



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ANTALYA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

**RANDOM PATERNLİ DERİ FLEPLERİNDE DELAY ÖNCESİ VE
DELAY SONRASI BOTULİNUM TOKSİN A UYGULAMARININ
FLEP SAĞKALIMINA ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Ali Korkmaz

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
ANTALYA/2018**



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANTALYA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİğİ

**RANDOM PATERNLİ DERİ FLEPLERİNDE DELAY ÖNCESİ VE
DELAY SONRASI BOTULİNUM TOKSİN A UYGULAMARININ
FLEP SAğKALIMINA ETKİLERİNİN KARşILAşTIRILMASI**

Dr. Mehmet Ali Korkmaz

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Dilek şenen Demirez

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANTALYA/2018

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ach	Asetilkolin
AMP	Adenozinmonofosfat
ATP	Adenozintrifosfat
BTx-A	Botulinum toksin tip A
BTx-B	Botulinum toksin tip B
C	Karbon
Ca⁺⁺	Kalsiyum iyonu
cAMP	Siklik adenozinmonofosfat
CGRP	Kalsitonin ilişkili peptit
C5a	Kompleman 5a
EGF	Epitelyal büyüme faktörü
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
FGF-1	Fibroblast büyüme faktörü-1
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü-2
GABA	Gamaaminobütirat
HIF-1α	Hipoksi ile indüklenebilen faktör-1 α
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
Ig G	İmmünoglobulin G
İ.Ö.	İsadan önce
kD	Kilodalton
kV	Kilovoltaj

LD50	Median letal doz
mA	Miliamper
MU	Mouse unit
N	Azot
NANK	Non-adrenerjik non-kolinerjik sinir lifleri
NE	Norepinefrin
NF-kB	Nükleer faktör kappa B
NPY	Nöropeptit Y
NO	Nitrik oksit
OSS	Otonom sinir sistemi
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü
PgI₂	Prostasiklin
PRP	Trombositten zengin plazma
SNARE	Solubl N-ethyl maleimide-sensitive factor attachment proteine receptor
SNAP-25	Sinaptozomal ilişkili protein – 25
TGF-β	Değişiklik yapan beta büyüme faktörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VIP	Vazoaktif intestinal peptit
5-HT	Serotonin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1A. Sushruta'nın Sushruta Samhita isimli eseri	4
Şekil 2.1B. Gaspare Tagliacozzi tarafından tarihte yazılan ilk plastik cerrahi kitabı	4
Şekil 2.1C. Gaspare Tagliacozzi tarafından tarihte yazılan ilk plastik cerrahi kitabı	4
Şekil 2.2A. Tek pediküllü ilerletme flebi	5
Şekil 2.2B. Çift pediküllü ilerletme flebi	5
Şekil 2.2C. Pulpa defektine V-Y ilerletme flebi uygulanması	5
Şekil 2.3. Transpozisyon flebi	6
Şekil 2.4. Rotasyon flebi	6
Şekil 2.5A. Deltopektoral (Bakamjian) flep	6
Şekil 2.5B. Littler'in nörovasküler pulpa flebi	6
Şekil 2.6. El rekonstrüksiyonunda kullanılan kasık flebi ve çapraz parmak flebi	7
Şekil 2.7. Derinin kanlanması	8
Şekil 2.8. Mikrosirkülasyon	9
Şekil 2.9A. a, b ve c arterlerinden kanlanan anjiozom üniteleri	14
Şekil 2.9B. Geciktirme fenomeninden sonra komşu anjiozom üniteleri arasında kalan şok damarlarda genişleme	14
Şekil 2.10A. Tek anjiozom ünitesi ve komşu anjiozom üniteleri	17
Şekil 2.10B. Vücuttaki anjiozom üniteleri	17
Şekil 2.11A. Nöromuskuler bileşke	21
Şekil 2.11B. Nöromuskuler bileşke ve motor son plak	21

Şekil 2.12. Motor son plakta aksiyon potansiyeli oluşumu	22
Şekil 2.13A. Botulinum toksinin elektron mikroskobu görüntüsü	24
Şekil 2.13B. Toksinin moleküler yapısı	24
Şekil 2.14. Piyasada en sık kullanılan botulinum toksini ticari formları; Botox® ve Dysport®	25
Şekil 2.15. Botulinum toksinin nöromuskuler kavşakta etki mekanizması	27
Şekil 2.16. Nöromuskuler kavşakta botulinum toksin alt tiplerinin SNARE proteinleri üzerinde etki mekanizması	28
Şekil 2.17. Paralizi olan kasın yeniden uyarılabilmesi için gereken nonkollateral aksonal filizlenme (nerve sprouting) gösterimi	28
Şekil 2.18. Otonom Sinir Sistemi	33
Şekil 3.1A. Deneklerin elektrikli makine ile tıraş edilmesi	38
Şekil 3.1B. Random paternli sırt flebi dizaynı	38
Şekil 3.1C. Deneyde kullanılan aletler	38
Şekil 3.2. Random paternli sırt flebinin kaldırılması	39
Şekil 3.3. Predelay grubundaki deneklere delay prosedüründen önce botulinum toksin A uygulanması	40
Şekil 3.4. Postdelay grubundaki deneklere delay prosedüründen sonra toksin enjeksiyonu	40
Şekil 3.5A. Sakrifiye edilen bir deneğin göğüs ve karın içinin açılması, kasık damarlarının ucu açık hale getirilmesi	42
Şekil 3.5B. İntrakardiyak verilen kontrast maddenin mezenterik ve kasık damarlarına dolması	42

Şekil 3.6. Kontrast madde verilen denekten ayrılan flep	42
Şekil 4.1A ve B. Postdelay grupta yer alan fleplerin örnek anjiyografik görüntüleri	45
Şekil 4.2A ve B. Predelay grupta yer alan fleplerin örnek anjiyografik görüntüleri	45
Şekil 4.3A ve B. Kontrol grubunda yer alan fleplerin örnek anjiyografik görüntüleri	45
Şekil 4.4. Postdelay grubunda sağlam-nekroz doku bileşkesinden alınan örnekte dermoepitelyal bileşkedeki artmış fibroblastik proliferasyon	46



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Vasküler Etkileri Olan Çeşitli Farmakolojik Ajanlar	15
Tablo 2.2. Botulinum Toksinin Kullanım Alanları	30
Tablo 2.3. Bazı Nörotransmitterler ve Olası Roller	34
Tablo 4.1. Gruplara Ait Ölçümlerin Tanımlayıcı İstatistiksel Verileri	43



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimime başladığım günden itibaren iyi bir hekim olmamızın yanında iyi bir insan olmamızı da amaçlayan, ekip ruhunun önemini öğreten, sonsuz çalışma enerjisi ve azmiyle bizleri kendisine hayran bırakan, en kötü günlerimizde bize anne şefkati ile davranabilen, içinde bulunabileceğimiz her kötü durumda yanımızda olacağını hissettiren, ihtisasımız sürecinde mesleki bilgi, beceri ve tecrübelerinden faydalandığımız saygıdeğer hocam Doç. Dr. Dilek Şenen Demirez'e,

Sahip olduğu bilgi ve becerisiyle bizi yetiştiren, iş hayatında disiplin anlayışımızın gelişmesine katkısı olan, her durumda bilimselliği ön planda tutmamızı öğütleyen, mesleki hayatımız boyunca tecrübelerinden faydalanabileceğimiz kıymetli büyüğüm Op. Dr. Asım Uslu'ya,

Eğitimim boyunca bizlere destek olan, mesleki alanda tecrübelerimizi arttıran sayın Doç. Dr. Gülsüm Tetik, Op. Dr. Çağlayan Karaman ve Op. Dr. İlkay Söyünce'ye,

Tez çalışmama yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Murat Şedele ve Uzm. Dr. Mustafa Çetin'e,

Tanımış ve birlikte çalışmış olmaktan büyük mutluluk duyduğum, acısıyla tatlısıyla pek çok şeyi paylaştığım, ağır iş yükünü paylaştığımız, asistanlık hayatını eğlenceli hale getiren sevgili asistan arkadaşlarım Op. Dr. Ümrân Muslu, Op. Dr. Ahmet Demir, Dr. Abdullah Sürücü, Dr. Kamil Manav, Dr. Emine Handan Şimşek, Dr. Altan Tekin, Dr. Fevzi Kunter Erten ve Dr. Atalay Şimşek'e,

Mesleki hayatımızda işlerimizin kolaylaşmasına aracılık eden, gece gündüz yardımlarını esirgemeyen servis, poliklinik, ameliyathane hemşireleri, anestezi ekibi ve personellerine,

Hayatta olduğum her gün varlıkları ile beni mutlu eden, bugünlere gelmemde başrol oynayan, zorlu ihtisas sürecinde bana destek olan, her daim yanımda olacaklarını bildiğim canım aileme ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	i
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	37
İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE BULGULAR	43
TARTIŞMA	47
SONUÇ	54
KAYNAKLAR	55
EKLER	
EK 1. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU	
EK 2. ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Random paternli deri fleplerinde delay öncesi ve delay sonrası botulinum toksin A uygulamalarının flep sağkalımına etkilerinin karşılaştırılması

Giriş ve amaç: İnsanlık tarihinin başlangıcından beri var olan yara bakım kavramı süregelen zaman içerisinde önemli noktalara gelmiştir. Yara bakımında fleplerin yeri oldukça önemlidir. Gelişen teknoloji ve artan deneyimlerle birçok yeni flep keşfedilmiştir. Özellikle ameliyathane mikroskobunun aktif kullanılmasıyla mikrovasküler serbest doku nakilleri yaygınlaşmış, flep cerrahisindeki başarı oranı artmıştır. Flep cerrahisindeki başarının epey yüksek olmasına rağmen kısmi ya da tam flep kayıpları ile halen karşılaşmaktadır. Bundan ötürü yeni flepleri keşfetmeyi amaçlayan çalışmalar kadar mevcut fleplerdeki kayıpları önleyici tekniklerin keşfi de önemlidir.

Clostridium botulinum tarafından üretilen botulinum toksini araştırmacılar tarafından son yıllarda flep nekroz oranını düşürmek için sıkça denenen bir ajandır. Bu çalışmada botulinum toksinin güncel bilgiler ışığında flep sağkalımına etkisi; delay prosedürlerine farklı zamanlarda toksin uygulamalarının kombinasyonu sayesinde araştırılacaktır. Ayrıca delay (geciktirme) prosedürü öncesinde ve sonrasında yapılan toksin enjeksiyonlarının flep sağkalımına etkileri araştırılacaktır.

Metod: Bu çalışma Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi ile Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları ünitesinden gerekli etik kurul izinleri alındıktan sonra Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarih:17.07.2017, karar no:57). Çalışmada tamamı dişi olan, ağırlıkları 150-200 gram arasında değişen wistar türü ratlar kullanılmıştır. Çalışmada random paternli sırt flepleri tercih edilmiştir. Denekler 3 eşit gruba ayrılmıştır. İlk grup kontrol grubu olarak planlanmıştır ve hazırlanan random paternli sırt flebine herhangi bir toksin uygulaması yapılmamıştır. Cerrahi işlem (delay prosedüründen) 1 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir. Predelay grubundaki deneklere delay işleminden önce botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmıştır. Toksin uygulamasından 1 hafta sonra delay prosedürü uygulanmış, bundan da 1 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir. Postdelay grubundaki deneklerde ise sırt flebi hazırlanmış,

delay prosedürüne uygun olarak cerrahi işlem gerçekleştirilmiştir. Orijinal yerine sütüre edilen flebe botulinum toksin tip A uygulaması yapılmıştır. Toksin uygulaması ve delay prosedürü aynı seansta yapıp 1 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir. Deney sonunda makroskopik olarak flep sağkalım oranları değerlendirilmiştir. Ayrıca histopatolojik ve vasküler inceleme amacıyla doku örnekleri hazırlanmış ve alınmıştır.

Bulgular: Çalışma sonunda kontrol grubu nekroz oranı %27.32, predelay grubu nekroz oranı %15.76 ve postdelay grubu nekroz oranı %7.86 olarak ölçüldü. Yapılan istatistiksel analizler sonunda delay gruplarındaki nekroz oranlarının anlamlı şekilde düşük olduğu saptandı. Ayrıca botulinum toksinin geciktirme prosedüründen sonra uygulanmasının daha etkili olduğu görüldü. Anjiyografik incelemelerde postdelay grubundaki fleplerde distal perfüzyon defektinin daha düşük olduğu saptandı. Histopatolojik incelemelerde postdelay grubundaki nekroz alanının daha az olduğu belirlendi. Ayrıca postdelay grubunda sağlam-nekroz doku bileşkesinden alınan örneklerde artmış fibroblast proliferasyonu dikkat çekti.

Sonuç: Botulinum toksini fleplerde sağkalımı arttıran bir ajandır. Toksinin olumlu etkisi delay sonrası yapılan enjeksiyonlarda daha belirgindir.

Anahtar kelimeler: Rekonstrüktif cerrahi, flep sağkalımı, botulinum toksini, delay (geciktirme) fenomeni

ABSTRACT

Comparison of effects of botulinum toxin A administration on flap survival before and after delay in random patterned skin flaps

Introduction and Purpose: The concept of wound care, which has existed since the very beginning of human history, has come to an important point over time. The location of the flaps in wound care is very important. A number of new flaps have been discovered with advancing technology and increasing experience. Particularly with the active use of operating room microscopy, microvascular free tissue transplants have become widespread and the rate of success in flap surgery has increased. Although the success of flap surgery is quite high, partial or complete flap losses are still encountered. Therefore, the discovery of preventive techniques in current flaps is as important as the work aimed at discovering new flaps.

Botulinum toxin, produced by *Clostridium botulinum*, is a commonly used agent to reduce the rate of flap necrosis in recent years by researchers. In this study, the efficacy of botulinum toxin on flap survival is assessed with current information. We will also investigate the effect of toxin injections on flap survival before and after the delay (delay) procedure.

Methods: This study was carried out at Akdeniz University Experimental Animal Laboratory after obtaining ethics committee approvals from Antalya Training and Research Hospital and Akdeniz University Experimental Animal Unit. In the study, wistar type rats whose weights are between 150 and 200 grams, all of which are female, were used. Random patterned back flaps were preferred in the study. Subjects were divided into 3 groups. In the control group, which was the first group, there was no toxin application with a random patterned back flap prepared in the rat back region. Subjects were sacrificed 1 week after surgery (from the delay procedure). The subjects in the Predelay group were injected with botulinum toxin type A prior to delay. One week after the toxin administration, the delay procedure was applied, and after 1 week, the subjects were sacrificed. In the postdelay group, the back flap was prepared and the surgical procedure was performed according to the delay procedure. Botulinum toxin type A application was performed in place of the original. Toxin administration and

delay procedure were performed in the same session and subjects were sacrificed 1 week later. At the end of the experiment, macroscopic flap survival rates were evaluated. In addition, tissue specimens were prepared and taken for histopathological and vascular examination.

Findings: At the end of the study, the necrosis rate in the control group was 27.32%, the necrosis rate in the predelay group was 15.76% and the necrosis rate in the postdelay group was 7.86%. At the end of statistical analyzes, necrosis rates in delay groups were found to be significantly lower. It was also found that the administration of botulinum toxin after the delaying procedure was more effective. In angiographic examinations, the distal perfusion defect was found to be lower in the postdelay group of flaps. Histopathological examinations revealed that the area of necrosis in the postdelay group was less. In addition, increased fibroblast proliferation was noted in specimens obtained from solid-necrosis tissue junction in postdelay group.

Conclusions: Botulinum toxin is an agent that improves survival in the flaps. The positive effect of the toxin is more pronounced in postdelayed injections.

Keywords: Reconstructive surgery, flap survival, botulinum toxin, delay phenomenon

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsan vücudunda bulunan en geniş organ deridir. Oldukça geniş yüzey alanına sahip olan derimizin birçok önemli görevi vardır. Vücudun korunmasında, ısı dengesinin sağlanmasında ve şeklini almasında etkin rol oynamaktadır.

Tüm yaş grubunda bulunan bireylerle ve bu bireylerin tepeden tırnağa her vücut bölgesi ile ilgilenebilmesi plastik cerrahiye diğer tıbbi branşlardan ayrı kılar. Plastik cerrahinin ilgilendiği spesifik bir anatomik bölge ya da yaş grubu yoktur. Bu nedenle baştan aşağı her vücut bölgesinde bulunan deri plastik cerrahlarca oldukça önemli bir organdır.

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi yaygın olarak estetik cerrahi kısmıyla algılansa da temelde rekonstrüktif cerrahiye dayanmaktadır. Rekonstrüktif cerrahinin ana amaçlarından biri deri bütünlüğünün sağlanmasıdır. Bu nedenle deri anatomisinin, fizyolojisinin ve yara iyileşme mekanizmalarının iyi bilinmesi gerekmektedir.

Yara iyileşmesi insanlık tarihi boyunca süregelen ve hekimleri meşgul eden bir konudur. İnsanlık tarihinden günümüze kadar yara iyileşmesi konusunda çeşitli tedavi seçenekleri kullanılmıştır. Herhangi bir yaranın onarılmasında ilk seçenek primer onarım iken primer onarımın mümkün olmadığı yaralarda greft ve flep seçenekleri uygun olabilir (1-7). Yara iyileşmesinde hastaya ve tedaviye ait önemli parametreler vardır. Diyabetes mellitus, ciddi anemi, bağ doku hastalıkları, sigara kullanımı, alkolizm, immunsupresyon durumları, malabsorbsiyon ve diğer nütrisyonel sorunlar yara iyileşmesini etkileyen hastaya ait etkenlerdir. Uygun lokal ve sistemik şartların sağlanması ise tedavi ile ilişkili parametrelerdir.

Günümüzde artan teknolojik olanaklar ve rekonstrüktif deneyimler sonucunda rekonstrüktif cerrahinin başarısı artsa da fleplerde kısmi ya da tam doku kayıpları ile halen karşılaşılmaktadır. Başarısız rekonstrüksiyon sonucunda hastanın hastanede kalış ve pansuman süresi uzamakta bazı durumlarda ek cerrahi prosedürler gerekebilmektedir. Bu süreç hasta için psikolojik sorunlara da sebebiyet verebilir. Rekonstrüksiyon sürecinde karşılaşılan başarısızlıklar nadiren hastanın ölümüne neden olmaktadır (8-12). Bu bağlamda rekonstrüktif cerrahide yeni flep tekniklerinin

araştırılmasının yanında mevcut fleplerde sağkalımı arttıracak çalışmaların da önemli olduğu aşıkardır. Günümüzde flep sağkalımına etki eden cerrahi geciktirme, iskemik nkoşullandırma/ardkoşullandırma ve farmakolojik ajanlar konusunda önemli çalışmalar yapılmaktadır.

Botulinum toksini oldukça kuvvetli olan bir toksindir. Gram pozitif anaerob bir bakteri olan Clostridium botulinum tarafından oluşturulmaktadır (13,14). Clostridium botulinum tarafından motor nöronlardan egzositoz ile salınan botulinum toksini asetilkolin salınımını inhibe etmektedir. Çeşitli araştırmalar sonucunda toksinin motor nöronlar dışında otonom sinir sistemine de etki edebileceği anlaşılmıştır (15-19). Botulinum toksinin otonom sinir sistemi üzerine etkisi genellikle sempatik sinir sistemi üzerinden vazokonstriktör etkinin azalması şeklinde olmaktadır. Bu nedenle rekonstrüktif cerrahide flep sağkalımı konusunda botulinum toksininin etkisi uzun zamandır araştırılmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

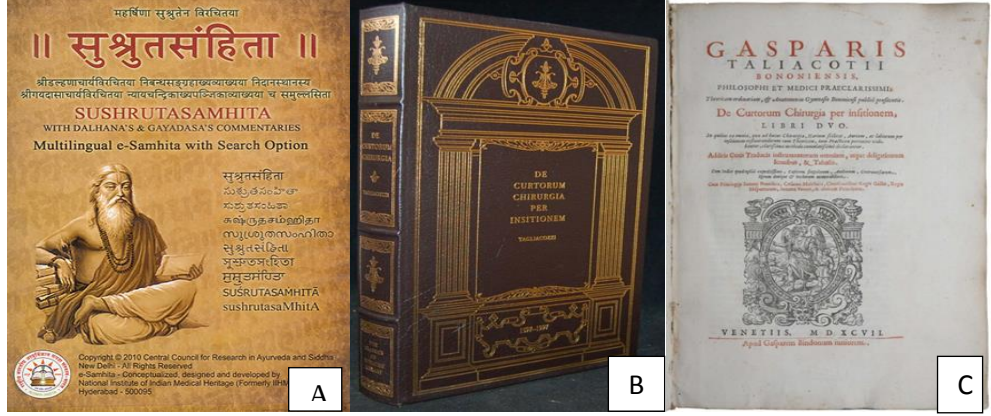
2.1. FLEP

Doku bütünlüğünün sağlanması için vücudun bir başka bölgesinden hazırlanan, kendi bünyesinde kan desteği olan doku parçasıdır. Flebin kan desteğinin sağlanması tabanında ya da pedikülünde bulunan arter ve venlerle gerçekleşir. Fleplerin derinliği mevcut doku eksikliğine ya da flebin paternine göre deriden kemiğe kadar her türlü dokuyu içerebilecek şekilde değişebilir. Flep hazırlanan bölgeye donör (verici) alan, hazırlanan flebin yerleştirildiği bölgeye ise defektli (alıcı) alan denir. Flebin donör alan ile bağlantısını sağlayan bölüme taban ya da pedikül denmektedir.

2.1.1. Flep Tarihçesi

İnsanlığın ilk dönemlerinde geçimini avcılıkla sağlayan insanoğlunda oluşan yaralar yara bakımı kavramını oluşturmuştur. Bundan ötürü plastik cerrahinin tarihsel gelişim süreci diğer tıbbi branşlara göre daha eski dönemlere dayanmaktadır. İsadan önce (İ.Ö.) dönemlerde insanın hayatta kalması için iyi bir avcı olması, iyi bir avcı olması için de sağlıklı olması gerekmektedir. Avlanma esnasında oluşan yaraların bakımında pansuman tedavisi tek seçenek iken zamanla greft ve flepler uygulanmaya başlamıştır. İ.Ö. 6. yüzyılda ünlü Hint cerrahı Sushruta flep cerrahisinin temelini atmıştır. Sushruta Samhita isimli eserinde kulak ve burun bölgelerindeki doku eksikliklerinin alın flebi ile rekonstrüksiyonu hakkında bilgiler yer almaktadır. Avrupa toplumunun rekonstrüktif cerrahi ile tanışması ise 15. yüzyılda Araplar aracılığıyla gerçekleşmiştir. Rönesans döneminde Hint plastik cerrahi tekniklerinden esinlenen Branca Soyu, Sicilya’da birçok uygulama yapmıştır (2,5,20). İtalyan plastik cerrah Gaspare Tagliacozzi 1597 yılında tarihteki ilk plastik cerrahi kitabını yazmıştır. Çağdaş plastik cerrahinin gelişmesinde öncü olan bu kitapta Tagliacozzi’nin burun rekonstrüksiyonunda kol fleplerinin kullanılması hakkında bilgiler yer almaktadır.

16.yüzyılda Flemenkçede ‘bir tarafından tutunan geniş ve gevşek obje’ anlamına gelen “flappe” kelimesi flep terimini oluşmasına öncülük etmiştir.



Şekil 2.1A. Sushruta'nın Sushruta Samhita isimli eseri B. ve C. Gaspare Tagliacozzi tarafından tarihte yazılan ilk plastik cerrahi kitabı

Tarihsel süreç içerisinde yapılan çalışmalarda flep dizaynında boyutların oldukça önemli olduğu dikkati çekmiştir. Genel olarak random fleplerde en/boy oranı $\frac{1}{2}$ olsa da vücudun her bölgesinden benzer boyutlarda flep kaldırılamayacağı anlaşılmıştır (21). Bu durum rekonstrüktif cerrahları mevcut fleplerin sağkalımını arttıracak yöntemleri bulmasına ya da yeni fleplerin keşfine aracılık etmiştir.

Graefe, Hamilton, Mutter, Dieffenbach ve Gersuny 19. yüzyılda flep alanında çalışmalar yapan önemli plastik cerrahlardır. Gillies ve Filatov 1. Dünya Savaşı yıllarında yayınlanan içeriğinde tüp flep ve delay fenomeninin olduğu makaleleri ile çağdaş plastik cerrahi tekniklerinin tohumlarını atmışlardır (2,5,9,22). 1917 yılında Esser tarafından ada flepleri üzerinde yapılan çalışmalarda vasküler pedikülün ve damarların korunmasının flep sağkalımını arttırdığı kanıtlanmıştır (23).

Bakamjian ve Mc Gregor 1950–1975 yılları arasında baş boyun bölgesi rekonstrüksiyonunda kullanılan aksiyel deri fleplerini tanımlamışlardır. 1968 yılında ise ilk defa Ger tarafından kas fleplerinden bahsedilmiştir (2,5,9,22).

1980'lerden günümüze kadar mikroskobun ameliyathanede aktif kullanımı ile serbest doku transferleri yaygınlaşmıştır. Buncke, Harii, Taylor ve Daniel gibi cerrahlar tarafından gerçekleştirilen mikrovasküler serbest doku nakilleri çağdaş rekonstrüktif cerrahiye yeni bir cerrahi seçenek olarak eklenmiştir (2,5,9,22).

2.1.2. Deri Fleplerinin Sınıflandırılması

Deri flepleri taşınmasına, kanlanmasına ve içerdiği dokuların türüne göre alt gruplara ayrılır.

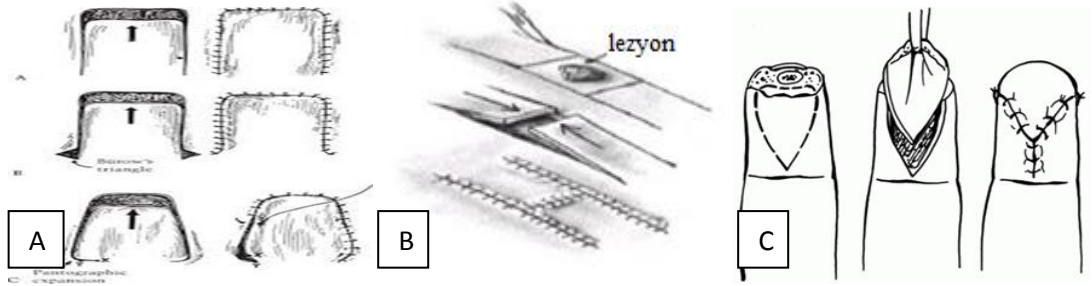
2.1.2.1. Deri Fleplerinin Taşınma Paternine Göre Sınıflandırılması

2.1.2.1.1. Lokal Flepler

Defekt olan bölgeye komşu dokulardan hazırlanan fleplerdir. Komşu bölgelerden hazırlanan flebin defekt olan bölge ile renk, kıllanma, yapı ve kalınlık açısından birbirine yakın özellikleri olması lokal fleplerin önemli avantajlarıdır. Ayrıca daha az seansta defektin kapatılması, ameliyat ve hastanede kalış süresinin kısa olması da diğer avantajlardır. Lokal flepler defekte inset edilme şekillerine göre 4 alt tipe ayrılır; ilerletme flebi, rotasyon flebi, transpozisyon flebi ve interpolasyon flebi.

2.1.2.1.1.1. İlerletme Flepleri

Flebin ekseni boyunca defekte doğru ilerletilmesiyle gerçekleştirilir. Tek pediküllü, çift pediküllü ve V – Y ilerletme flepleri kullanılmaktadır.



Şekil 2.2A. Tek pediküllü ilerletme flebi B. Çift pediküllü ilerletme flebi C. Pulpa defektine V-Y ilerletme flebi uygulanması

2.1.2.1.1.2. Transpozisyon Flepleri

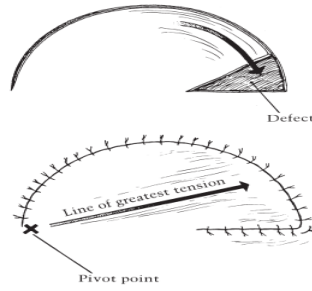
Komşu alandaki defekti kapatmak amacıyla deri ve deri altı dokulardan oluşan dörtgen şeklindeki flebin laterale kaydırılması ile gerçekleştirilir.



Şekil 2.3. Transpozisyon flebi

2.1.2.1.1.3. Rotasyon Flepleri

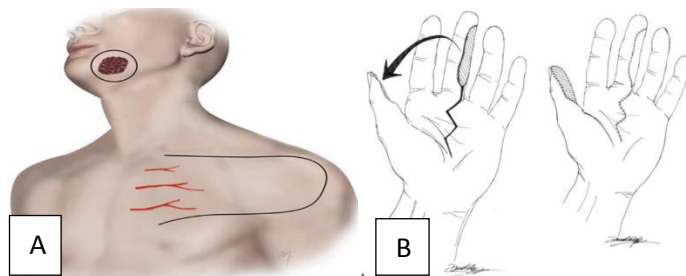
Defektin üçgen şeklinde olduğu doku kayıplarında tercih edilebilir. Yarım daire şeklinde planlanan flebin rotasyonu ile defekt kapatılır.



Şekil 2.4. Rotasyon flebi

2.1.2.1.1.4. İnterpolasyon Flepleri

Transpozisyon flebi gibi dörtgen şeklinde flep hazırlanır. Farklı olarak bitişik olmayan ama yakında bulunan bir defekte ilerletilir. Deltopektoral (Bakamjian) flep ve Littler'in nörovasküler pulpa flebi bunlara örnektir.



Şekil 2.5A. Deltopektoral (Bakamjian) flep B. Littler'in nörovasküler pulpa flebi

2.1.2.1.2. Uzak Flepler

Defekt ile donör alanın komşu veya yakın olmadığı fleplerdir. Uzak fleplerin direkt flepler, indirekt flepler ve serbest flepler olmak üzere 3 alt tipi vardır.

2.1.2.1.2.1. Direkt Flepler

Defekt ile donör alanların anatomik olarak birbirinden uzak olduğu ancak yaklaştırılması mümkün olduğu durumlar tercih edilen fleplerdir. Ele yapılan kasık ve çapraz parmak flepleri direkt fleplere örnektir.



Şekil 2.6. El rekonstrüksiyonunda kullanılan kasık flebi ve çapraz parmak flebi

2.1.2.1.2.2. İndirekt Flepler

Defekt ile donör alanların birbirine yaklaştırılamayacak şekilde birbirinden uzak olduğu durumlarda tercih edilmektedir. Bu tarz yaralanmalarda defekt öncelikli olarak başka bir alana nakledilir. Bunun için el bileği aracı bölge olarak tercih edilebilir. Aracı seçilen bölgeye nakledilen flep de bir süre sonra asıl defekt olan alana inset edilir.

Geçmişte kullanılan tüp flepler de indirekt fleplere bir örnektir. Zaten indirekt flepler her zaman tüp haline getirilerek nakledilirler (24, 25). Aracı alana nakledilen tüp flep burada en az 2,5 hafta bekletildikten sonra asıl defekte inset edilmelidir. Bazı durumlarda flebin asıl defekte ulaşması için birden fazla seans gerekebilir. Bu yöntemle migrasyon yöntemi (Waltzing, Caterpillar ve Tumbling yöntemi) de denmektedir.

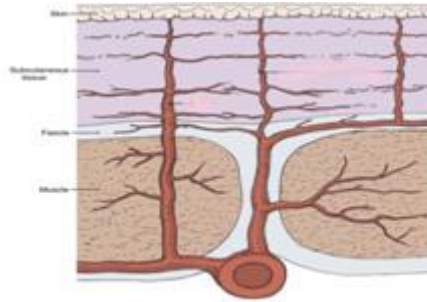
2.1.2.1.2.3. Serbest Flepler

Anatomik olarak birbirinden uzak olan bölgeden kendine ait damarlarıyla kaldırılan flebin alıcı alanda hazırlanan arter ve venlere anastomozu yapılarak nakledilen fleplerdir (4,6,20,22).

2.1.2.2. Deri Fleplerinin Kanlanma Paternine Göre Sınıflandırılması

Deri fleplerinin ve insizyonlarının planlanması için deri arter ve venlerinin anatomisini iyi bilmek gerekir. Literatürde Manchot, Spalteholz, Pieri, Esser ve Salmon tarafından deri vaskülarizasyonuna yönelik yapılan çalışmalar mevcuttur (26-32).

Aortadan direkt olarak gövde ve ekstremitelerin kanlanmasını sağlayan segmental damarlar çıkar. Segmental damarlar ile kutanöz damarlar arasında perforatör damarlar bulunmaktadır. Kutanöz damarların ise septokutan ve muskulokutan olmak üzere 2 tipi vardır. Hem septokutan damarların hem de muskulokutan damarların amacı deri, deri altı ve fasyada bulunan 5 ayrı pleksusun kanlanmasını sağlayarak derinin beslenmesidir. Bu 5 pleksusun tabanında fasyal pleksus yer alır. Fasyanın altında, içinde ve üstünde damarlar bulunmaktadır. Fasyal pleksus için asıl önemi olan prefasyal pleksustur. Fasyal pleksusun üzerinde subkutan pleksus yer alır. Subkutan pleksus, içinden geçtiği yağ dokuyu yüzeyel (yoğun) ve derin (gevşek) tabakalar olmak üzere ikiye böler. Yani subkutan yağlı tabaka subkutan fasya tarafından bölünür. Aslında platisma ve skarpa fasyaları subkutan fasyanın devamı niteliğindedir. Fasyal ve subkutan fasyaların hemen üzerinde subdermal pleksus yer almaktadır. Kaldırılan deri flebinin kenarlardan kanamasını sağlayan subdermal pleksustur. Pleksuslar daha sonra ‘dermal-subepidermal’ ve ‘dermal’ pleksus olarak tamamlanır.



Şekil 2.7. Derinin kanlanması

2.1.2.2.1. Muskulokutan Arterlerle Kanlanan Deri Flepleri

Muskulokutan arterler; dermal pleksusa kan vermek için öncelikli olarak altta yer alan kası besleyen damarlardır. Bu tarz damarın olduğu bölgeler kas–deri flebi şeklinde kaldırılabilir.

2.1.2.2.2. Septokutan Arterlerle Kanlanan Deri Flepleri

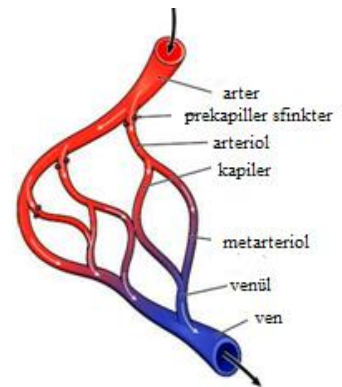
Derinin kanlanması kaslar arasında bulunan fasiyal septalardan gelen septokutan damarlar tarafından sağlanır. Septokutan damarlar segmental ya da muskuler damarlardan kaynaklanabilir. Muskulokutan fleplerden farklı olarak septokutan arterlerin yan dallanmaları oldukça fazladır. Bu da septokutan damarlar üzerinden daha geniş fleplerin kaldırılmasına imkan kılar (20).

2.1.2.2.3. Random Flepler

Aksiyel bir damarı olmayan yani kanlanması rastgele olan fleplere random flepler denir. Vücudun herhangi bir yerinden hazırlanabilir. Random fleplerin kanlanması adı olmayan küçük damarlardan sağlanır.

2.1.3. Flep Fizyolojisi

Flep dolaşımı dermal pleksusta 3 ayrı tabakada yer alan mikrodolaşım mekanizmaları sayesinde sağlanır. Mikrodolaşım sisteminde 300 mikrondan daha küçük çaplı arterioller uç arterioller olarak devam eder. Kapillerlere gelmeden önce prekapiller sfinkterler yer alır. Arteriollerden gelip kapillerlerden geçen kan postkapiller venüller, toplayıcı venüller ve muskuler venüllere doğru ilerler. Muskuler venüller de arterioller gibi 300 mikrondan daha küçük çaptadır.



Şekil 2.8. Mikrosirkülasyon

Bahsedilen bu mikrosirkülasyon dermal tabakada yüzeyel, orta ve derin olmak üzere 3 ayrı pleksusta bulunur. Her 3 pleksusun vücut ısısının korunmasında rolü vardır. Yüzeyel pleksus deri beslenmesinde, orta pleksus ise vücut savunmasında daha etkin rol alır.

Pleksuslar kişiye ait bazı özelliklerden olumsuz etkilenebilir. Yaşlanma, sigara kullanımı, yanıklar, radyasyona maruz kalma gibi etkenler pleksusların etkisini azaltabilir. Bu kişilerde yara iyileşme sorunları görülebilir.

Arter ve venler arasında olan mikrosirkülasyon gibi lenfatik damarlar arasında da benzer şekilde döngü mevcuttur. Mikron boyuttaki lenfatik kapillerler toplayıcı lenfatiklerle lenf nodlarına ulaşır. Özellikle ada şeklinde hazırlanan fleplerde ödem görülmesinin önemli sebeplerinden biri lenfatik drenajın sekteye uğramasıdır.

Çeşitli ilaçlar, hormonlar, sitokinler ve dış etkenler deri fizyolojisini sistemik ya da lokal olarak etkileyebilir. Deri dolaşımını sistemik olarak kontrol eden en önemli etken hipotalamus tarafından yönetilen sinir sistemidir. Damar duvarlarında bulunan çeşitli reseptörlerin uyarılması vazokonstriksiyona ya da vazodilatasyona sebep olabilir. Alfa adrenerjik ve seratoninerjik reseptörlerin uyarılması damarlarda vazokonstriksiyona neden olur. Adrenalin ve noradrenalinin vazokonstriktör etkisi alfa adrenerjik reseptörlerin uyarılması aracılığı ile gerçekleşir. Alfa adrenerjik reseptörlerin tersine beta adrenerjik reseptörlerin uyarılması vazodilatasyona sebep olur. Organizmada sempatik tonusun azalması sonucunda ise arteriovenöz anastomozlarda vazodilatasyon gerçekleşir.

Damar çapı üzerine çeşitli sitokinlerin de etkisi vardır. Serotonin vazokonstriktör etki yaparken histamin, prostosiklin ve bradikinin damarlarda vazodilatasyona sebep olur. Araşidonik asit metabolizmasında yer alan Tromboksan A₂ ve Prostoglandin F₂ – alfa damarlarda vazokonstriksiyona, Prostoglandin E₁ ise vazodilatasyona sebep olmaktadır. Lökotrienlerin de deri dolaşımında faydalı etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır. Lökotrien C₄ ve D₄ güçlü vazokonstriktör özelliktedirler (4).

Deri dolaşımında bazı parametrelerin lokal etkisi mevcuttur. Bölgede hiperkapni, hipoksi, intertisyel potasyum artışı ve asidoz gibi durumların olması sonucunda vazodilatasyon görülür. Lokal hipotermi varlığında bölgedeki kan akımı azalır, bunun sonucunda damarlara vazodilatasyon olması için uyarı oluşur. Miyojenik refleks sayesinde arter basıncından etkilenmeksizin kapiller akım sabit bir düzeyde tutulmaktadır. Ancak perfüzyon basıncının artması halinde vazokonstriksiyon görülmektedir. Viskozitenin damar çapına etkisi ağır iskemik durumlarda gözlenmektedir (4).

2.1.4. Flep Patofizyolojisi

Flep kaldırıldığı zaman damarların ve nörovasküler pleksusların zedelenmesine bağlı olarak iskemi oluşur. Flep dokusundaki sempatik innervasyon devre dışı kalır ve vasküler problemler oluşur. Flep dokusunun yaşaması için 8-12 saat boyunca çevre dokulardan yeterli vasküler desteği alması gerekir. Flep kaldırılınca anatomik, hemodinamik ve metabolik değişiklikler olmak üzere 3 ana grup değişiklikler oluşur.

2.1.4.1. Anatomik Değişiklikler

Flep dokusunda var olan transvers yerleşimli damarlar arasındaki anastomozlarda dilatasyon meydana gelir. Flep kaldırıldıktan sonraki 2 – 3 hafta boyunca cerrahi travmaya bağlı oluşan inflamatuvar yanıt nedeniyle flepteki damar sayısında artış olur. Flep etrafında bulunan dokulardaki damarların flep damarları ile bağlantı kurması ise 4–5 gün sonra gerçekleşmektedir. Katekolaminler flep kaldırıldıktan sonra azalmaya başlar ve 30 saat sonra tamamen kaybolurlar. Flep kaldırıldıktan 4 – 8 hafta sonra katekolaminler yeniden ortaya çıkar ve bu durum reinnervasyonun göstergesidir.

2.1.4.2. Hemodinamik Değişiklikler

Flep dokusunun her bölgesindeki kanlanma oranı aynı değildir. İlk gün flep pedikülündeki kan akımı %100 iken flep distalindeki kan akımı %18'dir. Distaldeki kan akımı ilk haftada %65, ikinci haftada ise %75-90'lara yükselir. Bu nedenle flebin

distalindeki nekrozun en önemli nedeni arteriyel problemlerdir. Ancak geciktirme uygulanan fleplerde flep distalindeki kan akımlarında herhangi bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır. Flep kaldırıldıktan sonraki ilk 30 saat içerisinde görülen prekapiller sfinkterlerdeki vazokonstriksiyona bağlı flebin iskemik halde kalmasına neden olan döneme hiperadrenerjik dönem denir (33). Daha sonraki dönemlerde flep dokusundaki sempatik aktivitenin azalmasıyla göreceli olarak vazodilatasyon oluşur (34,35).

2.1.4.3. Metabolik Değişiklikler

Flep distalinde iskemik duruma bağlı olarak oksijen, glukoz ve adenzintrifosfat (ATP) düzeylerinde düşme olur. Laktat oluşumu artar. Flep dokusunun glukoz harcama durumu ilk 3 gün en yüksek düzeydedir. Erken dönemde azalan siklik adenzinmonofosfat (cAMP) 12 saat sonra özellikle canlı kısımlarda artmaya başlar. Flebin iskemik bölümlerinde anaerobik metabolizma hızlıdır ve süperoksid radikaller oluşur. Trombosit agregasyonunda ve arşidonik asit metabolizmasında problemler oluşabilir. Özellikle ilk gün fibrinolitik aktivitede ciddi azalma olur. Tüm bu bahsedilenler flepte metabolik aktivitede artış olduğunu gösteren durumlardır

Rekonstrüktif cerrahinin temel amacı vücut doku bütünlüğünün anatomik ve fonksiyonel uygunluk halinde sağlanmasıdır. Çeşitli durumlarda yapılan rekonstrüktif cerrahi seçenekleri kısmen ya da tamamen başarısızlıkla sonuçlanabilir. Flep cerrahisinde yapılan flebin sağkalım oranının yüksek olması hem cerrah hem de hasta için oldukça önemlidir. Bu nedenle flebin sağkalım oranını arttırmaya yönelik birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalar neticesinde rekonstrüksiyon cerrahisi daha iyi detaylandırılacak, mevcut flep seçeneklerinin başarı şansı artacak ve yeni flep modelleri için fikir oluşacaktır.

2.1.5.Random Paternli Deri Fleplerinin Sağkalımlarının Arttırılmasında Tercih Edilebilecek Yöntemler

Günümüzde gelişen teknoloji ve yapılan çalışmalar neticesinde birçok flep çeşidi tanımlanmış ve böylece rekonstrüktif cerrahinin başarıları artmıştır. Ancak flep

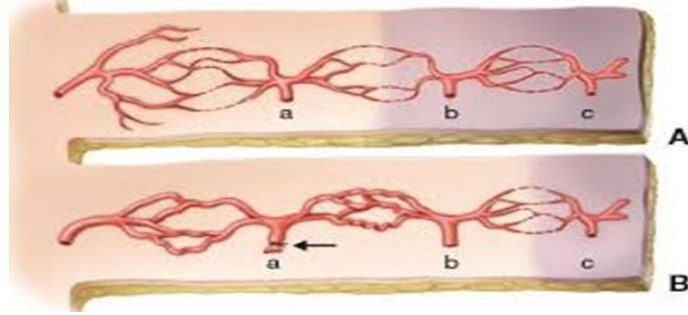
cerrahisindeki tüm bu ilerlemelere rağmen düşük oranda da olsa flep kayıpları yaşanabilmektedir. Bu sebeplerden ötürü flep sağkalımlarını arttırmada etkili yöntemler önemini hiçbir zaman kaybetmemektedir.

2.1.5.1. Cerrahi Geciktirme (Vasküler Delay)

Cerrahi geciktirme yönteminde amaç flebin defekt olan bölgeye taşınmasından önce geçici bir süreliğine iskemik durumda kalmasını sağlamaktır. Bunun sonucunda aksiyel fleplerde daha fazla hacimde flep taşınabilirken random fleplerde ise boy/en oranı artmaktadır (36,37,38). Cerrahi geciktirme yöntemi fleplerin sağkalımını arttırmak amacıyla en sık tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir (39).

Delay transferi 1921’de Blair tarafından tanımlansa da cerrahi geciktirme ilk defa 16.yüzyılda Tagliacozzi tarafından kol flebinde yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (2). Hamilton ve Gillies isimli araştırmacılar da geciktirme fenomeni ile alakalı çalışmalar yapmıştır (40,41). Cerrahi geciktirmenin değerlendirildiği ilk deneysel çalışma 1965’te Milton tarafından domuzlarda yapılmıştır (42,43). Daha sonra 1967 yılında Myers tarafından tavşanlar üzerinde yapılan cerrahi geciktirme çalışmasında da olumlu sonuçlar saptanmıştır (36-38).

Taylor tarafından yapılan cerrahi geciktirme çalışmaları neticesinde flep kaldırılmasından 48–72 saat sonra flebin uzun ekseni boyunca uzanan damarların hem sayısında hem de kalınlığında artış görülmüştür. Taylor ve Dhar, cerrahi geciktirme işleminin neovaskülarizasyondan çok mevcut damarların genişlemesiyle flep sağkalımına katkı sağladığını göstermişlerdir (39). Geciktirme fenomeninin flebe en fazla katkısının olduğu bölge flep distalinde kalan ve demarkasyon hattının olduğu bölgedir. Çünkü flep elevasyonunu takiben şok anastomozların gerçek anastomozlara dönüşmesinin en fazla olduğu bölge bu bölgelerdir (44,45). Şok damarların gerçek anastomozlar yapmasının en büyük sebebi arter duvarındaki tüm tabakalarda hiperplazi ve hipertrofi oluşmasıdır. Şok ve gerçek damarların öneminden ötürü cerrahi geciktirme işleminde bilinmesi gereken en değerli parameterlerden biri flebin anjiozom konseptine uygunluğudur (46). Ortak bir aksiyel damar tarafından kanlanan 3 boyutlu doku ünitesine anjiozom denmektedir. Bu terim ilerleyen bölümlerde detaylı bir şekilde irdelenecektir.



Şekil 2.9A. a, b ve c arterlerinden kanlanan anjiozom üniteleri B.Geciktirme fenomeninden sonra komşu anjiozom üniteleri arasında kalan şok damarlarda genişleme

Hoopes gerçekleştirdiği cerrahi geciktirme çalışmalarından sonra delay fenomeninin mekanizmasını açıklamıştır. Bunlar sırasıyla sempatektomi, vasküler reorganizasyon, reaktif hiperemi, hipoksiye dayanıklılık ve son aşamada nonspesifik inflamatuvar reaksiyondur (47). Yapılan çalışmalar sonucunda cerrahi geciktirme yapılan fleplerdeki günlük değişimler değerlendirilmiştir. Flebin kaldırılması ve temelde sempatik innervasyonun kaybı nedeniyle ilk 24 saat içerisinde flepte arteriyel kan akımında azalma, arterler ve kapillerlerde dilatasyon meydana gelmektedir. 1.-3.günler arasında flepteki uzunlamasına yerleşimli damarların sayı ve genişliği artmaktadır. Yine bu süreç içerisinde küçük damarların sayısında artış meydana gelmektedir. Damarların genişliğinin ve sayısının artması 7.güne kadar devam etmektedir. 3.-7. günler arasında damarlar reoryante olmaktadır. 7.-14. günler arasında flep ile komşu dokuların dolaşımı sağlanınca damarlanma artışı sonlanmaktadır. Flebin 3.haftasında yani 14.-21. günleri arasında damarlarda regresyon başlar, flep ile alıcı alan arasında anastomozlar oluşur. 21. günden itibaren ise flebin vaskülarizasyonu normalde olması gereken oranın %90'ına yükselir (48).

Myers ve Cherry tarafından yapılan cerrahi geciktirme çalışmaları sonucunda flebin aksiyel damarlarla olan bağlantısının olmaması gerektiği gösterilmiştir. Çünkü aksiyel damarların o an için kesilmesi sonraki dönemlerde flebin iskemiye karşı daha korunaklı hale gelmesini sağlayacaktır. Bundan ötürü cerrahi geciktirme

çalışmalarında random paternli fleplerin tercih edilmesi büyük önem arz etmektedir (44,49,50).

2.1.5.2. İskemik Ön ve Ard Koşullandırma (İskemik Preconditioning / Postconditioning)

Transfer edilmesi planlanan flebin transferden önce ya da sonra iskemik hale getirilmesidir. Özellikle aksiyel fleplerde cerrahi olarak gerçekleştirilebileceği gibi her türlü dokularda farmakolojik olarak da gerçekleştirilebilir.

2.1.5.3. Diğer Farmakolojik Ajanlar

Farmakolojik ajanlar uygulama kolaylığı ve tek seansta etkili olmaları nedeniyle cerrahi geciktirme yöntemlerine göre avantajlıdır. Sempatolitikler, vazodilatatörler, kalsiyum kanal blokerleri, prostaglandin inhibitörleri, antikoagülanlar, glukokortikoidler, serbest radikal önleyiciler ve anjiogenik tedavi/büyüme faktörleri bu amaçla kullanılabilir (51-64). Ancak farmakolojik ajanların sistemik etki etmesi, istenilen flep sağkalım oranını sağlamak için yüksek doz gerektirmesi ve buna bağlı yan etkilerin görülme ihtimali önemli dezavantajlardır (65). Flep sağkalımında tercih edilecek farmakolojik ajanda olması gereken özellikleri Rohrich özetlemiştir; ulaşması ve uygulaması kolay, terapötik indeksi yüksek, devam eden uygulamalarda sonuçların aynı olması, ucuz olması, etki mekanizmasının biliniyor olması gerekmektedir (66).

Flep sağkalımının farmakolojik etkilerin araştırılması Hynes tarafından 1948 yılında tüp fleplerin sağkalımına atropinin etkisinin araştırılması ile başlamıştır (67).

Tablo 2.1. Vasküler Etkileri Olan Çeşitli Farmakolojik Ajanlar (141)

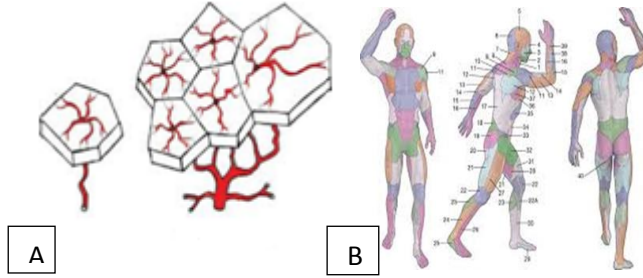
Farmakolojik Ajan	Etki Mekanizması
Diltiazem - Nifedipin	Damar düz kaslarında vazodilatasyon yaparak etki eden kalsiyum kanal blokeridir.
Fenoksibenzamin – Fentalamin	Otonom sinir sistemi üzerinden alfa resptör blokajı yaparlar.
Fibrin	Anjiogeneziste rolü vardır.

Lidokain - Prilokain	Geç evrede vazodilatasyona sebep oldukları için bifazik etkilidirler.
Prostasiklin (PgI ₂)	Trombosit agregasyonunu önler ve vasodilatatör etki yapar.
Sildenafil	Damar düz kasında nitrik oksit miktarını artırarak vazodilatatör etki yapar.
Süperoksit Dismutaz	İskemi reperfüzyon hasarını önler.
Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	Anjiogeneziste rolü vardır.

2.2.ANJİOZOM KONSEPTİ

İnsan vücudunda deri ve diğer dokular Manchot ve Salmon'un yaptığı araştırmalar sonucunda vasküler alanlara ayrılmıştır (26,27,31,32). Anatomik olarak üç boyutlu olan bu vasküler alanlara anjiozom denmektedir (68). Anjiozom konseptinin oluşmasında Ian Taylor, Behan ve Wilson tarafından kadavralar üzerinde yapılan çalışmalar da önemli katkı sağlamıştır (46,68-75). Cormark ve Lamberty tek aksiyel damar üzerinden kaldırılan fleplerde farklı tipteki vasküler alanları saptayarak anatomik, dinamik ve potansiyel terimlerini kullanmışlardır (76). Araştırmalar sonucunda kabul edilebilir bir anjiozom tanımı 1987 yılında Taylor ve Palmer tarafından yayınlanmıştır (46). Bu araştırmacılar daha önceden anjiozom ile ilgili çalışmalar yapan diğer araştırmacıların çalışmalarını incelemiş, tek bir damardan kaynak alan üç boyutlu kompozit vasküler yapıları 'anjiozom' olarak tanımlamışlardır. Taylor tarafından insan vücudu 40 anjiozoma ayrılmıştır (46). Her anjiozom ünitesinde arteryel yapıların bulunduğu arteriyozom ve venöz yapıların bulunduğu venözom yer almaktadır. Anjiozomlar tek bir arterden köken almakta ve alt gruplara da ayrılabilir. Anjiozom ünitelerinde birçok anastomozlar yer almaktadır. Bu anastomozlar genellikle ince çaplı, düşük kalibreli yani choke (şok) damarların anastomozundan oluşmaktadır. Bazı durumlarda anastomozu yapan damar çaplarında herhangi bir azalma olmadan gerçek anastomozlar da bulunabilir. Taylor insan vücudunu choke damarların anastomozundan oluşan bir örtü olarak da tanımlamıştır (73).

Delay fenomeninin önemli bir amacı ince kalibreli olan choke damarların genişlemesi ve yandaş ile gerçek anastomozların bağlantı kurmasıdır (39,44,77). Anjiozom konseptinin iyi bir şekilde anlaşılması sayesinde özellikle serbest mikrovasküler doku nakillerinin planlanması daha pratik hale gelecektir.



Şekil 2.10A. Tek anjiozom ünitesi ve komşu anjiozom üniteleri B. Vücuttaki anjiozom üniteleri

2.3.YARA İYİLEŞMESİ

Vücut dokularında anatomik ve fonksiyonel bozuklukların oluşmasına, vücut doku bütünlüğünün bozulmasına yara denir. Yara oluşması sonucunda doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yönelik onarım mekanizmaları başlar. Yara iyileşmesinde hastayla ilişkili ve ilişkisiz birçok etken rol oynamaktadır. Gelişen teknoloji sayesinde yara iyileşme mekanizması moleküler düzeyde incelenebilmekte ve böylece hücresel, metabolik ve hümoral düzeyde araştırmalar yapılmaktadır. Yara iyileşme döngüsü ardışık ve birbiri ile alakalı birçok aşamadan oluşmaktadır.

2.3.1. Doku Hasarı ve Pıhtılaşma

Travma sonucunda ilk etkilenme mikrovasküler damarlarda gerçekleşir. Bütünlüğü bozulan damarlarda kan kaybını önlemek amacıyla kontraksiyon gerçekleşir (78). Subendotelyal tabakaya kanın temas etmesiyle saniyeler içinde trombositler bölgedeki kollajene yapışır. Primer hemostaz olarak adlandırılan bu işlem sayesinde kanama durdurulur. Trombositlerin kollajene yapışarak tıkaç oluşturması ile eş zamanlı olarak pıhtılaşma faktörleri de trombositler tarafından aktive edilir. Böylece sekonder hemostaz süreci başlar. Pıhtılaşma kaskadının intrinsik ve ekstrinsik yolları vardır. Bu yolların son aşamasında fibrin oluşur. Fibrin,

primer hemostaz sonucunda oluşan tıkaçı iyice sağlamlaştırır ve hemostaz tam olarak sağlanmış olur. Son oluşan pıhtının içinde trombositler, kan hücreleri ve plazma proteinleri bulunmaktadır.

2.3.2. Erken ve Geç İnflamasyon

İnflamasyon fazının başlaması komplemanın klasik yoldan aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Erken inflamasyon döneminde yani 24–48 saat içerisinde yara bölgesinde granülositler çoğalır. Damar endotelyal hücrelere tutunan granülositlerin temel fonksiyonu enfeksiyonu önlemektir. Bakteriyel kökenli peptid ürünleri, TGF- β ve kompleman ürünlerinden C5a yara bölgesine yönelir. Bunların sonucunda bakteriler ve yabancı debris ürünleri yaradan uzaklaştırılır, enfeksiyon kontrol altına alınır.

Monositler yara içine girdikten 24-48 saat sonra makrofaj haline dönüşür. Böylece 48 – 72 saat içinde yara içindeki baskın hücre topluluğu makrofajlardır. Aslında yara iyileşme sürecinin temel hücreleri makrofajlardır. Makrofajlar asıl görevi olan fagositozun yanında büyüme ve angiogenetik faktörlerin de salınımında önemli rol oynar. İnterlökin -1, Ig G ve kompleman ürünlerinin miktarı artar. Bunlar T lenfositlerin bölgeye göç etmesine neden olur (79).

Yara içerisinde geç dönemde yani 72 saatten sonra aktif olan hücre grubu T lenfositlerdir. T lenfositlerden de çeşitli lenfokinler salınmaktadır. Bu lenfokinlerin fibroblast ve kollajen üretimi üzerinde dengeyi sağlama yönünde çeşitli etkileri vardır.

2.3.3. Fibroblast Göçü ve Kollajen Sentezi

T lenfositlerden salınan lenfokinler aracılığı ile ekstrasellüler matriks içinde bulunan fibroblastlar yaraya doğru yönelir. Yara bölgesine ulaşan fibroblastlar fibronektin sayesinde yarayı çaprazlarlar. Fibroblastların tüm yara bölgesini çaprazlaması kollajen sentezinin temelidir. 7.günden sonra yarada aktif olan hücre fibroblasttır. 5–7.günde başlayan kollajen sentezi 2–3.haftaya kadar devam eder.

Fibroblastların dışında laktat düzeyinin artması ve TGF- β başta olmak üzere diğer büyüme faktörleri de kollajen sentezini artırır.

2.3.4. Anjiogeneز

Normalde insan vücudunda fizyolojik anjiogeneز sürekli görölmektedir. Kadınlarda menstrüel siklüste uterus epitelinin rejenerasyonunda, ovum ve korpus luteumun şekillenmesinde anjiogenezin rolü büyüktür (80,81). Erkeklerde spermatogeneزde de anjiogeneز görölmektedir.

Yara iyileşmesinde ise patolojik anjiogeneز görölmektedir. Yara bölgesinde yeni damarların oluşması başlıca VEGF sayesinde 4.günde başlar. VEGF dışında trombositlerden salınan TGF- β ve PDGF gibi büyüme faktörleri de anjiogeneزde etkilidir. Angiogenezin başlangıç basamağında endotel hücrelerinin çoğalması ve yarada kapiller tomurcukların oluşması yer almaktadır. Kapiller tomurcukların olgunlaşması ile kapiller yatak oluşur. Böylece yeni oluşan mikrovasküler yapılarda eritrositler ve plazma sirkülasyonu başlar (82,83). Bahsedilen bu patolojik anjiogeneز kaskadı yara iyileşmesinde ve kemik kırıklarında oldukça önemlidir. Günümüze dek yapılan birçok çalışmada neovaskülarizasyonun iskemik dokularda oldukça önemli olduğu ispatlanmıştır (84,85).

2.3.5. Epitelizasyon

Epitel oluşumunu en önemli uyaran büyüme faktörü EGF'dir. Epitel hücrelerinin çoğalmaya başlaması 48–72 saatlerde başlamaktadır. Yaranın temiz ve nemli olması, bazal laminanın sağlam olması ve yaranın kısmi kalınlıkta olması yani dermisin sağlam olması durumunda epitelizasyon oldukça hızlıdır. Tam kat yaralarda ise epitel eklerinin olduğu dermis tabakasında da kayıp olduğu için yaranın kapanması yara dudaklarından gerçekleşir. Bu nedenle dermal kayıpların olduğu yaralarda epitelizasyon gecikir. Şu da bilinmelidir ki epitel hücrelerinin çoğalma hızı oldukça yavaştır. 1 günde ortalama birkaç milimetrelik epitelizasyon sağlanabilir.

Epitelizasyon kaskadı birkaç basamaktan oluşmaktadır. Öncelikli olarak yara bölgesindeki bazal hücrelerde hareketlenme başlar ve hücreler yara olan alana göç eder. Buraya gelen hücreler mitoz ile çoğalmaya başlar. Yara bölgesine göç eden

hücrelerin birbirine temas etmesine kadar mitoz devam eder. Hücreler birbirine temas edince mitoz sona erer ve hücrel farklılaşma başlar.

2.3.6. Olgunlaşma, Maturasyon (Remodeling)

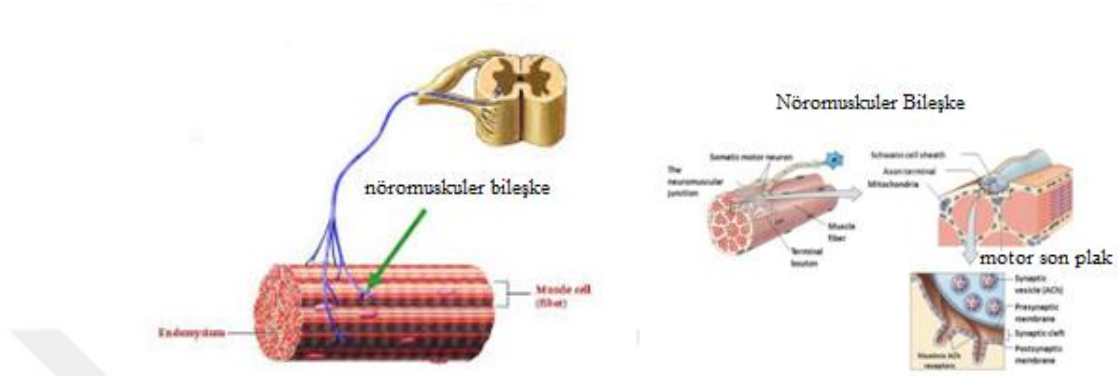
Remodelingin temelinde kollajen yatar. Kollajen yapım ve yıkımı arasında 21.günden sonra sabit bir denge oluşur. Fibroblastlar, granüositler ve makrofajlar tarafından üretilen matriks metalloproteinazları tarafından kollajen yıkılır. TGF- β ise matriks metalloproteinazlarını inhibe ederek kollajen yıkımını önler. Yara iyileşmesinin erken döneminde hakim olan kollajen tipi Tip III'tür. Ancak sağlıklı deri dokusunda Tip I kollajen miktarı Tip III kollajen miktarının yaklaşık 4 katıdır. Bu oran elde edilene kadar kollajen tiplerinin miktarı değişir. Bu nedenle olgunlaşma fazı yara iyileşme basamaklarının en uzun süren fazıdır. Hastanın yaşı, mevcut ek hastalıkları, genetik özellikleri, yaranın durumu, madde bağımlılığı ve alışkanlığı durumu, yaranın tipi ve yeri, inflamasyon süresi ve derecesi gibi önemli etkenler olgunlaşma fazının süresinde oldukça belirleyicidir. Ancak en uygun yara iyileşme fazlarının sonunda bile deri normal gücünün % 80'ine ulaşabilir.

Yara iyileşmesinde birçok faktörün etkili olduğu bilinmektedir. Diyabetes mellitus, nöropati varlığı, vasküler sorunlar, beslenme bozuklukları (alkolizm, vitamin A, B, C eksikliği, anemi, protein eksikliği, esansiyel yağ asidi eksikliği, çinko, bakır ve demir gibi mineral eksiklikleri vs), radyasyona maruz kalma, steroid kullanma, dokunun iskemik kalması gibi nedenler yara iyileşme sürecini olumsuz etkiler.

2.4.NÖROMUSKULER BİLEŞKE

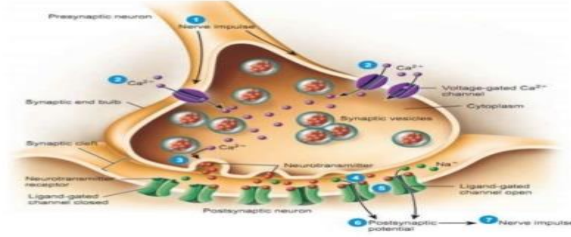
Nöromuskuler bileşke; spinal kordun anterior boynuzundan çıkan sinir liflerinin iskelet kas lifleri ile bağlantı yaptığı bölgedir. Sinir ve kas lifleri arasındaki bağlantı nörotransmitter adı verilen maddeler tarafından sağlanır. Kasa uzanan sinir liflerinde genellikle myelin kılıf bulunmaktadır. Myelinli sinir lifleri kasa gelince çok sayıda terminal sinir dalları ile sonlanır. Sinir liflerinin terminal dalları ile kas liflerinin birlikte oluşturduğu yapıya motor son plak da denmektedir. Motor son

plakta sinaptik aralık ve sinaptik boşluk gibi alt üniteler bulunmaktadır. Terminal sinir dallarının kas içine invajine olduğu bölümlere sinaptik aralık denmekte iken sinir lifi ile kas lifi arasındaki boşluğa sinaptik boşluk denmektedir.



Şekil 2.11A. Nöromuskuler bileşke B. Nöromuskuler bileşke ve motor son plak

Terminal sinir sonlanmaları tarafından kas liflerinin uyarılmasına aracılık eden temel nörotransmitter asetilkolindir. Asetilkolin (ACh) üretilmesi için de Adenozin Trifosfat (ATP) gereklidir. Bu nedenle nöromuskuler kavşakta bulunan terminal sinir liflerinde mitokondri sayısı oldukça fazladır. ATP varlığında üretilen asetilkolin sinaptik aralığa salınmadan önce terminal sinir liflerindeki terminal veziküllerde depolanır. Asetilkolinin sinaptik aralığa salınması, gereken sinirsel uyarı oluşuktan sonra terminal sinir sonlanmalarındaki voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının açılması ve sinir hücrelerine Ca^{++} ' un girmesi ile sağlanır. Sinir hücrelerinde kalsiyumun artması sinaptik veziküllerin egzozitozuna neden olur ve böylece vezikül içerisinde bulunan asetilkolinler sinaptik aralığa salınır. Sinir lifleri tarafından kasın yeterince uyarılması için motor son plakta 300.000'e yakın terminal (sinaptik) vezikül bulunabilir. Sinir liflerinin uyarılmasıyla saniyeden çok kısa süre içerisinde veziküllerdeki asetilkolin sinaptik aralığa salınır.



Şekil 2.12. Motor son plakta aksiyon potansiyeli oluşumu

Sinaptik aralığa salınan asetilkolinin kas lifi membranında bulunan ve 5 alt ünitelerden oluşan asetilkolin reseptörleri mevcuttur. Asetilkolin reseptörlerinde beta (β), gama (γ), delta (δ) ve 2 adet alfa (α) alt üniteleri bulunmaktadır.

Motor son plakta bulunan kas liflerinin uyarılması için son plak potansiyelinin oluşması gereklidir. Asetilkolinin alfa reseptörlerine bağlanması sonucunda kas lifi membranında sodyum bağımlı iyon kanalları açılır ve kas içinde pozitif iyon konsantrasyonu artar. Böylelikle kas liflerinin uyarılması için gereken aksiyon potansiyeli oluşturulur.

Yeterince uyarılan kas liflerinin bir süre sonra istirahat haline geçmesi ve sonraki kontraksiyon için gereken biyomoleküler hazırlığı yapması gerekmektedir. Bunun için sinaptik aralıkta bulunan asetilkolinin elimine edilmesi gerekir. Çoğunlukla asetilkolinesteraz enzimi ile asetilkolin yıkımı sağlanırken, kas ve sinir hücrelerine difüzyon ile asetilkolin geçişi de gerçekleşebilir. Tüm bunların amacı kas liflerinin istirahat aksiyon potansiyeline geçmesini sağlamaktır (86).

2.5. BOTULİNUM TOKSİNİ

2.5.1. Tarihçe

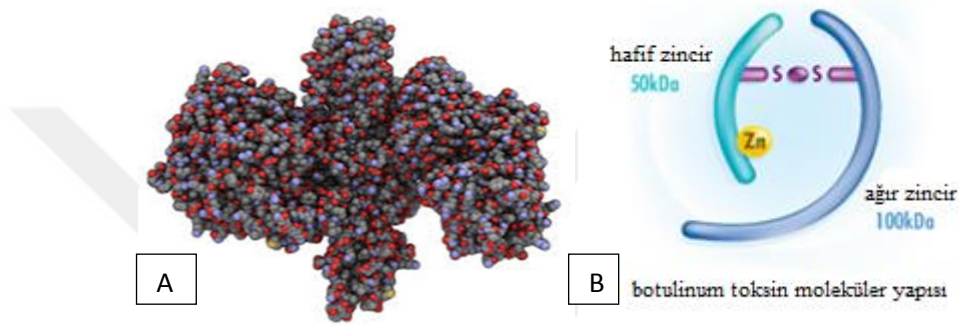
Justinius Kerner isimli Alman araştırmacı sosiste bulunan bir yağ asidinin botulizm etkisi yaptığına inanmış ve 1817 yılında botulinum toksin zehirlenmesini klinik anlamda ilk tanımlayan kişi olmuştur (87). Yaptığı gözlemlerin sonunda botulinum toksininin bazı durumlarda tedavi edici özellikte olabileceğini düşünmüştür. 1820 yılında yayımlanan ‘ New Observation on the Lethal Poisoning Occuring So Frequently in Württemberg Through the Consumption of Smoked

Sausages ‘ isimli makalede Kerner tarafından 76 hasta üzerinde botulinum toksininin klinik sonuçları yer almıştır (88). Botulinum toksinin klinik tedavi amacıyla kullanılabilmesi hususunda önemli bir ilerleme 1822 yılında toksinin sinir sistemine sempatik ve parasempatik yönden etki yaptığı ancak duysal semptomlara neden olmadığının anlaşılmasıyla gerçekleşmiştir. Toksinin ve toksini üreten bakterinin keşfi ise 1895 yılında gerçekleşmiştir. Profesör Emile Pierre van Ermengem of Ellezelles toksini üreten bakteriye ‘ Bacillus botulinus ‘ adını vermiştir. Latince de sosis anlamına gelen botulus kelimesi bakterinin adlandırılmasında önemli bir sebep olmuştur. Bacillus botulinus ilerleyen yıllar içerisinde Clostridium botulinum olarak isim değiştirmiştir (89). 1897 yılında ise botulizm için W. Kemper tarafından ilk antiserum üretilmiştir. Botulizm ile klinikte 5 farklı şekilde karşılaşılabilir; infantil (intestinal), besin (klasik), yara, inhalasyonel ve iyatrojenik. Tedavi amacıyla yapılan botulinum toksinin bölgesel ya da genel kas paralizisine sebep olmasına iyatrojenik botulizm denir, literatürde 2 vakada buna rastlanmıştır (90). İyatrojenik botulizm durumlarında 24 saat içerisinde hastanın antitoksin tedavisi alması gerekir (91). Botulinum toksinin ilk alt tipi olan botulinum toksin tip A (BTx – A) ise 1920 yılında Dr. Herman Sommer tarafından elde edilmiştir.

Botulinum toksinin etki mekanizmasının anlaşılması 20.yüzyılın ortalarında gerçekleşmiştir. Dr. Vernon Brooks tarafından 1950 yılında toksinin nöromusküler kavşakta asetilkolin salınımını engellediği ve bunun sonucunda ilgili kasta felç olduğu gösterilmiştir. Botulinum toksinin kas felcine sebep olması Dr. Alan ve Dr. Scott’un dikkatini çekmiş hatta bazı kas hastalıklarında toksinin tedavi amacıyla kullanılabileceğini düşünmüşlerdir. Dr. Alan ve Dr. Scott strabismuslu maymunlarda tedavi amacıyla toksini kullanmış ve başarılı olmuşlardır (92). Bunun üzerine Dr. Scott ilacın FDA (Food and Drug Administration) onayını almıştır. FDA ilacın endikasyonları arasına 2000 yılında servikal distoniye, 2002 yılında ise alın kırışıklıklarını katmıştır. Toksin tip A’nın kozmetik amaçla ilk kullanımları Jean ve Alastair Carruther isimli araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir (87).

2.5.2. Moleküler Yapı

Gram (+) sporlu bir bakteri olan *Clostridium botulinum*dan üretilen botulinum toksini molekül ağırlıkları 100 kD ile 50 kD olan ve birbirine disülfid bağları ile bağlanmış ağır ve hafif 2 zincirden oluşmaktadır (93,94). Toksinin ağır ve hafif zincirlerini birarada tutan disülfid bağı ısıya duyarlıdır. Toksin çinko endopeptit özelliğe olup yapısında çinko bağlayıcı endoproteaz da bulunmaktadır. Toksinin çinko ile alakalı kısmı 50 kD ağırlığındaki hafif zincirdir (95).



Şekil 2.13A. Botulinum toksinin elektron mikroskobu görüntüsü B. Toksinin moleküler yapısı

Ağır zincirde kendilerine özgü birtakım görevleri olan karbon (C) ve azot (N) terminalleri bulunmaktadır. Kolinerjik sistem terminaline toksinin afinitesinden C terminali sorumludur. Ayrıca presinaptik reseptörlerin hücreye bağlanmasında da C terminali aktif rol alır. N terminali ise toksinin hücre içindeki fonksiyonlarında etkilidir. Hücre içine geçen toksinin hareketinden ve hafif zincirin endozomal bölgeye yönelmesinden N terminali sorumlu olmaktadır. Ayrıca toksinin ağır zincir bölümü mide asiditesine karşı koruyuculuktan ve hemaglutinasyondan sorumludur (96).

Botulinum toksininin hücre içindeki nörotoksin parçası hafif zincir tarafından üretilir. Nörotoksin, botulinum toksinin hedefi olan hücre duvarındaki SNARE (solubl N-ethyl maleimide-sensitive factor attachment proteine receptor) proteinine bağlanır. SNARE proteini hücre membranlarının birleşiminden sorumludur. Zaten

klินิกte en sık kullanılan botulinum toksin tipi olan tip A (BTx-A) etkisini bir SNARE proteini olan SNAP-25'e bağlanarak gerçekleştirir (97-102).

Clostridium botulinumun antijenite ve serolojik olarak birbirinden farklı 7 tip nörotoksini vardır; A, B, C-1, D, E, F, G (87,103). İnsanlarda botulinizme sebep olan nörotoksinler A, B ve E'dir. Nörotoksin tip F de zaman zaman insanlarda botulinizme neden olabilir. C ve E tip nörotoksinler ise sadece hayvanlarda etkili olmaktadır. Tip A'ya karşı direnç varlığında tip F'nin faydalı olabileceği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (104).

Ülkemizde ve tüm dünyada en sık kullanılan botulinum toksin tipi tip A'dır. Tip A'nın da dünyadaki en yaygın 2 ticari preparatı Amerika Birleşik Devletleri tarafından üretilen Botox® ve İngiltere tarafından üretilen Dysport®'tur. Klinik olarak sık kullanılmayan BTx-B'nin Neuroblok® ve Myoblok® isimlerinde ticari formları vardır.



Şekil 2.14. Piyasada en sık kullanılan botulinum toksini ticari formları; Botox® ve Dysport®

Botulinum toksinin etkinlik gücünü ölçmek ve değerlendirmek için Mouse Unit (MU, LD50, U, median lethal doz) terimi kullanılmaktadır. 18-20 gramlık İsviçre Webster türü farelere intraperitoneal toksin enjeksiyonu sonrasında farelerin yarısını öldüren botulinum toksin miktarı 1 MU olarak tanımlanmıştır. İnsanlarda botulinum toksini letalite açısından oldukça güvenli aralıklarda kullanılmaktadır. 70 kg ağırlığındaki sağlıklı bir insanda LD50 değeri 2500 – 3000 U Botox®'tur. Zaten tedavi amacıyla insanlara en sık enjekte edilen doz miktarı 400 ünedir. Bu doz spastisitelerin tedavisinde tercih edilmektedir (105,106). Ayrıca sağlıklı bir kişiye 3

ay içerisinde 400 üniteden fazla Botoks® yapılmamalıdır (107-110). Kozmetik amaçla yüz kırışıklarına yönelik doz miktarı 60 U Botox®'u geçmemelidir (111).

1 flakon Botox®'un içinde 100 U, 1 flakon Dysport®'un içinde 500 U toksin bulunmaktadır. Klinik etki olarak Botox®'un etki gücü Dysport®'un yaklaşık 3-4 katıdır. Yani 3-4 U Dysport®'un etki gücü 1 U Botox®'un etki gücüne yakındır (112,113). Toksine karşı antijen oluşturma riski daha fazla protein içeriği nedeniyle Dysport®'ta daha fazladır (114).

Botulinum toksini oluşturan hafif ve ağır zincirleri birarada tutan disülfid bağı ısı duyarlı olduğu için toksin uygun sıcaklık şartlarında, Botox® -5 °C'de, Dysport® 2-8 °C aralığında muhafaza edilmelidir. Sulandırılan Botox® 2-8 °C aralığında saklanabilir. Botox® preparatları sulandırıldıktan sonra optimum sıcaklıklarda saklansa bile etki gücü giderek azalmaktadır. 1. günün sonunda %90'lara düşen aktivite gücü 1 hafta sonunda yarıya ve 2 hafta sonunda minimal seviyeye düşmektedir. Ayrıca toksin aktivitesini arttırmak amacıyla sulandırılmış Botox® flakonlarının tekrar dondurulmasının yararının olmadığı gösterilmiştir (115). Dysport®'un ise sulandırıldıktan sonraki 8 saat içerisinde tüketilmesi önerilmektedir (111).

Elmas ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan bir çalışmaya göre 2 hafta boyunca +4 °C'de saklanan Botox® ile yeni sulandırılan Botox®'un etkileri karşılaştırılmış ve yeni sulandırılan Botox®'un etki süresinin daha uzun olduğu anlaşılmıştır (116).

Toksine ısı ve pH değişimlerine karşı hassastır. 80 °C sıcaklığın üstünde 10 dakikadan fazla kalması ya da pH değeri 7'den yüksek çözeltilerde bekletildiğinde toksinin etkisi kaybolabilir (117).

Enjekte edilen toksinin etki göstermesi için kastan difüzyona uğraması ya da presinaptik uca ulaşması gerekmektedir. Bu nedenle toksinin etkisi 1-4 günde başlar (118).

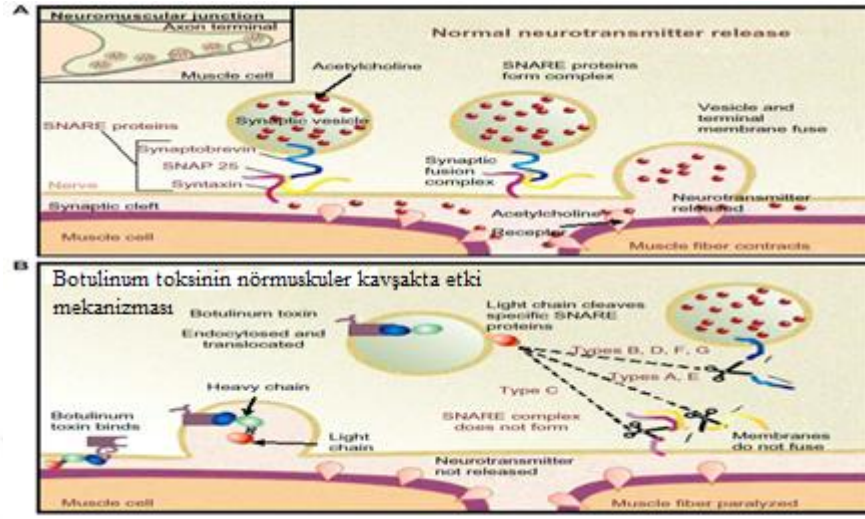
Nörotoksinler etkilerini hücre duvarında bulunan SNARE proteinleri üzerinden gerçekleştirmektedir. Toksinin egzositozu için SNARE proteinlerinin bütünlüğü mutlak gereklidir(119,120). Nörotoksinler farklı SNARE proteinleri üzerinden etkili olabilir. A ve E SNAP-25 üzerinden etkili iken B, D, F ve G nörotoksinler etkisini synaptobrevin üzerinden göstermektedir. Syntaxin üzerinden etkili olan nörotoksin ise C'dir (103).

Botulinum toksininin hedef hücrede etkisini gösterebilmesi için toksinin motor son plağa ulaşması gerekmektedir. Toksinin hücre içine girişi Ca^{++} iyonlarından bağımsız olarak reseptör aracılı endositoz ile gerçekleşir (121).

Asetilkolinin sinaptik aralığa salınması kalsiyum iyon kanalları aracılığıyla sinaptik veziküllerin egzositozu sonucunda gerçekleşir. Sinapsin I hücre içerisinde bulunan sinaptik veziküle bağlanır. Sinapsin I daha sonra fosforillenerek presinaptik vezikülün presinaptik hücre membranına bağlanmasına neden olur (122). Sinaptik vezikül ve presinaptik membranların birbirine bağlanmasını SNARE proteinleri sağlar. Bu bağlanmadan sinaptik vezikül üzerindeki synaptobrevin, presinaptik membranda ise syntaxin sorumludur (123). Presinaptik membran üzerinde SNAP-25 ve syntaxin proteinlerinin birleşmiş kompleks hali bulunur. Daha sonra synaptobrevin, bu kompleksteki syntaxin yerine geçer ve sinaptik vezikülün salınmasını sağlar. Botulinum toksini nöromusküler kavşaktaki etkisini yukarıda anlatılan SNARE proteinleri üzerinden gerçekleştirir (103). Toksinin SNARE proteinlerine bağlanması sonucunda sinaptik vezikülün egzositozu önlenmiş olur (124). Nöromusküler kavşakta iletinin engellenmesi sonucunda kasta felç gelişir. İlerleyen dönemlerde kasta atrofi gelişebilir.

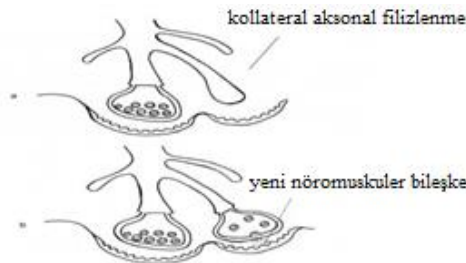


Şekil 2.15. Botulinum toksinin nöromuskuler kavşakta etki mekanizması



Şekil 2.16. Nöromuskuler kavşakta botulinum toksin alt tiplerinin SNARE proteinleri üzerinde etki mekanizması

Nöromuskuler kavşaktaki kasın yeniden uyarılabilmesi için yeni sinapslar oluşmalıdır çünkü gerçekleşen nörotransmitter blokajı irreversibldır (107). Nonkollateral aksonal filizlenme ya da nerve sprouting olarak adlandırılan yeni sinapsların oluşumu toksin enjeksiyonundan 4-12 hafta sonra başlar ve sinaptik uyarım yeniden başlar. Aksonal filizlenme sonucunda sinaps bölgesindeki motor son plakta genişleme olur. Böylece yeni sinapsların oluşması mümkün hale gelir. Yapılan çalışmlarda tip A enjeksiyonundan sonra sinaptik iletinin yeniden sağlanması için gereken süre ortalama 3 ay olarak gösterilmiştir (119).



Şekil 2.17. Paralizi olan kasın yeniden uyarılabilmesi için gereken nonkollateral aksonal filizlenme (nerve sprouting) gösterimi

Botulinum toksinine direnç gelişimini önlemek için mümkün olan en düşük dozlarla tedaviye başlanmalı ve enjeksiyon aralıkları kısa olmamalıdır. Amaç toksine karşı antikor üretimini önlemektir. Bir sonraki enjeksiyon en erken 3 ay sonra planlanmalıdır. Ayrıca botulinum toksin tedavisinde toksinin hedef bölgede stabilizasyonu amacıyla kullanılan human albumin, antikor oluşmasına neden olabilecek önemli bir etkidir. Toksin kullanımından itibaren ilk 4 yıl içerisinde direnç oluşmadıysa sonraki dönemlerde dirençle karşılaşma ihtimali oldukça düşüktür.

2.5.3. Botulinum Toksin ve İlaç Etkileşimleri

Etkisini nöromusküler kavşakta gösteren ilaçlar botulinum toksinin aktivite gücünü değiştirebilir. Nöromusküler kavşaktaki geçişe intrinsik inhibitör özellikte olan aminoglikozidler, siklosporin, bazı kas gevşeticiler, aminokinolonlar, kinidin, magnezyum sülfat ve linkozamid gibi ilaçlar botulinum toksin etkisini arttırabilirler. Bazı ilaçlar ise toksinin etkisini azaltabilir. Klorokin ve hidroklorokinler bunlara örnektir (91).

2.5.4. Botulinum Toksinin Endikasyonları, Yeni Uygulamaları ve Kontrendikasyonları

Toksinin nöromusküler kavşakta iletimini ve dolayısıyla kas uyarımını bloke etmesi sayesinde çeşitli kas hastalıklarında tedavi edici olarak kullanılabilir. Çizgili kaslar üzerine etkili olduğu gibi parasempatik ve postganglionik kolinerjik liflerden asetilkolin salınımını engellemesi nedeniyle düz kas hastalıklarında da kullanılabilir (107).

Botulinum toksinin klinik olarak ilk kullanım alanları genellikle nörolojik ve oftalmolojik hastalıklar üzerinde olmuştur (87). Blefarospazm, nistagmus, tortikollis, distoni, disfoni, hemifasyal spazm, serebral palsy, spastik dipleji, tremor, tik, gerilim tipi baş ağrısı, tenisçi dirseği, palatal myoklonus, kekeleme ve pelvirektal spazmların önlenmesinde botulinum toksini tercih edilebilir. 1980'li yıllarda strabismus

tedavisinde kullanılan botulinum toksinin glabelladaki kırışıklıkları azalttığına fark edilmesi üzerine toksin kozmetik amaçla kullanılmaya başlamıştır. Toksinin kullanım alanları gün geçtikçe genişlemektedir. Hiperhidrozis, hipersiyalore, Frey's sendromu, fasiyal asimetriler ve platizmal bantların tedavisinde de botulinum toksin tedavisi etkilidir.

Botulinum toksini estetik ve rekonstrüktif cerrahide de oldukça ön plandadır. Meme rekonstrüksiyonu amacıyla subpektoral meme implantı yerleştirilen hastaların postoperatif kas spazmını önlemek, ağrı kontrolünü sağlamak, daha başarılı kozmetik sonuç elde etmek amacıyla peroperatif toksin uygulamaları başarılı sonuçlar vermiştir (125-127).

Skar revizyonunda skarın genişlemesini ve hipertrofik skar gelişimini önlemek amacıyla yara dudaklarına botulinum toksin tip A (BTx-A) enjekte edilmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır (128-130).

Fleksör tendon onarımında kasın başlangıç bölgelerine yapılan BTx-A tendon rüptürü riskini azaltarak tendon iyileşmesine katkı sağlamıştır (131).

BTx-A Neumastier ve ekibi tarafından Raynoud fenomeni olan 19 hastaya uygulanmıştır. Tek doz uygulamada bile hastaların çoğunda ağrının azaldığı ve parmak dolaşımının arttığı tespit edilmiştir (132).

2005 yılında O'Reilly ve arkadaşları aksiller hidradenit tedavisinde BTx-A kullanmışlar, enjeksiyon sonrasında hidradenitlerde azalma hatta kaybolma olduğu görülmüştür (133).

Tablo 2.2. Botulinum Toksini Kullanım Alanları (141)

Ağrı
• Baş ağrısı • Myofasyal ağrı sendromu • Tenisçi dirseği
Hareket Bozuklukları
• Distonik tikler • Kas spazmı ve kramplar

• Tremor • Parkinson hastalığı
Kolinerjik sempatik ve parasempatik sistem kaynaklı gland hipersekresyonu
Kornea koruma amacıyla ptozis oluşturma
Oddi sfinkteri hipertansiyonu
Oküler hipermotilite tedavisi (Nistagmus)
Oromandibüler hastalıklar (Bruksizm, Masseter hipertrofi, TME hastalıkları)
Özofagus hastalıkları (Akalazya, Divertikül)
Pelvik duvar hastalıkları (Anal fissür, Vajinusmus)
Pilor stenozu
Spastisite • Multipl Skleroz • Serebral Palsi • Travmatik Beyin Yaralanması
Tiroid bezi hastalıklarına bağlı üst göz kapağı retraksiyonu

Botulinum toksine ya da içeriğindeki herhangi bir maddeye karşı alerjisi ya da aşırı duyarlılığı olanlarda toksin kullanılmamalıdır. Multipl skleroz, Eaton Lambert ve Myastenia gravis gibi nöromuskuler hastalığı olanlarda da toksin tedavisinden kaçınılmalıdır.

Gebelik ve emzirme dönemlerinde ilaçtan mümkünse uzak durulmalıdır. FDA botulinum toksin tip A'yı yeterli çalışmaların olmadığı anlamına gelen C grubu gebelik kategorisinde sınıflandırmıştır. Ancak organogenez döneminde bulunan hayvan çalışmalarında yüksek doz botulinum toksinin vücut ağırlığı ve kemik gelişimine olumsuz etkilere sebep olduğu gösterilmiştir.

75 yaşın üzerindeki bireylerde de kozmetik alanda botulinum toksin uygulamaları konusunda yeterli bilgiler olmadığı için bu yaş grubuna konservatif yaklaşılmalıdır (91).

2.5.5. Botulinum Toksin Uygulamalarının Yan Etkileri ve Komplikasyonları

Verilen ilaç türünden bağımsız olarak uygulama şekline bağlı ağrı, ödem ve ekimoz gibi problemler normal karşılanmalıdır. Ancak botulinum toksini uygulamasından sonra baş ağrısı, ağızda kuruluk hissi ve grip benzeri semptomlar görülebilir.

Çok nadir durumlarda enjeksiyon yapılan bölgelerde geçici hiperestezik durum görülebilir. Ter bezleri salgısında azalmaya bağlı kuruluk, kaşıntı ve sebore oluşumu görülebilir.

Alna yapılan enjeksiyonlarda periost gerilmesi, kas içerisinde derin seviyede hematoma oluşumu gibi nedenlerle en geç 1 ay içerisinde geçen baş ağrıları oluşabilir (91).

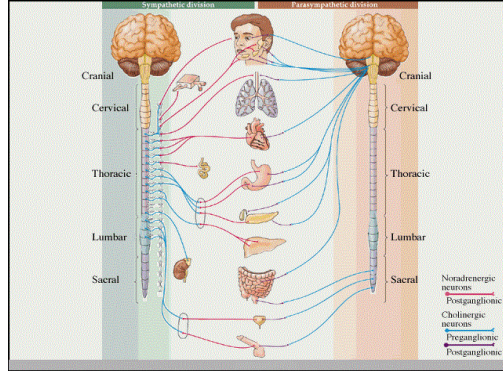
Göz etrafına yapılan enjeksiyonlardan sonra orbikülaris okuli, corrugator ve procerus kaslarının felcine bağlı göz kapağında ptozis, lateral ya da medial rektus kaslarının felcine bağlı şaşılık, orbikülaris okuli kasının inferior bölümünün felci sonucunda infraorbital yağ yastıkçıklarının psödoherniasyonu ve periorbital bölgedeki çeşitli kasların felci sonucunda entropion, ektropion ve lagofthalmi gibi komplikasyonlar görülebilir.

Perioral enjeksiyonlarda dudaklarda güçsüzlük ve asimetri oluşabilir. Boyun bölgesine yapılan uygulamalarda nadiren horlama ve 2-5 gün içerisinde düzelen disfaji şikayetleri görülebilir.

Glabellar bölgeye yapılan toksin uygulamalarında kaşın medial kısımlarının tam felci sonucunda lateral kısımların aşırı elevasyonu sonucunda uğursuz ya da şakacı yüz olarak adlandırılan yüz hali oluşabilir. Ayrıca genel olarak yüzdeki tüm mimik kaslarının etkilenmesi sonucunda kişiye özgü olmayan, ifadesiz maske yüz oluşabilir (91).

2.5.6. Botulinum Toksinin Otonom Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

İnsan vücudunda bazı doku ve organlar istemsiz olarak kontrol altındadır. Spinal kord ve hipotalamus tarafından kontrol edilen bu sisteme otonom sinir sistemi (OSS) denir. Kan basıncı regülasyonu, gastrointestinal motilite ve sekresyon, terleme ve ısı regülasyonu gibi işlevler otonom sinir sisteminin sorumluluğu altındadır. Spinal kord ve hipotalamustan üretilen otonom uyarılar organlara sempatik ve parasempatik sinir sistemi ile iletilirler.



Şekil 2.18. Otonom Sinir Sistemi

Sempatik ve parasempatik lifler tarafından taşınan nöronal iletiler çizgili kasların uyarılmasını sağlayan motor son plak iletiminden farklıdır. Spinal korddan çıkan sempatik liflerde bulunan nöronal ileti pregangliyonik ve postganglionik yollardan iletilmektedir. Spinal kordun interomedial boynuzunda bulunan preganglionik hücre gövdeleri anterior kökten çıkar ve uygun spinal sinirlerle bağlantı kurar. Spinal kanaldan çıkan spinal sinirler genellikle postganglionik nöronlarla sinaps yapar. Ancak bazı durumlarda kan damarlarının innervasyonunda görevli olan postganglionik sinirler gri ramusa dönebilir.

İç organ fonksiyonları üzerinde etkili olan parasempatik sinir lifleri ise çoğunlukla vagal sinirle taşınır. Pelvik sinirleri oluşturan sakral parasempatik lifler ise spinal korddan ayrılır.

Sempatik sistem gibi parasempatik sistem de preganglionik ve postganglionik sinaps yapmaktadır. Bu sinapslardaki ileti asetilkolin ve norepinefrin tarafından sağlanmaktadır. Asetilkolin ile sinaptik ilişki sağlayan sinir liflerine kolinerjik lifler, norepinefrin ile sinaptik ilişki sağlanan sinir liflerine adrenerjik lifler denir. Ancak her iki sistemde de bazı sinir liflerinden asetilkolin ve norepinefrinden bağımsız ileti sağlanmaktadır. Bu sinir liflerine non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) sinir lifleri denir.

Kolinerjik ve adrenerjik sinir liflerinden salınan ve sinaptik ilişkiyi sağlayan maddelere nörotransmitter denmektedir. Asetilkolin ve nöradrenalin bahsedilen

nörotransmitterlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda sinaptik aralıktaki nörotransmitterlerin etkisini düzenleyen ama tek başına impuls iletiminde etkisi olmayan ve ko-transmitter olan maddelerin varlığı saptanmıştır (134). Ko-transmitterler sinaptik aralıktaki her impuls iletiminde üretilmez. Çoğunlukla yüksek frekanslı impuls iletiminde veya hiperaktivasyon durumlarında ko-transmitter salınımı gerçekleşmektedir.

Ko-transmitterlerin sinaptik aralığa salınmasında en önemli belirleyici SNARE proteinleridir (135,136). Tükürük ve ter bezlerinde ko-transmitterler bolca bulunmaktadır. VIP (vazoaktif intestinal peptit), ATP (adenozintrifosfat) ve NPY (nöropeptit Y) önemli ko-transmitterlere örnektir. VIP kolinerjik sinir liflerinden asetilkolin ile beraber salınırken, NPY ve ATP ise adrenerjik liflerdeki norepinefrine eşlik etmektedir. Özellikle kanama ve aşırı egzersiz gibi ciddi stres durumlarında sinaptik aralıktaki NPY miktarı oldukça fazladır (137-139).

Ko-transmitterler peptit ya da amin yapıda olabilir. Amin yapılı ko-transmitterlere esas nörotransmitterler de denmektedir. Amin yapılı olanların etkisi daha hızlı ve kısa süreli olmaktadır. Ayrıca peptit yapılarının aksine amin yapıları sinaptik aralıktan sinir lifine geri döner, re-uptake olur.

Tablo 2.3. Bazı Nörotransmitterler ve Olası Roller (141)

Nörotransmitter – Kotransmitter	Olası Görevi
Asetilkolin (Ach)	Otonom sinir sistemi (OSS) gangliyonlarının, somatik nöromusküler bileşkenin ve parasempatik postganglionik sinir sonlanmalarının primer transmitteridir. Otonom sinir sisteminde düz kas ve salgı bezlerinin primer ekzizatörüdür.
Adenozintrifosfat (ATP)	Otonom sinir sistemi efektör sinapslarında ko-transmitter olarak görev alır.
Dopamin	OSS gangliyonlarında düzenleyici transmitter olarak görev alır.

Enkefalin ve ilişkili opioidler	Ach salınımını ve peristaltizmi azaltır. Sekresyon artırıcı etkisi olabilir.
Gamaaminobütirat (GABA)	Eksitatuvar OSS sinir terminallerinde presinaptik düzenlemede rolü vardır.
Kalsitonin ilişkili peptit (CGRP)	Kardiyak stimülan özelliğindedir. Kardiyovasküler duysal sinir liflerinde ko-transmitter olarak görev alır.
Nitrik oksit (NO)	OSS nöromuskuler bileşkede inhibitör ko-transmitter olarak görev alır.
Norepinefrin (NE)	Sempatik postgangliyonik sinir sonlanmalarının primer transmitteridir.
Nöropeptit Y (NPY)	Vazokonstriktör özelliğindedir. Bazı parasempatik postgangliyonik liflerde ko-transmitter olarak görev alır.
Serotonin (5-HT)	Otonom sinir sisteminde nöronlar arası bileşkede ko-transmitter olarak görev alır.
Substans P	Vazodilatatör özelliğindedir. Nöromuskuler bileşkede eksitatuvar nörotransmitter olarak görev alır.
Vazoaktif İntestinal Peptit (VIP)	Vazodilatatör özelliğindedir.

Otonom sinir sisteminin preganglionik ve postganglionik liflerinin nörotransmitterlerinde benzerlikler vardır. Her iki sistemin preganglionik lifleri kolinerjik özelliğindedir. Ancak sempatik sistemin postganglionik lifleri adrenerjik özellikte iken parasempatik sistemin postganglionik liflerinin çoğu kolinerjik özelliğindedir.

Otonom sinir sistemi etkilerini farklı reseptörler üzerinde gösterir. Parasempatik sistem nikotinik ve muskarinik reseptörler tarafından etkili iken sempatik sistem alfa (α) ve beta (β) reseptörleri üzerinden etkili olmaktadır. Parasempatik sistem genellikle vazodilatatör etkide iken sempatik sistemin etkisi vazokonstriktör yöndedir. Parasempatik etkiyle vazodilatasyonun en belirgin olduğu

bölge malar bölgedir. Sempatik sistem genellikle vazokonstriktör etkidedir ancak α reseptörler vazokonstrüksiyonda, β_2 reseptörler vazodilatasyonda rol alır.

2.5.7. Botulinum Toksinin Otonom Sinir Sistemi ile İlişkisi

Botulinum toksini ile sinaptik aralıkta nörotransmitterlerin etkisini düzenleyen ko-transmitterlerin yakın ilişkisi vardır. Çünkü botulinum toksin nöromusküler kavşakta etkisini SNARE proteinleri üzerinden gerçekleştirir. Aynı zamanda ko-transmitterlerin sinaptik aralığa salınmasında en önemli belirleyici unsur SNARE proteinleridir.

Morris ve arkadaşları tarafından kobay vena kavasında yapılan çalışma sonucunda botulinum toksinin norepinefrin kaynaklı vazokonstrüksiyon oranını azalttığı saptanmıştır. Ayrıca kobayın uterus arterlerindeki konstrüksiyon sıklığında azalma olduğu da anlaşılmıştır (15,140).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi ile Akdeniz Üniveristesi Deney Hayvanları Ünitesinden gerekli etik kurul izinleri alınmıştır (Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarih:17.07.2017, karar no:57). Deney Akdeniz Üniversitesi deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Delay fenomeninde botulinum toksinin etkisini değerlendiren çalışmamızda 3 aylık olan ve ağırlıkları 150-200 gram arasında değişen 30 adet wistar rat türü dişi sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma amacıyla random paternli sırt flepleri tercih edilmiştir. Denekler 3 eşit gruba ayrılmıştır.

1. GRUP: Bu grup kontrol grubudur. Sıçan sırt bölgesinde hazırlanan random paternli sırt flebine herhangi bir toksin uygulaması yapılmamıştır. Cerrahi işlemden (delay prosedüründen) 1 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir.
2. GRUP: Bu gruptaki deneklere delay işleminden önce botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmıştır. Toksin uygulamasından 1 hafta sonra delay prosedürü uygulanmış, uygulamadan 1 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir.
3. GRUP: Bu gruptaki deneklerde sırt flebi hazırlanmış, delay prosedürüne uygun olarak cerrahi işlem gerçekleştirilmiştir. Orijinal yerine sütüre edilen flebe botulinum toksin tip A uygulaması yapılmıştır. Toksin uygulaması ve delay prosedürü aynı seansta yapıp 1 hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir.

Deney sonunda makroskopik olarak flep sağkalım oranları değerlendirilmiştir. Ayrıca histopatolojik ve vasküler inceleme amacıyla doku örnekleri hazırlanmış ve alınmıştır.

Denekler preoperatif, intraoperatif ve postoperatif dönemlerde oda ısısının 18–20°C, ışığın biyoritme uygun olarak düzenlendiği (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) ve hava akımının dengeli olduğu odalarda bulunmuşlardır. Denekler birbirlerine zarar vermelerini önlemek amacıyla ayrı ayrı kafeslerde muhafaza edilmiştir. Denekler standart sıçan diyeti ile beslenmişlerdir. Deneyin tümü aynı araştırmacılar tarafından yürütülmüş ve takip edilmiştir.

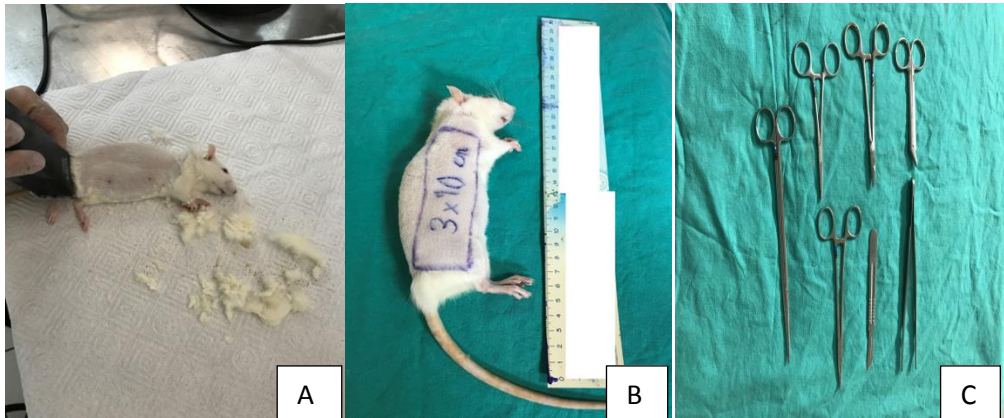
3.1. Anestezi Sağlanması

Tüm denekler sedatif anestezi sağlanması için eter kabında bekletilmiştir. İnceleme ile sedatif etkinin oluştuğuna karar verince denekler eter kabından çıkarılmıştır. Daha sonra ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (3 mg/kg) ilaçlarının intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi sağlanmıştır. Anestezinin derinliği ekstremitelerden çekme yanıtına göre belirlenmiştir. Denek ayak parmaklarına ağırlı uyarın verilmesine rağmen ekstremitelerden herhangi bir yanıt oluşmaması yeterli anestezinin göstergesi kabul edildi.

3.2. Preoperatif Hazırlık

Anestezisi sağlanan deneklerin sırt bölgeleri elektrikli makine ile tıraş edildi. Flep tasarlanan bölge povidon iyot ve serum fizyolojik ile temizlendi. Daha sonra her denneğin sırtının sağ tarafına 3x10 cm boyutlarında flep dizayn edildi. Flep dizaynında flebin pedikülünün kaudalde iliak çıkıntının olduğu hizada olmasına dikkat edildi.

Deney sürecinde portegü, dişli penset, 15 ve 20 numara bistüri, eğri makaslar ve düz klempler kullanıldı. Dikiş için 4/0 keskin iğneli polipropilen sütürler (propilene®, doğsan) kullanılmıştır. Bu deneyde botulinum toksin tip A içeren Botox® kullanılmıştır.



Şekil 3.1A. Deneklerin elektrikli makine ile tıraş edilmesi B. Random paternli sırt flebi dizaynı C. Deneyde kullanılan aletler

3.3. Cerrahi İşlem

3.3.1. Kontrol Grubu

Deneklerde yeterli anestezi sağlandıktan sonra cilt kalemleri ile flep dizayn edilmiştir. Pedikülü kaudalde iliak kanat hizasında olacak şekilde 3x10 cm boyutlarında derin fasya üzerinden pannikulus karnozus tabakasını içeren flep kaldırılmıştır. Daha sonra 4/0 keskin iğneli polipropilen sütürlerle flep yerine sütüre edilmiştir. Cerrahi işlem sonunda insizyon alanları povidon iyot ve serum fizyolojik ile temizlenmiş, basitrasın içerikli pomadlar insizyon alanlarına sürülmüştür.



Şekil 3.2. Random paternli sırt flebinin kaldırılması

3.3.2. Predelay Grubu

Bu grupta yer alan deneklere flep elevasyonundan önce botulinum toksin tip A enjeksiyonu planlanmıştır.

Sırtta dizayn edilen flep 10 eş alana ayrılacak şekilde çizilmiştir. Her bir alana subkutan enjeksiyonla 1'er ünite botulinum toksin tip A verilmiştir. Böylece bu gruptaki her bir deneğe toplamda 10 ünite toksin enjeksiyonu yapılmıştır (160). Toksin enjeksiyonundan sonra flep elevasyonu için 1 hafta beklenmiştir. 1 hafta

sonra kontrol grubunda yapılan delay prosedürüne benzer şekilde cerrahi işlem ve pansuman yapılmıştır.



Şekil 3.3. Predelay grubundaki deneklere delay prosedüründen önce botulinum toksin A uygulanması

3.3.3. Postdelay Grubu

Bu grupta yer alan deneklere delay prosedürünün bitiminde botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmıştır. Diğer 2 grupta olduğu gibi flep kaldırılmış ve delay prosedürü uygulanmıştır. Flep yerine sütüre edildikten sonra flebin yüzey alanının çizimle 10 eş parçaya ayrılmasını takiben her bölgeye 1'er, toplamda her deneğe 10'ar ünite subkutan botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmıştır. Tüm gruplarda benzer şekilde cerrahi işlem ve pansuman yapılmıştır.



Şekil 3.4. Postdelay grubundaki deneklere delay prosedüründen sonra toksin enjeksiyonu

3.3.4. Postoperatif Bakım

Kontrol grubunda yer alan ratlar cerrahi işlem sonrası 1 hafta, predelay grubunda yer alan ratlar sırasıyla toksin enjeksiyonu ve cerrahi işlem sonrasında birer hafta yani toplamda 2 hafta, postdelay grubunda yer alan ratlar aynı seansta yapılan cerrahi işlem ve toksin enjeksiyonu sonrasında 1 hafta takip edilmiştir. Tüm deneklere postoperatif dönemde günlük thiocilline® deri pomadı ile açık pansuman yapılmıştır. Preoperatif ve postoperatif dönemlerde denekler standart sıçan diyeti ile beslenmişlerdir.

3.3.5. Sakrifikasyon ve Flep Sağkalımını Değerlendirmeye Yönelik Son İşlemler

3 grupta yer alan tüm denekler eter kabında bekletilerek sakrifiye edilmiştir. Tüm deneklere vasküler inceleme amacıyla intrakardiyak kontrast madde verilmiştir. 50 °C sıcaklıktaki 400 ml serum fizyolojiğe 12.5 gram jelatin, 4 ml mürekkep ve 160 gram toz baryum sülfat eklenmesi ile kontrast madde solüsyonu hazırlanmıştır. Kontrast maddenin denek vücudunda yeterli dağılımının olduğunu anlamak için deneğin batını açılarak mezenterik damarlar görünür hale getirilmiştir. Ayrıca kasık damarları da kesilerek ucu açık hale getirilmiştir. İntrakardiyak verilen kontrast maddenin mezenterik damarlara dolması ve kasıkta açık bırakılan damarlardan sızması sonucunda kontrast madde enjeksiyonu sonlandırılmıştır.

Kontrast madde enjeksiyonunun tamamlanmasıyla 3x10 cm boyutlarında hazırlanan flepler preoperatif çizimlere sadık kalınarak eksize edilmiştir. Fleplerin sağkalım oranları makroskopik olarak biyometrik çizimlerle ölçülmüştür. Daha sonra vasküler değerlendirme amacıyla fleplerin skopi altında röntgen ışınları ile filmleri çekilmiştir. Makroskopik olarak sağkalım oranları ölçülen ve röntgenleri çekilen flepler daha sonra histopatolojik inceleme amacıyla patoloji kliniğine gönderilmiştir.



Şekil 3.5A. Sakrifiye edilen bir deneğin göğüs ve karın içinin açılması, kasık damarlarının ucu açık hale getirilmesi B. İntrakardiyak verilen kontrast maddenin mezenterik ve kasık damarlarına dolması



Şekil 3.6. Kontrast madde verilen denekten ayrılan flep

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE BULGULAR

4.1. Flep Nekroz Oranlarının Değerlendirilmesi

Sakrifiye edilen deneklere kontrast madde verilmesinden sonra flepler ayrılmıştır. Makroskopik olarak kontrol grubunda yer alan fleplerin daha yüksek oranda nekroz oranına sahip olduğu görülmüştür.

Biyometrik kağıt yardımı ile fleplerin nekroz oranları ölçülmüştür. Çıkan sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel analizler için SPSS ver 18.0 programı kullanıldı. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metodlardan ortalama, standart sapma, medyan değer, normal minimum ve maksimum değerler kullanıldı. Grupların parametreleri karşılaştırılırken öncelikle normal dağılıma uygun olup olmadıklarına bakıldı. Normal dağılıma uymayan bağımsız grupların parametreleri kıyaslanırken Kruskal Wallis testinden faydalanıldı. $P < 0.001$ şartına uyum sağlayanlar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta kabul edildi. Parametrelere göre fark bulunan gruplarda, hangi grubun diğerinden farklı olduğunu anlamak için post hoc test yapıldı. Bunun için Mann Whitney U testi kullanıldı. Bonferroni düzeltmesi ile gruplar arası p değeri $0.05/3 = 0.017$ olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla Kruskal-Wallis analizi sonrası gruplar arasındaki farkın test edilmesi için kullanılan Mann Whitney U testi için anlamlılık $p=0.017$ olarak alınmıştır.

Tablo 4.1. Gruplara ait ölçümlerin tanımlayıcı istatistiksel verileri

	KONTROL GRUBU (%)	PREDELAY GRUBU (%)	POSTDELAY GRUBU (%)
ORTALAMA	27.325	15.76	7.863
STANDART SAPMA	6.673	6.069	4.383
MEDYAN DEĞER	28.66	15.225	6.76
MİNİMUM DEĞER	18.38	8.37	2.66

MAKSİMUM DEĞER	36.83	26.53	17.09
-------------------	-------	-------	-------

Grupların nekroz % değerleri karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Yapılan post hoc analizi sonuçlarına göre gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapılmış ve kontrol grubu nekroz oranının diğer gruplara göre daha yüksek olması istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (kontrol ve predelay gruplar arası p değeri=0.002; kontrol ve postdelay gruplar arası p değeri=0.000). Predelay ve postdelay grupları karşılaştırıldığında ise, predelay grubuna ait değerlerin yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.007$).

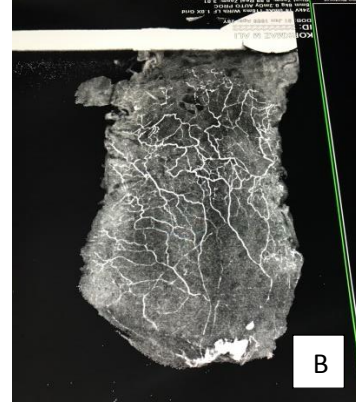
Bu veriler ışığında, verilen botulinum toksini anlamlı bir kazanım sağlamıştır, delay gruplarındaki nekroz oranları kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşüktür.

Delay grupları karşılaştırıldığında, ilacın geciktirme işleminden sonra verilmesi istatistiksel açıdan daha anlamlı bulunmuştur.

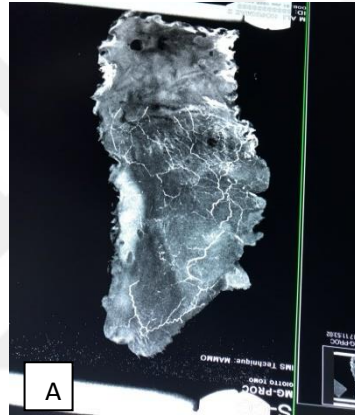
4.2. Fleplerin Anjiyografik Değerlendirilmesi

Fleplerin vasküler açıdan değerlendirilebilmesi için yumuşak doku çözünürlüğü en yüksek olan mamografi çekimi tercih edilmiştir. Bunun için miliamper (mA) ve kilovoltaj (kV) parametrelerinin kullanıldığı Giotto marka mamografi cihazı kullanılmıştır. Değerlendirme deneyimli girişimsel radyolog tarafından yapılmıştır.

Tüm gruplarda, alınan anjiyozomlarda flep distal kesimlerinde perfüzyon defektine ait kapiller boyanma bozukluğu izlenmiştir. Ancak makroskopik değerlendirmede perfüzyon defektine ait kapiller boyanma bozukluğunun en düşük olduğu grup postdelay grubu olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1A ve B. Postdelay grupta yer alan fleplerin örnek anjiyografik görüntüleri



Şekil 4.2A ve B. Predelay grupta yer alan fleplerin örnek anjiyografik görüntüleri



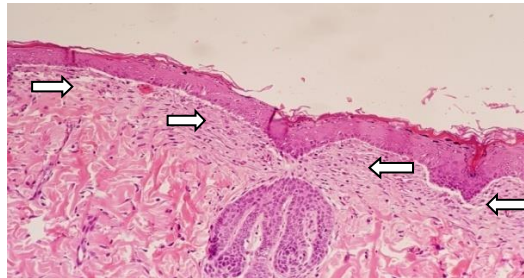
Şekil 4.3A ve B. Kontrol grubunda yer alan fleplerin örnek anjiyografik görüntüleri

4.3. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Üç gruba ait materyaller makroskopik olarak incelendikten sonra her bir olgudan nekroz alanı, sağlam alan ve nekroz-sağlam bölge komşuluğu alanlarını içerecek şekilde üçer adet doku örneklendi. Örneklenen dokular %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine konularak fikse edildi. Fikse edilen dokular alkol, ksilol ve parafin solüsyonları içeren otomatik doku takip cihazında takip edilerek parafin blok haline getirildi. Parafin bloklar mikrotom ile 4 mikron kalınlığında kesitler yapılarak lam üzerine doku kesitleri alındı. Doku kesitleri deparafinize edildikten sonra rutin Hematoksilen-Eosin histokimyası ile otomatik doku boyama cihazında boyandı. Son olarak lam yüzeyi balsam ile lamel kapatılarak mikroskopik inceleme yapıldı.

Makroskopik olarak tüm olgularda bir kenarda fokal nekroz izlendi. Postdelay grubundaki olgularda diğer gruplara göre nekroz alanının daha ufak bir alanı tuttuğu dikkat çekti.

Mikroskopik incelemede tüm gruplarda epidermis, dermis, subkutan yağ dokusu ve kas dokusunda fokal nekroz alanları gözlemlendi. Nekroz alanları çevresinde akut ve kronik inflamatuvar hücreler, kapiller damar proliferasyonu ve fibroblastik proliferasyon gözlenen granülasyon dokusu izlendi. Nekroz izlenmeyen alanlarda kas dokusu altında ve kas dokusu içerisinde yabancı cisim granülasyon dokusu gözlemlendi. Mikroskopik olarak bu özellikler arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Sadece postdelay grubundaki olguların bazılarında nekroz-sağlam doku içeren örneklerde dermoepitelial bileşkede bant şeklinde fibroblastik proliferasyon dikkati çekti.



Şekil 4.4. Postdelay grubunda sağlam-nekroz doku bileşkesinden alınan örnekte dermoepitelial bileşkedeki artmış fibroblastik proliferasyon

5.TARTIŞMA

Temeli İ.Ö.6. yüzyılda ünlü Hint cerrahı Sushruta tarafından atılan flepler rekonstrüktif cerrahide oldukça önemlidir. Deri anjiozom ünitelerinin tanımlanmasıyla flep dizaynı daha dikkatli hale gelmiş, daha geniş ve sağkalım oranı daha yüksek flepler keşfedilmiştir. Özellikle ameliyathane mikroskobunun aktif kullanılmaya başlamasıyla mikrovasküler doku transferleri artmış, böylece rekonstrüksiyonun başarısı artmıştır.

Rekonstrüktif merdiven; herhangi bir doku yaralanmasında rekonstrüktif cerrahın kılavuz olarak kullanabileceği bir algoritmadır. Merdivenin temel mantığı ‘primum non nocere (önce zarar verme)’ ilkesine dayanarak, hasta ve cerrah için basit olan rekonstrüksiyon seçeneklerinin öncelikli uygulanmasıdır. Defektin primer onarımı ve sekonder takibi rekonstrüktif merdivenin ilk basamaklarını oluşturur. Sekonder yara bakımı ve primer onarım ile kapatılamayacak defektlerin onarımında rekonstrüktif merdivendeki sıraya göre greftler düşünülmelidir. Ancak daha kompleks defektlerin ve greft ile rekonstrüksiyonu uygun olmayan defektlerin flep ile rekonstrüksiyonu planlanabilir. Flep ile rekonstrüksiyonda ise öncelikli olarak daha kolay ve pratik, morbiditesi düşük flepler tercih edilmelidir. Lokal flepler ile başlayan flep seçenekleri mikrovasküler serbest doku transferine kadar ilerleyebilir.

Gelişen teknoloji ve başarılı flep cerrahileri sayesinde, rekonstrüktif merdivende üst sıralarda bulunan fleplerin kullanım alanları genişlemiştir. Kompleks doku defektlerinin hem yapısal hem de fonksiyonel olarak benzer şekilde onarılmasında, tek tip ancak derin doku kayıplarının onarılmasında, önemli nörovasküler yapılara yakın olan yaralanmalarda, radyoterapi gibi tedavilere, enfeksiyona ve dış etkenlere karşı daha dayanıklı onarım sağlanmasında, rekonstrüksiyonun kozmetik olarak daha kabul edilebilir olacağı durumlarda flepler tercih edilebilir. Fayda/zarar dengesi göz önünde bulundurularak merdivenin alt basamakları atlanabilir.

Teknolojik gelişmelere ve fleplerin bu kadar sık uygulanmasına bağlı olarak flep cerrahisindeki başarı oranı yüksektir. Özellikle mikrovasküler doku nakillerinin yaygınlaşmasıyla flep cerrahisindeki başarı oranı bir hayli yükselmiştir. Buna rağmen kısmi ya da tam flep kayıpları ile halen karşılaşılmaktadır. Hastada var olan ve yara iyileşmesine engel olan (sigara kullanımı, Diyabetes mellitus, kronik böbrek yetmezliği, anemi, bağ doku hastalıkları, vasküler hastalıklar, madde bağımlılığı, malnütrisyon, diğer sistemik hastalıklar vs) durumlar flep cerrahisinin başarı oranını düşürmektedir. Defektin olduğu bölgede enfeksiyon varlığı, bölgesel oksijen konsantrasyonunda düşüklük, damar yetmezlikleri gibi lokal sorunlar da rekonstrüksiyonun başarısını olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle günümüzde uygulanmakta olan fleplerin sağkalım oranlarının arttırılmasına yönelik çalışmalar, yeni flep keşfini amaçlayan çalışmalar kadar önemlidir. Çünkü yara iyileşmesine engel olan, hastada ve defekt bölgesindeki mevcut problemler rekonstrüksiyon için tercih edilecek flep seçeneklerini oldukça kısıtlamaktadır. İşte bu durumda tercih edilen flebin sağkalım oranının yüksek olması arzu edilen bir durumdur.

Flep sağkalım oranının arttırılması için günümüzde en sık kullanılan yöntem cerrahi geciktirmedir. Cerrahi geciktirme; flebin transfer edilmeden önce geçici süreliğine iskemik hale getirilmesidir. Cerrahi geciktirme sayesinde flepte vasküler anlamda olumlu değişiklikler gerçekleşmektedir. Cerrahi geciktirme, flep dokusunda yer alan komşu anjiozom üniteleri arasında bulunan şok (choke) damarlarının çapının artmasını sağlamaktadır. Ayrıca flepte bulunan uzunlamasına yerleşimli damarların çapında genişleme olmaktadır. Bu değişikliklerin sonucunda flebin distalindeki kanlanma oranı artmakta böylece sağkalım oranı artmaktadır.

Cerrahi geciktirme işleminin flep dokusuna faydası olduğu kadar hasta ve cerrah için bazı dezavantajları mevcuttur. Rekonstrüksiyonun tamamlanması için en az 2 seans gerektirmesi, bu sürede hastanın hastanede kalış ve dolayısıyla sosyal hayattan uzak kalma süresinin uzun olması, pansuman ve yara bakım sürecinin uzaması, sağlık giderlerinin artması gibi olumsuz etkenler cerrahi geciktirme işleminin kullanım sıklığını sorgulatmaktadır.

Cerrahi geciktirme sürecinde bahsedilen bu olumsuz durumlar nedeniyle araştırmacıların ilgisi cerrahi dışı flep sağkalımını arttıran yöntemlere kaymıştır. Vasküler etkilerinin olduğu bilinen birçok önemli farmakolojik ajanın flep sağkalımına etkileri araştırılmıştır.

İçeriğinde bulunan birçok büyüme faktörü nedeniyle plazmanın anjiogenez üzerine olumlu etkilerinin olabileceği tahmin edilmiştir. Bu nedenle plazma büyüme faktörlerinin en yüksek konsantrasyonda olduğu plateled-rich plazmanın (PRP) flep sağkalımı üzerine olası etkileri araştırılmıştır.

Dong Kyun Rah ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada PRP uygulaması ile iskemi/reperfüzyon durumunun flep sağkalımına etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 4 eşit gruba ayrılmak üzere toplam 120 fare kullanılmıştır. İlk grup kontrol grubu, ikinci grup PRP uygulaması yapılan grup, üçüncü grup iskemik grup ve son grup ise PRP uygulanıp iskemik bırakılan grup olmak üzere planlanmıştır. Çalışmada lateral torasik arter bazlı ada flebi tercih edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre ikinci grup ile dördüncü gruptaki sağkalım oranlarının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca tüm gruplar içerisinde sağkalım oranının en yüksek olduğu grup ikinci grup olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak flebe PRP uygulamasının sağkalım oranını anlamlı bir şekilde arttırdığı anlaşılmıştır (142).

Anjiogenez üzerine çok önemli etkileri olan FGF-1 ve FGF-2'yi değerlendiren çalışmada 3 eşit gruba ayrılan 30 rat kullanılmıştır. Ehsan Fayazzadeh ve arkadaşları tarafından ratların dorsal bölgelerinden random paternli deri flepleri kaldırılmıştır. Çalışma sonunda yapılan değerlendirmelere göre FGF-1 ve FGF-2'nin fleplerdeki nekroz oranını anlamlı derecede düşürdüğü görülmüştür. Bu etki FGF-2'de daha güçlüdür (143).

Nurten Turhan Haktanır ve arkadaşları tarafından IGF-1 (insülin like growth factor-1) büyüme faktörünün flep sağkalımına etkileri araştırılmıştır. 3 eş gruba ayrılan 30 rat üzerinde random paternli sırt flebi çalışılmıştır. Çalışma

sonucunda IGF-1'in flep sağkalımına istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (144).

D vitamini metaboliti olan kalsitriol, osteoporoz tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında kalsitriolün angiogenezi uyarma gibi biyoaktif görevlerinin de olduğu bilinmektedir. Kai-liang Zhou ve arkadaşları tarafından 84 rat üzerinde yapılan çalışmalarda McFarlane flebi tercih edilmiştir. 2 eşit gruba ayrılan ratların bir grubu kontrol grubu, diğer grubu ise intraperitoneal kalsitriol yapılan grup olarak belirlenmiştir. Çalışma sonunda kalsitriolün flep sağkalım oranını ve VEGF düzeyini anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır (145).

Arka hipofiz bezinden salınan ve vücutta birçok önemli aktivitede görevi olan oksitosinin flep sağkalımına olası etkileri Peng-Fu Xu ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. 2 eşit gruba ayrılan 80 ratın ilk grubu kontrol, diğer grup ise oksitosin grubu olarak belirlenmiştir. Çalışma sonunda oksitosinin mikrosirkülasyon ve anjiogeneze olan olumlu etkileri sayesinde flep sağkalım oranlarında anlamlı artışa aracılık ettiği anlaşılmıştır (146).

Bilsev İnce ve arkadaşları tarafından biberiye ekstresi olan Rosmarinus officinalis yağının flep sağkalımına etkileri araştırılmıştır. Random paternli sırt flepleri tercih edilen ve toplamda 35 ratta gerçekleşen çalışmada, rosmarinus officinalis yağının flep sağkalım oranlarını anlamlı ölçüde arttırdığı saptanmıştır (147).

Naringin; özellikle greyfurtta bolca yer alan kuvvetli bir antioksidan maddedir. VEGF sentezi üzerine olumlu etkileri olan naringinin flep sağkalımına etkileri Liang Cheng ve arkadaşları tarafından değerlendirilmiştir. Random paternli sırt flebi hazırlanan 35 rat üzerinde yapılan deney sonucunda naringinin flep sağkalım oranlarını anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (148).

Qing-Bo Lv ve arkadaşları meyan kökünde bulunan ve kortizon benzeri etkileri olan glisirhizinik asitin flep sağkalımına olası etkilerini araştırmıştır. Çalışma

sonucunda gliserhizinik asitin flep sağkalımına anlamlı derecede olumlu etkilerinin olduğu anlaşılmıştır (149).

Geven ya da Çin geveni olarak bilinen Astragaloside IV Renjin Lin ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Çalışma sonunda Astragaloside IV maddesinin anjiogenezi uyarıcı, inflamasyonu baskılayıcı ve oksidatif stres hasarını azaltıcı etkilerinden dolayı flep sağkalımlarında anlamlı artış sağladığı görülmüştür (150).

Ayşe Öztürk ve arkadaşları tarafından random paternli sırt flebi hazırlanan 40 rat üzerinde gerçekleştirilen deney sonunda aminoguanidin adlı maddenin flep nekrozuna karşı önemli bir koruyucu madde olduğu saptanmıştır (151).

Ksantin oksidaz inhibitörü olarak bilinen allopürinol kuvvetli bir antioksidan maddedir. 20 köpek üzerinde Mehdi Rasti Ardakani ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma sonucunda allopürinolün flep nekroz oranlarında anlamlı ölçüde düşüşe aracılık ettiği saptanmıştır (152).

Tıp alanında çok önemli bir yeri olan botulinum toksini 18. ve 19. yüzyıllarda keşfedilmiştir. Toksinin etki mekanizması ise ancak 20. yüzyılda anlaşılmıştır. Toksinin istemli çalışan kasların yanında istemsiz çalışan kaslara da etkili olduğu anlaşılmıştır. Otonom sinir sistemine etki etmesi, toksinin kozmetik dışı sorunlarda da kullanabileceği fikrini doğurmuştur. Toksinin sempolitik etki ile vazokonstrüksiyonu azaltması ve göreceli olarak vazodilatasyonu arttırmasının anlaşılması üzerine araştırmacılar flep çalışmalarında botulinum toksinin etkilerini çalışmışlardır.

Gökhan Temiz ve arkadaşları ratlar üzerinde cerrahi geciktirme ile farmakolojik geciktirmenin karşılaştırıldığı bir çalışma yapmışlardır. Farmakolojik ajan olarak botulinum toksin tip A tercih edilmiştir. Çalışmada 5 eşit gruba ayrılan toplamda 40 rat kullanılmıştır. İlk grup olan kontrol grubunda flep kaldırılıp yerine dikilmiştir. İkinci grupta flebe intramuskuler salin enjeksiyonu, üçüncü grupta flebe intramuskuler botulinum toksin tip A enjeksiyonu uygulanmıştır. Dördüncü grupta

herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmamış, sadece cerrahi geciktirme prosedürü uygulanmıştır. Bunun için epigastrik arter bağlanmış, 2 hafta sonra cerrahi geciktirme işlemi yapılmıştır. Son gruptaki ratlara ise hem cerrahi hem kimyasal geciktirme işlemi yani hem botulinum toksin tip A enjeksiyonu hem de cerrahi geciktirme işlemi uygulanmıştır. Çalışma sonunda herhangi bir geciktirme işlemi yapılmayan 1. ve 2. gruptaki fleplerde nekroz oranının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Ancak geciktirme grupları arasında (grup 3, 4 ve 5) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (153).

L. Huang ve arkadaşları 32 rat üzerinde botulinum toksin tip A'nın etkilerini araştırmıştır. Denekler 16'sı arteriyel ve 16'sı venöz grup olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Her grupta da 8 rata subkutanöz salin enjeksiyonu kalan 8 rata ise subkutan botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmıştır. Arteriyel grupta yer alan fleplerin epigastrik arterine, venöz grupta yer alan fleplerin epigastrik venine 6 saat süreli klemp yerleştirilmiştir. Çalışma sonunda arteriyel ve venöz gruptaki fleplerin nekroz oranlarında anlamlı bir fark olmadığı, ancak botulinum toksin tip A'nın nekroz oranını düşürmede önemli fayda sağladığı anlaşılmıştır (154).

Cristina Pires Camargo ve arkadaşları botulinum toksin tip A'nın deri fleplerine olan etkilerini 30 sağlıklı rat, 30 sigara içen rat ve 30 diyabetik rat olmak üzere toplam 90 ratta araştırmışlardır. Her grubun yarısına intradermal salin enjeksiyonu yarısına da intradermal botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonlardan 7 gün sonra tüm ratlarda random paternli sırt flepleri kaldırılmıştır. Çalışma sonunda sağlıklı ve diyabetik ratlarda botulinum toksin tip A enjeksiyonunun flep sağkalımını anlamlı şekilde arttırdığı saptanmıştır. Ancak sigara içen ratlarda botulinum toksin tip A'nın flep sağkalımına anlamlı bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (155).

Bunun üzerine Cristina Pires Camargo ve arkadaşları sigara içen ratlar üzerinde yeni bir çalışma yapmıştır. Çalışmada sigara dumanına 2 ay maruz kalan 30 rat ile 4 ay maruz kalan 30 rat kullanılmıştır. Her 2 gruptaki 30 deneğin yarısına flep cerrahisinden 1 hafta önce salin enjeksiyonu kalan yarısına ise botulinum toksin tip

A enjeksiyonu yapılmıştır. Cristina Pires Camargo'nun bu çalışmasının sonunda ise botulinum toksin tip A'nın sigara içen ratlarda flep sağkalım oranını anlamlı derecede arttırdığı anlaşılmıştır (156).

Hikmet Karayel ve arkadaşları da botulinum toksinin sigara içen ratlardaki etkisini araştırmıştır. Çalışma sonunda ise botulinum toksin A'nın sigara içen ratlarda flep nekroz oranını anlamlı bir şekilde düşürdüğü anlaşılmıştır (157).

Tae Hwan Park ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada flepler üzerinde salin ve botulinum toksin tip A enjeksiyonlarının karşılaştırılması yapılmıştır. Botulinum toksin tip A'nın CD34, HIF-1 α , VEGF ve NF-kB seviyelerini yükselterek flep sağkalımında anlamlı derecede artışa neden olduğu saptanmıştır (158).

Botulinum toksin A enjeksiyonu ile nitrogliserin içerikli kremler arasında da çalışmalar yapılmıştır. Kourosh Ghanbarzadeh ve arkadaşları tarafından 72 rat üzerinde yapılan çalışmada denekler 4 eşit gruba ayrılmıştır. 1. grupta botulinum toksin tip A enjeksiyonu ve nitrogliserin içerikli krem uygulaması yapılmıştır. 2. gruba botulinum toksin tip A enjeksiyonu yapılmış ve vaseline® sürülmüştür. 3. gruba salin enjeksiyonu yapılmış ve nitrogliserin içerikli kremler sürülmüştür. Son gruba ise salin enjeksiyonu yapılmış ve vaseline® sürülmüştür. Çalışma sonunda botulinum toksin tip A'nın distal flep nekrozunda anlamlı bir düşüş sağladığı görülmüştür. Topikal nitrogliserin uygulamasının flep nekrozunu azalttığı görülse de bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (159).

Esra Çelik Soylu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 30 rat üzerinde botulinum toksinin kas fleplerinin stabilizasyonuna etkileri araştırılmıştır. Tüm ratlarda pediküllü pektoralis major kas flebi kaldırılmıştır. Çalışma sonunda botulinum toksinin kas fleplerinin stabilizasyonunda yararlı olduğu sonucuna varılmıştır (117).

6.SONUÇ

Flep cerrahisindeki en önemli sorunlardan biri kısmi ya da tam flep nekrozudur. Bu nedenle distal flep nekrozunu azaltmayı ya da flep sağkalım oranını arttırmaya yönelik çalışmalar oldukça değerlidir. Flep distalindeki nekrozu azaltan etkili yöntemlerden biri cerrahi geciktirme (delay prosedürü) uygulamalarıdır. Ancak cerrahi yöntemlerin uzun sürmesi (en az 2 seans), hastanede kalış ve sosyal hayattan uzak kalma süresinin uzun olması, maliyetli olması gibi olumsuz yanları nedeniyle araştırmacılar noninvaziv yöntemlerle de ilgilenmeye başlamışlardır. Vasküler etkileri olan birçok farmakolojik ajanın flep sağkalımına etkileri araştırılmıştır. Ucuz ve kullanımı kolay olan, kısa sürede fayda sağlayan, tedavi süresini kısaltan farmakolojik ajanların flep cerrahisinde yer alması muhtemeldir.

Bizim çalışmamızda kullandığımız botulinum toksin tip A'nın flep distalindeki nekrozu istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığı görülmektedir. Bu sonucun, toksinin otonom sinir sistemine etkilerinden dolayı gözlemlendiği bilinmektedir. Aynı zamanda toksinin araşidonik asit metabolizmasına etkilerinin de flep sağkalım oranını arttırabileceği tahmin edilmektedir. Önümüzdeki süreçlerde yapılacak çalışmalarla botulinum toksin tip A'nın flep sağkalımına olan pozitif etkilerinin mekanizması tam olarak anlaşılabilecektir. Ayrıca farklı farmakolojik ajanların da çalışılmasıyla daha ucuz ve flep sağkalımına daha faydalı ajanlar keşfedilebilir.

7.KAYNAKLAR

1. Converse M.J.: Intraduction to Plastic Surgery. In :Reconstructive Plastic Surgery Editor :Converse M.J.,W.B. Saunders Company, Philadelphia Vol.:1,P.:3-69.1977
2. Cormack, G.C.,Lamberty ,B.G.H.:Introduction: The arterial anatomy of skin flaps Ed.Cormack ,G.C. Churchill Livingstone .Firs Edition.P.1,1986
3. Çağdaş ,A.,Akin ,Y.Songür,E.: Plastik ve Rekonstruktif Cerrahiye Giriş.Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi .Ed.:Çağdaş A.Ege Üniversitesi Yayın.Sayfa 1,1988
4. Daniel ,R.K. ,Kerrigan ,C.L.:Principles and Phsiology of skin flap Surgery .Plastic Surgery Ed.:Mc Charty . W.B. Saunders Company, Vol.1, P:275,1990
5. Fisher ,J.,Gingrass,M.K.: Basic Principles of skin flaps.Plastic ,Maxillofacial and Reconstructive Surgery Ed.:Georgiade,G.S., Riefkohl,R.Levin ,L.S.Third. Ed. Williams & Wilkins .p. 19,1997
6. Jankauskass,S., Cohen,I.K., Grabb,W.C.: Basic Technques of Plastic Surgery Grabb and Smith. ,Plastic Surgery Ed. Smith, J.W.,Aston, S.J.Fourth Ed.Little Brown and Company ,Boston ,Toronto , London.P.:1-91,1991
7. Chase ,R.A.: Introduction: The History of vascularized Composite –Tissue Transfers. Grabb's Encyclopedia of Flaps. Ed. Strauch, B., Vasconez , L.O., Hall- Findlay, E.J.: Little ,Brown and Company, First Ed. Boston Vol.: P1iii,1990
8. Akyürek M., Kayıkçıoğlu A., Şafak T.: The arteriovenous crossflow flap of the rat. Plast Reconstr Surg, 101:2012-2013, 1998.
9. Yoshida WB, Campos EB.:Ischemia and reperfusion in skin flaps:effects of mannitol and vitamin C in reducing necrosis area ina rat experimental model. Acta Cir Bras, 20:358-63, 2005.
10. Bakhach J.: 1984-1994: Ten years of skin flaps.Recent advances in experimental surgery. Ann Chir Plast Esthet, 40(5):583-95, 1995.
11. Wei F.C., Mardini S.: Free-style free flaps. Plast Reconstr Surg, Sep;114(4):910- 916, 2004.
12. Schusterman M.A, Kroll S.S., Eldon M.E.: Immediate breast reconstruction: why the free TRAM over the conventional TRAM flap? Plast Reconstr Surg, 90:255- 269, 1992.
13. Niamtu JB. Botulinum toxin A: a review of 1085 oral and maxillofacial patient treatments. J Oral Maxillofac Surg. 2003;61:317-324.
14. Jankovic J, Brin MF. Therapeutic usef of botulinum toxin. N Engl J Med. 1991;324:1186-1994.
15. Morris JL, Jobling P, Gibbins IL. Botulinum neurotoxin A attenuates release of norepinephrine but not NPY from vasoconstrictor neurons. Am J Pyhsiol Heart Circ Physiol. 2002 Dec;283(6):2627-35.
16. Blasi J, Chapman ER, Link E, Binz T, Yamasaki S, De Camili P, Südfeld TC, Niemann H, Jahn R. Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. Nature. 1993;365:160-163.
17. Brock JA, Cunnane TC. Electrophysiology of neuroeffector transmission in smooth muscle. In Autonomic Neuroeffector Mechanisms. Burnstock G and Hoyle CHV(Eds). Switzerland: Harwood, 1992, p. 121-213.
18. Brock JA, Dunn W R, Boyd NSF, Wong DKY. Spontaneous release of large packets of noradrenaline from sympathetic nerve terminals in rat messenteric arteries in vitro. Br J Pharmacol. 2000;131:1507-1511.
19. De Potter W P, Partoens P, Schoups A, Llona I, Coen EP. Noradrenergic neurons release both noradrenaline and neuropeptide Y from a single pool: the large dense cored vesicles. Synapse. 1997;25:44-55.
20. Lamberty B.G.H., Healy C. : Flaps : Physiology , principles of design and pitfalls. Mastery of Plastic Reconstructive Surgery. Ed.: Cohen M. Little ,Brown and Company ,Boston NewYork,Toronto,London, 1th Ed.56-70 1994
21. Milton SH. Pedicled Skin Flaps: The fallacy of the lenght:width ratio. Br J Plast Surg 57:502-508, 1970.
22. Mc Carthy ,J.G.: Introduction to Plastic Surgery .Plastic Surgery .Ed.: Mc Carthy .W.B. Saunders Company Vol.: 1,P.:1 1990

23. Esser JFS. General rules used in simple plastic work on Austrian war-wounded soldiers. *Surg Gynecol Obstet* 34:737, 1917.
24. Connelly, J.R.: *Reconstructive Procedures of the Lower Extremity*. Plastic Surgery Ed. Grabb ,W.C.,Smith J.W.P.:919, Second Edition, 1973
25. Grabb ,W.C.,Smith J.W.: *Basic Tecniques of Plastic Surgery* .Plastic Surgery . Ed. Grabb , W.C. Smith .J.W.Little ,Brown and Company Boston ,New York, Toronto ,London second edt. 1973.
26. Manchot C. *Die Hautarterien des Menschlichen Körpers*. Leipzig: F.C.W. Vogel; 1889.
27. Manchot C. *The Cutaneous Arteries of the Human Body*. New York, NY: Springer-Verlag; 1983.
28. Spalteholz W. *Die Vertheilung der Blutgefasse in der Haut*. Arch Anat; 1893.
29. Pieri G. *La Circolazione Cutanea Degli Arti e del Tronco in Rapporto alla Tecnica della Chirurgia e Plastica Cinematica*. Chir Organi Mov. 1918;2:37.
30. Esser JFS. *Artery Flaps*. Antwerp: De Vos-van Kleef; 1929.
31. Salmon M. *Arteres de la Peau*. Paris: Masson; 1936.
32. Salmon M. *Arteries of the Skin*. In: Taylor GI, Tempest M, eds. London: Churchill-Livingstone; 1988.
33. Pearl RM. A unifying theory of the delay phenomenon: Recovery from the hypeadrenergic state. *Ann Plast Surg*. 1981;7:102.
34. Finseth F, Cutting C. An experimental neurovascular island skin flap fort he study of the delay phenomenon. *Plast Reconst Surg*. 1978;61:412.
35. Cutting CB, Bardach J, Finseth F. Haemodynamics of the delayed skin flap. A total blood-flow study. *Br J Plast Surg*. 1981;34:133.
36. Myers MB, Cherry G. Mechanism of the delay phenomenon. *Plast Reconst Surg*. 1969;44:52.
37. Myers MB, Cherry G. Differences in the delay phenomenon in the rabbit, rat and pig. *Plast Reconst Surg*. 1971;47:73.
38. Myers MB, Cherry G. Augmentation of tissue survival by delay. An experimental study in rabbits. *Plast Reconst Surg*. 1967;39:397.
39. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: When is surgical delay effective? An experimental study. *Plast Reconst Surg*. 1995;95:526.
40. Prince, D. A new classification and brief exposition of plastic surgery. In Grabbs's *Encyclopedia of Flaps*, 2nd Ed. Philadelphia: Lippincott-Raven 6,1998.
41. Gillies H. D. The tubed pedicle in plastic surgery. *N. Y. J. Med*. 111:1, 1920.
42. Milton SH. The effects of 'delay' on the survival of experimental pedicled skin flaps. *Br J Plast Surg* 22:244-252, 1965.
43. Stelnicki EJ, Young VL, Francel T, Randall P: Vilray P. Blair, his surgical descendants, and their role in plastic surgical development. *Plasr Reconstr Surg* 1999;103:1990.
44. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, Minabe T. An anatomic review of the delay phenomenon: I. Experimental studies. *Plast Reconst Surg*. 1992;89:397.
45. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG. An anatomic rewiev of the delay phenomenon: II. Clinical applications. *Plast Reconst Surg*. 1992;89: 408.
46. Taylor GI, Miller G, Ham FJ. The free vascularized bone graft. *Plast Reconstr. Surg* 55:533-544, 1975.
47. Hoopes Jei Su CT, Im MJ. Enzymatic responses to skin flap elevation following a delay prosedure. *Plast Reconstr. Surg* 1980 ; 66 : 369-72.
48. Kerrigan C, Scotland M. Ischemia reperfusion injury: A review. *Microsurgery* 14:16175, 1993.
49. Myers M.B.: Attempts to augment survival in skin flaps: Mechanism of the delay phenomenon. In Grabb C.,Myers M.B. *Skin Flaps*. Boston:Little Brown, 65- 79, 1975.
50. Akan M., Çakır B., Aköz T.: Effects of clopidogrel and high dose aspirine on survival of skin flaps in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 39:7-10, 2005.
51. Kerrigan CL, Daniel RK. Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconst Surg*. 1982;70:541.
52. Davis RE, Wachholz JH, Jassir D, Perlyn CA, Agrama MH. Comparison of topical anti- ischemic agnets in the salvage of failing random-pattern skin flaps in rats. *Arch Facial Plast Surg*. 1999;1:27.

53. Emery FM, Kodey TR, Bomberger RA, McGregor DB. The effect of nifedipine on skin-flap survival. *Plast Reconst Surg.* 1990;85:61.
54. Shalom A, Herbert M, Westreich M. Effect of aspirin on random pattern flap survival in rats. *Plast Reconst Surg.* 2000;23:21.
55. Miyawaki T, Jackson IT, Bier UC, Andrus L, Williams F, Bradford M. The effect of capsaicin ointment on skin for the survival of a cutaneous flap. *Eur J Plast Surg.* 2001;24:28.
56. Nakanishi Y, Nakajima T, Yoshimura Y, Okamoto Y, Yamada T. The transepidermal absorption of prostaglandin E1 as a topical ointment: An experimental study of application over a rat skin flap. *Ann Plast Surg.* 1998;40:44.
57. Karacaoğlu N, Akbaş H. Effect of parenteral pentoxifylline and topical nitroglycerin on skin flap survival. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999;120:272.
58. Rinsch C, Quinodoz P, Pittet B. Delivery of FGF-2 but not VEGF by encapsulated genetically engineered myoblasts improves survival and vascularization in a model of acute skin flap ischemia. *Gene Ther.* 2001;8:523.
59. Hijawi J, Mogford JE, Chandler LA. Platelet-derived growth factor B but not fibroblast growth factor 2, plasmid DNA improves survival of ischemic myocutaneous flaps. *Arch Surg.* 2004;139:142.
60. Kryger Z, Zhang F, Dogan T, Cheng C, Lineaweaver WC, Buncke HJ. The effects of VEGF on survival of a random flap in the rat: Examination of various routes of administration. *Br J Plast Surg.* 2000;53:234.
61. Shimpo M, Ikeda U, Maeda Y, et al. AAV-mediated VEGF gene transfer into skeletal muscle stimulates angiogenesis and improves blood flow in a rat hindlimb ischemia model. *Cardiovasc. Res.* 2002;53:993.
62. Zhang F, Lei MP, Oswald TM, et al. The effect of vascular endothelial growth factor on the healing of ischemic skin wounds. *Br J Plast Surg.* 2003;56:334.
63. Taub PJ, Marmur JD, Zhang WX, et al. Locally administered vascular endothelial growth factor cDNA increases survival of ischemic experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102:2033.
64. Bayati S, Russel RC, Roth AC. Stimulation of angiogenesis to improve the viability of prefabricated flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101:1290.
65. Huemer GM, Wechselberger G, Otto-Schoeller A, Gurunluoglu R, PizaKatzner 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 Mar; 111(3):1207-11.
66. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg.* 1984; 73:943.
67. Hynes W. A simple method of estimating blood flow with special reference to the circulation in pedicled skin flaps and tubes. *Br J Plast Surg* 1:159, 1948.
68. Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *Br Plast Surg.* 1987; 40:113.
69. Taylor GI, Doyle M, McCarten F. The doppler probe for planning flaps: Anatomical study and clinical applications. *Br J Plast Surg* 43:1-16, 1990.
70. Taylor GI, Palmer JH, McManamay D. The vascular territories of the body (angiosome) and their clinical applications. In McCarthy J, ed. *Plastic Surgery*. Philadelphia: WB Saunders, 1990.
71. Taylor GI, The angiosomes of the body and their supply of perforator flaps. *Clin Plast Surg* 30:331-342, 2003.
72. Taylor GI, Daniel RK. The free flap: Composite tissue transfer by vascular anastomoses. *Aust N Z J Surg.* 43:1-3, 1973.
73. Taylor GI, Watson N. One stage repair of compound leg defects with revascularized flaps of groin skin and iliac bone. *Plast Reconstr Surg* 61:494-506, 1978.
74. Taylor GI, Ham FJ. The free vascularized nerve graft. *Plast Reconstr Surg.* 57:413-426, 1976.
75. Behan FC, Wilson JSP. The principle of angiosome – A system of linked axial pattern flaps. In Marchace D, Hucston JT, eds. *Transactions of the sixth international Congress of Plastic and Reconstructive Surgery*, Paris: Mason, 1975, p 6.

76. Cormack GC, Lamberty BGH. Cadaver studies of correlation between vessel size and anatomical territory of cutaneous supply. *Br J Plast Surg* 39:300-306, 1986.
77. Morris SF, Taylor GI, Predicting the survival of experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 92:1353-1361, 1993.
78. LaVan F.B.,Hunt T.K.:Oxygen and wound healing .*Clin. Plas. Surg.*17:463- 472 ,1990.
79. Glat PM.,Longaker M.T.:Wound Healing. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* Ed.Aston S.J.,Beasley R.W.,Thorne C.H.M. Lippincott- Raven Publishers ,Philadelphia, New York 5th. Ed.4-12,1997.
80. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; 9: 653-60.
81. Huminiecki L, Chan HY, Lui S et al. Vascular endothelial growth factor transgenic mice exhibit reduced male fertility and placental rejection. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 255-64.
82. Krizek T.J.,Harries R.H.C.,Robson M.C.:Biology of tissue injury and repair .*Plastic ,Maxillofacial and Reconstructive Surgery* Ed.Georgiade G.S.,Riefkohl R.,Levin L.S.,Williams&Wilkins ,Baltimore 3th. Ed. 3-9, 1997.
83. Porras-Reyes B.H., Mustoe T.A.: Wound healing .*Mastery of Plastic Surgery* .Ed.. Cohen M.Little, Brown and Company , Boston, New York , Toronto , London , 1th. Ed.3-13, 1994.
84. Shimada K., Kawamoto A. Normal and abnormal aging of cardiovascular system , *Nippon Ronen Ygakkai Zasshi* , 1991 May;28 (3):302-7.
85. Rafii S.,Leyden D.,:Therapeutic stem cell transplantation for organ vascularization and regeneration . *Nat. Med.* 2003;9:702-712.
86. Textbook of Medical Physiology / Arthur C. Gayton, John E. Hall.-11 th edition.
87. Shelosky L. History of the clinical use of Botulinum toxin type A. In: Sommer B, Sattler G (Eds). *Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine*. 1st edition. Berlin-Vienna: Blackwell Science; 2001:1-7.
88. Jankovic J, Schwartz K. Response and immunoresistance to botulinum toxin injections. *Neurology* 1995;45:1743–1746.
89. Goschel H,Wohlfarth K, Frevert J, Dengler R, Bigalke H. Botulinum A toxin therapy: neutralizing and nonneutralizing antibodies: therapeutic consequences. *Exp Neurology* 1997;147:96–102.
90. Lam, S.M. The basic science of botulinum toxin. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.* 11: 431- 438, 2003.
91. Vartanian, A.J., Dayan, S.H. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.* 11: 483-492, 2003.
92. Rosenberg JS, Middlerook JS, Atassi MZ. Localization of the regions on the C-terminal domain of the heavy chain of botulinum toxin A recognized by T lymphocytes and by antibodies after immunization of mice with pentavalent toxiod. *Immunol Invest* 1997;26:491–504.
93. Tunger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Anaerob, Gram Pozitif, Sporlu Basiller (Clostridium'lar). *Mikrobioloji* 2000. Asya Tıp Yayıncılık, 156-171.
94. Akbulut A. Ösefagus, Mide ve barsak infeksiyonları. (Ed): Felek S. Sistemik İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 1997, 150-194.
95. Chemistry, Pharmacology, Toxicity and Immunology, Mitchel F Brinn, MD. Muscle and Nerve.Supp 6,1997,146-168.
96. Hong CZ, Hsueh TC. Difference in pain relief after trigger point injections in myofascial pain patients with and without fibromyalgia. *Arch Phys Med Rehabil* 1996;77:1161-1166.
97. Aoki R. The development of BOTOX –Its history and pharmacology. *Pain Digest*, 1998:337-341.
98. White CM, Greensmith L, Vrbova G. Repeated stimuli for axonal growth causes motoneuron death in adult rats: the effect of botulinum toxin followed by partial denervation. *Neuroscience* 2000; 95: 1101-9.
99. Herreros J, Marti E, Ruiz-Montasell B, Casanova A, Niemann H, Blasi J. Localization of putative receptors for tetanus toxin and botulinum neurotoxin type A in rat central nervous system. *Eur J Neurosci*, 1997;9: 2677-2686.
100. Inagi K, Rodriquez AA, Ford CN, Heisey DM. Transoral electromyographic recordings in botulinum toxin-injected rat larynges. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1997;106: 956-964.

101. Lu L, Atchabahian A, Mackinnon SE, Hunter DA. Nerve injection injury with botulinum toxin. *Plast Reconstr Surg*, 1998; 101: 1875-1880.
102. Freund BJ, Schwartz M. Relief of tensiontype headache symptoms in subjects with temporomandibular disorders treated with botulinum toxin-A. *Headache*, 2002;42:1033-1037.
103. Cooper G(Ed.). *Therapeutic uses of Botulinim Toxin*. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007, p. 1-7.
104. Haşmet A. Hanağası. Botulinum Toksini'nin Yapısı ve Etki Mekanizması, *Nöropsikiyatri Arşivi*, 2006; 43(1-4): 15-19.
105. Scott AB, Suzuki D. Systemic toxicity of botulinum toxin by intramuscular injection in the monkey. *Mov. Disord.* 3: 333-335, 1998.
106. Tsui, J.K. Botulinum toxin as a therapeutic agent. *Pharmacol. Ther.* 72:13-24, 1996.
107. Munchau A, Bhatia KP. Uses of botulinum toxin injection in medicine today. *Clinical review. British Medical Journal*, 2000; 320:161-165.
108. Tan EK, Jankovic J. Treating severe bruxism with botulinum toxin. *J Am Dent Assoc*, 2000; 131: 211-216.
109. Quinn N, Hallet M. Dose standardisation of botulinum toxin. *The Lancet*, 1989; 1: 964.
110. Schantz EJ, Jonson EA. Dose standardisation of botulinum toxin. *The Lancet*, 1990; 335-421.
111. Lowe, N.J. Botulinum toxin type A for facial rejuvenation. *Dermatol. Surg.* 24: 1216-1218, 1998.
112. First ER, Pearce LB, Borodic G. Dose standartzation of botulinum toxin.*Lancet*1994; 343: 1035.
113. Odergen T, Hjaltason H, Kaakola S, Solders G, Hanco J, Fehling C. A double blind randomized parallel group study to investigate the dose equivalence of Dysport and Botox in the treatment of cervical dystonia. *JNNP* 1998; 64: 6-12.
114. Carruthers, J., Carruthers, A. *About Botulinum Neurotoxins*. In: *Using Botulinum Toxins Cosmetically: A Practical Guide*. 1 st edition. Martin Dunitz: Taylor&Francis Group, London, 2003.
115. Huang, W., Foster, J.A., Rogachefsky, A.S. Pharmacology of botulinum toxin. *J. Am. Acad. Dermatol.* 43: 249-259, 2000.
116. Elmas C, Ayhan S, Tuncer S, Erdogan D, Calguner E, Basterzi Y, et al. Effect of fresh and stored botulinum toxin a on muscle and nevre ultrastructure: an electron microscopic study. *Ann Plast Surg* 2007;59(3):316-22.
117. Soylu EÇ. Pediküllü kas fleplerinin stabilizasyonunda Botulium Toksin-A'nın kullanılması. (tez). İstanbul: T.C.Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.
118. Özkiriş S. Miyofasyal ağrı sendromunda kuru iğneleme, botulinum toksin-A enjeksiyonu ve fizik tedavinin etkinliğinin klinik ve elektrofizyolojik olarak karşılaştırılması. *Uzmanlık Tezi*. İstanbul 2004
119. Aoki KR. Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes. *J Neurol* 2001; 248(Suppl 1): 3-10.
120. Coffield J, Considine RV, Simpson LL. The site and mechanism of action of botulinum neurotoxin. In: Jankovic J, Hallett M (eds). *Therapy with botulinum toxin*. Marcel Dekker:1994:3-13
121. Brin MF. Botulinum toxin: chemistry, pharmacology, toxicity and immunology. *Muscle Nerve Suppl.* 1997;6:146-68.
122. Hutson RA, Collins MD, East AK, Thompson DE. Nucleotide sequence of the gene coding for non-proteolytic Clostridium botulinum type B neurotoxin: comparison with the other clostridial neurotoxins. *Curr Microbiol* 1994;28:101-110.
123. Dertzbaugh MT, West MW. Mapping of protective and cross reactive domains of the type A neurotoxin of Clostridium botulinum toxin. *Vaccine* 1996;14:1538-1544.
124. Chen R, Karp BI, Hallett M. Botulinum toxin type F for the treatment of dystonia: long-term experience. *Neurology* 1998;51:1494-1496.
125. Senior MA, Fourie LR. Botox and the management of pectoral spasm after subpectoral implant insertion. *Plast Reconstr Surg* 2000;106(1):224-5.
126. Richards A, Ritz M, Donahoe S, Southwick G. Botox for contraction of pectoral muscles. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(1):270-1.

127. Cattin T, Govender S. Botulinum toxin for tethering of breast implant. *Plast Reconstr Surg* 2005;116(2):686-8.
128. Venus MR. Use of botulinum toxin type A to prevent widening of facial scars. *Plast Reconstr Surg* 2007;119(1):423-4.
129. Wilson AM. Use of botulinum toxin type A to prevent widening of facial scars. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(6):1758-66.
130. Zhibo X, Miaobo Z. Botulinum toxin type A affects cell cycle distribution of fibroblasts derived from hypertrophic scar. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61(9):1128-9.
131. De Aguiar G, Chait LA, Schultz D, Bleloch S, Theron A, Snijman CN, Ching V. Chemoprotection of flexor tendon repairs using botulinum toxin. *Plast Reconstr Surg* 2009;124(1):201-9.
132. Van Beek AL, Lim PK, Gear AJ, Pritzker MR. Management of vasospastic disorders with botulinum toxin A. *Plast Reconstr Surg* 2007;119(1):217-26.
133. O'Reilly DJ, Pleat JM, Richards AM. Treatment of hidradenitis suppurativa with botulinum toxin A. *Plast Reconstr Surg* 2005;116(5):1575-6.
134. Textbook of Medical Physiology / Arthur C. Gayton, John E. Hall.-11 th edition
135. Pellegrini LL, O'Connor V, Lttspeich F, Betz H. Clostridial neurotoxins compromise the stability of a low energy SNARE complex mediating NSF activation of synaptic vesicle fusion. *EMBO J.* 1995;14:4705-4713.
136. Söllner T, Whiteheart SW, Brunner M, Erdjument-Bromage H, Geromanos S, Tempst P, Rothman JE. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature.* 1993;362:318-324.
137. Morris MJ, Elliott JM, Cain Kapoor V, West MJ, Chalmers JP. Plasma neuropeptide Y levels rise in patients undergoing exercise tests for the investigation of chest pain. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1986;13:437-440.
138. Morris MJ, Kapoor V, Chalmers JP. Plasma neuropeptide Y concentration is increased after hemorrhage in conscious rats: relative contributions of sympathetic nerves and the adrenal medulla. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1987;9:541- 546.
139. Pernow J, Lundberg JM, Kaijser L, Hjemdahl P, Theodorsson-Norheim E, Martinson A, Pernow B. Plasma neuropeptide Y-like immunoreactivity and catecholamines during various degrees of sympathetic activation in man. *Clin Physiol.* 1986;6:561-578.
140. 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 Nov;281(5):H2124-32.
141. Soydan AT. Random Paternli Dorsal Deri Fleplerinin Yaşam Oranlarının Arttırılmasında Yeni Bir Yöntem: Botulinum Toksini (tez). T.C.Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008.
142. Dong KR, Hyung JM, Yang WK, Young WC. Effect of platelet-rich plasma on ischemia-reperfusion injury in a skin flap mouse model. *International Journal of Medical Sciences* 2017; 14(9): 829-839.
143. Fayazzadeh E, Yavarifar H, Rafie SR, Motamed S, Anvari MS, Boroumand MA. Fibroblast growth factor-1 vs. fibroblast growth factor-2 in ischemic skin flap survival in a rat animal model. *World J Plast Surg* 2016;5(3):274-279.
144. Haktanır NT, Yılmaz G, Bozkurt MF, Demir Y. Effects of insulin-like growth factor-1 on random pattern skin flap survival in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 31 (8) 2016* – 513.
145. Kai-liang Zhou, Yi-hui Zhang, Ding-sheng Lin, Xian-yao Tao, Hua-zi Xu. Effects of calcitriol on random skin flap survival in rats. *Scientific Reports* 6:18945 DOI: 10.1038/srep18945.
146. Peng-Fu Xu, Miao-Jie Fang, Yu-Zhi Jin, Le-Sha Wang, Ding-Sheng Lin. Effect of oxytocin on the survival of random skin flaps. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 54), pp: 92955-92965.
147. İnce B, Bilgen F, Gündeşlioğlu AÖ, Dadacı M, Kozacıoğlu S. Use of systemic rosmarinus officinalis to enhance the survival of random-pattern skin flaps. *Balkan Med J* 2016;33:645-51.
148. Cheng L, Chen T, Tu Q, Li H, Feng Z, Li Z, Lin D. Naringin improves random skin flap survival in rats. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 55), pp: 94142-94150.

149. Lv QB, Gao X, Lin DS, Chen Y, Cao B, Zhou KL. Effects of diammonium glycyrrhizinate on random skin flap survival in rats: An experimental study. *Biomedical Reports* 5: 383-389, 2016.
150. Renjin Lin, Huanwen Chen, Daniel Callow, Shihen Li, Lei Wang, Shi Li, Long Chen, Jian Ding, Weiyang Gao, Huazi Xu, Jianzhong Kong, Kailiang Zhou. Multifaceted effects of astragaloside IV on 1 promotion of random pattern skin flap survival in rats. *Am J Transl Res* 2017;9(9):4161-4172.
151. Ayse Ozturk, Cemal Fırat, Hakan Parlakpınar, Aysun Bay-Karabulut, Hale Kirimlioglu, Ali Gurlek. Beneficial effects of aminoguanidine on skin flap survival in diabetic rats. *Hindawi Publishing Corporation Experimental Diabetes Research Volume 2012, Article ID 721256, 8 pages doi:10.1155/2012/721256.*
152. Ardakani MR, Al-Dam A, Rashad A, Moghadam AS. Effect of systemic antioxidant allopurinol therapy on skin flap survival. *World J Plast Surg* 2017;6(1):54-61.
153. Temiz G, Yeşiloğlu N, Şirinoğlu H, Akpınar AC, Sarıcı M, Filinte D, Filinte GT, Bozkurt M. Increasing the survival of transverse rectus abdominis musculocutaneous flaps with a Botulinum toxin-A injection: A comparison of surgical and chemical flap delay methods. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2016 Jul;69(7):944-51.
154. Huang L. Beneficial effect of botulinum toxin A on secondary ischaemic injury of skin flaps in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2017 Sep 27. pii: S0266-4356(17)30138-9.
155. Camargo CP, Jacomo AL, Battlehner CN, Lemos M, Saldiva PH, Martins MA, Munhoz AM, Gemperli R. Botulinum toxin type A on cutaneous flap viability in diabetic and tobacco-exposed rats. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 30 (9) 2015 – 639.*
156. Camargo CP, Fernandes FA, Mi Lee MH, Moreira Silva LC, Besteiro JM, Gemperli R. The positive effect of Botulinum toxin type A on the viability of random flap in tobacco exposed in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 31 (11) 2016.*
157. Karayel H, Kaya B, Caydere M, Terzioğlu A, Aslan G. Prevention of unfavourable effects of cigarette smoke on flap viability using botulinum toxin in random pattern flaps: An experimental study. *Plast Surg* 2015;23(3):177-182.
158. Park TH, Park YJ. The effect of botulinum toxin A on ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Hindawi BioMed Research International Volume 2017, Article ID 1074178, 7 pages.*
159. K Ghanbarzadeh, OR Tabatabaie, E Salehifar, M Amanlou, G Khorasani MD. Effect of botulinum toxin A and nitroglycerin on random skin flap survival in rats. *Plast Surg* 2016;24(2):99-102.
160. Gugerell A, Kober J, Schmid M, Buchberger E, Kamolz LP, Keck M. Botulinum Toxin A: Dose-dependent Effect on Reepithelialization and Angiogenesis. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2016 Aug 11;4(8):e837.

EK.1. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
2017
KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA
	TELEFON	0 (242) 249 69 54
	FAKS	0 (242) 249 69 03
	E-POSTA	akhadye@akdeniz.edu.tr
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	DİLEK ŞENEN DEMİREZ	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	FLEP CERRAHİSİNDE DELAY (GECİKTİRME) PROSEDÜRÜ OLARAK BOTULİNÜM TOXİN A'NIN KULLANILMASI	
BAŞVURU FORMU ID	672	
PROTOKOL NO	2017.07.008	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 57	Tarih: 17.07.2017
	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesi görüşüldü ve ilgili projenin etik açıdan bir sakınca içermediği tespit edildiğinden, projenin yapılmasının UYGUN olduğuna karar verildi. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr. Ayşel AÇIK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkan

Prof.Dr. Ayşel AÇIK
Başkan

Prof.Dr. Leyla SARIKIOĞLU
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr. Erkan ÇOBAN
Üye

Prof.Dr. Vecihe Nimet UYSAL
Üye

Prof.Dr. Fethi GÜLYÜZ
Üye (İzinli)

Doç.Dr. Jale KORUN
Üye

Doç.Dr. Ethem Taner GÖKSU
Üye

Yrd.Doç.Dr. Esra CENKCI
Üye (İzinli)

Yrd.Doç.Dr. Mustafa YAVUZ
Üye (İzinli)

Vet. Hekim Sefer KÜÇÜK
Üye

Vet. Hekim Selman DERELİ
Üye

Dr. Özlem GİRAY
Üye

EK.2. ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Mehmet Ali Korkmaz

Doğum yeri ve tarihi: Bucak 01.01.1989

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli

Askerlik durumu: Tecilli

İletişim adresi ve telefonu: Gürsu mh. 400 sk. Türker Apt. A blok Kat:4 Daire:9
Konyaaltı/Antalya 05067996215

Yabancı Dili: İngilizce

E-posta: makitf@gmail.com

II-Eğitimi

2012-2018: Tıpta uzmanlık eğitimi (Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği)

2006-2012: Lisans eğitimi (İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi)

2003-2006: Lise eğitimi (Adem Tolunay Fen Lisesi - Burdur)

1995-2003: İlk ve orta öğretim (Atatürk İlköğretim Okulu - Burdur)