

Konsantre büyüme faktörünün random patern cilt flep yaşayabilirliği üzerine etkisi: deneysel çalışma

Effect of concentrated growth factor on random pattern skin flap viability: experimental study

✉ Koray Gürsoy¹, ✉ Gökhan Koca², ✉ Murat Alışık³, ✉ Nihat Yumuşak⁴, ✉ Meliha Korkmaz², ✉ Uğur Koçer¹

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, Ankara, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nükleer Tıp Kliniği, Ankara, Türkiye

³Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

⁴Harran Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

ÖZ

Giriş: Plastik ve rekonstrüktif cerrahide, random patern cilt flepleri çeşitli nedenlerle oluşan doku defektlerinin onarımında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tür fleplerde en sık karşılaşılan sorun yetersiz kan akımına bağlı flep distalinde görülen iskemik nekrozdur. Flep kayıplarını ortadan kaldırmak ve azaltmak için çok sayıda teknik tanımlanmıştır. Bu çalışmadaki amacımız tam kandan elde edilen ve büyüme faktörleri açısından zengin olan konsantre büyüme faktörünün (CGF) daha önce çalışılmamış olan random patern cilt flep yaşayabilirliği üzerine etkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 50 adet Sprague–Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların 40 tanesi deney için, 10 tanesi CGF elde etmek için kullanıldı. Sıçanların sırt bölgelerinden kaldırılan 3x9 cm'lik distal bazlı McFarlene fleplerinin altına çalışma grubunda (n:20) CGF matrisi yerleştirildi. Kontrol grubunda (n:20) herhangi bir tedavi uygulanmadı. İşlem sonrası 7. günde değerlendirme için fotografik, sintigrafik ve histopatolojik inceleme yapıldı.

Bulgular: Alan hesaplamaları sonucunda kontrol grubunda flep yaşayabilirlik oranlarının ortanca değerleri %53 (47-58) olarak bulundu. CGF uygulanan grupta ise flep yaşayabilirlik ortanca oranı %58 (55-64) olarak bulundu. CGF grubunda elde edilen yüksek flep yaşayabilirlik oranları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Sintigrafik perfüzyon alan hesaplamaları sonucunda kontrol grubunda flep yaşayabilirlik oranlarının ortanca değerleri %54 (51-60) iken bu değer CGF uygulanan grupta %61 (59-64)'di. Elde edilen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$). Histopatolojik değerlendirme sonucunda çalışma grubunda elde edilen vaskülarite skorlarının ortanca değerlerinin (10,0 (8,25-11,75)) kontrol grubuna (7,5 (6,25-9,00)) göre fazla olduğu görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,003$). İnflamasyon skorları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,246$).

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları lokal olarak flep altına uygulanan konsantre büyüme faktörünün flep yaşayabilirliğini artırdığını ve bu etkinin anjiyogenez ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir, ancak bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Flep cerrahisinde, iskemi öngörülen durumlarda büyüme faktörlerinden zengin CGF'in uygulanmasının flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri olabilir.

Anahtar Kelimeler: Konsantre büyüme faktörü, CGF, cilt flebi, flep yaşayabilirliği

ABSTRACT

Introduction: Random pattern skin flaps are used frequently for the reconstruction of random pattern skin defects from various causes in plastic and reconstructive surgery. Most frequent complication with these flaps is the necrosis of distal parts due to inadequate blood supply. Various types of techniques have been defined to avoid and reduce flap loss. The aim of this study is, for the first time, to evaluate the effect of concentrated growth factor (CGF), which is derived from whole blood and is rich in growth factors, on the survival of random pattern skin flaps.

Material and Method: Fifty Sprague-Dawley rats were used for the study. Forty of them were used for the experiment group and ten for the preparation of CGF. Distal based 3x9 cm McFarlene flaps were elevated from the back of the rats and in CGF group (n:20), CGF matrix was placed before closure. No treatment was given to the control group (n:20). On postoperative day 7, the flaps were evaluated by photographic, scintigraphic, and histopathological methods.

Results: The median rate of surviving flap areas in control group was 53% (47-58). In CGF group the median rate of flap viability was %58 (55-64). The higher flap viability rates obtained from CGF applied group was found to be statistically significantly higher from control group ($p<0,001$). For the scintigraphic perfusion area evaluations, the median rate of flap perfusion was 54% (51-60) for the control group and 61% (59-64) for the CGF group. The higher flap perfusion rates obtained from CGF applied group was found to be statistically significantly higher from control group ($p=0,001$). The median rate of vascularity scores in CGF treated group was 10,0 (8,25-11,75) and 7,5 (6,25-9,00) in control group. The difference was found to be statistically significantly higher in the study group ($p=0,003$). Inflammation scores were not found to be statistically significantly different ($p=0,246$).

Conclusions: This study shows that locally applied CGF under skin flap increases flap viability which might be associated with the increase in angiogenesis. This study for the first time shows that in flap surgery, applying CGF which is rich in growth factors, might have favorable effects on the flaps that are prone to ischemia but further studies are needed.

Keywords: Concentrated growth factor, CGF, skin flap, flap viability

Sorumlu Yazar: Koray Gürsoy, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, 06230, Altındağ, Ankara, Türkiye

E-posta: drkoraygursoy@gmail.com

Geliş Tarihi: 27.01.2020 **Kabul Tarihi:** 27.02.2020 **Doi:** 10.32322/jhsm.680345

Cite this article as: Gürsoy K, Koca G, Alışık M, Yumuşak N, Korkmaz M, Koçer U. Konsantre büyüme faktörünün random patern cilt flep yaşayabilirliği üzerine etkisi: deneysel çalışma. J Health Sci Med 2020; 3(2): 125-131.

GİRİŞ

Plastik ve rekonstrüktif cerrahide, random patern cilt flepleri travma, doğumsal malformasyonlar, kanser cerrahisi sonrası veya diğer nedenlerle oluşan doku defektlerinin onarımında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tür fleplerde en sık karşılaşılan sorun yetersiz kan akımına bağlı flep distalinde görülen iskemik nekrozdur (1). Kısmi veya tam kat flep kayıpları vasküler yapıların zarar görmesi sonucu gözlenmektedir ve kan desteği fleplerin yaşamasında en önemli faktördür. Flep kayıplarını ortadan kaldırmak ve azaltmak için çok sayıda teknik tanımlanmıştır. İki basamaklı bir işlem olan cerrahi geciktirme (delay fenomeni), iskemik ön koşullandırma, vasküler implantasyon ile flep prefabrikasyonu kullanılabilirle beraber pratik uygulamada daha çok sempatotik, vazodilatör, kalsiyum kanal blokörü, antikoagülan, serbest radikal temizleyici antioksidan ilaçlar ve büyüme faktörleri (bFGF, PDGF, TGF ve VEGF) kan akımının artırılması ve neovaskülarizasyonun sağlanması için kullanılmıştır (2-8). Kullanılan diğer bir alternatif de tam kandan elde edilen trombosit zengin ürünlerdir (1, 8-10).

Trombositlerde bulunan alfa granülleri yüksek miktarda büyüme faktörü içerir. Bu büyüme faktörlerinden fibroblastlar ve düz kas hücreleri için güçlü bir mitojen olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) mezankimal hücre yaşamı ve migrasyonunda rol alır ve dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) ile birlikte, doku vaskülarizasyonunu, fibroblast proliferasyonunu, kollajen formasyonunu destekler ve aynı zamanda granülasyon doku üretimini stimüle eder, hücre epitelizasyonunu artırır (1,10,11). TGF- β aktive olduğunda doku onarım basamaklarının büyük kısmını etkilemektedir. Fibroblastları prokollajen üretimleri konusunda aktive edebilir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) anjiogenezi, endotelial hücre proliferasyonunu stimüle eder ve vasküler geçirgenliği artırır. Epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblastlar için kemotaktiktir, hücre proliferasyonunu ve diferansiasyonunu destekler. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) granülasyon doku formasyonunda, reepitelizasyonda ve doku yeniden şekillendirilmesinde rol alır (1). İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1), hücre apoptozunu geciktirir ve IGF-1 reseptörü endotelial cevapta önemli rol alır (12). Granüller içinde ayrıca trombosit kaynaklı anjiogenezi faktörü (PDAF), trombosit faktör 4 (PF-4), keratinosit büyüme faktörü (KGF) ve interlökin 1 (IL-1) bulunmaktadır (8, 11). Bu kadar farklı ve çeşitli büyüme faktörlerini içeren trombositler, doku rejenerasyonu ve iyileşmesinde kullanılmış ve cilt fleplerinin yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (8-11, 13, 14).

Konsantre büyüme faktörü (CGF), Sacco ve ark. (15) tarafından 2006 yılında tanımlanmıştır ve venöz kanın farklı hızlarda santrifüjü sonrasında elde edilmektedir. Büyüme faktörleri açısından trombosit zengin plazma (PRP) gibi diğer trombosit ürünlerine göre daha yoğun ve zengindir. Teorik olarak CGF’de bulunan büyüme faktörleri normal doku iyileşmesine yakın hızlarda yavaş salınmaktadır (16) ve yapılan çalışmalarda CGF in yağ, kemik, kırık, mu-

koza, eklem, maksiller sinüs ve alveolar sırt bölgesinde olumlu etkileri gösterilmiştir (15,17-19).

Bu çalışmadaki amacımız tam kandan elde edilen CGF’in daha önce çalışılmamış olan random patern cilt flep yaşayabilirliği üzerine etkisini incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

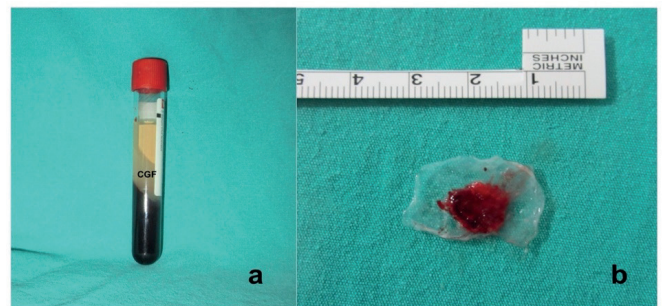
Çalışmada 50 adet, ağırlıkları 240-270 g arasında değişen dişi Sprague–Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların 40 tanesi deney için, 10 tanesi CGF elde etmek için kullanıldı. Deney için kullanılan sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı (n:20). Sıçanlar 12 saatlik ışık-karanlık döngüsünde, kontrollü hava akımının olduğu, sıcaklığın 22-24 °C de, nemin kontrol altında tutulduğu standart odalarda takip edildi. Hayvanlar standart sıçan yemi ve musluk suyu ile ad libitum beslendi. Flep cerrahisi sonrası hayvanlar ayrı kafeslerde takip edildi.

Konsantre Büyüme Faktörü Hazırlanması

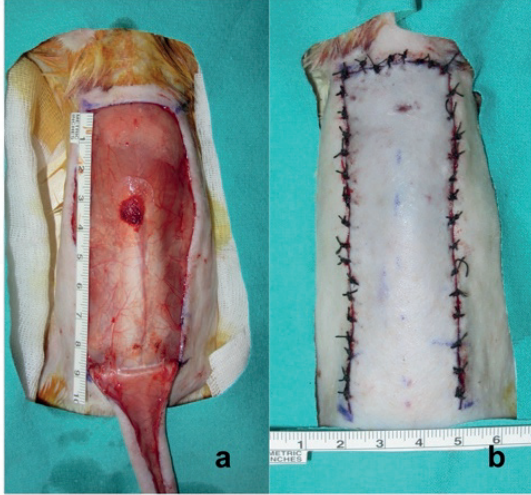
CGF elde edilmesi için 10 adet sıçanın kanları kullanıldı. İşlem standardizasyonunun sağlanması için CGF tek bir araştırmacı (M.A.) tarafından hazırlandı. Steril antikoagülanlı 10 mL Vacuette tüplerine alınan venöz kanlar CGF elde etmek için özel üretilmiş olan cihaza yerleştirildi (Medifuge, Silfradent srl, Italy). Cihaz içindeki kan tüpleri 30 saniye hızlanma, 2 dakika 2700 rpm (600 g), 4 dakika 2400 rpm (400 g), 4 dakika 2700 rpm (600 g), 3 dakika 3000 rpm ve 36 saniye yavaşlama içeren bir programla çalışıldı. İşlem sonunda 3 farklı kan fraksiyonu tanımlandı; 1) en üstte sıvı yapıda trombositten fakir plazma (PPP), 2) ortada daha katı kıvamda CGF, 3) en altta ise kırmızı kan hücrelerinden oluşan tabaka (12). Alınan orta CGF tabakası özel bir maşa yardımı ile sıkıştırılarak ince bir CGF matriks elde edildi (Şekil 1).

Cerrahi Teknik

Sıçanlara intramusküler ketamin hidroklorid (Ketalar, Pfizer,) (87,5 mg/kg) ve ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer) (12,5 mg/kg) anestezisi verilip steril şartlar sağlandıktan sonra sırt bölgelerinden 3x9 cm’lik cilt, cilt altı doku ve pannikulus karnosusu içeren distal bazlı McFarlene flepleri kaldırıldı. Çalışma grubunda flepler yerlerine adapte edil-



Şekil 1. Santrifüj sonrası orta CGF tabakası (a) alınıp özel bir maşa yardımı ile sıkıştırılarak ince bir CGF matriks elde edildi (b)



Şekil 2. CGF tabaka flep altına yerleştirildikten (a) sonra flep yerine adapte edildi (b)

meden önce flep yatağının orta 1/3 kısmına denk gelecek şekilde heterolog CGF matriks yerleştirildi. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. 5 dakika bekleme süresi sonrasında flepler yerlerine 4/0 ipek sütürlere (Doğan, Türkiye) ile adapte edildi (Şekil 2).

Flep cerrahisi sonrası 7. günde flep yaşayabilirlik oranlarının değerlendirilmesi için standart fotoğraflar çekildi ve sintigrafik olarak değerlendirmeler yapıldı. Sonrasında flepler, histopatolojik inceleme için formaldehit solüsyonu içerisine konuldu.

Flep Yaşam Ölçümleri

Yaşayan flep oranları 1 metre mesafeden standart çekilmiş olan fotoğraflar üzerinden analiz programı (Digimizer, Belçika) ile çalışmacılardan birisi (M.A.) tarafından çalışma ve kontrol gruplarına kör olarak yapıldı. Yaşayan flep oranları toplam flep yüzeyine orantılanarak sonuçlar yüzde olarak hesaplandı.

Radyonüklid Sintigrafik Ölçümler

İşlem sonrası 7. günde deney sonlandırılmadan ve sıçanlar sakrifiye edilmeden önce cilt flepleri sütürlere alınarak donör bölgeden kaldırıldı. Flep altına ve çevresine kurşun plakalar yerleştirildi. Kurşun tabakadaki olası radyoaktif madde ile kirlenmeyi önlemek için her çekimde kurşun tabakalar yeni su geçirmez örtüler ile değiştirildi. Kuyruk venine yerleştirilen 24 G intraketten 0,1 ml serum fizyolojik içinde 1mCi (37MBq) Teknesyum perteknetat ($Tc^{99m}-PO^4$) enjekt edildi. 5 dakika beklendikten sonra kan havuzu fazında 256x256 matriks ile 5 dakika süresince Gama kamera ile (Siemens eCAM, Hoffman Estates, IL, USA) pinhole kolimatör kullanılarak elde edilen görüntülerden kanlanan flep alanlarının ölçümü yapıldı. Ayrıca flepler distal kesimlerinden kesilerek hayvanlardan ayrıldı ve geri plan (Background) aktivitesinin olumsuz etkileri ortadan kaldırılarak sadece flepler üzerinden sintigrafik olarak sayımlar alındı. Elde edilen gö-

rüntülerden yapılan ölçümde flebin görüntüsel olarak en boy oranına sadık kalınarak sintigrafik görüntülerde flep tabanı üzerinden hesaplanan genişlik hesabına sadık kalınarak çizilen flep görüntüsü üzerinden yaşayan flep alanı hesaplandı. Hesaplama toplam flep alanının yüzdesi olarak yapıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra flepler formaldehit içinde patoloji bölümüne gönderildi. Nekrotik alan ve yaşayan kısım arasında bulunan geçiş hattından 2 cm'lik spesimenler alınıp %4'lük formaldehit içinde fikse edildi ve parafin bloklara gömüldü. 3 µm kalınlığında kesitler alınıp sonrasında parçalar konvansiyonel hematoksilin-eosin (HE) ve Masson Trichrome boyaları ile boyandı ve ışık mikroskopisi altında histolojik inceleme yapıldı. Histopatolojik inceleme sırasında damarlanma sayısı ve inflamasyon skorlarına bakıldı. Vaskularizasyon için sağlıklı geçiş bölgesindeki 10 büyütme alanı içinde papiller dermiste yer alan damarlar sayıldı ve ortalama alındı. İnflamasyon yoğunluğu kriteri için nötrofil ve lenfosit yoğunluğu değerlendirildi. Skorum sistemi 0 ile 3 arasında yapıldı (0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Yoğun). Bütün analizler aynı patolog (N.Y.) tarafından çalışma ve kontrol gruplarına kör olarak yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Hastalardan toplanan bilgiler IBM SPSS Statistics for Windows, version 21 (IBM Corp., Armonk, N.Y., ABD) programına girilerek veri kümesi oluşturuldu ve istatistiksel analizler yapıldı. Değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler (Frekans, Yüzdeler, Ortalama ± Standart Sapma, Ortanca (1. – 3. çeyrek değerleri)) tablolar ile belirtildi. Değişkenlerin parametrik test varsayımlarını karşılayıp karşılamadığını tespit etmek amacıyla Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile normal dağılıma uygunluk tespit edildi. Normal dağılıma uymadığı tespit edilen nicel değişkenler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testi kullanıldı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

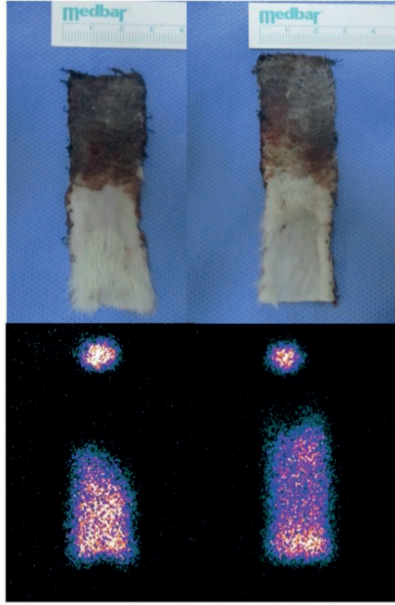
Etik Durum

Bu deneysel çalışma için S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi hayvan deney çalışmaları etik kurulundan izin alındı (Tarih: 17/10/2019 ve Protokol No: 56/595). Bu deneysel, prospektif ve kör çalışmada kullanılan hayvanların hakları "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (<https://www.nap.edu/catalog/5140/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals>) prensipleri doğrultusunda korunmuştur.

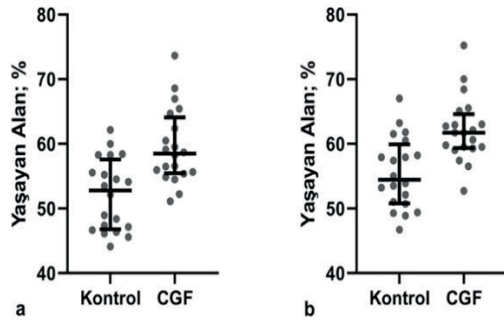
SONUÇLAR

Fotoğraf Alan Hesaplaması Sonuçları

Alan hesaplamaları sonucunda kontrol grubunda flep viabilite oranlarının ortalama değerleri %53 (47-58) olarak bulundu. CGF uygulanan grupta ise flep viabilite oranı %58



Şekil 3. Kontrol (a, c) ve CGF (b, d) uygulanan fleplerin fotografik (a, b) ve sintigrafik (c, d) görüntüsü

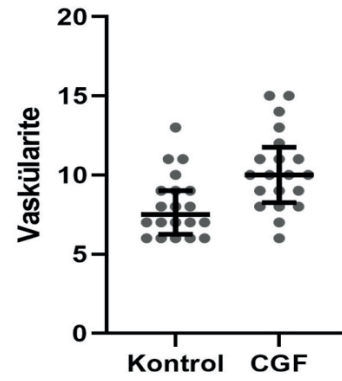


Şekil 4. Yaşayan flep alanlarının fotografik (a) ve sintigrafik (b) sonuçları

(55-64) olarak bulundu. CGF grubunda elde edilen yüksek flep viabilite oranları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$) (Şekil 3 ve 4).

Sintigrafik Alan Hesaplaması Sonuçları

Sintigrafik alan hesaplamaları sonucunda kontrol grubunda flep viabilite oranlarının ortanca değerleri %54 (51-60) olarak bulundu. CGF uygulanan grupta ise flep viabilite oranı %61 (59-64) olarak bulundu. Fotoğraf alan hesaplamaları-



Şekil 5. Kontrol ve CGF gruplarında vaskülarite değerleri

na benzer biçimde, CGF grubunda elde edilen flep viabilite oranlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$) (Şekil 3 ve 4).

Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

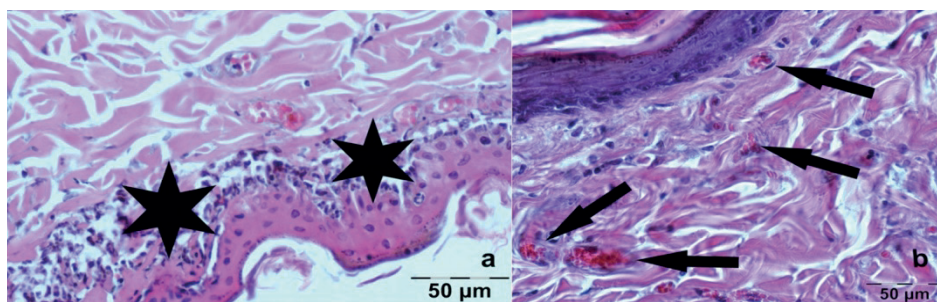
Histolojik değerlendirme sonucunda CGF grubunda elde edilen vaskülarite sayıları ortanca değerlerinin (10,0 (8,25-11,75)) kontrol grubuna (7,5 (6,25-9,00)) göre fazla olduğu görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,003$) (Şekil 5). İnflamasyon skorları değerlendirildiğinde CGF grubunda hafif skorları daha sık iken; kontrol grubunda orta ve yoğun skorları daha sık görülmekteydi, ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,246$) (Şekil 6) (Tablo).

Tablo. İnflamasyon ve vaskülarite değerlerinin analizi.

		KONTROL	CGF	p
		N (%)	N (%)	
İNFLAMASYON	Hafif	5(%25)	10(%50)	0,246*
	Orta	11(%55)	8(%40)	
	Yoğun	4(%20)	2(%10)	
VASKÜLARİZASYON	$\bar{x} \pm SD$	8,05 \pm 1,99	10,3 \pm 2,51	
	Md (Q1-Q3)	7,5 (6,25-9)	10,0 (8,25-11,75)	0,003**

$\bar{x} \pm SD$: Ortalama \pm Standart Sapma Md (Q1-Q3): Ortanca (1. ve 3. Çeyrek Değeri) *: Pearson Ki Kare Testi

** : Mann-Whitney U Test



Şekil 6. H&E ile boyanmış flep kesitleri. Kontrol (a) ve CGF (b) grubu. (* inflamasyonu ve \rightarrow vaskülariteyi göstermektedir.)

TARTIŞMA

Random patern cilt flepleri, rekonstrüktif cerrahide farklı defektlerin onarımlarında artan oranlarda kullanılmaktadır. Bu fleplerin herhangi bir spesifik arteriovenöz dolaşım sistemleri yoktur ve esas olarak cilt pedikülünden ve subdermal kapiller ağ perfüzyonu ile beslenirler. Cilt fleplerinin iskemik nekrozunun patogenezi hala net değildir ve ortak fikir, temel nedeninin; proinflamatuvar mediatörlerin hücrel aktivasyonu, yetersiz kanlanma ve tromboz olduğu yönündedir (1). Cerrahi sonrası yaşayan flep sınırlarının tahmin edilmesi zordur ve flep distalindeki dolaşım sorunu hala çözümünü net ortaya konulabilmiş değildir. Bu tip fleplerin yaşayabilirliğinin artırılması için etkinliği gösterilmiş ürünlerden bir tanesi de kandan elde edilen konsantre trombosit ürünleridir (2).

Trombositler yara iyileşmesini başlatan ve düzenleyen çeşitli proteinler, sitokinler ve diğer biyoaktif faktörleri içermektedir. Yüksek konsantrasyonlarda büyüme faktörü elde etmenin kolay ve ucuz yöntemi trombositlerin kullanılmasıdır. Bu büyüme faktörleri mezenkimal hücreleri ve epitelial hücreleri migrasyon ve bölünme açısından uyarır, kollajen ve matriks sentezini artırır, hücre diferansiyasyonu ve anjiyogenezde önemli roller alır.

Otolog platelet konsantrelerinin ilk jenerasyonu 1970 yılında tanımlanmış olan trombosit zengin plazma (PRP)'dir (17). PRP'nin hücre proliferasyonunu, anjiyogenez, kollajen ve matriks biyosentezini stimüle ettiği rapor edilmiştir ve yara iyileşmesi, yağ ve kemik greftlerinin iyileşmesinin artırılmasında çokça kullanılmaktadır (20). Flep yaşayabilirlik üzerine yapılan çalışmalarda, PRP enjeksiyonlarının kapiller proliferasyonu indükleyip, "choke" damarlarını genişlettiği ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak iskemi reperfüzyon (I/R) hasarına uğramış fleplerde, flep yaşayabilirliğini artırdığı gösterilmiştir (10,11,13,21). Bununla beraber PRP'nin hazırlanmasında artifisyonel trombin ve antikoagulan aditifleri kullanıldığı için biyo-güvenilirlik ve dayanıklılıkları konusunda büyük tartışmalar ve çekinceler mevcuttur (22).

Trombosit ürünlerinin en son ortaya çıkan jenerasyonu olan CGF, 2006 yılında Sacco tarafından geliştirilmiştir. CGF'in çok büyük rejeneratif kapasitesi ve çok yönlülüğü vardır (17). Farklı santrifüj hızları büyüme faktörlerinden zengin ve yoğun fibrin matriks elde edilmesine olanak sağlar. PRP'ye göre daha yoğundur ve daha yüksek miktarlarda büyüme faktörü içermektedir ve trombin olmadan aktive olabilmektedir (16,17). Aynı zamanda vasküler dayanıklılık, neovaskülarizasyon ve anjiyogenezde rol alan CD34+ kök hücre içermektedir (15,23). CGF'in yumuşak doku iyileşmesinde PRP'ye göre daha etkili olduğu raporlanmıştır (24). Sonuçta önceki çalışmalarda CGF'in inflamasyona aracılık ettiği, hücre proliferasyonunu artırdığı ve doku onarımını indüklediği belirtilmiştir. Klinik ve deneysel çalışmalarda CGF'in kemik, kırık ve periferik sinir doku üzerine proliferatif etkileri ve greftlerin yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (17,18).

Yaptığımız çalışmada heterolog hazırlanan CGF'in, random patern cilt fleplerinin yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri görüldü. CGF uygulanan fleplerde yaşayan flep oranları kontrol gruplarına göre daha fazla bulundu. Benzer şekilde CGF uygulanan fleplerin vaskülarizasyonlarının da kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görüldü.

Her ikisi de trombosit ürünü olan PRP ve CGF'in karşılaştırıldığı çalışmada; PRP preparatları ile kıyaslandığında CGF'in daha fazla trombosit ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü içerdiği; TGF- β 1, PDGF-BB, VEGF düzeylerinin, CGF'de PRP'ye göre anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir (23, 25). PRP ile yapılan çalışmalarda %84'e varan flep yaşayabilirlikleri gösterilmiştir (8). CGF'nin içeriği nedeni ile teorik olarak anjiyogenez ve beraberinde yara iyileşmesini, doku rejenerasyonunu PRP'den daha fazla artırması beklenir. Ancak uygulama farklılıkları vardır. Fleplere PRP uygulanan çalışmalarda, PRP'nin enjeksiyon yöntemi ile uygulanmış olması da dikkate alınması gereken bir faktördür çünkü bu yöntemin flep yaşayabilirliğini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (26). Dolayısıyla, nihai sonuç, sadece PRP etkinliği olarak değerlendirilmemelidir. Diğer taraftan bu çalışmada CGF'in fleplere ek bir işlem yapılmadan uygulanmış olması, etkinin sadece CGF'ye bağlı olduğu düşündürmektedir. CGF ile yapılan flep çalışması olmamakla birlikte, kemik, yağ, kırık, mukozaya üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda, CGF uygulanan gruplarda daha yüksek iyileşme görülmüştür (17-19,23,27). Bu çalışmada ise CGF'in flep yaşayabilirliği üzerinde de anlamlı artış sağladığı görüldü.

Histolojik olarak elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; CGF uygulanan fleplerde damar sayısının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görüldü. İnflamasyon skorları düşük olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. CGF'in kırık, kemik ve yağ üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda da benzer şekilde inflamasyon skorları daha az, vaskülarizasyon skorlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (18,23,27). Trombosit ürünleri ile yapılan diğer çalışmalarda da benzer şekilde vaskülarizasyon sayılarında artış ve inflamasyon skorlarında azalma görülmüştür (1,9-11,13,14). Trombosit ürünleri ile yapılan çalışmalarda, vaskülarizasyon sayılarında görülen artış esas olarak trombositlerin içinde bulunan VEGF'ye bağlanmıştır (10). VEGF ile yapılan çalışmalarda da VEGF'nin flep yaşayabilirliğini artırdığı gösterilmiştir (5). Bizim çalışmamızda da flep yaşayabilirliği üzerine elde edilen yüksek değerlerin en önemli nedeninin trombositlerin içinde bulunan VEGF olduğu düşünülebilir.

Flep kayıplarının önemli nedenlerinden bir tanesi de revaskülarizasyon sonrası görülen iskemi reperfüzyon (I/R) hasarıdır (2). Trombositler I/R hasarının giderilmesinde anahtar komponentlerden birisidir. Bu etkinin anti-inflamatuvar etki ve NF-kB aktivitesini azaltmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. NF-kB aktivasyonu inflamasyona neden olmaktadır. Yapılan çalışmada trombosit konsantrelerinin Ccl2, TNF, Il1b ve Il6 gibi inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu etkili biçimde suprese ettiği gösterilmiştir. Trombosit konsantrelerinin cilt flebi, miyokard, böbrek ve

over dokusunda I/R hasarını azalttığı gösterilmiştir (21). Yaptığımız çalışmada benzer şekilde inflamasyon skorları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha düşük bulunmuştur.

CGF hazırlanmasında farklı santrifüj hızları kullanılmaktadır. Son zamanlarda düşük santrifüj hız ve zamanları, lökosit sayıları ve beraberinde salınan büyüme faktörlerinin optimizasyonu için önerilmektedir. Düşük hız konseptinin büyüme faktörü salınımında artışa neden olduğu ve sonrasında fibroblast migrasyonu, proliferasyonu ve kollajen mRNA seviyelerini artırarak doku rejenerasyonunu etkilediği gösterilmiştir (16).

Pediküllü cilt flepleri, artmış iskemi gradiyenti ve sonrasında distal marjinlerinde rejyonel doku nekrozu gösterirler. Bu süreç nörotransmitterler tarafından yönetilmektedir ve bu süreç yeterli kanlanan proksimal kısım ile yetersiz kanlanan distal iskemik alan arasındaki geçiş bölgesinde yer aldığı ileri sürülmektedir (7). Çalışmamızda, CGF matriksini özellikle bu bölgeye uygulama amacımız geçiş bölgesinde yer alan nekroz hattını flepin distaline ilerletebilmek ve flep yaşayabilirliğini artırmaktır.

Otolog CGF biyo-uyumlu ve güvenlidir. Bundan dolayı klinik kullanım sırasında antikor oluşumu veya donörden kaynaklı enfeksiyon riski bulunmamaktadır. Kullanılan dene türü küçük olmasından ve CGF elde etmek için yeterli kan alınmayacağından dolayı çalışmada heterolog ürün kullanılmıştır. Trombosit ürünlerinin flep viabilitesi üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda sıçanlarda bu konuda herhangi bir sorun ile karşılaşılmaştır (1,8,11). İnsanlarda yapılan çalışmalarda ise yeterli kan miktarından dolayı otolog ürünlerin tercih edilebilirliği avantaj sağlayabilir. Sıçanların ve insanların metabolizmaları farklılık gösterdiği için büyüme faktörlerinden zengin olan bu kan ürünü ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları lokal olarak flep altına uygulanan heterolog hazırlanmış konsantre büyüme faktörünün flep yaşayabilirliğini artırdığını ve bu etkinin anjiyogenez ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir, ancak bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Konsantre büyüme faktörü flep yaşayabilirliğini artırmaktadır ve bu etkisinin olası nedenleri arasında damar sayısının artırılması ve inflamasyonun baskılanmasını düşünebiliriz. Flep cerrahisinde, iskemi öngörülen durumlarda büyüme faktörlerinden zengin CGF'in uygulanmasının flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri olabilir.

MADDİ DESTEK VE ÇIKAR İLİŞKİSİ

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkara dayalı ilişkisi yoktur.

KAYNAKLAR

1. Li W, Enomoto M, Ukegawa M, et al. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene

- expression and improve survival rates. *Plast Reconstr Surg* 2012; 129: 858-66.
2. Gursoy K, Teymur H, Koca G, et al. The effect of astaxanthin on random pattern skin flaps. *Ann Plast Surg* 2020; 84: 208-15.
3. Liu PY, Wang XT, Badiavas E, Rieger-Christ K, Tang JB, Summerhayes I. Enhancement of ischemic flap survival by prefabrication with transfer of exogenous PDGF gene. *J Reconstr Microsurg* 2005; 21: 273-9.
4. Wang SP, Lan ZY, Xia W, et al. The effects of vasonatrin peptide on random pattern skin flap survival. *Ann Plast Surg* 2014; 72: 94-9.
5. Huang N, Ashrafpour H, Levine RH, et al. Vasorelaxation effect and mechanism of action of vascular endothelial growth factor-165 in isolated perfused human skin flaps. *J Surg Res* 2012; 172: 177-86.
6. Fayazzadeh E, Yavarifar H, Rafie SR, Motamed S, Sotoudeh Anvari M, Boroumand MA. Fibroblast growth factor-1 vs. fibroblast growth factor-2 in ischemic skin flap survival in a rat animal model. *World J Plast Surg* 2016; 5: 274-9.
7. Schein O, Westreich M, Shalom A. Effect of intradermal human recombinant copper-zinc superoxide dismutase on random pattern flaps in rats. *Head Neck* 2013; 35: 1265-8.
8. Orhan E, Uysal AC, Baser E, Keskin D, Demiroglu-Yakut C. The effect of intradermal administration of inactive platelet-rich plasma on flap viability in rats. *Acta Cir Bras* 2017; 32: 280-6.
9. 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 Plast Surg* 2012; 36: 1246-53.
10. Wang B, Geng Q, Hu J, Shao J, Ruan J, Zheng J. Platelet-rich plasma reduces skin flap inflammatory cells infiltration and improves survival rates through induction of angiogenesis: an experiment in rabbits. *J Plast Surg Hand Surg* 2016; 50: 239-45.
11. Chai J, Ge J, Zou J. Effect of autologous platelet-rich plasma gel on skin flap survival. *Med Sci Monit* 2019; 25: 1611-20.
12. Bonazza V, Hajistilly C, Patel D, et al. Growth factors release from concentrated growth factors: effect of beta-tricalcium phosphate addition. *J Craniofac Surg* 2018; 29: 2291-5.
13. Kim HY, Park JH, Han YS, Kim H. The effect of platelet-rich plasma on flap survival in random extension of an axial pattern flap in rabbits. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132: 85-92.
14. Takikawa M, Sumi Y, Ishihara M, et al. PRP&F/P MPs improved survival of dorsal paired pedicle skin flaps in rats. *J Surg Res* 2011; 170: e189-96.
15. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech* 2011; 74: 772-7.
16. Yu M, Wang X, Liu Y, Qiao J. Cytokine release kinetics of concentrated growth factors in different scaffolds. *Clin Oral Investig* 2019; 23: 1663-71.
17. Wang F, Sun Y, He D, Wang L. Effect of concentrated growth factors on the repair of the goat temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 2017; 75(3): 498-507.
18. Topkara A, Ozkan A, Ozcan RH, Oksuz M, Akbulut M. Effect of concentrated growth factor on survival of diced cartilage graft. *Aesthet Surg J* 2016; 36: 1176-87.
19. Zhao QM, Gao J, Huang XX, Chen XP, Wang X. Concentrated growth factors extracted from blood plasma used to repair nasal septal mucosal defect after rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg* 2019. doi: 10.1007/s00266-019-01474-7.
20. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2013; 66: 301-11.
21. Rah DK, Min HJ, Kim YW, Cheon YW. Effect of platelet-rich plasma on ischemia-reperfusion injury in a skin flap mouse model. *Int J Med Sci* 2017; 14: 829-39.
22. Hong S, Chen W, Jiang B. A comparative evaluation of concentrated growth factor and platelet-rich fibrin on the proliferation, migration, and differentiation of human stem cells of the apical papilla. *J Endod* 2018; 44: 977-83.

23. Hu Y, Jiang Y, Wang M, Tian W, Wang H. Concentrated growth factor enhanced fat graft survival: a comparative study. *Dermatol Surg* 2018; 44: 976-84.
24. Park HC, Kim SG, Oh JS, et al. Early bone formation at a femur defect using CGF and PRF grafts in adult dogs: a comparative study. *Implant Dent* 2016; 25: 387-93.
25. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int J Implant Dent* 2016; 2: 19.
26. Baris R, Kankaya Y, Ozer K, et al. The effect of microneedling with a roller device on the viability of random skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg* 2013; 131: 1024-34.
27. Kizilaslan S, Karabuda ZC, Olgac V. The effect of concentrated growth factor on calvarial bone in diabetic healing. *J Craniofac Surg* 2020; 31: 158-61.