

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
II. PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

Klinik Şefi: Doç. Dr. Bülent ERDOĞAN

**RANDOM PATERNLİ RAT DERİ FLEPLERİNİN
YAŞAYABİLİRLİĞİNİ ARTTIRMADA BOTULİNUM
TOKSİN A’NIN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Serdar ALTUN

ANKARA

2009

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince tüm bilgi ve deneyimlerini bizimle paylaşan ve cerrahi nosyon kazanmamızı sağlayan emekli hocamız Doç. Dr. Ömer Şensöz'e, benim için her zaman ağabeylik yapan II. Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Klinik Başasistanı Doç. Dr. Ramazan Erkin Ünlü'ye,

Başlangıçta farklı kliniklerde olsak da uzmanlık eğitimim süresince benden destek, birikim ve hoşgörülerini esirgemeyen, I.ve II. Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Klinik Şefi Doç. Dr. Bülent Erdoğan'a,

Uzun yıllar birlikte çalıştığım ve pek çok anıları paylaştığım, Kliniğimizde görev yapan araştırma görevlisi arkadaşlarıma, Tezimin deneysel çalışmalarında benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Enver Arpacı, Dr. Ayfer Özdemir'e istatistik çalışmalarını yapan Dr. Mustafa Özkan'a özellikle teşekkür ediyorum.

Dr. Serdar ALTUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ ve AMAÇLAR	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Flep Tanımı	2
2.1.1. Flep Cerrahisi	2
2.1.2. Deri Fleplerinin Sınıflandırılmaları	3
2.2. Flep Fizyolojisi	9
2.2.1. Flep Nekrozlarının Patofizyolojisi	11
2.3. Fleplere Farmakolojik Ajanların Etkisi	14
2.4. Yara İyileşmesi	16
2.5. Yetersiz Yara İyileşmesi	19
2.6. Botulinum Toksin A	21
2.7. Sıçan Derisinin Anatomisi ve Kan Dolaşımı	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Denekler	25
3.2. DeneySEL Protokol	25
3.3. İlaç Uygulamaları	27
3.4. Çalışılan Model	28
3.5. Deneklerin Gruplandırılması	28
3.6. Fleplerin Değerlendirilmesi	30
4. BULGULAR	31
4.1. Fleplerin Yaşayan ve Nekroz Alanlarının Değerlendirilmesi	31
4.2. İstatistiksel Analiz	32
4.3. Klinik Bulgular	32
4.4. Grupların İstatistik Analizi	34
5. TARTIŞMA	37
6. ÖZET	47
7. KAYNAKLAR	48

1. GİRİŞ VE AMAÇ

“Flep” doku eksikliklerinin onarımı için vücudun belirli bölgelerinden hazırlanan, tabanı veya pedikülünden giren arter ve venlerle beslenen deri, derialtı, fasiya, kas, kemik ya da bu dokuların bir kısmını bir arada içerebilen doku parçasıdır.

Plastik Cerrahi’de doku defektlerinin rekonstruksiyonunda en uygun fonksiyonel ve estetik sonucu elde etmek için sıklıkla flepler kullanılmaktadır. Ve Plastik cerrahi açısından gelişen flep nekrozu halen önemli bir konu olmaya devam etmektedir. Random paternli fleplerde nekroz distal uçtan başlar ve genellikle nedeni yetersiz kan akımıdır. Bu tür fleplerde, flep uzunluğunu arttırma ihtiyacı çeşitli farmakolojik ajanların kullanılmasını veya cerrahi geciktirme işlemini gerektirmektedir.

Flep nekrozunu azaltmak için birçok ilaç kullanılmıştır. Bu ilaçlar: sempatolitikler, direk vazodilatörler, kalsiyum kanal blokörleri, fosfodiesteraz inhibitörleri, kanın fiziksel özelliklerini değiştiren ajanlar, eikozanoidler ve bunların sentez inhibitörleri, serbest radikal giderici (antioksidan) ajanlardır.

Botulinum Toksin A, nöromuskuler kavşakta presnaptik sinir ucundan asetilkolin (ACh) ve nörepinefrin salınımını bloke ederek hedef dokuda denervasyon ve kimyasal sempatektomiye neden olurlar. Bu iki etki mekanizması ile damar düzkasında gevşeme ve damarda vasodilatasyona neden olur. Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda Botulinum toksin A’nın anastomoz yapılan damarlarda trombozu önlediği ve damarda vazodilatasyon yaptığı ve kaldırılan ada flebinde pedikülün etrafına yapılmasının flep viabilitesini arttırdığı gösterilmiş olup, random paternli flepler üzerine etkisi araştırılmamıştır.

Çalışmamızda deneysel olarak sıçanlarda standart nekroz oranına sahip flep modeli oluşturmayı ve oluşturduğumuz flep modelinde Botulinum Toksin A enjeksiyonunun flep yaşayabilirliği üzerine etkisini klinik ve istatistiksel olarak araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. FLEP TANIMI

Flep, cerrahi olarak geliştirilen orijinal kan desteği olan mobil bir doku segmentidir. Kendine özel kan desteğinin olmasıyla greftten ayrılır.¹

Deri flebi; deri ve subkütan dokudan ibaret olan ve vücudun bir yerinden başka bir yerine, kan damarları veya vücutla olan bağlantılarından ayrılmadan taşınan doku parçasıdır.

2.1.1. Flep Cerrahisi

2.1.1.1. Tarihçe

Fleplerin cerrahi rekonstrüksiyonda kullanımının başlangıcı; milattan önce 1000 yılına dayanır. Hindistan’da Kanghiara ailesinin milattan önce 1000 yılından beri burun defektlerinin onarımını pediküllü alın flebiyle yaptığı rapor edilmiştir. Susruda Samhita’nın (M.Ö. 600) sıklıkla alın ve yüzde pediküllü flep uygulamaları yaptığı kaydedilmiştir. Tangliacozzi 1597 yılında koldan tüp haline getirilmiş pediküllü flep kullanarak yaptığı burun rekonstrüksiyonunu “De Curtorum Chirurgia” da yazmıştır.¹

Tarihsel olarak fleplerle ilgili bazı buluşların değeri çok geç anlaşılmıştır. Bazıları yeniden keşfedildi ve daha da geliştirilerek çok değerli rekonstrüktif seçenekler elde edildi. 1898 yılında Monks alt göz kapağının yeniden oluşturulmasında yüzeysel temporal arter pediküllü tek aşamalı ada flebini ilk kez rapor etti.² 1863 yılında John Wood kasık flebini tanımladı, ancak McGregor ve Jackson’un bu flebi yeniden tanıttığı ve popülerize ettiği 1972 yılına kadar

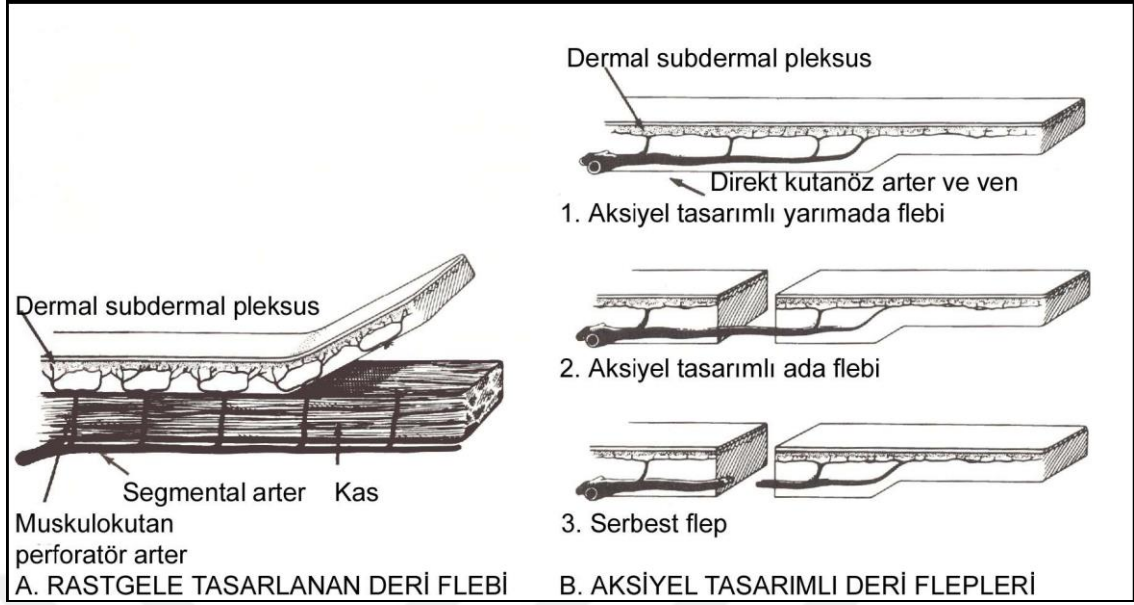
kullanılmadı. Tanzini 1906 yılında meme rekonstrüksiyonu için latissimus dorsi flebini, Gilles 1920 yılında bulduğu tüp şeklinde pediküllü flebi tanımladı ve bu makalelerinde tüp flep cerrahi ilkeleri dışında delay (geciktirme) fenomeninden de bahsetmişlerdir.^{11,12} 1965 yılında Bakamjian faringeal rekonstrüksiyon için bir büyük deltopektoral flep tanımladı.

2.1.2. Fleplerin Sınıflandırılması

2.1.2.1. Deri Fleplerinin Vasküler Anatomiye Göre Sınıflandırılması

1. Rastgele Tasarlanan (Random Paternli) Flepler: Belirli bir arteriyel-venöz sisteme sahip değildirler. Flebin dermal-subdermal pleksusunun kanlanması, flep tabanındaki muskulokutan perforatörler aracılığıyla sağlanır. Bu fleplerin uzunluklarında belirgin bir kısıtlama vardır (Resim 2.1).

2. Aksiyel Tasarımli (Arteriyel) Flepler: Anatomik olarak özel bir arteriyel-venöz sistemleri vardır. Uzun eksenlerinde, belirli bir direkt kutanöz arter içerirler. Direkt kutanöz arterler kas ile subkutan doku arasında ilerledikleri için, flep proksimalde subkutan dokunun tüm kalınlığını içerir. Boyları direkt kutanöz arterin boyuna ek olarak, dermal-subdermal pleksusla beslenen distal deriye de bağlıdır. Rastgele tasarımli fleplerden daha uzun boylu olarak planlanabilirler. Venöz drenajları hem yüzeysel hem de derin venlerle olur. Aksiyel paternli flepler; yarımada, ada ve serbest flepler olarak hazırlanabilmektedir (Resim 2.1).



Resim 2.1. Deri fleplerinin sınıflandırılması (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

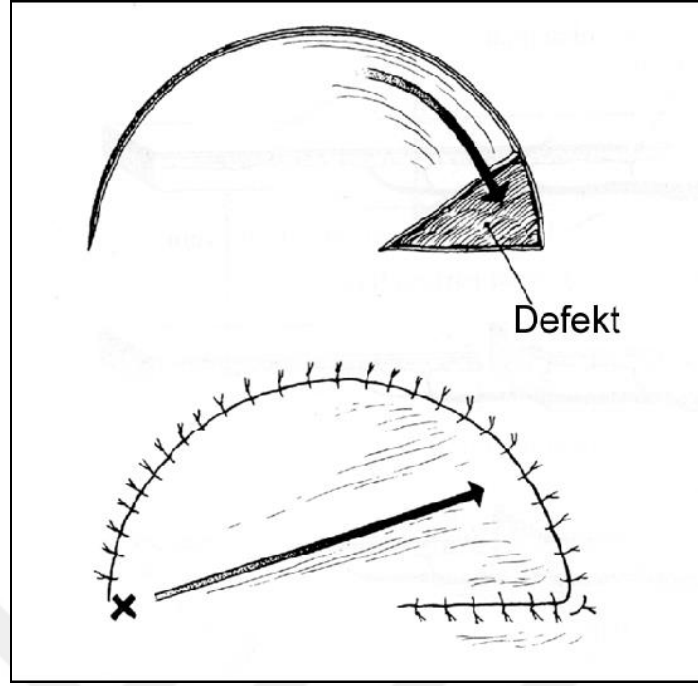
2.1.2.2. Deri Fleplerinin Hareketlerine Göre Sınıflandırılması:

2.1.2.2.1. Lokal Flepler

Verici alana komşu olan defektlerin kapatılmasında kullanılır. Alıcı alan ile renk ve yapı açısından benzer özelliklere sahiptir.

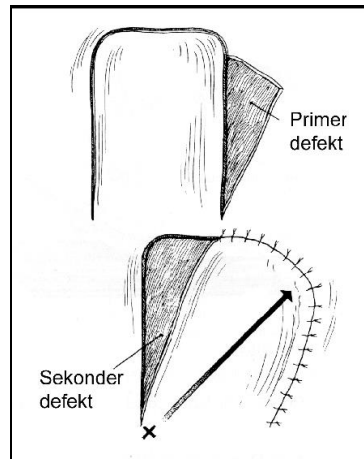
1. Bir Eksen Etrafında Hareket Eden Flepler

Rotasyon Flebi: Flep dairesel hareketle rotasyon yaparak, primer defekt ile bir yarım daire oluşturacak şekilde hazırlanır. Verici alan deri grefti veya primer onarım ile kapatılır (Resim 2.2).



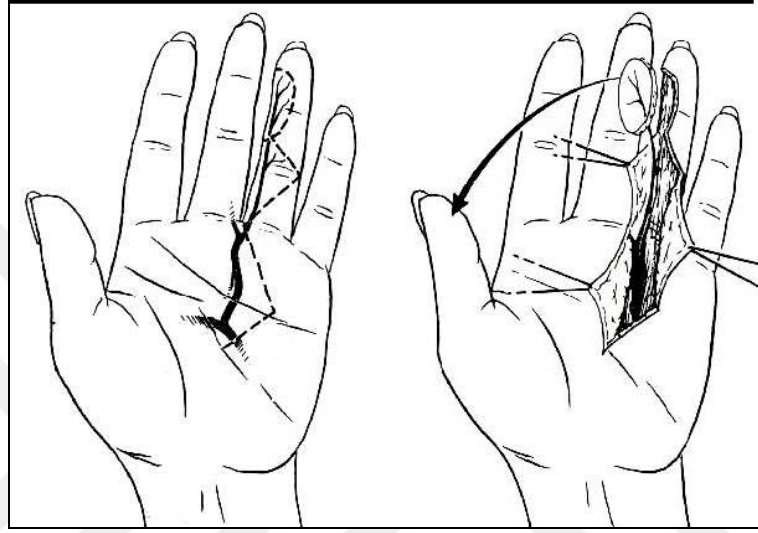
Resim 2.2. Rotasyon flebi, defektin 3–5 katı uzunluğunda planlanmaktadır. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

Transpozisyon Flebi: Bitişigindeki bir defekti kapatmak üzere hazırlanan, bir eksen üzerinde yanlara doğru hareket edebilen dörtgen şeklindeki fleptir. Verici alan deri grefti, primer onarım veya sekonder flep (bilobe flep) ile kapatılabilir (Resim 2.3).



Resim 2.3. Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997

İnterpolasyon flebi: Defekt yakınındaki bir eksen etrafında döndürülür, fakat defekte bitişik değildir. Bu sebeple pedikül komşu dokunun altından veya üzerinden geçirilmelidir. Deltopektoral (Bakamjian) flep, Littler nörovasküler parmak pulpa flebi gibi ada flepleri ve subkutan pediküllü flepler bu gruba örnektir (Resim 2.4).

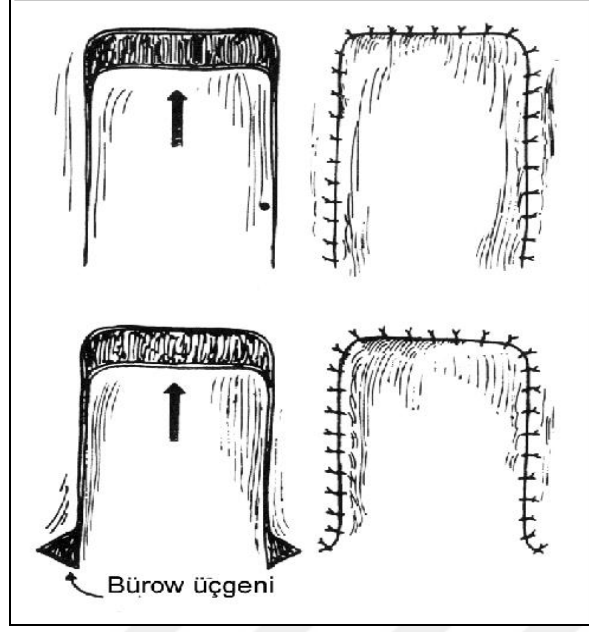


Resim 2.4.Reconstructive Surgery, Principles, Anatomy & Technique, 1997

2. İlerletme Flepleri

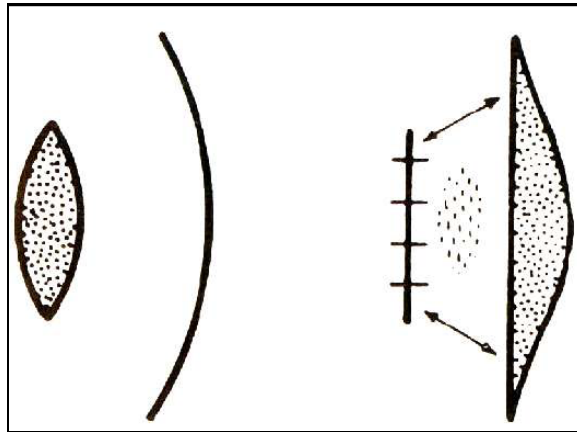
Herhangi bir rotasyon veya lateral hareket olmaksızın, derinin esnetilerek direkt olarak defekte doğru düz bir eksen üzerinde kaydırılmasıdır.

Tek pediküllü ilerletme flebi: İlerletme dokunun elastikiyeti ve Burow üçgenlerinin çıkarılması ile sağlanır (Resim 2.5).



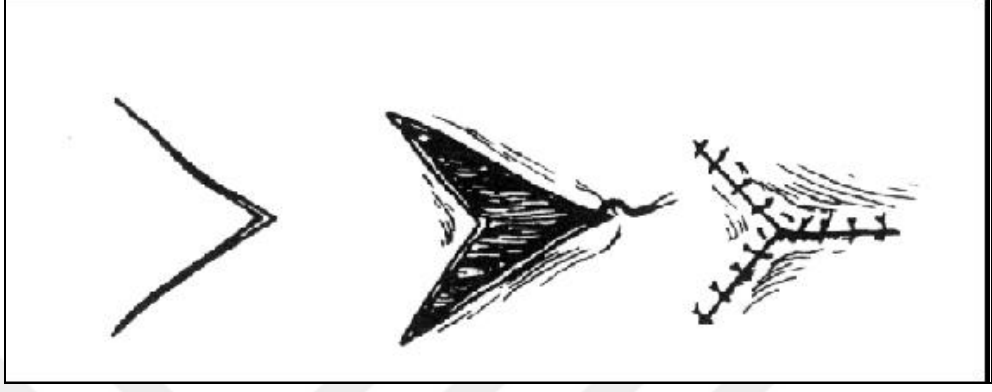
Resim 2.5. Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997

Bipediküllü İlerletme Flebi: Defektin uzun eksenine paralel bir kesi yapılır ve flep tabandan disseksiyon yapılarak defekte ilerletilir. Verici saha deri grefti ile kapatılır (Resim 2.6).



Resim 2.6. Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997

V-Y İlerletme Flebi: V şeklindeki kesiği takiben, V'nin her iki tarafının ilerletilmesi ve insizyonun Y şeklinde kapatılmasından ibarettir. (Resim 2.7).



Resim 2.7. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

2.1.2.2.2. Uzak Flepler

Alıcı alana uzak bir bölgeden hazırlanan fleplerdir.

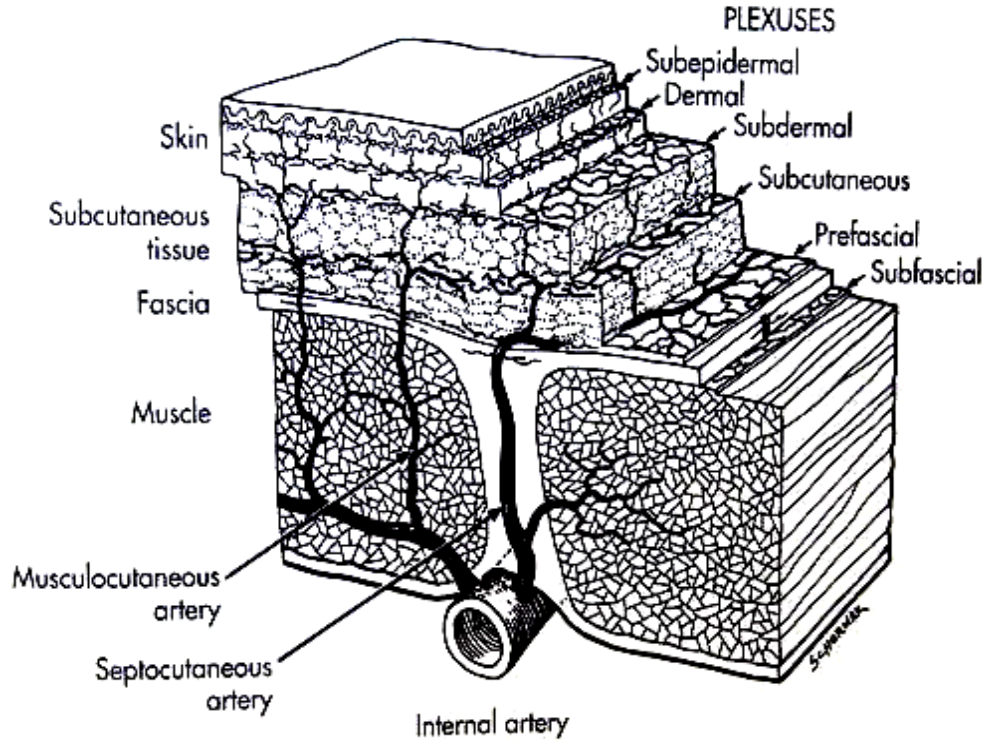
Uzak pediküllü flepler: Ekstremitre rekonstrüksiyonu için günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Üst ekstremité rekonstrüksiyonu için kullanılan kasık flebi bu gruba örnektir.

Serbest flepler: İstenilen şekilde hazırlanan dokuların, besleyici damarları ile birlikte verici alandan alınıp, alıcı alan damarlarına cerrahi teknik ile taşınması prensibine dayanır. Herhangi bir aksiyel flep, serbest flep olarak kullanılabilir.

2.2. FLEP FİZYOLOJİSİ

Deri kan dolaşımını bilmek ve flep planlamasını bu bilgiye göre yapmak deri flepleri cerrahisinde başarının temel kuralıdır.

Aortadan köken alan segmental, anastomotik ve aksiyel arterler kas ve deriyi direk kütanöz damarlarla, muskulokütanöz damarlarla veya her ikisiyle beslerler. Direk kütanöz damarlar kas fasyasıyla subkütan dokunun süperfisiyel fasyası arasında ilerleyip deri dokusunu besler. Muskulokütanöz damarlarsa kasın içerisinde seyredip kası ve derin fasyayı perfore ederek deriye uzanan dallarla kasın üzerindeki deriyi beslerler.¹² Direk kütanöz veya muskulokütanöz damarlar, derialtı ve deri dokusuna altı adet pleksusla dağılır. Resim 2.8’de deriyi besleyen pleksuslar gösterilmiştir.



Resim 2.8. Deriyi besleyen pleksuslar

Fasyal pleksus: Kaynak arterden gelen damarlar derin fasya seviyesinden geçerek pleksus oluşturlar. Bu nedenle flep cerrahisi sırasında derin fasyanın flebe dahil edilmesi flep yaşayabilirliği açısından çok önemlidir. Fasyal pleksus iki katmandır. Bunlar; fasyanın altında yer alan subfasyal pleksus ve fasyanın üstünde yer alan prefasyal pleksusdur. Subfasyal pleksus nispeten daha zayıftır flebin yaşayabilmesini tek başına sağlayamaz.

Prefasyal pleksus: Baskın dağılım sistemidir, özellikle ekstremitelerde baskındır. Fasyokutan, muskulokutan ve septokutan arterlerden beslenir. Vücudun değişik bölgelerinde bunların katkı oranlar değişmektedir. Örneğin ekstremitelerde septokutanöz sistem ağırlıktayken, gövdede muskulokutaneal sistem dominant olmaktadır.

Subkütanöz pleksus: Subkutan yağ dokusu içinde yer alan, derin ve yüzeysel olmak üzere subkutan yağ dokusunu ikiye bölen, yüzeysel fasya içinde bulunan arterlerden ve venlerden oluşmuş horizontal ve lineer yerleşimli muskulokütanöz damarlardan kanlanan ve gövdede baskın olan pleksustur.

Subdermal pleksus: Derinin primer kan akımını sağlayan pleksustur. Deriye insizyon yapıldığında gözlenen kanama asıl bu pleksustandır. subkutan yağ dokusu ile retiküler dermis arasında yerleşen çok geniş arteriyovenöz (AV) dolaşım ağına sahip bu pleksus her iki yönde verdiği radial dallarla hem dermal hem de subkütanöz pleksus ile sıkı bir ilişki içindedir. Ayrıca dermal pleksusa verdiği dallar arasında bulunan anastomozlar kanlanmayı arttırmaktadır. ^{4,11}

Dermal pleksus: Temel olarak arterioller oluşturur ve termoregülasyonda rol alır.

Subepidermal pleksus: Damar duvarında kas dokusu bulunmayan küçük damarlardan oluşmuştur. Cildi besleme ve termoregülasyon görevi vardır

Cilde gelen kan akımını düzenleyen faktörlerin etkileri vazokonstriksiyon, vazodilatasyon ve lokal yada sistemik etkili olup olmadıklarına göre sınıflandırılmıştır. β adrenerjik stimuluslar, kolinerjik stimulus, bradikinin, histamin,

PGE1, PGI2, hipoksi, asidoz ve hipertermi vazodilatatör; α adrenerjik stimulus, serotonin, TXA2, hipotermi ve miyojenik distansiyon vazokonstrüksördür.^{13,14}

Miyojenik kontrol, arterioler düz kasın kontraksiyonu ile artmış intraluminal basınca etki eden önemli bir regülatuar mekanizmadır. Bu mekanizma özellikle 100 mikronun altındaki arteriollerde belirgindir ve artmış basınca karşı normal akımı korur.^{4,11}

Kan akımının kontrolünde diğer önemli faktör ise damar duvarı ve kan elemanları arasındaki iletişimidir. Özellikle direkt veya indirekt travmalarda endotel hücre kaybı olur veya disfonksiyon oluşur ve tromboz ile iskemi meydana gelir.

2.2.1. Fleplerde Oluşan İskeminin Nedenleri ve Flep Patofizyolojisi

Deri fleplerindeki iskemi ektrinsek ya da intrinsek etkenlerden oluşabilmektedir. Ektrinsek nedenler; infeksiyon, sistemik vasküler hastalıklar, yüksek tansiyon, düşük tansiyon, sigara kullanımı, şeker hastalığı, kötü beslenme, konjestif kalp yetmezliği, immünosupresyon ve radyasyon tedavisi görmüş olmak, aritmiler, şişmanlık ve ileri yaş gibi genel olabileceği gibi; flebe baskı, gerilim, anastomozda trombus veya pedikülün katlanması gibi lokal nedenlerden dolayı da oluşabilmektedir.^{11,15}

Çoğu vakada ektrinsek faktörler ameliyat öncesi iyi hazırlık ve ameliyat sonrası dikkatli takip ile azaltılabilmektedir. Ektrinsek nedenlerin çokluğuna karşın tek intrinsek neden flep içindeki yetersiz kan akımıdır.^{4,11,15,16,17}

Bir flep kaldırıldığında, büyük değişiklikler olur ve kan akımını regüle eden hassas denge bozulur. Sempatik innervasyon kaybolur ve iskemi hali başlar. Deri artık termoregülatuar organ değil hüморal, metabolik ve fiziksel mekanizmaların yardımı ile tekrar hemodinamik dengesini kurmaya çalışan bir doku olmuştur. Flebin yaşayabilmesi için besleyici dolaşımın sağlanması ve iskeminin minimize edilmesi gerekmektedir. Bu olay postop 8- 12 saat içinde giderilmelidir. Aksi halde zarar geri dönüşümsüz olacaktır.^{4,18}

Anatomik Değişiklikler: Erken anatomik çalışmalarda gösterilmiştir ki flep kaldırıldıktan sonra subdermal pleksusun küçük arterlerinin sayı ve boyutunda artış olmaktadır, dermal venöz kanalların boyutu artmaktadır. Daha ileri çalışmalarda kullanılan in vivo ve in vitro mikroanjiyografik teknikler yeni longitudinal damarların oluşmadığını, fakat bunun yerine transvers uzanan damarlar arasında önceden var olan anastomozların dilate olduğunu göstermiştir. Flep tabanında damar sayısında artış olmaktadır, cerrahi travma nedeniyle oluşan enflamatuvar reaksiyon sonucunda görülen bu durum yaklaşık 2 veya 3 hafta devam etmektedir.

Akut ve geciktirilmiş fleplerde otonomik innervasyondaki değişimler gösterilmiştir. Palmer (1970), akut rat deri fleplerinde sempatik transmitterlerin olup olmadığını ölçmek için histoflouresan katekolamin boyama tekniğini kullanmış. Katekolaminlerin kayboluşu cerrahi insizyondan 18 saat sonra başlayıp 30 saatte tamamlanmaktadır. Reinnervasyon sinyali olarak kabul edilen katekolaminlerin tekrar toplanmaya başlaması ise postoperatif 4- 8 hafta civarında olmaktadır. Sempatik sinirlerin zarar görmesi vazokonstrüktör nörotransmitterlerin spontan deşarjına yol açmaktadır. Akut durumlarda, bu mikro damarların hemodinamisinde belirgin bir etkiye sahiptir.⁴

Hemodinamik Değişiklikler: Postoperatif 1.gün de flebin bazındaki kan akımı % 100 iken, flebin distaline giden kan akımı % 18'e düşer. Kan akımı kademeli olarak 1. haftada % 65'e, 2. haftada % 75- 90'a yükselir. Kerrigan (1983) yaptığı deneysel çalışmalarda domuzlarda akut deri fleplerinde arteriovenöz şant akımı ile ilgili edinilen bilgileri yayınladı. Kerrigan'ın verileri akut olarak kaldırılan fleplerde görülen flep distalindeki yetmezliğin primer nedeninin arteriyel yetmezlik olduğunu göstermiştir. Flep distalinde arteriovenöz shunt akımını ispatlayacak kanıt bulamamıştır. Pang ve arkadaşlarının 1986 yılında geciktirilmiş flepleri ekledikleri çalışmalarında elde ettikleri bulgular ile bu çalışmayı desteklediler. Akut ya da geciktirilmiş fleplerde flebin distal iskemik parçasında shunt akımına ait bir bulguya rastlanmamıştır.^{4,18}

Metabolik Değişiklikler: Flebin elevasyonuna sekonder gelişen iskemik durum lokal metabolik seviyede bir hasar yaratır. Dokularda yetersiz oksijen desteği

anaerobik metabolizmayı tetikler. Akut olarak kaldırılan fleplerde, distal zonda şiddetli iske mi görölür, flep boyunca distale doğru ilerledikçe oksijen (O₂), glukoz ve adeno zin trifosfat (ATP) dramatik olarak düşer. Beklenildiği gibi, karbondioksit (CO₂) ve laktat eş zamanlı olarak artar.

Serbest ya da geciktirilmiş fleplerin iskemik parçasında anaerobik metabolizma artar ve sonrasında toksik süperoksit radikallerinin üretimi artar.⁵³ Bu radikaller ksantin metabolizmasının yan ürünüdür ve flep yaşayabilirliğine zararlıdır lar. Im ve Hoopes akut ve geciktirilmiş rat fleplerinde serbest radikal toksitesine karşı savunmada anahtar rol oynayan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin endojen seviyelerini ölçtüler. Geciktirilmiş fleplerde SOD seviyeleri normalken, akut fleplerin distal parçasında SOD seviyeleri düşük bulundu. Allopürinol ile süperoksit radikallerinin üretimi bloke edilirse veya eksojen SOD ile nötrale edilirse iskemik dokuların yaşayabilirliği düzelebilir.⁵⁴ Doku hasarının bu mediatörlerinin önemi hiçbir iskemik organda hafife alınmamalıdır.

Akut flepte patofizyolojik olaylar özetlenirse; elevasyon esnasında, cilt kan damarları ve sempatik sinirler kesilir. Bu kan akımında dramatik değişimle sonuçlanır. İlk 18 saat içinde sempatik vazokonstrüktörlerin salınması ve kan akımında azalmaya sekonder olarak perfüzyon basıncında düşme olur. Flep distalinde ilk 12 saat süresinde yetersiz kan akımı vardır, geri dönüşsüz iske mi flep nekrozu ile sonuçlanır. İske mi aşıkâr olduğunda, pek çok metabolik vazodilatatör (CO₂, laktat, prostaglandinler, histamin, v.b.) hep birlikte etki ederek yavaş yavaş kan akımını artırır lar. Postoperatif 12- 48 saatlerden itibaren sempatik vazokonstriktörlerin azalmasıyla kan akımı daha da artar. Bu etkilerden yalnızca flep proksimali yararlanır, flep distalindeki iskemik hasar 12 saatten sonra geri dönmez. Kısa süre içinde yeni bir denge kurulur, flep yatağında ve periferde yara iyileşmesi başlar. Sağlıklı zeminde 4- 5. günlerde flep orijinal primer kan desteği olmaksızın yeterli kollateral dallanmalarla desteklenir.^{4,18}

2.3. FLEPLERDEKİ NEKROZU AZALTMAK İÇİN KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR

Cilt kan akımının düzenlenmesi daha önce de belirtildiği gibi sistemik ve lokal olarak kontrol altında tutulmaktadır. Sistemik kontrol hem nöral hem de humoral olarak düzenlenilmektedir. Bu düzenlemeler içerisinde nöral düzenleme daha baskındır. Sempatik lifler ve α -adrenerjik reseptörler vazokonstrüksiyonu uyarırlarken; b-adrenerjik reseptörler de vazodilatasyonu uyarmaktadır. Ek olarak arteriovenöz anastomozlardaki serotoninergik reseptörler de vazokonstrüksiyonu uyarmaktadırlar. Humoral düzenleme ise, sistemik vasoaktif maddeler ve bunların özgün reseptörleri ile olmaktadır. Adrenalin ve noradrenalin, α -reseptörleri üzerinden bu düzenlemeye katkıda bulunmaktadır. Diğer sistemik vazokonstrüktörler serotonin, tromboksan A_2 ve Prostoglandin $F_{2\alpha}$ iken vazodilatörler ise Prostoglandin E_1 , Prostosiklin, Histamin, Bradikinin ve Lökotrien $C_4 - D_4$ dür.^{4,19}

Klinikte en büyük amaç akut flep yetmezliği geliştiğinde tedavi etmek ve postoperatif dönemde etkili rejimlere gereksinim vardır. Farmakolojik çalışmaları, kullanılan ajanları ve etki mekanizmalarını özetlersek:

Sempatolitik Ajanlar: Rezerpin ve Guanitidin noreadrenalin salınımını azaltırlar. Preoperatif verilmelerinde etkili olduklarına dair yayınlar mevcuttur.^{1,4}

Alfa-Adrenoreseptör bloğu: Fenoksibenzamin teorikte flep yaşayabilirliğini artırması gerekirken deneysel çalışmalarda şüpheli bulunmuştur. Fentolamin ve Thymoxamine ile ilgili destekleyici yayınlar vardır.^{1,4}

Beta-Adrenoreseptör uyarıcıları: İskelet kasında vasodilatasyona neden olan ajanlardır. Kas fleplerinde etkinliği gösterilmişken deri fleplerinde destekleyici bulgulara rastlanılamamıştır.^{1,4}

Beta-Adrenoreseptör Bloğu: Propranolol rat çalışmalarının bir kısmında etkili bulunmuşken, bazı rat çalışmalarında ve domuzlar üzerinde etkisiz bulunmuştur.

Serbest Radikaller: Oksijen metabolizma ürünleridir. Hücreler bu ürünlerin zararlı etkilerinden korunmak için enzimatik kontrol sistemleri, metal şelatörler (Desferoksamin) ⁶ ve antioksidanlar kullanırlar. Allopurinol, ksantin oksidaz inhibitörüdür. İskemide ksantin dehidrogenaz ile ksantin oksidaz üretilir; bu da oksijen radikalleri oluşumunu tetikler. Allopurinol ile doku iskemisine bağlı kısır döngü engellenmiş olur. Serbest oksijen radikallerinin yara iyileşmesine olan etkisi, temizleyicileri kullanılarak dolaylı yollardan gösterilmiştir. Shandall ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları kolon anastomozlarından sonra bölgeye iskemi uygulayıp; Aprotinin ve SOD'nin etkilerini araştırmış ve iyileşmeyi artırdığını göstermişlerdir. Vitamin E ve C de serbest radikallerin oluşumunu baskırlar. Plasmada bulunan Ürik Asit de vitamin C gibi davranan antioksidanlardan birisidir.⁵⁵ Bu üç madde plazmadaki toplam radikal yakalama aktivitesinin % 50-70'inden sorumludur. Glutasyonun da vitamin C ile sinerjistik hareket ettiği gösterilmiştir. Diğer antioksidanlar arasında; Beta- Karoten, Dimetil Sülfoksit ve Seruloplazmin de sayılabilir.

Nitrik Oksit uyarıcıları: Nitrik Oksit (NO) kısa ömürlü, lipofilik L-arginine'den NADPH-bağımlı enzim olan NO sentetaz (NOS) tarafından endotelial hücrelerde oluşturulan bir moleküldür. NO vazorelaksasyon fizyolojisinde, angiogenezin uyarılmasında, nörotransmisyonunda, trombosit agregasyonu baskılanmasında, immün savunmada ve hücre içi sinyalleşmede etkin rolü bulunmaktadır. Bazı reaktif Nitrogen türlerinde DNA hasarı ve onarımını engelleyici fonksiyon mevcuttur.⁵⁶ NOS enzimi constitutive (kurucu) NOS (cNOS) ve sitokin inducible (uyarılabilen) NOS (iNOS) olmak üzere iki büyük kategoride gruplandırılır. cNOS tarafından çok kısa sürede üretilen NO, az miktarda olup daha çok fizyolojik olayların devamında rol oynarken, iNOS, cNOS'a göre çok daha fazla miktarda NO sentezleme yeteneğine sahiptir. iNOS ekspresyonu konak savunması için oldukça önemlidir çünkü NO mikroorganizmalar için de toksik bir maddedir.

Nitrik Oksit'in flep modellerinde yaşayabilirliği artırıcı etkisinden mikrovasküler yataktaki düz kas hücrelerini gevşetmesi sorumlu tutulur. Hayvan modellerinde flep yaşamasını arttırmaktadır.⁵⁷ Aynı zamanda Vasküler Endotelial

Büyüme Faktörünü (VEGF) artırarak da flep yaşayabilirliğini artırabilmektedir.⁵⁸ Fakat hipotansif etkinliği nedeniyle klinik kullanım sınırlıdır.

Flep yaşayabilirliğini artırıcı etkinliği hayvan çalışmaları ile gösterilmiş bir diğer madde olan Sildenafil, fosfodiesteraz inhibitörüdür ve guanilat siklaz üzerinden NO'u uyarır. NO'den farklı olarak daha özgün hedef hücrelere etkir ve NO'un etkisini uzatır. Hipotansiyon etkisi daha sınırlıdır.⁵⁹

Yukarıda bahsettiğimiz ajanlar dışında prostaglandinler ve blokerleri, kan reolojisini değiştiren ajanlar, steroidler, hiperbarik oksijen fakat belirgin faydaları görülmemiştir. Bu konuda bir konsensüse varılamamıştır.^{4,18,20,21}

2.4. YARA İYİLEŞMESİ

Yara, normal anatomik yapı ve işlevde bozukluk olarak tanımlanabilir. Onarım, yaralanmaya karşı doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yönelik olarak vücuttaki tüm sistemlerde ortaya çıkan doğal yanıttır. Yara iyileşmesi ardışık, birbiri ile bağlantılı, oldukça karmaşık olan biyokimyasal ve hücrel olayların bütünüdür.

1. Doku hasarı: Mikrovasküler düzeydedir ve yaralanan bölge içine kanama oluşmaya başlar. Hasara uğramış olan damarlar kan kaybını azaltabilmek için hızla kontrakte olarak pıhtılaşma kaskadını etkinleştirirler.⁶¹ Kan, subendotelyal tabakaya temas ettiği anda, trombositler bölgedeki kollagene yapışarak tıkaç oluştururlar. Bu olay, saniyeler içerisinde oluşarak kanamayı durdurur bu olaya Primer Hemostaz denir.

2. Pıhtılaşma: Sekonder hemostaz ile sağlanır. Trombositler pıhtılaşma faktörlerini aktive ederken trombin de trombositleri uyarır.⁶¹ Hageman Faktörü kompleman ve kinin sistemlerini uyarır. Ayrıca membran hasarı da Araşidonik Asit yolunu başlatır. Böylece ortama salınan kemotaktik ve vasoaktif düzenleyiciler birkaç dakika süren arterioller vasokonstruksiyona yol açar. Bunu aktif vasodilatasyon izler.⁶² İntrinsik ve Ekstrinsik pıhtılaşma yollarının son ürünü olan Fibrin, oluşan tıkaçı sağlamlaştırarak tam hemostazı sağlar. Pıhtı içerisinde hapsolan

trombositlerin yoğun olan granüllerinden salgılanılan ADP agregasyonu kolaylaştırırken, serotonin, histamin ve bradikinin ile birlikte damar geçirgenliğini artırır.⁶³

Alfa granüllerinden salınan çeşitli büyüme faktörleri (TGF-Beta, PDGF, PFIV) ise inflamasyon hücrelerini kendilerine doğru çekerler.

3. Erken İnflamasyon: Komplemanın klasik yoldan aktivasyonu ile birlikte inflamasyon fazı başlar ve yara 24–48 saat içinde granulositler tarafından işgal edilir. Bu hücreleri kompleman ürünlerinden C5a, bakteri kökenli peptid ürünleri ve TGF-Beta yara bölgesine çeker. Granulositler bitişik damar endotelial hücrelerine marjinaliyasyon ile tutunarak diapedes ile aktif olarak ilerlerler. Ana işlevleri bakterileri ve yabancı debrisini yaradan uzaklaştırarak enfeksiyonu önlemektir.

4. Geç İnflamasyon: Dolaşımdaki monositler yara içine girdikten sonra makrofaj şekline dönüşürler ve 48–72 saat içinde baskın hücre grubunu oluştururlar. Yara iyileşmesindeki anahtar hücrelerdir. Kompleman, pıhtılaşma bileşenleri, Ig G fragmanları, kollagen ve elastin yıkım ürünleri, sitokinler makrofajları kendilerine çekerler. T lenfositleri bu aşamada yaraya giren en son hücre grubudur (72 saatten sonra). İnterlökin 1, İg G ve kompleman ürünleri tarafından yaraya çekilirler. Salgıladıkları lenfokinlerden İnterferon gamma'nın endotel üzerinde bağışıklık düzenleyici etkisi vardır. Çeşitli lenfokinlerin fibroblast birikimi ve kollagen sentezi üzerine hem uyarıcı hem de engelleyici etkileri vardır.⁶¹

5. Fibroblast Göçü / Kollagen Sentezi: Fibroblastlar büyüme faktörlerinin uyarıları ile ekstrasellüler matriks içinden yaraya doğru göç ederler. Pıhtıdaki fibrin, fibronektin ve kollagen liflerine yapışarak çoğalırlar. Fibronektin boyunca ilerleyerek yarayı çaprazlarlar ve kollagen sentezi için bir ağ oluştururlar. Yedinci günde yaradaki baskın hücre grubunu oluştururlar. 5–7.ci günde kollagen sentezlemeye başlarlar ve bu 2–3 haftaya kadar doğrusal olarak artar. Yüksek laktat düzeyi, yeterli oksijen düzeyi, TGF – Beta kollagen sentezini uyarır.⁶⁰

6. Angiogeneiz: Yeni kan damarlarının oluşumudur ve dördüncü günde belirginleşir. Primer uyarıcısı VEGF'dir. Erken dönemde trombositlerce salgılanan

TGF – Beta ve PDGF de dolaylı olarak angiogenezi uyarır. Makrofajlar salgıladıkları TNF-Alfa ve FGF gibi maddelerle angiogenezde de anahtar rol oynarlar. Endotel hücreleri bir kez çoğalınca yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluştururlar. Doku Plasminogen aktivatörü ve kollagenaz, kapiller tomurcuklardan köken alır ve hücrel invazyonun çevredeki kötü vaskülarizasyona sahip doku içine ilerlemesini sağlarlar. Bu yapı diğer halkaları birbirine bağlar ve yeni bir kapiller yatak oluşturur. Eritrositler ve plasma, yeni mikrodamarlarda dolaşmaya başlar. Erişkin bir organizmada fizyolojik anjiogenez menstruel siklus sırasında uterin epitelin yenilenmesinde, ovum ve korpus luteum şekillenmesinde hatta spermatogenezde de gözlenmektedir. VEGF ve diğer angiogenik maddelerin üretimi onarım kaskadlarında epidermal ve internal yaralarla, kemik kırıklarında önem göstermektedir. Geçmişteki “yeni damar oluşumunun embriyolojik dönemle sınırlı kaldığı görüşü”nin aksine kemik iliği ve periferik dolaşımdaki kök hücre/endotelyal hücre öncüllerinin etkisiyle İskemik dokularda neovaskülarizasyonun oluştuğunu gösteren birçok çalışma vardır.

7. Epitelizasyon: Epitel hücrelerinin mitozu 48–72.ci saatlerde başlar. Epitelizasyonu düzenleyen en güçlü büyüme faktörü EGF’dir. Yara temiz ise, basal lamina sağlamsa ve yara nemli tutulmuşsa epitelyal örtü hızı artar. Kısmi kalınlıklı yaralarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma olurken, tam katlı yaralarda epitel yalnızca yara kenarlarından ilerler.

Epitel regenerasyon basamakları:

1. Basal hücrelerin mobilizasyonu
2. Hücrelerin zedelenen alana göçü
3. Göç eden hücrelerin mitozu
4. Yara alanındaki boşluk dolup hücreler birbirlerine temas edince göç ve mitozun bitmesi, hücrel farklılaşmanın tamamlanması.

Yeni oluşan epitel hiçbir zaman normale dönüşemez. Epitelyal hücrelerin yara üzerindeki hareketi 24 saatte birkaç milimetredir.

8. Olgunlaşma (remodelasyon) fazı: Kollagen yapım ve yıkımı ekstrasellüler matriks remodelasyonu ile birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit bir dengeye ulaşır. Kollagen yıkımı fibroblastlar, granulositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları tarafından sağlanmaktadır. Bu enzimler TGF-Beta tarafından inhibe edilir. Kollagen miktarı, çapraz bağlanma yoğunluğu ve yapım-yıkım arasındaki denge yaranın gücünü belirler. Erken dönem yara iyileşmesinde çoğunlukla embriyonik Tip III kollagen bulunurken, normal deri oranı olan 4/1 = Tip I / Tip III oranı elde edilene kadar Tip I ile yer değiştirir. Olgunlaşma fazının süresini hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi ve inflamasyon periyodunun süresi yoğunluğu gibi çoklu değişkenler belirler. Yeniden şekillenme hiçbir zaman normal eski haline benzemez. Deri ve fasya ancak normal gücünün %80'ine ulaşabilir.

2.5. YETERSİZ YARA İYİLEŞMESİ

Diabet olgularında fagositoz ve iltihabi hücre göçünde ortaya çıkan bozukluklar iyileşmeyi bozarak infeksiyonlara yol açmaktadır. Ayrıca fibroblast ve endotel hücre çoğalması ile epitelizasyonda bozukluklar, kollagen birikimi ve yara gücünde azalma görülmektedir. Bundan hipergliseminin değil insülin eksikliğinin sorumlu olduğu gösterilmiştir. Nöropati ve vasküler sorunlar da iyileşmeyi kötü etkilemektedir. Travma ve buna eşlik eden beslenme bozuklukları katabolik ortam yaratarak iyileşmeyi olumsuz etkiler. Bu hastalarda glukoneogenez ve erken hiperglisemi gelişerek negatif azot, potasyum ve fosfor dengesi ortaya çıkar. Ayrıca serum serbest yağ asidi derişiminde artış ve ketozis, sodyum klorür ve su tutulumu, askorbik asit, tiamin, riboflavin, nikotinamid ve vitamin A düzeylerinde düşüş, çinko, bakır ve demir düzeylerinde eksiklik oluşur.

Protein eksikliği inflamatuvar faz, angiogenez, matriks oluşumu ve remodelasyonu olumsuz etkiler. Uzun süre intravenöz beslenen hastalarda esansiyel yağ asidi eksikliklerinin de iyileşmeyi geciktirdiği gösterilmiştir.

Vitamin A fibroplazi, kollagen çapraz bağlanması ve epitelizasyonu uyarır. Vitamin C kollagen sentezinde lizin, prolinin hidroksilasyonunda kofaktördür. Nötrofil süperoksit yapımı ve bakterilerin yok edilmesinde gereklidir. Her ikisinin eksikliğinde de yara iyileşmesi bozulur.

Çinko, protein sentezinden sorumlu RNA ve DNA polimerazı da içeren birçok enzim sisteminde kofaktördür. Bakır ise kollagen liflerinin çapraz bağlanmasından sorumludur. Eksikliklerine seyrek olarak rastlanılabilir.

İyonize radyasyonun deri ve yara iyileşmesi üzerine zararlı etkileri deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Bu etki yüksek enerjili elektronların DNA'yı hasarlaması sonucu oluşmaktadır. Hızlı bölünen hücreler en fazla etkilenirler.

Steroidler Araşidonik Asit ürünlerinin salınımını ve makrofaj göçünü engelleyip, nötrofil ve lenfositik T hücre işlevini bozarak inflamasyon basamağını belirgin olarak etkiler. Ayrıca prokollagen sentezini engelleyerek yara kontraksiyonunu, epitelizasyon ve angiogenezi geciktirir. Yapılan çalışmalarda steroidin antiangiogenetik etkinliği olduğu gösterilmiştir. Vitamin A'nın bu etkileri tersine çevirdiği gösterilmiştir. Kronik olarak steroid kullanımı mevcut hastalarda dermislerinde incelme ve kollagen miktarında azalma gözlenilir.

Yaş etkeninin de yara iyileşmesinde önemli olduğu gösterilmiştir. İltihabi yanıt da yaşla birlikte azalır. İyileşme basamakları geç başlayıp yavaş seyreder ve hiçbir zaman genç yaş grubu düzeyine ulaşamaz.

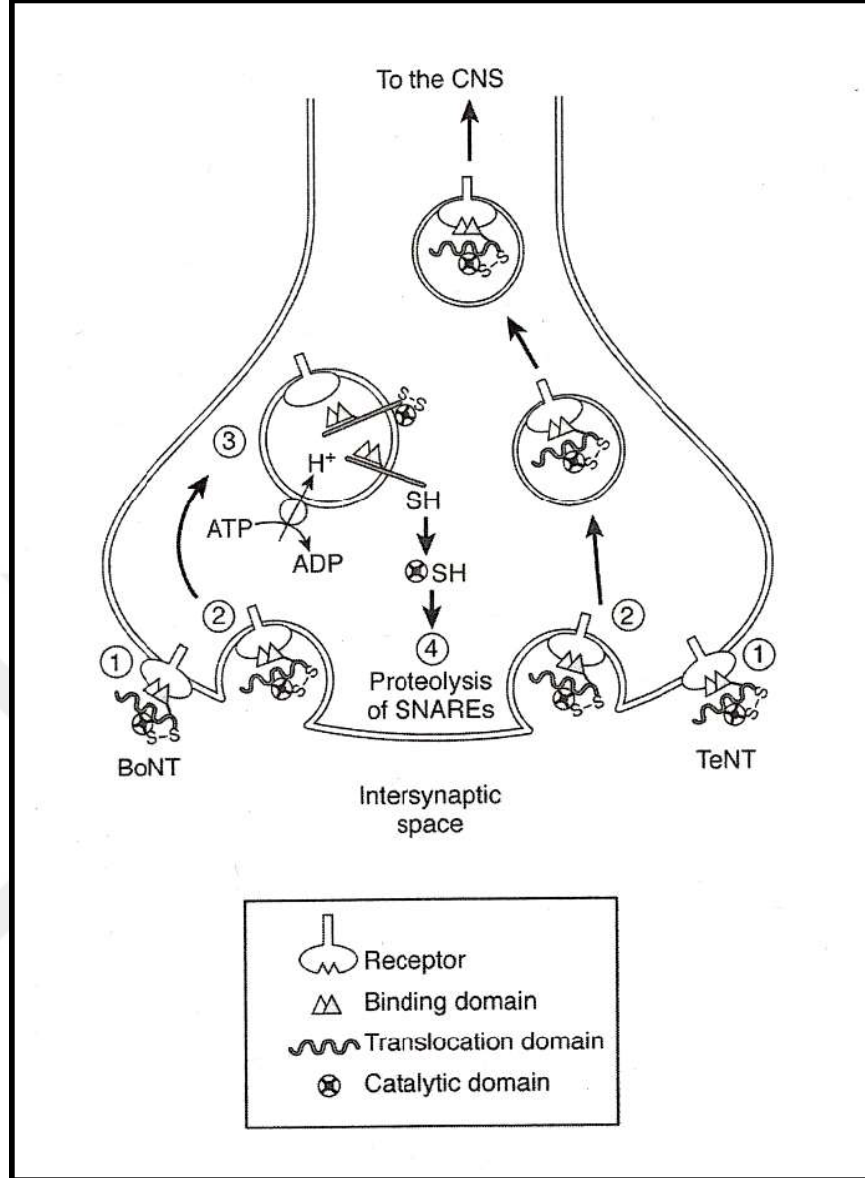
İskemi, granülasyon dokusu ve ekstrasellüler matriks sentezini ciddi şekilde bozar. Yara iyileşmesi sırasında oksijen gereksinimi normal dokuya göre çok artmıştır. Nötrofillerin oksijene bağımlı olması nedeniyle infeksiyonlara eğilim artar. İskemiye yol açan etkenler arasında ateroskleroz, diyabet, vaskülit, kronik ülserlerdeki aşırı fibrozis, ağır anemi, bağ dokusu hastalıkları ve radyasyon sayılabilir.

2.6. BOTULİNÜM TOKSİN A

Clostridium ailesinin iki ana ögesi, temel yapı ve fonksiyonel özellikleri benzerlik gösteren Clostridium Tetani ve Clostridium Botulinum'dur. Cl. Tetani merkezi sinir sistemi üzerine, Cl. Botulinum ise periferik sinir sistemi üzerine etkilidir. Botulinum toksin (BTX), sporlu, gram (+), anaerob Clostridium botulinum'un ekzotoksinidir. BTX'in A, B, C1, D, E, F ve G olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur. Botulinum sporları kaynadıktan sonra bile yaşamını sürdürebilmekle beraber, serbest toksin 80°C (176°F)'nin üzerinde, 10 dakikadan fazla tutulduğunda veya 7'nin üzerindeki pH değerlerinde kolayca ortadan kaldırılabilir. İnfantil (intestinal) botulizm, besin (klasik) botulizmi, yara botulizmi, inhalasyonel botulizm ve iatrojenik botulizm olmak üzere beş tip insan botulizmi vardır. İnfant botulizmi, yutulan sporelerden, kalın bağırsaklarda açığa çıkan toksinler ile oluşur. Besin botulizmi, kontamine yiyeceklerden; yara botulizmi, infekte yara kaynaklarından gelişir. İnhalasyonel botulizm, biyolojik silahlanmanın bir sonucu olarak üç olguda rapor edilmiştir. İatrojenik botulizm ise terapötik BTX'in lokalize yada generalize kas güçsüzlüğüne sebep olmasıdır ve literatürde iki olguda bildirilmiştir.²²

2.6.1. Yapısal Özellikleri ve Etki Mekanizması

Botulinum nörotoksinleri 150 kd inaktif polipeptidler şeklinde bulunup, tripsin benzeri bakteriyel proteaz tarafından aktif forma dönüştürülür. 100 kd ağır zincir ve 50 kd hafif zincir, ısıya duyarlı disülfid bağlarıyla birarada tutulurlar. Isı ile ağır ve hafif zincirler ayrışır²³ ve nörotoksin inaktive olur. Bütün serotipler, periferik sinir sisteminde, nöromusküler bileşkenin presinaptik terminallerinden, asetilkolin serbestleştirilmesini inhibe ederek, gevşek bir paraliziye sebep olurlar.²³ (Resim 2.9)



Resim 2.9. Botulinum toksin A'nın etki mekanizması

Nörotransmitter salınımının inhibisyonu: Synaptobrevin (VAMP=Vesicle-associated membrane protein), SNAP-25 (25 kd synaptosome-associated protein) ve syntaxin'den oluşan aktif SNARE kompleksinin varlığında, asetilkolin taşıyan veziküllerin hücre membranı ile birleşerek, içerdiği asetilkolini nöromusküler kavşağa veya ekrin bezlerin otonomik boşluklarına bırakması gereklidir. BTX varlığında, hafif zincir, çinko bağımlı endopeptidaz aktivitesi ile proteolitik etkinlik

kazanarak, asetilkolin veziküllerinin ekzositozundan sorumlu membran proteinlerini parçalar ve asetilkolin salınımını engeller.

2.6.2. Doz Önerileri ve Saklama Koşulları

BTX-A en önemli serotip olup, Avrupa’da Dysport® (Ipsen; Maidenhead, UK), Neuroblock® (Elan Pharmaceuticals) and Botox® (Allergan; Irvine, Calif.) ticari isimleri ile bulunmaktadır. Sonradan FDA onayı alan BTX-B ise Myobloc® ticari adıyla satışa sunulmuştur. 1 ünite (U) yada mouse unit (MU), periton içerisine enjeksiyon sonrası, 18–22 gr dişi Swiss-Webster farelerinin % 50’sini öldürebilecek doz olarak belirlenmiştir. 1 Botox® ünitesi, yaklaşık 4 Dysport® ünitesine ve 60–75 Myobloc® ünitesine eşdeğerdir (41). 70 kg ağırlığındaki bir kişi için LD50 (median lethal dose) 2500–3000 U Botox olup spastisite tedavisi amacıyla kullanılan en yüksek doz ise 400 U’dur (44,45). Yüzde mimik kırışıklıklar için kullanılan en yüksek Botox® dozu, her bir seans için 60 U’dur ²⁴. Botulinum toksinin tedavi edici doz aralığı oldukça geniştir ve sistemik toksisite olasılığı çok düşüktür²⁵. Ancak kaza ile zehirlenme yada yüksek doza maruz kalınması durumunda, 24 saat içinde antitoksin verilmesi gerekmektedir.²⁶Yüz bölgesinde BTX-A uygulamalarında, hayatı tehdit eden allerjik ya da ürtikeryal reaksiyonlar bildirilmemiştir. Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında, uzun dönemde, immunojenik, karsinojenik ve diğer potansiyel zararlı yan etkiler tespit edilmemiştir²⁶. Botox® -5 °C, Dysport® + 2–8 °C’de saklanmaktadır. Sulandırıldıktan sonra her ikisi de + 2–8 °C’de aseptik şartlarda korunmalıdır ²⁷. Sulandırılan Dysport® preparatlarının 8 saat içinde tüketilmesi önerilir. +4°C’de saklanan sulandırılmış Botox® preparatlarının aktivitesi 1. günün sonunda %90–100, 3. gün % 70–80, 7. gün % 40–50, 14. gün minimal olarak bulunmuştur.²⁶Sulandırılmış Botox® flakonlarının tekrar dondurulmasının, toksin aktivitesini korumada bir avantajının olmadığı görülmüş ve +4°C’de 24 saatten az saklanmasının en uygun olduğu kabul edilmiştir.

2.7. SIÇAN DERİSİNİN ANATOMİSİ

Epidermis göreceli olarak ince olup, kalınlığı ortalama 22–23 mikrometredir. Vücut alanının tamamına yakın kısmı kıllar ile kaplıdır. Stratum bazale, stratum spinosum, stratum granülozum ve stratum korneum tabakaları belirgin olup stratum lusidum tabakası yoktur.²⁸

Dermis yüzeyel papiller ve derin retiküler tabakalardan oluşur. Kıl folikülleri, kan damarları ve yağ bezleri retiküler tabaka içinde, retiküler tabakanın altındaki bazal membranın hemen üzerinde bulunurlar. Siçan dorsum derisi altında panniculus carnosus denilen kas tabakası ve damardan zengin fascia vardır. Dorsum derisinin bağ dokusu lifleri ve yağ dokusu içeriği ventral deriden azdır. Yağ dokusu ve kapillerler özellikle kıl folikülleri etrafında yoğun olarak bulunurlar.

2.7.1. Siçan sırt derisinin arteriyel kanlanması

Sırt derisi, muskulokutan perforatör arterler ve aksiyel arterler ile kanlanır. Muskulokutan perforatör arterlerin bilinen belirli bir anatomik yeri yoktur. Sırtta bulunan aksiyel arterler, kraniyalde sağ ve sol torakodorsal arterler, kaudalde orta sakral arter ve dallarıdır.²⁸

McFarlane flebi ile yapılan çalışmalarda flep boyutları 2x7 cm ile 5x10 cm arasında değişmektedir. Bu flep modelinde hiçbir tedavi uygulanmaması durumunda distal %25–50 kadarının nekroza gittiği bilinmektedir.^{29,30}

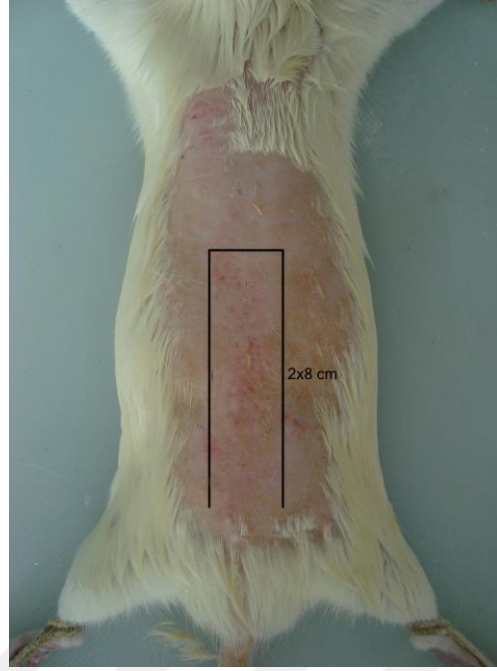
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEKLER

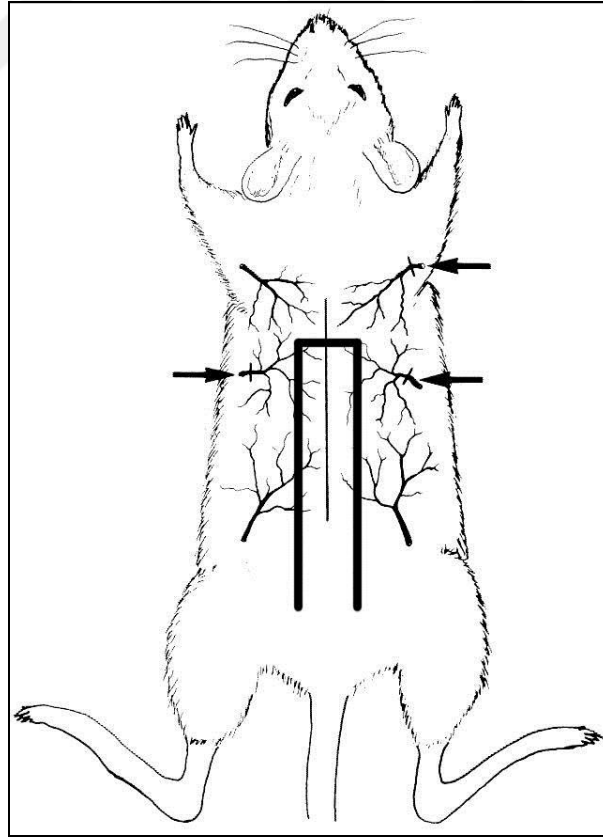
Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinden sağlanan 240–260 gram ağırlığında, Wistar albino cinsi, 18 adet erkek rat kullanıldı. Çalışma süresince tüm ratlar aynı odada tutuldu ve aynı yemlerle beslendi.

3.2. DENEYSEL PROTOKOL

Ratlara cerrahi uygulama yapmak için 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Eczacıbaşı) ve 5 mg/kg xylazin hydrochlorid (Rompun® flakon, Bayer) intraperitoneal olarak verilerek anestezileri sağlandı. Ratların sırtlarında random fleplerin kaldırılacağı bölgedeki kıllar tıraş edildi. Denekler yüzükoyun pozisyonunda yere yatırıldı. Cerrahi saha polyvinylpyrrolidone solüsyon (Batticon® solüsyon Adeka) ile dezenfekte edildi. Bütün gruplarda cerrahi işaretleme kalemi kullanılarak ratların sırtlarında alt sınırı iliac crest hizasında olacak biçimde, kaudal pediküllü dikdörtgen şeklinde ve 2x8 cm boyutlarında random fleplerin çizimi yapıldı. (Resim 3.1, 3.2)



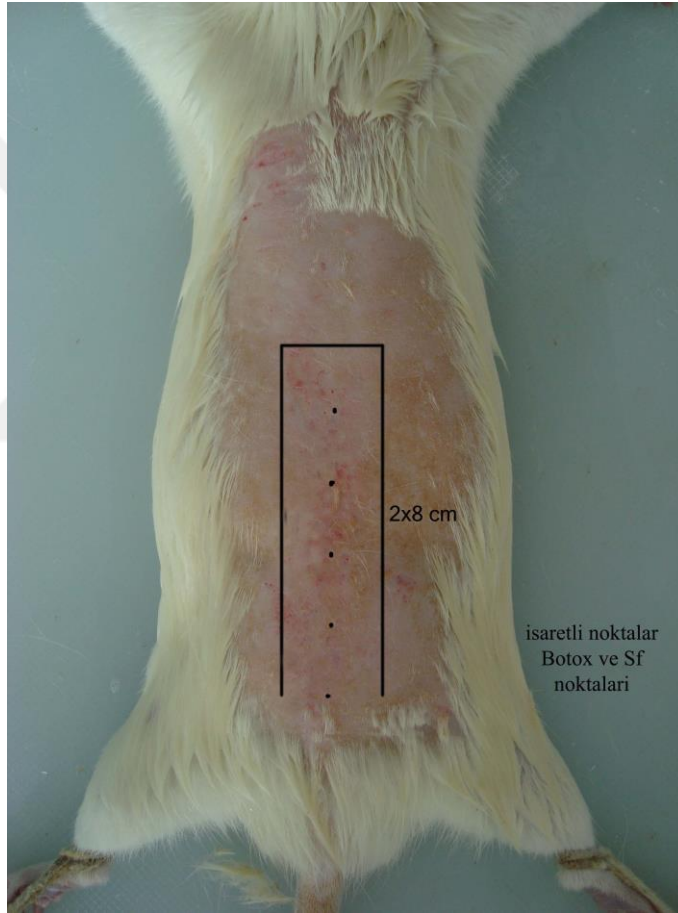
Resim 3.1. Flep kaldırılması planlanan alanın temsili görüntüsü.



Resim 3.2. Kaudal bazlı flebin kaldırılmasıyla kesilen damarlar gösterilmiştir.

3.3. KULLANILAN İLAÇLAR

Botulinum Toksin A (Botox®-Allergan; Irvine, Calif.)'nın 100 ünitelik flakonlarına 5 cc %0,09'luk NaCl eklenecek ve her bir 0,1 cc'de 2 ünite Botox elde edilecektir. İlaç uygulanan grupta flep kaldırılmadan 5 gün önce 1,5 cm aralıklarla işaretlenmiş noktalara her noktaya 0,1cc Botox® verilecek şekilde intradermal enjeksiyon yapılacaktır (Resim 3.3, 3.4).



Resim 3.3. Rat sırtından planlanan flebin ve enjeksiyon noktalarının temsili gösterimi



Resim 3.4. Flep kaldırılmadan 5 gün önce yapılan intradermal enjeksiyonun gösterilmesi

3.4. ÇALIŞILAN MODEL

Ratlarda random dolaşım özelliğine sahip, sırt bölgesinden hazırlanan, kaudal tabanlı McFarlane'in dikdörtgen şekilli flebi $\frac{1}{4}$ en boy oranı gözetilerek 2x8 cm'lik flep modeli oluşturuldu.

3.5. DENEKLERİN GRUPLANDIRILMASI

Ratlar her grupta n=6 olacak şekilde 3 gruba ayrıldı

I Grup: Kontrol grubu olarak çalışmaya alındı, bu gruptaki ratların sırtından kaudal bazlı 2x8 cm boyutlarında random paternli flepler kaldırıldı ve tekrar yerine dikildi. (Resim 3.5a,b)

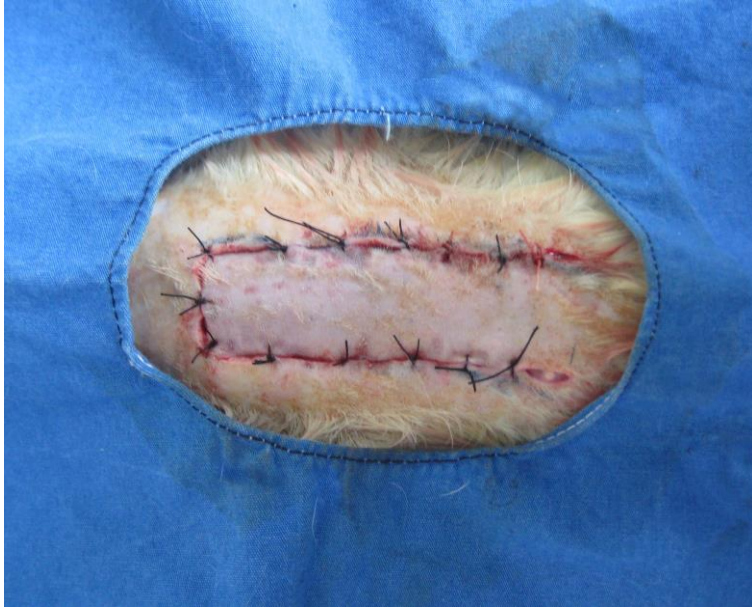
II Grup: İlaç uygulanan grup (Botox® grubu) olarak çalışmaya alındı, bu gruptaki ratların sırtında kaldırılacak olan kaudal bazlı flep (2x8 cm boyutlarında) cerrahi kalem ile çizildikten sonra flep bazisinden distale doğru 1,5 cm arayla

intradermal olarak toplamda 0,5 cc Botox® enjeksiyonu yapıldı. Beş gün bekledikten sonra flepler kaldırıldı ve tekrar yerine dikildi.

III Grup: %0,09 NaCl grubu olarak çalışmaya alındı. Bu gruptaki ratların sırtında kaldırılacak olan kaudal bazlı flep (2x8 cm boyutlarında) cerrahi kalem ile çizildikten sonra flep bazisinden distale doğru 1,5 cm arayla intradermal olacak şekilde 0,5 cc %0,09 NaCl enjeksiyonu yapıldı. Beş gün bekledikten sonra flepler kaldırıldı ve tekrar yerine dikildi.



Resim 3.5a. Kaudal bazlı flebin tamamen kaldırılmış olduğu görülmekte



Resim 3.5b. Tekrar yerine suture edilmiş flebin görüntüsü

Ameliyatı takip eden 3 gün boyunca günde bir kez polyvinylpyrrolidone solüsyon ile cerrahi alanlara pansuman yapıldı. Tüm deneyler süresince deneklerden hiç ölen olmadı. Cerrahi yapılan alanlarda enfeksiyon gözlenmedi.

3.6. FLEPLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Fleplerin durumları günlük olarak izlendi. Tüm gruplarda postoperatif 2. günde flep distalinde renk değişikliği gözlemlendi. Postoperatif 4. günde flep distallerinde demerkasyon hattı belirginleşmeye başladı. Postoperatif 7. günde eskar alanları tamamen belirginleşti.

Fleplerin değerlendirilmesi postoperatif 7. günde yapıldı. Değerlendirme yapmak için ratlara 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon Eczacıbaşı) ve 5 mg/kg xylazin hydrochlorid (Rompun® flakon Bayer) intraperitoneal olarak enjekte edilerek anestezileri sağlandı. Daha sonra her bir rata 0,5 ml fluorescein sodyum (Fluorescite® ampül, % 10, Alcon) intraperitoneal olarak enjekte edildi. Flepler 20 dakika sonra wood lambası altında, fluoresceinin floresansı ile değerlendirildi. Asetatlı kâğıt üzerine fleplerin yaşayan ve nekroz olan kısımları işaretlendi ve alanları hesaplandı.

Deney işlemleri tamamlandıktan sonra tüm ratlar intraperitoneal olarak verilen yüksek dozda (100 mg/kg üzerinde) pentobarbital ile sakrifiye edildi.

4. BULGULAR

4.1. FLEPLERİN YAŞAYAN VE NEKROZ ALANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Toplam 3 grup halinde çalışmaya alınan ratların sırtlarından kaldırılan random fleplerin yaşayan ve nekroza giden alanlarının hesaplanması, şeffaf asetat kâğıdı üzerine flep boyutu ve nekroz olan alanlar kopyalandıktan sonra bu asetat kâğıdının milimetrik kâğıt üzerine yerleştirilmesi ile hesaplanmıştır. Yaşayan ve nekroz olan flep alanı cm^2 olarak hesaplandı. (Tablo 4.1’de klinik değerlendirme sonuçları görülmektedir)

Tablo 4.1. Üç farklı grubun klinik değerlendirme sonuçları

			Yaşayan alan (cm ²)	Nekroze alan (cm ²)	Yaşayan alan (%)	Nekroze alan (%)
ilaçlar	Kontrol	1	3,02	11,52	20,77	79,23
		2	7,52	8,04	48,32	51,68
		3	5,98	8,72	40,68	59,32
		4	7,32	7,68	48,80	51,20
		5	7,78	6,57	54,21	45,79
		6	7,76	7,23	51,76	48,24
	Botulinum toksin A	1	11,78	3,01	79,64	20,36
		2	11,14	4,24	72,43	27,57
		3	7,66	7,54	50,32	49,68
		4	9,60	5,35	64,21	35,79
		5	11,92	3,21	78,78	21,22
		6	10,93	4,53	70,69	29,31
	Serum Fizyolojik	1	4,02	10,65	27,40	72,60
		2	5,16	9,57	35,03	64,97
		3	6,42	9,32	40,78	59,22
		4	7,15	7,65	48,31	51,69
		5	7,12	8,25	46,51	53,49
		6	7,02	6,08	53,58	46,42

4.2. İSTATİKSEL ANALİZ

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 17® programında yapıldı. Gruplar arasında canlı kalan flep alanı, tüm flep alanına olan oran ortalamaları yönünden farkın anlamlılığı, Kruskal Wallis testiyle değerlendirildi. Yapılan değerlendirmelerde $p<0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.3. KLİNİK BULGULAR

Kontrol grubunda nekroze olan flep alanları %45,79 ile %79,23 arasında değişmekteydi ve ortalama nekroz alanı % 55,91, ortalama canlı alan %44,09 olarak tespit edildi. (Resim 4.1)



Resim 4.1. Flebin distalinin yaklaşık % 50'sinden fazlasının nekroz olduğu görülmekte.

Botox grubunda nekroze olan flep alanları %20,36 ile %49,68 arasında değişmekteydi ve ortalama nekroz alanı %30,66, ortalama canlı alan %69,35 olarak tespit edildi. (Resim 4.2.)



Resim 4.2. Flebin distalinde minimal nekroz görülmekte.

Serum fizyolojik grubunda nekroze olan flep alanları %46,42 ile %72,60 arasında değişmekteydi ve ortalama nekroz alanı %58,07, ortalama canlı alan %41,94 olarak tespit edildi. (Resim 4.3)



Resim 4.3. Flebin distalinin yaklaşık % 50'sinden fazlasının nekroz olduğu görülmekte.

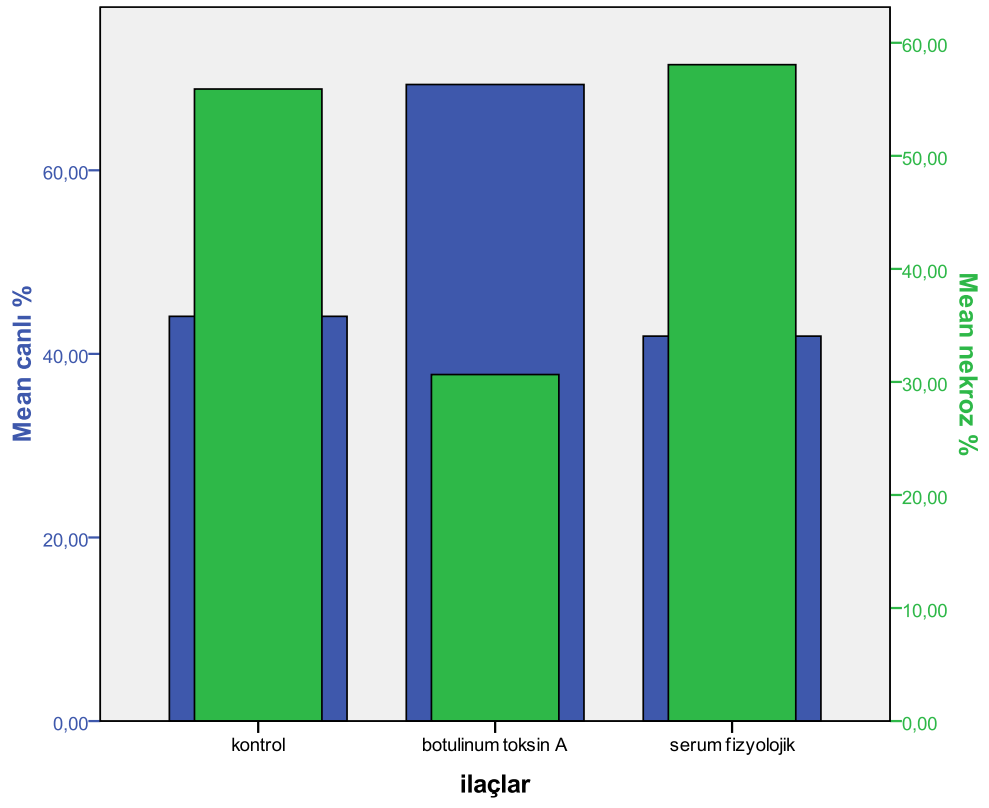
4.4. İSTATİSTİK ANALİZİ

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 17[®] programında yapıldı. Gruplar arasında canlı kalan flep alanı, tüm flep alanına olan oran ortalamaları yönünden farkın anlamlılığı, Kruskal Wallis testiyle değerlendirildi. Yapılan değerlendirmelerde $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Botox grubu yaşayan ve nekroz olan alanlar açısından cm^2 olarak $p = 0,004$ olup $p < 0,05$ olduğu için, kontrol grubu ve SF grubuna göre istatistikî olarak anlamlı kabul edildi. SF grubu ve kontrol grubu arasında yaşayan ve nekroz olan alanlar açısından fark anlamlı kabul edilmedi.

Tablo 4.2’de her gruptaki fleplerin ortalama yaşayan alanı, nekroz alanı cm² ve %de olarak, Grafik 4.1’deki histogramda ise ortalama canlı ve ortalama nekroz alanlarının yüzdesi gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Grupların istatıksel karşılaştırılması

Gruplar	Yaşayan alan (cm ²)	Yaşayan alan (%)	Nekroz alan (cm ²)	Nekroz alan (%)
Kontrol (n=6)	6,56±0,55	44,09±3,68	8,29±0,51	55,91±3,68
Botox (n=6)	10,50±0,54* (p=0,004)	69,35±3,7* (p=0,007)	4,65±0,50* (p=0,004)	30,66±3,7* (p=0,007)
Serum Fizyolojik (n=6)	6,14±0,60	41,94±4,05	8,59±0,53	58,07±4,05



Grafik 4.1. Mavi boyalı alanlar ortalama canlı alanı %'de olarak gösterirken, Yeşil boyalı alanlar ortalama nekroz alanını %'de olarak göstermektedir.

5.TARTIŞMA

Random deri flepleri, teknik olarak basit olmasından dolayı cilt defektlerinin örtülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu fleplerin damarlanmasının tahmin edilememesinden dolayı bazen flebin distal bölümünde parsiyel flep nekrozu ile karşılaşmaktadır. Bir komplikasyon olarak karşılaşılan flep nekrozları ek cerrahi girişimlere, hastanede kalış süresinde uzamaya ve tedavi masraflarının artmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı, random deri flep distalinin yaşayabilirliğini artırmak klinik olarak önemli bir hedeftir.^{18,31,32}

Flep nekrozlarının önlenmesine yönelik olarak yapılan deneysel çalışmalarda çeşitli flep modelleri kullanılmaktadır. Bu çalışmaların çoğunda ratlar kullanılırken, domuz ve tavşanların kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur. Bazı avantajlarından dolayı random paternli deri flepleri daha çok ratların sırtlarında hazırlanmaktadır. Flebin sırt bölgesinde olması yara yerinin enfeksiyonlara karşı korunmasını ve flep takibinin kolayca yapılmasını sağlama gibi avantajlara sahiptir. Ratlarda kullanılan dorsal deri flep tekniğini McFarlane ve arkadaşları 1965 yılında tanımlamışlardır. Deneysel çalışmalarda kullanılan fleplerin boyutları farklı ölçülerde planlanıp modifiye McFarlane tekniği olarak kullanılmaktadır. Bizim bu çalışmamızda pek çok çalışmada kullanılan 2x8 cm boyutu kullanılmıştır. Bu flep ve bu boyutlar seçildiğinde normalde flebin yarısından fazlası nekroz olmaktadır. Bu yüzden flep yaşamının artırılması için yapılan çalışmalarda ideal bir model olmaktadır.^{33,34}

Flep dolaşım fizyolojisindeki en önemli etken, *nöronal* ve *humoral* faktörler tarafından kontrol edilen derideki kan akımıdır. Bu iki etken içerisinde *nöronal* faktörler daha önemli bir rol oynar. Nöronal sistem; sempatik adrenarjik vazokonstriktör sistem ve sempatik non adrenarjik vazodilatör sistem tarafından kontrol edilir. Humoral sistem içerisinde vazokonstriktör etkili epinefrin, norepinefrin, serotonin, tromboksan ve Prostaglandin F2a yer alırken vazodilatör olarak da Prostaglandin E1, prostoglandin I2, histamin, bradikinin, nitrik oksit, lökotrien C4 ile lökotrien D4 yer almaktadır.⁴

Deri flebinin distal parçasının beslenmesi tamamen proksimalden gelen kan akımına bağımlıdır. Flep tabanından flep distaline doğru gidildikçe iskeminin düzeyi giderek artar.³⁵ Kerrigan 1983 yılında deri fleplerinin yaşayabilirliğini belirleyen esas faktörün arteriyel yetmezliğin sebep olduğu iskemi olduğunu söylemiştir.⁶⁴ Flep distalinin yaşayabilirliği, flep kaldırıldıktan sonraki kritik ilk 12 saat esnasında yeterli kan akımına bağımlıdır. Flep kaldırıldıktan hemen sonra vazokonstriksiyon olmaktadır, bu muhtemelen adrenalin ve NA nedeniyle, belki de TXA₂ ve Prostaglandin F_{2α} gibi araşidonik asit türevlerinden olmaktadır.¹⁸ Flep elevasyonu esnasında damarların kesilmesi perfüzyon azalmasına neden olur. Flebin kenarları ve çevresi kesilirken vasküler endotelde meydana gelen mekanik hasar intravasküler tromboz oluşumunu artırır. Hasara uğramış endotel trombositlerin agregasyonuna ve intravasküler tromboz oluşumuna yol açmaktadır. Bu olaylar sonuçta flep nekrozuna yol açabilmektedir.

Suzuki ve arkadaşları 1989 yılında random flep modelleri kullanarak deri kan akımında başlangıçta dikkate değer bir azalma olduğunu, ancak operasyonu izleyen 24 saatte önemli miktarda artış olduğunu göstermişlerdir. Pearl 1983 yılında başlangıçtaki hiperadrenerjik durumun kapiller yatakta geçici olarak kan akımında durmaya yol açtığını,⁶⁵ devamında vazodilatasyon ve reperfüzyon olduğunu göstermiştir. Flepteki iskemi nedeniyle hücrelerde oluşan anaerobik metabolizma sonucunda hücre içinde serbest radikaller artmaktadır. Bundan dolayı random fleplerde iskemik olayların toksik oksijen radikallerinden kaynaklanan iskemi-reperfüzyon hasarına neden olabileceği dikkate alınmalıdır. Serbest oksijen radikalleri ve nötrofil lökositlerin artışı doku hasarında önemli rol oynar, sonuçta tam veya parsiyel flep nekrozuna yol açabilirler. Im ve arkadaşları 1985 yılında serbest radikallerin mikrovasküler yapı bütünlüğünde yaptığı hasarın ve hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonunun doku nekrozuna sebep olduğunu söylemişlerdir.^{18,32}

Akut ve geciktirilmiş fleplerde otonomik innervasyondaki değişimler gösterilmiştir. Palmer (1970), akut rat deri fleplerinde sempatik transmitterlerin olup olmadığını ölçmek için histoflouresan katekolamin boyama tekniğini kullanmış. Katekolaminlerin kayboluşu cerrahi insizyondan 18 saat sonra başlayıp 30 saatte tamamlanmaktadır. Reinnervasyon sinyali olarak kabul edilen katekolaminlerin

tekrar toplanmaya başlaması ise postoperatif 4- 8 hafta civarında olmaktadır. Sempatik sinirlerin zarar görmesi vazokonstrüktör nörotransmitterlerin spontan deşarjına yol açmaktadır. Akut durumlarda, bu mikro damarların hemodinamisinde belirgin bir etkiye sahiptir.⁴

Random fleplerin distal parçasının sağ kalımını artırmak için yeni teknikler ve daha güvenilir metotların araştırılmasına halen devam edilmektedir. Bu teknikler iskemik ve farmakolojik ön hazırlık yöntemleri olmak üzere iki ana kategoriye ayrılabilir. Bunlar arasında çeşitli delay yöntemleri, ardışık iskemi-reperfüzyon uygulamaları, lokal ya da sistemik vazoaktif ilaç uygulamaları sayılabilir.³⁵ Flep kan dolaşımını düzeltmek için kullanılan ilaçlar arasında kan vizkozitesini azaltanlar, eritrosit fleksibilitesini artıranlar, akson blokerleri, alfa reseptör blokerleri ve düz kas gevşeticileri bulunmaktadır. Diğer bazı çalışmalarda iskeminin hücresel etkilerini azaltmada anti-inflamatuar ilaçlar ve serbest oksijen radikallerini temizleyen maddeler kullanılmıştır.^{18,36}

Otonomik sinir sistemini çeşitli düzeylerde bloke ederek etki gösteren akson blokerleri flep yaşayabilirliğini artırmak için kullanılmıştır. İntranöronal depolardan NA boşaltıp sempatik sinir uçlarının etkisini bloke ederek etki gösteren reserpin, 1976 yılında Jurell ve Jonsson tarafından çalışmalarında kullanılmıştır. Bu çalışmada ratlara flep kaldırılmadan üç gün önce ve bir gün önce 1 mg/kg reserpin intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir.⁶⁶ Kontrol grubunda % 41 olan flep sağ kalımının ortalaması reserpin uygulanan grupta % 75 olarak tespit edilmiştir. Aynı yıl yapılan başka bir çalışmada Cutting, Koss ve Robson, 1983 yılında Morain ve arkadaşları ile Hendel, Lilien ve Buncke ayrı iki çalışmada reserpini ratlarda ameliyat öncesinde vererek flep yaşamını arttırdığını belirlemişlerdir. Kennedy, Pistone ve Miller 1979 yılında yaptıkları başka bir çalışmada reserpini flep yaşamında etkisiz bulmuşlardır. Kerrigan ve Daniel'in 1982'de domuzlarda yaptıkları çalışmada reserpini ameliyat sonrasında vermişler ancak yararlı etki görememişlerdir. Sonuçta reserpinin ameliyat öncesi kullanımının yararlı olabileceği söylenilmektedir, ancak ameliyat sonrası kullanımının yararlı olabileceğine ait bilgi mevcut değildir.^{4,66}

Sempatik reseptörler periferik damarlarda alfa reseptörler ve beta reseptörler olarak ikiye ayrılabilir. Alfa reseptör stimülasyonu ile vazokonstriksiyon, beta reseptör stimülasyonu ile vazodilatasyon meydana gelir. Ciltte alfa reseptörler, kasta beta reseptörler daha etkilidir. Flep araştırmalarında genellikle alfa reseptörlerin bloke edilmesi, beta reseptörlerin stimule edilmesi amaçlanmıştır. Fenoksibenzamin flep başarısızlığının tedavisinde kullanılan alfa reseptör blokajı yapan ilaçlardan biridir. Bu ilaç ratlar üzerinde yapılan deneylerde geniş olarak kullanılmıştır. Yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda fenoksibenzaminin ameliyat öncesi verildiğinde flep yaşamını arttırdığı bildirilmiştir.⁴

Fentolamin, ek olarak düz kasları gevşetici etkisi olan bir alfa adrenerejik reseptör blokeridir. Ratlarda 1- 20 mg/ kg dozu kullanılarak dorsal flep modellerinde çalışılmıştır. Barlev ve arkadaşları 1983 yılında yapılan çalışmalarda ilacın flep sağ kalımını artırdığını tespit etmişlerdir.⁶⁷ Smith ve arkadaşları ise 1980 yılında fentolaminin flep yaşayabilirliğini azalttığını gözlemlemişlerdir. Goshen, Wexler ve Peled 1985 yılında topikal olarak uyguladıkları fentolaminin flep sağ kalımını artırdığını görmüşlerdir.⁶⁸

Direkt düz kas gevşetici özelliği olan hidralazin, arteriyoller üzerine venlerden daha fazla etki göstermektedir. Hidralazinin değişik flep modelleri kullanılarak cilt fleplerinin yaşayabilirliğine olan etkileri ratlarda yapılan deneylerde test edilmiştir. Finseth ve Adelberg 1978 yılında⁶⁰, Toomey, Conoyer ve Ogura 1979 yılında, Hendel, Lilien ve Buncke 1983 yılında yaptıkları araştırmalar sonucunda hidralazinin preoperatif olarak kullanılması durumunda flep sağ kalımını artırdığını tespit etmişlerdir.⁴

Random paternli fleplerin sağ kalımların arttırılmasında cerrahi delay yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. Geciktirme yöntemi bir dokuyu iskemik duruma maruz bırakmak yoluyla vaskularitesini arttırma düşüncesine dayanır. Geciktirme işlemine uğratılan flepte yaşam oranı artar, boy / en oranını arttırır ve aksiyel paternli fleplerin daha geniş hacimlerde transferine izin verir. Cerrahi geciktirme işlemi aksiyel paternli fleplerde ilk operasyonda pedikülün bağlanması, random paternli fleplerde ise flebin mekanik olarak boğulması veya uzun aksı boyunca tabanından

ayrılması şeklinde uygulanabilir.³⁷ Özellikle son dönemde yapılan çalışmalar sonucu geciktirme işleminde humoral ve hücrel faktörlerin rol aldığı bilinmektedir.³⁷ Flep elevasyonunu erken döneminde hiperadrenarjik durumun iskekiye yol açan esas etken olduğu bilinmektedir. Hiperadrenarjik dönem sempatik sinirlerin kesilmesi sonucu sinir sonlanmalarında mevcut noradrenalinin açığa çıkmasına yol açmaktadır. Otuz saat kadar sürdüğü düşünülen bu dönem özellikle prekapiller sfinkterlerde vazokonstriksiyona yol açarak flebi iskemik duruma sokmaktadır. Flep ikinci aşamada tekrar kaldırıldığında ise sempatik sisteme ait tonus nörotransmitterlerini kaybetmesinden ötürü vazokonstriksiyona yol açmadığı gibi vazodilatasyonla sonuçlanmaktadır. Bu teori Finseth ve Cutting'in çalışmaları sonucu ortaya konmuştur.^{38, 39} Erken dönem etkilerinin bir diğeri sempatektomiden bağımsız olarak ortaya çıkan direk kan akımı artışıdır. Anatomik çalışmalar sonucunda damarların sayısal ve kalibresel artışın yanı sıra flebin uzun aksı boyunca yeniden dağılımı da ortaya konmuştur.⁴⁰ Anatomik olarak cerrahi geciktirmeye en kuvvetli cevabı veren damarlar flebin distal kısmındaki, yani nekroza gitmesi en muhtemel tarafta oluşmaktadır.

Matsumura ve arkadaşları 2001 yılında ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada random paternli bipediküllü dorsal fleplerin distal parçasına yapılan ön koşullandırmanın etkilerini araştırmışlardır. Bu araştırmada bir grupta distal pediküle klempleme yapılmış diğ er grupta ise distal pediküle lokal olarak adeno zin enjekte edilmiştir. Sonuçta yaşayan flep alanlarının ortalaması kontrol grubunda % 58.12, distal pediküle klemp uygulanan grupta % 65.73 ve lokal adeno zin uygulanan grupta 67.81 bulunmuştur. Her iki grupta yaşayan flep alanları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında flep sağ kalımında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptanmıştır.³¹

Oral olarak verilen L-Argininin deri flep nekrozunu azaltıcı etkisini araştırmak için 2004 yılında ratlar üzerinde bir deneysel çalışma yapılmıştır. Flepler kaldırıldıktan sonra deneklere oral yoldan sekiz gün süreyle L-Arginin verilmiştir. Deney sonucunda kontrol grubunda flep nekrozu ortalaması 11.91 cm² bulunurken, L-Arginin verilen grupta flep nekrozu ortalaması 6.53 cm² bulunmuştur. L-Argininin

bu yararlı etkisi serbest radikal temizleyici, vazodilatör ve anjiojenik özellikte olmasına bağlanmıştır.⁴²

Yüksek derece antioksidan etkisi olan melatonin epifiz bezinden salgılanmaktadır. Melatoninin random deri flep nekrozunda koruyucu etkisini araştırmak için 2004 yılında yapılan bir çalışmada epifiz bezleri çıkarılmış ve çıkarılmamış iki ayrı grup rata intraperitoneal olarak melatonin uygulanmıştır. Melatoninin etkisi için malondialdehit, NO, glutatyon seviyeleri ile süperoksit dizmutaz ve glutatayon peroksidaz aktiviteleri deri fleplerinde ölçülmüştür. Melatonin uygulanan pinealektomize ratlarda diğer gruba göre malondialdehit, NO seviyeleri azalmış, glutatyon, glutatayon peroksidaz ve süperoksit dizmutaz düzeyleri artmış olarak bulunmuştur. Planimetri ile ölçülen flep nekroz oranları karşılaştırıldığında melatoninin fizyolojik ve farmakolojik konsantrasyonlarının deri fleplerinin sağ kalımını anlamlı olarak artırdığı tespit edilmiştir.³²

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) heparin bağlayan glikoproteindir. Hem damar geçirgenliğini artırmaktadır hem de endojen olarak anjiyogenezi uyarmaktadır. Pang ve arkadaşları 2003 yılında ratlarda random fleplerle deneysel bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada kullanılan VEGF'ün anjiyogenezi indükleyerek kontrol grubunda % 66 olan flep sağ kalımını, uygulama grubunda % 89 oranına çıkarmıştır. Zhang ve arkadaşları 2000 yılında ratlarda TRAM flep modeli kullanarak yaptıkları başka bir çalışmada, kontrol grubu dışındaki üç grupta VEGF kullanmışlardır. Birinci grupta TRAM flebi eleve edildikten sonra femoral ven yolu ile VEGF verilmiş, ikinci grupta TRAM flebi eleve edildikten sonra superior epigastrik arter yolu ile VEGF verilmiş, üçüncü gruba ise preoperatif olarak subdermal VEGF enjekte edilmiştir. Deney sonucunda hem ven içine hem de arter içine VEGF verilen iki grupta flep sağ kalım yüzdeleri kontrol grubuna göre anlamlı çıkmamıştır. Preoperatif olarak subdermal VEGF uygulanan grupta ise % 74,4 olarak bulunan flep sağ kalım ortalaması, kontrol grubunun % 28,4 bulunan flep sağ kalım ortalamasına göre anlamlı olarak flep sağ kalımını artırmıştır.^{36,43}

Eritrositlerin fleksibilitesini artırarak mikorsirkülasyondan geçişlerini kolaylaştırdığı düşünülen pentoksifilin deri fleplerinin sağ kalımına etkisini araştırmak için 1994 yılında Williams ve arkadaşları domuzlar üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada deneklere iki hafta süreyle günde 25 mg/kg dozundan pentoksifilin tedavisi uygulandıktan sonra flepler kaldırılmıştır. Çalışma sonucunda fleplerin yaşayan alanlarının ortalaması tedavi uygulanan grupta % 73.2 bulunurken tedavi yapılmayan grupta bu oran % 49.6 olarak bulunmuştur. Flep sağ kalımında görülen artış eritrosit fleksibilitesinin artışıyla ilişkilendirilmiştir.⁴⁴ Pentoksifilin venöz flep sağ kalımına etkisini araştırmak için 2001 yılında yapılan çalışmada ratların epigastrik ada venöz deri flepleri kullanılmıştır. Bu çalışmada ratların her birine intraperitoneal olarak 25 mg/kg dozundan pentoksifilin operasyonu izleyen yedi gün boyunca uygulanmış, ancak sonuçta flep yaşamına yararlı etki gözlenmemiştir.⁴⁵

Literatüre bakıldığında deri fleplerinde yaşayabilirliği artırmayı amaçlayan çok sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir. Deneysel olarak flep yaşam oranlarında artışa yol açan bu ilaçların arasında klinikte rutin olarak kullanılan bir ajan henüz mevcut değildir.

Botulinum toksini A (BTX-A) hücre membranı üzerinde bulunan SNARE proteinlerine bağlanarak etki göstermektedir. Bizim çalışmamızda kullandığımız BTX-A preparatı ise bir SNARE proteini olan SNAP-25 e bağlanır ve nöromusküler bileşkede asetilkolin salınımını bloke eder. Asetilkolin salınımının blokajı, motor nöronlarda ve çizgili kasta geçici felç etkisi yaratmaktadır. Nöromusküler bileşkedeki bu etkinliğin öğrenilmesi sonucu toksin birçok alanda tedavi amacıyla kullanılmaktadır.⁸ Toksin ayrıca parasempatik ve postganglionik kolinerjik liflerden de asetilkolin salınımını inhibe eder. Ki bu etkinliği enjeksiyondan 3-4 gün sonra başlar. Bu etki mekanizması ise düz kasların aşırı çalıştığı akalazya ve hiperhidrozis gibi durumlarda tedavi amacıyla kullanımını olanaklı kılar.⁹ Postsnaptik sinir hücresinden nöradrenalin deşarjıyla etki gösteren sempatik sinir liflerinin uyarılması için presnaptik kolinerjik liflerden asetilkolin deşarjının olması gerekir, ki BTX-A bu etkiyi bloke ederek kimyasal sempatektomiye neden olur.¹⁰

Botulinum toksininin otonom sinir sistemi ve damar düz kaslarına olan etkisi, sempatik vazokonstriktif durumlarda da kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Bu amaçla Sycha ve arkadaşları⁴⁶ BTX-A preparatını Reynaud fenomeni bulunan hastalarda kullandılar. Reynaud fenomeni bilindiği gibi arteryal yetersizlik sonucu gelişen ve epizodik olarak periferik organların iskemisi ile sonuçlanan bir hastalıktır. Mekanizması tam olarak anlaşılmasa da çeşitli tetikleyiciler sonucu anormal sempatik vazokonstriktif hiperaktiviteden şüphelenilmiştir.⁴⁷ Tedavisinde sempatolitik ilaçların kullanılması ve cerrahi sempatektomi uygulanmaktadır.^{48,49} BTX-A'nın presinaptik kolinerjik inhibisyonla nörojenik relaksasyona yol açması ve toksinin tekrarlayan elektriksel uyarılara karşın izometrik arteryal konstriksiyon sıklığını %70–80 oranında azaltması prensibi teorisinden yola çıkan araştırmacılar.⁵⁰ Reynaud fenomeni bulunan hastalarda tedavi amacıyla BTXA kullandılar. Sonuçlar klinik olarak (ağrı, uyuşukluk, soğuk hassasiyeti) ve deri kan akımı lazer doppler flowmetre kullanarak değerlendirdiler. 19 ve 65 yaşlarındaki, tedaviye dirençli 2 kadın hastaya uygulanan BTX-A tedavisi sonucu 1 hafta sonra klinik olarak iyileşme ve 6 hafta sonra deri kan akımında yükselme saptadılar.

Sempatik vazokonstriksiyon bilindiği gibi alfa reseptörleri üzerinden kaynaklanmaktadır. Alfa reseptörlerinin sinyal iletiminde ise fosfolipaz D aktivitesi önemli rol oynamaktadır. Botulinum toksininin fosfolipaz D aktivitesini azalttığı bilinmektedir.⁵¹ 2007 yılında Van Beek ve arkadaşları⁸ aynı zamanda Reynaud fenomeni de bulunan bir hastaya palmar hiperhidrozis tedavisi nedeniyle BTX-A uyguladılar ve hastanın 3 ay içinde Reynaud fenomeninden kaynaklanan ağrısının azaldığını ve ülserasyonların düzeldiğini gördüler. Bunun üzerine 11 hastaya tedavi amacıyla BTX-A uyguladılar. Vazospazm ve siyanoz sıklığında azalma ve ülserasyonlarda gerileme kaydettiler. Bu etkisinin alfa reseptörler üzerinden gösterdiklerini tespit ettiler.

Kalsitonin ilişkili peptid güçlü bir vazodilatatördür ve yara iyileşmesinde rol oynar. Botulinum toksininin kalsitonin ilişkili peptid miktarında yükselmeye yol açtığı kas çalışmalarında bilinmektedir.⁵²

1976 yılında Jurell ve Jonsson, akson blokörü olan reserpinin random paternli flep yaşayabilirliğine etkisini araştırmışlar. Bu çalışmada ratlara flep kaldırılmadan üç gün önce ve bir gün önce 1 mg/kg reserpin intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir.⁶⁶ Kontrol grubunda % 41 olan flep sağ kalımının ortalaması reserpin uygulanan grupta % 75 olarak tespit edilmiştir. Bizim yaptığımız BTX-A çalışmasına yakın sonuçlar olmasına rağmen reserpinin sistemik kullanılmasının aritmi, bradikardi, hipotansiyon gibi ciddi yan etkilerinin olması dezavantajdır. Adrenarjik alfa reseptör blokörü olan ve hipertansiyon tedavisinde ve feokromasitoma teşhisinde kullanılan fentolamin de flep yaşayabilirliğini arttırmak için kullanılmıştır ve yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu ilacında önemli bir dezavantajı sistemik uygulanıyor olması, etkisinin kısa süreli olması ve hipotansiyon gibi yan etkilerinin olmasıdır.⁶⁸

Botulinum toksininin, otonom sistem üzerinden sempatik vazokonstriktör etkiyi azaltılması prensibine dayanan çalışmalar sonucunda biz botulinum toksinini random paternli fleplerde kullandık ve flep sağ kalımlarına olan etkisini inceledik. BTX-A'nın nöral blok etkisi enjeksiyondan yaklaşık 3–4 gün sonra tam olarak başladığı için, ilaç enjekte edilen grubun (grup II) flebi enjeksiyondan 5 gün sonra kaldırıldı. Grup III ise flepte gözlenen değişikliğin madde enjeksiyonuna bağlı olup olmadığını anlamak için ya da BTX-A'yı sulandırdığımız serum fizyolojinin hidrostatik dilatasyon etkisine bağlı olup olmadığını araştırmak için çalışmaya dâhil edilmiştir. Ve serum fizyolojik enjeksiyonundan 5 gün sonra flep kaldırılmıştır. Kontrol grubu olarak oluşturduğumuz ve herhangi bir farmakolojik ajan uygulamadığımız kontrol grubunda nekroz oranını %55,91, serum fizyolojik uyguladığımız grupta %58,07, botox uyguladığımız grupta ise %30,66 olarak hesapladık. Bu veriler ışığında yapılan istatistikî değerlendirme sonucu botox'un preoperatif 5 gün önce yapılmasının flap vabilitesine katkıda bulunduğu ortaya çıkmaktadır.

Sonuçta; Flep yaşam oranlarındaki bu artış ile hastalarda ek operasyon ihtiyacının, morbiditenin, hastane kalış sürelerinin azalması, sosyal ve ekonomik yönden olumlu sonuçlar doğuracağı gibi hasta psikolojisi üzerinde de destekleyici etki gösterecektir. Ancak BTX-A'nın maliyetli bir ilaç olması ve flep kaldırılmadan

en az 5 gün önce flebe uygulanıyor olması ve bunlara rağmen halen % 100'e yakın flap yaşayabilirliği oranlarına erişememesi dezavantaj gibi görülmektedir. Ancak sistemik kullanılmaması ve buna bağlı yan etkilerinin sıfıra yakın olması ve flep yaşayabilirliği üzerindeki istatistikî olarak anlamlı artışın olması bu konuda çalışanları heyecanlandırmaktadır. BTX-A ile % 100'e yakın flap yaşayabilirliği elde edilebilmesi için enjeksiyonun belki de bloğun tam oturması için flep kaldırılmadan 2–3 hafta önce yapılması gerekmektedir.



6. ÖZET

Plastik Cerrahi’de doku defektlerinin rekonstruksiyonunda en uygun fonksiyonel ve estetik sonucu elde etmek için sıklıkla flepler kullanılmaktadır. Plastik cerrahi açısından flep nekrozu halen önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Random paternli fleplerde nekroz distal uçtan başlar ve genellikle nedeni yetersiz kan akımıdır.

Bu çalışmada sıçan modeli üzerinde Botulinum Toksin A’nın (BTX-A) flep yaşayabilirliğine etkisini araştırmayı amaçladık. Flep modeli olarak da kaudal bazlı 2x8 cm boyutlarında random paternli McFarlane flebi model olarak kullandık. 18 adet wistar cinsi erkek sıçan 3 eşit gruba ayrıldı. Grup I (kontrol grubu) hiç ilaç uygulanmamıştır, Grup II (BTX-A grubu) flep kaldırılmadan 5 gün önce ilaç uygulanmıştır, Grup III (SF grubu) flep kaldırılmadan 5 gün önce uygulanmıştır.

Flep kaldırılıp yerine dikildikten 7 gün sonra tüm gruğlar için flep nekroz alanları hesaplanmıştır. Grup I için % 55,91, Grup II için %30,66, Grup III için %58,07 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak BTX-A’nın ortalama nekroz oranının istatistikî olarak anlamlı derecede azalttığı saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Lamberty, B.G.H., Healy, C. Flaps: Physiology, principles of design, and pitfalls. Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery. Little, Brown and Company, 1th edition. 56, 1994.
2. McCarthy, J.G. Introduction to plastic surgery. Plastic Surgery. W.B. Saunders Company, 1th edition. 1–68, 1990.
3. Converse MJ. Introduction to Plastic Srgery. In: Reconstructive Plastic Surgery. Editor: Converse MJ. W.B Saunders Company, Philadephia, Vol1, 1997:3–69
4. Daniel RK. Principeles and Phsiology of Skin Flap Surgery. Plastic Surgery Ed: Mc Charty. W.B Saunders Company, Philadephia, Vol.1,1990:275
5. Jankauskass S, Cohen IK. Basic Technique of Plastic Surgery Grabb and Smith. Plastic Surgery ed. Boston, Toronto,1991:1–91
6. Angel MF. Deforaxamine increases skin flap survival: Additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. Br J Plas Surg. 1986;39.469
7. Flynn TC, Carruthers A, Carruthers J Surgical pearl: the use of the Ultra-Fine II short needle 0,3-cc insulin syringe for botulinum toxin injections. J Am Acad Dermatol. 2002 Jun;46.931
8. Van Beek et al. Management of Vasospastic Disorders with Botulinum Toxin A. PRS 2007;119:217
9. Mark W Clemens et al. Prevention of Anastoöotic Thrombosis by Botulinum Toxin A in an Animal model. PRS 2009;123: 64

10. Arnold PB, Merritt W et al. Effects of perivascular Botulinum Toxin-A application on vascular smooth muscle and flap viability in the rat. *Ann Plast Surg*. 2009 May;62: 463
11. Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. *Plastic Surgery Indications, Operations, and Outcomes*. Achauer BM, Eriksson E, Wilkins EG, VanderKam VM. Mosby, St. Louis, Missouri. 2000: vol. 1; 261
12. Karacaoğlu E, Yüksel F, Turan SO, Zienowicz RJ. Chemical Delay: Alternative to Surgical Delay Experimental Study. *Ann Plast Surg* 2002; 49: 73
13. Khibani KT, Kerrigan CL. The Effect of the Nitric Oxide Donor SIN-1 on Ischemia- Reperfused Cutaneous and Myocutaneous Flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110: 169
14. McDonald WS, Lo TP, Jr., S. B, Thurmond M, Jones C, Cohen R, Miller A, Beasley D. Role of Nitric Oxide in Skin Flap Delay. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113:927
15. Fisher J., Gingrass MK. *Basic Principles of Skin Flaps*. Georgiade Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. Georgiade GS, Riefkohl R, Levin LS. Third edition,. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland. 1997: 19- 28
16. Chang DW, Wang B, Robb GL, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Langstein HN, Kroll SS. Effect of obesity on flap and donor-site complications in free transverse rectus abdominis myocutaneous flap breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 1640
17. Aşkar İ, Bozkurt M, Oktay MF, Gürlek A, Keleş C. Salutory Effect of Radioopaque Contrast Media on the Survival Random-Pattern Skin Flaps in the Rat: An Experimental Study. Willey InterSciens 2003.
18. Shalom A, Herbert M, Westreich M. Effect of Aspirin on Random Pattern Flap Survival in Rats. *Eur J Plast Surg* 2000; 23:21

19. Lineaweaver WC, Lei M-P, Mustain W, Oswald TM, Cui D, Zhang F. Vascular Endothelium Growth Factor, Surgical Delay, and Skin Flap Survival. *Annals of Surgery* 2004; 239: 866
20. Kuru B, Dinç S, Çamlıbel M, Durmuş E, Alagöl H. Efficacy of Postoperatif Streroids on Ischemic Skin Flap Survival in Rats. *Eur J Plast Surg* 2003; 26: 79
21. Ghavami A, Nutt MP, Hardy SP. Heat Shock Protein and High-Doze Aspirin: Effects on Random Skin Flap Survival in a Rat Model. *Ann Plast Surg* 2002; 48: 60
22. Lam, S.M. The basic science of botulinum toxin. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.* 2003; 11: 431
23. Huang, W, Foster, J.A, Rogachefsky, A.S. Pharmacology of botulinum toxin. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2000; 43: 249
24. Lowe, N.J. Botulinum toxin type A for facial rejuvenation. *Dermatol. Surg.* 1998; 24: 1216- 1218
25. Shelosky, L. Pharmacology and Toxicology. In Sommer, B., Sattler, G. (Eds.), *Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine*. 1st edition. Berlin-Vienna: Blackwell Science, 1–7, 2001.
26. Vartanian, A.J., Dayan, S.H. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.* 2003;11: 483
27. Huang, W., Foster, J.A., Rogachefsky, A.S. Pharmacology of botulinum toxin. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2000; 43: 249
28. Bayramiçli M. *Deneyssel Mikrocerrahi*. 1. Baskı. İstanbul. Argos Yayıncılık 2005;451
29. McFarlane Rm, DeYoung G. The Design of a Pedicle Flap in the Rat to Study Necrosis and Prevention. *PRS* 1965;35:177

30. Khouri Rk, Angel MF. Standarzing the Dorsal Rat Flap. Surg Forum 1986;37: 590
31. Matsumura H, Yoshizawa N, Vedder NB, Watanabe K. Preconditioning of the distal portion of a rat random-pattern skin flap. Br J Plast Surg 2001; 54: 58
32. Gurlek A, Aydogan H, Parlakpinar H, Bay-Karabulut A, Celik M, Sezgin N, Acet A. Protective effect of melatonin on random pattern skin flap necrosis in pinealectomized rat. J Pineal Res 2004; 36: 58
33. Huemer GM, Wechselberger G, Otto-Schoeller A, Gurunluoglu R, Piza-Katzer H, Schoeller T. Improved dorsal random-pattern skin flap survival in rats with a topically applied combination of nonivamide and nicoboxil. Plast Reconstr Surg 2003; 111: 1207
34. Torkvist L, Lofberg R, Raud J, Thorlacijs H. Heparin protects against skin flap necrosis: relationship to neutrophil recruitment and anti-coagulant activity. Inflamm Res 2004; 53: 1
35. Hoşnüter M, Babuçcu O, Kargı E, Altınyazar C. Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. Ann Plast Surg 2003; 50: 398
36. Zhang F, Fischer K, Komorowska-Timek E. Improvement of skin paddle survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat tram flap model. Ann Plast Surg 2001; 46: 314
37. Ghali S, Butler PEM, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular Delay Revisited. Plast Reconstr Surg. 2007;119:1735
38. Finseth F, Cutting C. An experimental neurovascular island skin flap fort he study of the delay phenomenon. Plast Reconst Surg. 1978;61: 412
39. Cutting CB, Bardach J, Finseth F. Haemodynamics of the delayed skin flap. A total blood-flow study. Br J Plast Surg. 1981;34: 133.

40. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, Minabe T. An anatomic review of the delay phenomenon: I. Experimental studies. *Plast Reconst Surg*. 1992;89: 397.
41. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG. An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical applications. *Plast Reconst Surg*. 1992;89: 408.
42. Komorowska-Timek E, Timek TA, Brevetti LS. Oral administration of L-arginine decreases necrosis of the epigastric skin flap in the rat. *Ann Plast Surg* 2004; 53: 73
43. Pang Y, Lineaweaver WC, Lei MP, Oswald T. Evaluation of the mechanism of vascular endothelial growth factor improvement of ischemic flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg* 2003;112: 556
44. Williams PB, Hankins DB. Long-term pretreatment with pentoxifylline increases random skin flap survival. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120: 65
45. Eroğlu L, Karacaoğlu N, Uysal OA. The effect of pentoxifylline on venous flap survival. *Eur J Plast Surg* 2001; 24: 169
46. Sycha T, Graninger M, Auff E, Schnider P. Botulinum toxin in the treatment of Raynaud's phenomenon: a pilot study. *Eur J Clin Invest*. 2004; 34: 312
47. Freedman RR, Janni P. Role of cold and emotional stress in Raynaud's disease and scleroderma. *BMJ*. 1983; 287:1499
48. Tindall JP, Whalen RE, Burton EE Jr. Medical uses of intra-arterial injections of reserpine: treatment of Raynaud's syndrome and some of vascular insufficiencies of the lower extremities. *Arch Dermatol*. 1974;110:233
49. Blunt RJ, Porter JM. Raynaud syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 1981;10: 282
50. Morris JL, Jobling P, Gibbins IL. Differential inhibition by botulinum neurotoxin A of cotransmitters released from autonomic vasodilator neurons. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281:2124

51. Jinsi-Parimoo A, Deth RC. Reconstitution of alpha2D adrenenergic receptor coupling to phospholipase D in a PC12 cell lysate. *J Biol Chem.* 1997;272:14556
52. Tarabal O, Caldero J, Ribera J. Regulation of motoneuronal calcitonin gene-related peptide (CGRP) during axonal growth and neuromuscular synaptic plasticity induced by botulinum toxin in rats. *Eur. J. Neurosci.*1996;8: 829.
53. Manson PN, Anthenelli RM. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198: 87.
54. Im MJ, Manson PN, Bulkley GB, Hoopes JE. Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. *Ann Surg* 1985; 201: 357.
55. Shandall AA, Williams GT, Hallet MB. Colonic healing: a role for polymorphonuclear leukocytes and oxygen radicals production. *Br Jour Surg* 1986; 73: 225.
56. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 1983; 94: 428.
57. Um SC, Suzuki S, Toyokuni S, et al. Involvement of nitric oxide in survival of random pattern skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101: 785.
58. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, 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: 1219.
59. Sarifakioglu N, Gokrem S, Ates L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: an experimental study. *Br J Plast Surg* 2004; 57: 769.
60. Finseth F, Adelberg MG. Prevention of skin flap necrosis by a course of treatment with vasodilator drugs. *Plast Reconstr Surg* 1978; 61: 738.

61. LaVan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. Clin Plas Surg 1990; 17: 463.
62. Krizek TJ, Harries RHC, Robson MC. Biology of tissue injury and repair Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery Ed. Georgiade GS, Riefkohl R, Levin LS, Baltimore, Williams&Wilkins, 1997: 3.
63. Porras-Reyes BH, Mustoe TA. Wound healing, Mastery of Plastic Surgery Ed. Cohen M, Little Brown and Company, Boston, New York, Toronto, London, 1994: 3.
64. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. Plast Reconstr Surg 1983; 72: 766.
65. Pearl RM, Johnson D. The Vascular Supply to the skin. Annals plastic surg 1983; 11: 99.
66. Jurell G, Jonsson CE. Increased survival of experimental skin flaps in rats following treatment with antiadrenergic drugs. Scand J Plast Reconst Surg 1976; 10: 169.
67. Barlev A, Peled IJ, Bergmann F, Wexler MR. Improvement of skin flap survival by local injections of regitine and propranolol. Isr J Med Sci 1983;19: 108.
68. Goshen J, Wexler MR, Peled IJ. The use of two alpha blocking agents, phenoxybenzamine and phentolamine, in ointment and injection form to improve skin flap survival in rats. Ann Plast Surg 1985; 15: 431