

RAT DORSAL FLEBİNDE VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) İLE YARATILMIŞ FARMAKOLOJİK GECİKTİRME OPERASYONUNUN DİĞER CERRAHİ GECİKTİRME OPERASYONLARIYLA KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF PHARMACOLOGIC DELAY OPERATION BY LOCAL VEGF INJECTION WITH OTHER SURGICAL DELAY PROCEDURES ON RAT DORSAL SKIN FLAP

*Mert Demirel, ** Aylin Okçu Hepar, * Erdem Yormuk

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

ÖZET

VEGF potent bir anjiyogenetik ve permeabilite artırıcı faktördür. Deneysel olarak iskemik dokularda üretiminin arttığı ve eksojen olarak kullanıldığında iskemi reperfüzyon hasarından koruduğu bilinmektedir. Eksojen olarak uygulandığında farmakolojik geciktirme işlevi görebilmektedir. Cerrahi geciktirme operasyonu ise insanlarda ister deri, ister kas-deri fleplerinde flep yaşayabilirliğini artırdığı klinik çalışmalarda kanıtlanmıştır.

VEGF ile yapılan geciktirme işleminin, iki tip cerrahi geciktirme operasyonu ile karşılaştırılması ve oluşturulan kontrol grubuna olan farklılıklarının araştırılması bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

Yapılan deneysel araştırmada kaudal aksiyel paternli olarak kaldırılan 3x9 cm boyutlarındaki modifiye McFarlane flepleri kontrol grubu olarak belirlenmiştir. İkinci grup, hem kaudal hem kraniyal beslenen bipediküllü rat dorsal deri flepleridir. Üçüncü grup, hazırlanan bipediküllü dorsal fleplere ek iskemi reperfüzyon hasarı yaratacak şekilde aralıklı klempleme uygulanmasıyla oluşturulmuştur. Dördüncü grup ise bipediküllü dorsal fleplere subkutan VEGF enjeksiyonu ile hem farmakolojik hem de cerrahi geciktirme operasyonu yapılmış ve oluşturulmuştur. Yapılan değerlendirme sonucunda her bir çalışma grubu, kontrol grubuna oranla farklı çıkmıştır. İkinci ve üçüncü grubun birbirlerinden farklı olmamasına rağmen dördüncü grup diğerlerine oranla istatistiksel anlamda farklı çıkmıştır ($p<0.05$).

Bu deneysel çalışmanın sonucunda elde edilen bilgiler bize klinikteki uygulamalarımıza ek kazançlar sağlayacağı düşüncesindedir. Plastik cerrahide uygulanan tüp fleplerinde yeni yerine taşınmadan önce uygulanan aralıklı klempleme işlemi hem süreyi uzatmakta hem de ek uygulama gerektirmektedir. Lokal VEGF uygulamasının da anjiyogenezi aynı şekilde artırabildiği düşünüldüğünde, VEGF'nin insanlarda kullanım alanı açıldığında cerrahi geciktirme operasyonlarına iyi bir alternatif olacağı düşüncesindedir.

ABSTRACT

VEGF is a potent angiogenetic factor. It also enhances capillary permeability. Its production rises endogenously in ischemic conditions. It is known that exogenous VEGF injections protect the tissue against ischemia reperfusion injury and also has a pharmacological delay effect. Clinical experimental studies showed that surgical delay procedures enhance skin and muscle-skin flap survival.

In our study, we compared the pharmacologic delay operation by local VEGF injection with other surgical delay procedures on rat dorsal skin flap. Caudally pedicled modified McFarlane skin flaps elevated in 3x9 cm fashion and analyzed as a control group. In second group, caudally and coronally bipedicled flaps are elevated. In the third group, we clamped the bipedicled flaps periodically to try to create an additional ischemia reperfusion injury. In the fourth group, we injected VEGF to the bipedicled flaps subdermally to create pharmacological delay effect.

All flaps in all groups were analysed planimetrically. The study groups were different from the control group. The second and the third group had no difference between themselves, but the fourth group was statistically different from the other study groups.

The results showed that VEGF enhances maturation of bipedicled flaps before the division of one of its pedicle. Also periodically clamping the bipedicled flap helps maturation, but this procedure needs additional time and effort. Whenever the VEGF is let to use in humans, local VEGF injections helps us to enhance flap survival and flap maturation without extra time and effort.

GİRİŞ

Deri fleplerinin nekrozları, ister kısmi ister total olsun, rekonstrüktif cerrahinin yıllardır uğraştığı komplikasyonlardandır. Bu problem plastik cerrahi için tarihsel bir araştırma alanı olmuştur. Flep nekrozları, araştırmacıları anatomi, fizyoloji ve cerrahi

teknik konusunda araştırmalara yönlendirmiş ve flep cerrahisinde değişimlere yol açmıştır.^{1,2}

Cerrahi geciktirme tekniği flep yaşayabilirliğinin daha güvenilir olması için yüzyıllardır uygulanan bir tekniktir. Kısaca cerrahi geciktirme işleminin özet-

lenmesi gerekirse, deri flebinin tamamen kaldırılıp yeni yerine adapte edilmeden önce (sıklıkla 7-14 gün arası) kısmi olarak kaldırılması olarak açıklanabilir. On altıncı yüzyıldan beri cerrahlar bu manevranın flebin tahmin edilemeyecek nekroz miktarlarını güvenilir yaşayabilirlik düzeylerine yükselttiklerini bilmektedirler.³

Geciktirme fenomeni hala bir kısım sırlar içerdiğinden araştırmacıları vasküler bölgeleri manipüle edici farmakolojik ve biyokimyasal stratejiler geliştirmeye sevk etmektedir. Araştırmacılar geciktirme işleminin altında yatan adrenerjik yanıt, anjiogenez, vasküler reorganizasyon ve doku metabolizması açısından birçok değişkeni incelemiştirler.⁴⁻⁹ Geciktirme fenomenindeki kritik faktörün tanımlanması sonucunda bu faktörün farmakolojik olarak kullanılarak, cerrahi işlem olmadan bu fenomeni başarmak mümkün olabilir. Biz bu duruma farmakolojik geciktirme işlemi diyeceğiz.

Sitokinler çok ufak proteinler olup, inflamasyon, skar formasyonu ve kan damar oluşumu gibi birçok işleme aracılık etmektedir. Transforme edici Büyüme Faktörü (TGF), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF), Platelet Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF) ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) bunlardan bazılarıdır.¹⁰ VEGF, vasküler permeabilitede değişikliğe ve anjiogenez yol açarak mikrosirkülasyon üzerinde akut bir etkiye sahiptir.¹¹ Birçok modelde VEGF ile flep yaşayabilirliğinin artırıldığı gösterilmiştir.¹²⁻²⁴

Biz bu çalışmada rat dorsal cilt flebinde uygulanan cerrahi geciktirme operasyonlarıyla VEGF ile yapılan farmakolojik geciktirme operasyonunu karşılaştırdık.

Modifiye McFarlane flebi

Flep, rat dorsal cildinde pannikulus karnosus kasını da içerecek şekilde, 1965'te McFarlane ve arkadaşlarının tanımladığı orijinal tekniğin²⁵, 1986'da Khouri ve arkadaşlarının modifiye ettiği teknik²⁶ ile kaldırılmıştır. Flep yaşayabilirliği deneyleri için uluslararası kabul görmüş bir yöntem olduğu için çalışmada kullanılmıştır

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ve Etki mekanizması

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)'nin moleküler yapısı şekilde görülmektedir. VEGF endotelial hücre büyümesini indükleyen ve kan damarlarında permeabiliteyi arttıran potent anjiogenezik bir peptiddir. Ayrıca endotelial hücre farklılaşmasına, yaşamasının devamına ve apoptozisine de etkileri mevcuttur. VEGF ailesi beş ligandan oluşur: VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D and Plasenta Büyüme Faktörü. VEGF (VEGF-A

aralarında en iyi tanımlanmış ve en potent moleküldür. VEGF etkilerini hem Fms-benzeri tirozin kinaz 1 (FLT1) hem de Kinaz domain bölge reseptörü (KDR) aracılığıyla gösterir. KDR, hücre içinde sahip olduğu tirozin kinaz sinyal dönüştürücü kısmı ile görevlerini yapmaktadır.²⁷ VEGF tipik olarak tümörler tarafından aşırı üretilerek tümörlerin değişken kanlanmasının sebebi rolünü üstlenir. Aynı zamanda anti-anjiogenez tedavilerinde moleküler hedefleridir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Otuz iki adet dişi Sprague-Dawley rat çalışmaya alındı. Ağırlıkları 280 ila 320 gr arasında değişiyordu. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hayvan Araştırma Laboratuvarları'ndan temin edilen hayvanlar Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı'nda opere edildi ve izlendi. Ratlara, intramüsküler olarak uygulanan ksilazin ve ketamin ile anestezi sağlandı.

Dört grup oluşturuldu. Birinci grup 8 rattan oluşuyordu. Rat dorsumunda modifiye McFarlane flebi hazırlandı. Skapulanın altından itibaren 3 x 9 cm boyutlarında kaudal paternli flep eleve edildi (Şekil 1). Diseksiyona pannikulus karnosus tabakası da ilave edildi ve iki adet sakral arter zedelenmeyecek şekilde diseke edildi. Eleve edilen flepler hemen eski yerlerine iade edilerek 4/0 polipropilen sütürler ile tek tek suture edildi. Beş gün sonunda flepte gerçekleşen nekrozlar şeffaf milimetrik kağıtlar yardımıyla planimetrik olarak hesaplandı.

İkinci grup 8 rattan oluşuyordu. Rat dorsumunda skapulanın hemen altından sakral bölgeye uzanan iki adet vertikal insizyon yapıldı ve altı diseke edildi. Diseksiyon sırasında sakral aksiyel paternli damarlara dikkat edildi. Böylelikle kaudal ve kraniyal olacak şekilde bipediküllü rat dorsumunda flep hazırlandı. Flep eleve edildikten hemen sonra eski yerine iade edildi ve 4/0 polipropilen sütürlerle suture edildi. 5 gün sonra flep tekrar eleve edildi ve kraniyal pedikül kesildi. Böylelikle flebin bir greft gibi tabanından beslenmesi önlenildi ve tek pediküllü olarak 5 gün daha izlendi. İkinci operasyonun 5.gününde flepte mevcut nekrotik alanlar şeffaf milimetrik kağıtlar yardımıyla planimetrik olarak hesaplandı.

Üçüncü grup 8 rattan oluşuyordu. Rat dorsumunda skapulanın hemen altından sakral bölgeye uzanan iki adet vertikal insizyon yapıldı ve altı diseke edildi. Diseksiyon sırasında sakral aksiyel paternli damarlara dikkat edildi. Böylelikle kaudal ve kraniyal olacak şekilde bipediküllü rat dorsumunda flep hazırlandı. Flep eleve edildikten hemen sonra kraniyal pedikül ezilmeyecek biçimde kleplendi ve kraniyal beslenme engellendi. Bir saat sonra klemp açıldı ve flep eski yerine 4/0 polipropilen sütürler ile adapte edildi. İkinci gün sadece klempin gireceği kadar bir diseksiyon yapılarak kraniyal pedikül tekrar klemp-

lendi ve bir saat beklenildi. Bir saat sonunda klemp açılarak gerekli bölge 4/0 polipropilen suture ile suture edildi. Beşinci günde kraniyal pedikülün kesilmesi için flep tekrar eleve edildi ve tekrar eski yerine adapte edildi. İkinci operasyondan 5 gün sonra da nekrotik alanlar şeffaf milimetrik kağıtlar yardımıyla planimetrik olarak hesaplandı.

Dördüncü grup 8 rattan oluşuyordu. Rat dorsumunda skapulanın hemen altından sakral bölgeye uzanan iki adet vertikal insizyon yapıldı ve altı diseke edildi. Böylelikle kaudal ve kraniyal olacak şekilde bipediküllü rat dorsumunda flep hazırlandı. Flep eleve edildikten hemen sonra flebe subdermal 1 mikrogram VEGF üçe bölünerek 2, 5 ve 8. santimetrelere enjekte edildi ve flep eski yerine 4/0 polipropilen suturelerle iade edildi. Beşinci günde mevcut nekrotik alanlar şeffaf milimetrik kağıtlar yardımıyla planimetrik olarak hesaplandı.

Operasyon sonrasında ve izlemde ratlar ad libitum olarak laboratuvar ratları için hazırlanan yemlerle beslendi. On iki saat aydınlık ve karanlık olacak şekilde yaşatıldı. Operasyondan sonra ratlar bir separatör yardımıyla ikiye bölünen kafeslerinde tek tek bulunacak şekilde yaşatıldı. Yapılan çalışmada 3 adet ratta anestezinin etkisiyle eksitus gelişti ve çalışmadan çıkarılarak yerlerine yeni ratlar kullanıldı. Yine 2 ratta otokannibalizm nedeniyle flep kaybı olduğundan ratlar sakrifiye edildi ve yerlerine yeni denekler kondu.

Planimetrik olarak hesaplanan nekroz alanlarının total flep alanına olan oranları (2700 mm²) hesaplandı ve Ankara Üniversitesi Tıp fakültesi Biyoistatistik Bölümü'nde Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Grup 1'de flep modifiye McFarlane flebi şeklinde 3 x 9 cm uzunluğunda eleve edildi (Şekil 1). Tekrar yerine 4/0 polipropilen suturelerle suture edilen flep, postoperatif 5. günde planimetrik olarak değerlendirildi. Flepte gelişen nekrozların ortalaması %42,5'ti (Tablo 1).

Grup 2'de flep rat dorsumunda McFarlane flebi gibi 3 x 9 cm olacak şekilde planlanarak eleve edildi. Fakat bu sefer flebin kraniyalinde kalan pedikül kesilmeyerek bipediküllü flep oluşturuldu (Şekil 2). Flep eski yerine 4/0 polipropilen suturelerle adapte edildi. Flepte postoperatif 5. günde kraniyal pedikül kesildi. Nekroze olan bölüm her iki pediküle ortak uzaklıkta olan flep ortasına uyan bölgedeydi (Şekil 3). Kraniyal pedikül kesildikten sonra nekrozun kraniyal kısmını beslenemediği için bu bölümde ikinci beş günlük dönemde nekroz gelişti. İkinci operasyondan beş gün sonra nekroz oranları planimetrik olarak değerlendirildi. Nekrozların ortalaması %34,5

olarak bulundu (Tablo 1).

Grup 3'te flep bipediküllü olarak kaldırılmış ve kraniyal pediküle bir gün ara ile birer saat olacak şekilde klemp uygulanarak ek iske mi yaratılmıştır (Şekil 4). Beş gün sonra kraniyal pedikül kesilerek flep distalinin nekroz olması beklendi. İkinci beş günlük süre sonunda nekrozlar planimetrik olarak değerlendirildi. Oluşan nekroz ortalaması %33,0'tü



Şekil 1: Modifiye McFarlane flebi 3 x 9 cm boyutlarında kaudal pediküllü olacak şekilde eleve edilmiştir.

Tablo 1: Operasyon sonrasında gelişen nekroz oranları ve alanları.

GRUP	I	II	III	IV
DENEK 1	%45 = 1215mm ²	%32 = 864mm ²	%30 = 810mm ²	%4 = 108mm ²
DENEK 2	%40 = 1080mm ²	%31 = 837mm ²	%28 = 756mm ²	%8 = 216mm ²
DENEK 3	%38 = 1026mm ²	%44 = 1188mm ²	%52 = 1404mm ²	%3 = 81mm ²
DENEK 4	%50 = 1350mm ²	%38 = 1026mm ²	%38 = 1026mm ²	%9 = 273mm ²
DENEK 5	%39 = 1053mm ²	%33 = 891mm ²	%26 = 702mm ²	%2 = 54mm ²
DENEK 6	%44 = 1188mm ²	%35 = 945mm ²	%35 = 945mm ²	%4 = 108mm ²
DENEK 7	%48 = 1296mm ²	%33 = 891mm ²	%30 = 810mm ²	%7 = 189mm ²
DENEK 8	%36 = 972mm ²	%30 = 810mm ²	%25 = 675mm ²	%7 = 189mm ²



Şekil 2: Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te oluşturulan bipediküllü 3 x 9 cm uzunluğundaki flep görünmektedir.



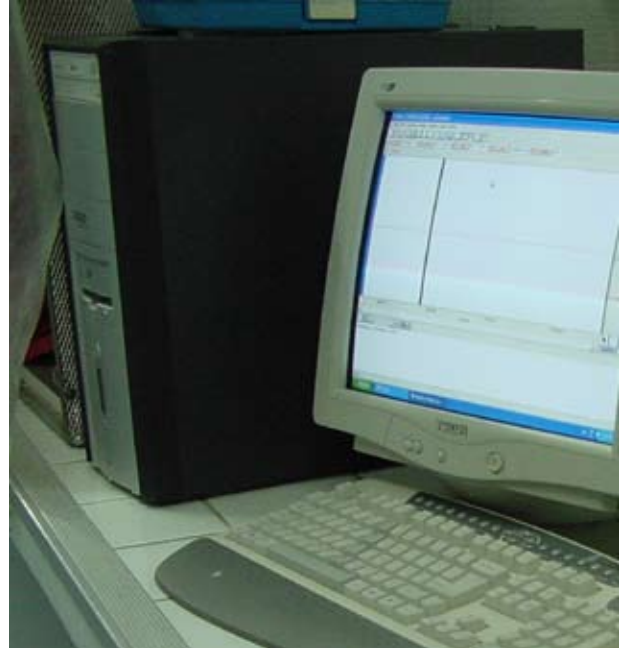
Şekil 3: Grup 2'de oluşturulan bipediküllü flep operasyondan sonra 5. günde değerlendirilmiş ve nekroz alanlarının her iki pedikül arasında eşit mesafelerde geliştiği görülmüştür. Nekrozun ortasında canlı flep dokusu bir köprü oluşturacak şekilde uzanmaktadır.



Şekil 4: Grup 3'te bipediküllü flep eleve edildikten sonra, klemp şeklinde görüldüğü gibi kranial pediküle ek iskemi perfüzyon hasarı yaratacak şekilde bir saat boyunca uygulanmıştır. İkinci gün de aynı yerden klempin gireceği kadar sütürler alınarak bir saat boyunca basınç uygulanmıştır.



Şekil 5: Şekilde oluşturulan klemp gözükmektedir. Bir adet saç tokası ve yumuşak silgi ile oluşturulmuştur. Silgi flebe değen yerleri ezilmemesi amacıyla konulmuştur.



Şekil 6: Resimde biyofizik laboratuvarındaki basınç ölçen düzeneğe görülmekte. Sayısal olarak değerlendirilen veriler Biopac Student Lab Pro programı yardımıyla işlenmektedir.



Şekil 7: Grup 4'teki VEGF uygulanan dorsal bipediküllü flep, 5. günde kranial pedikülü kesilmiş ve tekrar eski yerine iade edilmiştir. İkinci beş günlük bekleme süresinden sonra gelişen nekroz değerlendirilmiştir. Nekrozun dağılmış parçalar halinde bulunduğu görülmektedir. Planimetrik olarak değerlendirildiğinde nekrozun bu denekte 151 mm² olduğu görüldü. Toplam alan 30 x 90 mm = 2700 mm² olarak düşünüldüğünde bu değer toplam alanın %5,6'sına denk geldiği hesaplanmaktadır.

(Tablo 1). Kullanılan klemp, saç tokası ve flebi ezmemesini sağlamak amacıyla, flebe değen yerleri silgi ile desteklenmiş bir yapıdan oluşmaktaydı (Şekil 5). Bu klempin yeterli bası uyguladığını görmek ve zaman geçtikçe basıncında bir azalma olmadığını saptamak amacıyla Ankara Üniversitesi Biyofizik Laboratuvarları'nda değerlendirildi. Standart basınç ölçmek için kullanılan prob bir düzenekle bilgisayara bağlı idi (Şekil 6). Biopac Student Lab Pro adlı program kullanılarak basınç ölçümü sayısal olarak

değerlendirildi ve 618 mmHg kuvvetinde standart bir basınç uyguladığı görüldü. Klemp açılarak tekrar prob kısırıldı ve dayanıklılığını ölçmek amacıyla 24 saat boyunca ölçüm halinde tutuldu. Yirmi dört saatlik değerlendirme sonucu klempin uyguladığı basıncın aynı olduğu ve 24 saat boyunca değişmediği tespit edildi.

Grup 4'te flep bipediküllü olarak eleve edildi ve flebin 2, 5 ve 8. santimetrelerine total 1 mikrogram olacak şekilde VEGF uygulandı (Sigma Aldrich®). Beşinci günde flebin kraniyal pedikülü kesildi. Tekrar eski yerine iade edilen flepte nekrozun gelişmesi için beş gün daha beklenildi. İkinci operasyondan beş gün sonra Grup 2 ve Grup 3'te olduğu gibi nekroz planimetrik olarak değerlendirildi. Nekroz ortalaması %5,5'ti (Tablo 1). Nekroz olan bölüm flebin ortasında ve lateraldeki çok ufak bir kesimden oluşuyordu. İkinci operasyonda kraniyal pedikül kesildikten sonra nekroz oranlarında bir değişim olmadı (Şekil 7). Verilen VEGF ile flep sadece kaudal pedikülden beslenir hale gelmişti.

TARTIŞMA

Cerrahi geciktirme işlemi klinikte en sık TRAM flebi prosedürlerinde ve baş – boyun cerrahisinde kullanılmaktadır. Flep nekrozunu engellemesi açısından güvenilir bir yöntem olsa da cerrahi geciktirmenin ne gibi bir mekanizma ile yaşamı arttırdığı tam olarak anlaşılamamıştır. "Subletal iske mi" geciktirme fenomeninin bir başlangıcı gibi düşünülmektedir. Subletal iske mi durumunda yani tam olarak yaşamı engellemeyen iske mi durumlarında doku kendini korumak için bir takım faktörleri kullanarak bir sonraki letal boyuttaki iske miye kendisini hazırlamaktadır. Cerrahi geciktirme işleminin mekanizmasının derinlemesine incelenmesi sonucunda çeşitli farmakolojik müdahale yöntemleri bulunacaktır. Bu farmakolojik yöntemler, flep yaşayabilirliğini artırmak için kullanılacak ve başarılı olması halinde cerrahi olarak gerçekleştirilen geciktirme işlemi yerine geçebilecektir.

VEGF

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), aynı zamanda vaskülotropin olarak da bilinir, ısı ve aside dayanıklı anjiogenik bir büyüme faktörüdür. VEGF, endotelial hücre büyümesini, anjiogenezi ve kapiller permeabiliteyi stimüle eder. Bovine adrenal korteksinden, serebral korteksinden, fetal ve yetişkin aortadan ve insan umbilikal veninden izole edilen endotel hücrelerinin büyümesini artırdığı gösterilmiştir.²² VEGF'nin hedef hücre spesifitesi vasküler endotelial hücreler ile sınırlıdır.

VEGF, doğal olarak iske mi reperfüzyon hasarı yaratılmış cilt ve kas fleplerinde arttığı gösterilmiştir. Eksojen kullanımında ise, flep yaşayabilirliğini artır-

dığı¹⁵, subkritik iske mi halindeki kas fleplerinde perfüzyonu arttırdığı²¹, tüp fleplerinin maturasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir.⁶ Bu etkilerini preparatın direkt enjeksiyonu şeklinde veya çeşitli virüslerin genetik materyallerine eklenerek, virüslerin inoküle edildiği yerlerde VEGF ekspresyonu sağlayarak gösterdiği kanıtlanmıştır.²³

VEGF'nin kültüre korneal endotelial hücreler, vasküler düz kas hücreleri, keratinositler, insan sarkoma hücreleri veya lens epitelyal hücreleri üzerinde hiçbir mitojenik etkisi olmadığı gösterilmiştir.²² Sarkoma ve karsinom gibi çeşitli insan tümör hücrelerinin 3,7 Kb RNA transkriptlerinin Northern Blot incelemesinde VEGF probu ile hibritleştiği gösterilmiştir. Fare sarkom 180 hücreleri VEGF mRNA ekspresyon eder ve VEGF-benzeri mitojen sekrete ederler.²⁴

Bu çalışmada cerrahi geciktirme işlemleri ile farmakolojik geciktirme işlemlerini birbirleriyle ve kontrol gurubuyla karşılaştırdık. Kontrol grubu, flep yaşayabilirliğini araştırmak için en sık kullanılan modifiye McFarlane flebi olarak planlanmıştır. Bu flep çeşitli farmakolojik ajanların faydasının incelenmesinde kullanılan standart enternasyonal bir fleptir. Bu flebin standart olması hakkında bazı çekinceler mevcuttur. Bu çekinceler, flebin kullanıldığı grubun içinde oluşan nekroz oranları arasında istatistiki açıdan anlamlı farklar içermesi ve flebin sadece pedikülden değil aynı zamanda yatağından bir greft gibi beslenmesidir.

Çalışma gruplarında oluşturulan bipediküllü flep, iskemik hazırlanma yani cerrahi geciktirme operasyonlarına bir örnek teşkil etmektedir. Rat dorsumundaki flebin hem sakral hem de skapular bölgeden beslenmesi flebin distalinin direkt olarak beslenmesini sağlayacaktır. Aynı zamanda her iki bölgenin tam ortasına denk gelen alanda nekroze olan dokulardan ortaya çıkan ve subkritik iskemide olan bölgelere nekroz yönünde ilerleyen sitokinlerin de nicelik olarak azalmasını sağlayacaktır.

İkinci grupta bipediküllü olarak hazırlanan flep, beşinci gün sonunda tekrar tek pediküllü hale getirildi. Beş gün daha beklenildi ve nekroz tekrar değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda kontrol grubundan daha az nekroz geliştiği görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu (p<0.05).

Üçüncü grupta bipediküllü olarak hazırlanan fleplere operasyon sırasında bir saat ve ertesi gün bir saat olmak üzere iki defa aralıklı klempleme işlemi uygulanmıştır. Bu yöntem daha çok tüp fleplerde subletal ek iskemiler yaratarak flebin anjiogenezi artırmak ve letal bir iske miye duyarlılığını azaltmak amacını güder.²⁴ Üçüncü gruptaki nekroz oranlarından da anlaşılacağı gibi, ek olarak uygulanan klempleme yöntemi ikinci gruba göre bir fark ya-

ratmamıştır. İkinci grupta flep ortasında zaten çeşitli düzeylerde nekrozlar mevcuttur, bu da her iki pedikülün beraberce flebin tamamını besleyemediğine kanıt oluşturmaktadır. Orta kısmında nekroz gelişen bir flebe klempleme şeklinde uygulanan ek iskemilerin bir fayda sağlayamayacağı açıktır. Eğer klempleme işlemi flep bipediküllü olarak kaldırılmadan yapılmış olsaydı farklı bir sonuç elde edilebilirdi.

Dördüncü grupta bipediküllü olarak hazırlanan flebe 1 mikrogram VEGF uygulandı. Beşinci günde sadece flebin orta kısmında kenarlara denk gelen bölgelerde minimal nekrozlar görüldü. Kranial taraftaki pedikül kesilip beş gün sonra tekrar incelendiğinde de hiçbir fark görülmedi. Bu başarı iki şekilde açıklanabilir. Birincisi; VEGF'nin sadece bir pedikül ile modifiye McFarlane flebinin tamamını besleyecek şekilde anjiyogenezi artırdığı hipotezi geçerli olabilir. İkincisi; VEGF anjiyogenezi belli bir miktar artırmış ve bipediküllü olarak uygulanan cerrahi geciktirme işlemi de flep yaşayabilirliğine ek katkı sağlamış olabilir. Bu hipotezler arasındaki farkı incelemek için VEGF dozlarının değiştirilerek uygulandığı ek bir çalışmaya ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

Flep yaşayabilirliğini artırmak plastik rekonstrüktif cerrahinin tarihi kadar eski bir sorun olup, kolay kolay gündeminden çıkmayacağı anlaşılmaktadır. Flep yaşayabilirliğini artırmak için denenen yüzlerce farmakolojik ajanın klinik kullanımları çok sınırlı kalmış, ancak aralarından bazı maddeler oldukça umut vaat edici olmuştur. Vasküler endotelial büyüme faktörü bunlardan biridir. Onlarca çalışma ile etki mekanizması, fizyolojisi tanımlanmış, sentetik olarak üretilmiş ve deneysel çalışmalarda çok başarılı sonuçlar elde edilmiştir. VEGF'nin insanda kullanımına henüz izin verilmemiştir. Yapılan bazı

araştırmalarda insan tümör hücrelerinin bazılarında VEGF'nin eksprese edilmesi onkolojik birtakım yan etkilerinin olabileceği şüphesini uyandırmaktadır. Her ne kadar VEGF'nin kültüre korneal endotelial hücreler, vasküler düz kas hücreleri, keratinositler, insan sarkoma hücreleri veya lens epitelyal hücreleri üzerinde hiçbir mitojenik etkisi olmadığı gösterilse de bu maddenin klinik kullanımı için genel bir konsensusa ihtiyaç vardır. Fakat bu maddenin klinik kullanımının çok yakın olduğu düşüncesindeyiz.

Etkinliği kanıtlanmış cerrahi geciktirme prosedürlerinin temel mantığı flebi iskekiye hazırlamaktır. İskemi sonucunda anjiyogenезin artması ana amaçtır. Fakat bu işlem uzun bir hazırlık dönemi gerektirdiği için hastanede kalım süresini artırmaktadır. Aynı zamanda ek bir cerrahi müdahale gerektirdiğinden daha fazla maliyet ve emek gerektirmektedir. Cerrahi geciktirme prosedürlerini farmakolojik olarak çözmek ise çok cazip bir seçenek olarak durmaktadır.

VEGF gibi maddeleri ile yapılan deneysel çalışmalar sonucunda bilim dünyasına kazandırılan bilgiler, herkes tarafından kabul edilirse ve bu molekül güvenli olarak addedilirse, bu madde iskekiye hasarı durumlarında, cerrahi geciktirme işlemi gibi ek operasyonlara gerek duymadan kullanılabilir. Bu çalışmanın VEGF'nin klinik kullanımı açısından bir temel teşkil edeceği düşüncesineyiz.

Dr. Mert DEMİREL

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik cerrahi Anabilim Dalı Cebeci Tıp Fakültesi Hastanesi

Mamak/ ANKARA

Tel: 0312 5956175

Faks: 0312 3198139

E-posta: mertdemirel@yahoo.com

KAYNAKLAR

1. Myers MB, Cherry G. Causes of necrosis in pedicle flaps. *Plast Reconstr Surg* 1968; 42:43-50.
2. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72:766-777.
3. Tylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, et al. An anatomical review of the delay phenomenon, II:clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89:408-416.
4. McFarlane RM, Heagy FC, Radin S, et al. A study of the delay phenomenon in experimental pedicle flaps. *Plast Reconstr Surg* 1965; 35:245-262.
5. Reinisch JF. The pathophysiology of skin flap circulation. The delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1974; 54:585-598.
6. Cutting CB, Bardach J, Finseth F. Haemodynamics of the delayed skin flap: a total blood-flow study. *Br J Plast Surg* 1981; 34:133-135.
7. Murphy RC, Lawrence WT, Robson MC, et al. Surgical delay and arachidonic acid metabolites: evidence for an inflammatory mechanism: an experimental study in rats. *Br J Plast Surg* 1985; 38:272-277.
8. Barker JH, Frank J, Bidiwala SB, et al. An animal model to study microcirculatory changes associated with vascular delay. *Br J Plast Surg* 1999; 52:133-142.
9. Pearl RM. A unifying theory of the delay phenomenon-recovery from the hyperadrenergic state. *Ann Plast Surg* 1981; 7:102-112.
10. Toole GO, MacKenzie D, Buckley MF, et al. A review of therapeutic angiogenesis and considerations of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *Br J Plast Surg* 2001 54:1-7.
11. Hippenstiel S, Krull M, Ikeman A, et al. VEGF induces hyperpermeability by a direct action on endothelial cells. *Am J Physiol* 1998; 274:L678-84.
12. Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W, et al. Vascular endothelium growth factor, surgical delay, and skin flap survival. *Ann Surg* 2004; 239(6):866-873.
13. Zhang F, Fischer K, Komorowska-Timek W, et al. Improvement of skin paddle survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat TRAM flap model. *Ann Plast Surg* 2001; 46(3):314-319.
14. Seify H, Bilkay U, Jones G. Improvement of TRAM flap viability using human VEGF-induced angiogenesis: a comparative study of delay techniques. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112(4):1032-1039.
15. Pang Y, Lineaweaver WC, Lei MP, et al. Evaluation of the mechanism of vascular endothelial growth factor improvement of ischemic flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112(2):556-564.
16. Zhang F, Richards L, Angel MF, et al. Accelerating flap maturation by vascular endothelium growth factor in a rat tube flap model. *Br J Plast Surg* 2002; 55:59-63.
17. Zhang F, Oswald T, Lin S, 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; 56:653-659.
18. Gurunluoğlu R, Ozer K, Skugor B, et al. Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene. *Ann Plast Surg* 2002; 49(2):161-169.
19. Lubiatowski P, Goldman CK, Gurunluoğlu R, et al. Enhancement of epigastric skin flap survival by adenovirus mediated VEGF gene therapy. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109(6):1986-1993.
20. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, et al. Improved perfusion after subcritical ischemia in muscle flaps treated with vascular endothelial growth factor. *Plast Reconstr Surg* 2000; 106(7):1541-1546.
21. Ferrera N, Houck K, Jakeman L, et al. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocrinology review*. 1992; 13(1):18-32.
22. Gurunluoğlu R, Özer K, Skugor B, et al. Gene therapy with adenovirus-mediated VEGF enhances skin flap prefabrication. *Microsurgery*. 2005; 25(5):433-41.
23. Clauss M, Gerlach M, Gerlach H, et al. Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. *J Exp Med* 1990; 172(6):1535-45.
24. Furnas DW, Lamb RC, Achauer BM, et al. A pair of five-day flaps: early division of distant pedicles after serial cross-clamping and observation with oximetry and fluorometry. *Ann Plast Surg* 1985; 15:262-2267.
25. McFarlane RM, DeYoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1965; 35:177-182.
26. Khouri RK, Angel MF, Edstrom LE. Standardizing the dorsal rat flap. *Plast Surg*. 1986; 37:590-591.
27. 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; 269:26988-26995.