



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

**SIÇAN PERFORATÖR ADA FLEBİ MODELİNDE  
KONTROLLÜ SALINIM GÖSTEREN  
VEGF165 VE FİBRİN YAPIŞTIRICI KARIŞIMININ  
FLEP ÖN KOŞULLAMAYA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ÖZGÜN KILIÇ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. OSMAN LATİFOĞLU**

**ANKARA  
EKİM 2022**

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

**SIÇAN PERFORATÖR ADA FLEBİ MODELİNDE  
KONTROLLÜ SALINIM GÖSTEREN  
VEGF165 VE FİBRİN YAPIŞTIRICI KARIŞIMININ  
FLEP ÖN KOŞULLAMAYA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ÖZGÜN KILIÇ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. OSMAN LATİFOĞLU**

*Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından  
TTU-2022-7674 proje numarası ile desteklenmiştir.*

**ANKARA  
EKİM 2022**

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	III
KISALTMALAR.....	VII
TABLolar DİZİNİ .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	XI
ONAY .....	XIV
TEŞEKKÜR.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1 Flepler .....	4
2.1.1 Flep cerrahisinin tarihi.....	4
2.1.2 Fleplerin sınıflanması .....	5
2.1.2.1 Beslenme.....	6
2.1.2.2 Donör ve alıcı sahaya uzaklık .....	7
2.1.2.3 Doku içeriği.....	8
2.1.2.4 Hareket Tipi.....	9
2.1.3 Perforatör fleplerde kanlanma ve dolaşım.....	11
2.1.4 Choke anastomozlar (Dolaylı bağlayıcı damarlar).....	14
2.1.5 Geciktirme fenomeni (iskemik ön koşullama) .....	18
2.1.6 Sıçanlarda dorsal perforatör damar anatomisi .....	21
2.2 VEGF .....	23

2.2.1 VEGF'nin geçmişi.....	23
2.2.2 VEGF'nin yapısı, etki mekanizması, metabolizması .....	25
2.2.3 VEGF'nin flep fizyolojisindeki yeri.....	29
<b>2.3 Fibrin Yapıştırıcı .....</b>	<b>31</b>
2.3.1 Fibrin yapıştırıcının tarihi.....	31
2.3.2 Fibrin yapıştırıcının yapısı, etki mekanizması ve metabolizması .....	32
2.3.3 Fibrin yapıştırıcının kullanım alanları .....	36
2.3.4 Fibrin yapıştırıcının taşıyıcı olarak kullanımı .....	37
<b>2.4 İndosiyanın Yeşili ve Kızılötesine Yakın Anjiyografi .....</b>	<b>40</b>
2.4.1 İndosiyanın yeşili ve anjiyografinin kullanım alanları.....	40
2.4.2 İndosiyanın yeşilinin yapısı, plazmada taşınımı ve metabolizması.....	40
2.4.3 Kızılötesine yakın floresan anjiyografinin çalışma prensibi .....	41
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1 Gruplar ve Açıklamaları.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2 VEGF165 ve VEGF165 İçeren Fibrin Yapıştırıcının Hazırlanması.....</b>	<b>46</b>
<b>3.3 Deri Altı Enjeksiyon Tekniği.....</b>	<b>54</b>
<b>3.4 Flep Modeli ve Flebin Kaldırılması .....</b>	<b>55</b>
<b>3.5 İndosiyanın Yeşilinin Hazırlanması ve Floresan Anjiyografi</b>	
<b>Uygulanması.....</b>	<b>59</b>
<b>3.6 Yedi Günlük Flep Takibi Sonrası Anjiyografinin Tekrarı ve</b>	
<b>Biyopsilerin Alınması .....</b>	<b>60</b>
<b>3.7 SPY-Q ile Perfüzyon Değerlendirilmesi .....</b>	<b>61</b>
<b>3.8 Histolojik Değerlendirme.....</b>	<b>62</b>

3.8.1 Hematoksilen ve eozin inceleme .....	62
3.8.2 İmmünofloresans inceleme.....	63
<b>3.9 İstatistiksel Analiz .....</b>	<b>64</b>
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>65</b>
<b>4.1 Klinik Gözlem .....</b>	<b>65</b>
<b>4.2 Cerrahi Hemen Sonrası (T7) İndosiyanin Yeşili Floresan Anjiyografi ile Perfüzyon Bölgelerine ait Bulgular.....</b>	<b>65</b>
4.2.1 Perfüzyon bölgelerinin gruplara göre karşılaştırılması .....	65
4.2.2 Grupların perfüzyon bölgelerine göre karşılaştırılması.....	67
<b>4.3 Cerrahi Sonrası Yedinci Günde (T14) İndosiyanin Yeşili Floresan Anjiyografi ile Perfüzyon Bölgelerine ait Bulgular .....</b>	<b>71</b>
4.3.1 Perfüzyon bölgelerinin gruplara göre karşılaştırılması .....	71
4.3.2 Grupların perfüzyon bölgelerine göre karşılaştırılması.....	73
<b>4.4 Histolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular .....</b>	<b>76</b>
4.4.1 Nekroz .....	76
4.4.1.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması .....	76
4.4.1.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması .....	77
4.4.2 Ödem .....	77
4.4.2.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması .....	77
4.4.2.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması .....	78
4.4.3 Hemoraji .....	78
4.4.3.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması .....	78
4.4.3.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması .....	79

4.4.4 Tromboz .....	79
4.4.4.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması .....	79
4.4.4.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması .....	80
4.4.5 Yeni oluşan kapiller sayısı .....	80
4.4.5.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması .....	80
4.4.5.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması .....	81
4.4.6 Olgun kapiller sayısı.....	82
4.4.6.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması .....	82
4.4.6.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması .....	84
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>86</b>
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>98</b>
<b>7. ÖZET .....</b>	<b>99</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>101</b>
<b>9. KAYNAKLAR.....</b>	<b>103</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>116</b>

## KISALTMALAR

**HIF:** Hipoksiyle tetiklenen etken

**VEGF:** Vasküler endotel büyüme etkeni

**FGF:** Fibroblast büyüme etkeni

**TRAM:** Transvers rektus abdominis kası

**DIEA, DIEP:** Derin inferior epigastrik arter, Derin inferior epigastrik arter perforatörü

**VPF:** Damar geçirgenliği etkeni

**FDA:** Amerika Gıda ve İlaç Dairesi

**KY:** Kızılötesine yakın

**İSY:** İndosiyanin yeşili

**KYFA:** Kızılötesine yakın floresan anjiyografi

**iNOS:** İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz

**HIV:** İnsan immün yetmezlik virüsü

**HCV:** Hepatit C virüsü

**HBV:** Hepatit B virüsü

**Ca<sup>2+</sup>:** Kalsiyum iyonu

**Faktör XIII:** Fibrin stabilize edici etken

**DCI, DCIA:** Derin sirkumfleks iliyak arter

**PIC:** Posterior interkostal arter

**TD:** Torakodorsal arter

**PBS:** Fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi

**BSA:** Sığır serum albümini

**DAPI:** 4',6-Diamidine-2'-phenylindole dihidroklorit

**GÜDAM:** Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel  
Araştırmalar Merkezi



## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Tisseel® (Baxter AG, Viyana, Avusturya) içeriği.....	34
Tablo 2: Piyasada bulunan fibrin yapıştırıcıların içerikleri.....	35
Tablo 3: Her bir bölgenin gruplara göre T7 perfüzyon ölçümleri analizi .....	66
Tablo 4: Her bir grubun bölgelere göre T7 perfüzyon ölçümleri analizi .....	68
Tablo 5: Her bir bölgenin gruplara göre T14 perfüzyon ölçümleri analizi .....	72
Tablo 6: Her bir grubun bölgelere göre T14 perfüzyon ölçümleri analizi .....	74
Tablo 7: Her bir grup için beş bölgenin nekroz değerleri bakımından karşılaştırılması .....	76
Tablo 8: Her bir bölge için dört grubun nekroz değerleri bakımından karşılaştırılması .....	77
Tablo 9: Her bir grup için beş bölgenin ödem değerleri bakımından karşılaştırılması .....	77
Tablo 10: Her bir bölge için dört grubun ödem değerleri bakımından karşılaştırılması .....	78
Tablo 11: Her bir grup için beş bölgenin hemoraji değerleri bakımından karşılaştırılması .....	78
Tablo 12: Her bir bölge için dört grubun hemoraji değerleri bakımından karşılaştırılması .....	79
Tablo 13: Her bir grup için beş bölgenin trombozis değerleri bakımından karşılaştırılması .....	79
Tablo 14: Her bir bölge için dört grubun trombozis değerleri bakımından karşılaştırılması .....	80

Tablo 15: Her bir grup için beş bölgenin yeni oluşan kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması.....	81
Tablo 16: Her bir bölge için dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması.....	82
Tablo 17: Her bir grup için beş bölgenin olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması .....	83
Tablo 18: Her bir bölge için dört grubun olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması .....	85

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Beslenme tiplerine göre flep türleri.....	7
Şekil 2: Hareketlerine göre flep türleri.....	10
Şekil 3: Perforatör Tipleri.....	13
Şekil 4: Deri ve derialtı dokunun vasküler ağları .....	15
Şekil 5: Perforatörler arası akım.....	16
Şekil 6: Choke ve Gerçek anastomozlar.....	17
Şekil 7: Choke damarların çap/zaman grafiği .....	18
Şekil 8: Geciktirme fenomeni.....	19
Şekil 9: Sıçan dorsal deri anjiyografisi.....	22
Şekil 10: 3 boyutlu VEGF yapısı .....	23
Şekil 11: VEGF-A izoform yapılarının şematik gösterimi .....	25
Şekil 12: VEGF İzofomları ve karşılık gelen VEGF reseptörleri .....	27
Şekil 13: Normoksi ve Hipoksi durumlarının HIF yolağı ve VEGF üzerine etkisi <sup>79</sup> .....	28
Şekil 14: VEGF'nin reseptör aracılı etkileri.....	30
Şekil 15: Fibrinojen ve Thrombin karışımıyla oluşan bir ticari fibrin yapıştırıcı uygulayıcısı .....	32
Şekil 16: Fibrin yapıştırıcının basitleştirilmiş etkinlik şeması .....	33
Şekil 17: Fibrin yapıştırıcı karışımından büyüme etkeni salınımı.....	39
Şekil 18: Derin inferior epigastrik arter perforatör flebinin abdomenden tek lateral perforatör üzerinden kaldırılması .....	43

Şekil 19: Liyofilize VEGF <sub>165</sub> (293-VE-050/CF R&D Systems Inc, Minneapolis, ABD) .....	46
Şekil 20: TISSEEL Lyo 2ml/4ml (Baxter AG, Viyana, Avusturya).....	48
Şekil 21: TISSEEL Lyo 2ml/4ml kutu içeriği (devamı) .....	49
Şekil 22: TISSEEL Lyo 2ml/4ml kutu içeriği (devamı) .....	49
Şekil 23: TISSEEL Lyo 2ml/4ml hazırlanması.....	50
Şekil 24: TISSEEL Lyo 2ml/4ml hazırlanması (devamı) .....	50
Şekil 25: TISSEEL Lyo 2ml/4ml hazırlanması (devamı) .....	51
Şekil 26: Karışıma VEGF <sub>165</sub> eklenmesi .....	51
Şekil 27: Isıtıcı ve karıştırıcı Fibrinotherm sistem ile bileşenlerin aktivasyonu ...	52
Şekil 28: Kullanıma hazır Duploject enjeksiyon sistemine aktarılmış fibrin yapıştırıcı ve yedek uç .....	52
Şekil 29: Enjeksiyon Tekniği .....	55
Şekil 30: Sıçan sırt derisi anjiyogramı .....	56
Şekil 31: Sağ derin sirkumfleks arter bazlı hazırlanan sıçan sırt derisi flebi çizimi .....	57
Şekil 32: Tarif edilen flebin ana besleyicileri üzerindeki görüntüsü.....	58
Şekil 33: Flebin yerine iade edilmesi .....	59
Şekil 34: İndosiyanin yeşili, Aurogreen (Aurolab, Hindistan).....	60
Şekil 35: Dorsal perforatör flepte perforazomlar ve anastomoz bölgeleri .....	61
Şekil 36: SPY-Q ile fibrin yapıştırıcı uygulanan gruptaki bir sıçanda cerrahi hemen sonrası (T7) perfüzyon değerlendirilmesi .....	62

Şekil 37: Cerrahi hemen sonrası (T7) perfüzyon bölgelerinin gruplara göre değerlendirilmesi .....	67
Şekil 38: Cerrahi hemen sonrası (T7) grupların perfüzyon bölgelerine göre değerlendirilmesi .....	69
Şekil 39: Cerrahi hemen sonrası (T7) perfüzyon değerlendirmelerine ait floresan anjiyografi görüntülemelerinin karşılaştırılması .....	70
Şekil 40: cerrahi sonrası yedinci günde (T14) perfüzyon bölgelerinin gruplara göre değerlendirilmesi .....	72
Şekil 41: Cerrahi Sonrası Yedinci Günde (T14) grupların perfüzyon bölgelerine göre değerlendirilmesi .....	74
Şekil 42: Cerrahi sonrası yedinci Günde (T14) perfüzyon değerlendirmelerine ait floresan anjiyografi görüntülemelerinin karşılaştırılması .....	75
Şekil 43: Her bir grup için beş bölgenin olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması .....	83
Şekil 44: Her bir bölge için dört grubun olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması .....	85

## ONAY



### Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Arş. Gör. Dr. Özgün KILIÇ
Baba Adı	
Doğum Yeri/Tarihi	
Diploma Tarihi / Diploma No	
Mezun Olduğu Fakülte	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Estetik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	5 YIL
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Sıçan Perforatör Ada Flebi Modelinde Kontrollü Salınım Gösteren VEGF165 ve Fibrin Yapıştırıcı Karışımının Flep Ön Koşullamaya Etkisi

#### JÜRİ KARARI:

Tez savunması 14/10/2022 tarihinde yapılmış ve jüri tarafından onaylanmıştır. Uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

#### JÜRİ ÜYELERİ:

BAŞKAN

## TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim boyunca benden desteğini esirgemeyen, bilgisini sınırsızca sunan, eğitimim için bana pek çok fırsat ve hak veren çok değerli hocalarım *Prof. Dr. Seyhan Çenetoğlu, Prof. Dr. Sühan Ayhan, Prof. Dr. Serhan Tuncer, Prof. Dr. Kemal Fındıkçioğlu, Prof. Dr. Ayşe Gülşen, Dr. Öğretim Üyesi Serhat Şibar ve Dr. Ayhan Işık Erdal'a* ve tezi hazırlamamda büyük emeği olan, her aşamada destekleyip doğru ve verimli yolu gösteren tez danışmanım *Prof. Dr. Osman Latifoğlu'na*

Bu çalışmayı maddi yönden finanse eden *Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi (BAP)'ne*

Eğitim aldığım süre boyunca beraber gece gündüz çalıştığımız *tüm çalışma arkadaşlarıma*

Çocukluğumdan beri beni fikri hür iradesi hür yetiştiren, desteğini esirgemeyen *canım aileme*

Gerek eğitim sürecimin gerekse tez hazırlığımın en zorlu zamanlarını sayesinde atlattığım, beni anlatmak istediğim gibi anlayan ve beni olduğum gibi seven biricik eşim *Aslıhan'a* teşekkür ederim.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Flep, plastik cerrahide doku eksikliklerinin onarımında kullanılan bir cerrahi yöntemdir. Flep cerrahilerinde zaman içerisinde başarılı sonuçlar artmış olsa da doku kaybıyla sonuçlanabilecek komplikasyonlar için çözüm arayışı güncelliğini korumaktadır. Flepte dolaşım yetersizliği, buna bağlı tromboz, nekroz ve flep kaybı hala en sık görülen komplikasyonlardır.<sup>1, 2</sup> Literatürde flep perfüzyonunu ve sağkalımını artırmak için cerrahi geciktirme (delay) işlemleri geçmişten beri kullanılmış ve olumlu sonuçlar vermiştir.<sup>3</sup>

Cerrahi geciktirme, flebin yerine yerleştirileceği operasyondan önce cerrahi olarak kan akımını tamamen kesmeden azaltmak ve bu sayede flebin asıl işlem öncesinde sağkalımını artırma prosedürlerine verilen genel isimdir, etkisi iskemi-reperfüzyon esasına dayanmaktadır.<sup>4</sup> Geciktirme prosedürü özünde bir iskemik önkoşullama olup uygulandığı fleplerde sağkalımın artışının şu sebeplere bağlı olduğu düşünülmektedir: artmış kan akımı, artmış iskemi toleransı, flep içi arteriyovenöz şantların genişlemesi, hiperadrenerjik durum ve gecikmiş dönemde vazodilatasyon.<sup>5</sup>

Bütün bu fizyolojik yolların başlatıcısı doku hipoksisidir. Doku hipoksisi hücre çekirdeğinde Hipoksi ile tetiklenen etken (HIF) üretimine neden olur. HIF ise iskemiye uğramış dokularda meydana gelen uyum sağlayıcı yolların (vazodilatasyon, vasküler geçirgenlik artışı, neoanjiyojenez) ana düzenleyicilerinden biri olan Vasküler endotel büyüme etkeni (VEGF) salgılanmasını sağlar.<sup>6</sup> VEGF bu görevlerini reseptörüne bağlandıktan sonra hücre içinde uygun protein üretimi ile gerçekleştirir.<sup>7</sup>

İnsanda VEGF ailesi 4 formda bulunur (A, B, C, D). İskemi süresince salgılanan formu VEGF-A'dır. VEGF-A'nın 10'un üzerinde tanımlanmış izoformu vardır (121, 165, 189...). Bu izoformlardan VEGF<sub>165</sub> hipoksi gelişen bölgelerde baskın izoformdur ve NO aracılı vazodilatasyon, vasküler geçirgenlik artışı ve neoanjiyogenez etkilerinden sorumludur.<sup>7,8</sup>

Fibrin yapıştırıcılar insan kaynaklı fibrinojen ve trombininden oluşan ve dış ortamda karıştırılarak etkin hale geçen, sonucunda fibrin pıhtı oluşturan tıbbi ürünlerdir. Cerrahi yara dudaklarının, damar, sinir veya lümenli organ anastomozlarının bir araya getirilmesi ve hemostaz sağlanması amacıyla kullanılmaktadır.<sup>9</sup> Ayrıca dokuda çözünmesi ortalama 5-8 gün sürdüğünden fibrin yapıştırıcıya eklenerek verilen etken madde ve ilaçlar canlı doku içinde kontrollü bir biçimde salınabilmektedir. Bu da yarı-ömrü kısa olan etken maddelerle beraber kullanıldığında yarı ömürlerinin ve etki sürelerinin uzamasını sağlamaktadır.<sup>10</sup>

Yapılan literatür araştırmasında, sıçanlarda kaldırılan fleplerde VEGF uygulaması ile sağkalımın değerlendirilmesi konulu çokça çalışma modeli bulunmaktadır. Bu modellerde VEGF, flep kaldırılmadan öncesinde veya sonrasında deri içine, deri, altına, kas içine veya sistemik olarak verilmiştir. VEGF kullanılan çalışma gruplarında flep başarısının sıklıkla arttığı görülmüştür.<sup>11</sup> Bununla beraber VEGF'nin canlı dokudaki yarı ömrünün kısa olduğu bilinmektedir.<sup>12-14</sup>

Fibrin yapıştırıcıyı konu alan literatür çalışmalarında fibrin yapıştırıcının VEGF, Fibroblast büyüme etkeni (FGF) gibi büyüme etkenleriyle beraber kullanıma kimyasal ve biyolojik olarak uygun olduğu ve VEGF'nin tek başına

verildiğinde 30-90 dakika arasında değişen ortalama yarı ömrünü 5-7 gün seviyesinde uzattığı gösterilmiştir.<sup>10, 15, 16</sup> Literatürde, yapılan çalışmalarda bu karışımın ancak flep kaldırdıktan sonra (cerrahi sonrası) flep sahasına uygulandığı görülmüştür.<sup>11</sup> Literatürde VEGF ve fibrin yapıştırıcı karışımının flep kaldırılmadan önce donör sahaya uygulanmasına yönelik bir çalışma bulunmamaktadır.

VEGF flep fizyolojisinde endojen bir ajandır. Flep kaldırıldıktan sonra hipoksi gelişen bölgelerde dokular tarafından halihazırda müdahale gerektirmeksizin salgılanmaktadır. Bu verilerden yola çıkarak cerrahi öncesinde kontrollü salınım yapan VEGF ve fibrin yapıştırıcı karışımının perforatör flep sahasında cerrahi öncesi uygulanmasının sadece VEGF verilmesine karşılık flep sağkalımını artırabileceği hipotezi ortaya konulmuştur.

Bu çalışmadaki amaç dokudaki yarı ömrü uzatılmış VEGF'nin saf formdaki VEGF'ye göre flep yaşayabilirliğine etkisini ölçmektir. Deney sonunda uygulamadaki bu farklılığın yaşayan doku miktarına, kapiller sayısına, kapiller çeşidine ve flepteki histolojik yapıya etkisi ölçülecektir. Bu sayede Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi'nin temel ameliyatlarından olan fleplerin yaşayabilirliğini arttıracak bir yöntemin geçerliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Flepler

#### 2.1.1 Flep cerrahisinin tarihi

Flep, cerrahi yöntemlerle, kendi dolaşım anatomisini içerek şekilde serbestleştirilen dokulara verilen isimdir. Deri, fasya, kas, kemik dokularını ayrı ayrı ya da birlikte içerecek şekilde kaldırılabilir.

Fleplerin kayda geçen ilk kullanımı M.Ö. 600 yılında Sushruta Samhita isimli antik Hint cerrah tarafından nazal rekonstrüksiyon amacıyla yapılmıştır.<sup>17</sup> Tagliacozzi'nin 1597 yılında Venedik'te yayınladığı eserinde de iki aşamalı bir prosedür olarak distal bazlı kol flebi gösterilmektedir.<sup>18</sup> Alın flebinin İngiliz cerrah Carpué tarafından yine burun rekonstrüksiyonunda kullanımı da tarihi literatürde karşımıza çıkmaktadır.<sup>19</sup> 1818 yılında yayınlanan *Rhinoplastik* isimli kitabında von Graffe alın flebi tekniklerini geliştirdiğinden bahsetmektedir.<sup>20</sup> Alman anatomist Carl Manchot ise 1889 yılında derinin vasküler beslenme konseptini ortaya koymuştur.<sup>21</sup>

Modern flep örneklerinin gelişimi 20. yüzyıl başında Latissimus dorsi kas deri flebinin deri adasını tanımlayan Tansini ile kendini göstermektedir.<sup>22</sup> Davis, Carl Manchot'a atıfta bulunarak aksiyel ve pediküllü kas fleplerini ve de kompozit

flepleri 1919'da tanımlamıştır. Alt ekstremitede kas flebi ile rekonstrüksiyon ilk olarak Stark tarafından tarif edilmiştir. Yüzeysel kaslar üzerindeki deri bölgelerinin beslenmesinde *muskülökütanöz* perforatör damarlar konsepti Orticochea tarafından tanımlandıktan sonra flep cerrahisinin gelişimi hız kazanmıştır.<sup>23</sup>

Pontén 1981'de üstündeki deri bölgesinin dolaşımına katılan *septokütanöz* damarları tanımlamış ve bu tanımları baz alarak fasyokütan flepler tariflenmiştir.<sup>24</sup> Bu tariflerden yola çıkarak flep dokusunun üç boyutlu ele alınmasını öneren ve damar bölgelerini anjiyozom olarak tarifleyen Taylor ve Palmer, perforazom konseptinin doğmasına zemin hazırlamıştır.<sup>25</sup> Saint-Cyr ve ark. tarafından yapılan çalışmalar perforatör haritalanmasının ve perforatör bazlı fleplerini tanımlanmasının önünü açmıştır.<sup>26</sup>

Günümüze gelindiğinde perforazom teorisi ve süper-mikro cerrahi tekniklerin gelişmesiyle defektin rekonstrüksiyonuna uygun deri adaları, üzerinde seyrettiği yumuşak doku, fasya, kas gibi dokulara minimum hasar ile serbest (freestyle) biçimde kaldırılabilir.<sup>27</sup>

### 2.1.2 Fleplerin sınıflanması

Tarihsel süreçte çeşitli isimlendirme önerileri ve çalışmaları olsa da günümüzde fleplerin tek bir başlık altında sınıflanması mümkün görünmemektedir. Bu nedenle flepler farklı özelliklerine göre sınıflandırılır.<sup>28-30</sup>

### 2.1.2.1 Beslenme

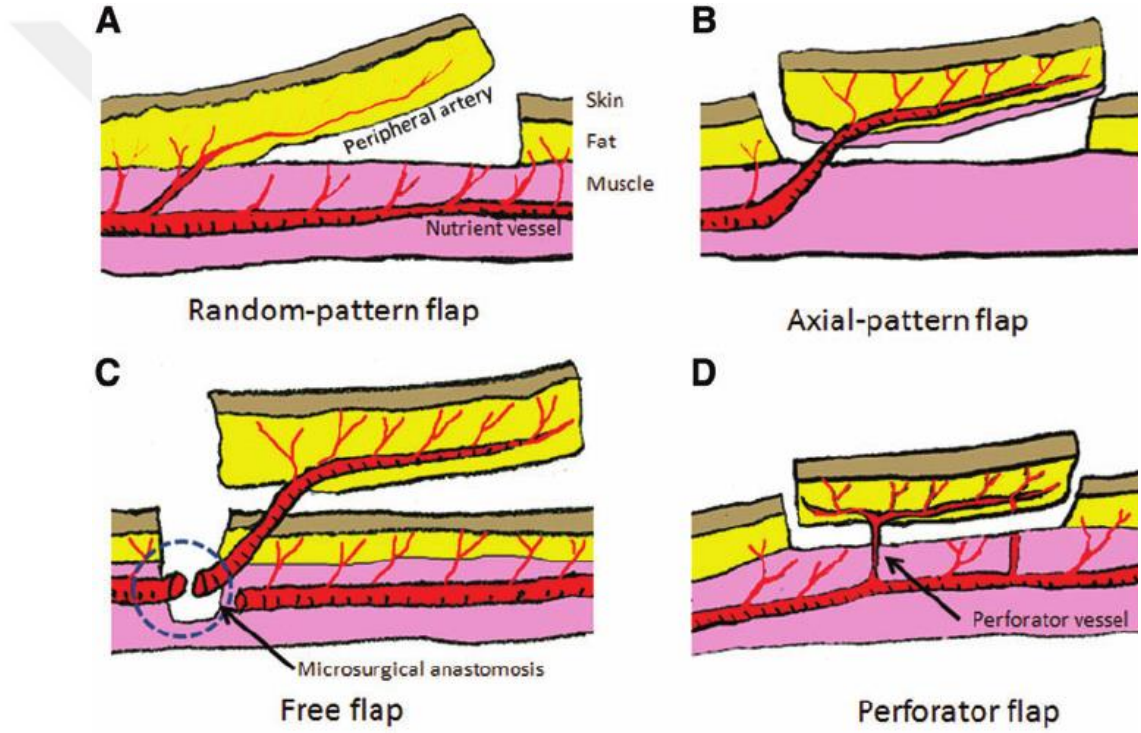
*Random:* Random (rastgele) deri flepleri yalnızca deri/derialtı doku içerirler. Beslenmeleri isimlendirilmemiş deri altı damar ağı tarafından sağlanır. Alıcı sahaya yakın yerleşimlidirler. En:boy oranları 1:1 olarak tasarlanırlar. *Örn. Romboid flep, Bilobe flep, Z-plasti.*

*Aksiyel flep:* Aksiyel flepler isimlendirilmiş damarlar tarafından beslenirler. Bu damarların beslediği deri bölgeleri hali hazırda literatürde tanımlanmıştır. Çoğu aksiyel flep tasarımı, doğru deri bölgesi içinde kaldığında, flebin uzun eksen boyunca seyreden, doğrudan deri arterinden beslenen flep dokusu yaşamını sürdürebilmektedir. *Örn. Kasık flebi.*

Anjiyozom ve perforazom konseptleri bu klinik bilgiler üzerine temellendirilerek yapılan ileri anatomik çalışmalarla ortaya konulmuş ve flep yaşayabilirliğini önemli oranda artırmıştır.<sup>25, 26, 31</sup> Aksiyel flepler pediküllü veya serbest biçimde tasarlanabilirler.

Pediküllü fleplerde flebin özgün vasküler beslenmesi korunarak çevirilir. Serbest fleplerde ise flebe ait arter ve en az bir ven taşıma öncesinde kesilir ve alıcı alanda veya alıcı alan yakınında yeni bir arter ve vene mikrocerrahi yöntemlerle anastomoz edilir.

Perforator flepler de aksiyel fleplerin dolaylı bir alt tipidir. Bu fleplerin besleyici damar yapıları deri adası boyunca seyretmemekte; derinindeki kası veya fasyayı delerek (perfore ederek) besleyeceği bölgeye dik bir açıyla gelmektedir. Perforator seyrine göre *fasyokütanöz*, *septokütanöz* veya *muskülökütanöz* olarak isimlendirilebilir.<sup>32</sup>



Şekil 1: Beslenme tiplerine göre flep türleri.

**A:** Random **B:** Aksiyel **C:** Serbest **D:** Perforator<sup>33</sup>

#### 2.1.2.2 Donör ve alıcı sahaya uzaklık

*Lokal:* Kapatılması gereken defekt alanına komşu bölgelerden köken alır.

*Bölgesel:* Defekte komşu olmayan ancak aynı anatomik bölge içinde yerleşmiş ve beslenmesini buradan alan pediküllü fleplerdir. Bir tünel veya geçiş kesisi içinden seyrederek defekt alanına ulaştırılır.

*Uzak:* Defekt alanından uzak anatomik bölgelerden köken alan serbest ya da pediküllü fleplerdir.<sup>34</sup>

### 2.1.2.3 Doku içeriği

*Deri:* Yalnızca deri içeren flepler sıklıkla lokal flepler olarak kullanılır. Mikrocerrahi teknikler sayesinde serbest olarak kullanımları da mümkündür. *Örn. Skapular ve Paraskapular flep.*

*Kas:* Kas fleplerinin vasküler beslenmesi kas içinde seyrederek ve üzerini örten deriye de perforatörler aracılığıyla erişebilir. Güçlü bir damar ağıyla beslenirler. Taşındıkları bölgelerde üzerleri deri greftleriyle örtülebilir.

*Muskülökütanöz:* Kas ve üzerini örten deri dokusundan meydana gelen fleplerdir. Sıklıkla bölgesel flepler olarak kullanılırlar.

*Fasyökütanöz:* Deri, deri altı dokuyu ve altında yatan derin fasyayı içerir.

*Adipofasyal:* Deri altı yağ doku ve altında yatan derin fasyayı içerir.

*Osteokütanöz:* Deri dokusu yanında kemik komponent de içerir. *Örn. Serbest Fibula Flebi*<sup>35</sup>

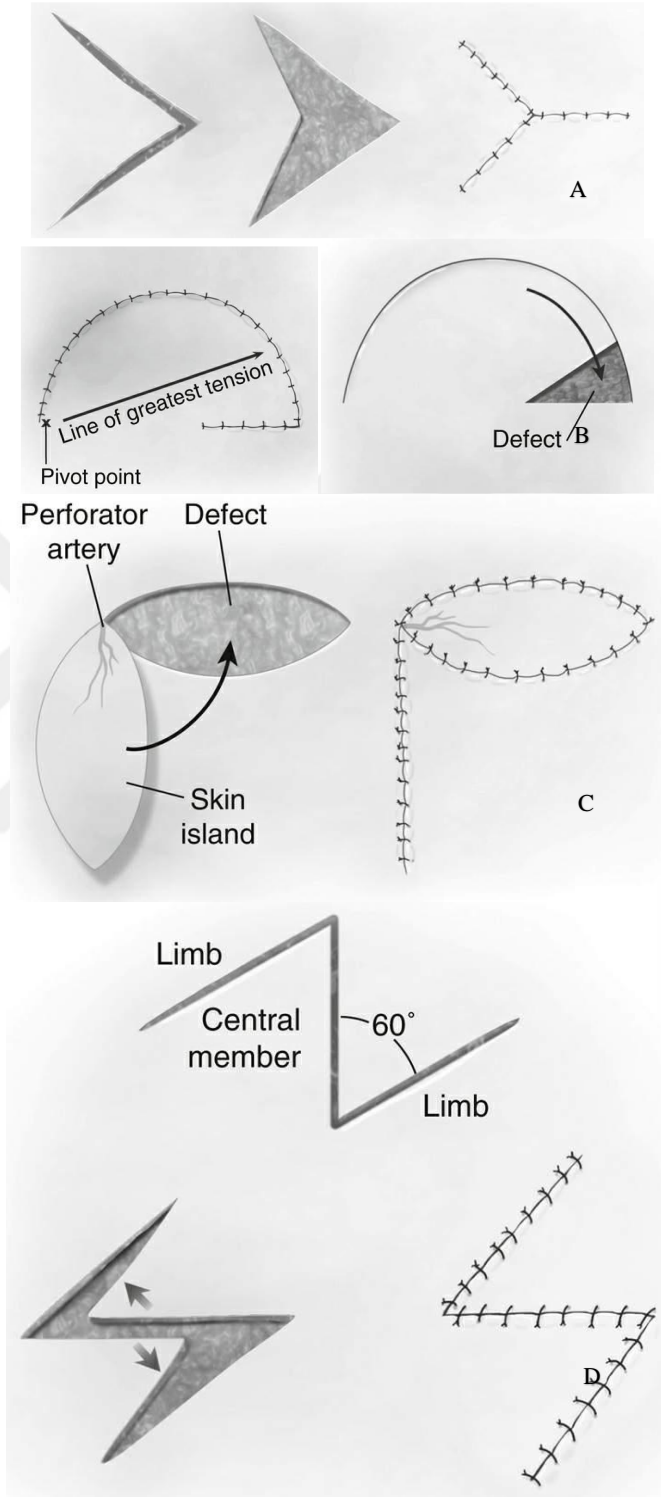
#### 2.1.2.4 Hareket Tipi

*İlerletme:* Dokunun tek yönde düz bir çizgide ilerletilmesidir. Flep tabanında Burrow üçgeni eksizyonları yapılarak derinin kendi üstüne katlanması engellenebilir.

*Rotasyon:* Flep dokusu komşu defekt alanına doğru bir pivot nokta etrafında döndürülerek hareket ettirilir. Rotasyon derecesini artırmak için back-cut yapılabilir.

*Transpozisyon:* Flep dokusu komşu defekt alanına doğru bir pivot nokta etrafında lateral yönde hareket ettirilir. Donör saha defekti başka bir fleple kapatılabilir. *Örn. Romboïd flep, Bilobe flep, Z-plasti.*

*İnterpolasyon:* Adalaştırılan flep dokusu defekt alanına doğru bir pivot nokta etrafında döndürülerek hareket ettirilir. Bir doku köprüsünün üzerinden ya da altından geçirilebilir. *Örn. Paramedyan alın flebi*<sup>36</sup>



Şekil 2: Hareketlerine göre flep türleri

**A:** İlerletme, V-Y flebi; **B:** Rotasyon **C:** İnterpolasyon, Pediküllü Propeller flep; **D:** Z-plasti, Transpozisyon<sup>37</sup>

### 2.1.3 Perforatör fleplerde kanlanma ve dolaşım

İlk olarak 1989'da Koshima ve Soeda tarafından *perforatör* terimi kullanılmıştır. Perforatör flepler temelde fasyokütan ve muskükütanöz fleplerden fasyal bağlantıların ve kasların disseke edilmesiyle oluşturulurlar. Donör saha morbiditesini azaltmak amacıyla yapılan çalışmaların doğal bir sonucu olarak ortaya çıkmışlardır.

*Örneğin geçmişten beri sıklıkla meme rekonstrüksiyonunda kullanılan Transvers rektus abdominis kası (TRAM) muskükütanöz flebi, doku beslenmesinin daha iyi anlaşılmasıyla kas koruyuculu-TRAM prosedürüne evrilmiştir. İlerleyen vasküler anatomi çalışmaları sonucunda da Derin inferior epigastrik arter (DIEA) kas içi seyri ve deriyi besleyen perforatörleri haritalandırılmış ve Derin inferior epigastrik arter perforatör (DIEP) flebi ortaya çıkmıştır.<sup>38</sup>*

Perforatör fleplerin köken aldığı perforatör arterlerin beslediği deri alanlarına *perforazom bölgeleri* denilir. Perforazom teorisi Saint-Cyr ve ark. tarafından şöyle tanımlanmıştır:

- a) *Her perforazom, komşu perforazomlara doğrudan veya dolaylı bağlayıcı damarlarla bağlıdır.*

b) *Flep tasarımı ve deri adasının yönelimi bağlayıcı damarların uzanımını temel almalıdır. Ekstremitelerde aksiyel uzanım gösterirken gövdede orta hatta dik açıyla uzanım gösterir.*

c) *Perforazomların dolumu önce kendi besleyici arterinden köken alan perforatörlerden sonra komşu besleyici arterlerden köken alan perforatörlerden olur.*

d) *Damar ağının büyük kısmını ekleme yakın bölgeden köken alan perforazomlarda akım yönü eklemden uzağa doğrudur.<sup>26</sup>*

Perforatör flepler tanımlandıkça isimlendirilmeleri için de ortak bir dil ihtiyacı doğmuştur. Bu ihtiyaca yönelik 2003 yılında Belçika'nın Gent şehrinde yapılan uluslararası toplantı sonrası varılan uzlaşuya göre perforatör arterler cerrahi diseksiyon prensibine göre beş tipe ayrılmıştır (Şekil 3):

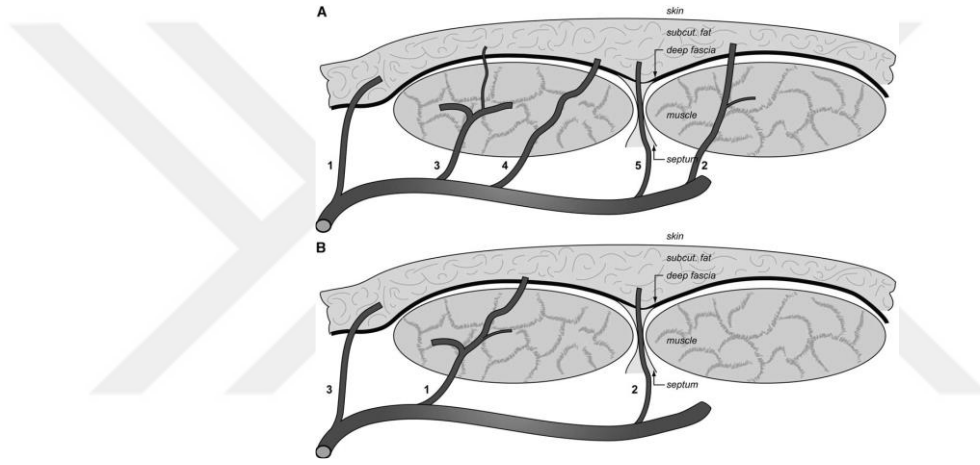
*Tip 1 perforatörler:* Yalnızca derin fasyayı delen doğrudan perforatörlerdir.

*Tip 2 perforatörler:* Ağırlıklı olarak subkütan dokuları besleyen dolaylı kas perforatörleridir.

*Tip 3 perforatörler:* Ağırlıklı olan kası besleyen ancak deri altı dokuları besleyen ikincil dalları da olan dolaylı kas perforatörleridir.

*Tip 4 perforatörler:* Derin fasyayı delmeden önce kas lifleri arasındaki perimisyum içinde ilerleyen dolaylı perimisyal perforatörlerdir.

*Tip 5 perforatörler:* Derin fasyayı delmeden önce intermusküler septumda seyreden dolaylı septal perforatörlerdir.



Şekil 3: Perforatör Tipleri

**A:** 2001 toplantısındaki sınıflama **B:** 2002 toplantısı ile basitleştirilmiş sınıflama<sup>39</sup>

Perforatör flepler deri ve/veya deri altı yağ dokusunu içerir. Flebe beslenme sağlayan damarlar izole edilmiş bir ya da daha fazla perforatörden oluşur. Bu perforatörler derin dokuların (sıklıkla kaslar) ya arasında ya da içinde seyredir. Gent toplantısında, bu prensiplere göre perforatör flepler için altı adet tanımlama belirlenmiştir:

a) *Septumun içinden geçerek üzerindeki deriyi besleyen arterler kas perforatörleridir.*

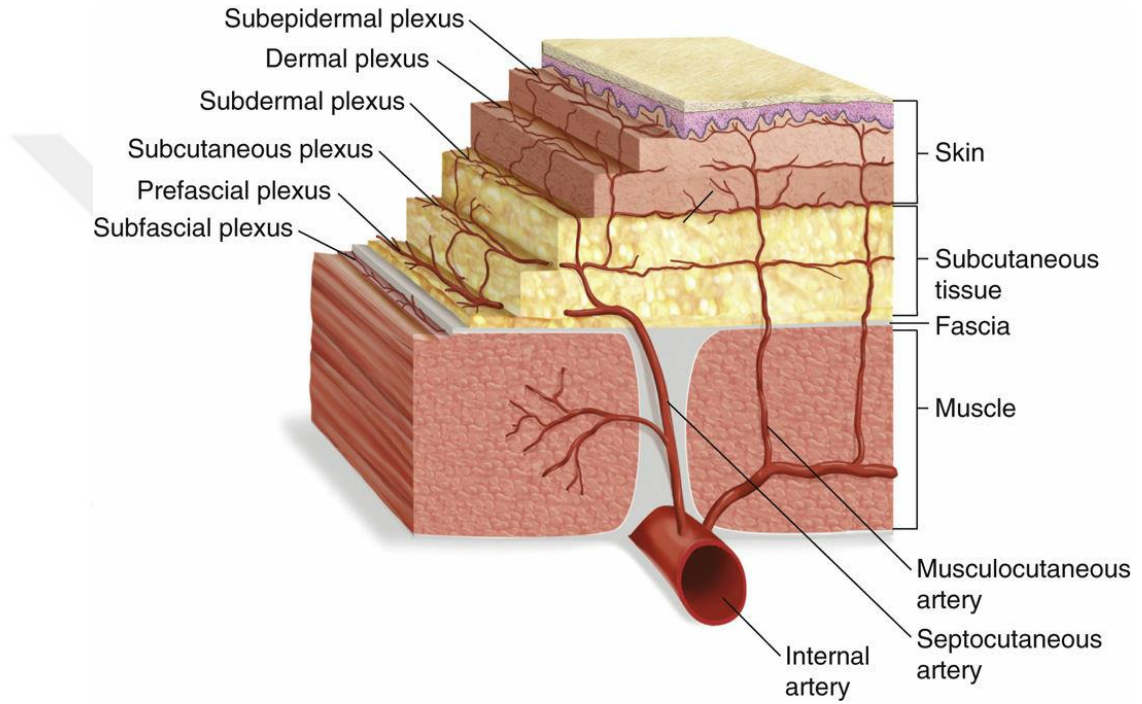
- b) *Yalnızca septumun içinden geçerek üzerindeki deriyi besleyen arterler septal perforatörlerdir.*
- c) *Kas perforatörüyle beslenen fleplere kas perforatör flebi denilir.*
- d) *Septal perforatör ile beslenen flebe septal perforatör flep denilir.*
- e) *Perforatör flep ismini tabanındaki kasta değil beslendiği arter veya damarlardan alır. Eğer tek bir damardan köken alan birden fazla perforatör mevcutsa; tanımlanan her bir flep bulunduğu anatomik bölgeye veya üzerinde bulunduğu kasa göre isimlendirilmelidir.<sup>29</sup>*

Perforatör flepler klasik lokal fleplerin sınırlamalarını aşmak ve süreci basitleştirmek adına atılmış adımlardır. Perforatör pedikülü tespit edip kaynağına kadar uygun diseksiyonla inmek flebin hareket alanını ve yaşayabilirliğini artırmaktadır.<sup>40, 41</sup>

#### 2.1.4 Choke anastomozlar (Dolaylı bağlayıcı damarlar)

Deri ısı düzenleyici ve immünolojik görevleri nedeniyle zengin bir damar ağına sahiptir. Bu damar ağı kendi metabolizmasının ihtiyaç duyduğundan çok daha fazladır. Deri fleplerinin yaşayabilirliği değerlendirilirken bu bilgi göz önüne alınmalıdır.<sup>42</sup>

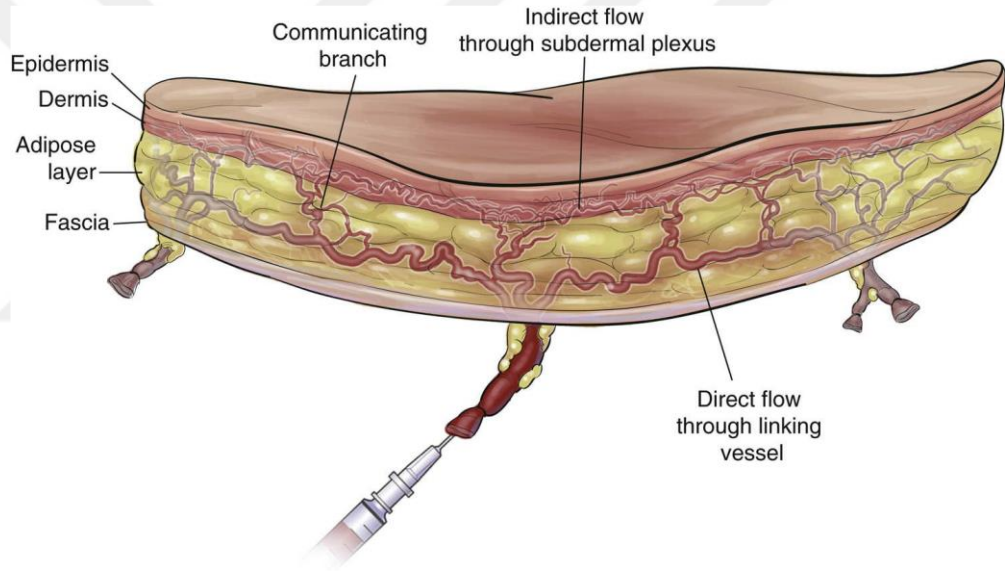
Kan deriye derindeki isimlendirilmiş damarlardan köken alan çok sayıda perforatör arter ve eşlikçi venleri aracılığıyla kasların, septaların ve fasyaların içinden geçerek yüzeysel vasküler ağlara ulaşmasıyla sağlanır (Şekil 4).



Şekil 4: Deri ve derialtı dokunun vasküler ağları<sup>37</sup>

Manchot ve Salmon'ın deri ve deri altı dokunun beslenmesi üzerine yaptığı çalışmaların geliştirilmesi ile 1987'de anjiyozom konsepti tariflenmiştir. Bu tarife göre anjiyozom kemik ve deri arasında uzanan 3 boyutlu bir doku kütesidir ve tek bir kaynak arter ve eşlikçi ven(ler)den beslenir. Anjiyozomlar çeşitli büyüklüklerde olabilir ve komşu anjiyozomlar ile gerçek küçük arteriyoller ve venüller yoluyla küçük çaplı choke (retiform, lat. ağısı şekilli) damarlar yoluyla anastomoz yapabilirler.<sup>43</sup>

Yakın zamanda yapılan çalışmalar anjiyozom konseptini bir basamak daha ileri taşımış ve damarsal beslenme bölgelerine ve kanın akış kalıplarına ışık tutmuştur. Bu çalışmalarda perforatörler tek tek haritalandırılabilmiş ve tek bir perforatörün beslediği doku kütlesi perforazom olarak adlandırılmıştır. Komşu perforazomlar arasında hem fasya (doğrudan) üzerinde hem de derialtı dokuda (dolaylı) seyreden bağlayıcı damarlar aracılı anastomozlar olduğu gösterilmiştir.<sup>26</sup>

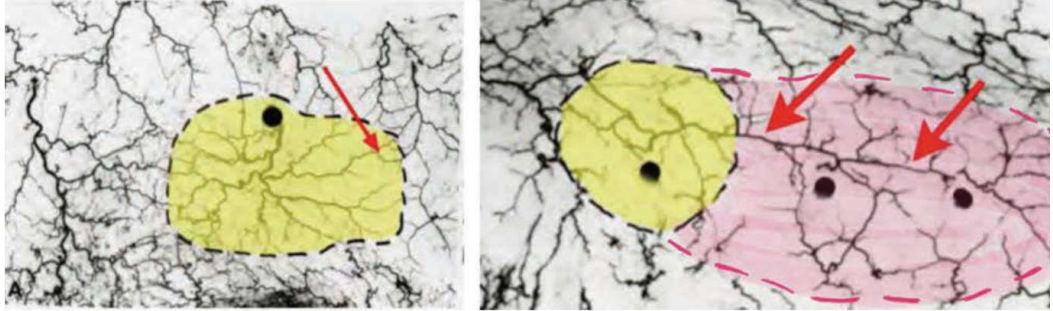


Şekil 5: Perforatörler arası akım

Direkt ve indirekt bağlayıcı damarlar vasıtasıyla gerçekleşmektedir.<sup>37</sup>

Gerçek (doğrudan) anastomozlar perforazom bölgeleri arasında sınırlandırılmamış bir kan akışı sağlarken, choke (dolaylı) anastomozlar perforazom bölgeleri arasında kan akımını kısıtlar. Her iki vasküler konseptte de (anjiyozom ve perforazom) komşu bölgeler arasında bağlantıyı sağlayan aynı damarlar tanımlanmış ancak farklı şekillerde isimlendirilmişlerdir<sup>44</sup>.

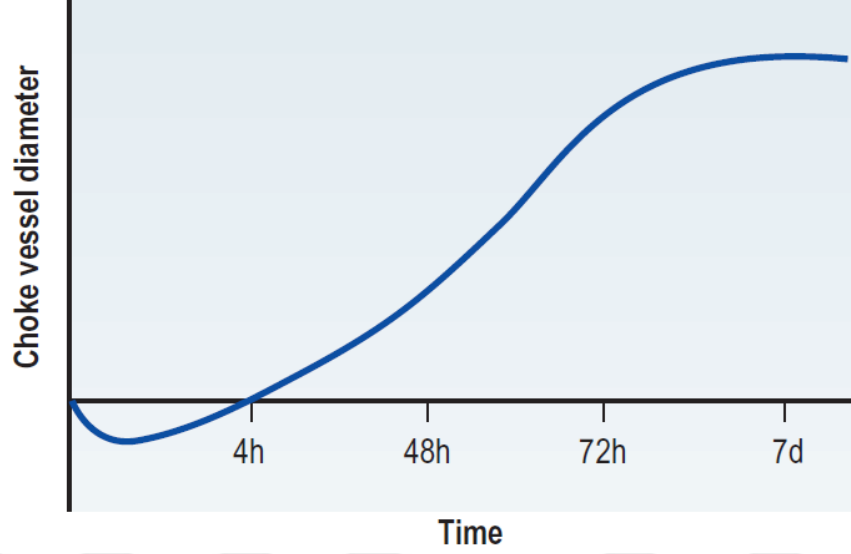
Tek perforatör üzerinden güvenli sınırlarla kaldırılacak flep dokusunun boyutu perforatörler arasındaki anastomozlara bağlıdır. Bu vasküler bölgelerin sınırları choke anastomozlar tarafından belirlenir. Şekil 6'da üst görselin sol kısmındaki sarı alan güvenli sınırı yani choke anastomozlarla belirlenmiş bir perforazomu göstermektedir. Görselin sağ tarafında ise üç perforazomun gerçek anastomozlarla (tam kalibreli arterlerle) bağlı olduğu görülmektedir. Bu nedenle sarı alanın yanına eklenen kırmızı alan da güvenli sınırlar dahilindedir ve sarı alandaki perforatör tek başına kullanılarak kaldırılabilir.<sup>45</sup> Bu alan *fonksiyonel anjiyozom* olarak da adlandırılmıştır.<sup>43</sup>



Şekil 6: Choke ve Gerçek anastomozlar<sup>43</sup>

Deri flebinin yaşayabilirliğinde choke damarlar önemli yer tutar. Flep derisindeki kan akımında erken dönemde boğucu bir etki yaparlar. Flep cerrahisi öncesinde yapılan geciktirme prosedürleri sonrası dar lümenli choke damarların gerçek anastomozların çapına ulaştığı ve flep distalinin nekrozunu önlediği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda bu etkisinin 48-72. saat sonrasında ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Şekil 7). Histolojik incelemelerde damar lümeninde kalıcı

genişleme ve damar duvarında hipertrofi ve hiperplazi yönündeki değişikliklerin bu duruma sebep olduğu anlaşılmıştır.<sup>46,47</sup>



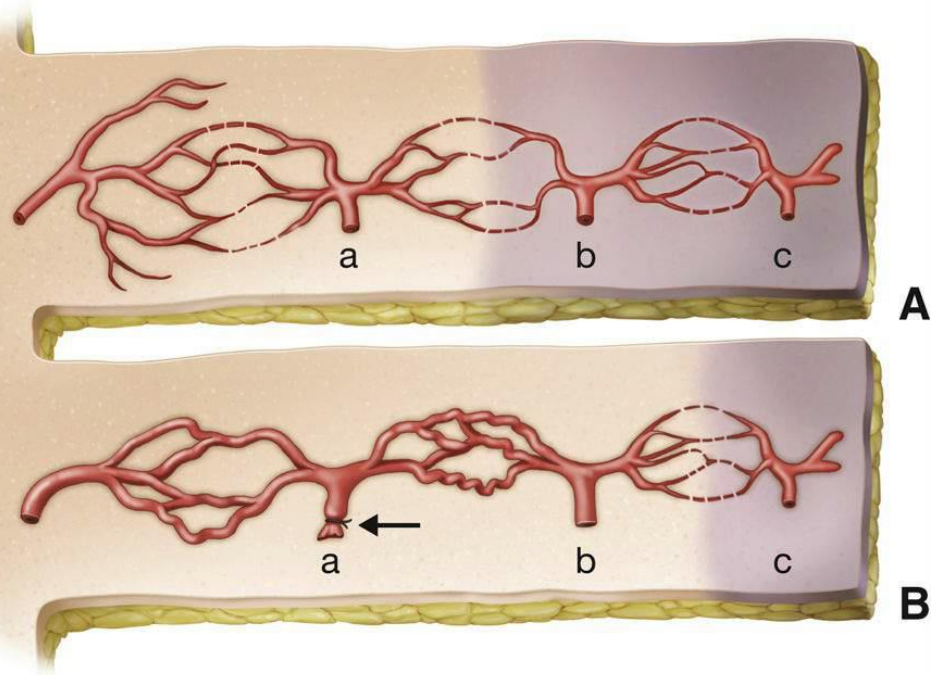
Şekil 7: Choke damarların çap/zaman grafiği<sup>35</sup>

#### 2.1.5 Geciktirme fenomeni (iskemik ön koşullama)

Her bir perforazom bölgesi choke anastomozlar sayesinde komşu perforazom bölgeleri de dahil edilerek kaldırılabilir. Bu nedenle choke anastomozlar geciktirme işleminde önemli yere sahiptir. Flep kaldırıldığında choke anastomozlar ilk olarak kan akımını boğucu etki gösterebilirler de sonradan çapları genişler ve aralarında anastomoz yaptıkları deri arterlerinin boyutuna gelirler. Bu olay damar duvarının tüm katmanlarında hipertrofi ve hiperplaziye sebep olduğundan zamana yayılmış ve kalıcı bir süreçtir. Operasyon sonrası 48-72. saatler

arasında maksimum seviyede seyreder. Nekroz sınırının sıklıkla arteriyel dolaşım ağı içerisinde choke anastomoz hattıyla paralellik gösterdiği de görülmüştür.

Cerrahi olarak flep yaşayabilirliğini artırmak için vasküler pediküllerin çeşitli zaman aralıklarıyla flebin uzun ekseni boyunca ayrılmasına flep geciktirme işlemi denilir. Geciktirme işlemi deri flebinin yaşayabilirliğini arttırdığı ispatlanmış tek prosedürdür. Çeşitli şekillerde gerçekleştirilebilir: planlanmış bir flebin sınırları etrafında kısmi kesi, flep pedikül dışındaki besleyici damarların bağlanması, flebin kısmi ya da tamamen kaldırılması ve yerine iadesi. Bununla beraber geciktirme prosedürü bir ya da birden fazla aşamada da uygulanabilir.



Şekil 8: Geciktirme fenomeni

Geciktirme fenomeninin deneysel hayvan modellerinde flebin uzun ekseni boyunca mevcut arterlerin genişlemesiyle sonuçlandığı gösterilmiştir.<sup>48</sup> Geciktirme uygulanmamış (A), geciktirme uygulanmış (B) deri fleplerinde meydana gelen vasküler çap değişiklikleri<sup>37</sup>

### Geciktirme prosedürünün olası mekanizmaları

*Arteriovenöz (AV) şantların azalması:* Flep cerrahisi sonrası ilk dönemde sempatik innervasyon kaybı nedeniyle AV şantların açılması flep distalinde iskemik nekroza sebep olabileceği düşünülmüştür.<sup>49</sup> Bu nedenle geciktirme cerrahisinin hiperadrenerjik stimülasyonun normale dönene kadar distal doku beslenmesini devam ettirebildiği bu sayede flep yaşayabilirliğini artırdığı hipotezi ortaya konulmuştur. Daha yakın zamanlı çalışmalarda erken cerrahi sonrası dönemdeki AV şant akımının rolünün iskemik nekrozlara anlamlı derecede katkıda bulunmadığı gösterilmiştir.<sup>50, 51</sup>

*Vazokonstriksiyona ve tromboza yol açan ajanların tüketimi:* Cerrahi travmayla beraber nörepinefrin, tromboksan A2, serotonin, endotelin-1 gibi ajanlar lokal olarak artmaktadır.<sup>35</sup> Erken flep sonrası dönemde bu ajanların iskemik nekroz patojenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Geciktirme işleminin bu ürünlerin lokal üretimini azalttığı ve son cerrahi öncesi dokudan temizlenmesine olanak sağladığı düşünülmektedir.

*Choke arterlerin açılması:* Geciktirme sonrası kapiller akımın 48 saat içinde arttığı ve 72. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı bilinmektedir. Bu artış en fazla flebin distal kısmında gözlenmektedir.<sup>46, 52</sup>

*Anjiyojenezin tetiklenmesi: TRAM flebinde yapılan çalışmalarda geciktirme sonrası VEGF geninde ekspresyon artışı ve ilk 12 saatte deri flebinde VEGF ve FGF artışı gözlenmiştir. Bu sitokinlerin vazodilatasyon ve anjiyojenez aracılığıyla deri flebinin yaşayabilirliğini artırdığı düşünülmektedir.<sup>53</sup>*

#### 2.1.6 Sıçanlarda dorsal perforatör damar anatomisi

Memelilerde anjiyozomların tariflenmesi ile sıçanlarda deneysel aksiyel paternli fleplerin tanımlanmaya başlamıştır.<sup>54</sup> Sıçanlar gevşek derili memelilerdir. İnsan derisinden ilk farklılığı deri altı tabaka bulunan *panniculus carnosus* olarak adlandırılan çizgili kas kaynaklı tabakadır. Üzerindeki deri adasına daha sıkı bağlanma gösterir ve altındaki derin kas fasyasının üzerinde serbestçe hareket eder. İnsanlarda sayılı anatomik odakta bulunur. *Örneğin: Platysma, Palmaris brevis, Dartos kası.*

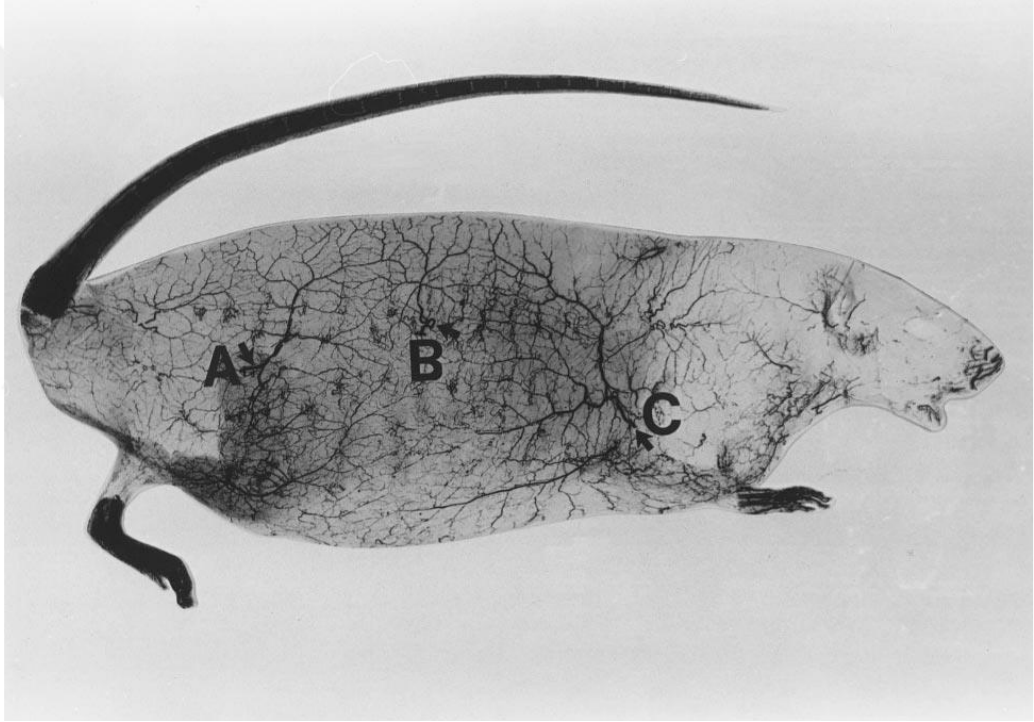
İkinci farklılığı ise gevşek derili memelilerde deri perforanları kas perforatörü sınıfında iken domuz gibi sıkı derili memelilerde deriyi besleyen doğrudan perforatörler bulunur. İnsanlarda ise deri hem doğrudan perforatörler hem de dolaylı (kas ve septal) perforatörler tarafından beslenmektedir.<sup>4, 55</sup>

Sıçanlarda dorsal derinin beslenmesi sırtın her iki yanında birbirinin simetriği olan üç perforatör damardan gelir.<sup>54</sup> Bu damarlar kraniyelden kaudale (Şekil 9):

1) Aksiyel arter kaynaklı lateral torasik arter

2) 10-12 interkostal damarların dorsal dalları kaynaklı İnterkostal arter

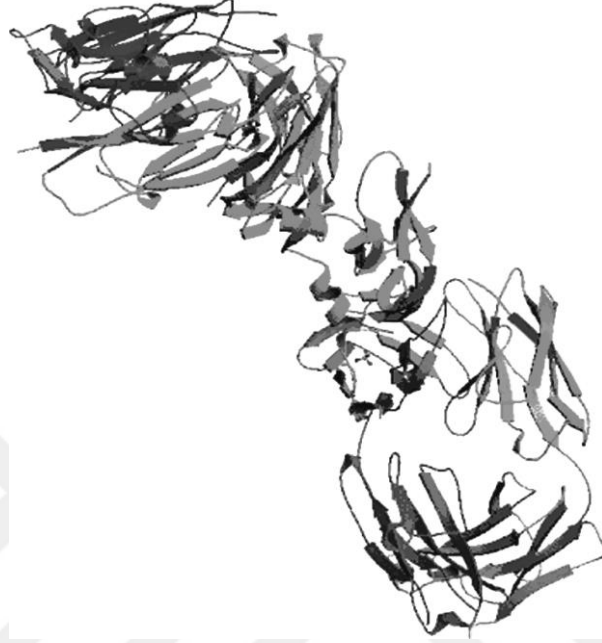
3) İliyolumbar arter kaynaklı Dorsal sirkumfleks iliak arterdir.<sup>56</sup>



Şekil 9: Sıçan dorsal deri anjiyografisi

**A:** Dorsal sirkumfleks iliak arter **B:** İnterkostal arter **C:** Lateral torasik arter<sup>56</sup>

## 2.2 VEGF



Şekil 10: 3 boyutlu VEGF yapısı

### 2.2.1 VEGF'nin geçmişi

20. yüzyılın başlarında neoanjijenez üzerine yayımlanan literatürde Algire, Ashton ve Ide'nin üzerinde durduğu ortak hipotez tümörlerin sağlıklı dokulardan farklı olarak damar büyüme ve gelişmesini artırıcı etkenlere sahip olmasıdır.<sup>57-59</sup> Daha sonra 1971'de Folkman tarafından tümörlerin anjiyojenez karşıtı ajanlarla tedavi edilebileceği hipotezini ortaya sürülmüştür.<sup>60</sup> Ancak hala bu hipotezlerin doğrulanması için gerekli olan protein izolasyonu ve genetik yapının belirlenerek yeniden üretilmesi için teknoloji yetersizdi.<sup>61</sup>

1979'da Dvorak insan tümör hücrelerinden elde edilen hücresiz süpernatantları incelerken damar geçirgenliğini Histamine göre 50.000 kat güçlü artıran bir etken fark keşfetmiş ve Damar geçirgenliği etkeni (VPF) olarak isimlendirmiştir.<sup>62, 63</sup>

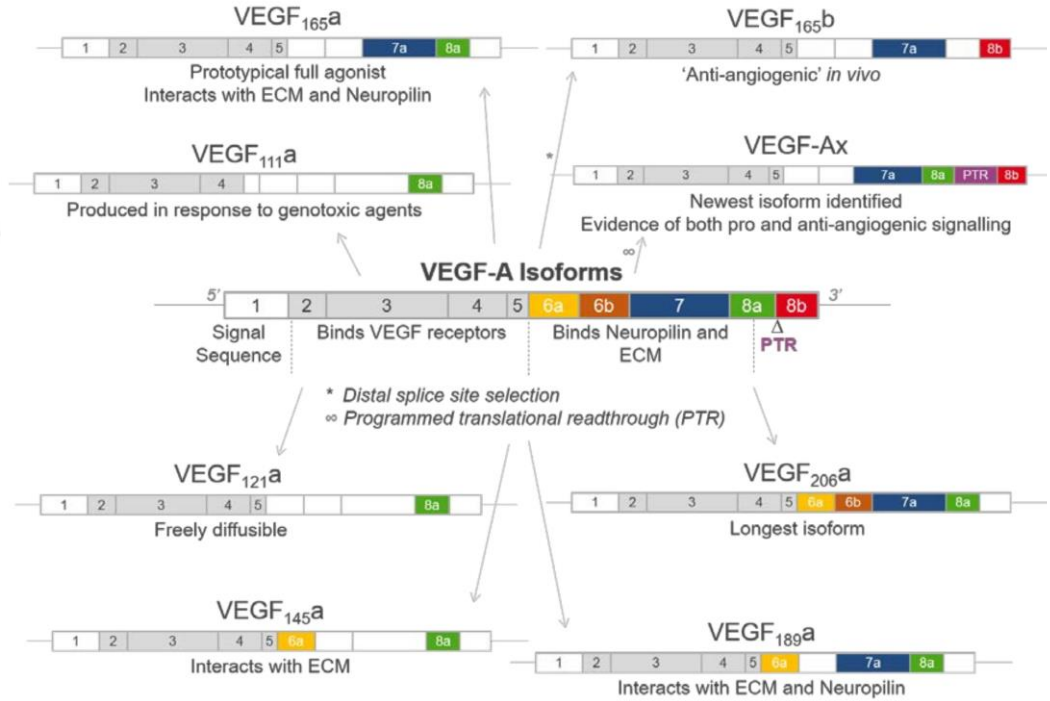
1989'da Ferrara ve Henzel tarafından sığır epifizinde yaptıkları çalışmalarda bilinen endotelial büyüme etkenleri dışında bir biyokimyasal yapı gösteren endotele özgü bir mitojen izole edilmiş ve VEGF olarak adlandırılmıştır.<sup>64</sup>

1989'da Conolly ve ark. VPF'in Endotelial bir mitojen olduğunu, in vivo ve in vitro çalışmalarda anjiyojenik bir etken olduğunu belirtmişler ve genetik sekanslamasını bildirmişlerdir.<sup>65</sup> Ferrara ise sığır ve insan VEGF'sini saflaştırmış ve insan VEGF'sinin üç izoformunu (VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>, and VEGF<sub>189</sub>) tanımlamıştır.<sup>66</sup> Bu yayınlar VPF ve VEGF'nin aynı molekül olduğunu göstermiştir. Bu sayede VEGF'nin hem damar oluşumunu hem de damar geçirgenliğini artırdığı anlaşılmıştır.

1996'da Ferrara ve Carmeliet tarafından yapılan çalışmalarda VEGF'nin embriyonik damar oluşumunda temel rol oynadığı bildirilmiştir. VEGF alelinin inaktivasyonu embriyolarda 11-12. Günlerde ölümcül sonuçlanmıştır. Ön beyinde gelişme geriliği, kalpte malformasyonlar, damar oluşumunda ve hematopoetik hücrelerde gelişim bozuklukları izlenmiştir.<sup>67, 68</sup>

## 2.2.2 VEGF'nin yapısı, etki mekanizması, metabolizması

VEGF, Heparin'e bağlanma gösteren, homodimerik, 45 kDA molekül ağırlığında, PDGF ailesinden bir glikoproteindir. İnsanda hem yeni damar oluşumunun hem de damar geçirgenlik artışının güçlü bir tetikleyicisidir. Gelişmekte olan kan damarlarından salgılandığı ve reseptörlerinin endotelial hücreler ve greftlenmiş sinirlerin akson uçlarında bulunduğu gösterilmiştir.<sup>69</sup>



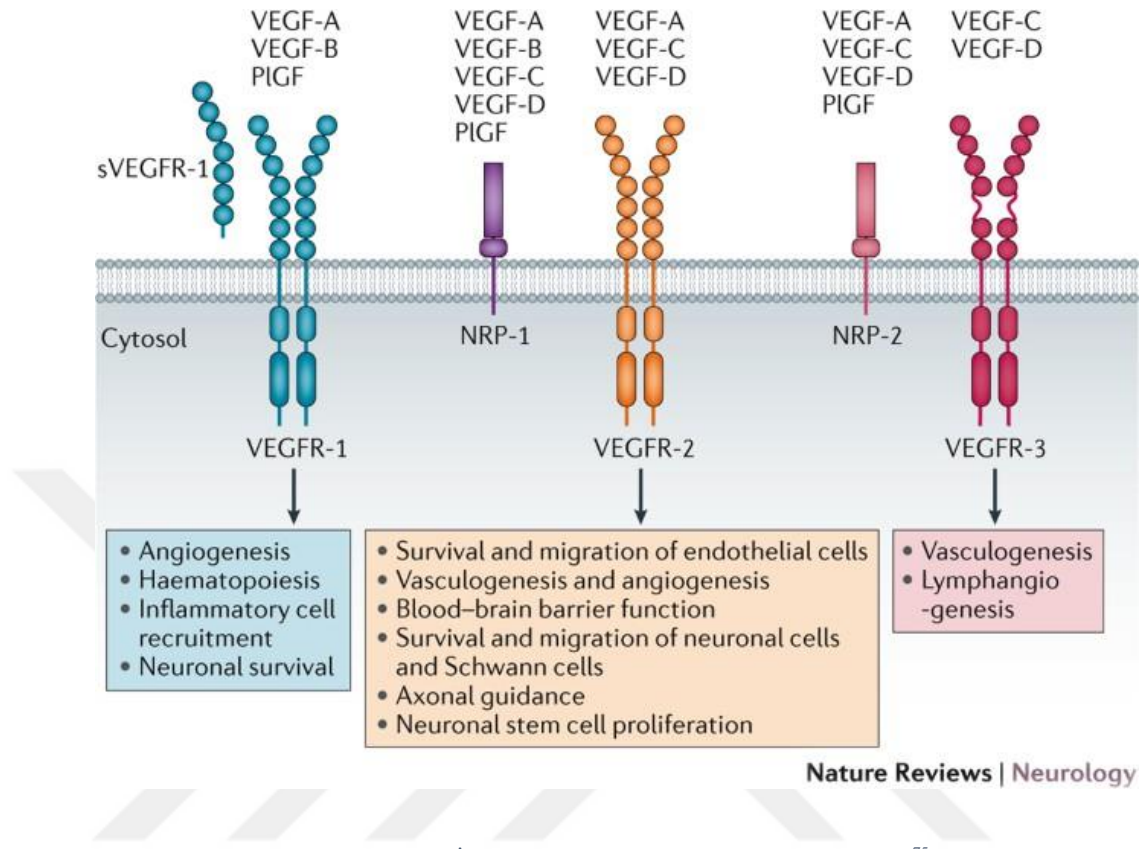
Şekil 11: VEGF-A izoform yapılarının şematik gösterimi<sup>70</sup>

VEGF-A, VEGF gen ailesinin (*VEGF-B*, *Plasenta büyüme etkeni -PlGF-*, *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D* ve *orf virüs kaynaklı VEGF-E*) bahsedilen temel

etkilerini gösteren prototip üyesidir. VEGF-C ve VEGF-D'nin ise birincil olarak lenfanjiyojenezde görevli olduğu gösterilmiştir.<sup>71</sup> İnsan kaynaklı VEGF-A (Yazının devamında VEGF olarak bahsedilecektir.) önce 190 aminoasitlik öncül yapı halinde sentezlenir ve daha sonra alternatif bölünme ile farklı aminoasit sayılarına sahip olgun izoform yapılara (VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub>) dönüşür.<sup>72</sup> (Şekil 11)

Bu izoformlardan VEGF<sub>121</sub> Heparin'e bağlanma özelliğine sahip değildir. Bu nedenle hızla dokuda yayılabilir. VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub> Heparin'e yüksek afinite göstermektedir ve difüzyon özellikleri azdır. VEGF<sub>165</sub>'in ise orta düzeyde bir Heparin afinitesi ve difüzyon potansiyeli gösterdiği bildirilmiştir.<sup>73</sup> Plazmin ve matriks metalloproteazlarının Heparin bağlantı bölgesini VEGF üzerinden ayırarak dokuda daha fazla yayılım gösterebilen yeni izoformlar oluşturduğu da bilinmektedir.<sup>74</sup>

VEGF'nin iki reseptörü de tirozin kinaz yapılıdır. VEGFR-1 (Flt-1 geni) ve VEGFR-2 (Flk-1, KDR geni) olarak isimlendirilen bu reseptörler hücre dışında yedi adet immünglobülin benzeri uzantı içerirler. VEGF reseptörleri endotel hücrelerinde, makrofajlarda, hematopoetik hücrelerde ve yumuşak kas hücrelerinde bulunmaktadır.<sup>70</sup> (Şekil 12)

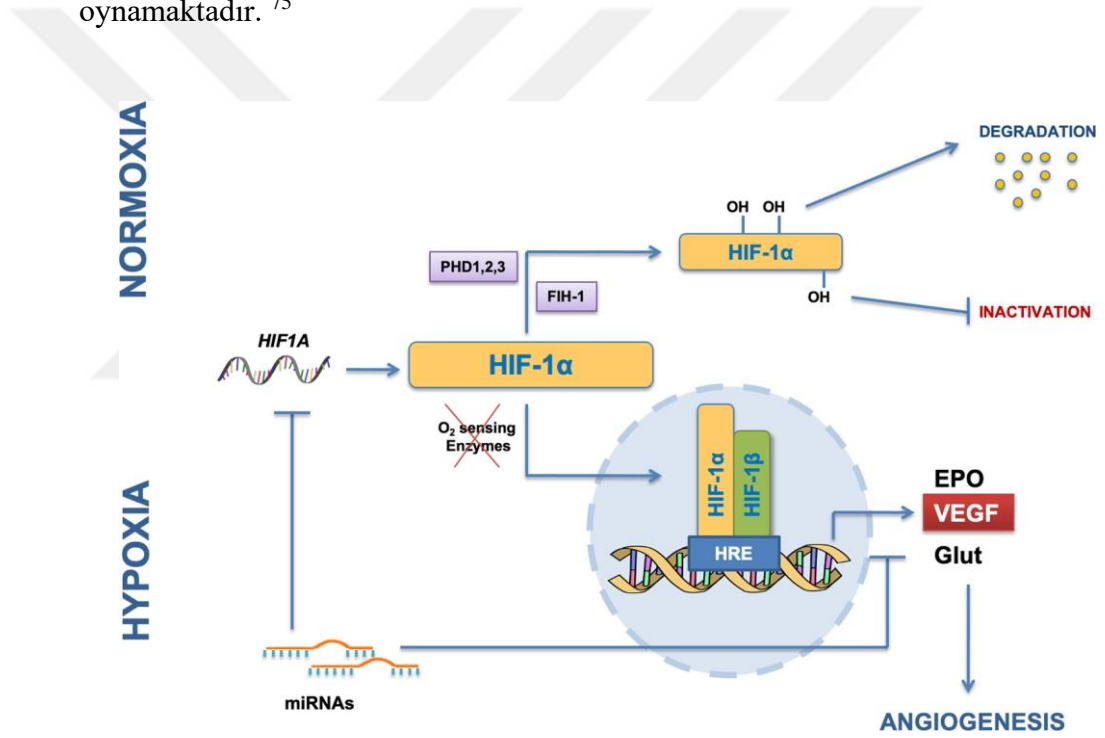


Şekil 12: VEGF İzoformları ve karşılık gelen VEGF reseptörleri<sup>75</sup>

VEGFR-1 yüksek afiniteli bir reseptördür. Bulunduğu hücrenin matürasyon derecesine ve hücre tipine bağlı olarak farklı etkileri meydana getirir.<sup>76</sup> Ayrıca PlGF ve VEGF-B'ye de bağlanma göstermektedir. Ligandına VEGFR-2'den daha yüksek afinite göstermesine karşın endotelial hücrelerde güçlü bir mitojen etki oluşturmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle VEGFR-2 aktivitesinin negatif düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir.<sup>77</sup> Damar endotelinde büyüme etkenlerinin salgılanması ve MMP-9 (Matriks metalloproteinaz – 9 enzimi) indüklenmesi görevini yapar. Bununla birlikte hematopoezde ve monosit kemotaksisinde düzenleyici rol oynadığı bildirilmiştir.<sup>74, 78</sup>

VEGFR-2 de ligandına yüksek afinite gösteren bir reseptördür. VEGF'nin yeni damar oluşumunu başlatıcı ve damar geçirgenliği artırıcı etkilerinden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Dimerizasyon ve ligand bağlı tirozin fosforilasyonu ile mitojenik, kemotaktik ve apoptozu azaltıcı hücre içi sinyal yollarını başlatır.<sup>78</sup>

VEGFR-3 (Flt-4 geni) VEGF-C/D aracılı olarak lenfanjiyojenizde rol oynamaktadır.<sup>75</sup>



Şekil 13: Normoksi ve Hipoksi durumlarının HIF yolağı ve VEGF üzerine etkisi<sup>79</sup>

Hipoksi VEGF ekspresyonunun temel düzenleyicisidir. Bu etkinliğini HIF geni aktivasyonu üzerinden gerçekleştirir. Farklı dokularda EGF (Epidermal büyüme etkeni), PDGF (Platelet kaynaklı büyüme etkeni), onkojenik mutasyonlar

(vhl, ras, wnt-kras sinyal yolağı genleri) koordinasyon içinde çalışarak VEGF sentezini düzenler.<sup>61, 80</sup> (şekil 13)

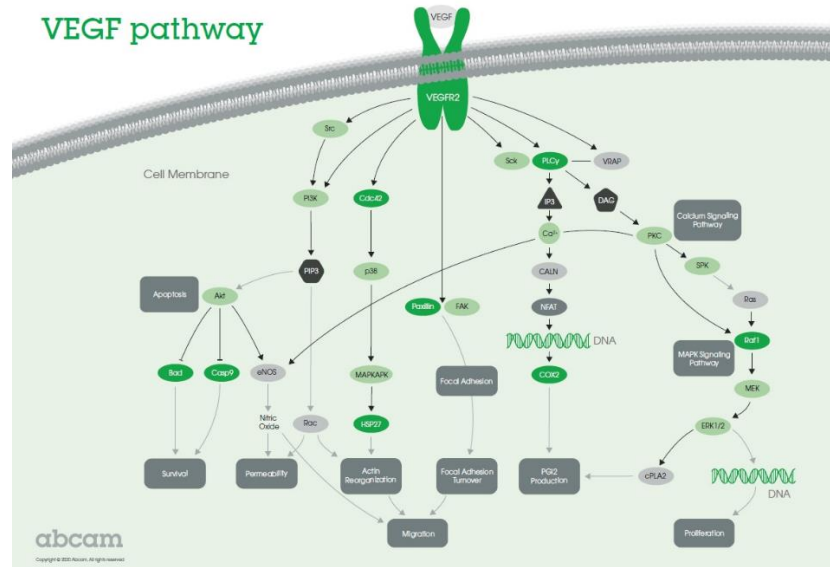
### 2.2.3 VEGF'nin flep fizyolojisindeki yeri

Flep cerrahisi sonrası dokularda VEGF seviyelerinin 24 saat boyunca arttığı gösterilmiştir.<sup>81</sup> Sıçan sırtından random patern kaldırılan deri fleplerinde yapılan çalışmada, cerrahi sonrası 12. ve 24. saatlerde, VEGF artışının en fazla flebin uzun ekseninde orta kısımda olduğu ifade edilmiştir. Bu sonuçlar VEGF'nin canlı dokuda hipoksi şartlarında indüklendiği bilgisiyle uyumludur.<sup>11</sup> Bununla birlikte geciktirme cerrahisi yapılmış sıçan dokularında da VEGF ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir.<sup>53</sup> Hipoksiye maruz kalan epidermal keratinositlerde, dermal fibroblastlarda ve dermal mikro damarlarda VEGF ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı kaydedilmiştir. Bu etkinin dokuda anjiyojenez ile sonuçlandığı ve flep yaşayabilirliğini artırdığı düşünülmektedir.<sup>82</sup> VEGF'nin flep yaşayabilirliği üzerine etkileri akut ve uzamış olarak incelenebilir.

Vazodilatasyon ve damar geçirgenlik artışı akut dönem etkilerdir. Endotelial hücrelerde NOS (nitrik oksit sentaz) enziminin uyarılmasının sıçan derisindeki flep dokusunda vazodilatör etki yaptığı olduğu gösterilmiştir.<sup>83</sup> Norepinefrin ve endotelin ile önceden vazokonstrikte edilmiş domuz derisinde yapılan çalışmada VEGFR-2 aracılı NOS sentezi ve salınımının artması beraberinde fosfolipaz C, protein kinaz C, inositol, 1,4,5,-trifosfat, hücre içi

kalsiyum depolarının artışının anlamlı derecede vazodilatasyona yol açtığı bildirilmiştir.<sup>84</sup> Damar geçirgenlik artışı VEGF'nin yol açtığı bir diğer akut dönem etkisidir. Verildiği dokularda kapiller ve venüllerde fenestrasyonlar oluşturarak damar dışı doku sıvısını artırmakta ve ekstraselüler matrikse endotel hücre migrasyonuna yardımcı olmaktadır.<sup>85</sup>

Uzamış etkilere baktığımızda VEGF aracılı neovaskülarizasyonun, fleplerin alıcı yatağa tutunmasında ve geciktirme fenomeni sürecinde yaşayabilir flep bölgelerinin genişlemesinde başat rol oynadığı söylenebilir. Bununla beraber anjiyojenez sürecinde endotel hücrelerinin artmış enerji ihtiyacına cevap verebilmek için membrandan glikoz geçişini artırdığı ve yeni endotel dokusunu koruyan anti-apoptotik etkenlerin ekspresyonunu uyardığı da bildirilmiştir.<sup>86, 87</sup>



Şekil 14: VEGF'nin reseptör aracılı etkileri<sup>88</sup>

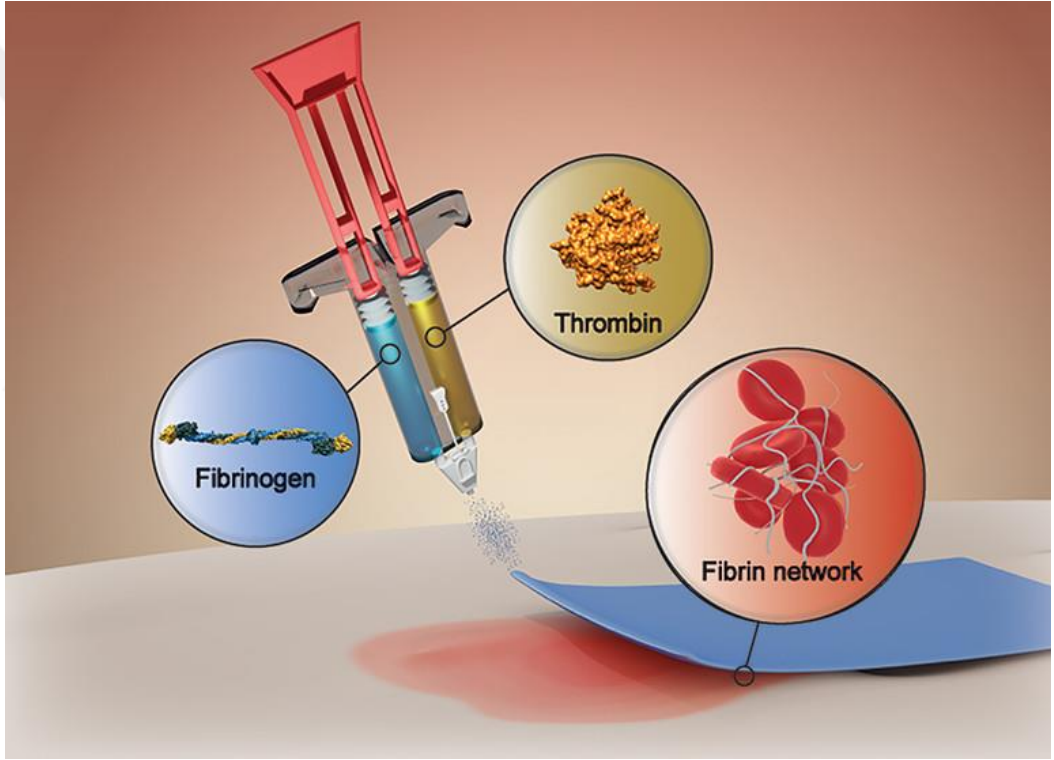
## 2.3 Fibrin Yapıştırıcı

### 2.3.1 Fibrin yapıştırıcının tarihi

Fibrin yapıştırıcıların (fibrin glue, fibrin sealant, fibrin adhesive) hemostatik amaçla kullanımı Bergel tarafından öne sürülmüştür.<sup>89</sup> 1940'da Young ve Medawar fibrin yapıştırıcının periferik sinir onarımında kullanımını bildirmiştir<sup>90</sup>. Cronkite ve ark. deri greftlenmesinde sığır trombini ve plazma fibrinojeni karışımının etkilerini araştırmışlardır<sup>91</sup>. Matras ve ark. 1972 yılında fibrinojenin yoğunlaştırılmış bir formu üzerinde çalışmış<sup>92</sup> ve aynı yıl Avrupa'da ticari bir fibrin yapıştırıcı formu piyasaya sürülmüştür.<sup>9</sup> 1978 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından önce onay verilmesi geciktirilmiş<sup>93</sup> ardından 1998 yılında onaylanınca Amerika Birleşik Devletleri (ABD) piyasasına fabrikasyon fibrin ancak yapıştırıcılar girebilmiştir. Bu onayın en önemli nedeni insan immün yetmezlik virüsü (HIV), hepatit C virüsü (HVC), hepatit B virüsü (HBV) gibi kan yolu ile bulaşan virüslerden korkulmasıdır.<sup>94</sup>. FDA onayı öncesi de ABD'de kişinin kendi kanından elde edilen otolog fibrin yapıştırıcılar kullanılmıştır<sup>95</sup>.<sup>96</sup>. Havuzlanmış insan plazmasından elde edilen fabrikasyon fibrin yapıştırıcılar günümüzde birçok farklı endikasyon ile kullanılmaktadır.

### 2.3.2 Fibrin yapıştırıcının yapısı, etki mekanizması ve metabolizması

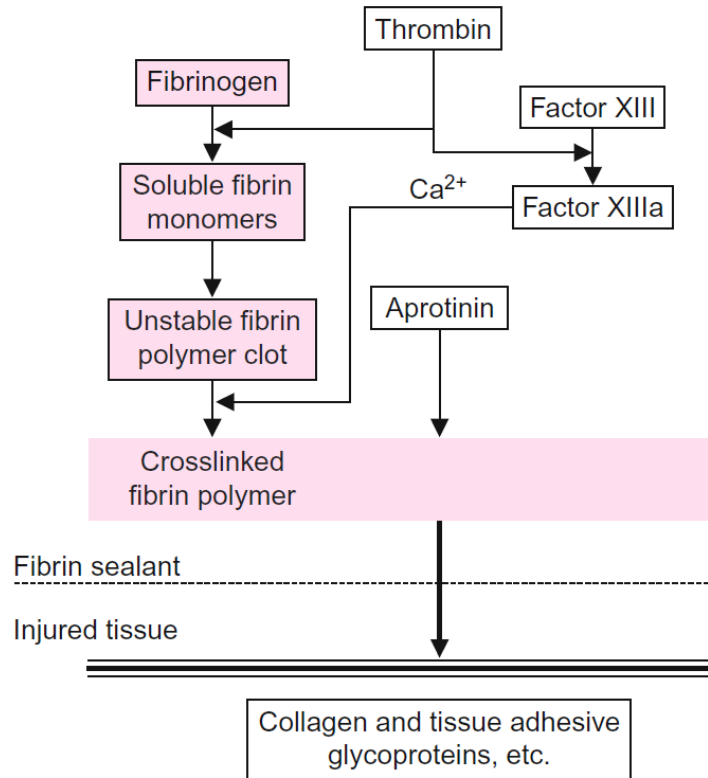
Fibrin yapıştırıcı, temelde fibrin ve trombinden oluşan bir kan ürünüdür. Eser miktarda kalsiyum ve Faktör XII varlığında, trombin fibrinojeni ürünün son ve stabil hali olan çözünmeyen fibrin yapısına dönüştürür.<sup>97</sup>



Şekil 15: Fibrinojen ve Thrombin karışımıyla oluşan bir ticari fibrin yapıştırıcı uygulayıcısı

Koagülasyonun ilk aşaması plateletlerin agregasyonu ve birikimidir. Bu basamak protrombinin enzimatik olarak parçalanıp trombine dönüşmesiyle sonuçlanan bir dizi enzim substrat ilişkisini başlatır. Oluşan trombin, fibrinojeni alfa ve beta zincirlerine ayırarak fibrin monomerlerini oluşturur. Bu monomerler

polimerleşerek çözünmeyen fibrin yapısını oluşturur. Trombin ayrıca fibrin molekülleri arasındaki kovalent bağ oluşumunun katalizörlüğünü yaparak çözülmeye dirençli çapraz bağlı pıhtı yapısını kuvvetlendiren Faktör XIII'ü etkinleştirir. Trombin oluşumu için gereken tepkimelerde kalsiyum iyonlarının varlığında gerçekleşir. Fibrinin hücrel ve hücre dışı alanda bulunan adeziv glikoproteinler ve kolajen ile çapraz bağlantılar kurması pıhtının hasarlı bölgeye sıkıca tutunmasını sağlar<sup>98</sup>. Aprotinin ise bir proteaz inhibitörüdür ve fibrin pıhtının fibrinolitik mekanizmalarla in vivo erken yıkımını engeller<sup>99</sup> (Şekil 15).



Şekil 16: Fibrin yapıştırıcının basitleştirilmiş etkinlik şeması<sup>100</sup>

Trombin, fibrinojen, kalsiyum, Faktör XII ve aprotinin ticari fibrin yapıştırıcılardaki etkin ana bileşenlerdir.<sup>100</sup> Bu ana bileşenler dışında farklı markalı ürünlerde değişiklik gösterebilen yardımcı bileşenler de vardır, örnek olarak Tablo 1’de bu çalışmada da kullanılan Tisseel® (Baxter AG, Viyana, Avusturya)’in bileşenleri verilmiştir. Tisseel® yapıştırıcı protein solüsyonu (sealer protein) ve trombin solüsyonu olmak üzere iki bileşenlidir. Trombin ve fibrinojen insan kaynaklı, aprotinin ise sığır ya da sentetik kaynaklı olabilmektedir.

Tablo 1: Tisseel® (Baxter AG, Viyana, Avusturya) içeriği<sup>101</sup>

	<b>Yapıştırıcı Protein Solüsyonu</b>	<b>Trombin Solüsyonu</b>
<b>Aktif Bileşenler</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fibrinojen (insan)</li><li>• Aprotinin (sentetik)</li><li>• Faktör XIII</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Trombin (insan)</li><li>• Kalsiyum Klorid</li></ul>
<b>Yardımcı Bileşenler</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Albumin (insan)</li><li>• Histidin</li><li>• Nikotinamid</li><li>• Polisorbat 80</li><li>• Sodyum Sitrat</li><li>• Su (enjeksiyon için)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Albumin (insan)</li><li>• Sodyum klorid</li><li>• Su (enjeksiyon için)</li></ul>

*Tisseel® ürününün kullanıma hazırlanması ve enjeksiyon sistemine aktarımı ‘3. Gereç ve Yöntem’ bölümünde detaylı anlatılacaktır.*

Farklı üreticilerin fibrin yapıştırıcıları içerik olarak değişiklik gösterebilmektedir. Tablo 2’de ilaç piyasasında bulunan fibrin yapıştırıcı alternatiflerinin özellikleri özetlenmiştir.<sup>102</sup>

Tablo 2: Piyasada bulunan fibrin yapıştırıcıların içerikleri

Ticarı Adı	Fibrin ojen	Trombin	Faktör XII	Plazmin inhibitörü (Aprotinin)	Yardımcı Maddeler
<b>Tisseel</b>	67–106 mg/mL	400–625 IU/mL	0.6–5 IU/mL	2250–3750 KIU/mL	Histidine; albumin (insan); NaCl; niasinamid; polisorbitat 80; trisodyum sitrat
<b>Artiss</b>	67–106 mg/mL	2.5–6.5 IU/mL	0.6–5 IU/mL	2250–3750 KIU/mL	Histidine; albumin (insan); NaCl; niasinamid; polisorbitat 80; trisodyum sitrat
<b>Evicel</b>	55–85 mg/mL	800–1200 IU/mL	9 IU/mL		Arjinin HCl, CaCl <sub>2</sub> ; glisin; albumin (insan); NaCl; manitol; sodyum asetat; sodyum sitrat
<b>Raplixa</b>	79 mg/g	699 IU/g			CaCl <sub>2</sub> ; human albumin, L-arginine HCl; NaCl; sodyum citrate; trehalose
<b>CistaSeal/VeraSeal</b>	80 mg/g	500 IU/mL			Arjinin; CaCl <sub>2</sub> ; glutamik asit monosodyum; glisin; albumin (insan); izolösin; NaCl; sodyum sitrat dihidrat
<b>Beriplast P</b>	90 mg/g	500 IU/mL	60 U/mL (40–80 )	1000 KIU/mL	Albumin (insan); L-arjinin HCl; L-izolösin; NaCl; sodyum sitrat dihidrat; sodyum L-glutamat monohidrat

Oluşan fibrin pıhtı, fibrin yapıştırıcı içindeki anti-fibrinolitik bileşen sayesinde gecikmeli olarak, yaklaşık birkaç hafta içerisinde, fibrinoliz mekanizması ile yıkılmaktadır<sup>103</sup>.

### 2.3.3 Fibrin yapıştırıcının kullanım alanları

Fibrin yapıştırıcının günümüzdeki kullanım alanları üç başlık altında incelenebilir. Birincisi hemostaz amacıyla kullanım, ikincisi yapıştırıcı ya da tıkaçıcı ya da bariyer amacıyla kullanım, üçüncüsü ise ilaç ya da diğer biyoaktif maddeler için taşıyıcı amacıyla kullanım.

Hemostaz amacıyla fibrin yapıştırıcı kullanımı literatüre bakıldığında ilk olarak kardiyovasküler cerrahide anastomoz hattı çevresinde ya da diğer bölgelerde sonrasında açık veya endoskopik abdominal cerrahide karaciğer, dalak yaralanmalarında kanamayı engellemek amacıyla, diş çekimlerinde, etkisi pıhtılaşma yolağının ilk basamaklarına bağlı olmadığı için pıhtılaşma bozukluğu veya etken eksikliği hastalarında, endonazal operasyonlarda nazal tamponlamaya alternatif olarak, yanık debridmanı sonrasında ve deri grefti verici sahalarda hemostaz sağlamak tercih edilmiştir<sup>95, 104-111</sup>.

Yapıştırıcı olarak fibrin yapıştırıcı sinir onarımında, deri greftlerinin immobilizasyonunda, deri dikişlerine alternatif olarak kullanılmıştır<sup>112-114</sup>. Tıkaçıcı olarak vücut sıvıları (plazma, lenf, beyin omurilik sıvısı (BOS), gastrointestinal içerik) ve hava kaçaklarının önlenmesinde, fistül onarımında, cerrahi sonrası defektlerde ölü boşluğu doldurarak seroma, hematoma ve enfeksiyon oluşmasını engellemek amacıyla kullanılmıştır.<sup>115-118</sup> Bariyer olarak dura onarımlarında, intestinal anastomozların çevresinde kullanılmıştır<sup>119, 120</sup>.

Taşıyıcı olarak fibrin yapıştırıcı kullanımı da birçok farklı ilaç, hücre ya da madde için denenmiştir. Bu çalışmada fibrin yapıştırıcının yapıştırıcı ve taşıyıcı fonksiyonları kullanılmıştır. Bu amaçlarla kullanımından '2.2.5. *Fibrin yapıştırıcının taşıyıcı olarak kullanımı*' alt başlığında daha detaylı bahsedilecektir.

#### 2.3.4 Fibrin yapıştırıcının taşıyıcı olarak kullanımı

Fibrin yapıştırıcıların içine farklı ilaç, hücre ya da madde karıştırarak taşıyıcı olarak kullanılması 80'li yıllarda başlamıştır. Eklenen maddelerin, oluşan fibrin pıhtının haftalar içinde yıkılması sırasında yavaş olarak açığa çıkarak kontrollü salınımın gerçekleşmesi ilkesine dayanır. Ticari preparatların kolay ulaşılabilir, hazırlanabilir ve uygulanabilir olması en önemli avantajıdır. 1986'da Zilch ve ark. osteomyelit hastalarında sefotaksim içeren fibrin yapıştırıcının kontrollü salınım amacıyla kullanımının etkili olduğunu raporlamışlardır<sup>121</sup>. Zamanla çeşitli ilaç, hücre, hormon, büyüme etkeni taşıyıcısı olarak kullanıldığı ve fibrin yapıştırıcının bu maddeler ile kimyasal ilişkisini inceleyen çalışmalar raporlanmıştır<sup>10, 122</sup>.

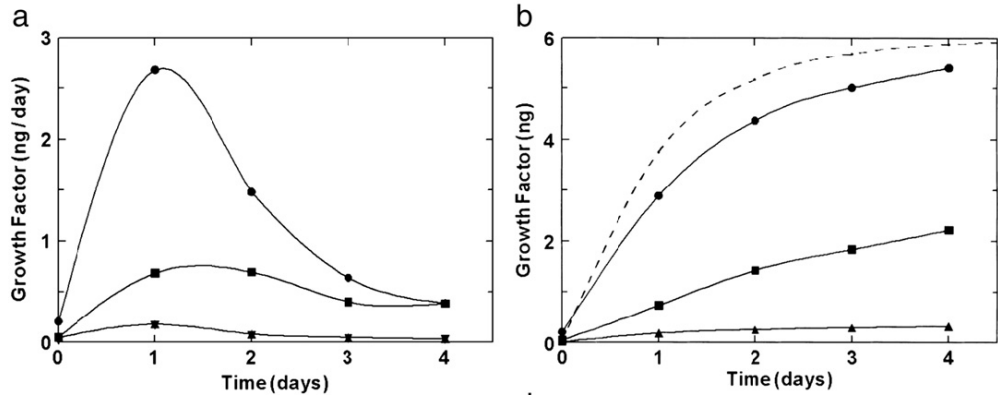
2001'de Kitajiri ve ark. lidokain içeren fibrin yapıştırıcının tonsillektomi sonrası ağrı tedavisinde etkili olduğunu raporlamışlardır.<sup>123</sup> Fu ve ark. ropivakain içeren fibrin yapıştırıcının laparoskopik kolesistektomi sonrası ağrı tedavisinde etkili olduğunu raporlamışlardır<sup>124</sup>. Lendeckel ve ark. adipoz doku kaynaklı kök hücre içeren fibrin yapıştırıcının travmatik kalvaryal defekt tedavisinde

kullanılabileceğini raporlamıştır<sup>125</sup>. Stendel ve ark. taurolidin içeren fibrin yapıştırıcıların beyin tümörü rezeksiyonu sonrası lokal kemoterapi amacıyla kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>126</sup>. Opitz ve ark. sisplatin içeren fibrin yapıştırıcıların malign plevral mezotelyoma nedeniyle yapılan pnömonektomi sonrası intrakaviter lokal kemoterapi amacıyla kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>127</sup>. Hafeli ve ark. Renyum-188 içeren fibrin yapıştırıcıların beyin tümörü rezeksiyonu sonrası brakiterapi amacıyla kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>128</sup>. Qi ve ark. papaverin içeren fibrin yapıştırıcının arter greftinde vasospazmın engellenmesi amacıyla kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>129</sup>. Schillinger ve ark. fibrin yapıştırıcının nükleik asit vektörleri taşıyıcısı olarak kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>130</sup>. Nie ve ark. köpek akut enfarktüs modelinde FGF içeren fibrin yapıştırıcının miyokard perfüzyonunu ve kardiyak fonksiyonu artırdığını raporlamışlardır<sup>131</sup>. Singh ve ark. ratlarda ksifoid kırıkta defekt modelinde, fibrin yapıştırıcının kondrosit taşıyıcı olarak etkili olduğunu raporlamışlardır<sup>132</sup>.

Ozaki ve ark. vankomisin içeren fibrin yapıştırıcının metisilin dirençli staphylococcus aureus enfeksiyonuna karşı kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>133</sup>. Cashman ve ark. sefazolin, fusidik asit, 5-florourasil içeren fibrin yapıştırıcıların titanyum implant enfeksiyonuna karşı kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>134</sup>. Farklı antibiyotikler ile fibrin yapıştırıcı kombinasyonlarındaki salınım zamanı farklılıklarını araştıran çalışmalar mevcuttur<sup>135, 136</sup>. Fujioka-Kobayashi ve ark. güçlü bir osteojenik indüktör olan rekombinant insan kemik morfogenetik proteini-

9 içeren fibrin yapıştırıcının kemik rejenerasyonunda kullanılabileceğini raporlamışlardır<sup>137</sup>.

Fibrin bazlı biyomaddelerin insan büyüme etkenleriyle kullanımı Wong ve ark. tarafından incelenmiştir. Yaptıkları çalışmada damarlanmayı artırıcı insan büyüme etkenlerinin fibrin yapıştırıcı ile hazırlanması ve bu proteinlerin salınım kinetiği incelenmiştir. Fibrin yapıştırıcıyla hazırlanan kontrollü yavaş salınım preparatların tavuk embriyosundaki deneylerinde yeni damar oluşumunu ve olgunlaşmasını fibrinsiz gruplara göre anlamlı oranda artırdığı raporlanmıştır<sup>16</sup> (Şekil 17).



Şekil 17: Fibrin yapıştırıcı karışımından büyüme etkeni salınımı

a) Günlük büyüme etkeni salınımı: VEGF<sub>165</sub> (■) bFGF (▼) VEGF121 (●) and bFGF (▲)

b) İlk grafikte gösterilen salınım değerlerinin kümülatif grafiği. Kesikli çizgi kontrollü salınım olmaması durumunda, büyüme etkeni salınım eğrisini göstermektedir.<sup>16</sup>

## 2.4 İndosiyanin Yeşili ve Kızılötesine Yakın Anjiyografi

### 2.4.1 İndosiyanin yeşili ve anjiyografinin kullanım alanları

İndosiyanin yeşili (İSY) ve kızılötesine yakın floresan anjiyografi (KYFA) doku perfüzyonunu gösteren standardize, yeniden uygulanabilir, yüksek tanısal kesinliğe sahip bir gerçek zamanlı görüntüleme yöntemidir<sup>138</sup>. İndosiyanin yeşili ilk kez 1957 yılında kalp ve karaciğer fonksiyon tespitinde kullanılmıştır<sup>139, 140</sup>. 1959 yılında FDA, indosiyanin yeşilinin insan bedeninde tıbbi amaçlar için kullanılmasını onaylamıştır. 1970'li yıllarda oftalmolojik olgularda kullanım sıklığı artmıştır<sup>141</sup>. 1977 yılında ilk olarak arteriyelize fleplerin canlılığını değerlendirmek için kullanılmıştır. 2003 yılında Betz ve ark. deri fleplerinde yakın kızılötesi analiz ile uyumlu olarak ICG anjiyografinin uygulanabilirliğini göstermişlerdir<sup>142</sup>.

### 2.4.2 İndosiyanin yeşilinin yapısı, plazmada taşınımı ve metabolizması

İSY, lipoproteinlere bağlandığından ekstravaze olmayan, kısa ömürlü, kızılötesine yakın dalga boyunda floresans veren, toksik olmayan ve iyonize olmayan bir maddedir İSY molekülü iki lipofilik polisiklik parçadan oluşur ve bu parçalar birbirlerine bir karbon zinciri ile bağlıdırlar. Her polisiklik parçaya bir sülfat grubu bağlıdır ve molekül bu sayede hidrofilik özellik kazanır. Bu kompleks moleküler yapı ampifilik (hem hidrofilik hem de lipofilik) bir yapıya yol açar<sup>143</sup>. İntravenöz enjeksiyondan sonra %98 oranında plazma proteinlerine bağlanır ve neredeyse tamamen proteine bağlı kalır. Özellikle albümin ve alfa lipoproteinler

aracılığıyla taşınır böylece damar içinde kalır<sup>144, 145</sup>. Plazma proteinlerinin yapısını değiştirmez.

Lazer veya ışık yayan diyotla uyarıldığında maksimum 805 nm'de emilim ve maksimum 835 nm'de ışıma gösteren bir floresan maddedir. Kızılötesine yakın aralıkta 800 nm dalga boyundaki ışıma, su veya hemoglobin tarafından minimum düzeyde emilir ve derin dermal pleksus ve deri altı yağ içindeki kan damarlarının net bir şekilde görüntülenmesini sağlar. Kan damarları deri yüzeyinden 2 cm'ye kadar bir derinlikte (yaklaşık fasya seviyesine karşılık gelen derinlikte) görüntülenebilir. Enerji derinin hasar eşiğinin çok altında olduğundan, lokal doku hasarına neden olma potansiyeli yoktur. 2mg/kg'dan daha düşük dozlarda yan etki riski çok düşük olup iyodin duyarlılığı olanlarda kullanılması önerilmemektedir<sup>146, 147</sup>.

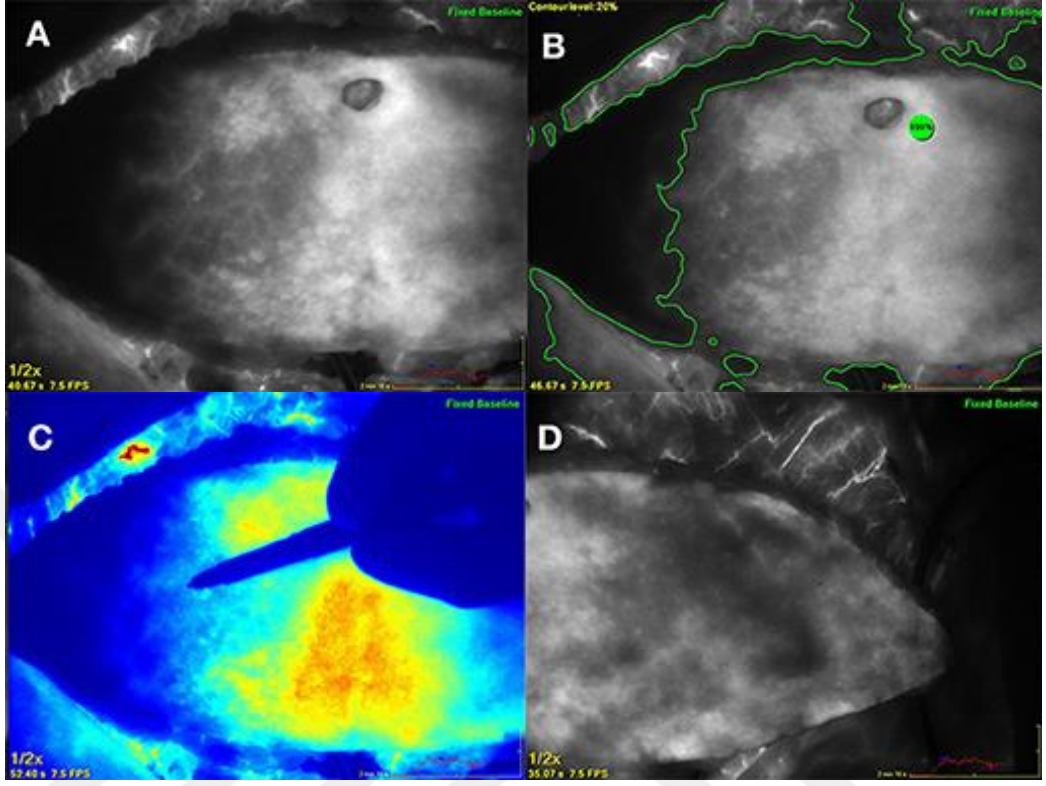
Ölümcül dozu 50-80mg/kg'dır. Eliminasyonu bifaziktir. Birinci yarılanma ömrü 3 ila 4 dakika olup ikinci yarılanma ömrü 66 dakikadır<sup>148, 149</sup>. İlk fazda %90'ı elimine edilir. Karaciğerde parankim hücrelerinde glutatyon S-transferaz ile metabolize olur ve safra yoluyla atılır. <sup>147, 150, 151</sup>. Bağırsaklardan yeniden emilmez. Beyin omurilik sıvısında saptanmamıştır ve plasentadan geçişi izlenmemiştir.<sup>143, 152</sup>

#### 2.4.3 Kızılötesine yakın floresan anjiyografinin çalışma prensibi

SPY sistemi aydınlatma modülünden gelen kızılötesine yakın (KY) ışık fiber optik kabloyla görüntüleme başlığına iletilir. Görüntüleme başlığı KY eksitasyon

ışığıyla ilgili alanın üzerine gelip aydınlatacak şekilde hastanın üzerine yerleştirilir. Hastaya İSY floresan görüntüleme maddesi enjekte edildiğinde, İSY kandaki plazma proteinlerine bağlanarak kan dolaşımıyla ilgili alana gider. Bu çalışmada kullanılan SPY-Elite Lazer Anjiyografi Sistemi (Stryker, Kalamazoo, ABD) görüntüleme cihazı tarafından yayılan KY eksitasyon ışığı İSY'nin floresan ışığı yaymasını sağlar. İSY'nin floresan tepkisinden sonra görüntüleme başlığındaki KY kamerası tarafından görüntülenir ve oluşan görüntü sinyali bilgisayarda işlenip aynı anda bilgisayar belleğine kaydedilir ve video monitörlerde gerçek zamanlı olarak görüntülenir<sup>152</sup>.

İndosiyenin yeşilinin damar içine verilmesi ile dokular floresan anjiyografi ile incelendiğinde perfüzyonu hakkında bilgi verir. Literatürde indosiyenin yeşili floresan anjiyografinin flep perfüzyonu üzerindeki etkinliği ve güvenilirliği hem hayvan deneylerinde hem de klinik çalışmalarda gösterilmiştir<sup>153, 154</sup>. Flep cerrahilerinde dokuyu besleyen ana damarların durumunu, anastomoz hattını ve flep perfüzyonunu net şekilde ortaya koymaktadır. Bu yöntem ile dokunun iyi beslenen yerleri işlenmiş bilgisayar görüntüsünde parlak renkte görülürken iyi beslenmeyen kısımlarda parlaklık azalır ve daha koyu bir görüntü oluşur<sup>152</sup> (şekil 18).



Şekil 18: Derin inferior epigastrik arter perforatör flebinin abdomenden tek lateral perforatör üzerinden kaldırılması

(A) (sol üst) İSY anjiyografisi perforatörün orta hattı geçtikten sonra kontralateral taraftaki perfüzyon alanını gösterilmektedir. (B) (sağ üst) Flep üzerindeki maksimum perfüzyon alanı referans alınarak %20 oranda perfüzyona sahip alan sınırlandırılmıştır. (C) (sol alt) İSY perfüzyon paternine göre renkli görüntüleme flep alanları cerrah tarafından belirlenmektedir. (D) (sağ alt) Perforatöre göre ipsilateral tarafın İSY anjiyografide yüksek parlaklık gösterdiği görülmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 22.02.2022 tarihli toplantıda **G.Ü.ET-22.022** kod numarası ile etik kurul onayı almıştır. Deneysel çalışma Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM) gerçekleştirilmiştir. Çalışmada minimum 12 haftalık, ağırlıkları 300 ( $\pm 25$ ) gram erkek cinsiyette Sprague-Dawley türü hayvanlar kullanıldı. Her grupta altı adet hayvan olacak şekilde dört ana deney grubu oluşturuldu ve toplamda 24 deney hayvanı kullanıldı. Denekler, deney öncesi ve deney süresince serbest yem ve su ile beslenerek, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlıkta olacak şekilde barındırıldı. Deneyin sonlandırılmasında sıçanlar intrakardiyak kan alınarak kurban edildi. Sırt bölgesinde tasarlanan flep derisinden makroskopik değerlendirmenin ardından histolojik ve biyokimyasal incelemeler için örnekler alındı.

#### 3.1 Gruplar ve Açıklamaları

Toplamda 24 adet Sprague-Dawley türü sıçan, her grupta altı adet olacak şekilde dört gruba ayrıldı ve her kafesle bir sıçan olacak şekilde barındırıldı. Tüm hayvanlarda sırt bölgesinin sağ yarımı çalışma tarafı olarak belirlendi.

Deneyin ilk gününde (T0) tüm sıçanlara uygun anestezi (intraperitoneal 45 mg/kg ketamin + 5 mg/kg xylazin enjeksiyonu) verilerek işleme başlandı. Sırt

bölgesi tıraş edildi, sonrasında sıçan uygun olarak tespit edilerek povidon iyot %10 (Dermosept Baticonol, ALG İlaç, İstanbul, Türkiye) ile antisepsi uygulandı. Daha sonra sırt bölgesinde sağda 2x10 cm boyutunda DCIA bazlı perforatör flep tasarlandı ve çizimi yapılarak işaretlendi. Devamında deney hayvanının sırt bölgesi fotoğraflandı (Canon EOS 70D, Tokyo, Japonya). Fotoğraflama tamamlandıktan sonra tüm gruplarda işaretlenmiş alana panniculus carnosus içine 2ml enjeksiyon yapıldı.

Grup 1: Kontrol grubu. Çizim sonrası 2 ml fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi (PBS) enjekte edildi.

Grup 2: Fibrin yapıştırıcı grubu. Çizim sonrası 2 ml fibrin yapıştırıcı (TISSEEL Lyo, Baxter AG, Viyana, Avusturya) enjekte edildi.

Grup 3: VEGF grubu. Çizim sonrası PBS ile sulandırılmış 1 µg/ml VEGF<sub>165</sub> izoformu (toplam 2 µg, 2 ml VEGF<sub>165</sub>) (293-VE-050/CF, R&D Systems Inc, Minneapolis, ABD) enjekte edildi.

Grup 4: VEGF + Fibrin yapıştırıcı grubu. Çizim sonrası 1µg/ml fibrin yapıştırıcı ve VEGF<sub>165</sub> karışımı (toplam 2µg VEGF ve 2 ml karışım hacmi) uygulandı.

Tüm gruplarda enjeksiyonu takip eden yedinci günde (T7) flep cerrahisi ve hemen sonrasında floresan anjiyografi görüntüleme yapıldı. Cerrahiyi takip eden yedinci günde (T14) anjiyografi tekrarlandı ve histolojik inceleme için biyopsiler alınarak deney sonlandırıldı. (*Deney aşamaları devam eden alt başlıklarda detaylandırılmıştır.*)

### 3.2 VEGF<sub>165</sub> ve VEGF<sub>165</sub> İçeren Fibrin Yapıştırıcının Hazırlanması

Çalışmada rekombinant insan VEGF'nin 165 aminoasitli izoformu olarak piyasada liyofilize halde taşıyıcısız bulunan 293-VE/CF (R&D Systems Inc, Minneapolis, ABD) kullanıldı (Şekil 19). VEGF<sub>165</sub> steril PBS ile 100µg/mL derişiminde olacak şekilde sulandırıldı.



Şekil 19: Liyofilize VEGF<sub>165</sub> (293-VE-050/CF R&D Systems Inc, Minneapolis, ABD)

Çalışmada fibrin yapıştırıcı olarak Tisseel Lyo® (Baxter AG, Vienna, Avusturya) kullanılmıştır. Fibrin yapıştırıcının uygulama bölgesine verilmesini sağlayan enjeksiyon sistemi olarak da paket içinden çıkan 2ml/4ml Duploject® sistem (Baxter AG, Vienna, Avusturya) kullanıldı.

Fibrin yapıştırıcı kullanılan gruplarda (Grup 2 ve Grup 4) belirlenen flep sahasına toplamda 2ml fibrin yapıştırıcı uygulanmıştır. VEGF<sub>165</sub>'in tek başına uygulandığı 3. Grupta flep sahasındaki toplam dozu 2 ml PBS içerisinde 2µg'dır. VEGF<sub>165</sub> ve fibrin yapıştırıcı karışımında flep sahasına verilen toplam hacim 2ml ve toplam büyüme etkeni 2µg'dır.

VEGF'nin flep sahasına operasyon öncesi ve sonrası uygulandığı çalışmalar incelendiğinde verilen dozların geniş bir aralıkta olduğu görüldü<sup>11, 155-157</sup>. Fibrin ve VEGF karışımının flep cerrahisi öncesi uygulandığı bir çalışmaya literatürde rastlanmadı.

Wong ve ark. yaptığı VEGF<sub>165</sub>'in fibrin yapıştırıcı içindeki in vitro ve in vivo salınım kinetiğinin gösterildiği çalışmada<sup>16</sup> tavuk embriyosunda 0.05µg/ml VEGF<sub>165</sub> içeren fibrin yapıştırıcı kullanıldığı raporlanmıştır. Arkudas ve ark. yaptığı çalışmada<sup>158</sup> sıçanlarda kuyruk arteri ve femoral ven arasında AV loop oluşturulduktan sonra fibrin yapıştırıcı ve VEGF<sub>165</sub> karışımı AV loop çevresine enjekte edilmiş yeni damar oluşumu incelenmiştir. Etkin dozun 0.25µg/ml olduğu görülmüştür.

Fibrin yapıştırıcının VEGF<sub>165</sub> ile ortak kullanımının deri flebine etkisinin araştırıldığı literatür incelendiğinde Mittermayr ve ark. çalışmasında<sup>15</sup> sıçan dorsal deri flebi kaldırıldıktan sonra yerine iade edilmeden önce bu karışım 3µg/ml derişiminde uygulandığı görülmüştür. McKinght ve ark. çalışmasında<sup>159</sup> fibrin yapıştırıcı içinde VEGF<sub>165</sub> protein ve fibrin yapıştırıcı içinde VEGF<sub>165</sub> plazmidi DNA karışımları, inferior epigastrik arter bazlı fasyokütan flep kaldırıldıktan sonra iade edileceği sahaya 100µg/ml derişiminde uygulanmıştır.

Özetle yapılan literatür taramasında fibrin yapıştırıcı ve VEGF<sub>165</sub> protein karışımlarının derişimi 0.05 – 100µg/ml aralığında izlendi. Çalışmada VEGF<sub>165</sub>'in fibrin yapıştırıcı ile ve tek başına verildiği gruplar arasındaki etkinliği karşılaştırıldığından derişim oranlarının aynı tutulmasının uygun olacağına karar verildi. Bu nedenle flep sahasına 1µg/ml derişimde, toplamda 2µg VEGF<sub>165</sub> uygulandı.



Şekil 20: TISSEEL Lyo 2ml/4ml (Baxter AG, Viyana, Avusturya)



Şekil 21: TISSEEL Lyo 2ml/4ml kutu içeriği (devamı)  
Sağ üst: 4 flakon ilaç, sağ alt: Duploject enjeksiyon sistemi



Şekil 22: TISSEEL Lyo 2ml/4ml kutu içeriği (devamı)  
Soldan sağa sırayla fibrinojen aprotinin, kalsiyum, trombin  
(arka planda hangi flakonun hangisine aktarılacağı gösterilmektedir)



Şekil 23: TISSEEL Lyo 2ml/4ml hazırlanması

**Mavi** ile kodlanmış flakonlar (fibrinojen ve aprotinin) ile **siyah** ile kodlanmış flakonların (kalsiyum ve trombin) yine aynı renkler ile kodlanmış şırıngalar ile gruplanması



Şekil 24: TISSEEL Lyo 2ml/4ml hazırlanması (devamı)

**Sol:** aprotininin fibrinojene, **sağ:** kalsiyumun trombine aktarılmak üzere aynı renkler ile kodlanmış şırıngalara çekilmesi



Şekil 25: TISSEEL Lyo 2ml/4ml hazırlanması (devamı)

**Sol:** aprotininin fibrinojene, **sağ:** kalsiyumun trombine aktarılması



Şekil 26: Karışıma VEGF165 eklenmesi



Şekil 27: Isıtıcı ve karıştırıcı Fibrinotherm sistem ile bileşenlerin aktivasyonu



Şekil 28: Kullanıma hazır Duploject enjeksiyon sistemine aktarılmış fibrin yapıştırıcı ve yedek uç

Fibrin yapıştırıcının kutusundan ön bileşenlerin ve enjeksiyon sisteminin çıkarılması, aktive edilmesi, VEGF<sub>165</sub>'in fibrin yapıştırıcı içine eklenmesi ve enjeksiyon sistemine çekilmesi sırasıyla Şekil 20'den Şekil 28'e kadar verilmiştir.

Şekil 20'de Tisseel Lyo kutusu görülmektedir.

Şekil 21'de Tisseel Lyo kutusu içinden çıkan iki farklı kutucuk görülmektedir, bunlardan biri 4 flakon ilacı diğeri ise Duploject enjeksiyon sistemini içermektedir.

Şekil 22'de mavi renk ile kodlanmış fibrinojen ve aprotinin, siyah renk ile kodlanmış kalsiyum ve trombin görülmektedir.

Şekil 23'te mavi ile kodlanmış flakonlar (fibrinojen ve aprotinin) ile siyah ile kodlanmış flakonların (kalsiyum ve trombin) yine aynı renkler ile kodlanmış şırıngalar ile gruplandığı görülmektedir. Aprotinin mavi kodlu şırınga ile çekilerek fibrinojene, kalsiyum ise siyah renkli şırınga ile çekilerek trombine aktarılmalıdır. Ardından 37 °C sıcaklıkta aktive edilmelidir.

Şekil 24'te aprotininin fibrinojene, kalsiyumun trombine aktarılmak üzere uygun renkli şırıngalara çekilmesi görülmektedir.

Şekil 25'te aprotininin fibrinojene, sağda kalsiyumun trombine aktarılması görülmektedir.

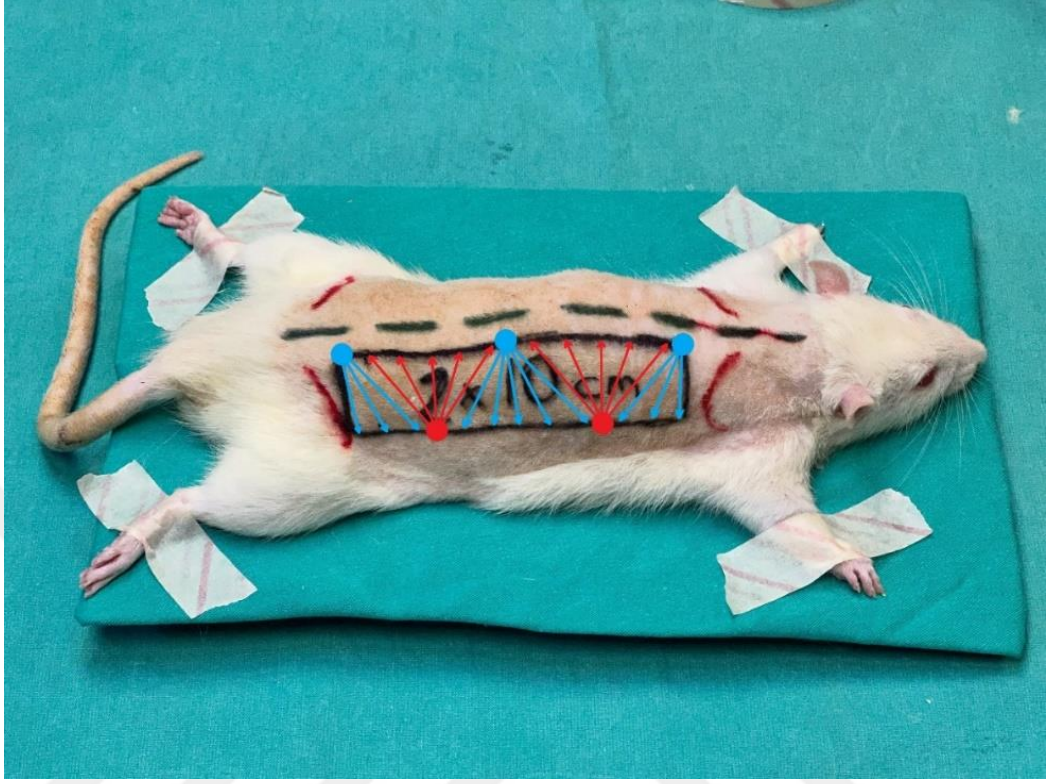
Şekil 26'da 2ml fibrinojene, 4µg VEGF<sub>165</sub> eklenmesi görülmektedir (VEGF + FY Grubu, 1 µg/ml). VEGF eklenmeyen fibrin yapıştırıcı grubu için Tisseel hazırlığında bu basamakta fibrinojen flakonuna 0.04 ml PBS eklenmiştir.

Şekil 27'de fibrinojen ve trombinin ısıtıcı ve karıştırıcı Fibrinotherm® sistemi (Baxter AG, Viyana, Avusturya) ile aktivasyonu görülmektedir.

Şekil 28'de hazır hale getirilmiş fibrinojen ve trombin bileşenlerinin uygun renkte şırıngalara çekilerek Duploject enjeksiyon sistemine aktarılmış hali görülmektedir.

### 3.3 Deri Altı Enjeksiyon Tekniği

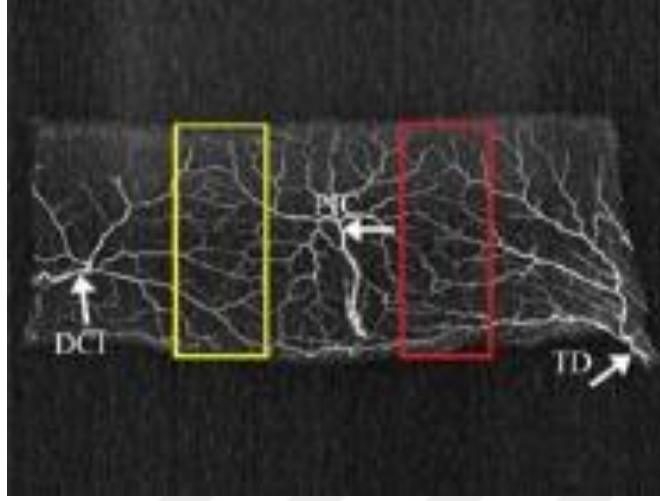
Tüm gruplarda deneylerin ilk günü (T0) sıçan sırt derisinin sağ yarımında planlanan ve çizimi yapılan 2 x 10 cm boyutundaki deri adasının medial kenarını 2 eşit parçaya bölen 3 noktadan, lateral kenarını 3 eşit parçaya bölen 2 noktadan deri ponksiyonu yapıldı ve toplamda 2ml hacim (PBS, VEGF<sub>165</sub>, Fibrin yapıştırıcı) Duploject (Baxter AG, Viyana, Avusturya) enjektörü ucu kullanılarak deri altına verildi. (Şekil 29)



Şekil 29: Enjeksiyon Tekniği

### 3.4 Flep Modeli ve Flebin Kaldırılması

Yapılan literatür incelemesinde bu çalışmadaki sıçanlarda flep olarak kullanılan deri bölgesinin kendisini besleyen 3 damar (Şekil 30) üzerinden de (Lateral torasik arter, Posterior interkostal arter, Derin Sirkumfleks İliak arter) tanımlanmış flep modelleri olduğu görüldü.<sup>33, 56, 160</sup>



Şekil 30: Sıçan sırt derisi anjiyogramı

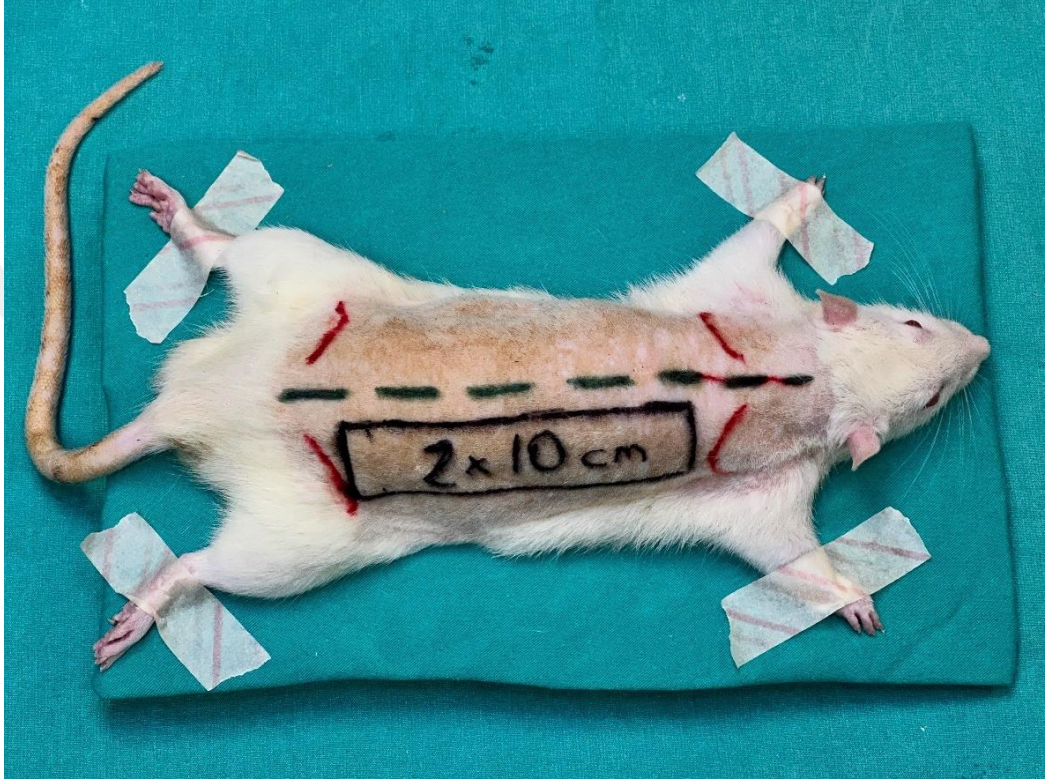
Renkli dikdörtgenler choke anastomoz bölgelerini göstermektedir.

**DCI:** Derin sirkumfleks iliak arter, **PIC:** Posterior interkostal arter **TD:** Torakodorsal arter<sup>161</sup>

Li ve ark. yaptığı çalışmada bahsi geçen sırt besleyici arterlerinin ortalama çapları sırasıyla  $0.30 \pm 0.02$ ,  $0.29 \pm 0.03$ ,  $0.26 \pm 0.03$  olduğu raporlanmıştır<sup>161</sup>, Yang ve ark. yaptığı çalışmada Derin sirkumfleks iliak damarlardan beslenen sırt derisi flebinin distal %30'luk kısmının (Lateral torasik arter besleme alanı) nekroza gittiği bildirilmiştir<sup>56</sup>. Bu bilgiler ışığında bu çalışmada sırt derisindeki hem en küçük çaplı perforatörü kullanmanın hem de nekroz alanı tanımlanmış bir modelden yararlanmanın kontrol grubu ile deney grupları arasındaki farkın daha iyi gözlenebileceği düşünüldü.

Deneyin yedinci gününde (T7) tüm gruplarda sıçan sırt derisinde literatürde tanımlanan 3 adet perforatör damar bölgesi ve bu bölgeler arasında kalan choke anastomoz bölgeleri<sup>56</sup> göz önüne alınarak sıçanların sırt derisinin sağ yarımında

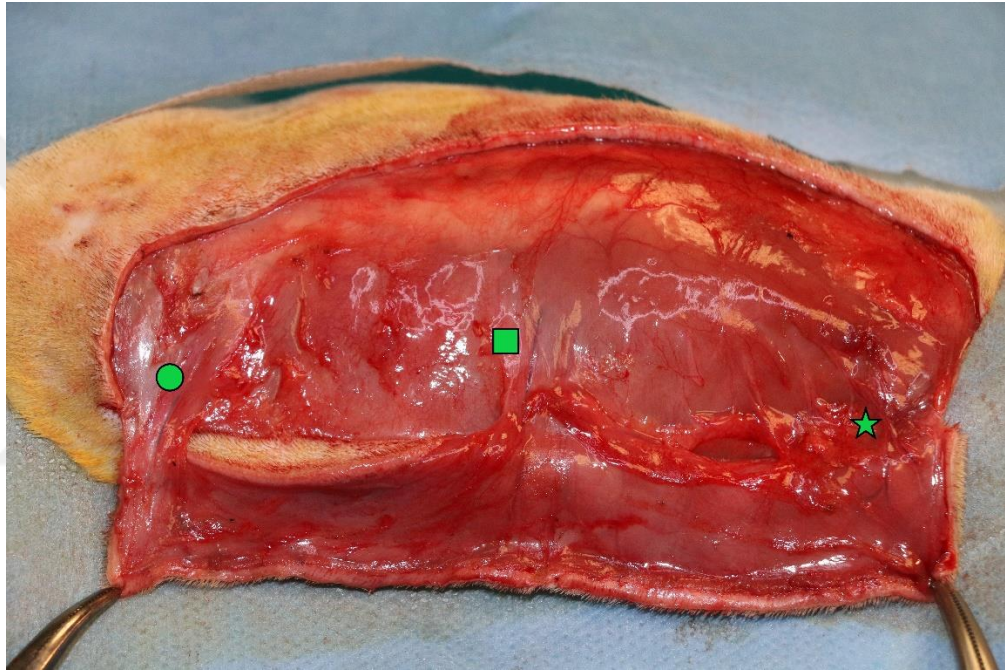
aşağıdaki sınırlara sahip 2 x 10 cm boyutunda dikdörtgen şekilli bir perforatör flep planlandı ve çizimi yapıldı. (Şekil 3.14)



Şekil 31: Sağ derin sirkumfleks arter bazlı hazırlanan sıçan sırt derisi flebi çizimi

1. Kaudal sınır: iliyak krest
2. Kranial sınır: skapula alt ucu
3. Lateral sınır: arka aksiller çizgi
4. Medial sınır lateral sınıra paralel olacak ve orta hattı geçmeyecek şekilde 2 cm medialde belirlendi.

Deri flebi insizyon yapıp sadece panniculus carnosus ve damar dokuları çevresindeki bağ dokular üzerinde kaldırıldıktan sonra kranialden başlanarak kaudaldaki Derin sirkumfleks iliyak damarlara kadar bağ doku ve damar yapıları ortaya konuldu (Şekil 32).



Şekil 32: Tarif edilen flebin ana besleyicileri üzerindeki görüntüsü

**Daire:** Derin Sirkumfleks iliyak arter, **Kare:** Posterior interkostal arter **Yıldız:** Torakodorsal arter

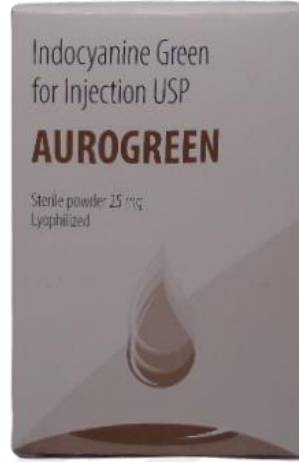
Kaudale ilerleyerek flep besleyici harici damar yapıları koterize edildi. Derin sirkumfleks iliyak damarlar korunarak iskeletize edildi ve flep yerine iade edildikten sonra eriyebilen dikiş materyali (5-0 Monocryl®, Ethicon US, Ohio, ABD) ile basit teknikle dikildi (Şekil 33).



*Şekil 33: Flebin yerine iade edilmesi*

### **3.5 İndosiyenin Yeşilinin Hazırlanması ve Floresan Anjiyografi Uygulanması**

Cerrahiden hemen sonra (T7) Deneklere kuyruk veninden verilmek üzere Aurogreen indosiyenin yeşili (Aurolab, Madurai, Hindistan) hazırlandı. (Şekil 34). Bir flakonda bulunan 25 mg indosiyenin yeşili 10cc serum fizyolojik ile sulandırıldı. Daha sonra hazırlanmış olan bu solüsyondan 1 cc enjektöre çekildi ve ardından 9 cc daha serum fizyolojik eklenerek seyreltildi. Hazırlanmış olan 10 cc'lik seyreltilmiş indosiyenin yeşili solüsyonundan her bir deneğe için kuyruk veni kateterize edildikten sonra 0.3-0.4 cc verildi. Ardından hemen 0.3 cc serum fizyolojik verildikten sonra SPY floresan anjiyografi cihazı (Stryker, Kalamazoo, ABD) ile flep perfüzyonu iki dakika boyunca kayıt altına alındı. Süre dolduktan sonra tüm deneklerin sırtındaki flepler fotoğraflandı.

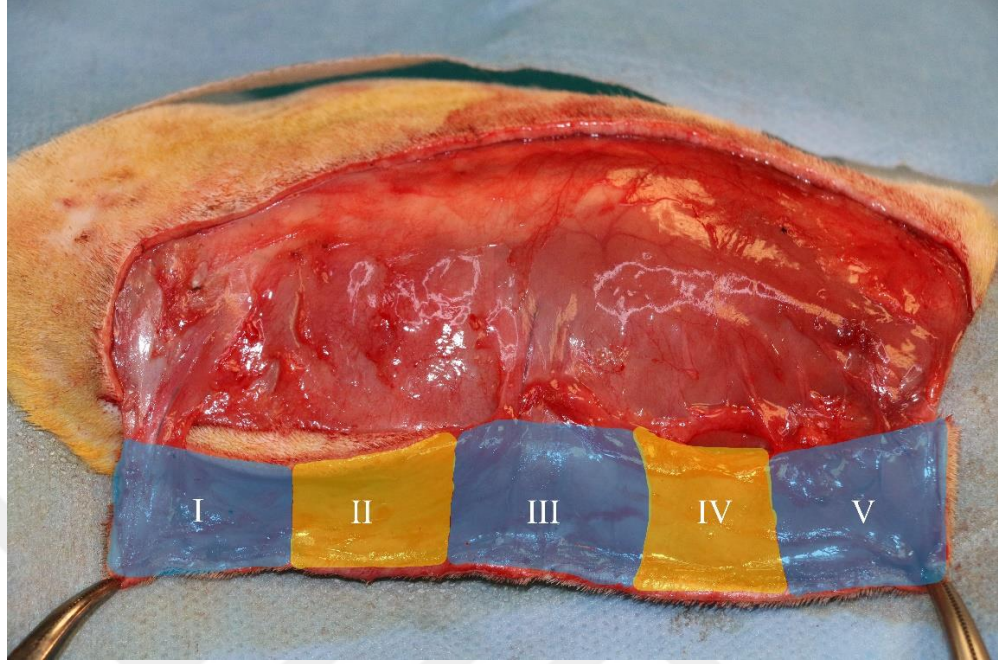


Şekil 34: İndosiyanin yeşili, Aurogreen (Aurolab, Hindistan)

### 3.6 Yedi Günlük Flep Takibi Sonrası Anjiyografinin Tekrarı ve Biyopsilerin Alınması

Cerrahiden sonraki yedinci günde (T14) tüm sıçanlar floresan anjiyografi ile perfüzyon görüntüledikten sonra biyopsi için hazırlandı. Biyopsiler alınırken sıçan sırtındaki perforatör arterin flep derisine giriş yerleri gözetildi.

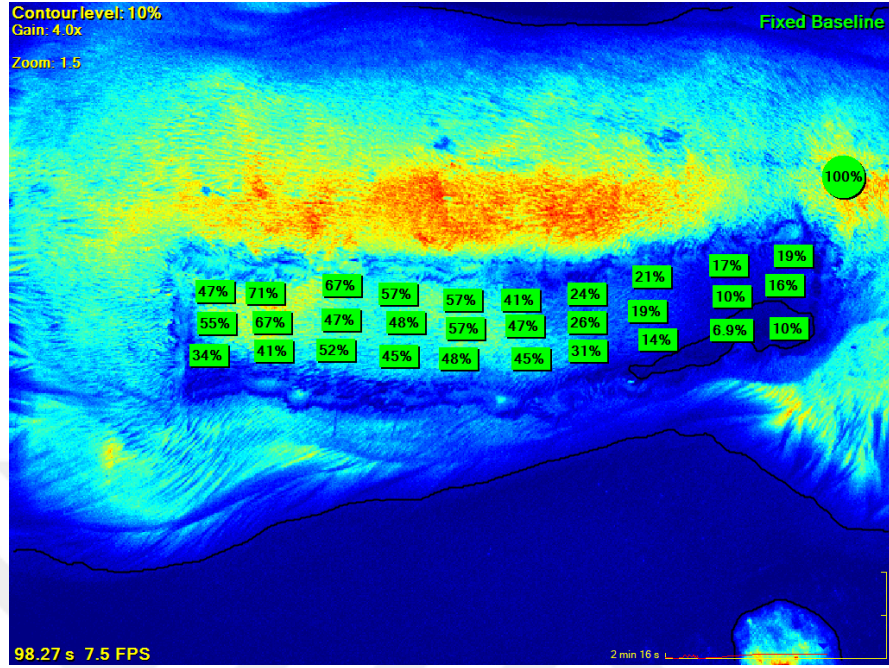
Eksize edilen flep, Derin sirkumfleks iliyak arter besleyici bölgesi/*pedikül perforazomu* (I), *proksimal choke anastomoz* bölgesi (II), posterior interkostal arter besleyici bölgesi/*komşu perforazom* (III), *distal choke anastomoz* bölgesi (IV) lateral torasik arter besleyici bölgesi/*uzak perforazom* (V) olarak beş bölgeye ayrıldı. Her bölgenin merkezinden 1x1 cm'lik deri biyopsileri alındı Numuneler histolojik inceleme yapılmak üzere işleme alındı. Denekler sakrifiye edildi ve deney sonlandırıldı (Şekil 35).



*Şekil 35: Dorsal perforatör flepte perforazomlar ve anastomoz bölgeleri*

### **3.7 SPY-Q ile Perfüzyon Değerlendirilmesi**

SPY floresan anjiyografi sistemine dahil olan SPY-Q yazılımı (Stryker, Kalamazoo, ABD) ile cerrahiden hemen sonra (T7) ve cerrahiden yedi gün sonraki (T14) anjiyografilerde flep üzerindeki tanımlanmış damar bölgelerinden perfüzyon yüzdeleri ölçüldü. Referans nokta olarak en çok ışımanın görüldüğü yer olan ense kısmı seçildi ve burası %100 olarak kabul edildi (Şekil 36).



Şekil 36: SPY-Q ile fibrin yapıştırıcı uygulanan gruptaki bir sıçanda cerrahi hemen sonrası (T7) perfüzyon değerlendirilmesi

### 3.8 Histolojik Değerlendirme

#### 3.8.1 Hematoksilen ve eozin inceleme

İncelenecek dokular %4'lük nötral formaldehite alınarak tespit edildi. Formaldehit akarsuyla yıkanarak uzaklaştırıldı. Artan alkol serilerinden geçirilerek ksilole alındı. Ksilolle şeffaflaştırılan dokular parafine alındı. Dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm'lik kesitler alındı. Kesitler 56°C etüve 2 saat bekletildi. Ksilole alınarak parafinden arındırıldı. Azalan alkol serisinden geçirilerek suya alındı. Rehidrate edilen kesitler hematoksilende 10 dakika bekletildi. Akarsuyla yıkanarak fazla hematoksilen uzaklaştırıldı. Eozinle 10 dakika boyanan kesitler akarsuyla yıkandı. Alkolle dehidrate edilen kesitler, ksilole alındı.

Entellanla kapatıldı. Leica DM4000 Görüntülü Analiz Sistemleri (Leica, Almanya) ile iki histolog tarafından çift kör olarak incelendi. Doku hasarının şiddeti nekroz, ödem, hemoraji ve trombozis dikkate alınarak yok(0), hafif(1), orta (2) ve şiddetli (4) olarak derecelendirildi<sup>162</sup>.

### 3.8.2 İmmünofloresans inceleme

Doku bloklarından 4 µm'lik kesitler polilizinli lamlara alındı. 2 saat 56°C etüvde deparafinize edilen kesitler ksilole alındı. Azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilen kesitler distile suyla yıkandı. Sitrat tampon çözeltisinde (pH:6.0) 60°C etüvde bir gece bekletilerek antijen epitoplmasının açılması (antigen retrieval) sağlandı. PBS ile 3 kez beşer dakika yıkandı.30 dakika oda sıcaklığında özgül olmayan bağlantıların engellenmesi amacıyla %1'lik sığır serum albümini (BSA) içeren PBS-tween ile bekletildi (antigen blocking). Kesitler yıkanmadan anti-alpha smooth muscle actin (anti- α-SMA) (ab7817, 0,034µg/ml) ve anti-CD34 (ab81289, 1:2500) primer antikorlarını içeren karışımla 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı. Anti-CD34 antikoruna karşı sekonder antikor olarak yeşil floresans belirteç taşıyan antikor (ab150077,1:500) ve anti-αSMA antikoruna karşı kırmızı floresans belirteç taşıyan antikor (ab150115, 1:500) karışımı hazırlandı. Kesitler hazırlanan karışımla karanlıkta oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Karanlıkta 3 kez beşer dakika PBS ile yıkandı. 4',6-Diamidine-2'-phenylindole dihydrochloride (DAPI) içeren kapama solüsyonuyla (ab104139) 5 dakika bekletilerek lamelle kapatıldı. Leica DM4000 Görüntülü Analiz Sistemleri

(Leica, Almanya) ile incelenen kesitlerde 5 farklı yüksek büyültme alanında (400x) kapiller yapılar hesaplandı. Çapı  $10\mu\text{m}$ 'ye eşit ya da küçük, yalnızca CD34+ hücrelerin görüldüğü ya da CD34+ (iç katman) ve  $\alpha\text{-SMA}$ +(dış katmanda) hücrelerinin olduğu kapillerler, yeni oluşan kapillerler şeklinde değerlendirildi. Çapı  $10\mu\text{m}$ 'den büyük, CD34+ (iç katman) ve  $\alpha\text{-SMA}$ +(dış katmanda) hücrelerinin olduğu kapillerler ise olgun kapillerler olarak sayıldı.<sup>163</sup>

### 3.9 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20 paket programı (IBM, New York, ABD) kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımlarının normal olup olmadığı, Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenler için medyan (minimum-maksimum) kullanıldı. Normal dağılıma sahip olan sayısal değişkenler için üç ve daha fazla grup arasındaki farklılık tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) ile normal dağılıma sahip olmayan değişkenlerde ise Kruskal Wallis Testi ile belirlendi. Normal dağılım gösteren bağımlı iki grup arasındaki farklılık bağımlı örneklem t-testi ile belirlendi. Normal dağılım gösteren nicel değişkenler arasındaki ilişkilerde Pearson korelasyon analizi, normal dağılım göstermeyenlerde ise Spearman's Rho korelasyon analizi kullanıldı. p değerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Klinik Gözlem

Deney süresince deneklerde komplikasyon görülmedi.

### 4.2 Cerrahi Hemen Sonrası (T7) İndosiyanin Yeşili Floresan Anjiyografi ile Perfüzyon Bölgelerine ait Bulgular

#### 4.2.1 Perfüzyon bölgelerinin gruplara göre karşılaştırılması

Perfüzyon bölgelerindeki floresan anjiyografi ölçüm yüzdeleri SPY-Q programı ile ayrı ayrı incelendiğinde Bölge I’de dört grubun T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,214$ ).

Bölge II’de dört grubun T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,051$ ).

Bölge III’te dört grubun T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,001$ ). Farklılığın hangi ikili gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda sadece *Grup 1-Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ).

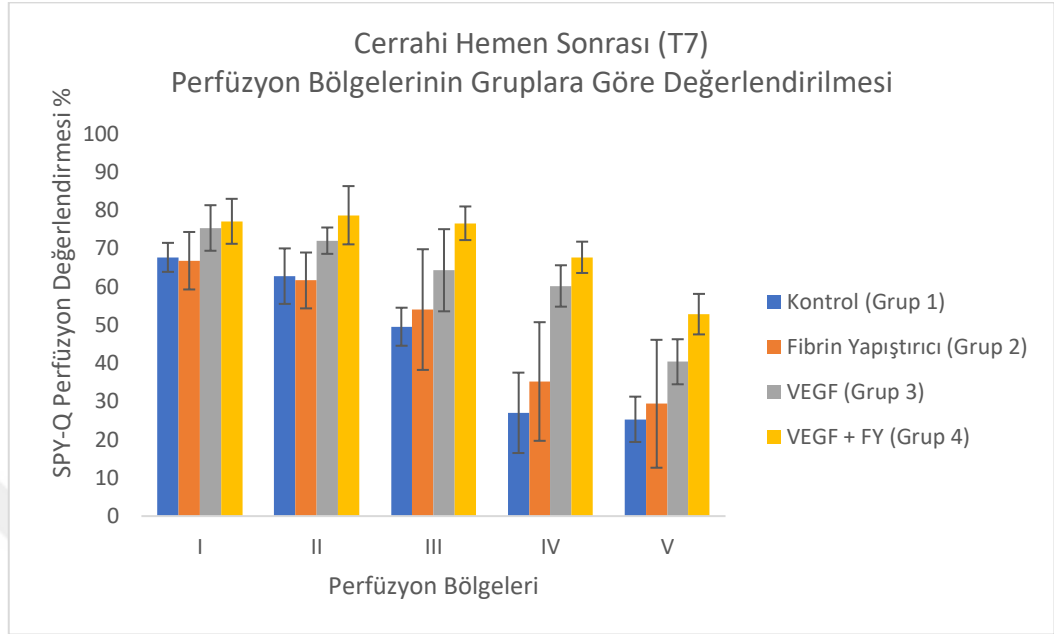
Bölge IV'te dört grubun T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Grup1-Grup 3*, *Grup 1-Grup 4*, *Grup 2-Grup 3* ve *Grup 2-Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ).

Bölge V'te dört grubun T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Grup 1 - Grup 3*, *Grup 1 - Grup 4*, *Grup 2 - Grup 4* ve *Grup 3 - Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,003$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  ve  $p=0,010$ ). Flep bölgeleri ve gruplara ilişkin sonuçlara ait veriler ve p değerleri Tablo 3'te ve Şekil 37'de gösterilmiştir.

Tablo 3: Her bir bölgenin gruplara göre T7 perfüzyon ölçümleri analizi

T7 PERFÜZYON ÖLÇÜMÜ ORT±STD.SAP	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	67,69±5,92	66,81±16,72	75,37±5,89	77,12±5,30	0,214
II	62,77±10,51	61,65±15,51	72,06±5,41	78,71±4,09	0,051
III	49,54±4,97	54,02±15,78	64,32±10,74	76,60±4,40	<b>0,001*</b>
IV	27,02±7,25	35,21±7,30	60,20±3,44	67,70±7,61	<b>&lt;0,001*</b>
V	25,32±3,79	29,39±7,52	40,38±5,96	52,83±5,88	<b>&lt;0,001*</b>

\*Tek Yönlü Varyans Analizi



Şekil 37: Cerrahi hemen sonrası (T7) perfüzyon bölgelerinin gruplara göre değerlendirilmesi

#### 4.2.2 Grupların perfüzyon bölgelerine göre karşılaştırılması

Grup 1’de beş bölgenin T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Bölge I-Bölge III*, *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge V*, *Bölge II-Bölge IV*, *Bölge II-Bölge V*, *Bölge III-Bölge IV*, *Bölge III- Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,004$  ve  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ).

Grup 2’de beş bölgenin T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge*

V, Bölge II-Bölge V arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla, p=0,003, p<0,001 ve p=0,002).

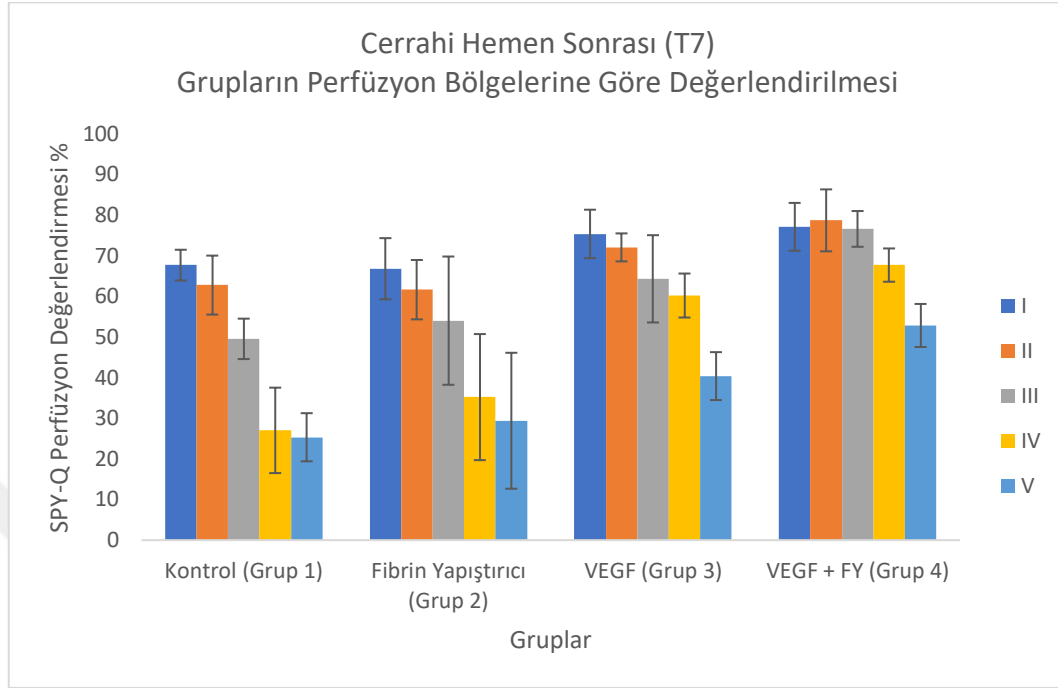
Grup 3'te beş bölgenin T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge V*, *Bölge II- Bölge V*, *Bölge III-Bölge V*, *Bölge IV-Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla, p=0,005, p<0,001, p<0,001, p<0,001, p<0,001).

Grup 4'te beş bölgenin T7 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Bölge I-BölgeV*, *Bölge II-Bölge V*, *BölgeIII-Bölge V*, *Bölge IV-Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla, p<0,001, p<0,001, p<0,001 ve p=0,001). Grup dörtteki farklılık Bölge V'ten kaynaklanmaktadır (Tablo 4, Şekil 38 ).

Tablo 4: Her bir grubun bölgelere göre T7 perfüzyon ölçümleri analizi

T7 PERFÜZYON ÖLÇÜMÜ ORT±STD.SAP	I	II	III	IV	V	P- değeri
KONTROL (GRUP 1)	67,69±5,92	62,77±10,51	49,54±4,97	27,02±7,25	25,32±3,79	<0,001*
FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	66,81±16,72	61,65±15,51	54,02±15,78	35,21±7,30	29,39±7,52	<0,001*
VEGF (GRUP 3)	75,37±5,89	72,06±5,41	64,32±10,74	60,20±3,44	40,38±5,96	<0,001*
VEGF + FY (GRUP 4)	77,12±5,30	78,71±4,09	76,60±4,40	67,70±7,61	52,83±5,88	<0,001*

\*Tek Yönlü Varyans Analizi

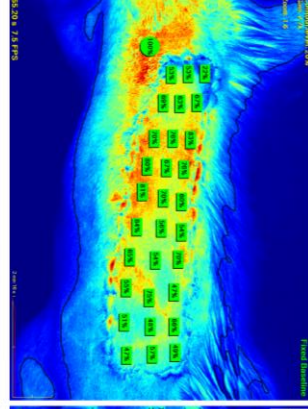
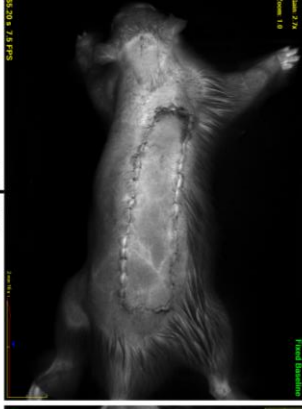


Şekil 38: Cerrahi hemen sonrası (T7) grupların perfüzyon bölgelerine göre değerlendirilmesi

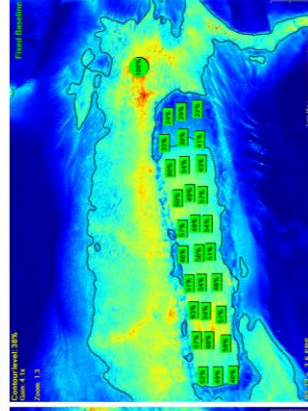
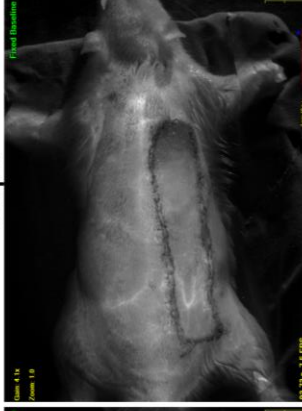
Cerrahi Hemen Sonrası (T7) perfüzyon değerlendirmelerine ait floresan anjiyografi görüntülemelerinin karşılaştırılması Şekil 39’da verilmiştir.



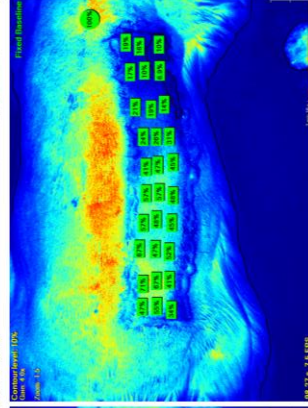
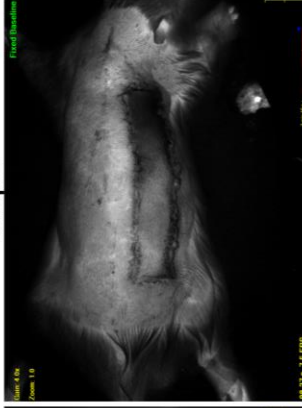
**VEGF + Fibrin Yapıştırıcı  
Grup 4**



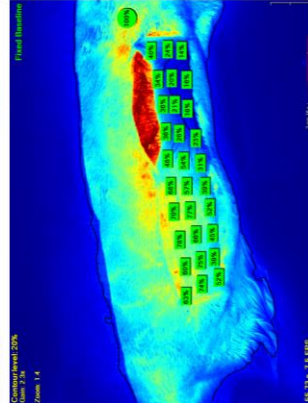
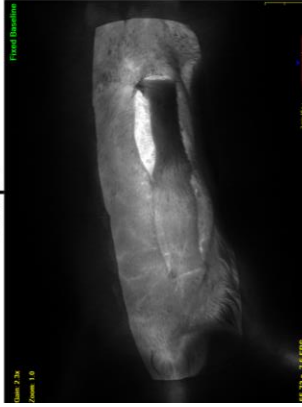
**VEGF  
Grup 3**



**Fibrin Yapıştırıcı  
Grup 2**



**Kontrol  
Grup 1**



**Şekil 39: Cerrahi hemen sonrası (T7) perfüzyon değerlendirmelerine ait floresan anjiyografi görüntülerinin karşılaştırılması**

### 4.3 Cerrahi Sonrası Yedinci Günde (T14) İndosiyenin Yeşili Floresan Anjiyografi ile Perfüzyon Bölgelerine ait Bulgular

#### 4.3.1 Perfüzyon bölgelerinin gruplara göre karşılaştırılması

Bölge I’de dört grubun T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,051$ ). Bölge II’de dört grubun T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,269$ ).

Bölge III’te dört grubun T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,004$ ). Farklılığın hangi ikili gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda sadece *Grup 2 ve Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,012$ ).

Bölge IV’te dört grubun T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Grup 1-Grup 3, Grup 1-Grup 4, Grup 2- Grup 3, Grup 2-Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ).

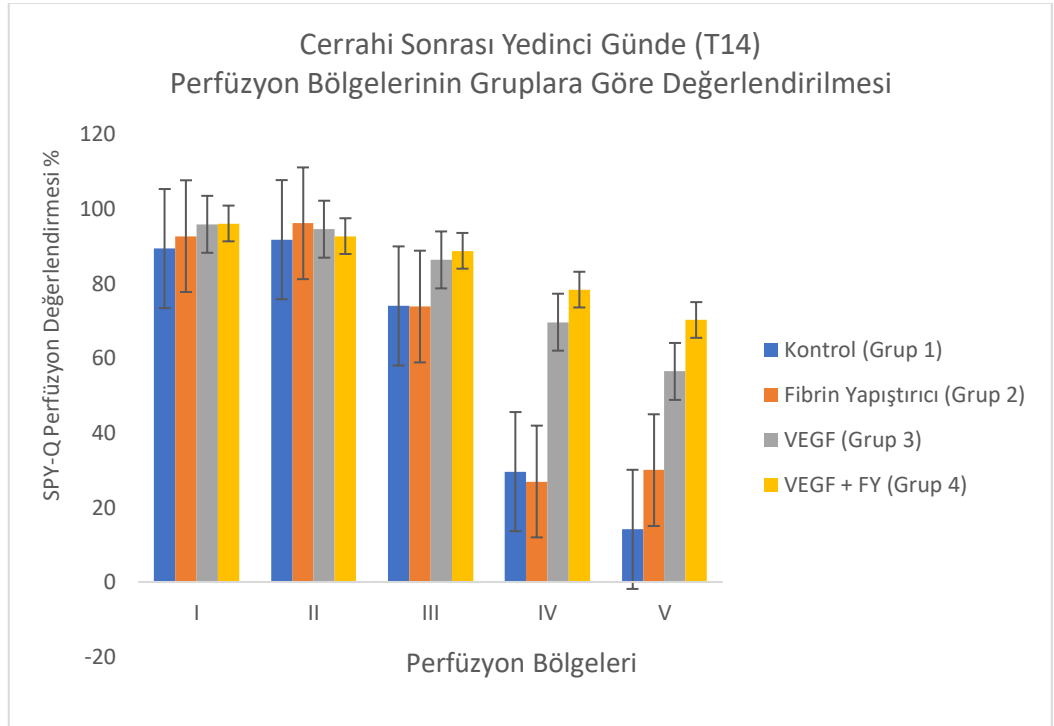
Bölge V’te dört grubun T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Grup 1-Grup 3, Grup 1-Grup 4,*

Grup 2-Grup3, Grup 2-Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ). Flep bölgeleri ve gruplara ilişkin sonuçlara ait veriler ve p değerleri Tablo 5'te ve Şekil 40'ta gösterilmiştir.

Tablo 5: Her bir bölgenin gruplara göre T14 perfüzyon ölçümleri analizi

T14 PERFÜZYON ÖLÇÜMÜ ORT±STD.SAP	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	89,38±3,23	92,71±5,87	95,88±3,11	95,94±3,05	0,051
II	91,77±6,21	96,16±0,76	94,57±3,48	92,70±3,76	0,269
III	74,00±2,54	73,83±8,37	86,17±8,81	88,78±7,86	<b>0,004*</b>
IV	29,58±4,10	26,92±9,43	69,64±3,82	78,38±8,69	<b>&lt;0,001*</b>
V	14,10±4,39	29,98±9,71	56,44±14,33	70,23±11,23	<b>&lt;0,001*</b>

\*Tek Yönlü Varyans Analizi



Şekil 40: cerrahi sonrası yedinci günde (T14) perfüzyon bölgelerinin gruplara göre değerlendirilmesi

#### 4.3.2 Grupların perfüzyon bölgelerine göre karşılaştırılması

Grup 1’de beş bölgenin T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Bölge I-Bölge III*, *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge V*, *Bölge II-Bölge III*, *Bölge II-Bölge IV*, *Bölge II-Bölge V*, *Bölge III-Bölge IV*, *Bölge III-Bölge V*, *Bölge IV-Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ).

Grup 2’de beş bölgenin T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda *Bölge I-Bölge III*, *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge V*, *Bölge II-Bölge III*, *Bölge II-Bölge IV*, *Bölge II-Bölge V*, *Bölge III-Bölge IV*, *Bölge III-Bölge V*, arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ).

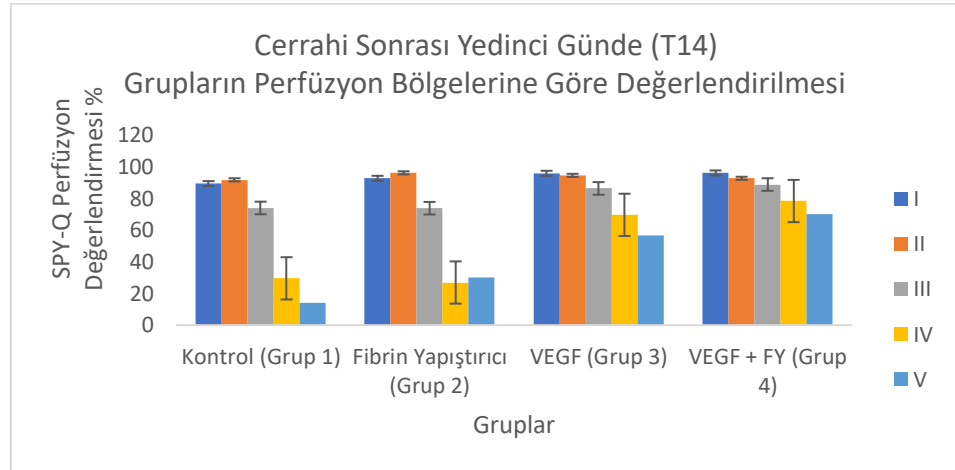
Grup 3’te beş bölgenin T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge V*, *Bölge II-Bölge IV*, *Bölge II-Bölge V*, *Bölge III-Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ , ve  $p<0,001$ ).

Grup 4'te beş bölgenin T14 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). Farklılığın hangi ikili bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc testler sonucunda, *Bölge I-Bölge IV*, *Bölge I-Bölge V*, *Bölge II-Bölge V*, *Bölge III-Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p = 0,004$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  ve  $p = 0,002$ ). Flep bölgeleri ve gruplara ilişkin sonuçlara ait veriler ve p değerleri Tablo 6'da ve Şekil 41'de gösterilmiştir

Tablo 6: Her bir grubun bölgelere göre T14 perfüzyon ölçümleri analizi

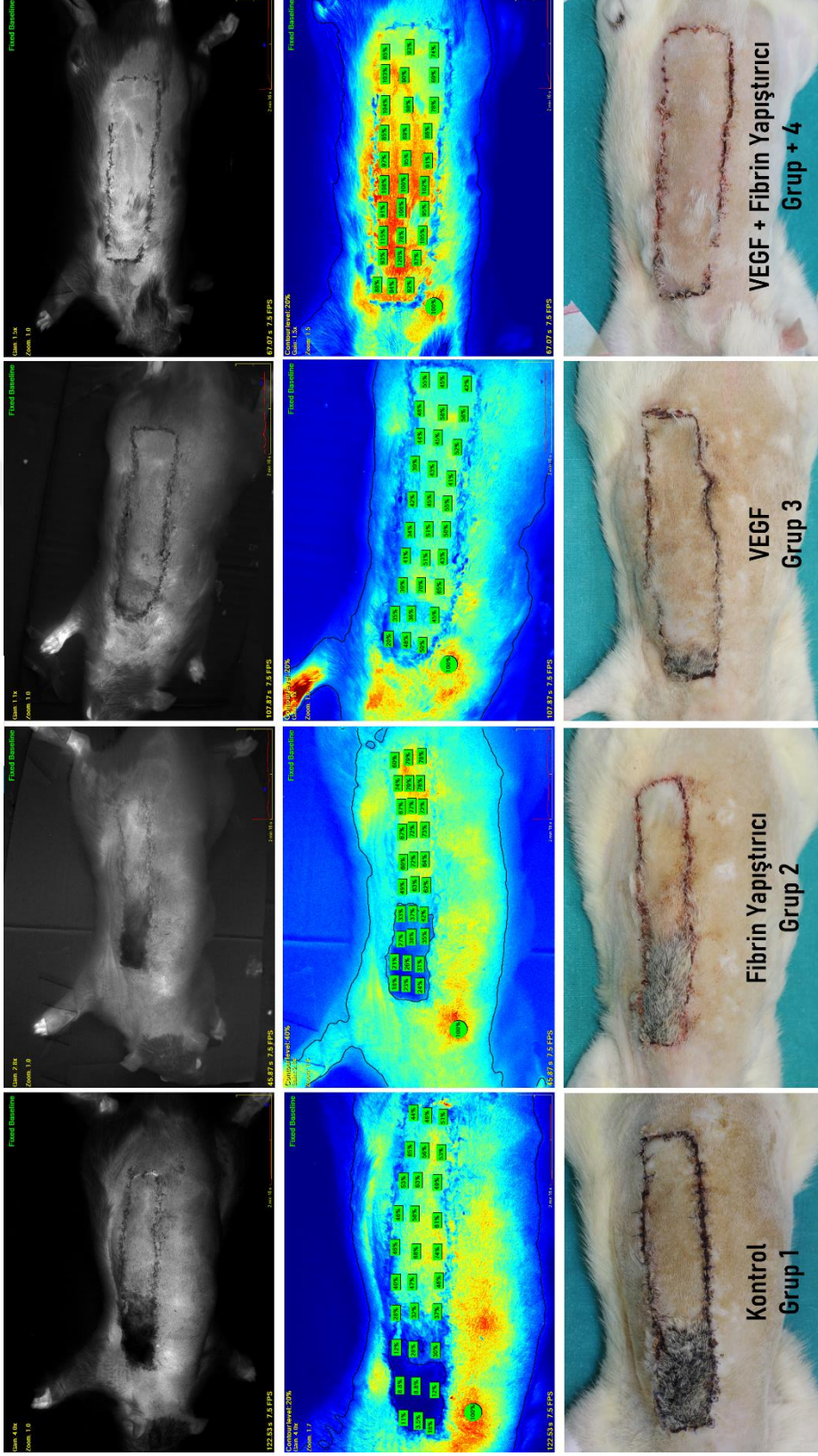
T14 PERFÜZYON ÖLÇÜMÜ ORT±STD.SAP	I	II	III	IV	V	p-değeri
<b>KONTROL (GRUP 1)</b>	89,38±3,23	91,77±6,21	74,00±2,54	29,58±4,10	14,10±4,39	<b>&lt;0,001*</b>
<b>FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)</b>	92,71±5,87	96,16±0,76	73,83±8,37	26,92±9,43	29,98±9,71	<b>&lt;0,001*</b>
<b>VEGF (GRUP 3)</b>	95,88±3,11	94,57±3,48	86,17±8,81	69,64±3,82	56,44±14,33	<b>&lt;0,001*</b>
<b>VEGF + FY (GRUP 4)</b>	95,94±3,05	92,70±3,76	88,78±7,86	78,38±8,69	70,23±11,23	<b>&lt;0,001*</b>

\*Tek Yönlü Varyans Analizi



Şekil 41: Cerrahi Sonrası Yedinci Günde (T14) grupların perfüzyon bölgelerine göre değerlendirilmesi

Cerrahi sonrası yedinci günde (T14) perfüzyon değerlendirmelerine ait floresan anjiyografi görüntülemelerinin karşılaştırılması Şekil 42'de verilmiştir.



Şekil 42: Cerrahi sonrası yedinci Günde (T14) perfüzyon değerlendirmelerine ait floresan anjiyografi görüntülemelerinin karşılaştırılması

## 4.4 Histolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Alınan doku örnekleri 3. Bölümde tarif edildiği gibi hazırlandı ve ışık mikroskopisi altında incelendi.

### 4.4.1 Nekroz

#### 4.4.1.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması

Grup 1’de beş bölgenin nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,003$ ). Bu fark Bölge I ve Bölge V arasında istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ( $p=0,038$ ). Grup 2’de beş bölgenin nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,258$ ). Grup 3’te beş bölgenin nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,164$ ). Grup 4’te beş bölgenin nekroz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,461$ ). (Tablo 7)

Tablo 7: Her bir grup için beş bölgenin nekroz değerleri bakımından karşılaştırılması

NEKROZ MEDYAN (MİN-MAX)	I	II	III	IV	V	p-değeri
<b>KONTROL (GRUP 1)</b>	2,00 (0,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	4,00 (2,00-4,00)	4,00 (2,00-4,00)	<b>0,003**</b>
<b>FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)</b>	2,00 (2,00-3,00)	2,00 (1,00-4,00)	2,00 (2,00-3,00)	3,00 (2,00-4,00)	3,00 (2,00-4,00)	0,258**
<b>VEGF (GRUP 3)</b>	2,50 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (2,00-2,00)	2,50 (2,00-3,00)	3,00 (2,00-3,00)	0,164**
<b>VEGF + FY (GRUP 4)</b>	2,50 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-4,00)	2,50 (2,00-4,00)	2,50 (2,00-4,00)	0,461**

\*\*Kruskall Wallis Testi

#### 4.4.1.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması

Herhangi bir bölgede nekroz ölçümleri bakımından dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 8)

Tablo 8: Her bir bölge için dört grubun nekroz değerleri bakımından karşılaştırılması

NEKROZ MEDYAN (MİN-MAX)	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	2,00 (0,00-3,00)	2,00 (2,00-3,00)	2,50 (1,00-3,00)	2,50 (1,00-4,00)	0,494**
II	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,923**
III	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (2,00-3,00)	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (1,00-4,00)	0,711**
IV	4,00 (2,00-4,00)	3,00 (2,00-4,00)	2,50 (2,00-3,00)	2,50 (2,00-4,00)	0,149**
V	4,00 (2,00-4,00)	3,00 (2,00-4,00)	3,00 (2,00-3,00)	2,50 (2,00-4,00)	0,139**

**\*\*Kruskall Wallis Testi**

#### 4.4.2 Ödem

##### 4.4.2.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması

Herhangi bir grupta ödem ölçümleri bakımından beş bölge arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 9)

Tablo 9: Her bir grup için beş bölgenin ödem değerleri bakımından karşılaştırılması

ÖDEM MEDYAN (MİN-MAX)	I	II	III	IV	V	p-değeri
KONTROL (GRUP 1)	3,00 (2,00-4,00)	2,00 (1,00-4,00)	1,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,391**
FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	2,50 (1,00-4,00)	1,50 (1,00-2,00)	2,00 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,386**
VEGF (GRUP 3)	3,00 (1,00-4,00)	3,00 (2,00-4,00)	2,50 (1,00-4,00)	3,00 (2,00-4,00)	2,00 (1,00-4,00)	0,407**
VEGF + FY (GRUP 4)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	1,50 (1,00-4,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,381**

**\*\*Kruskall Wallis Testi**

#### 4.4.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması

Herhangi bir bölgede ödem ölçümleri bakımından dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 10)

Tablo 10: Her bir bölge için dört grubun ödem değerleri bakımından karşılaştırılması

ÖDEM MEDYAN (MİN-MAX)	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	3,00 (2,00-4,00)	2,50 (1,00-4,00)	3,00 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,214*
II	2,00 (1,00-4,00)	1,50 (1,00-2,00)	3,00 (2,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,081**
III	1,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-4,00)	2,50 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,363**
IV	2,00 (1,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	3,00 (2,00-4,00)	1,50 (1,00-4,00)	0,293**
V	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-4,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,101**

\*\*Kruskall Wallis Testi

#### 4.4.3 Hemoraji

##### 4.4.3.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması

Herhangi bir grupta hemoraji ölçümleri bakımından beş bölge arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 11)

Tablo 11: Her bir grup için beş bölgenin hemoraji değerleri bakımından karşılaştırılması

HEMORAJİ MEDYAN (MİN-MAX)	I	II	III	IV	V	p-değeri
KONTROL (GRUP 1)	0,00 (0,00-2,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-0,00)	1,00 (0,00-2,00)	0,00 (0,00-4,00)	0,305**
FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	1,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-4,00)	0,472**
VEGF (GRUP 3)	0,50 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-2,00)	0,50 (0,00-1,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,50 (0,00-2,00)	0,362**
VEGF + FY (GRUP 4)	0,50 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-2,00)	0,50 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-1,00)	0,985**

\*\*Kruskall Wallis Testi

#### 4.4.3.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması

Herhangi bir bölgede hemoraji ölçümleri bakımından dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 12)

Tablo 12: Her bir bölge için dört grubun hemoraji değerleri bakımından karşılaştırılması

HEMORAJİ MEDYAN (MİN-MAX)	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	0,00 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-1,00)	0,940*
II	0,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-2,00)	0,00 (0,00-2,00)	0,733*
III	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-1,00)	0,50 (0,00-1,00)	0,292*
IV	1,00 (0,00-2,00)	0,50 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-2,00)	0,50 (0,00-2,00)	0,636*
V	0,00 (0,00-4,00)	1,00 (0,00-4,00)	1,50 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-1,00)	0,840*

**\*\*Kruskall Wallis Testi**

#### 4.4.4 Tromboz

##### 4.4.4.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması

Herhangi bir grupta trombozis ölçümleri bakımından beş bölge arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 14)

Tablo 13: Her bir grup için beş bölgenin trombozis değerleri bakımından karşılaştırılması

TROMBOZİS MEDYAN (MİN-MAX)	I	II	III	IV	V	p-değeri
KONTROL (GRUP 1)	1,00 (0,00-3,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-1,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (0,00-3,00)	0,805**
FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	0,50 (0,00-1,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,50 (0,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,105**
VEGF (GRUP 3)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-3,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,50 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,892**
VEGF + FY (GRUP 4)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-1,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,309**

**\*\*Kruskall Wallis Testi**

#### 4.4.4.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması

Herhangi bir bölgede trombozis ölçümleri bakımından dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). (Tablo 14)

Tablo 14: Her bir bölge için dört grubun trombozis değerleri bakımından karşılaştırılması

TROMBOZİS MEDYAN (MİN-MAX)	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	1,00 (0,00-3,00)	0,50 (0,00-1,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,310*
II	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (1,00-3,00)	1,00 (0,00-2,00)	0,772*
III	1,00 (0,00-1,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (0,00-1,00)	0,305*
IV	1,00 (1,00-2,00)	1,50 (0,00-3,00)	1,50 (1,00-2,00)	1,00 (0,00-2,00)	0,374*
V	1,00 (0,00-3,00)	2,00 (1,00-3,00)	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,368*

\*\*Kruskall Wallis Testi

#### 4.4.5 Yeni oluşan kapiller sayısı

##### 4.4.5.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması

Alınan örnekler immunfloresan boyama sonrası incelendiğinde, Grup 1’de beş bölgenin yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,051$ ). Grup 2’de beş bölgenin yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,404$ ). Grup 3’te beş bölgenin yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,471$ ). Grup 4’te beş bölgenin yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,254$ ). (Tablo 15)

Tablo 15: Her bir grup için beş bölgenin yeni oluşan kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması

YENİ OLUŞAN KAPİLLER SAYISI ORT±STD.SAP	I	II	III	IV	V	p-değeri
KONTROL (GRUP 1)	1,96±0,66	1,60±0,31	1,16±0,29	1,00±0,37	1,76±0,26	0,051*
FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	2,43±1,18	1,86±1,17	1,43±0,36	1,46±0,80	1,80±1,05	0,404*
VEGF (GRUP 3)	1,23±0,29	1,30±0,48	1,70±0,72	1,26±0,54	1,40±0,17	0,471*
VEGF + FY (GRUP 4)	1,10±0,37	1,56±0,46	1,13±0,46	1,46±0,43	1,13±0,50	0,254*

\*Tek Yönlü Varyans Analizi

#### 4.4.5.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması

Bölge I'de dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,055$ ). Bölge II'de dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,596$ ). Bölge III'te dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,212$ ). Bölge IV'de dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,510$ ). Bölge V'te dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,243$ ). (Tablo 16)

Tablo 16: Her bir bölge için dört grubun yeni oluşan kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması

YENİ OLUŞAN KAPİLLER SAYISI ORT±STD.SAP	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	1,96±0,66	2,43±1,18	1,23±0,29	1,10±0,37	0,055*
II	1,60±0,31	1,86±1,17	1,30±0,48	1,56±0,46	0,596*
III	1,16±0,29	1,43±0,36	1,70±0,72	1,13±0,46	0,212*
IV	1,00±0,37	1,46±0,80	1,26±0,54	1,46±0,43	0,510*
V	1,76±0,26	1,80±1,05	1,40±0,17	1,13±0,50	0,243*

\*Tek Yönlü Varyans Analizi

#### 4.4.6 Olgun kapiller sayısı

##### 4.4.6.1 Gruplar arasında bölgelerin karşılaştırılması

Alınan örnekler immunfloresan boyama sonrası incelendiğinde Grup 1’de beş bölgenin olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,004). Farklılığın hangi bölgeler arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc değerlendirmeler sonucunda sadece *Bölge IV ve Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,004). Grup 2’de beş bölgenin olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,601). Grup 3’te beş bölgenin olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,055).

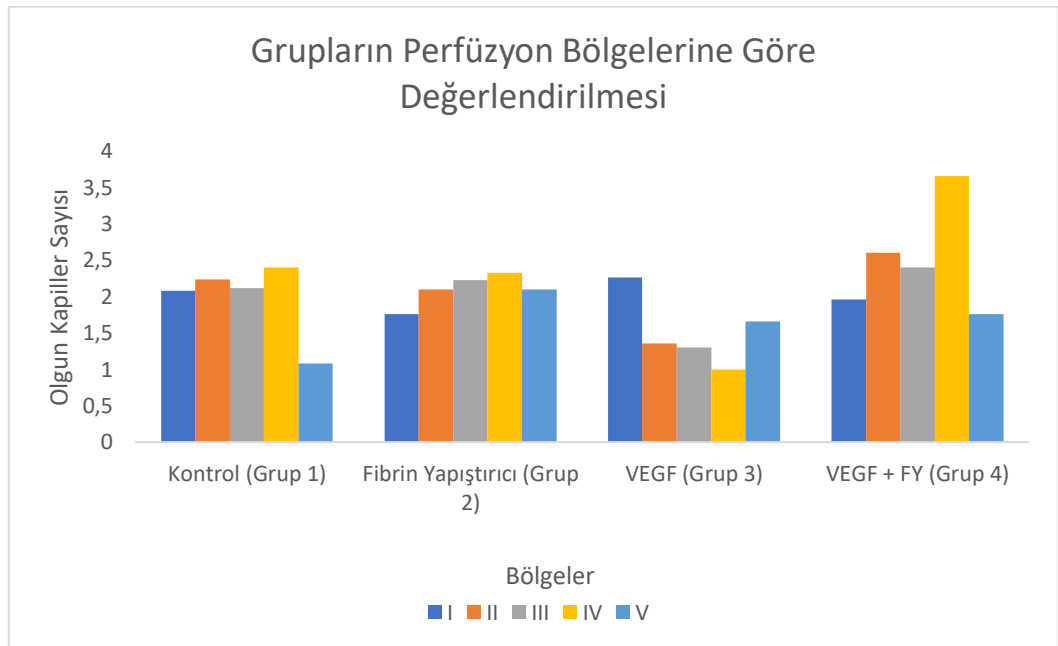
Grup 4’te beş bölgenin olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,001). Farklılığın hangi gruplar

arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc değerlendirmeler sonucunda *Bölge I-Bölge IV ve Bölge IV-Bölge V* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,003$  ve  $p=0,001$ ). (Tablo 17, Şekil 43)

Tablo 17: Her bir grup için beş bölgenin olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması

OLGUN KAPİLLER SAYISI ORT±STD.SAP	I	II	III	IV	V	p-değeri
<b>KONTROL (GRUP 1)</b>	2,08±0,33	2,24±0,40	2,12±0,43	2,40±0,80	1,08±0,38	<b>0,004*</b>
<b>FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)</b>	1,76±0,42	2,10±0,89	2,23±0,42	2,33±0,61	2,10±0,65	0,601*
<b>VEGF (GRUP 3)</b>	2,26±1,09	1,36±0,29	1,30±0,45	1,00±0,28	1,66±0,70	0,055*
<b>VEGF + FY (GRUP 4)</b>	1,96±0,15	2,60±0,56	2,40±0,25	3,66±1,38	1,76±0,44	<b>0,001*</b>

\*Tek Yönlü Varyans Analizi



Şekil 43: Her bir grup için beş bölgenin olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması

#### 4.4.6.2 Bölgeler arasında grupların karşılaştırılması

Bölge I'de dört grubun olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,582$ ).

Bölge II'de dört grubun olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,014$ ). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc değerlendirmeler sonucunda sadece *Grup 3 ve Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,007$ ).

Bölge III'te dört grubun olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,001$ ). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc değerlendirmeler sonucunda *Grup 2-Grup 3 ve Grup 3-Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,003$  ve  $p=0,001$ ).

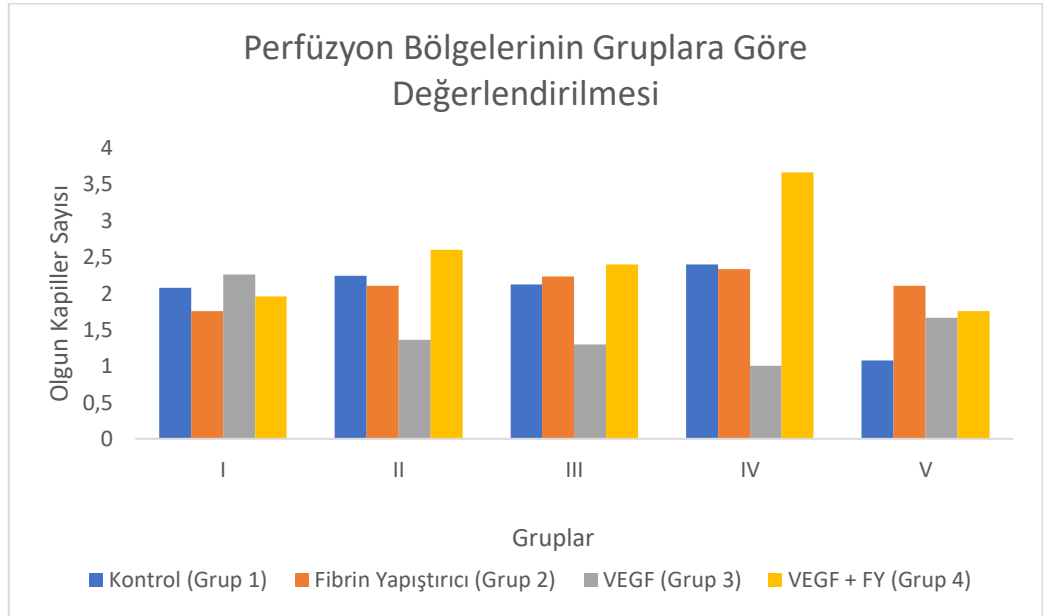
Bölge IV'te dört grubun olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,001$ ). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan post-hoc değerlendirmeler sonucunda *Grup 2-Grup 3 ve Grup 3-Grup 4* arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla,  $p=0,008$  ve  $p=0,011$ ).

Bölge V’te dört grubun olgun kapiller sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,058). (Tablo 18, Şekil 44)

Tablo 18: Her bir bölge için dört grubun olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması

OLGUN KAPİLLER SAYISI ORT±STD.SAP	KONTROL (GRUP 1)	FİBRİN YAPIŞTIRICI (GRUP 2)	VEGF (GRUP 3)	VEGF + FY (GRUP 4)	p-değeri
I	2,08±0,33	1,76±0,42	2,26±1,09	1,96±0,15	0,582*
II	2,24±0,40	2,10±0,89	1,36±0,29	2,60±0,56	<b>0,014*</b>
III	2,12±0,43	2,23±0,42	1,30±0,45	2,40±0,25	<b>0,001*</b>
IV	2,40±0,80	2,33±0,61	1,00±0,28	3,66±1,38	<b>0,001*</b>
V	1,08±0,38	2,10±0,65	1,66±0,70	1,76±0,44	0,058*

\*Tek Yönlü Varyans Analizi



Şekil 44: Her bir bölge için dört grubun olgun kapiller sayısı ölçümleri bakımından karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kontrollü salınım yapan fibrin yapıştırıcı ve VEGF<sub>165</sub> karışımının, perforatör flep sahasında cerrahi öncesi uygulanmasının yalnızca VEGF uygulanmasına kıyasla flep sağkalımını artırabileceği hipotezi ortaya konulmuştur.

Flep cerrahisi sonrası en sık komplikasyonlardan biri flep distalinde iskekiye bağlı parsiyel nekrozdur.<sup>164-166</sup> Deri flebinde sağkalımı arttırdığı belgelenen tek yöntem geciktirmedir. Geciktirme fenomeni cerrahi ya da farmakolojik yöntemlerle dokunun iskekiye önkoşullanması esasına dayanmaktadır.<sup>35</sup> İskemi gelişen dokularda, hücre sitoplazmasındaki düşük oksijen düzeyi HIF'nin hidroksillenerek çekirdek içine girmesine yol açar ve moleküler düzeyde hipoksiye yanıtı başlatır. HIF yüzlerce gen üzerinde ekspresyon yollarını başlatan bir mediatördür ve VEGF, eritropoetin, nitrik oksit ve GLUT-1 genleri ana hedefleridir.<sup>167</sup>

VEGF anjiyojenik bir sinyal proteindir. Farklı aminoasit sayılarından oluşan izoformları bulunur. Kazemi ve ark. yaptığı çalışmada VEGF<sub>165</sub> ve VEGF<sub>121</sub> izoformları karşılaştırılmıştır. Tümör dokularındaki VEGF<sub>121</sub> ekspresyonunun daha yüksek olduğu ve hipoksi durumunda ekspresyonu artan izoformun ise VEGF<sub>165</sub> olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte VEGF<sub>165</sub> izoformunun tümör metastazında önleyici etkiye sahip olabileceği raporlanmıştır.<sup>8</sup> Bu nedenle farklı izoformlar

arasından VEGF<sub>165</sub>, bu çalışmada önkoşullama için uygun izoform olarak belirlenmiştir.

Fang ve ark. yayınladığı çalışmada VEGF'nin uygulandığı flep dokusunda akut dönemde vazodilatasyon ve damar geçirgenliği artışına yol açtığı; uzamış dönemde ise endotel hücrelerin migrasyonunu ve neoanjiyojenez sağladığı raporlanmıştır.<sup>11</sup> Jiang ve ark. geciktirme uygulanan fleplerde anti-VEGF ajanların kullanılmasının flep cerrahisi sonrası VEGF'nin choke anastomozlarda yol açtığı vazodilatasyonu ve neoanjiyojenez inhibe ettiği ve bu nedenle geciktirme fenomeninin başarıya ulaşmasını engellediğini göstermiştir.<sup>168</sup> Ghali ve ark. yaptıkları çalışmada geciktirme yapılarak uygulanan cerrahi önkoşullamanın başarıya ulaşması için endojen VEGF üretimini tetiklemesinin gerekli olduğunu bildirmiştir.<sup>5</sup> VEGF'nin iskemik şartlarda zaten endojen artış göstereceği göz önüne alındığında, VEGF'nin flep üzerindeki önkoşullama etkilerini tespit etmek amacıyla bu çalışmada flep cerrahisi sonrasında değil öncesinde uygulanması uygun görülmüştür.

VEGF<sub>165</sub> izoformu ekstraselüler matriks elemanlarına ve heparine düşük afinite göstermektedir.<sup>169</sup> İnsan vücudundaki çalışmalarda yarı ömrü 30-90 dakika arasında raporlanmıştır.<sup>12, 170</sup> Literatürde VEGF'nin in vivo yarı ömrünü ve flep dokusunda etkinliğini artırmak için topikal, deri altı, kas içi, damar içi uygulamaları mevcuttur. Ayrıca in vivo çalışmalarda VEGF molekülü lipozomla kaplanarak, fibrin yapıştırıcı ile karıştırılarak, viral ve plazmid taşıyıcılar kullanılarak

uygulanmıştır.<sup>11</sup> Fibrin yapıştırıcı ticari olarak yaygın şekilde kullanılan temelde fibrin ve trombinden oluşan bir kan ürünüdür. Eser miktarda kalsiyum ve Faktör XII varlığında, trombin fibrinojeni ürünün son ve stabil hali olan çözünmeyen fibrin yapısına dönüştürür.<sup>97</sup> Wong ve ark. yaptığı çalışmada insan büyüme etkenlerinin fibrin yapıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanması ve bu proteinlerin salınım kinetiği incelenmiştir. In vitro testlerde kontrollü salınım yaptığı gösterilen fibrin pıhtıları tavuk embriyosundaki testlerde büyüme etkenlerinin tek başına kullanılmasına kıyasla anjiyojenezi artırmıştır.<sup>16</sup> Fibrin yapıştırıcı taşıyıcı olarak kullanılabilmesi, literatürdeki diğer VEGF taşıyıcılarına kıyasla düşük maliyeti ve erişim kolaylığı nedeniyle bu çalışmada tercih edilmiştir.

Perforatör flepler verici sahada ortaya koydukları düşük morbidite ve kolay şekillendirilebilme özellikleri nedeniyle rekonstrüksiyon pratiğinde yaygın kullanılmaktadır.<sup>171</sup> Vasküler görüntüleme yöntemlerinin gelişmesi ve paralelinde cerrahi anatomi bilgisinin artışı ile sıkça tercih edilir hale gelmişlerdir.<sup>172</sup> Bu çalışma, hipotezinin güncel klinik uygulamaları test edebilmesi için, sıçan perforatör flep modelinde tasarlanmıştır. Literatürde sıçanlarda sırt, bögür, karın, kasık ve uyluk bölgelerinde tanımlanan perforatör flepler bulunmaktadır.<sup>173, 174</sup> Sıçanların ventral yüzde tanımlanan fleplere dişleri ve uzuvlarıyla erişebilmesinin denek takibinde güçlük yaratabildiği raporlanmıştır.<sup>175</sup> Bu nedenle çalışmada sırt derisi flep bölgesi olarak belirlenmiştir.

Sıçanda sırt derisine ait üç adet tanımlanmış perforatör damar bulunmaktadır. Sırt derisinde yapılan anjiyografi çalışmalarında bu üç damara karşılık gelen üç perforazom bölgesinin olduğu ve bu perforazomlar arasında iki adet choke anastomoz bölgesi olduğu gösterilmiştir.<sup>56</sup> Bu bölgeler deneklerde derin sirkumfleks iliyak arter üzerinden kaldırılan deri flebinde proksimal-distal doğrultuda I ve V arasında numaralandırılmıştır. Yang ve ark. yaptığı çalışmada sıçanlarda derin sirkumfleks iliyak arter ile beslenen sırt derisi flebi modelinde önkoşullanmamış deneklerde distal %30'luk kısmın nekroza uğradığı bildirilmiştir.<sup>56</sup> Bu doğrultuda incelendiğinde, deneklerde bölge IV ve bölge V olarak ifade edilen bölgeler ile Yang ve ark. tanımladığı flep modelinde nekroza uğradığı bildirilen %30'luk distal kısım anatomik olarak örtüşmektedir. Bu nedenle deney modelinde herhangi bir önkoşullama işlemine tabi tutulmamış ve choke anastomozları genişlememiş kontrol grubu deneklerinde flep distaline gidildikçe perfüzyon değerlerinin düşük olacağı öngörülmüştür. Bu sayede flep sahasında VEGF'nin farklı uygulama şekilleri kullanılarak oluşturulması planlanan önkoşullamanın hem düşük hem de yüksek kanlanan bölgelerde flep perfüzyonu ve sağkalımı üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Deneyin yedinci gününde (T7), cerrahiden hemen sonra yapılan kızılötesine yakın floresan anjiyografide, flep proksimalinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir. Flep ortasındaki bölge III'ün perfüzyonu VEGF + FY grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlenmiştir. Distal bölgelerin perfüzyonu kontrol ve fibrin yapıştırıcı

gruplarında, VEGF kullanılan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük izlenmiştir. Flebin en distalinde olan bölge V, gruplar arasında incelendiğinde VEGF + FY grubundaki perfüzyon tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. Floresan anjiyografi sonuçları gruplar cinsinden incelendiğinde, kontrol grubunda perfüzyon değerlerinin flep distalinde gidildikçe anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Fibrin yapıştırıcı grubunda perfüzyon değerleri flep distalinde proksimale göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. VEGF grubunda bölge IV'ün perfüzyon değeri yalnızca bölge I'e göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuş; bölge V'in perfüzyon değeri ise tüm bölgelerden istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. VEGF + FY grubunda ise yalnızca bölge V'in perfüzyon değeri diğer bölgelere göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Bu bulgular doğrultusunda kontrol ve fibrin grubunda cerrahiden hemen sonra (T7), flep distalindeki bölgelerde perfüzyonda görülen anlamlı düşüş önkoşullanmamış bir perforatör flebin perfüzyon fizyolojisi ile uyumluluk göstermektedir.<sup>176</sup> Bu gruplarda distal bölgelerdeki (IV ve V) istatistiksel olarak anlamlı düşük perfüzyona, flep eksenindeki distal choke anastomozların önkoşullama ile genişlememiş olmasının neden olduğu düşünülmüştür.

Fang ve ark. flep sahasına cerrahi öncesinde uygulanan VEGF'nin, choke anastomozların açılmasını sağlayarak flep distalindeki perfüzyon artışını sağladığını belirtmişlerdir.<sup>11</sup> VEGF ve VEGF + FY gruplarında ise flep distal distalindeki anlamlı olarak artmış perfüzyon değerleri VEGF'nin cerrahi öncesi uygulanmasının flep sağkalımını artırdığını raporlayan literatürle uyumludur.<sup>177</sup>

VEGF ve VEGF + FY grupları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı fark ise uzak perforazomu ifade eden bölge V'te, VEGF + FY grubu lehine ortaya çıkmaktadır. Büyüme faktörlerinin fibrin yapıştırıcı içerisinde uygulanmasının yarı ömürlerini uzattığı bildirilmiştir.<sup>10</sup> Wong ve ark. yaptıkları çalışmada VEGF'nin neoanjiyogenez üzerindeki etkilerinin fibrin yapıştırıcı içerisinde verildiğinde izole halde verilmesine kıyasla artırdığını göstermişlerdir.<sup>16</sup> Fibrin yapıştırıcı içindeki VEGF'nin kontrollü salınımının ileal anostomoz ve yara dokusu üzerindeki etkilerinin incelendiği diğer çalışmalardaki sonuçlar da bu bulguları desteklemektedir.<sup>15, 120, 178</sup> Bu nedenle bölge V'te VEGF + FY grubu lehine oluşan istatistiksel olarak anlamlı perfüzyon farkının, fibrin yapıştırıcı içindeki VEGF'nin dokuya kontrollü salınımı nedeniyle meydana geldiği düşünülmüştür.

Cerrahi sonrası yedinci günde (T14) yapılan kızılötesine yakın floresan anjiyografide flep proksimalinde, perfüzyon değerleri arasında gruplar içinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Flep ortasındaki bölge III'ün perfüzyon değerlerindeki tek istatistiksel olarak anlamlı fark fibrin yapıştırıcı ve VEGF + FY grupları arasında, VEGF + FY grubu lehine izlenmiştir. Flep distal bölgelerindeki perfüzyon değerleri ise VEGF uygulanan gruplarda, uygulanmayan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Gruplar içerisinde karşılaştırma yapıldığında, kontrol grubunda bölge III, IV ve V'in perfüzyonu proksimallerinde kalan bölgelerden istatistiksel olarak anlamlı düşük izlenmiştir. Fibrin yapıştırıcı grubunda bölge I, II ve III'ün perfüzyon değerleri distaldeki bölge IV ve V'ten istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlenmiştir. VEGF grubunda bölge

IV'ün perfüzyonu, bölge I ve II'den; bölge V'in perfüzyonu, bölge I, II ve III'ten istatistiksel olarak anlamlı düşük izlenmiştir. VEGF + FY grubunda yalnızca bölge V'in perfüzyonu diğer bölgelere göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktür. Bu bulgular doğrultusunda cerrahi sonrası yedinci gündeki (T14) perfüzyon değerlendirilmesinde VEGF ve VEGF + FY ile önkoşullandırılmış gruplarda flep distaline gidildikçe ikili karşılaştırmalarda perfüzyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark sayısının azaldığı gözlenmiştir. Belaidi ve ark. sıçan perforatör deri flebi modelinde choke anastomozların gerçek anastomozlara dönüşme sürecinin HIF aracılı nitrik oksit ve VEGF ile düzenlendiğini belirtmişlerdir.<sup>179</sup> Jiang ve ark. iskemik önkoşullama yapılan sıçan deri flebi modelinde anti-VEGF ajan verilen önkoşullamanın meydana gelmediğini göstermişlerdir.<sup>168</sup> VEGF'nin iskemik önkoşullamanın kimyasal düzenleyicisi olduğu düşünüldüğünde, cerrahi öncesinde VEGF verilen gruplarda geciktirme fenomeni ile benzer perfüzyon sonuçları alınması literatür bilgisi ile uyumludur. VEGF grupları arasında cerrahiden hemen sonra (T7) flep distalinde oluşan perfüzyon değerleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı fark cerrahi sonrası yedinci gün ölçümlerinde (T14) ortadan kalkmıştır.

SPY ile T7 ve T14 perfüzyon değerleri karşılaştırıldığında gruplarda elde edilen perfüzyon ortalamaları ilk ölçüme göre artış göstermiştir. Bu durum flep fizyolojisinin doğal sonucudur.<sup>180, 181</sup> VEGF ve VEGF + FY uygulanan gruplarda her iki ölçümde de hem distal anastomoz bölgesinde (IV) hem de uzak perforazom bölgesinde (V) diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek perfüzyon

değerleri izlenmiştir. Dhar ve ark. tavşanlarda geciktirme fenomenini incelediği çalışmada, hipoksiye önkoşullandırılmış fleplerde choke anastomozların açılmasıyla birlikte, iki ya da daha fazla perforazomun nekroza uğramadan flebe dahil edilebileceği raporlanmıştır.<sup>46</sup> Bu durum VEGF ve VEGF + FY grubundaki fleplerin geciktirme fenomeniyle benzer biçimde koşullandığını düşündürmektedir. Flep cerrahisinden hemen sonraki ölçümlerde (T7) flep distalinin (bölge V) perfüzyonu VEGF + FY uygulanan grupta, VEGF uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. Ancak cerrahi sonrası yedinci günde (T14) bölge V'teki istatistiksel olarak anlamlı olan bu fark ortadan kalkmıştır. Flep dokusunda cerrahi sonrası hipoksiye bağlı olarak VEGF artmaktadır.<sup>81, 182</sup> Bununla beraber flebin beslenme kaynaklarına, pediküle ek olarak, 7.-10. günlerde meydana gelen alıcı saha kaynaklı neovaskülarizasyon da eklenmektedir.<sup>183, 184</sup> Bu fizyolojik değişikliklerin VEGF verilen gruplarda flep distalinin perfüzyon değerleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkın cerrahi sonrası yedinci günde (T14) yapılan ölçümlerde ortadan kalkmasına neden olduğu düşünülmüştür. Flep takibinde erken dönem perfüzyon özellikleri tedavide yön göstericidir. Erken dönemde yapılacak olan flep kurtarma operasyonları flep cerrahisinde başarıyı artırmaktadır.<sup>185-187</sup> Bu nedenle flep distalinin erken ölçümlerdeki istatistiksel olarak anlamlı yüksek perfüzyonunun, flep sağ kalımını olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmüştür.

Işık mikroskopisinde nekroz değerleri kontrol grubunda flep proksimali (I) ve distali (V) arasında, distali lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. Histolojik değerlendirmede ödem, hemoraji ve tromboz açısından gruplar ve bölgeler arasında başkaca istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. İskemi-reperfüzyon hasarının fleplerde incelendiği çalışmalarda flebin tümünde flep cerrahisi sonrası iskemiye bağlı değişiklikler ışık mikroskopisinde 48-72 saatte izlenebilmektedir.<sup>162</sup> Fındıkçioğlu ve ark. fibrin yapıştırıcı, plateletten zengin plazma ve trombinin intraoperatif uygulamada flep sağkalımı üzerinde etkilerinin karşılaştırdığı çalışmada, fibrin yapıştırıcının flep dokusunda damar yoğunluğunu ve çapını artırdığını bildirmişlerdir.<sup>188</sup> Bu durum perfüzyon ölçümlerinde kontrol grubu ile fibrin yapıştırıcı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına karşın ışık mikroskopisinde nekroz değerlendirilmesinde kontrol grubu içinde oluşan bu istatistiksel olarak anlamlı farkın fibrin yapıştırıcı grubunda ortaya çıkmayışını açıklayabileceği düşünülmüştür. Bununla beraber gruplardaki denek azlığı nedeniyle elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmenin gücünü azaltmış olabileceği düşünülmüştür

İmmunfloresan boyama ile kapillerler yeni oluşmuş ve olgun olarak iki grupta değerlendirilmiştir. Yeni oluşan kapiller sayımına bakıldığında gruplar ve bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Geciktirme fenomeninin başarıya ulaşması akut dönemde VEGF aracılı vazodilatasyon etkisiyle mümkün olurken uzamış dönemde yeni damar oluşumu ile doku beslenmesinin devam ettirilmesi esasına dayanır.<sup>5, 11, 168</sup> Hücre içi yollarla

meydana gelen fizyolojik anjiyojenezin 3.-5. günlerde başladığı 14. güne kadar proliferasyonun devam ettiği gösterilmiştir.<sup>189</sup> Busuioc ve ark. sıçanlarda 3. derece deri yanıklarında anjiyojenezi değerlendirdikleri çalışmada ikili immünfloresan boyama kullanmış ve iyileşme bölgesinde damar oluşumunun en fazla 9.-15. günlerde olduğunu bildirmiştir.<sup>190</sup> Kim ve ark. yağ grefti sağkalımı üzerinde alıcı sahaya verilen deferoksamin ve deferoksamin aracılı salınan VEGF'nin etkilerini incelediği çalışmada, 9. günde uygulama bölgesinde yeni oluşan kapiller artışı olduğunu gözlemlenmiş ancak deri perfüzyonunda artış gösterilmemiştir. Aynı deneklerde yağ greftlemesi sonrası CD31+ kapiller sayımında olgun kapiller sayımı ile yağ grefti sağ kalımının korelasyon gösterdiği izlenmiştir. Bu bilgiler göz önüne alındığında olgun kapillerler sayısının yeni oluşan kapiller sayısına kıyasla perfüzyon artışı ile daha iyi korelasyon gösterdiği düşünülmüştür.

İmmünfloresan boyama ile olgun kapiller sayımında VEGF + FY grubunda bölge IV'teki toplam kapiller sayımı bölge I ve V'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. Zhang ve ark. yaptıkları çalışmada sıçan sırt derisindeki pediküllü flep modelinde VEGF ekspresyonunu incelemişler ve flep ortasında flep distaline kıyasla daha yüksek ölçümler elde etmişlerdir.<sup>81</sup> İskemi ve dolayısıyla meydana gelen doku hipoksisi hücrede çeşitli adaptasyon yollarını harekete geçirmektedir.<sup>191, 192</sup> ATP düşüşünü takiben hücre ve organel membranları iyon dengesini sağlayamaz ise hücre ölümü meydana gelmektedir; fakat hücre yeni oksijen dengesine uyum sağlayabilirse HIF aracılı antiapoptotik ve devamında VEGF aracılı neoanjiyojenez yolları aktive olmaktadır.<sup>193-195</sup> Bu bakımdan

incelendiğinde VEGF+FY grubunda bölge IV üzerinde hem endojen hem de dışarıdan kontrollü salınan VEGF'nin sinerjistik etkisinin diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu düşünülmüştür. Floresan anjiyografi ile perfüzyon ölçümlerinde VEGF+FY grubunda IV bölgesinin distalindeki bölge V'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek değere sahip olması da bu bulguyu desteklemektedir. Perfüzyon bölgeleri arasında bakıldığında olgun kapiller sayıları VEGF grubunda bölge III ve IV'te fibrin yapıştırıcı grubuna kıyasla, bölge II, III ve IV'te de VEGF + FY grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşüktür. Zhang ve ark. yaptığı deneysel çalışmada anastomoz hattına verilen yüksek doz VEGF'nin damar geçirgenliğini bozarak hematoma yol açtığı bildirilmiştir.<sup>156</sup> Wong ve ark. yaptığı tavuk embriyosunda VEGF ve diğer büyüme etkenlerinin etkilerinin değerlendirildiği çalışmada tek başına verilen VEGF'nin geçirgenliği artmış, fragil damar oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir.<sup>16</sup> VEGF grubunda choke anastomozların olduğu bölgelerdeki kapiller sayısındaki istatistiksel olarak anlamlı bu azalmanın kontrolsüz ve tek dozda verilen VEGF'nin etkisi olabileceği düşünülmüştür. Fibrin yapıştırıcı grubu ile VEGF grubu arasındaki istatistiksel olarak anlamlı fark fibrin yapıştırıcının damar yoğunluğunu ve çapını arttırdığını gösteren literatürle uyumludur.<sup>188, 196</sup>

Denek sayısının azlığı, cerrahi sonrası sadece yedi günlük takip süresi, VEGF ve fibrin yapıştırıcı karışımlarının farklı dozlarda farklı gruplarda çalışmaya dahil edilmemesi çalışmanın eksik yönleri arasında sayılabilir. Perforatör diseksiyonu, etken madde uygulanması ve denek takibi kolaylığı açısından sırt

derisinde tanımlanmış bir perforatör flep modeli kullanılması ve flep takibinin objektifliğini sağlamak adına kızılötesine yakın anjiyografi kullanılması bu çalışmanın güçlü yönleri olarak sayılabilir.



## 6. SONUÇ

Cerrahiden yedi gün önce verilen VEGF ve VEGF-fibrin yapıştırıcı karışımı, kontrol grubuna göre flep distalinde perfüzyonu artırmıştır.

Flep cerrahisinden hemen sonraki ölçümlerde flep distalinin perfüzyonu, VEGF ve fibrin yapıştırıcı karışımı uygulanan grupta yalnızca VEGF uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. Bu anlamlı yükseklik farkı cerrahiden yedi gün sonraki ölçümlerde tespit edilmemiştir.

Choke anastomoz bölgelerindeki olgun kapiller sayısı, tek doz VEGF uygulanan deneklerde istatistiksel olarak anlamlı düşüktür. Fibrin yapıştırıcı ve VEGF karışımı uygulanan grupta distal choke anastomoz bölgesinde (IV) olgun kapiller sayısı diğer bölgelere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksektir.

Literatürde perforatör flep modelinde kontrollü salınım yapan fibrin yapıştırıcı ve VEGF karışımının etkinliğinin incelendiği bu ilk çalışmada, VEGF'nin fibrin yapıştırıcı ile kombine formunda flep cerrahisi öncesi lokal kullanımının, flep distalindeki perfüzyonu ve choke anastomoz bölgelerindeki olgun kapillerleri tek doz kullanıma göre arttırdığı gösterilmiştir.

## 7. ÖZET

### SIÇAN PERFORATÖR ADA FLEBİ MODELİNDE KONTROLLÜ SALINIM GÖSTEREN VEGF165 VE FİBRİN YAPIŞTIRICI KARIŞIMININ FLEP ÖN KOŞULLAMAYA ETKİSİ

Flep ön koşullama Vasküler endotel büyüme etkeni (VEGF) aracılı yollarla düzenlenmektedir. Fibrin yapıştırıcı (FY), büyüme faktörlerinin taşınmasında ve kontrollü salınımında kullanılmaktadır. Bu çalışmada, fibrin yapıştırıcı ve VEGF'nin birlikte kullanımının, tek başına VEGF kullanımına kıyasla perforatör fleplerde sağkalımını artıracığı hipotezi sınanmıştır.

24 adet erkek Sprague-Dawley türü sıçan 4 gruba ayrıldı. Sırtta 2x10 cm ebadında perforatör flep tasarlandı. Kontrol grubunda fosfat tamponlu salin (PBS), FY grubunda fibrin yapıştırıcı, VEGF grubunda PBS ile seyreltilmiş 2 µg VEGF<sub>165</sub> ve VEGF + FY grubunda fibrin yapıştırıcı içinde 2 µg VEGF<sub>165</sub> deri altına enjekte edildi. Yedi gün sonra flepler kaldırıldı ve yerine iade edildi. Ardından perfüzyon ölçümleri, indosiyanın yeşili ile floresan anjiyografi kullanılarak yapıldı. Cerrahi sonrası yedinci günde perfüzyon ölçümleri tekrarlandı, sıçanlar sakrifiye edildi ve flepler histolojik ve immünfloresan inceleme için eksize edildi.

VEGF uygulanan gruplarda flep distalinde perfüzyon diğer gruplara göre daha yüksek izlendi. ( $p<0,05$ ). Cerrahiden hemen sonra flep distalinin perfüzyonu

VEGF+FY grubunda VEGF grubuna göre daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ), cerrahi sonrası yedinci günde ise VEGF verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Olgun kılcal damar sayısı VEGF grubunda choke anastomoz bölgelerinde daha düşük ( $p<0,05$ ), VEGF + FG grubunda distal choke anastomoz bölgesinde daha yüksek izlendi ( $p<0,05$ ).

Çalışmanın bulguları flep cerrahisi öncesinde ön koşullama için fibrin yapıştırıcı ve VEGF<sub>165</sub> karışımının kullanılmasının, tek başına VEGF<sub>165</sub>'e kıyasla distal flepte olgun kılcal damarları ve perfüzyonu artırdığını işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: VEGF, fibrin yapıştırıcı, perforatör flep.

## **8. SUMMARY**

### **THE EFFECT OF CONTROLLED RELEASE MIXTURE OF VEGF<sub>165</sub> AND FIBRIN GLUE ON FLAP PRECONDITIONING IN A RAT PERFORATOR ISLAND FLAP MODEL**

Flap preconditioning is regulated by vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated pathways. Fibrin glue (FG) is used in the transport and controlled release of growth factors. This study aimed to investigate whether the use of vascular endothelial growth factor (VEGF) in combination with fibrin glue would increase survival in perforator flaps compared to the use of VEGF alone.

Twenty-four male Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups. A 2x10 cm perforator flap was designed on the back. The control group received phosphate-buffered saline (PBS), the FG group received fibrin glue, the VEGF group received 2 µg VEGF<sub>165</sub> diluted with PBS, and the VEGF + FG group received 2 µg VEGF<sub>165</sub> in fibrin glue subcutaneously. Seven days later, the flaps were raised and sutured back. Perfusion measurements were then made using fluorescent angiography with indocyanine green. On the seventh postoperative day perfusion measurements were repeated, rats were sacrificed, and the flaps were excised for histological and immunofluorescence evaluation.

Perfusion in the distal flap of the VEGF-applied groups was higher than in the other groups ( $p < 0.05$ ). The perfusion of the flap distal immediately after surgery was higher in the VEGF+FG group than in the VEGF group ( $p < 0.05$ ), and there was no statistically significant difference between the VEGF-applied groups on the seventh postoperative day. The number of mature capillaries was lower in the VEGF group at the choke anastomosis sites ( $p < 0.05$ ), and higher at the distal choke anastomosis site in the VEGF + FG group.

These findings suggest that using a mixture of FG and VEGF<sub>165</sub> for preconditioning prior to flap surgery increases mature capillaries and perfusion in the distal flap compared to VEGF<sub>165</sub> alone.

Keywords: VEGF, fibrin glue, perforator flap

## 9. KAYNAKLAR

1. Suominen S, Asko-Seljavaara S. Free flap failures. *Microsurgery*. 1995;16(6):396-9.
2. Bui DT, Cordeiro PG, Hu QY, Disa JJ, Pusic A, Mehrara BJ. Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119(7):2092-100.
3. Myers MB, Cherry G. Augmentation of tissue survival by delay: an experimental study in rabbits. *Plast Reconstr Surg*. 1967;39(4):397-401.
4. Hamilton K, Wolfswinkel EM, Weathers WM, Xue AS, Hatef DA, Izaddoost S, et al. The Delay Phenomenon: A Compilation of Knowledge across Specialties. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr*. 2014;7(2):112-8.
5. Ghali S, Butler PEM, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular Delay Revisited. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2007;119(6):1735-44.
6. Patel T, Kimura H, Weiss C, Semenza G, Hofmann L. Constitutively active HIF-1 $\alpha$  improves perfusion and arterial remodeling in an endovascular model of limb ischemia. *Cardiovascular Research*. 2005;68(1):144-54.
7. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal*. 2007;19(10):2003-12.
8. Kazemi M, Carrer A, Moimas S, Zandona L, Bussani R, Casagrande B, et al. VEGF121 and VEGF165 differentially promote vessel maturation and tumor growth in mice and humans. *Cancer Gene Ther*. 2016;23(5):125-32.
9. Spotnitz WD. Fibrin Sealant: Past, Present, and Future: A Brief Review. *World Journal of Surgery*. 2010;34(4):632-4.
10. Spicer PP, Mikos AG. Fibrin glue as a drug delivery system. *J Control Release*. 2010;148(1):49-55.
11. Fang T, Lineaweaver WC, Chen MB, Kisner C, Zhang F. Effects of vascular endothelial growth factor on survival of surgical flaps: a review of experimental studies. *J Reconstr Microsurg*. 2014;30(1):1-13.
12. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, et al. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *The Journal of Clinical Investigation*. 1994;93(2):662-70.
13. Kleinheinz J, Jung S, Wermker K, Fischer C, Joos U. Release kinetics of VEGF165 from a collagen matrix and structural matrix changes in a circulation model. *Head & Face Medicine*. 2010;6(1):17.
14. Dibbens JA, Miller DL, Damert A, Risau W, Vadas MA, Goodall GJ. Hypoxic Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor mRNA Stability Requires the Cooperation of Multiple RNA Elements. *Molecular Biology of the Cell*. 1999;10(4):907-19.
15. Mittermayr R, Morton T, Hofmann M, Helgerson S, van Griensven M, Redl H. Sustained (rh)VEGF(165) release from a sprayed fibrin biomatrix induces angiogenesis, up-regulation of endogenous VEGF-R2, and reduces ischemic flap necrosis. *Wound Repair Regen*. 2008;16(4):542-50.

16. Catalina Wong EI, Reiner Spaethe, Sam Helgerson. Fibrin-based biomaterials to deliver human growth factors. *Thrombosis Haemostasis*. 2003;89:10.
17. Bhashagratna KK. An English translation of the Sushruta Samhita based on original Sanskrit text. Calcutta: Bose; 1916.
18. Tagliacozzi G. *De curtorum chirurgia per institione*. Venice 1597.
19. Carpue J. An Account of Two Successful Operations for Restoring a Lost Nose from the Integuments of the Forehead. London: Longman; 1816.
20. Graefe Cv. *Rhinoplastik, oder die kunst den verlust der nase organisch zu ersetzen*. Berlin: Realschulbuchhandlung; 1818.
21. Manchot C. *Die hautarterien des menschlichen korpers*. Leipzig: Vogel; 1889.
22. Tansini I. Sporo il mio nuova processo di amputazione della mammella. *Gazz Med Ital*. 1906;57:141.
23. Orticochea M. History of the discovery of the musculocutaneous flap method as a universal and immediate substitute for the method of delay. *Br J Plast Surg*. 1983;36(4):524-8.
24. Pontén B. The fasciocutaneous flap: its use in soft tissue defects of the lower leg. *Br J Plast Surg*. 1981;34(2):215-20.
25. Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg*. 1987;40(2):113-41.
26. Saint-Cyr M, Wong C, Schaverien M, Mojallal A, Rohrich RJ. The perforasome theory: vascular anatomy and clinical implications. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124(5):1529-44.
27. Badash I, Gould DJ, Patel KM. Supermicrosurgery: History, Applications, Training and the Future. *Front Surg*. 2018;5:23.
28. Masia J, Kosutic D, Cervelli D, Clavero JA, Monill JM, Pons G. In search of the ideal method in perforator mapping: noncontrast magnetic resonance imaging. *J Reconstr Microsurg*. 2010;26(1):29-35.
29. Blondeel PN, Van Landuyt KH, Monstrey SJ, Hamdi M, Matton GE, Allen RJ, et al. The "Gent" consensus on perforator flap terminology: preliminary definitions. *Plast Reconstr Surg*. 2003;112(5):1378-83; quiz 83, 516; discussion 84-7.
30. Cormack GC, Lamberty BG. A classification of fascio-cutaneous flaps according to their patterns of vascularisation. *Br J Plast Surg*. 1984;37(1):80-7.
31. Taylor GI, Corlett RJ, Dhar SC, Ashton MW. The anatomical (angiosome) and clinical territories of cutaneous perforating arteries: development of the concept and designing safe flaps. *Plast Reconstr Surg*. 2011;127(4):1447-59.
32. Massey MF, Spiegel AJ, Levine JL, Craigie JE, Kline RM, Khoobehi K, et al. Perforator flaps: recent experience, current trends, and future directions based on 3974 microsurgical breast reconstructions. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124(3):737-51.
33. Syed SA, Tasaki Y, Fujii T, Murakami R, Kobayashi K. Cutaneous vascular anatomy of the thoracic region of the dorsum and its role in flap design in the rat. *Ann Plast Surg*. 1992;29(5):420-4.

34. Ciresi KF, Mathes SJ. The classification of flaps. *Orthop Clin North Am.* 1993;24(3):383-91.
35. Gurtner GP, Associate Chairman SUSoMSCAUSA, Gurtner G, Neligan P, Liu DZ. *Plastic surgery.* Fourth edition ed. London ; New York: Elsevier; 2017.
36. Thorne C, Chung KC, Gosain A, Guntner GC, Mehrara BJ. *Grabb and Smith's plastic surgery / editor-in-chief, Charles H. Thorne ; editors, Kevin C. Chung, Arun Gosain, Geoffrey C. Gurtner, Babak Joseph Mehrara, J. Peter Rubin, Scott L. Spear.* Seventh edition ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2014. xiii, 1030 p. p.
37. Chung KC. *Grabb and Smith's plastic surgery.* Eighth edition. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2020. xix, 1054 pages p.
38. Koshima I, Soeda S. Inferior epigastric artery skin flaps without rectus abdominis muscle. *Br J Plast Surg.* 1989;42(6):645-8.
39. Blondeel PN, Van Landuyt K, Hamdi M, Monstrey SJ. Perforator flap terminology: update 2002. *Clinics in Plastic Surgery.* 2003;30(3):343-6.
40. Pignatti M, Ogawa R, Hallock GG, Mateev M, Georgescu AV, Balakrishnan G, et al. The "Tokyo" consensus on propeller flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127(2):716-22.
41. Hyakusoku H, Ogawa R, Oki K, Ishii N. The Perforator Pedicled Propeller (PPP) Flap Method: A Report of Two Cases. *Journal of Nippon Medical School.* 2007;74(5):367-71.
42. Daniel RK, Kerrigan CL. Skin flaps: an anatomical and hemodynamic approach. *Clin Plast Surg.* 1979;6(2):181-200.
43. Taylor GI, Corlett RJ, Ashton MW. The Functional Angiosome: Clinical Implications of the Anatomical Concept. *Plast Reconstr Surg.* 2017;140(4):721-33.
44. Lecours C, Saint-Cyr M, Wong C, Bernier C, Mailhot E, Tardif M, et al. Freestyle pedicle perforator flaps: clinical results and vascular anatomy. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126(5):1589-603.
45. Ashton MW. Tips on Raising Reliable Local Perforator Flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open.* 2021;9(7):e3673.
46. Dhar SC, Taylor GI. The Delay Phenomenon: The Story Unfolds. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1999;104(7):2079-91.
47. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is a surgical delay effective? An experimental study. *Plast Reconstr Surg.* 1995;95(3):526-33.
48. Morris SF, Taylor GI. Predicting the survival of experimental skin flaps with a knowledge of the vascular architecture. *Plast Reconstr Surg.* 1993;92(7):1352-61.
49. Reinisch JF. The pathophysiology of skin flap circulation. The delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg.* 1974;54(5):585-98.
50. Pang CY, Forrest CR, Neligan PC, Lindsay WK. Augmentation of blood flow in delayed random skin flaps in the pig: effect of length of delay period and angiogenesis. *Plast Reconstr Surg.* 1986;78(1):68-74.
51. Pang CY, Neligan PC, Forrest CR, Nakatsuka T, Sasaki GH. Hemodynamics and vascular sensitivity to circulating norepinephrine in normal skin and delayed and acute random skin flaps in the pig. *Plast Reconstr Surg.* 1986;78(1):75-84.

52. Dorion D, Boyd JB, Pang CY. Augmentation of transmidline skin perfusion and viability in transverse rectus abdominis myocutaneous (TRAM) flaps in the pig. *Plast Reconstr Surg*. 1991;88(4):642-9.
53. Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W, Oswald TM, Cui D, Zhang F. Vascular endothelium growth factor, surgical delay, and skin flap survival. *Ann Surg*. 2004;239(6):866-73; discussion 73-5.
54. Taylor GI, Minabe T. The Angiosomes of the Mammals and Other Vertebrates. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1992;89(2):181-215.
55. Dunn RM, Mancoll J. Flap models in the rat: a review and reappraisal. *Plast Reconstr Surg*. 1992;90(2):319-28.
56. Yang D, Morris SF. An extended dorsal island skin flap with multiple vascular territories in the rat: A new skin flap model. *J Surg Res*. 1999;87(2):164-70.
57. Algire GH, Chalkley HW, Legallais FY, Park HD. Vasculae Reactions of Normal and Malignant Tissues in Vivo. I. Vascular Reactions of Mice to Wounds and to Normal and Neoplastic Transplants. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1945;6(1):73-85.
58. Ashton N. Observations on the choroidal circulation. *Br J Ophthalmol*. 1952;36(9):465-81.
59. AG I, Baker NH, Warren SL. Vascularization of the Brown-Pearce rabbit epithelioma transplantas seen in the transparent ear chamber. *Am J Roentgenol*. 1939;42:891-9.
60. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New england journal of medicine*. 1971;285(21):1182-6.
61. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell*. 2019;176(6):1248-64.
62. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor Cells Secrete a Vascular Permeability Factor that Promotes Accumulation of Ascites Fluid. *Science*. 1983;219(4587):983-5.
63. DVORAK HF, NAGY JA, BERSE B, BROWN LF, YEO K-T, YEO T-K, et al. Vascular Permeability Factor, Fibrin, and the Pathogenesis of Tumor Stroma Formationa. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1992;667(1):101-11.
64. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1989;161(2):851-8.
65. Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R, Olander JV, Eppley BL, Delfino JJ, et al. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*. 1989;84(5):1470-8.
66. Leung DW, Cachianes G, Kuang W-J, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular Endothelial Growth Factor Is a Secreted Angiogenic Mitogen. *Science*. 1989;246(4935):1306-9.
67. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature*. 1996;380(6573):435-9.

68. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature*. 1996;380(6573):439-42.
69. Ylä-Kotola TM, Kauhanen SC, Leivo IV, Haglund C, Tukiainen E. Vascular endothelial growth factor and its receptors are expressed in human nerve grafts. *J Reconstr Microsurg*. 2011;27(3):173-8.
70. Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA, Alcobia DC, Hill SJ, Kilpatrick LE, et al. Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4).
71. Ferrara N. Vascular Endothelial Growth Factor. *Brenner's Encyclopedia of Genetics* 2013. p. 274-6.
72. Fitzgerald KA, O'Neill LAJ, Gearing AJH, Callard RE. VEGF. In: Fitzgerald KA, O'Neill LAJ, Gearing AJH, Callard RE, editors. *The Cytokine FactsBook and Webfacts (Second Edition)*. London: Academic Press; 2001. p. 498-504.
73. Ferrara N, Davis-Smyth T. The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor. *Endocrine Reviews*. 1997;18(1):4-25.
74. Ferrara N, Crawford Y. CHAPTER 34 - Pathophysiology of vascular endothelial growth factor and other angiogenic molecules. In: Nguyen QD, Rodrigues EB, Farah ME, Mieler WF, editors. *Retinal Pharmacotherapy*. Edinburgh: W.B. Saunders; 2010. p. 230-5.
75. Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2016;17(10):611-25.
76. de Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N, Williams LT. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science*. 1992;255(5047):989-91.
77. Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin CH. Different signal transduction properties of KDR and Flt1, two receptors for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem*. 1994;269(43):26988-95.
78. LeCouter J, Moritz DR, Li B, Phillips GL, Liang XH, Gerber HP, et al. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGFR-1. *Science*. 2003;299(5608):890-3.
79. Plastino F, Pesce NA, André H. MicroRNAs and the HIF/VEGF axis in ocular neovascular diseases. *Acta Ophthalmologica*. 2021;99(8):e1255-e62.
80. Krock BL, Skuli N, Simon MC. Hypoxia-induced angiogenesis: good and evil. *Genes Cancer*. 2011;2(12):1117-33.
81. Zhang F, Oswald T, Lin S, Cai Z, Lei M, Jones M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the effect of exogenous VEGF on survival of a random flap in the rat. *Br J Plast Surg*. 2003;56(7):653-9.
82. Detmar M, Brown LF, Berse B, Jackman RW, Elicker BM, Dvorak HF, et al. Hypoxia regulates the expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) and its receptors in human skin. *J Invest Dermatol*. 1997;108(3):263-8.
83. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, Kontos C, Zhong A, et al. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap

- viability: efficacy and mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287(5):R1219-29.
84. Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, Forrest CR, Addison PD, Moses MA, et al. Vasodilator effect and mechanism of action of vascular endothelial growth factor in skin vasculature. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286(3):H946-54.
  85. Tetik Menevse G, Islamoglu K, Ege Ozgentas H. Expansion of surviving skin paddle of neurocutaneous island flaps in rats by VEGF. *J Reconstr Microsurg.* 2007;23(2):99-105.
  86. Pekala P, Marlow M, Heuvelman D, Connolly D. Regulation of hexose transport in aortic endothelial cells by vascular permeability factor and tumor necrosis factor-alpha, but not by insulin. *Journal of Biological Chemistry.* 1990;265(30):18051-4.
  87. O'Connor DS, Schechner JS, Adida C, Mesri M, Rothermel AL, Li F, et al. Control of apoptosis during angiogenesis by survivin expression in endothelial cells. *Am J Pathol.* 2000;156(2):393-8.
  88. Abcam. VEGF signaling pathway. 2020.
  89. Bergel S. Ueber Wirkungen des Fibrins. *Dtsch Med Wochenschr.* 1909;35(15):663-5.
  90. Young JZ, Medawar PB. FIBRIN SUTURE OF PERIPHERAL NERVES: MEASUREMENT OF THE RATE OF REGENERATION. *The Lancet.* 1940;236(6101):126-8.
  91. Cronkite EP, Lozner EL, Deaver JM. USE OF THROMBIN AND FIBRINOGEN IN SKIN GRAFTING: PRELIMINARY REPORT. *JAMA.* 1944;124:976-8.
  92. Matras H, HP D. Zur nahtlosen interfazikulären Nerventransplantation im Tierexperiment. 1972.
  93. Revocation of fibrinogen licenses. *FDA Drug Bull.* 1978;8(2):15.
  94. Mintz PD, Mayers L, Avery N, Flanagan HL, Burks SG, Spotnitz WD. Fibrin sealant: clinical use and the development of the University of Virginia Tissue Adhesive Center. *Ann Clin Lab Sci.* 2001;31(1):108-18.
  95. Matthew TL, Spotnitz WD, Kron IL, Daniel TM, Tribble CG, Nolan SP. Four years' experience with fibrin sealant in thoracic and cardiovascular surgery. *Ann Thorac Surg.* 1990;50(1):40-3; discussion 3-4.
  96. Siedentop KH, Harris DM, Sanchez B. Autologous fibrin tissue adhesive. *Laryngoscope.* 1985;95(9 Pt 1):1074-6.
  97. Spotnitz WD. Fibrin Sealant: The Only Approved Hemostat, Sealant, and Adhesive-a Laboratory and Clinical Perspective. *ISRN Surg.* 2014;2014:203943.
  98. Martinowitz U, Spotnitz WD. Fibrin Tissue Adhesives. *Thromb Haemost.* 1997;78(07):661-6.
  99. Mankad PS, Codispoti M. The role of fibrin sealants in hemostasis. *Am J Surg.* 2001;182(2 Suppl):21s-8s.
  100. Dunn CJ, Goa KL. Fibrin sealant: a review of its use in surgery and endoscopy. *Drugs.* 1999;58(5):863-86.
  101. Baxter. TISSEEL Lyo - Prospektüs. 2022.
  102. Beudert M, Gutmann M, Lühmann T, Meinel L. Fibrin Sealants: Challenges and Solutions. *ACS Biomaterials Science & Engineering.* 2022;8(6):2220-31.

103. Pipan CM, Glasheen WP, Matthew TL, Gonias SL, Hwang LJ, Jane JA, et al. Effects of antifibrinolytic agents on the life span of fibrin sealant. *J Surg Res.* 1992;53(4):402-7.
104. McCarthy PM. Fibrin Glue in Cardiothoracic Surgery. *Transfusion Medicine Reviews.* 1993;7(3):173-9.
105. Milne AA, Murphy WG, Reading SJ, Ruckley CV. Fibrin sealant reduces suture line bleeding during carotid endarterectomy: A randomised trial. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery.* 1995;10(1):91-4.
106. Ishitani MB, McGahren ED, Sibley DA, Spotnitz WD, Rodgers BM. Laparoscopically applied fibrin glue in experimental liver trauma. *Journal of Pediatric Surgery.* 1989;24(9):867-71.
107. Detweiler MB, Detweiler JG, Fenton J. Sutureless and reduced suture anastomosis of hollow vessels with fibrin glue: a review. *J Invest Surg.* 1999;12(5):245-62.
108. Rakocz M, Mazar A, Varon D, Spierer S, Blinder D, Martinowitz U. Dental extractions in patients with bleeding disorders. The use of fibrin glue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;75(3):280-2.
109. Nervi C, Gamelli RL, Greenhalgh DG, Luterman A, Hansbrough JF, Achauer BM, et al. A multicenter clinical trial to evaluate the topical hemostatic efficacy of fibrin sealant in burn patients. *J Burn Care Rehabil.* 2001;22(2):99-103.
110. Vaiman M, Eviatar E, Segal S. Effectiveness of second-generation fibrin glue in endonasal operations. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;126(4):388-91.
111. Mutignani M, Seerden T, Tringali A, Feisal D, Perri V, Familiari P, et al. Endoscopic hemostasis with fibrin glue for refractory postsphincterotomy and postpapillectomy bleeding. *Gastrointest Endosc.* 2010;71(4):856-60.
112. Sameem M, Wood TJ, Bain JR. A systematic review on the use of fibrin glue for peripheral nerve repair. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127(6):2381-90.
113. Reddy KS, Chittoria RK, Babu P, Marimuthu SK, Kumar SH, Subbarayan EK, et al. Effectiveness of Fibrin Glue in Adherence of Skin Graft. *J Cutan Aesthet Surg.* 2017;10(2):72-5.
114. Hester TR, Jr., Shire JR, Nguyen DB, Gerut ZE, Chen AH, Diamond J, et al. Randomized, controlled, phase 3 study to evaluate the safety and efficacy of fibrin sealant VH S/D 4 s-apr (Artiss) to improve tissue adherence in subjects undergoing rhytidectomy. *Aesthet Surg J.* 2013;33(4):487-96.
115. Shander A, Kaplan LJ, Harris MT, Gross I, Nagarsheth NP, Nemeth J, et al. Topical hemostatic therapy in surgery: bridging the knowledge and practice gap. *J Am Coll Surg.* 2014;219(3):570-9.e4.
116. Benevento R, Santoriello A, Pellino G, Sciaudone G, Candilio G, De Fatico GS, et al. The effects of low-thrombin fibrin sealant on wound serous drainage, seroma formation and length of postoperative stay in patients undergoing axillary node dissection for breast cancer. A randomized controlled trial. *Int J Surg.* 2014;12(11):1210-5.
117. Weldrick C, Bashar K, O'Sullivan TA, Gillis E, Clarke Moloney M, Tang TY, et al. A comparison of fibrin sealant versus standard closure in the reduction of postoperative morbidity after groin dissection: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2014;40(11):1391-8.

118. Carless PA, Henry DA. Systematic review and meta-analysis of the use of fibrin sealant to prevent seroma formation after breast cancer surgery. *Br J Surg.* 2006;93(7):810-9.
119. Cain JE, Jr., Dryer RF, Barton BR. Evaluation of dural closure techniques. Suture methods, fibrin adhesive sealant, and cyanoacrylate polymer. *Spine (Phila Pa 1976).* 1988;13(7):720-5.
120. Li Z, Wang W, Wang X, Jiang L, Wang F, Liu Q. Sustained-released mixture of vascular endothelial growth factor 165 and fibrin glue strengthens healing of ileal anastomoses in a rabbit model with intraperitoneal infection. *Ann Surg Treat Res.* 2017;93(3):159-65.
121. Zilch H, Lambiris E. The sustained release of cefotaxim from a fibrin-cefotaxim compound in treatment of osteitis. Pharmacokinetic study and clinical results. *Arch Orthop Trauma Surg (1978).* 1986;106(1):36-41.
122. Ahmad E, Fatima MT, Hoque M, Owais M, Saleemuddin M. Fibrin matrices: The versatile therapeutic delivery systems. *Int J Biol Macromol.* 2015;81:121-36.
123. Kitajiri S, Tabuchi K, Hiraumi H, Kaetsu H. Relief of post-tonsillectomy pain by release of lidocaine from fibrin glue. *Laryngoscope.* 2001;111(4 Pt 1):642-4.
124. Fu J-Z, Li J, Yu Z-L. Effect of implanting fibrin sealant with ropivacaine on pain after laparoscopic cholecystectomy. *World Journal of Gastroenterology.* 2009;15(46):5851.
125. Lendeckel S, Jödicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg.* 2004;32(6):370-3.
126. Stendel R, Scheurer L, Schlatterer K, Gminski R, Möhler H. Taurolidine-Fibrin-Sealant-Matrix using spray application for local treatment of brain tumors. *Anticancer Res.* 2004;24(2b):631-8.
127. Opitz I, Erne BV, Demirbas S, Jetter A, Seifert B, Stahel R, et al. Optimized intrapleural cisplatin chemotherapy with a fibrin carrier after extrapleural pneumonectomy: a preclinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011;141(1):65-71.
128. Häfeli UO, Pauer GJ, Unnithan J, Prayson RA. Fibrin glue system for adjuvant brachytherapy of brain tumors with 188Re and 186Re-labeled microspheres. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics.* 2007;65(3):282-8.
129. Qi XR, Yan Y, Ma XD, Li TY, Nie Xy, Yang BB. Development of a local vasodilator delivery system using fibrin glue to prevent arterial graft from spasm. *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 2007;82(1):139-44.
130. Schillinger U, Wexel G, Hacker C, Kullmer M, Koch C, Gerg M, et al. A fibrin glue composition as carrier for nucleic acid vectors. *Pharmaceutical research.* 2008;25(12):2946-62.
131. Nie S-p, Xiao W, Shi-bin Q, Qiu-tang Z, Ju-quan J, Xiao-qing L, et al. Improved myocardial perfusion and cardiac function by controlled-release basic

- fibroblast growth factor using fibrin glue in a canine infarct model. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2010;11(12):895-904.
132. Singh K, Moyer H, Williams JK, Schwartz Z, Boyan BD. Fibrin glue: a scaffold for cellular-based therapy in a critical-sized defect. *Annals of plastic surgery*. 2011;66(3):301-5.
133. Ozaki S, Saito A, Nakaminami H, Ono M, Noguchi N, Motomura N. Comprehensive evaluation of fibrin glue as a local drug-delivery system—efficacy and safety of sustained release of vancomycin by fibrin glue against local methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of Artificial Organs*. 2014;17(1):42-9.
134. Cashman JD, Jackson JK, Mugabe C, Gilchrist S, Burt HM, Ball K, et al. The use of tissue sealants to deliver antibiotics to an orthopaedic surgical site with a titanium implant. *Journal of Orthopaedic Science*. 2013;18(1):165-74.
135. Greco F, De Palma L, Spagnolo N, Rossi A, Specchia N, Gigante A. Fibrin–antibiotic mixtures: An in vitro study assessing the possibility of using a biologic carrier for local drug delivery. *Journal of biomedical materials research*. 1991;25(1):39-51.
136. Bergeron MG, Robert J, Beauchamp D. Pharmacodynamics of antibiotics in fibrin clots. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1993;31(suppl\_D):113-36.
137. Fujioka-Kobayashi M, Mottini M, Kobayashi E, Zhang Y, Schaller B, Miron RJ. An in vitro study of fibrin sealant as a carrier system for recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP)–9 for bone tissue engineering. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017;45(1):27-32.
138. Burnier P, Niddam J, Bosc R, Hersant B, Meningaud J-P. Indocyanine green applications in plastic surgery: a review of the literature. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2017;70(6):814-27.
139. Leevy CM, Smith F, Longueville J, Paumgartner G, Howard MM. Indocyanine green clearance as a test for hepatic function: evaluation by dichromatic ear densitometry. *Jama*. 1967;200(3):236-40.
140. Miller DE, Gleason WL, McIntosh HD. A comparison of the cardiac output determination by the direct Fick method and the dye-dilution method using indocyanine green dye and a cuvette densitometer. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1962;59(2):345-50.
141. Yannuzzi LA. Indocyanine green angiography: a perspective on use in the clinical setting. *American journal of ophthalmology*. 2011;151(5):745-51. e1.
142. Betz CS, Zhorzel S, Schachenmayr H, Stepp H, Matthias C, Hopper C, et al. Endoscopic assessment of free flap perfusion in the upper aerodigestive tract using indocyanine green: a pilot study. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2013;66(5):667-74.
143. Newman MI, Jack MC, Samson MC. SPY-Q Analysis Toolkit Values Potentially Predict Mastectomy Flap Necrosis. *Annals of Plastic Surgery*. 2013;70(5):595-8.
144. Muckle TJ. Plasma proteins binding of indocyanine green. *Biochemical medicine*. 1976;15(1):17-21.

145. Baker KJ. Binding of Sulfobromophthalein (BSP) Sodium and Indocyanine Green (ICG) by Plasma  $\alpha$ 1 Lipoproteins. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*. 1966;122(4):957-63.
146. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Pätälä T, Spillmann T, Tuchin VV, et al. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *International journal of biomedical imaging*. 2012;2012.
147. Engel E, Schraml Rd, Maisch T, Kobuch K, König B, Szeimies R-M, et al. Light-induced decomposition of indocyanine green. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2008;49(5):1777-83.
148. Jyränki J, Suominen S, Vuola J, Bäck L. Microdialysis in clinical practice: monitoring intraoral free flaps. *Annals of plastic surgery*. 2006;56(4):387-93.
149. Jones NF. Intraoperative and postoperative monitoring of microsurgical free tissue transfers. *Clinics in plastic surgery*. 1992;19(4):783-97.
150. Desmettre T, Devoisselle J, Mordon S. Fluorescence properties and metabolic features of indocyanine green (ICG) as related to angiography. *Survey of ophthalmology*. 2000;45(1):15-27.
151. Landsman M, Kwant G, Mook G, Zijlstra W. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *Journal of applied physiology*. 1976;40(4):575-83.
152. Reinhart MB, Huntington CR, Blair LJ, Heniford BT, Augenstein VA. Indocyanine Green: Historical Context, Current Applications, and Future Considerations. *Surg Innov*. 2016;23(2):166-75.
153. Liu DZ, Mathes DW, Zenn MR, Neligan PC. The application of indocyanine green fluorescence angiography in plastic surgery. *Journal of reconstructive microsurgery*. 2011;27(06):355-64.
154. Monahan J, Hwang BH, Kennedy JM, Chen W, Nguyen GK, Schooler WG, et al. Determination of a perfusion threshold in experimental perforator flap surgery using indocyanine green angiography. *Annals of Plastic Surgery*. 2014;73(5):602-6.
155. Akimoto M, Takeda A, Matsushita O, Inoue J, Sakamoto K, Hattori M, et al. Effects of CB-VEGF-A injection in rat flap models for improved survival. *Plast Reconstr Surg*. 2013;131(4):717-25.
156. Zhang F, Richards L, Angel MF, Zhang J, Liu H, Dorsett-Martin W, et al. Accelerating flap maturation by vascular endothelium growth factor in a rat tube flap model. *British Journal of Plastic Surgery*. 2002;55(1):59-63.
157. Li QF, Reis ED, Zhang WX, Silver L, Fallon JT, Weinberg H. Accelerated flap prefabrication with vascular endothelial growth factor. *J Reconstr Microsurg*. 2000;16(1):45-9.
158. Arkudas A, Tjiawi J, Saumweber A, Beier JP, Polykandriotis E, Bleiziffer O, et al. Evaluation of blood vessel ingrowth in fibrin gel subject to type and concentration of growth factors. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2009;13(9a):2864-74.
159. McKnight CD, Winn SR, Gong X, Hansen JE, Wax MK. Revascularization of rat fasciocutaneous flap using CROSSEAL with VEGF protein or plasmid DNA expressing VEGF. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2008;139(2):245-9.

160. Ahmed SS, Pierce J, Reid M, Thomson JG, Restifo RJ. A new experimental model: the vascular pedicled cutaneous flap over the mid-dorsum of the rat. *Ann Plast Surg.* 1997;39(5):495-9.
161. Li X, Chen M, Maharjan S, Cui J, Lu L, Gong X. Evaluating Surgical Delay Using Infrared Thermography in an Island Pedicled Perforator Flap Rat Model. *J Reconstr Microsurg.* 2017;33(7):518-25.
162. Ballestín A, Casado JG, Abellán E, Vela FJ, Álvarez V, Usón A, et al. Ischemia-reperfusion injury in a rat microvascular skin free flap model: A histological, genetic, and blood flow study. *PLoS One.* 2018;13(12):e0209624.
163. Kim J, Park M, Jeong W, Lee HW, Lee G, Suk Lee K, et al. Recipient-Site Preconditioning with Deferoxamine Increases Fat Graft Survival by Inducing VEGF and Neovascularization in a Rat Model. *Plast Reconstr Surg.* 2019;144(4):619e-29e.
164. Kucur C, Durmus K, Uysal IO, Old M, Agrawal A, Arshad H, et al. Management of complications and compromised free flaps following major head and neck surgery. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273(1):209-13.
165. Miller TJ, Lavin CV, Momeni A, Wan DC. Prevention and Management of Complications of Tissue Flaps. *Surg Clin North Am.* 2021;101(5):813-29.
166. Zhang W, Li X, Li X. A systematic review and meta-analysis of perforator flaps in plantar defects: Risk analysis of complications. *International Wound Journal.* 2021;18(4):525-35.
167. Ramakrishnan S, Anand V, Roy S. Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2014;9(2):142-60.
168. 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(1):126-35.
169. Ferrara N. Binding to the extracellular matrix and proteolytic processing: two key mechanisms regulating vascular endothelial growth factor action. *Mol Biol Cell.* 2010;21(5):687-90.
170. Eppler SM, Combs DL, Henry TD, Lopez JJ, Ellis SG, Yi JH, et al. A target-mediated model to describe the pharmacokinetics and hemodynamic effects of recombinant human vascular endothelial growth factor in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;72(1):20-32.
171. Georgescu AV. Propeller perforator flaps in distal lower leg: evolution and clinical applications. *Arch Plast Surg.* 2012;39(2):94-105.
172. Higuera Suñé MC, López Ojeda A, Narváez García JA, De Albert De Las Vigo M, Roca Mas O, Perez Sidelnikova D, et al. Use of angioscanning in the surgical planning of perforator flaps in the lower extremities. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64(9):1207-13.
173. Kayano S, Nakagawa M, Nagamatsu S, Koizumi T, Akazawa S. Why not perforator flap training models in rats? *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(2):e134-5.
174. Aksam E, Aksam B, Demirseren ME, Orhun Yavuz HS. LOP18: Perforator Based Saphenous Flap in Rats: A New Design for Lower Extremity Flap Experiments. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2015;136(2).

175. Özkan Ö, Özgentas HE. Combination of Rat Vest, Teeth Shortening, and Nail Cutting to Prevent Autocannibalization and Protect Surgical Flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006;117(5):1671.
176. Saint-Cyr M, Schaverien MV, Rohrich RJ. Perforator flaps: history, controversies, physiology, anatomy, and use in reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2009;123(4):132e-45e.
177. Zhang F, Lineaweaver W. Acute and sustained effects of vascular endothelial growth factor on survival of flaps and skin grafts. *Ann Plast Surg*. 2011;66(5):581-2.
178. Martino MM, Briquez PS, Ranga A, Lutolf MP, Hubbell JA. Heparin-binding domain of fibrin (ogen) binds growth factors and promotes tissue repair when incorporated within a synthetic matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(12):4563-8.
179. Luo Z, Wu P, Qing L, Zhou Z, Yu F, Zhang P, et al. The hemodynamic and molecular mechanism study on the choke vessels in the multi-territory perforator flap transforming into true anastomosis. *Gene*. 2019;687:99-108.
180. THOMPSON LKI, POLLARD JA. A METHOD FOR DETERMINING BLOOD FLOW IN PEDICLE FLAPS. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1968;42(1):39-42.
181. Tuncer S, Ayhan S, Findikcioglu K, Ergun H, Tuncer I. Effect of systemic piracetam treatment on flap survival and vascular endothelial growth factor expression after ischemia-reperfusion injury. *Journal of reconstructive microsurgery*. 2011;27(07):409-18.
182. Pang YMDPD, Lineaweaver WCMD, Lei M-PMDPD, Oswald TMD, Shamburger SBS, Cai ZPD, et al. Evaluation of the Mechanism of Vascular Endothelial Growth Factor Improvement of Ischemic Flap Survival in Rats. *Plastic & Reconstructive Surgery August*. 2003;112(2):556-64.
183. Khoo CT, Bailey BN. The behaviour of free muscle and musculocutaneous flaps after early loss of axial blood supply. *Br J Plast Surg*. 1982;35(1):43-6.
184. Millican PG, Poole MD. Peripheral neovascularisation of muscle and musculocutaneous flaps. *Br J Plast Surg*. 1985;38(3):369-74.
185. Jones BM. Monitors for the Cutaneous Microcirculation. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1984;73(5):843-50.
186. Salgado CJ, Moran SL, Mardini S. Flap Monitoring and Patient Management. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2009;124(6S):e295-e302.
187. Patel UA, Hernandez D, Shnayder Y, Wax MK, Hanasono MM, Hornig J, et al. Free Flap Reconstruction Monitoring Techniques and Frequency in the Era of Restricted Resident Work Hours. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2017;143(8):803-9.
188. Findikcioglu F, Findikcioglu K, Yavuzer R, Lortlar N, Atabay K. Effect of Intraoperative Platelet-Rich Plasma and Fibrin Glue Application on Skin Flap Survival. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2012;23(5):1513-7.
189. Tonnesen MG, Feng X, Clark RAF. Angiogenesis in Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2000;5(1):40-6.

190. Busuioc CJ, Popescu FC, Mogosanu GD, Lascar I, Pirici I, Pop OT, et al. Angiogenesis assessment in experimental third degree skin burns: a histological and immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(3):887-95.
191. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;282(2):C227-41.
192. Loor G, Schumacker PT. Role of hypoxia-inducible factor in cell survival during myocardial ischemia–reperfusion. *Cell Death & Differentiation.* 2008;15(4):686-90.
193. Semenza GL. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing. *Curr Opin Cell Biol.* 2001;13(2):167-71.
194. Ahluwalia A, Tarnawski AS. Critical role of hypoxia sensor--HIF-1 $\alpha$  in VEGF gene activation. Implications for angiogenesis and tissue injury healing. *Curr Med Chem.* 2012;19(1):90-7.
195. Lee P, Chandel NS, Simon MC. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(5):268-83.
196. Findikcioglu F, Findikcioglu K, Yavuzer R, Lortlar N, Atabay K. Effect of Preoperative Subcutaneous Platelet-Rich Plasma and Fibrin Glue Application on Skin Flap Survival. *Aesthetic Plastic Surgery.* 2012;36(5):1246-53.

## 10. ÖZGEÇMİŞ



### ÖZGÜN KILIÇ ARŞ.GÖR.

E-posta :  
İş Telefonu :  
Uluslararası Araştırmacı ID'leri  
ORCID: 0000-0001-8958-3692  
Yoksis Araştırmacı ID: 273826

#### Öğrenim Bilgisi

Tıpta Uzmanlık 2017 - Devam Ediyor	Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri, Türkiye
---------------------------------------	--

Yüksek Lisans 2010 - 2016	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Türkiye
------------------------------	---

#### Yabancı Diller

İngilizce, C2 Ustalık

#### Sertifika, Kurs ve Eğitimler

Sağlık ve Tıp, Deneysel Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Kursu, Yeditepe Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu, 2022

Sağlık ve Tıp, Temel Mikrocerrahi Kursu, Rekonstrüktif Mikrocerrahi Derneği, 2021

#### Akademik Unvanlar / Görevler

Araştırma Görevlisi Dr. 2017 - Devam Ediyor	Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri
--	---

#### Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. **Comparison of Effectiveness of Four Facial Masks used during the COVID-19 Pandemic using Indocyanine Green and Fluorescent Angiography Device: A Plastic Surgeon Perspective**  
DENİZ E., ŞİBAR S., KILIÇ Ö., AYHAN M. S.  
TURKISH JOURNAL OF PLASTIC SURGERY, cilt.29, sa.3, ss.166-171, 2021 (ESCI)