CG. Isoflavones, equol and cardiovascular disease: pharmacological and therapeutic insights. *Curr Med Chem* 2007; 14:2824–2830.
143. Martin D, Song J, Mark C, Eyster K. Understanding the cardiovascular actions of soy isoflavones: potential novel targets for antihypertensive drug development. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2008; 8:297–312.
144. Dubey RK, Gillespie DG, Imthum B, Rosselli M, Jackson EK, Keller PJ. Phytoestrogens inhibit growth and MAP kinase activity in human aortic smooth muscle cells. *Hypertension* 1999; 33:177–182.
145. Kamiyama M, Kishimoto Y, Tani M, Utsunomiya K, Kondo K. Effects of equol on oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis in endothelial cells. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16:239–249.
146. Chung JE, Kim SY, Jo HH, Hwang SJ, Chae B, Kwon DJ, Lew YO, Lim YT, Kim JH, Kim EJ, Kim JH, Kim MR. Antioxidant effects of equol on bovine aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 375:420–424.
147. Joy S, Siow RC, Rowlands DJ, Becker M, Wyatt AW, Aaronson PI, Coen CW, Kallo I, Jacob R, Mann GE. The isoflavone Equol mediates rapid vascular relaxation: Ca^{2+} -independent activation of endothelial nitric-oxide synthase/Hsp90 involving ERK1/2 and Akt phosphorylation in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2006; 281:27335–27345.
148. Gimenez I, Lou M, Vargas F, Alvarez-Guerra M, Mayoral JA, Martinez RM, Garay RP, Alda JO. Renal and vascular actions of equol in the rat. *J Hypertens* 1997; 15:1303–1308.
149. Yu W, Wang Y, Song Z, Zhao LM, Li GR, Deng XL. Equol increases cerebral blood flow in rats via activation of large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in vascular smooth muscle cells. *Pharmacol Res* 2016; 107:186–194.

- 150.** Kim JY, Lee MY, Park HM. The effect of equol, a metabolite of isoflavone, on endothelial cell-independent vasodilatation of human uterine artery In Vitro. *J Bone Metab* 2015; 22:57–69.
- 151.** Pereira CA, Carneiro FS, Matsumoto T, Tostes RC. Bonus effects of antidiabetic drugs: possible beneficial effects on endothelial dysfunction, vascular inflammation and atherosclerosis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2018; 123:523–538.
- 152.** Matsumoto T, Takayanagi K, Kobayashi S, Kojima M, Taguchi K, Kobayashi T. Effect of equol on vasocontractions in rat carotid arteries treated with high insulin. *Biol Pharm Bull* 2019; 42:1048–1053.
- 153.** Zhang T, Hu Q, Shi L, Qin L, Zhang Q, Mi M. Equol attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by inhibiting endoplasmic reticulum stress via activation of Nrf2 in endothelial cells. *PLoS One* 2016; 11:e0167020.
- 154.** Sakane N, Kotani K, Tsuzaki K, Takahashi K, Usui T, Uchiyama S, Fujiwara S. Equol producers can have low leptin levels among prediabetic and diabetic females. *Ann Endocrinol (Paris)* 2014; 75:25–28.
- 155.** Ahuja V, Miura K, Vishnu A, Fujiyoshi A, Evans R, Zaid M, et al. Significant inverse association of equol-producer status with coronary artery calcification but not dietary isoflavones in healthy Japanese men. *Br J Nutr* 2017; 117:260–266.
- 156.** Dainichi T, Kitoh A, Otsuka A, Nakajima S, Nomura T, Kaplan DH, Kabashima K. The epithelial immune microenvironment (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis. *Nat. Immunol.* 2018;19:1286–1298.
- 157.** Reilkoff RA, Bucala R, Herzog EL. Fibrocytes: Emerging effector cells in chronic inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11:427–435.
- 158.** Hawkes JE, Chan TC, Krueger JG. Psoriasis pathogenesis and the development of novel targeted immune therapies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 140: 645–653.

- 159.** Ueharaguchi Y, Honda T, Kusuba N, Hanakawa S, Adachi A, Sawada Y, et al. Thromboxane A2 facilitates IL-17A production from V γ 4 + $\gamma\delta$ T cells and promotes psoriatic dermatitis in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 142: 680–683.
- 160.** Sawada Y, Honda T, Nakamizo S, Nakajima S, Nonomura Y, Otsuka A, et al. Prostaglandin E(2) (PGE(2))-EP2 signaling negatively regulates murine atopic dermatitis-like skin inflammation by suppressing thymic stromal lymphopoietin expression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 144:1265–1273.
- 161.** Sawada Y, Saito-Sasaki N, Nakamura M. Omega 3 Fatty Acid and Skin Diseases. *Front. Immunol.* 2020; 11:623052.
- 162.** Horrobin DF. Low prevalences of coronary heart disease (CHD), psoriasis, asthma and rheumatoid arthritis in Eskimos: Are they caused by high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a genetic variation of essential fatty acid (EFA) metabolism or a combination of both? *Med. Hypotheses* 1987; 22: 421–428.
- 163.** Serhan CN, Haeggström JZ, Leslie CC. Lipid mediator networks in cell signaling: Update and impact of cytokines. *FASEB J.* 1996; 10:1147–1158.
- 164.** Sawada Y, Honda T, Hanakawa S, Nakamizo S, Murata T, Ueharaguchi-Tanada Y, et al. Resolvin E1 inhibits dendritic cell migration in the skin and attenuates contact hypersensitivity responses. *J. Exp. Med.* 2015; 212:1921–1930.
- 165.** Dalli, J, Zhu, M, Vlasenko, NA, Deng B, Haeggström JZ, Petasis NA, Serhan, CN. The novel 13S,14S-epoxy-maresin is converted by human macrophages to maresin 1 (MaR1), inhibits leukotriene A4 hydrolase (LTA4H), and shifts macrophage phenotype. *FASEB J.* 2013; 27:2573–2583.
- 166.** Deng B, Wang CW, Arnardottir HH, Li Y, Cheng CY, Dalli J, Serhan CN. Maresin biosynthesis and identification of maresin 2, a new anti-inflammatory and pro-resolving mediator from human macrophages. *PLoS ONE* 2014; 9: 1023.

167. Abdulnour RE, Dalli J, Colby JK, Krishnamoorthy N, Timmons JY, Tan SH, et al. Maresin 1 biosynthesis during platelet-neutrophil interactions is organ-protective. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014; 111:16526–16531.
168. Chiurchiù V, Leuti A, Dalli J, Jacobsson A, Battistini L, Maccarrone M, Serhan CN. Proresolving lipid mediators resolvin D1, resolvin D2, and maresin 1 are critical in modulating T cell responses. *Sci. Transl. Med.* 2016; 8:353.
169. Chiang N, Libreros S, Norris PC, de la Rosa X, Serhan CN. Maresin 1 activates LGR6 receptor promoting phagocyte immunoresolvent functions. *J. Clin. Investig.* 2019; 129: 5294–5311.
170. Im DS. Maresin-1 resolution with ROR α and LGR6. *Prog. Lipid Res.* 2020; 78: 1010-1034.
171. Wang Y, Leppert A, Tan S, van der Gaag B, Li N, Schultzberg M, Hjorth E. Maresin 1 attenuates pro-inflammatory activation induced by β -amyloid and stimulates its uptake. *J. Cell. Mol. Med.* 2021;25:434–447.
172. Francos-Quijorna I, Santos-Nogueira E, Gronert K, Sullivan AB, Kopp MA, Brommer B, et al. Maresin 1 Promotes Inflammatory Resolution, Neuroprotection, and Functional Neurological Recovery after Spinal Cord Injury. *J. Neurosci.* 2017; 37:11731–11743.
173. Xian W, Li T, Li L, Hu L, Cao J. Maresin 1 attenuates the inflammatory response and mitochondrial damage in mice with cerebral ischemia/reperfusion in a SIRT1-dependent manner. *Brain Res.* 2019; 1711:83–90.
174. Yang T, Xu G, Newton PT, Chagin AS, Mkrtchian S, Carlström M, et al. Maresin 1 attenuates neuroinflammation in a mouse model of perioperative neurocognitive disorders. *Br. J. Anaesth.* 2019;122:350–360
175. Miyazawa K, Fukunaga H, Tatewaki Y, Takano Y, Yamamoto S, Mutoh T, Taki Y. Alzheimer's disease and specialized pro-resolving lipid mediators: Do MaR1, RvD1, and NPD1 show promise for prevention and treatment? *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21:5783.

176. Serhan CN, Dalli J, Karamnov S, Choi A, Park CK, Xu ZZ, et al. Macrophage proresolving mediator maresin 1 stimulates tissue regeneration and controls pain. *FASEB J.* 2012; 26:1755–1765.
177. Park CK. Maresin 1 Inhibits TRPV1 in Temporomandibular Joint-Related Trigeminal Nociceptive Neurons and TMJ Inflammation-Induced Synaptic Plasticity in the Trigeminal Nucleus. *Mediat. Inflamm.* 2015; 2015:275126.
178. Fattori V, Pinho-Ribeiro FA, Staurengo-Ferrari L, Borghi SM, Rossaneis AC, Casagrande R, Verri WA. The specialised pro-resolving lipid mediator maresin 1 reduces inflammatory pain with a long-lasting analgesic effect. *Br. J. Pharmacol.* 2019; 176:1728–1744.
179. Wang YH, Li Y, Wang JN, Zhao QX, Jin J, Wen S, et al. Maresin 1 Attenuates Radicular Pain Through the Inhibition of NLRP3 Inflammasome-Induced Pyroptosis via NF- κ B Signaling. *Front. Neurosci.* 2020;14:831.
180. Wang YH, Li Y, Wang JN, Zhao QX, Wen S, Wang SC, Sun T. A novel mechanism of specialized proresolving lipid mediators mitigating radicular Pain: The negative interaction with NLRP3 inflammasome. *Neurochem. Res.* 2020; 45:1860–1869.
181. Nordgren TM, Heires AJ, Wyatt TA, Poole JA, LeVan TD, Cerutis DR, Romberger DJ. Maresin-1 reduces the proinflammatory response of bronchial epithelial cells to organic dust. *Respir. Res.* 2013;14:51
182. Nordgren TM, Bauer CD, Heires AJ, Poole JA, Wyatt TA, West WW, Romberger DJ. Maresin-1 reduces airway inflammation associated with acute and repetitive exposures to organic dust. *Transl. Res.* 2015;166:57–69.
183. Gong J, Wu ZY, Qi H, Chen L, Li HB, Li B, et al. Maresin 1 mitigates LPS-induced acute lung injury in mice. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171:3539–3550.
184. Wang Y, Li R, Chen L, Tan W, Sun Z, Xia H, et al. Maresin 1 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition in vitro and attenuates bleomycin induced lung fibrosis in vivo. *Shock* 2015;44:496–502.

185. Sun Q, Wu Y, Zhao F, Wang J. Maresin 1 inhibits transforming growth factor- β 1-induced proliferation, migration and differentiation in human lung fibroblasts. *Mol. Med. Rep.* 2017; 16:1523–1529.
186. Sun Q, Wu Y, Zhao F, Wang J. Maresin 1 ameliorates lung ischemia/reperfusion injury by suppressing oxidative stress via activation of the Nrf-2-Mediated HO-1 signaling pathway. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2017; 2017:9634803.
187. Clària J, Nguyen BT, Madenci AL, Ozaki CK, Serhan CN. Diversity of lipid mediators in human adipose tissue depots. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013; 304: 1141–1149.
188. Hong S, Lu Y, Tian H, Alapure BV, Wang Q, Bunnell BA, Laborde JM. Maresin-like lipid mediators are produced by leukocytes and platelets and rescue reparative function of diabetes-impaired macrophages. *Chem. Biol.* 2014; 21: 1318–1329.
189. Rius B, Duran-Güell M, Flores-Costa R, López-Vicario C, Lopategi A, Alcaraz-Quiles J et al. The specialized proresolving lipid mediator maresin 1 protects hepatocytes from lipotoxic and hypoxia-induced endoplasmic reticulum stress. *FASEB J.* 2017; 31:5384–5398.
190. Li R, Wang Y, Zhao E, Wu K, Li W, Shi L, et al. Maresin 1, a Proresolving Lipid Mediator, Mitigates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Mice. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2016; 2016: 9203716.
191. Tang D, Fu G, Li W, Sun P, Loughran PA, Deng M, et al. Maresin 1 protects the liver against ischemia/reperfusion injury via the ALXR/Akt signaling pathway. *Mol. Med.* 2021; 27:18.
192. Giera M, Ioan-Facsinay A, Toes R, Gao F, Dalli J, Deelder AM, et al. Lipid and lipid mediator profiling of human synovial fluid in rheumatoid arthritis patients by means of LC-MS/MS. *Biochim. Biophys. Acta* 2012; 1821:1415–1424

- 193.** Jin S, Chen H, Li Y, Zhong H, Sun W, Wang J, et al. Maresin 1 improves the Treg/Th17 imbalance in rheumatoid arthritis through miR-21. *Ann. Rheum. Dis.* 2018; 77:1644–1652.
- 194.** Lu J, Feng X, Zhang H, Wei Y, Yang Y, Tian Y, Bai L. Maresin-1 suppresses IL-1 β -induced MMP-13 secretion by activating the PI3K/AKT pathway and inhibiting the NF- κ B pathway in synovioblasts of an osteoarthritis rat model with treadmill exercise. *Connect. Tissue Res.* 2021;62:508–518.
- 195.** Colas RA, Dalli J, Chiang N, Vlasakov I, Sanger JM, Riley IR, Serhan CN. Identification and Actions of the Maresin 1 Metabolome in Infectious Inflammation. *J. Immunol.* 2016; 197: 4444–4452.
- 196.** Li R, Wang Y, Ma Z, Ma M, Wang D, Xie G, et al. Maresin 1 Mitigates Inflammatory Response and Protects Mice from Sepsis. *Mediat. Inflamm.* 2016; 2016:3798465.
- 197.** Gu J, Luo L, Wang Q, Yan S, Lin J, Li D, et al. Maresin 1 attenuates mitochondrial dysfunction through the ALX/cAMP/ROS pathway in the cecal ligation and puncture mouse model and sepsis patients. *Lab. Investig.* 2018; 98: 715–733.
- 198.** Sun S, Wang J, Wang J, Wang F, Yao S, Xia H. Maresin 1 Mitigates Sepsis-Associated Acute Kidney Injury in Mice via Inhibition of the NF- κ B/STAT3/MAPK Pathways. *Front. Pharmacol.* 2019; 10:1323.
- 199.** Akagi D, Chen M, Toy R, Chatterjee A, Conte MS. Systemic delivery of proresolving lipid mediators resolvin D2 and maresin 1 attenuates intimal hyperplasia in mice. *FASEB J.* 2015; 29:2504–2513.
- 200.** Viola JR, Lemnitzer P, Jansen Y, Csaba G, Winter C, Neideck C, et al. Resolving Lipid Mediators Maresin 1 and Resolvin D2 Prevent Atheroprogession in Mice. *Circ. Res.* 2016; 119: 1030–1038.

201. Elder CT, Filiberto AC, Su G, Ladd Z, Leroy V, Pruitt EY, et al. Maresin 1 activates LGR6 signaling to inhibit smooth muscle cell activation and attenuate murine abdominal aortic aneurysm formation. *FASEB J.* 2021; 35: 21780.
202. Hisaw FL. Experimental relaxation of the pubis ligament of the guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1926; 23:661-663.
203. Bryant-Greenwood GD, Schwabe C. Human relaxins: Chemistry and biology. *Endocr. Rev.* 1994; 15:5-26
204. Bathgate RAD, Siebel AL, Tovote P, Claasz A, Macris M, Tregear GW, Parry L J. Purification and characterization of relaxin from the Tammar Wallaby (*Macropus eugenii*): Bioactivity and expression in the corpus leuteum. *Biol. Reprod.* 2002; 67:293-300.
205. Bathgate RA, Ivell R, Sanborn BM, Sherwood OD, Summers RJ. International union of pharmacology LVII: recommendations for the nomenclature of receptors for relaxin family peptides. *Pharmacol. Rev.* 2006; 58:7-31.
206. Park JI, Chang CL, Hsu SYT. New insights into biological roles of relaxin and relaxin-related peptides. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2005; 6:291-296.
207. Evans BA, Fu P, Tregear GW. Characterization of two relaxin genes in the chimpanzee. *J. Endocrinol.* 1994; 140: 385-392
208. Wilkinson TN, Speed TP, Tregear GW, Bathgate RA. Evolution of the relaxin-like peptide family. *BMC Evol. Biol.* 2005; 5:14.
209. Hsu SY. New insights into the evolution of the relaxin-LGR signaling system. *Trends Endocrinol. Metab.* 2003; 14:303-309.
210. Wilkinson TN, Speed TP, Tregear GW, Bathgate RA. Coevolution of the relaxin-like peptides and their receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005; 1041:534-539.

- 211.** Kong RCK, Shilling PJ, Lobb DK, Gooley PR, Bathgate RAD. Membrane receptors: Structure and function of the relaxin family peptide receptors. *Mol. Cell Endocrinol*, 2010; 320:1-15.
- 212.** Hsu, S. Y. Cloning of two novel mammalian paralogs of relaxin/insulin family proteins and their expression in testis and kidney. *Mol. Endocrinol*, 1999;13: 2163-2174.
- 213.** Liu C, Eriste E, Sutton S, Chen J, Roland B, Kuei C, Farmer, et al. Identification of relaxin-3/INSL7 as an endogenous ligand for the orphan Gprotein-coupled receptor GPCR135. *J. Biol. Chem*, 2003; 278:50754-50764
- 214.** Hossain MA, Bathgate RA, Kong CK, Shabanpoor F, Zhang S, Haugaard-Jonsson LM, et al. Synthesis, conformation, and activity of human insulin-like peptide 5 (INSL5). *Chembiochem*, 2008; 9:1816-1822.
- 215.** Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, Kumagai J, Kudo M, Sherwood OD, Hsueh A J. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science*, 2002; 295: 671-674
- 216.** Kumagai J, Hsu SY, Matsumi H, Roh JS, Fu P, Wade JD. INSL3/Leydig insulin-like peptide activates the LGR8 receptor important in testis descent. *J. Biol. Chem*, 2002; 277:31283-31286.
- 217.** Lin, F, Otvos, L, Jr, Kumagai, J, Tregear, G. W, Bathgate, R. A, Wade, J. D. Synthetic human insulin 4 does not activate the Gprotein-c oupled receptors LGR7 or LGR8. *J Pept Sci*. 2004;10(5):257-64.
- 218.** Lu C, Walker WH, Sun J, Weisz OA, Gibbs RB, Witchel SF, et al. Insulin-like peptide 6: Characterization of secretory status and posttranslational modifications. *Endocrinology*, 2006; 147: 5611-5623.
- 219.** Sherwood OD. Relaxin's physiological roles and other diverse actions. *Endocr. Rev*, 2004; 25: 205-234.

- 220.** Guico-Lamm ML, Sherwood OD. Monoclonal antibodies specific for rat relaxin. II. Passive immunization with monoclonal antibodies throughout the second half of pregnancy disrupts birth in intact rats. *Endocrinology*, 1988; 123:2479-2485.
- 221.** Goldsmith LT, Weiss G, Palejwala S, Plant TM, Wojtczuk A, Lambert WC et al. Relaxin regulation of endometrial structure and function in the rhesus monkey. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2004; 101:4685-4689.
- 222.** Goldsmith LT, WeissG. Relaxin in human pregnancy. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 2009; 1160:130-135.
- 223.** Johnson MR, Abdalla H, Allman AC, Wren ME, Kirkland A, Lightman SL. Relaxin levels in ovum donation pregnancies. *Fertil. Steril*, 1991; 56:59-61.
- 224.** Hwang JJ, Shanks RD, Sherwood OD. Monoclonal antibodies specific for rat relaxin. IV. Passive immunization with monoclonal antibodies during the antepartum period reduces cervical growth and extensibility, disrupts birth, and reduces pup survival in intact rats. *Endocrinology*, 1989; 125:260-266.
- 225.** Eppel W, Kucera E, Bieglmayer C. Relationship of serum levels of endogenous relaxin to cervical size in the second trimester and to cervical ripening at term. *Br. J. Obstet. Gynaecol*, 1999; 106: 917-923.
- 226.** Hwang JJ, Lee AB, Fields PA, Haab LM, Mojonier LE, Sherwood OD. Monoclonal antibodies specific for rat relaxin. V. Passive immunization with monoclonal antibodies throughout the second half of pregnancy disrupts development of the mammary apparatus and, hence, lactational performance in rats. *Endocrinology*, 1991; 129:3034-3042.
- 227.** Brenner SH, Lessing JB, Schoenfeld C, Amelar RD, Dubin L, Weiss G. Stimulation of human sperm cervical mucus penetration in vitro by relaxin. *Fertil. Steril*, 1984; 42:92-96.
- 228.** Pupula M, Quinn P, MacLennan A. The effect of porcine relaxin on the fertilisation of mouse oocytes in vitro. *Clin. Reprod. Fertil*, 1986;4:383-387.

- 229.** Samuel CS, Hewitson TD, Unemori EN, Tang MLK. Drugs of the future: The hormone relaxin. *Cell Mol. Life Sci*, 2007; 64:1539-1557.
- 230.** Osheroff, P. L, Phillips, H. S. Autoradiographic localization of relaxin binding sites in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88:6413-6417.
- 231.** Summerlee AJ, Hornsby DJ, Ramsey DG. The dipsogenic effects of rat relaxin: The effect of photoperiod and the potential role of relaxin on drinking in pregnancy. *Endocrinology*, 1998; 139:2322-2328
- 232.** Bathgate RA, Ivell R, Sanborn BM, Sherwood OD, Summers RJ. Receptors for relaxin family peptides. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 2005; 1041: 61-76.
- 233.** Novak J, Danielson LA, Kerchner LJ, Sherwood OD, Ramirez RJ, Moalli PA, Conrad, KP. Relaxin is essential for renal vasodilation during pregnancy in conscious rats. *J. Clin. Invest*, 2001; 107:1469-1475.
- 234.** Bigazzi M, Del Mese A, Petrucci F, Casali R, Novelli GP. The local administration of relaxin induces changes in the microcirculation of the rat mesocaecum. *Acta Endocrinol*, 1986; 112:296-299.
- 235.** Conrad KP, Novak J. Emerging role of relaxin in renal and cardiovascular function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*, 2004; 287:250-261.
- 236.** Unemori EN, Amento EP. Relaxin modulates synthesis and secretion of procollagenase and collagen by human dermal fibroblasts. *J. Biol. Chem*, 1990; 265:10681-10685.
- 237.** Unemori EN, Pickford LB, Salles AL, Piercy CE, Grove BH, Erikson ME, Amento EP. Relaxin induces an extracellular matrix-degrading phenotype in human lung fibroblasts in vitro and inhibits lung fibrosis in a murine model in vivo. *J. Clin. Invest*, 1996; 98:2739-2745.
- 238.** Samuel CS, Unemori EN, Mookerjee I, Bathgate RAD, Layfield SL, Mak J, et al. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and

collagen production and reverses cardiac fibrosis in vivo. *Endocrinology*, 2004; 145:4125-4133.

239. Williams EJ, Benyon RC, Trim N, Hadwin R, Grove BH, Arthur MJ, et al. Relaxin inhibits effective collagen deposition by cultured hepatic stellate cells and decreases rat liver fibrosis in vivo. *Gut*, 2001; 49:577-583.
240. McGowan BM, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Relaxin-3 and its role in neuroendocrine function. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 2009; 1160, 250-255.
241. Ma S, Gundlach, A. L. Relaxin-family peptide and receptor systems in brain: insights from recent anatomical and functional studies. *Adv. Exp. Med. Biol*, 2007; 612: 119-137.
242. McGowan BM, Stanley SA, Smith KL, White NE, Connolly MM, Thompson, EL, Gardiner JV, Murphy KG, Ghatei MA, Bloom SR. Central relaxin-3 administration causes hyperphagia in male Wistar rats. *Endocrinology*, 2005; 146: 3295-3300.
243. McGowan BM, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Relaxin-3 and its role in neuroendocrine function. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 2009; 1160:250-255
244. Jiang Z, Li X, Chen M, Lu L, Gong X. Effect of Endogenous Vascular Endothelial Growth Factor on Flap Surgical Delay in a Rat Flap Model. *Plast Reconstr Surg* 2019; 143: 126-135.
245. Chen M, Li X, Jiang Z, Gong X. Visualizing the pharmacological preconditioning effect of botulinum toxin A by the infrared thermography in a rat pedicled perforator island flap model. *Plast Reconstr Surg* 2019; 144: 1-5.
246. Li X, Chen M, Jiang Z, Liu Y, Lu L, Gong X. Visualized identification of the maximal surgical delay effect in a rat flap model. *Wound Repair Regen* 2019; 27: 39-48.

247. Doğan F, Özyazgan İ. Flap Preconditioning by Electrical Stimulation as an Alternative to Surgical Delay: Experimental Study. *Ann Plast Surg* 2015; 75: 560-564.
248. Arslan E, Basterzi Y, Aksoy A. The additive effects of carnitine and ascorbic acid on distally burned dorsal skin flap in rats. *Med Sci Monit* 2005;11: 176-180.
249. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993;14:165-175.
250. Cetin C, Kose AA, Aral E. Protective effect of fucoidin (a neutrophil rolling inhibitor) on ischemia reperfusion injury: experimental study in rat epigastric island flaps. *Ann Plast Surg* 2001;47:540-546.
251. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004;24:468-475.
252. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993;14:165-175.
253. Yoshida WB, Campos EB. Ischemia and reperfusion in skin flaps: effects of mannitol and vitamin C in reducing necrosis area in a rat experimental model. *Acta Cir Bras* 2005;20:358-363.
254. Spear SL. *Surgery of the breast: principles and art*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998.
255. Kroll SS. Fat necrosis in free transverse rectus abdominis myocutaneous and deep inferior epigastric perforator flaps. *Plast Reconstr Surg* 2000;106:576-583.
256. Shin MS, Angel MF, Im MJ. Effects of 21-aminosteroid U74389F on skin-flap survival after secondary ischemia. *Plast Reconstr Surg* 1994;94:661-666.
257. Ozmen S, Ayhan S, Demir Y. Impact of gradual blood flow increase on ischaemia-reperfusion injury in the rat cremaster microcirculation model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008; 61:939-948.

- 258.** Harder Y, Amon M, Laschke MW. An old dream revitalised: preconditioning strategies to protect surgical flaps from critical ischaemia and ischaemia-reperfusion injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:503-511.
- 259.** Nakai K, Kadiiska MB, Jiang JJ. Free radical production requires both inducible nitric oxide synthase and xanthine oxidase in LPS-treated skin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:4616-4621.
- 260.** Im MJ, Manson PN, Bulkley GB. Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. *Ann Surg* 1985;201:357-359.
- 261.** Coban YK, Kurutas EB, Ciralik H. Ischemia-reperfusion injury of adipofascial tissue: an experimental study evaluating early histologic and biochemical alterations in rats. *Mediators Inflamm* 2005;2005:304-308.
- 262.** Chew BP, Park JS. Carotenoid action on the immune response. *J Nutr* 2004;134:257-261.
- 263.** Tangney CC, Hankins JS, Murtaugh MA. Plasma vitamins E and C concentrations of adult patients during cardiopulmonary bypass. *J Am Coll Nutr* 1998;17:162-170
- 264.** Rhoden EL, Pereira-Lima L, Teloken C. Beneficial effect of alpha-tocopherol in renal ischemia-reperfusion in rats. *Jpn J Pharmacol* 2001;87:164-166.
- 265.** Sumer BD, Gastman BR, Gao F. Caspase inhibition enhances ischemic tolerance of fasciocutaneous flaps. *Laryngoscope* 2005;115:1358-1361.
- 266.** Zaccaria A, Weinzwieg N, Yoshitake M. Vitamin C reduces ischemia-reperfusion injury in a rat epigastric island skin flap model. *Ann Plast Surg* 1994;33:620-623.
- 267.** Aydogan H, Gurlek A, Parlakpinar H. Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on the ischaemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007; 60:563-568.

268. Cetinkale O, Bilgic L, Bolayirli M. Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury of inguinal island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:153-160.
269. Im MJ, Beil Jr RJ, Wong L. Effects of sympathetic denervation and oxygen free radicals on neovascularization in skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92: 736-741.
270. Kim EK, Hong JP. The effect of recombinant human erythropoietin on ischemia-reperfusion injury: an experimental study in a rat TRAM flap model. *Plast Reconstr Surg* 2007;120:1774-1781.
271. Mittermayr R, Valentini D, Fitzal F. Protective effect of a novel NO-donor on ischemia/reperfusion injury in a rat epigastric flap model. *Wound Repair Regen* 2003;11:3-10.
272. Kuo YR, Wang FS, Jeng SF. Nitrosoglutathione improves blood perfusion and flap survival by suppressing iNOS but protecting eNOS expression in the flap vessels after ischemia/ reperfusion injury. *Surgery* 2004;135:437-446.
273. Nanobashvili J, Neumayer C, Fuegl A. Combined L-arginine and antioxidative vitamin treatment mollifies ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle. *J Vasc Surg* 2004;39:868-877.
274. Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu QY. The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100:1227-1233.
275. Roth E. The impact of L-arginine-nitric oxide metabolism on ischemia/reperfusion injury. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998;1:97-999.
276. Boldyrev AA. Carnosine and Defence of Brain from Oxidative Stress [in Russian], MGU-Dialog Publisher, Moscow. 1999
277. Skulachev VP. *Biokhimiya*, 1992; 57:1311-1316.

278. Gulyaeva NV. Biokhimiya, 1987; 52:1216-1220,
279. Stvolinsky SL, Souza Pontesh E, Sergienko, V. I, and Boldyrev, AA. Anti-ischemic Activity of Carnosine Biol. Membr. (Moscow), 1996; **13**: 299-306
280. Boldyrev A, Abe H, Stvolinsky S, Tyulina O. Comp. Biochem. Physiol 1995; 112: 481-485.
281. Goncharenko EN, Deev LI, Akhalaya MY, Antonova SV, Baizhumanov AA, Naumova OV. Vestnik MGU, Ser. 16, Biologiya, No. 1995; 2:37-41.
282. Korobov VN, Doliba NM, Telegus YV. Biochemistry (Moscow), 1993; 58: 488-490
283. Nagai K, Suda T. Meth. Findings Exp. Clin. Pharmacol, 1988; 10: 497-507.
284. Mzhel'skaya TI, Boldyrev AA. Zh. Evolyuts. Biokhim. Fiziol, 1997; 33:688-698.
285. Sela S, Shurtz-Swirski R, Shapiro G. Oxidative stress during hemodialysis: effect of heparin. Kidney Int Suppl. 2001;78:159-163.
286. Albertini R, Rindi S, Passi A, Pallavicini G, De Luca G. Heparin protection against Fe²⁺ -and Cu²⁺ -mediated oxidation of liposomes. FEBS Lett. 1996;383:155-8.
287. Albertini R, Rindi S, Passi A, Pallavicini G, De Luca G. Heparin protection against Fe²⁺ -and Cu²⁺ -mediated oxidation of liposomes. FEBS Lett. 1996; 383:155-158.
288. Ley K, Cerrito M, Arfors KE. Sulfated polysaccharides inhibits leukocytes rolling in rabbit mesentery venules. Am J Physiol 1991;260:1667.
289. Cerletti C, Rajtar G, Marchi E, de Gaetano G. Interaction between glycosaminoglycans, platelets and leukocytes. Semin Thromb Hemost 1994;20:245.

- 290.** Tyrell, D.J, Horne, A.P, Holme, K.R, Preuss, JMH, Page, CP. (1999). Heparin in inflammation: Potential therapeutic applications beyond anticoagulation. *Adv. Pharmacol*, 46, 151 – 208.
- 291.** Lever R, Page CP. Novel drug development opportunities for heparin. *Nat. Rev. Drug Discov*, 2002; 1: 140 – 148.
- 292.** Redini F, Tixier JM, Petitou M, Choay J, Robert L, Hornebeck W. Inhibition of leucocyte elastase by heparin and its derivatives. *Biochem. J*, 1988; 252: 515 – 519.
- 293.** Walsh RL, Dillon TJ, Scicchitano R, McLennan GB. Heparin and heparan sulphate are inhibitors of human leucocyte elastase. *Clin. Sci*, 1991; 81: 341 – 346.
- 294.** Ramdin L Perks B, Sheron N, Shute JK. Regulation of interleukin-8 binding and function by heparin and α 2-macroglobulin. *Clin. Exp. Allergy*, 1998; 28: 616 – 624.
- 295.** Skinner MP, Lucas CM, Burns GF, Chesterman CN, Berndt MC. GMP-140 binding to neutrophils is inhibited by sulfated glycans. *J. Biol. Chem*, 1991; 226: 5371 – 5374.
- 296.** Asa D, Gant T, Oda Y, Brandley BK. Evidence for two classes of carbohydrate binding sites on selectins. *Glycobiology*, 1992; 2: 395 – 400
- 297.** Koenig A, Norgard-Sumnicht K, Lindhardt R, Varki A. Differential interactions of heparin and heparan sulfate glycosaminoglycans with the selectins. *J. Clin. Invest*, 1998; 101: 877 – 889.
- 298.** Diamond MS, Alon R, Parkos CA, Quinn MT, Springer TA. Heparin is an adhesive ligand for the leukocyte Mac-1 (CD11b/CD18). *J. Cell. Biol*, 1995; 130: 1473 – 1482.

299. Lever R, Hoult JRS, Page CP. The effects of heparin and related molecules upon the adhesion of polymorphonuclear leukocytes to vascular endothelium in vitro. *Br. J. Pharmacol*, 2000; 129: 533 – 540.
300. Xie X, Thorlacius H, Raud J, Hedqvist P, Lindbom L. Inhibitory effect of locally administered heparin on leukocyte rolling and chemoattractant-induced firm adhesion in rat mesenteric venules in vivo. *Br. J. Pharmacol*, 1997; 122: 906 – 910.
301. Sasaki M, Herd CM, Page CP. Effect of heparin and a low-molecular weight heparinoid on PAF-induced airway responses in neonatally immunized rabbits. *Br. J. Pharmacol*, 1993; 110: 107–112.
302. Bazzoni G, Nunez AB, Mascellani G, Bianchini P, Dejana E, Del Maschio A. Effect of heparin, dermatan sulfate, and related oligo-derivatives on human polymorphonuclear leukocyte functions. *J. Lab. Clin. Med*, 1993; 121: 268 – 275.
303. Erduran E, Tekelioglu Y, Gedik Y, Yildiran A. Apoptotic effects of heparin on lymphoblasts, neutrophils, and mononuclear cells: results of a preliminary in vitro study. *Am J Hematol* 1999;61:90-93.
304. Whyte MK, Meagher LC, MacDermot J, Haslett C. Impairment of function in aging neutrophils is associated with apoptosis. *J Immunol* 1993;150:5124e34.
305. Boakye AA, Zhang D, Guo L, Zheng Y, Hoetker, D, Zhao, J. Supplementation of Carnosine Enhances Angiogenesis. *Frontiers, in Physiology*, 2019;10:1-16.
306. Smorenburg SM, Van Noorden CJ. The complex effects of heparins on cancer progression and metastasis in experimental studies. *Pharmacol Rev.* 2001;53:93–105.
307. Macia L, Tan J, Vieira AT, Leach K, Stanley D. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat. Commun.* 2015; 6: 6734

308. Kim M, Galan C, Hill AA, Wu WJ, Fehlner-Peach H. 2018. Critical role for the microbiota in CX3CR1⁺ intestinal mononuclear phagocyte regulation of intestinal T cell responses. *Immunity* 49:151–63-65
309. Cait A, Hughes MR, Antignano F, Cait J, Dimitriu PA. Microbiome-driven allergic lung inflammation is ameliorated by short-chain fatty acids. *Mucosal Immunol.* 2018; 11: 785–95.
310. Li S, Bostick JW, Ye J, Qiu J, Zhang B. Aryl hydrocarbon receptor signaling cell intrinsically inhibits intestinal group 2 innate lymphoid cell function. *Immunity* 2018; 49:915–928.
311. Dong Z, Liang Z, Guo M, Hu S, Shen Z, Hai X. The association between plasma levels of trimethylamine N-oxide and the risk of coronary heart disease in Chinese patients with or without type 2 diabetes mellitus. *Dis Markers* 2018: 1578320.
312. Haghikia A, Li XS, Liman TG, Bledau N, Schmidt D, Zimmermann F. et al Gut microbiota-dependent TMAO predicts risk of cardiovascular events in patients with stroke and its related proinflammatory monocytes. *Atheroscler. Thromb Vasc Biol* 2018: 38(9):225-2235.
313. Ma Y, Liu Y, Zhang L, He Y, Chen Y. Trimethylamine N-oxide induces inflammation and endothelial dysfunction in human umbilical vein endothelial cells via activating ROS-TXNIP-NLRP3 inflammasome. *Biochem Biophys Res Commun* 2016:881: 63–70.
314. Li D, Ke Y, Zhan R, Liu C, Zhao M, Zeng A. et al. Trimethylamine N-oxide promotes brain aging and cognitive impairment in mice. *Aging Cell.* 2018;17(4): e12768.
315. Turo ST, Heaney LM, Bhandari SS, Jones DJL, Ng LL. Trimethylamine N-oxide and prognosis in acute heart failure. *Heart.* 2016;102(11):841–848.
316. Guasch-Ferré M, Hu FB, Ruiz-Canela M, Bulló M, Toledo E, Wang DD. Plasma metabolites from choline pathway and risk of cardiovascular disease in the

PREDIMED (Prevention with Mediterranean Diet) study. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(11)

317. Mafune A, Iwamoto T, Tsutsumi Y, Nakashima A, Yamamoto I, Yokoyama K. Associations among serum trimethylamine-Noxide (TMAO) levels, kidney function and infarcted coronary artery number in patients undergoing cardiovascular surgery: a crosssectional study. *Clin Exp Nephrol.* 2016; 20(5): 731–9.
318. Hwang J, Wang J, Morazzoni P, Hodis HN, Sevanian A. The phytoestrogen equol increases nitric oxide availability by inhibiting superoxide production: an antioxidant mechanism for cell-mediated LDL modification. *Free Radical Biol Med* 2003; 34(10): 1271-1282.
319. Cheng C, Wang X, Weakley SM. The soybean isoflavonoid equol blocks ritonavir-induced endothelial dysfunction in porcine pulmonary arteries and human pulmonary artery endothelial cells. *J Nutr* 2010; 140(1): 12-17.
320. Kameyama, Yukiyoishi & Kiselyov, Oleg & Shan, Chung-chieh. Shifting the Stage - Staging with Delimited Control. *Journal of Functional Programming.* 2009: 21:111-120.
321. Ma Y, Sullivan C, Schreihof DA. Dietary genistein and equol (4",7 isoflavandiol) reduce oxidative stress and protect rats against focal cerebral ischemia. *Am. J. Physiol.- Reg. Integrative Comp. Physiol.* 2010; 299: 871-877.
322. Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, Brody EN. Oxidative stress in severe acute illness. *Redox Biology.* 2015; 4:340-345.
323. Bickers DR, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J. Invest. Derm.* 2006; 126: 2565-2575.
324. Droge W. Free radicals in the physiologic control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002; 82:47- 95.

- 325.** Maes M, Galecki P, Chang YS, Berk M. A review on the oxidative and nitrosative (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative process in that illness. *Prog. Neuro-Psychopharm. Biol. Psychia.* 2011; 35: 676-692.
- 326.** Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J. Biochem. Molec. Tox.* 2003; 17: 24-38.
- 327.** Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Mazur MTJ, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Internat. J. Biochem. Cell Biol.* 2007; 39: 44-84.
- 328.** Niwa T, Yazawa T, Ise M. Inhibitory effect of oral sorbent on accumulation of albumin-bound indoxyl sulfate in serum of experimental uremic rats. *Nephron.* 1991; 57:84-88
- 329.** Schulman G, Agarwal R, Acharya M, Berl T, Blumenthal S, Kopyt N. A multicenter, randomized, double-blind, placebocontrolled, dose-ranging study of AST-120 (Kremezin) in patients with moderate to severe CKD. *Am J Kidney Dis.* 2006;47:565-577.
- 330.** Adijiang A, Goto S, Uramoto S, Nishijima F, Niwa T. Indoxyl sulphate promotes aortic calcification with expression of osteoblast-specific proteins in hypertensive rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23:1892-1901.
- 331.** Muteliefu G, Enomoto A, Jiang P, Takahashi M, Niwa T. Indoxyl sulphate induces oxidative stress and the expression of osteoblast-specific proteins in vascular smooth muscle cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:2051-2058.
- 332.** Niwa T. Indoxyl sulfate is a nephro-vascular toxin. *J Ren Nutr.* 2010; 20(1): 2-6.
- 333.** Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling aging. *Nature.* 1997;390:45-51.

- 334.** Aizawa H, Saito Y, Nakamura T. Downregulation of the Klotho gene in the kidney under sustained circulatory stress in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;249:865-871.
- 335.** Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S. Severely reduced production of Klotho in human chronic renal failure kidney. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;280:1015-1020.
- 336.** Adijiang A, Shimizu H, Higuchi Y, Nishijima F, Niwa T. Indoxyl sulfate reduces Klotho expression and promotes senescence in the kidneys of hypertensive rats. *J Ren Nutr.* 2011;21:105-109.
- 337.** Serhan CN, Yang R, Martinod K, Kasuga K, Pillai PS, Porter TF, Oh SF, Spite M. Maresins: Novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and proresolving actions. *J. Exp. Med.* 2009; 206: 15–23
- 338.** Dalli J, Sanger JM, Rodriguez AR, Chiang N, Spur BW, Serhan CN. Identification and Actions of a Novel Third Maresin Conjugate in Tissue Regeneration: MCTR3. *PLoS ONE* 2016; 11:e0149319.
- 339.** Bindu S, Mazumder S, Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem. Pharmacol.* 2020; 180: 114147
- 340.** Schjerning AM, McGettigan P, Gislason G. Cardiovascular effects and safety of (non-aspirin) NSAIDs. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020; 17: 574–584.
- 341.** Du XJ, Bathgate RA, Samuel CS, Dart AM, Summers RJ. Cardiovascular effects of relaxin: from basic science to clinical therapy. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7:48–58
- 342.** Du XJ, Hewitson TD, Nguyen MN, Samuel CS. Therapeutic effects of serelaxin in acute heart failure. *Circ J* 2014; 78: 542–552.
- 343.** Conrad KP, Novak J. Emerging role of relaxin in renal and cardiovascular function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287:250–261.

- 344.** Graham EF, Dracy AE. The effect of relaxin and mechanical dilatation of the bovine cervix. *J. Dairy Sci* 1953; 36: 772–777.
- 345.** Hall K. The effects of pregnancy and relaxin on the histology of the pubic symphysis of the mouse. *J. Endocrinol* 1947; 5: 174–185.
- 346.** Hisaw F. Experimental relaxation of the pubic ligament of the guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* 1926; 23: 661–663.
- 347.** Krantz JC, Bryant HH, Carr CJ. The action of aqueous corpus luteum extract upon uterine activity. *Surg. Gynecol. Obstet* 1950; 90: 372–375.
- 348.** Debrah DO, Novak J, Matthews JE, Ramirez RJ, Shroff SG, Conrad KP. Relaxin is essential for systemic vasodilation and increased global arterial compliance during early pregnancy in conscious rats. *Endocrinology* 2006;147: 5126–5131.
- 349.** Novak J, Danielson LA, Kerchner LJ, Sherwood OD, Ramirez RJ, Moalli PA, Conrad KP. Relaxin is essential for renal vasodilation during pregnancy in conscious rats. *The J. Clin. Invest* 2001; 107: 1469–1475.
- 350.** Nistri S, Bani D. Relaxin receptors and nitric oxide synthases: search for the missing link. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1:5.
- 351.** Dschietzig T, Bartsch C, Richter C, Laule M, Baumann G, Stangl K. Relaxin, a pregnancy hormone, is a functional endothelin-1 antagonist: attenuation of endothelin-1- mediated vasoconstriction by stimulation of endothelin type-B receptor expression via ERK-1/2 and nuclear factor-kappaB. *Circ Res* 2003; 92: 32–40.
- 352.** Dschietzig T, Bartsch C, Stangl V, Baumann G, Stangl K. Identification of the pregnancy hormone relaxin as glucocorticoid receptor agonist. *FASEB J* 2004;18: 1536–1538.
- 353.** Stewart RJ, Moore T, Bennett B, Easton M. Effect of free radical scavengers and hyperbaric oxygen on random pattern skin flaps. *Arch. Surg.* 1994; 129:982–988.

- 354.** Manson PN, Anthenelli RM, ĩm MJ. The role of oxygen radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198: 87-90.
- 355.** Ashoori F, Suzuki S, Zhou JH, Isshiki N. Involvement of lipid peroxidation in necrosis of skin flaps and its suppression by ellagic acid. *Plas Recon Surg* 1994; 94: 1027–1037.
- 356.** Angel MF, Haddad J, Abramson J. Acid free radical scavenger reduces hematoma induced necrosis in rodents. *Otolaryn Head and Neck Surg* 1987; 96: 96.

