



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

**RATLARDA Mc. FARLANE FLEP MODELİNDE
TRANSKUTANÖZ ELEKTRİK SİNİR STİMÜLASYONU
VE ULTRASON UYGULANARAK ÖN KOŞULLAMANIN
FLEP YAŞAMI ÜZERİNE ETKİLERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Osman Serdar BERK

KAYSERİ – 2020



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

**RATLARDA Mc. FARLANE FLEP MODELİNDE
TRANSKUTANÖZ ELEKTRİK SİNİR STİMÜLASYONU
VE ULTRASON UYGULANARAK ÖN KOŞULLAMANIN
FLEP YAŞAMI ÜZERİNE ETKİLERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Osman Serdar BERK

Danışmanlar

Doç. Dr. Cemal Alper KEMALOĞLU

Öğr.Gör. Dr. Sercan YÜCEL

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2020-10166 kodlu proje ile desteklenmiştir.

KAYSERİ – 2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince aldığım eğitime büyük katkıları bulunan, iş disiplinleri ile bizlere örnek olan, değerli hocalarım Prof. Dr. Galip Kemali Günay’a; Prof. Dr. Atilla Çoruh’a; Prof. Dr. İrfan Özyazgan’a; Prof. Dr. Teoman Eskitaşçıoğlu’na; Doç. Dr. Cemal Alper Kemaloğlu’na;

Klinikteki ilk günlerimden itibaren bizlere her zaman güzel örnek olan, desteğini esirgemeyen değerli abim, hocam Dr. Öğr. Üyesi Sercan Yücel’e;

Tez çalışmamı hazırlamamda büyük emeği olan ve hayatımda büyük katkıları olan Dr. Öğr. Üyesi Hatice Cansu Kış’a;

Beni her daim seven ve destekleyen anneme, kardeşime ve ablama;

Saygıyla ve özlemle andığım, hayatta kısa süre de olsa bana birçok şey öğreten ve yaşam prensiplerini o kısa sürede işleyen rahmetli babama;

Birlikte çalışmaktan ve zaman geçirmekten büyük mutluluk duyduğum asistanlık sürecim boyunca bana çok büyük katkıları bulunan değerli arkadaşlarıma, hemşire hanımlara, yardımcı sağlık personellerimize;

Sonsuz sevgilerimle teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Fleplerle İlgili Genel Bilgiler	4
2.1.1. Flep Sınıflaması	6
2.1.2. Derinin Kanlanması	7
2.2. Flepde Doku Kayıplarının Nedenleri Ve Kayıpları Önlemeye Yönelik Çalışmalar	7
2.2.1. Flep Geciktirmesi	9
2.2.1.1 Erken Dönem Etkileri	10
2.2.1.2 Geç Dönem Etkileri.....	10
2.2.2 Ön Koşullama	11
2.2.2.1 İskemik Ön Koşullama.....	11
2.2.2.2 Hipertermik Ön Koşullama	12
2.2.2.3 Hipotermik Ön Koşullama	12
2.2.2.4 Farmakolojik Ön Koşullama	12
2.2.2.5. Diğer Yöntemler	13
2.3. Ultrason	14
2.4. Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu	17
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	21
3.1. Flep Modeli	21
3.2. Ultrason Uygulaması.....	23
3.3. Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu Uygulaması	24
3.4 Deney Planı	25
3.4.1. Kontrol Grubu	26

3.4.2. Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu Grubu	26
3.4.3. Ultrason grubu.....	27
3.4.4. Ultrason ve Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu grubu	28
3.4.5 Cerrahi Geciktirme Grubu.....	28
3.5. Değerlendirmeler.....	29
3.5.1. Makroskopik Değerlendirme	29
3.5.2. Histopatolojik Değerlendirme	31
3.5.3. Doku VEGF Düzeyinin Elısa İle Ölçülmesi	31
3.5.4. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR	33
4.1. Flep Nekroz Oranları.....	33
4.2. Doku VEGF Düzeyleri.....	37
4.3. Histopatolojik Bulgular	40
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇLAR	63
7. KAYNAKLAR	64
ONAY	78

KISALTMALAR

EGF	: Epidermal Growth Factor
FGF	: Fibroblast Growth Factor
HSP-32	: Heat Shock Protein 32
IGF-1	: Insulin like Growth Factor – 1
k.V	: Kilovolt
M.Ö.	: Milattan Önce
mAs	: Miliamper saniye
ml	: mililitre
NO	: Nitrik Oksit
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
pg	: pikogram
PGE ₂	: Prostoglandin E ₂
PGF _{2α}	: Prostoglandin F _{2α}
PMNL	: Polimorf nüveli lökosit
TGF- β	: Transforming Growth Factor β
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor α
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
y.y.	: yüz yıl

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Flep Tarihçesi	5
Tablo 2.	Rekonstrüktif Cerrahide Fleplerin Sınıflandırılması	6
Tablo 3.	Ultrasonun Çeşitli Kullanım Alanları ve Frekansları	16
Tablo 4.	Histopatolojik değerlendirmede kullanılan parametrelerin skorlaması	31
Tablo 5.	Gruplara göre flep nekroz oranları dağılımı	34
Tablo 6.	Gruplar arası flep nekroz oranları çoklu karşılaştırmalarının sonuçları	34
Tablo 7.	Gruplara göre doku VEGF düzeyleri dağılımı	37
Tablo 8.	Gruplar arası doku VEGF düzeyleri çoklu karşılaştırmalarının sonuçları	38
Tablo 9.	Vasküler yoğunluk skorlamasının gruplara göre dağılımı.....	40
Tablo 10.	Fibroblast-fibrosit yüzdesi skorlamalarının gruplara göre dağılımı	46
Tablo 11.	Polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu yüzdesi skorlamalarının gruplara göre dağılımı.	47
Tablo 12.	Nekrotik doku skorlamalarının gruplara göre dağılımı	48
Tablo 13.	Vasküler Yoğunluk Skorları Grupları Arasında Doku VEGF Düzeyi dağılımlarının tablosu	49

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Boyutları 2x8 cm olan kaudal pediküllü flebin planı.....	22
Şekil 2.	İliolomber perforatörler.....	22
Şekil 3.	Bipediküllü flep.....	23
Şekil 4.	Ultrason cihazı.....	24
Şekil 5.	Ultrason cihaz uygulama ekranı.....	24
Şekil 6.	TENS uygulaması	25
Şekil 7.	Planlanan flebin kaldırılması.....	26
Şekil 8.	Ultrason uygulaması.....	27
Şekil 9.	Flepten 14. Gün Biyopsi Alınması.....	29
Şekil 10.	Cetvel ile Image J programının kalibrasyonu	30
Şekil 11.	Nekroze Alan ile Total Flebin İşaretlenmesi ve Ölçümü.....	30
Şekil 12.	Gruplarda flep nekroz oranları dağılımı.....	34
Şekil 13.	Kontrol grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü	35
Şekil 14.	TENS grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü	35
Şekil 15.	US grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü	36
Şekil 16.	US+TENS grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü	36
Şekil 17.	Cerrahi geciktirme grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü.....	37
Şekil 18.	Gruplarda doku VEGF düzeyleri dağılımı (Hata Grafiği)	38
Şekil 19.	Nekroz alan yüzdesi ve doku VEGF düzeyi değişkenleri ilişkisi	39
Şekil 20.	Vasküler yoğunluk skorlarının gruplara göre dağılımı	40
Şekil 21.	Kontrol grubu histopatolojik görünümü, Deri, HxE, x20.	41
Şekil 22.	TENS grubundaki nekrotik (oklar) ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonlu alanların görünümü, Deri, HxE, x20.	42
Şekil 23.	US grubundaki nekrotik (oklar) alanların görünümü, Deri, HxE, x20.	43

Şekil 24.	US+TENS grubundaki fibrosit fibroblast hücrelerinin (oklar) görünümü, Deri, HxE, x20.	44
Şekil 25.	US+TENS grubundaki yeni damar oluşumlarının (oklar) görünümü, Deri, HxE, x20.....	45
Şekil 26.	Cerrahi geciktirme grubundaki yeni damar oluşumlarının (oklar) görünümü, Deri, HxE, x20.	45
Şekil 27.	Fibroblast-fibrosit yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı.....	46
Şekil 28.	Polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı.....	47
Şekil 29.	Nekrotik doku yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı	48
Şekil 30.	Vasküler Yoğunluk Skorları Grupları Arasında Doku VEGF Düzeyi dağılımları	49

**RATLARDA McFARLANE FLEP MODELİNDE TRANSKUTANÖZ
ELEKTRİK SİNİR STİMÜLASYONU VE ULTRASON KULLANILARAK ÖN
KOŞULLAMANIN FLEP YAŞAMI ÜZERİNE ETKİLERİ**

ÖZET

Giriş ve Amaç: Flepler, rekonstrüktif cerrahide sıklıkla uygulanan cerrahi işlemlerdendir. Kısmi flep yetmezlikleri rekonstrüktif cerrahinin öngörülemeyen komplikasyonlarıdır. Bu nedenle flepte doku kaybını azaltabilmek amacıyla çeşitli metotlar denenmiştir. Transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonunun (TENS) ve ultrasonun (US) yara iyileşmesini artırmasının hücresel ve fizyolojik mekanizmasını açıklamak üzere deneyler yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı random patern deri fleplerinin ön koşullamasında TENS ve US uygulamasının dokuların yaşayabilirliğine etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 50 adet 4 aylık erkek Sprague-Dawley cinsi ratların sırtında 2 × 8 cm boyutlarında modifiye McFarlane flepleri kaldırıldı. Hayvanlar ağırlıkları açısından fark olmayacak şekilde 10 hayvandan oluşan 5 gruba ayrıldı; kontrol grubu, cerrahi geciktirme grubu, TENS grubu, US grubu ve TENS+US grubu. Flepler kaldırıldıktan 14 gün sonra flep canlılık oranları fotoğraflanarak ölçüldü. Gruplardaki her denekten biyopsi alındı. Tüm gruplarda doku Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) düzeyleri ölçüldü ve histopatolojik hasar parametreleri (nekrotik hücreler, fibroblast-fibrosit sayısı, polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu ve vasküler yoğunluk) değerlendirildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Flep nekroz oranı kontrol grubunda %52,22 ± 9,71; cerrahi geciktirme grubunda %16,57 ± 4,80; tens grubunda %32,45 ± 7,61; usg grubunda %32,95 ± 8,09; usg+tens grubunda %35,83 ± 8,05 idi. Gruplar arasında flep nekrozu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,001$). Çalışma gruplarında elde edilen doku VEGF düzeyi kontrol grubunda 28,65 ± 7,87 pg/mg protein, cerrahi geciktirme grubunda 53,52 ± 29,94 pg/mg protein, TENS grubunda 64,20 ± 40,07 pg/mg protein, US grubunda 89,68 ± 45,67 pg/mg protein, US+TENS grubunda 63,34 ± 18,72 pg/mg protein idi. Gruplar arasında doku VEGF düzeyleri bakımından anlamlı

farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Bu fark, US grubu ile kontrol grubu arasında ($p=0,021$) ve US+TENS grubu ile kontrol grubu arasındadır ($p=0,002$).

Gruplar arasında; gözlenen nekroz skorları, fibroblast-fibrosit skorları, vasküler yoğunluk skorları ve polimorf nüveli lökosit skorları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Sonuç: TENS ve US uygulaması yapılan deneklerde flep canlılık oranları kontrol grubuna göre artış gösterdi. Ancak bu alternatif metotlarla yapılan ön koşullamaların hiç birisi flep canlılık oranları bakımından cerrahi flep geciktirmesinden başarılı olamamışlardır.

THE EFFECTS OF PRE-CONDITIONING BY USING TRANSCUTANEOUS ELECTRIC NERVE STIMULATION AND ULTRASOUND ON FLAP SURVIVAL

ABSTRACT

Introduction and Aim: Flaps are the most common surgical procedures in reconstructive surgery. Partial flap necrosis is an unpredictable complication of reconstructive surgery. For this reason, various methods have been tried to reduce flap necrosis. Experiments have been conducted to explain the cellular and physiological mechanism by which transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) and ultrasound (US) to enhance wound healing. The aim of this study is to investigate the effect of TENS and US application on the survival of tissues in the preconditioning of random pattern skin flaps.

Materials and Methods: In the study, modified McFarlane flaps of 2×8 cm in size were removed on the backs of 50, 4-month-old male Sprague-Dawley rats. The animals were divided into 5 groups of 10 animals with no difference in weight; control group, surgical delay group, TENS group, US group, and TENS + US group. Flap viability rates were measured visually 14 days after the flap operation. A biopsy was taken from each subject in the groups. Tissue Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) levels were measured in all groups, and histopathological damage parameters (necrotic cells, fibroblast-fibrocyte count, polymorphous leukocyte infiltration, and vascular density) were evaluated. The data obtained were analyzed statistically.

Results: The rate of flap necrosis was $52.22 \pm 9.71\%$ in the control group; $16.57 \pm 4.80\%$ in the surgical delay group; $32.45 \pm 7.61\%$ in the TENS group; $32.95 \pm 8.09\%$ in the US group; and $35.83 \pm 8.05\%$ in US+TENS group. A statistically significant difference was found between the groups in terms of flap necrosis ($p < 0.001$). The tissue VEGF level obtained in the study groups was 28.65 ± 7.87 pg/mg protein in the control group, 53.52 ± 29.94 pg/mg protein in the surgical delay group, 64.20 ± 40.07 pg/mg protein in the TENS group, It was 89.68 ± 45.67 pg/mg protein in US group and 63.34 ± 18.72 pg/mg in the US + TENS group. A significant difference was found between the groups in terms of tissue VEGF levels ($p < 0.001$). This difference is

between the US group and the control group ($p = 0.021$) and between the US + TENS group and the control group ($p=0.002$).

There is no statistically significant difference was found between groups in terms of histopathological damage parameters (tissue necrosis, fibroblast-fibrocyte, vascular density, and leukocyte with pleomorphic nuclei).

Conclusion: Flap survival rates increased in subjects who underwent TENS and US application compared to the control group. However, none of the preconditions made with these alternative methods were successful as surgical flap delay in terms of flap viability rates.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Flepler, rekonstrüktif cerrahide sıklıkla uygulanan cerrahi işlemlerdendir. Eklem, tendon, kemik, nörovasküler yapılar gibi alanların defekt sonrası açıkta kalması durumunda flep ile onarım seçeneği kaçınılmazdır. Fleplerde oluşabilecek yetersiz kan akımına bağlı olarak, kısmi veya total flep doku kayıpları meydana gelebilmektedir. Kısmi flep yetmezlikleri rekonstrüktif cerrahinin öngörülemeyen komplikasyonlarıdır. Serbest fleplerde hasta seçimi, alıcı saha hazırlama, donör alan seçimi ve mikrocerrahi yöntemlerindeki yeniliklere rağmen en iyi ihtimalle %4-13 oranında kayıplar görülmekteyken pediküllü fleplerdeki kısmi veya tam kayıpların ve komplikasyonların farklı serilerde %25'lere ulaşabildiği belirtilmiştir (1-5). Bu durum rekonstrüktif cerrahide hastanın ve doktorun başına gelebilecek en istenmeyen durumdur.

Esser tarafından 1918 yılında aksiyel fleplerin tanımlanması ile rekonstrüksiyonda önemli bir adım atılmıştır. Daniel ve Kerrigan'ın 1990 yılında flep fizyolojisine katkıları ile aksiyel fleplerde başarı oranları artarak devam etmiştir (6). Son dönemde yapılan anatomik çalışmalarda çeşitli flep tasarımları ve anjiozomları tanımlanmış; ancak flep nekrozunun rekonstrüktif cerrahide problem olmasının önüne geçilememiştir. Bu nedenle flepte doku kaybını azaltabilmek amacıyla çeşitli metotlar denenmiştir. Bunların arasında planlanan flebin iskemik bırakılması, büyüme faktörleri uygulamaları, çeşitli farmakolojik ajanlar, deriden elektrik uygulaması, ultrason uygulaması gibi metotlar bulunmaktadır (7-22). Bu çalışmalar geciktirme yönteminin daha iyi anlaşılmasına ve öneminin artmasına da katkı sunmuştur. Günümüze kadar en etkin yöntem morbidite yüksekliği, maliyeti, ikincil cerrahi işlem gerektirmesine rağmen cerrahi geciktirme olarak kabul edilmektedir (23, 24). Ancak yapılan bazı

Çalışmalarda deneysel rat modellerinde cerrahi geciktirmeden daha başarılı sonuçlar da elde edilmiştir (21).

Transkutanöz Elektrik Sinir Stimölasyonu (TENS) kan akımını, kapiller dansiteyi, anjiyogenezi, vasküler endotelial büyüme faktörünü ve bu şekilde anti-inflamatuvar etkileri arttırırken dokulardaki oksijen gerilimini azaltır (25-27). İn vitro ve invivo çalışmalarda elektrik stimölasyonunu fibroblast, makrofaj ve düz kasları uyararak VEGF sekresyonunu arttırıp endotel hücrelerinin migrasyon proliferasyon ve reoryantasyonuna alternatif bir yol olacağı da gösterilmiştir (28, 29). Ayrıca elektrik stimölasyonunun iskemik fleplerde flep canlılığını arttırdığı da gösterilmiştir (30-33). Elektrik stimölasyonunun ve ultrasonun yara iyileşmesini artırmasının hücresel ve fizyolojik mekanizmasını açıklamak üzere deneyler yapılmıştır (34, 35). Elektrik stimölasyonu m-RNA transkripsiyonel aktivasyonunu arttırarak VEGF salınımını arttırır. Elektrik stimölasyonu VEGF düzeylerini arttırır ve endotel hücrelerinde büyümeye neden olur (29, 36). İn vitro çalışmalarda temel olarak elektrik stimölasyonu fibroblast hücre membranındaki voltaj hassas kalsiyum kanallarını açarak hücre yüzeyindeki insülin ve TGF-beta reseptörlerini etkileyip kollajen ve DNA sentezini ve fibroblast proliferasyonunu arttırır (37). Elektrik stimölasyonu enfekte yarada bakteristatik ve bakterisidaldir (38, 39).

Terapötik Ultrason dalgaları (US) rehabilitasyon programlarında, peroperatif estetik prosedürlerde; çalışma sistemi kolaylığı, kullanılabilirliği, maliyeti ve doku tamiri üzerine etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılır (40-43). US hücre zarının geçirgenliğini arttırarak kalsiyumun hücre içine geçişine sebep olur (44-48). Kalsiyum iyonları gen ekspresyonunun regölasyonunu ve hücre metabolizmasını düzenleyen hücre içi haberci olarak hareket eder (43, 46). US kalsiyumun mast hücrelerine, nötrofillere ve makrofajlara girişini aktive ederek inflamasyonu azaltır, fibroblast ve endotel hücre aktivitesini arttırır, proliferatif fazı stimüle eder (40, 47, 48). US endotel hücrelerine kalsiyum girişini sağlayarak angiogenezi arttırır. Bu şekilde Nitrit Oksit (NO) sentaz daha fazla NO oluşumunu katalize eder. Bu durum da sitokin ve VEGF gibi angiojenik faktörlerin daha fazla üretimi ile sonuçlanır (43, 44). Yapılan başka çalışmalarda da US uygulamasının uygulanan alanda belirgin kan akımında artışa neden olduğu gösterilmiştir (49-51).

Bu çalışmada, random patern deri fleplerinde önkoşullama amacıyla iskemik olmayan flepte elektrik stimlasyonu ve ultrason uygulanarak dokularda vaskülarizasyonun arttırılması planlanmıştır. Bu sayede flep kaldırıldıktan sonra flepte dolaşım problemine fırsat vermeden doku kayıplarının önüne geçilmesi planlanmış ve diğerk yöntemlere alternatif olabilecek uygulaması kolay, ucuz ve cerrahi girişim gerektirmeyen bir yöntem test edilmiştir. Bu çalışmada başarılı sonuçlar elde edildiği takdirde US ve TENS uygulaması klinikte kolaylıkla kendine yer bulabilecek ve fleplerde doku kayıplarının önüne geebilmekle birlikte daha büyük boyutlarda flepler kaldırılabilir. Bu sayede hastanede kalış sürelerinde ve tedavi maliyetlerinde azalma sağlanabilecektir. İkincil ve hatta üçüncül cerrahilere girişim ihtiyaını azaltacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fleplerle İlgili Genel Bilgiler

Flep, kan dolaşımını sağlayan bir pedikül ile vücuda bağlı, mobil deri ve/veya derialtı doku parçasıdır. Rekonstrüktif Plastik Cerrahide fleplerin kullanımı ile ilgili ilk bilgiler M.Ö. 600 yılında Sushruta Samhita tarafından burun rekonstrüksiyonunda pediküllü flep kullanımına dairdir. Deri flepleri ilk dönemlerde kan akımının hangi damardan sağlandığı bilinmeyen random flepler olarak kaldırılmaktaydı. Plastik cerrahide asıl gelişme ise, XX. y.y. da İkinci Dünya Savaşı sonrası onarım cerrahisinde olmuştur (52). 1970’li yıllar random ve aksiyel patern fleplerin kıyaslandığı, kas-deri flepleri ve serbest fleple onarımların başladığı dönemdir. Mc Gregor ve Morgan’ın vücudun bazı bölgelerinde belli bir aksa sahip damarların olduğunu keşfetmeleri, flep cerrahisinde büyük bir öneme sahiptir (53). Bu sayede daha büyük boyutlarda fleplerin kaldırılması mümkün olmuştur.

Tablo 1. Flep Tarihçesi

- 1837 Horner Z-plasti prensibi
- 1848 Stein İki taraflı pediküllü üst dudak vasküler flepleri ile alt dudak onarımı
- 1872 Estlander Labial arter pedikülü ile ağız köşesi ve üst dudak laterali kullanılarak alt dudak lateral defektlerinin onarımı
- 1889 Manchot Diseksiyon ile deri dolaşımının damarsal ağının tanımlanması
- 1898 Halsted Waltzing flaps
- 1898 Abbe karşı dudak flebi ile iki taraflı yarık dudak onarımı
- 1906 Tansini Latissimus dorsi muskükütan flebi ile meme onarımı
- 1912 Blair Osteokütanöz flep
- 1916 Filatov Tüp pediküllü boyun flebi ile alt göz kapağı onarımı
- 1917 Gilles Tüp pediküllü boyun flepleri
- 1917 Aymand Tüp pediküllü göğüs flebi ile burun onarımı
- 1917 Ganzer Yanak, omuz ve sırttan hazırlanan tüp pediküllü flepler ile burun onarımı
- 1919 Davis Mandibula onarımında birleşik fleplerin tanımlanması, Manchot'ın damarsal ağ çalışmasının gözden geçirilmesi ve pediküllü flep ilkelerinin ilk kez yayınlanması
- 1921 Blair Pedikülsüz fleplerde geciktirme kavramı
- 1937 Webster Torakoepigastrik tüp pediküllü flep
- 1942 Convers & Medyan alın flebi
- 1946 Kazanjian Alın flebi
- 1946 Shaw & Paryne Hipogastrik tüp pediküllü flepler
- 1955 Owens Birleşik sternokleydomastoid kas-deri flebi
- 1960 Littler Nörovasküler flep
- 1965 Bakamjian Deltopektoral flep
- 1968 Ger Kas flebi
- 1972 McGregor & Jackson Kasık flebi
- 1973 Daniel, Taylor, O'Brien Harii, Mikrovasküler serbest flep nakli
- 1975 McCraw & Furlow Dorsalis pedis flebi
- 1976 Radovan Meme onarımında doku genişletici uygulamaları
- 1977 McCraw Birçok muskükütanöz flep tanımlanması
- 1977 Mathes Rektus abdominis flebi
- 1981 Nakayama Arterli venöz flepler
- 1981 Ponten Fasiyokütanöz flepler
- 1987 Taylor & Palmer Anjiozomlar
- 1989 Koshima & Soeda Perforatör flepler

Geciktirme fenomenine ihtiyaç olmadan daha büyük boyutlarda fleplerin kaldırılabilmesine dair ilk bilgiler Orticochea tarafından ortaya konmuştur. Orticochea deri fleplerinin kas ile birlikte kaldırılmalarını önermiştir (54). Mc. Craw ve arkadaşları bu durumu kastan deriye giden muskükütan arterleri göstererek açıklamışlardır (55).

Gelişen yeni tekniklerle 1970’li yıllarda mikroskobik onarım cerrahisine girilerek serbest doku transferleri, el ve parmak replantasyonu yapılmaya başlanılmış. Septokutanöz damarlar 1981 yılında keşfedildikten sonra bu damarların derinin dolaşımına katılması fikrinden yola çıkılarak fasyokutanöz flepler uygulanmaya başlamıştır (56). Koshima ve Soeda yaptıkları çalışmayla perforatör flep uygulamasını başlatmışlardır (57). Flep tarihçesi tabloda özetlenmiştir (Tablo – 1).

2.1.1. Flep Sınıflaması

Flepler özelliklerine göre çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulmuşlardır. Deri flepleri sahip oldukları kan akımına göre random ve aksiyel patern flepler olmak üzere temel iki gruba ayrılırlar. Aksiyel damardan beslenen deri flepleri ada, yarımada ve serbest flep olarak kullanılabilir. Random beslenen deri flepleri plastik cerrahide en çok kullanılan deri flepleridir.

Flepler bunun dışında defekte olan uzaklığına, flebin hareketine, flebin içerdiği dokulara, özelliklerine, kanlanmasına, transfer öncesi müdahalelere göre çeşitli sınıflara ayrılmışlardır (58) (Tablo – 2).

Tablo 2. Rekonstrüktif Cerrahide Fleplerin Sınıflandırılması

FLEPLERİN SINIFLAMASI

DEFEKTE YAKINLIK	HAREKET TÜRÜ	İÇERİK
● Lokal ● Uzak	● İlerletme ● Rotasyon ● Transpozisyon ● İnterpolasyon ● Jumping ● Serbest	● Kutanöz ● Fasyokutanöz ● Muskülokutanöz ● Osteokutanöz ● Omental ● Viseral ● Kas ● Kemik ● Sinir
KAN AKIMI	TRANSFERDEN ÖNCEKİ MANÜPLASYON	
● Random ● Aksiyel patern ● Fasyokutanöz ● Muskülokutanöz	● Geciktirilen ● Ekspansiyon ● Prefabrikasyon ● Prelaminasyon ● Preconditioning	

2.1.2. Derinin Kanlanması

İnsanda derinin kanlanması üç farklı şekilde olabilir. Bu kanlanma yolları fasyokutan damarlar, musk lokutan damarlar ve direkt kutanöz damarlardır. Bu damar yapıları derin dermis ve derialtı dokular arasında derin pleksusu, papiller ve retiküler dermis arasında ise yüzeyel pleksusu oluştururlar. Derinin kanlanmasında en önemli kaynak subdermal pleksustur. Subdermal pleksus subepidermal pleksusa kan akımı sağlayan dallara sahiptir. Dermal papilla seviyesindeki kapillerler aracılığıyla da epidermisin beslenmesi sağlanır. Venöz dönüş de arteriyel akıma benzer şekilde papiller dermis seviyesinde venüller aracılığıyla başlar. Bu venüller subdermal pleksusa drene olurlar ve bu pleksus da segmental venlere drene olur (6).

Deri flepleri, aksiyel patern ve random patern olarak kullanılabilmektedir. Pedikül, flebi besleyen damarları içeren bölgedir. Random patern fleplerin beslenmesini sağlayan pedikül genişliği ile flebin boyu arasında kaldırılacakları bölgeye göre değişen bir oran söz konusudur. Bu oran baş boyun bölgesinde 1:4 veya 1:5 olabilmekteyken; alt ekstremiteden kaldırılacak random patern deri flebinin oranı 1:1 olarak planlanmalıdır (6). Boy oranı bu değerlerin üzerinde yapılan fleplerde, flep distalinde nekroz gelişme ihtimali artmaktadır. Ancak flep yaşamının kan akımına bağlı olduğu, flep genişliğine bağlı olmadığı genel kavramı 20. yüzyılda oluşmuştur.

2.2. Flepde Doku Kayıplarının Nedenleri Ve Kayıpları  nlemeye Yönelik  alışmalar

Fleplerde doku kayıpları ameliyat sonrasında en istenmeyen durumlardan biridir. Flebin nekroza gitmesi tedavi planının aksamasının yanında, hekim  zg veninde azalma ve hastanın moral motivasyonunun bozulmasına da neden olur. Bu sebepten hekim bütün teknik ilkelere uymaya; bilgi, birikim ve cerrahi yeteneğini birleştirerek uygulamaya  zen gösterir.

Flep sağkalımındaki en önemli etkenler doğru flep seçimi, tasarımı, flep yatağının hazırlanması, defektin uygun debritmanı, flebin özenle kaldırılması, yerleştirilmesi ve postoperatif yakın takiptir. Hiçbir araç, ilaç, monitör veya manevra kötü planlama ve kötü teknik uygulamanın üstesinden gelemes.

Planı düzgün yapılan fleplerde kayıpların en önemli nedenleri vasküler yetmezlik ve iskemi reperfüzyon hasarıdır. Vasküler yetmezlik tablosu hipotansiyon, vazokonstriktör ajan kullanımı, sigara kullanımı, trombüs oluşumu gibi nedenlerle karşımıza çıkabileceği gibi; ameliyat planının yanlış yapılması, cerrahi teknikte hatalar, pedikülün katlanması veya pediküle dışarıdan baskı uygulanması nedeniyle de oluşabilmektedir (59).

Fleplerdeki gerginlik nekroz nedeni olabilir. Dolaşımı iyi olan fleplerin gergin olsa bile canlı kaldıkları deneysel olarak gösterilmişse de plastik cerrahide flep gerginliğinden kaçınılır (60).

Hematom oluşmasının önemli bir nekroz nedeni olduğu çok eskilerden beri bilinmektedir. Hematom sonucunda artan basınçla dermal dolaşımının bozulması önemli rol oynamaktadır (61).

Epinefrin ve norepinefrin konsantrasyonunun yüksek olduğu lokal anesteziklerin flep beslenmelerini kötü yönde etkiledikleri bildirilmektedir (62).

Radyoterapi derin vasküler ağda hasara neden olmaktadır. Radyoterapi uygulanmış sahalardan hazırlanacak fleplerin nekroz riski oldukça yüksektir. Radyoterapi damarlarda ilerleyici vasküler endarteritle sonuçlanır (63).

Yaşlı hastalarda flep nekrozuna daha sık rastlanmaktadır. Tsuchida ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada flepteki kan akımının yaş arttıkça zayıfladığını belirtmişlerdir (64).

Ödemin flep nekrozundaki etkisi tam olarak bilinmemesine rağmen damar tıkanmalarına neden olduğu düşünülmektedir (61).

Yapılan çalışmalar flebin beslenmesinde en önemli dönemin ameliyat sonrasındaki ilk 48 saat olduğu saptanmıştır (65). Bu nedenle özellikle bu süre zarfı içerisinde flep altında hematoma olmamasına, pedikülün katlanmamasına, pediküle veya flebe baskı uygulanmamasına aşırı gergin pansumanlardan kaçınmaya dikkat edilmelidir. Bunun dışında hastanın ortalama arter kan basıncının düşmemesi ve yakın vital takibi gereklidir (61).

2.2.1. Flep Geciktirmesi

Geciktirme fenomeni flebin kaldırılmadan önce iskemik bırakılarak vasküler yoğunluğun artırılması temeline dayanır (66). Amaçlanan artmış vaskülarizasyon sayesinde random patern deri fleplerinde boy/en oranı daha yüksek tutulabilmekle birlikte, aksiyel patern flepler daha büyük boyutlarda kaldırılabilir.

Flep geciktirmesi cerrahi olarak ve cerrahi dışı metotlarla yapılabilir. Günümüzde en sık uygulanan ve en geçerli olan metot cerrahi flep geciktirmesidir. Cerrahi dışı flep geciktirmesinde ise ilaçlar, akupunktur, düşük dozda uygulanan lazer, flep kenarlarının klemplenmesi, transkutanöz elektrik ve ultrason uygulanabilir. Cerrahi flep geciktirmesi ise planlanan flebin iki kenarına tam kat insizyon yapılarak “standart geciktirme” veya flebin iki kenarına tam kat insizyon yapıp flebi zeminden de kaldırıp bipediküllü flep haline getirilerek “stratejik geciktirme” yapılabilir. Flebin öncelikle bipediküllü flep haline getirilerek yapılan cerrahi geciktirmede daha başarılı sonuçlar elde edilebilir. Bu stratejik geciktirme yönteminin flep iskemisi için risk faktörü bulunduran (sigara kullanımı, radyoterapi, abdominal skar vs.) hastalarda uygulanması savunulmaktadır (52).

Tarihte ilk geciktirme uygulamasının 15. y.y. da Viano ailesi tarafından uygulandığı bilinmektedir. Burun rekonstrüksiyonu amacıyla ön koldan kaldırılan flep, 1 aylık geciktirmeye tabi tutulmuştur. Bu işlem daha sonra “geciktirme fenomeni” olarak 16. y.y. da Tagliacozzi tarafından tariflenmiş ve kol bölgesinde kaldırılan flepte uygulanmıştır (67). Yirminci yüzyıla geldiğimizde Gillies 1920 yılında tüp flep tekniğini tariflemiş ve geciktirme fenomeninin önemine değinmiştir (68). Flep geciktirmesi ile ilgili ilk deneysel çalışma 1965 yılında Milton tarafından yapılmıştır. Domuz modelinde yapılan çalışmada bir grupta ‘U’ şekilli flep kaldırılmış ve diğer grupta ise flep önce bipediküllü hale getirilmiştir. İki hafta geciktirme uygulandıktan sonra flep kaldırılmış ve gruplar arasındaki canlılık oranları karşılaştırılmıştır. En etkili geciktirme yönteminin bipediküllü planlanan geciktirme yönteminde olduğunu ortaya koymuşlardır (69).

Flep geciktirmesi erken dönem ve geç dönemde olmak üzere çeşitli mekanizmalarla etki gösterir.

2.2.1.1 Erken Dönem Etkileri

Sempatik Denervasyon: Flebin elevasyonu sonrasında iskeminin en önemli nedeni hiperadrenerjik durumdur. İki hipotezle bu durum açıklanmaktadır. İlk hipotezde arteriollere eşlik eden sempatik sinirlerinde kesilmesi sonrasında sinir uçlarından nörepinefrin salınır. Postop 30 saate kadar devam edebilen bu durum sonrasında, prekapillerik sfinkterlerde vazodilatasyon oluşur. Kan akımı, dokuyu besleyemeden, arteriovenöz anastomozlar aracılığıyla kapiller yatağı by-pass eder. Bunun sonucunda dokularda iskemi meydana gelir. İkinci hipotezde damara eşlik eden sempatik sinirin kesilmesi sonrası 4-24 saat salınan sempatik nörotransmitterler sonrası sempatik hiperfonksiyon gelişeceği takip eden günlerde sempatik denervasyona sebep olup sonrasında vazodilatasyonla flep beslenmesinin artacağı ileri sürülmektedir (70).

Anjiozom ve Choke Damarlar: Taylor ve Palmer aynı kaynak arterden beslenen birleşik bir doku bloğunu yani anjiozomları tariflemişlerdir (71). Komşu anjiozomlar birbirlerine çapı değişmeyen gerçek anastomoz veya çapı değişebilen choke damarlarla bağlıdırlar. Planlanan flebe geciktirme işlemi yapılarak iskemik bırakıldığında choke damarlarda vazodilatasyon meydana gelerek flebin distaline de yeterli kan akımının ulaşması sağlanabilmektedir.

Doku Metabolizmasında Erken Dönemde Meydana Gelen Değişiklikler: İskemik bırakılan veya kontrollü iskemi ve reperfüzyon uygulanan dokuların iskemiye toleransı artar. Geciktirme yapılarak iskemik bırakılan dokuların enerji ihtiyaçlarını azalttıkları (72), daha iyi bir mikro sirkülasyona sahip oldukları (73), daha az oksijen radikali ürettikleri (74) ve daha düşük apoptozis oranlarına sahip oldukları (75) görülerek tüm metabolizmalarında bazale indikleri gözlenmiştir.

2.2.1.2 Geç Dönem Etkileri

Doku Metabolizmasında Geç Dönem Etkiler: Flebe geciktirme işlemi yapıldığında araşidonik asit metabolitlerinde özellikle $\text{PGF}_{2\alpha}$ ve Thromboxane A_2 düzeylerinde belirgin bir artış gözlenir. Geciktirme işlemi yapıldıktan sonra yeni yerine transfer edilen flepte Thromboxane A_2 düzeyinde, geciktirme işlemindeki düzeyde artış gözlenmez. Bu durumun tam aksine damarlarda vazodilatasyon oluşturan PGE_2 metabolitinin düzeyinde artış gözlenir (72-76).

Neovaskülarizasyon: Flep geciktirmesinde, vasküler değişikliklerin en temel uyarıcı iskemidir. Anjiyojenik faktörler olan β - FGF ve VEGF düzeyleri geciktirme yapılan fleplerde artış gösterir ve yeni damar oluşumunu artırır. Bu maddelerin dışarıdan flebe verilmesiyle geciktirme benzeri bir tablo oluşturulabilmektedir. Carroll ve arkadaşları köpek modelinde yaptıkları çalışmada β - FGF vererek geciktirme benzeri etki oluşturarak latissimus dorsi kas flebinde perfüzyonun ve canlılığın arttığını göstermişlerdir (77). İskemi durumunda özellikle VEGF gibi büyüme faktörleri salınır ve kemik iliği kökenli endotelyal progenitör hücreler üretilir. Bu hücreler iskemik dokuya göç ederek neovaskülarizasyonu başlatır. 14. günde bu hücreler vasküler kordlar oluşturur ve 21. günde tam anlamıyla fonksiyonel damarlar oluşur. Geciktirme operasyonu sonrasında kemik iliği kökenli progenitör hücrelerin 3 ila 7. günler arasında iskemik dokuda saptanabileceği bildirilmiştir. Bu hücreler aracılığıyla oluşan damarlar, dolaşıma en erken 14. gün ve sonrasında destek olabilmektedir. Bu nedenle geciktirme sonrasında doku transferi için en uygun zaman 14. gün olarak kabul görmüştür (78).

2.2.2 Ön Koşullama

Flep cerrahisi öncesinde, flebi belli bir strese maruz bırakarak canlılığını arttırmak amacıyla yapılan işleme “ön koşullama” denir. Ön koşullama ilk olarak 1986 yılından Murry tarafından kalpteki afferent damarlarda meydana gelen kısmi oklüzyon sonucunda oluşan hücre ölüm oranlarının sonraki tekrarlamalarda giderek azalmasıyla tariflenmiştir (79). Kalpte ön koşullama işleminin tariflenmesinden sonra çeşitli organlara yönelik cerrahi işlemlerde uygulanmıştır (80-85). Dokularda iskekiye karşı toleransı arttırabilmek amacıyla değişik ön koşullama metotları uygulanabilmektedir.

2.2.2.1 İskemik Ön Koşullama

İskemik ön koşullama dokunun belli bir periyot boyunca iskemik bırakılıp sonrasında reperfüzyonun sağlanmasıyla dokunun iskekiye karşı toleransının arttırılması ve iskemi reperfüzyon hasarının engellenmesi temeline dayanır. Bu fenomen Murry tarafından tarif edilmiş olmakla birlikte flep cerrahisinde ilk olarak 1992 yılında Mounsey tarafından deneysel çalışmada yer almıştır (86). İskemik ön koşullama sayesinde arteriolar vazospazm engellenir. Bu sayede kapiller yataktan kan akımının tekrar

geçmesi sağlanır. Ayrıca kan akımını arttırıcı etkisi sayesinde iskemik ön koşullama fleplerde doku kaybının önüne geçilmesini sağlamaktadır (87-89).

2.2.2.2 Hipertermik Ön Koşullama

Dokunun yaklaşık 42°C kadar ısıtılarak heat-shock proteinlerinin sentezlenmesi temeline dayanır. Heat-shock proteinleri hücreyi spesifik olmayan faktörlere karşı koruyarak hücrenin ölümünü engeller. Heat-shock proteinlerinin yapılan çalışmalarda kalp, beyin, karaciğer ve böbrekte iskemik hasarı engelleyip dokuları koruduğu gösterilmiştir (90-93). Hipertermik ön koşullama lokal olarak veya sistemik olarak uygulanabilmektedir. Her iki türlü uygulama ile de fleplerdeki canlılık oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (94, 95).

2.2.2.3 Hipotermik Ön Koşullama

Hücre metabolizmasının yavaşlatılmasının yanı sıra HSP-32 olarak da bilinen Hemoksijenaz enziminin aktivasyonu sonucu ortama antioksidan etki gösteren bir madde olan biliverdin salgınır. Biliverdin antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahiptir. Biliverdinin sahip olduğu bu özellikler sayesinde ortama salınan serbest radikallerin toksik etkileri engellenmekte ve fleplerde canlılık oranlarında artış olduğu görülebilmektedir. Heat-Shock Proteinlerinin düzeyi hipotermik ön koşullama yapıldıktan 24 saat sonra en yüksek düzeylere ulaşmaktadır (96). Bu nedenle cerrahi esnasında yapılan hipotermik ön koşullama ile istenilen başarı elde edilemeyebilir. Bu durumun önüne geçmek için hipotermik ön koşullama cerrahiden en az 24 saat önce uygulanmalıdır.

2.2.2.4 Farmakolojik Ön Koşullama

Farmakolojik ön koşullamada amaç kritik düzeydeki iskemi veya iskemi reperfüzyon hasarına karşı flep canlılığını arttırmaktır. Çeşitli ilaçların farklı etki mekanizmalarından faydalanılarak flep canlılıkları arttırılmıştır. Dextran ve Heparin mikrosirkülasyonu koruyarak flep canlılığında artışa yardımcı olmuşlardır (97). Verapamil, İsoxsuprine ve NO gibi bazı ilaçlar vazodilatasyon oluşturarak dolaşımı artırma yoluyla flep canlılığında artışa yardımcı olmuşlardır (98-100). Prostoglandin analogları, Xanthine analogları, Deksametazon ve Calcitonin Gene Related Peptid gibi bazı ilaçlar ise anti

inflatuar etki göstererek lökosit infiltrasyonunu ve oksijen radikali sentezini azaltarak flep canlılık oranlarında artış sağlamışlardır (101-104).

Büyüme faktörleriyle de ön koşullama oluşturulabilmektedir ve yeni damar oluşumunu uyarma temeline dayanmaktadır. Höckel ve arkadaşları 1989 yılında tavşan modelinde yaptıkları çalışmada Angiotropini deri flebinde lokal olarak uygulamış ve bu maddenin nekrozu engellediğini göstermişlerdir (105). Bu çalışmadan kısa bir zaman sonra β -FGF 'nin pediküllü deri fleplerine subkutan uygulanması sonucunda flep canlılığında artış olduğu gözlenmiştir (106). Damarlanmayı arttıran büyüme faktörlerinden biri olan VEGF 'in de sistemik veya lokal uygulaması sonucunda flep canlılığında artış olduğu gösterilmiştir (107-109).

2.2.2.5. Diğer Yöntemler

Akupunktur ve elektroakupunktur uygulamalarının flep önkoşullamada deneysel olarak çalışıldığı bazı çalışmalarda elektroakupunkturun tekrar eden yüksek yoğunluklu ve post-op uygulamasının en etkili yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca farmakolojik ajanların elektroakupunkturla enjeksiyonunun başarılı sonuçlar verdiği öne sürülmüştür (110, 111). Elektroakupunkturun deneysel çalışmalarda greftteki doku myeloperoksidaz aktivitesini azalttığı, doku ve plazma glutasyon seviyelerini yükselttiği ve bu şekilde sistematik ve lokal oksidatif stresi azalttığı tespitinde bulunmuşlardır (112-114).

Düşük dozda uygulanan lazerin yara iyileşmesine olumlu etkileri olduğu daha önce yapılan çalışmalarda öne sürülmüştür. Flep canlılığı üzerine yapılan deneysel çalışmalarda ise 670 nm dalga boyunda lazerin flep canlılığı üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (115-117).

Macionis ve ark. (118) tarafından yapılan deneysel bir çalışmada flep kenarlarının klemlendiği yeni bir flep önkoşullama metodolojisi tariflenmiştir.

İnsülin benzeri büyüme faktörlerinin kullanıldığı deneysel bir çalışmada flep canlılığını anlamlı seviyede etkilemediği sonucuna varılmıştır (119).

Botulinium toksini kullanılarak deneysel olarak çalışılan flep geciktirme metotları oldukça başarılı ve pratik bulunmuşlardır. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı derecede flep canlılığına olumlu katkı sağladıkları gözlenmiştir (120-122).

2.3. Ultrason

Ultrason insan kulağını duyamayacağı kadar yüksek tizlikte ses dalgalarına verilen isimdir. Doğada bilinen ultrases üreticilerinin yarasalar ve yunuslar olduğu bilinmektedir. Yarasalar bu sayede görmedikleri halde, ürettikleri ses dalgalarının engellerden dönmesiyle kendilerine bir yol haritası çizer ve havada rahatça hareket edebilirler. Yunuslar ürettikleri ses dalgalarını bir sonar gibi kullanıp etraflarındaki canlı ve cansız varlıkların farkına varabilirler.

İnsanlık tarihinde ise kayda geçen ilk ses dalgası deneyini ilkel yollarla da olsa Leonardo da Vinci yapmıştır. Denizin altına yerleştirdiği bir tüp sayesinde, suyun içinde iletilen sestten neler duyabildiğini gözlemlemiştir. Da Vinci'nin bu deneyi ultrases konusunda bir öncü olarak kabul edilebilir.

Ultrases alanındaki en temel keşif ise şüphesiz piezo-elektrik kristalleridir (1880 yılında Pierre Curie). Reginald Fessenden Piezo-elektrik etkisini kullanarak 1914'te ABD'nin ilk sonarını geliştirdi. Bu cihazın asıl amacı deniz dibini taramak ve eğer tehlikeli bir durum varsa bildirmektir.

Bir nörolog ve psikiyatrist olarak Karl Theodore Dussik 1930'ların sonunda deneylerine başladı. Dussik ultrasesi tıbbi tanı için kullanan ilk hekim olarak kabul edilir.

Modern ultrason(ultrases) teknolojisi Dr. George Ludwig'in çalışmalarıyla gelişti. Ludwig'in çalışmalarında da temel prensip (puls-echo) ses dalgalarının gönderilip, hedeften yansdıktan sonra toplanıp, bir ekranda gösterilmesi şeklindeydi.

Medikal Ultrasonografi, kardiyolog Inge Edler ve nükleer fizikçi Carl Hertz tarafından 1953 yılında Lund Üniversitesi'nde kullanıldı. Kalp faaliyetinin ilk başarılı ölçümü Kockums adlı bir firmadan alınan cihazla 29 Ekim 1953'te Edler ve Hertz tarafından yapıldı. Yapılan çalışmalarda elde edilen görüntülerin hepsi tek boyutta bir yansımadan ibaretti. İki boyutlu görüntüler ise 1957 yılında Dr. Douglass Howry ve Dr. Joseph Homles tarafından icat edilen ultrason cihazlarıyla birlikte geldi. Bu araçların

kullanılması için hasta su dolu bir tanka giriyor ve araç hasta etrafında dönerek görüntü oluşturmuyordu.

Martin H. Wilcox 1973 yılında gerçek zamanlı tarayıcı cihazını geliştirdi. 1975 yılında ise ilk başarılı hareketli ultrasonu yaptı. 1984 yılında Kazunori Baba tarafından ilk başarılı 3 boyutlu görüntüler oluşturuldu. İnsanlar üzerinde ultrasonla tedavi ilk olarak 1938 de Polhman tarafından bir lumbosiyatik vakasında kullanılmıştır(123).

Amerika, Kanada, Hollanda, İngiltere gibi pek çok ülkede fizik tedavi ve rehabilitasyon alanında çalışanlar ile yapılan anket sonucunda ultrason tedavisi en sık kullanılan ajan olarak belirtilmiştir.

Fonoforez (sonoforez), Ultrason enerjisinden yararlanarak bir ilacın veya bir maddenin doku tarafından emilmesini arttırmaktır. Ultrasonun çeşitli kullanım alanları tabloda özetlenmiştir (Tablo – 3).

2.3.1. Ultrasonun Biyofizik Özellikleri

Ultrason, 85KHz ile 3MHz arasındaki frekanslara sahip ses dalgaları tarafından üretilen mekanik enerjinin, 0 ile 3 W/cm² yoğunlukta uygulanması esasına dayanan bir fiziksel ajandır.

Bir ultrasonik dalganın üretimi; ultrason başlığının içinde yer alan piezoelektrik transdusere uygulanan yüksek frekanslı alternatif akım, transduserin daralıp genişlemesine neden olması, bu hareket sonucunda biyolojik dokulara iletilecek düzeyde bir ses dalgası üretilmesi şeklinde gerçekleşir.

Bir ultrason dalgasının transdusere en yakın bölgesine yakın bölge (fresnel bölge) bu bölgenin hemen ardından gelen bölgeye uzak bölge (fraunhofer bölgesi) denir (124). Yakın bölge, doku içinde ultrason dalgalarını tedaviye yönelik etkilerinin olduğu bölge olarak bilinmektedir.

Tablo 3.Ultrasonun Çeşitli Kullanım Alanları ve Frekansları

Frekans	Sınıflandırma	Uygulama
1-20 Hz	İnfrason	Vibroterapi- Perküsyon
20 Hz- 18 KHz	Duyulabilir Ses	İnsan İletişimi
20 KHz	Ultrason	Fonoforez
20 – 60 KHz	Ultrason	Diş Temizliği
8 KHz – 3 MHz	Ultrason	Terapötik Etkiler
4 – 16 MHz	Ultrason	Fonoforez
16 MHz üstü	Ultrason	Tanısal Görüntüleme

Terapötik US yüksek frekanslı akustik enerji yoluyla dokuda termal ve termal olmayan etki üretmeden kullanılır. US dalgaları dokuda yol aldıkça enerjilerinin bir kısmını kaybeder. Buna atenüasyon denir. Atenüasyon; absorbsiyon, sinyal ayrılması ve yön değiştirme mekanizmasıyla olur. US dalgaları absorbe edildikçe ısıya dönüşür. Frekans arttıkça atenüasyon da artar, böylece 1 MHz bir sinyal, düşük atenüasyon nedeniyle 3 MHz sinyale göre daha derin dokuya nüfuz eder (125).

Terapötik Ultrason dalgaları rehabilitasyon programlarında, peroperatif estetik prosedürlerde; çalışma sistemi kolaylığı, kullanılabilirliği, maliyeti ve doku tamiri üzerine etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılır (40-43). US hücre zarının geçirgenliğini artırarak kalsiyumun hücre içine geçişine sebep olur (44-48). Kalsiyum iyonları gen ekspresyonunun regülasyonunu ve hücre metabolizmasını düzenleyen hücre içi haberci olarak hareket eder (43, 46). US kalsiyumun mast hücrelerine, nötrofillere ve makrofajlara girişini aktive ederek inflamasyonu azaltır, fibroblast ve endotel hücre aktivitesini artırır, proliferatif fazı stimüle eder (40, 47, 48). US endotel hücrelerine kalsiyum girişini sağlayarak angiogenezi artırır. Bu şekilde Nitrit Oksit sentaz daha fazla NO oluşumunu katalize eder. Bu durum da sitokin ve VEGF gibi angiojenik faktörlerin daha fazla üretimi ile sonuçlanır (43, 44). Yapılan başka çalışmalarda da US uygulamasının uygulanan alanda belirgin kan akımında artışa neden olduğu gösterilmiştir (49-51).

2.4 Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu

Elektrik akımının tıp dünyasında kullanımı tarihte ilk olarak iyileşmeyen yaralarda denenmiştir. On yedinci ve yirminci yüzyıllarda çiçek hastalığına bağlı deri lezyonları ve çeşitli etyolojideki yaraların iyileşmesinde elektrostatik altın pimler kullanıldığına dair raporlar vardır. Lente ilk kez 1850 yılında kemik kırıklarının iyileştirilmesinde elektrik stimülasyonu kullanmıştır. Elektrik stimülasyonunun kronik yaralar üzerine olan etkileri 1960' lı yılların ortalarında birçok çalışma ile araştırılmıştır. Geçen 30 yıl içerisinde elektrik stimülasyonunun yumuşak dokular üzerine olan etkileri çeşitli tıbbi alanlarda kabul edilip kullanılmaktadır (126).

Günümüz tıbbında pratik sağlık uygulamaları içerisinde birçok disipliner yaklaşımda elektrik stimülasyonu hastalıkların ve yaralanmaların değerlendirilmesinde, tanı ve tedavisinde kullanılmaktadır. Kronik ağrının kontrolünde elektro analjezi, kalbin nodal aktivitesinin regülasyonunda 'pacing' cihazı, duymak için kohlear stimülasyonda, paralize uzuvların hareketinde fonksiyonel elektrik stimülasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırmak için galvanik stimülasyon şeklinde kullanılmaktadır.

İnsan vücudunun da sürekli olan endojen bir elektriksel potansiyel vardır ve bunlar açıkça kaydedilebilmektedir. Kalp için elektrokardiogram, beyin için elektroensefalogram, iskelet kasları için elektromyogram ve retina için elektroretinogram elektrofizyolojinin değerlendirme şekilleridir.

İnsan ve memelilerde sağlam ve yaralı deride akım ölçümleriyle ilgili önemli raporlar vardır. Bazı çalışmacılar sağlam deride elektronegatif voltaj, yüzeyel dermis içeren yaralarda ise elektropozitif voltaj olduğunu rapor etmişlerdir (127). Elektrik stimülasyonu ile yara iyileşmesi artırmasının hücresel ve fizyolojik mekanizmasını açıklamak üzere önemli deneysel çalışmalar yapılmıştır. Çeşitli frekans ve amplitüddeki elektrik akımının hücreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bourguignon ve ark. (37) sağlıklı insan fibroblast hücre kültürünü yüksek voltaj akım ile stimüle ettiklerinde fibroblastların kontrol grubuna göre %160 daha fazla protein ve DNA sentezlediğini rapor etmişlerdir. En yüksek sentezin 50, 75 ve 100 V stimülasyon uygulamasında katod yakınında olduğunu görmüşlerdir. Voltajı 250 V'a çıkardıklarında hem protein hem de DNA sentezinin durduğunu rapor etmişlerdir.

Elektrik stimölasyonu mRNA transkripsiyonel aktivasyonunu artırarak VEGF salınımını artırır. Elektrik stimölasyonunun VEGF düzeylerinde artmaya neden olduğu ve bununla endotel hücrelerinde büyümeye neden olduğu gösterilmiştir (29, 36).

İn vitro çalışmalarda temel olarak elektrik stimölasyonunun fibroblast hücre membranında voltaja hassas kalsiyum kanallarını açarak hücre yüzeyindeki insülin ve TGF- β reseptörlerini etkileyip kollejen ve DNA sentezini ve fibroblast proliferasyonunu artırdığı bildirilmiştir (37).

Bazı çalışmacılar yara iyileşmesinde göç eden hücrelerin kültürlerini hazırlayarak elektrik akımı ile hücrelerin anodal ya da katodal hareketlerini araştırmışlardır. Bu fenomen ‘galvanotaksis’ olarak bilinip negatif ya da pozitif şarjlı hücrelerin hareketini tanımlar. Örneğin; iyileşmenin inflamatuvar safhasında önemli rol oynayan makrofajlar anoda doğru hareket ederken nötrofiller hem anoda hem katoda doğru hareket ederler (126). Dineur, infeksiyon ya da inflamasyon alanındaki lökositlerin katoda doğru hareket ettiğini rapor etmiştir (128). Fibroblastlar katoda doğru hareket ederler (126). Keratinositlerin memelilerin yaralarında dışarıdan elektrik akımı verildiğinde katoda doğru göç ettiğı görölmüştür. Eberhardt ve ark. nın (129) yaptıkları çalışmada insan derisine 6 saat elektrik stimölasyonu verdikten sonra sayılan 500 hücrenin %69’unun nötrofil olduğunu ve bu oranın kontrol grubunda %45 olduğunu görmüşlerdir. Aradaki %24’lük nötrofil farkını uygulanan elektrik stimölasyonunun galvanotaksis etkisine bağlamışlardır. İn vivo elektrik stimölasyonunun hücre göçlerindeki etkisinde bazı güçlü mekanizmalar vardır. Hücrelerin plazma membranındaki proteinler etkilenecek stimölasyona cevap veriyor olabilir. Örneğin keratinositlerin üzerindeki epidermal büyüme faktörü reseptörleri elektrik stimölasyonunun etkisindeyken katoda doğru yönelir (130).

Elektrik stimölasyonunun kolonize ya da enfekte yaralarda bakteriostatik ve bakterisidal etki gösterdiği, hem in vitro hem de in vivo çalışmalar da gösterilmiştir. Rowley in vitro olarak doğru akımın E. coli üzerinde bakteriostatik etkisi olduğunu göstermiştir (39). Wolcott ve ark. (38) Psudomonas ve/veya Proteus içeren insan yaralarını katodal doğru akım ile tedavi etmişlerdir.

Elektrik stimölasyonunun deri greftleri, greft donör alanları, deri, kas-deri flepleri ve hayvanlarda anjiogenezis üzerindeki etkileri çeşitli çalışmalarla değerdendirilmiştir. Chu ve ark. (131) domuz modelinde naylon pansuman içerisinde gümüşle 20-40 μ A doğru akımı 5 gün uygulayarak orta kalınlıkta haşlanma yanığının, deri greftinin ve donör alanın iyileşmesini değerdendirmişlerdir. Sonuçta doğru akım verilen haşlanma yanıklarının daha erken epitelize olduğu, greft damarlanmasının daha hızlı gerçekteştiği, donör alanın kontrol grubuna göre daha erken epitelize, daha az konrakte olduğu, kıl yaşamının arttığı ve dermal fibrozisin azaldığını göstermişlerdir. Im ve ark. (26) domuzlarda santral parçası iskemik olan bipediküllü fleplere günde 2 kez 30 dakika 128pps monofazik 35 mA akımın etkilerini inceledikleri deneysel çalışmalarda, fleplere 1-3. günler arasında katodal, 4-6. günler arasında anodal ve 7-9. günler tekrar katodal akım verilerek deney grubunda flep yaşamının arttığını göstermişlerdir. Elektrik stimölasyonunun olumlu etkisini de ilk 3 gün verilen katodal akımın sempatik blokaj ile vasokonstriksiyonu engellemesine, sonraki anodal akımın dokuyu süperoksid radikallerinden korumasına bağlamışlardır.

Elektrik stimölasyonu kapiller dansiteyi artırarak yaranın anjiogenezisine katkıda bulunur. Ayrıca dokunun oksijenizasyonunu artırır (27, 29). Bu özellikleri ile elektrik stimölasyonu venöz yetmezlikten kaynaklanan kronik yaralarda, bası yaralarında, iskemik olmayan diyabetik nöropatiden kaynaklanan yaralarda ve iskemik alt ekstremitte yaralarında kullanılmış ve olumlu sonuçlar bildirilmiştir (126).

Transkütanöz elektriksel sinir stimölasyonu (TENS) öncelikle ağrıyı hafifletmek için kullanılır ve önceki hayvan ve insan çalışmalarında, TENS'in sinir liflerini aktive ederek ve vasküler direnci değıştirerek lokal kan akışını azaltan flep nekrozunu değıştirdiği gösterilmiştir. Elektriksel uyarımın iskemik dokulardaki kan akışını ve VEGF seviyelerini arttırdığı, doku oksijen gerilimini azalttığı, anti-enflamatuar aktiviteye sahip olduğu, kılcak yoğunluğu arttırdığı ve anjiyogenezi arttırdığı gösterilmiştir (25, 29). In vitro ve in vivo çalışmalar, elektrik stimölasyonunun VEGF salgılanmasını artırmanın alternatif bir yolu olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, elektrik stimölasyonunun iskemik fleplerde flep sağkalım oranını arttırdığı bilinmektedir (30).

Literatürdeki flep çalışmalarında TENS uygulamasındaki hemen hemen tüm çalışmalar iskemik fleplere uygulanmış ve gözle görülür sonuçlar elde edilmiştir. Elektriksel

stimölasyon, cerrahi prosedür veya hastaneye yatış gerektirmeyen, kolay uygulanabilir, invaziv olmayan, ucuz, pratik ve etkili bir yöntemdir. Uygulama cerrahın zamanını almaz, hastanın günlük aktivitelerini sınırlamaz ve cihazlar tekrar kullanılabilir. Tüm bu uygun koşullar, elektrik stimölasyonunun flep gecikmesi için ideal bir yöntem olduğunu göstermektedir. Uygulama için 7 günlük süre gerektirmesi bir dezavantajı olmasına rağmen, bu süre hala cerrahi gecikme için gereken 14 günlük süreden daha kısadır.

TENS kardiak pace-maker kullananlara, gebe abdomen üzerine, karotis sinüs üstüne, göz ve mukozaya ve deri bütünlüğü bozulmuş bölgeye uygulanmaz. Bu durumlarda kontrendikedir (132).



3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun izni ile (Proje No: TTU-2020-10166) Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde, Mayıs 2020 – Temmuz 2020 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma süresince deney hayvanları aynı laboratuvar koşullarında standart rat yemi ve su ile beslendi; ışık düzeni 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olan ortamlarda ve 21 ± 3 °C sıcaklıkta takip edildi. Çalışmada denek olarak ağırlıkları 270–450 gr arasında değişen 50 adet 4 aylık erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı. Hayvanlar ağırlıkları açısından fark olmayacak şekilde 10 hayvandan oluşan 5 gruba ayrıldı.

Anestezi intra peritoneal 50 mg/kg Ketamin ve 5 mg/kg Xylazin enjeksiyonu ile sağlandı. Sırt tüyleri tıraş edildikten sonra deri povidon-iodin ile silindi. Flepler kaldırıldıktan sonra tekrar yerlerine 4/0 prolene ve cilt stapleri yardımıyla tutturuldu.

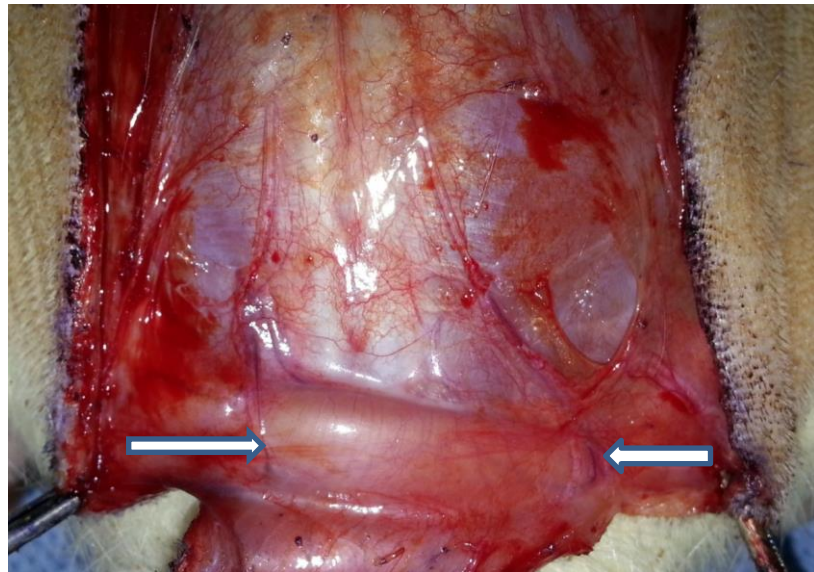
3.1. Flep Modeli

Çalışmada Mc Farlane ve arkadaşları tarafından tarif edilen deri flebi, kaudal pediküllü 2×8 cm boyutunda olacak şekilde modifiye edilerek uygulandı (133) (Şekil-1). Çalışmada flep iki taraflı skapula ve kokso femoral eklemler arasında bulunan bölgede planlandı. Flep, tabanı kokso femoral eklem bölgesinde olacak şekilde üç kenarından kesilerek pannikulus karnosus kasını da içerecek şekilde tam kat kaldırıldı. Kaudal bölgede iki taraflı iliolumber arterler koterize edildikten sonra kesildi (Şekil-2). Ardından flepler tekrar yerine dikildi. Flep geciktirmesi yapılan grupta flep, iki uzun kenarından yapılan kesinin ardından zeminden de kaldırılarak bipediküllü flep haline

getirildi ve tekrar yerine dikildi (Şekil-3). Cerrahi geciktirme grubunda 14 gün beklendikten sonra flebin distal kısmı da kesilerek flep kaudal pediküllü olarak kaldırıldı ve ardından tekrar yerine dikildi. Tüm gruplarda flep oluşturulduktan sonra 14 günlük bekleme süresinin ardından flep canlılık oranları belirlendikten sonra fleplerdeki nekroz hattını içeren bölgeden biyopsiler alındı.



Şekil 1. Boyutları 2x8 cm olan kaudal pediküllü flebin planı.



Şekil 2. İliolomber perforatörler.



Şekil 3. Bipediküllü flep.

3.2. Ultrason Uygulaması

Ultrason probunun başlığı 1cm^2 alana, çalışma frekansı $3\text{MHz} \pm 5\%$, modülasyon frekansı $100\text{Hz} \pm 5\%$, minimum-maksimum yoğunluk pulse operasyonu $0,1-3\text{ W/cm}^2 \pm 30\%$, duty faktör 25% olarak belirlenerek bu şekilde uygulandı (Şekil- 4, 5).

Flep kaldırılacak olan sırt bölgeleri tıraş edildi. Daha sonra flep boyutlarında bir kalıp kullanılarak flep bölgesi silinmeyecek doku kalemi ile işaretlendi. Ultrason 7 gün boyunca günde 5 dakika bu flep bölgesine önkoşullama amacıyla anestezi altındaki US ve US+TENS grubu deneklerine uygulandı (BTL-4000 Smart & Premium, BTL Türkiye, Ankara, Turkey). Flep üzerine jel uygulaması yapılmasının ardından ultrason probunun kendi ağırlığıyla dairesel hareketlerle uygulandı.



Şekil 4. Ultrason cihazı



Şekil 5. Ultrason cihaz uygulama ekranı

3.3. Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu Uygulaması

Elektrik stimülasyonu için İTO 120Z marka TENS cihazı kullanıldı (Model 120Z; ITO Company Limited, Tokyo, Japonya). Bu cihazın çift kanalı ile her cihaza iki sıçan bağlandı. Cihazın çıkışlarına bağlanan (+) ve (-) elektrotları sıçanların sırtına tespit edildi (Şekil-6). Çalışmada elektrik stimülasyonu 1988'de Kjartansson ve ark. nın,

2003’de Can ve ark. nın, 2006’da Liebano ve ark. nın yaptığı gibi günlük bir saat 80Hz frekansında 20 mA gücünde uygulandı (31-33).

Flep kaldırılacak olan sırt bölgeleri tıraş edildi. Daha sonra flep boyutlarında bir kalıp kullanılarak flep bölgesi silinmeyecek doku kalemı ile işaretlendi. TENS 7 gün boyunca günde 60 dakika bu flep bölgesine önkoşullama amacıyla anestezi altındaki TENS ve US+TENS grubu deneklerine uygulandı. Elektrik stimülasyonu 3,2 cm² lik elektrotların altına yerleştirilen 2 cm çaplı iletken jel kullanılarak, anod elektrot proksimal flebin yarısına, katod elektrot distal yarısına gelecek şekilde uygulandı. Bu doz subkontraktıl doz olup anestezi altındaki sıçanlara zarar vermedi.



Şekil 6. TENS uygulaması

3.4 Deney Planı

Çalışmada denekler 5 gruba ayrıldı.

Grup I: ‘Kontrol’ grubu

Grup II: ‘Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu’ ile geciktirme grubu

Grup III: ‘Ultrason’ ile geciktirme grubu

Grup IV: ‘Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu – Ultrason’ ile geciktirme grubu

Grup V: ‘Cerrahi geciktirme’ grubu

3.4.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubundaki deneklere genel anestezi uygulandıktan sonra skapulalar ve koksafemoral eklemler arası mesafe tıraşlandı. Tıraşlanan bölgeye standart 2 x 9 cm'lik şablon ile flep çizildi. Steril şartlar sağlandıktan sonra flep 15 no bistüri kullanılarak kaudal pediküllü olarak flep pannikulus karnosusu da içerecek şekilde üç kenarından yapılan kesilerin ardından kaldırıldı. Flep proksimali ve lateralinden giren bütün vasküler yapılar kesildi. Flebin distalindeki 1cm lik kısım eksize edilerek flep 2x8 cm boyutlarına getirildi (Şekil-7). Eksize edilen kısım serum fizyolojik içeren kaba alınarak biyokimyasal değeri analizi için -80 °C dondurucuda saklandı. Daha sonra flep aynı bölgeye 4/0 prolene kullanılarak kontinue olarak dikildi. Denekler her kafeste bir tane olacak şekilde takibe alındı. On dört gün sonra nekroz hattının oturmasının ardından nekroz profesyonel fotoğraf makinesiyle fotoğraflandı (Canon EOS 600 D; Canon, Inc., Tokyo, Japan). Nekroz hattının proksimalinden 1 x 1 cm lik örnekler alınarak histopatolojik değerlendirme için formolde saklandı. Bu grupta toplamda 10 adet rat kullanıldı.



Şekil 7. Planlanan flebin kaldırılması.

3.4.2. Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu Grubu

TENS tedavi grubuna daha önceden tıraşlanıp kalıp vasıtasıyla 2 x 9 cm planı çizilen flep bölgesine yedi gün boyunca günde bir saat olmak üzere TENS cihazı uygulandı.

Yedinci gün TENS uygulaması sonunda, steril şartlar hazırlandıktan sonra 15 no bistüri kullanılarak kaudal pediküllü olarak flep pannikulus karnosusu da içerecek şekilde kaldırıldı. Flep proksimali ve lateralinden giren bütün vasküler yapılar kesildi. Biyokimyasal analiz için flep kaldırılırken distalinden 2 x 1 cm lik örnekler alındı. Eksize edilen kısım serum fizyolojik içeren kaba alınarak biyokimyasal değer analizi için -80 °C dondurucuda saklandı. Daha sonra flep aynı bölgeye 4/0 prolene kullanılarak kontinue olarak dikildi. Cerrahi sonrası 14 gün beklenerek nekroz oturduktan sonra fotoğraflandı ve nekroz hattının proksimalinden 1 x 1 cm lik örnekler alınarak histopatolojik değerlendirme için formolde bekletildi.

3.4.3. Ultrason grubu

Us tedavi grubuna daha önceden tıraşlanıp kalıp vasıtasıyla 2 x 9 cm planı çizilen flep bölgesine yedi gün boyunca günde beş dakika olmak üzere ultrason cihazı uygulandı (Şekil-8). Yedinci gün US uygulaması sonunda, steril şartlar hazırlandıktan sonra 15 no bistüri kullanılarak kaudal pediküllü olarak flep pannikulus karnosusu da içerecek şekilde kaldırıldı. Flep proksimali ve lateralinden giren bütün vasküler yapılar kesildi. Biyokimyasal analiz için flep kaldırılırken distalinden 2 x 1 cm lik örnekler alındı. Eksize edilen kısım serum fizyolojik içeren kaba alınarak biyokimyasal değer analizi için -80 °C dondurucuda saklandı. Daha sonra flep aynı bölgeye 4/0 prolene kullanılarak kontinue olarak dikildi. Cerrahi sonrası 14 gün beklenerek nekroz oturduktan sonra fotoğraflandı ve nekroz hattının proksimalinden 1 x 1 cm lik örnekler alınarak histopatolojik değerlendirme için formolde bekletildi.



Şekil 8. Ultrason uygulaması

3.4.4. Ultrason ve Transkutanöz Elektrik Sinir Stimülasyonu grubu

US+TENS tedavi grubuna daha önceden tıraşlanıp kalıp vasıtasıyla 2 x 9 cm planı çizilen flep bölgesine yedi gün boyunca ilk olarak günde beş dakika olmak üzere ultrason, sonrasında da bir saat TENS cihazı uygulandı. Yedinci gün US+TENS uygulaması sonunda, steril şartlar hazırlandıktan sonra 15 no bistüri kullanılarak kaudal pediküllü olarak flep pannikulus karnosusu da içerecek şekilde kaldırıldı. Flep proksimali ve lateralinden giren bütün vasküler yapılar kesildi. Biyokimyasal analiz için flep kaldırılırken distalinden 2 x 1 cm lik örnekler alındı. Eksize edilen kısım serum fizyolojik içeren kaba alınarak biyokimyasal değer analizi için -80 °C dondurucuda saklandı. Daha sonra flep aynı bölgeye 4/0 prolene kullanılarak continue olarak dikildi. Cerrahi sonrası 14 gün beklenerek nekroz oturduktan sonra fotoğraflandı ve nekroz hattının proksimalinden 1 x 1 cm lik örnekler alınarak histopatolojik değerlendirme için formolde bekletildi.

3.4.5 Cerrahi Geciktirme Grubu

Anestezi madde enjekte edildikten sonra, skapulalar ve koksafemoral eklemler arası mesafe tıraşlandı. Steril şartlar hazırlandıktan sonra standart 2 x 8 cm olarak planlanan flebin iki kenarından tam kat insizyon yapıldı ve flep panniculus karnosus kası da flebe dâhil edilerek zeminden ayrılarak bipediküllü flep haline getirildi. Flep proksimali ve lateralinden giren bütün vasküler yapılar kesildi. Bu grupta toplamda 10 adet rat kullanıldı. On adet rattan 14. gün bipediküllü flebin orta kısmından 0.5x0.5 cm lik insizyonel biopsi alındı (Şekil-9). Eksize edilen kısım serum fizyolojik içeren kaba alınarak biyokimyasal değer analizi için -80 °C dondurucuda saklandı. Cerrahi geciktirme yapılan 10 ratta 14. gün fleplerin proksimal pedikülü kesilerek tekrar yerlerine suture edildi. Ondört gün sonra profesyonel fotoğraf makinesiyle flep fotoğraflandı. Flep distalinden oluşan nekroz hattının proksimalinden 1x1 cm lik örnekler alınarak histopatolojik değerlendirme için formolde bekletildi.

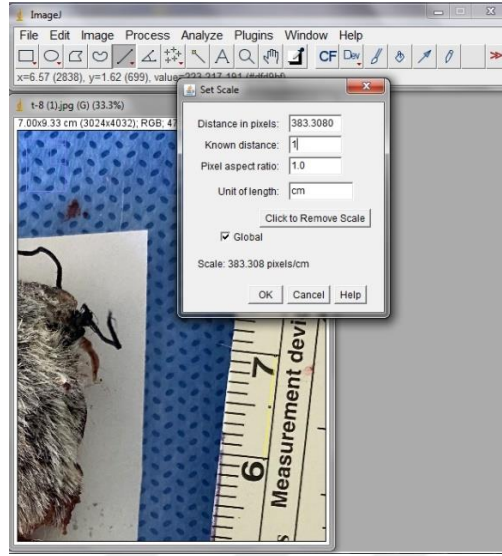


Şekil 9. Flepten 14. Gün Biyopsi Alınması

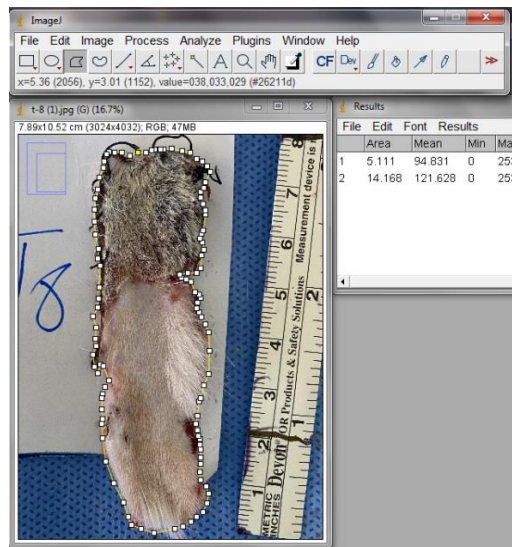
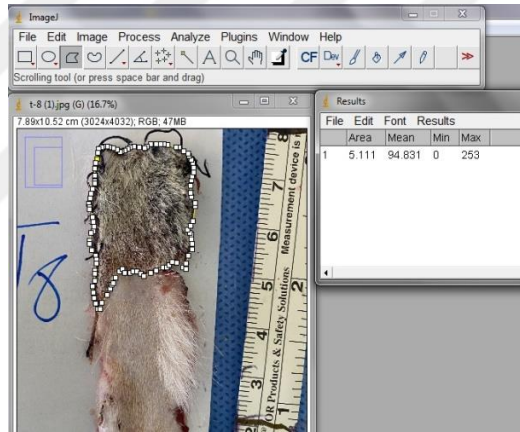
3.5. Değerlendirmeler

3.5.1. Makroskopik Değerlendirme

Flep cilt adasının yaşayabilir miktarının ölçülmesi: tüm gruplarda cerrahi müdahaleden 2 hafta sonra nekroz oturduktan sonra ratlar sakrifiye edilerek flepler eksize edildi ve her flep standart SI (International System of Units) birim sistemine uygun kâğıt cetvel ile birlikte profesyonel fotoğraf makinesi (Canon EOS 600 D; Canon, Inc., Tokyo, Japan) yardımıyla fotoğraflandı. Fotoğraflar JPEG (Joint Photographic Experts Group) formatında kaydedilerek Image J (LOCI, University of Wisconsin) programına aktarıldı. Her fotoğrafı kendi içinde standardize etmek için analiz menüsündeki “set-scale” sekmesinden bilinen uzunluk yerine kılavuz kâğıt cetveldен 1cm seçilerek bu piksel değeri 1cm olarak kalibre edildi. Daha sonra fleplerdeki nekroz alanları ve total flep alanları ayrı ayrı programın poligon çizim modu kullanılarak hesaplandı (Şekil-10, 11). Nekroze cilt alanı oranını hesaplamak için nekroze cilt alanı miktarı, total cilt alanına bölündü.



Şekil 10. Cetvel ile Image J programının kalibrasyonu



Şekil 11. Nekroze Alan ile Total Flebin İşaretlenmesi ve Ölçümü

3.5.2. Histopatolojik Değerlendirme

Tüm gruplara ait ratların deri örnekleri histopatolojik inceleme için %10'luk formalin fiksasyonu tespit edildi. Rutin doku takip aşamalarından geçirildikten sonra hazırlanan ve parafine gömülen dokulardan 4-5 µm'lık kesitler lamlara alındı. Ardından hematoxilen-eozin boyama metodları uygulandı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 (Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) ışık mikroskopunda incelenerek, hasar dereceleri skorlandı. Hazırlanan preparatların fotoğrafları Olympus DP27 fotoğraf makinesi (Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) ile çekilerek kaydedildi.

Hematoxilen-Eozin ile boyanan kesitlerde nekrotik hücreler, fibroblast-fibrosit sayısı, polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu ve damar yoğunluğu semikantitatif olarak değerlendirildi. Semikantitatif yöntemde, her deri örneği için her bir kesitte 10 farklı alanda 10'luk ve 20'lik objektifte sayılıp sözü edilen her bir hasar değişkeni (nekrotik hücreler, fibroblast-fibrosit sayısı, polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu ve damar yoğunluğu) iki patolog tarafından skorlandı. Gözlemcilerin farklı skorladığı preparatlar yeniden değerlendirilip her iki gözlemci arasında tartışılarak fikir birliğine varıldı. Hasar parametrelerinin şiddeti hiç yoksa 0, hafif şiddette ise 1, orta şiddette ise 2 ve şiddetli ise 3 olarak kabul edildi (Tablo-4). Her bir grupta elde edilen değerler kaydedildi. Histopatolojik değerlendirmeyi yapan patologlar bakılan preparatın hangi gruba ait olduğunu bilmemekteydi.

Tablo 4. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan parametrelerin skorlaması

Skor	Nekrotik hücreler	Fibroblast-Fibrosit Sayısı	PMNL infiltrasyonu	Vasküler Yoğunluk
0	Yok	Yok	Yok	Yok
1	Hafif	Hafif	Hafif	Hafif
2	Orta	Orta	Orta	Orta
3	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli

3.5.3. Doku VEGF Düzeyinin Elisa İle Ölçülmesi

Doku VEGF düzeylerini saptayabilmek amacıyla tüm gruplarda fleplerin iskemiye maruz kalmaması amacıyla flep kaldırılmadan hemen önce doku biyopsileri alındı.

Alınan örnekler serum fizyolojik içeren tüplere konularak -80 °C derin dondurucuda saklandı.

Dokular Ika-werke (T 25 basic ULTRA-TURRAX®, Shangai, China) cihazının 21500rpm/dk gücünde 60sn boyunca çalıştırılmasıyla homojenize edilerek supernatant elde edildi. Supernatant eldesi sonrası sonicator (Virtis Virsonic 50 cell disruptor homogenizer sonic sonicator, Midland, Canada) cihaz ile 12.kademede %50 output power 30sn boyunca kullanılarak hücre zarı parçalanması amacıyla sonikasyon işlemi yapıldı.

Elde edilen örnekler Elabsience marka "Total Protein (TP) Colorimetric Assay Kit (With standard, BCA method)" kitleriyle üretici firma tarafından belirlenen protokole uygun olarak değerlendirildi. Böylece her bir örnekteki total protein miktarı mg/ml biriminde hesaplandı.

Homojenize Supernatanttan VEGF miktarını belirlemek amacıyla Bosterbio marka "Rat VEGF ELISA Kit 96T" kitiyle örneklerin vegf miktarı pg/ml cinsinden belirlendi.

Daha sonra elde edilen verilerden, protein başına düşen VEGF miktarı; pg/mg protein cinsinden hesaplandı.

3.5.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi TURCOSA (Turcosa Analytics Ltd Co, Turkey, www.turcosa.com.tr) istatistik yazılımında gerçekleştirilmiştir. Verilerin normal dağılımı Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler yapıldı. Grupların varyans homojenliğine Levene testi ile bakıldı. Veriler doku VEGF değişkeni dışında tüm değişkenler için parametrik varsayımları sağlıyordu. Parametrik varsayımları sağlayan değişkenler için gruplar arası nicel değişkenlerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Varyans homojenliği parametrik varsayımını sağlamayan doku VEGF düzeyi değişkeni için Welch ANOVA testi yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar (Post-hoc) Tukey HSD ve Tamhane T2 testleri ile yapıldı. Gruplar arası nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testi kullanıldı. Bütün istatistiksel analizler değerlendirilirken $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneklerin sırt bölgelerinde yapılan cerrahi işlem sonrasında yara yeri enfeksiyonu, hematoma, seroma, abse veya dikiş hattında ayrışma olmadı. Kaldırılan fleplerin hiçbirinde %100 flep canlılığı olmadığı gibi hiçbirinde %100 nekroz görülmedi. Cerrahi işlem sonrasında 7. gün nekroz hattı oluşmaya başlarken 14. günde nekroz hattının iyice belirginleştiği gözlemlendi. Nekrozun tüm fleplerde distal bölgede olduğu gözlemlendi.

4.1. Flep Nekroz Oranları

Tüm gruplarda fleplere cerrahi işlem uygulandıktan iki hafta sonra fleplerin makroskopik görünimleri görüntülendi (Şekil- 13, 14, 15, 16, 17).

Flep nekroz oranı kontrol grubunda % $52,22 \pm 9,71$; cerrahi geciktirme grubunda % $16,57 \pm 4,80$; tens grubunda % $32,45 \pm 7,61$; us grubunda % $32,95 \pm 8,09$; us+tens grubunda % $35,83 \pm 8,05$ idi.

Gruplar arasında flep nekrozu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,001$) (Tablo – 5). Çoklu karşılaştırmaların sonuçları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo – 6). Çoklu karşılaştırmalar neticesinde US ve TENS uygulamasının flep nekrozu bakımından birbirleri ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca US+TENS uygulaması ile herhangi birini tek başına uygulamak arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun dışında cerrahi geciktirme grubunda nekroz oranı; US, TENS ve US+TENS gruplarının her üçünden de istatistiksel olarak anlamlı derecede azdır. Diğer tüm gruplardaki nekroz oranı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede azdır.

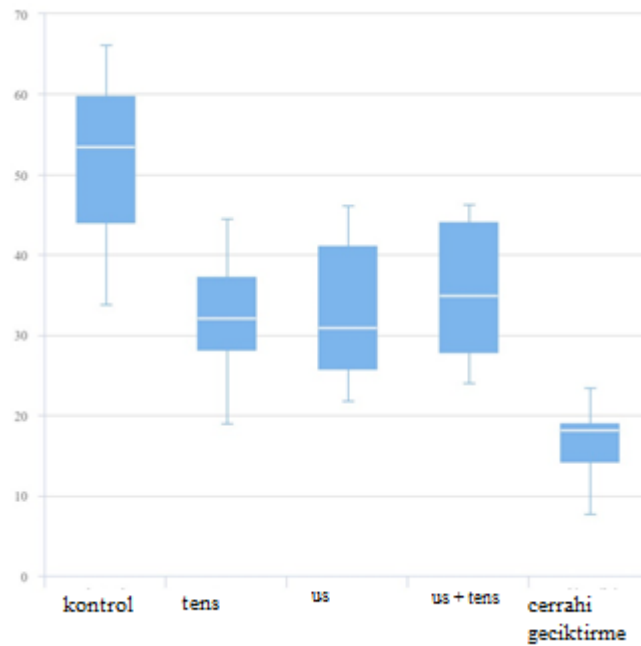
Tablo 5. Gruplara göre flep nekroz oranları dağılımı

Doku nekroz alanları (%)	Kontrol	TENS	US	US+TENS	Cerrahi geciktirme	<i>p</i>
<i>n</i>	10	10	10	10	10	<0.001
Ortalama $\pm$ SD	52.22 $\pm$ 9.71	32.45 $\pm$ 7.61	32.95 $\pm$ 8.09	35.83 $\pm$ 8.05	16.57 $\pm$ 4.80	
Min-Max	33,79-66,09	18,85-44,35	21,77-45,98	23,99-46,16	7,63-23,32	

Tablo 6. Gruplar arası flep nekroz oranları çoklu karşılaştırmalarının sonuçları

Gruplar	<i>p</i>
tens- kontrol	<0.001
us- kontrol	<0.001
us+tens - kontrol	<0.001
Cerrahi geciktirme- kontrol	<0.001
Cerrahi geciktirme- tens	<0.001
Cerrahi geciktirme- us	<0.001
Cerrahi geciktirme- us+tens	<0.001
us - tens	1
us+tens - tens	0,869
us+tens - us	0,922

Koyu satırlar istatistiksel olarak anlamlı çıkan test sonuçlarını göstermektedir (Tamhane T2).

**Şekil 12.** Gruplarda flep nekroz oranları dağılımı



Şekil 13. Kontrol grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü



Şekil 14. TENS grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü



Şekil 15. US grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü



Şekil 16. US+TENS grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü



Şekil 17. Cerrahi geciktirme grubunda örnek bir flebin cerrahi tamamlandıktan iki hafta sonra görünümü

4.2. Doku VEGF Düzeyleri

Çalışma gruplarında elde edilen doku VEGF düzeyi kontrol grubunda $28,65 \pm 7,87$ pg/mg protein, cerrahi geciktirme grubunda $53,52 \pm 29,94$ pg/mg protein, TENS grubunda $64,20 \pm 40,07$ pg/mg protein, US grubunda $89,68 \pm 45,67$ pg/mg protein, US+TENS grubunda $63,34 \pm 18,72$ pg/mg protein idi. Gruplar arasında doku VEGF düzeyleri bakımından anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$) (Tablo – 7). Bu fark, US grubu ile kontrol grubu arasında ($p = 0,021$) ve US+TENS grubu ile kontrol grubu arasındadır ($p = 0,002$). Çoklu karşılaştırmaların sonuçları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo – 8). US grubunun doku VEGF düzeyi ortalaması bütün gruplar arasında en fazla iken onu takip eden TENS ve US+TENS gruplarının ortalamaları birbirlerine yakındır.

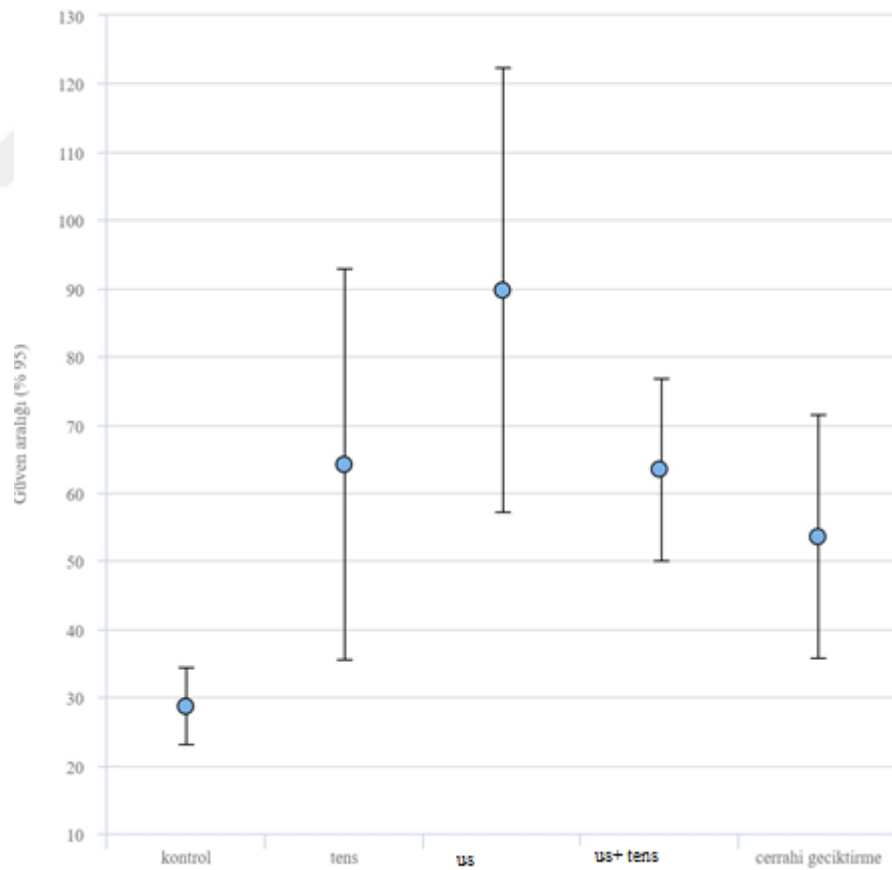
Tablo 7. Gruplara göre doku VEGF düzeyleri dağılımı

Doku VEGF düzeyleri (pg/mg protein)	Kontrol	TENS	US	US+TENS	Cerrahi geciktirme	<i>p</i>
<i>n</i>	10	10	10	10	10	<0,001
Ortalama $\pm$ SD	28,65 $\pm$ 7,67	64,20 $\pm$ 40,07	89,68 $\pm$ 45,67	63,34 $\pm$ 18,72	53,52 $\pm$ 24,95	
Min-Max	18,20-40,42	23,32-144,92	44,29-172,07	20,59-84,24	21,35-112,27	

Tablo 8. Gruplar arası doku VEGF düzeyleri çoklu karşılaştırmalarının sonuçları

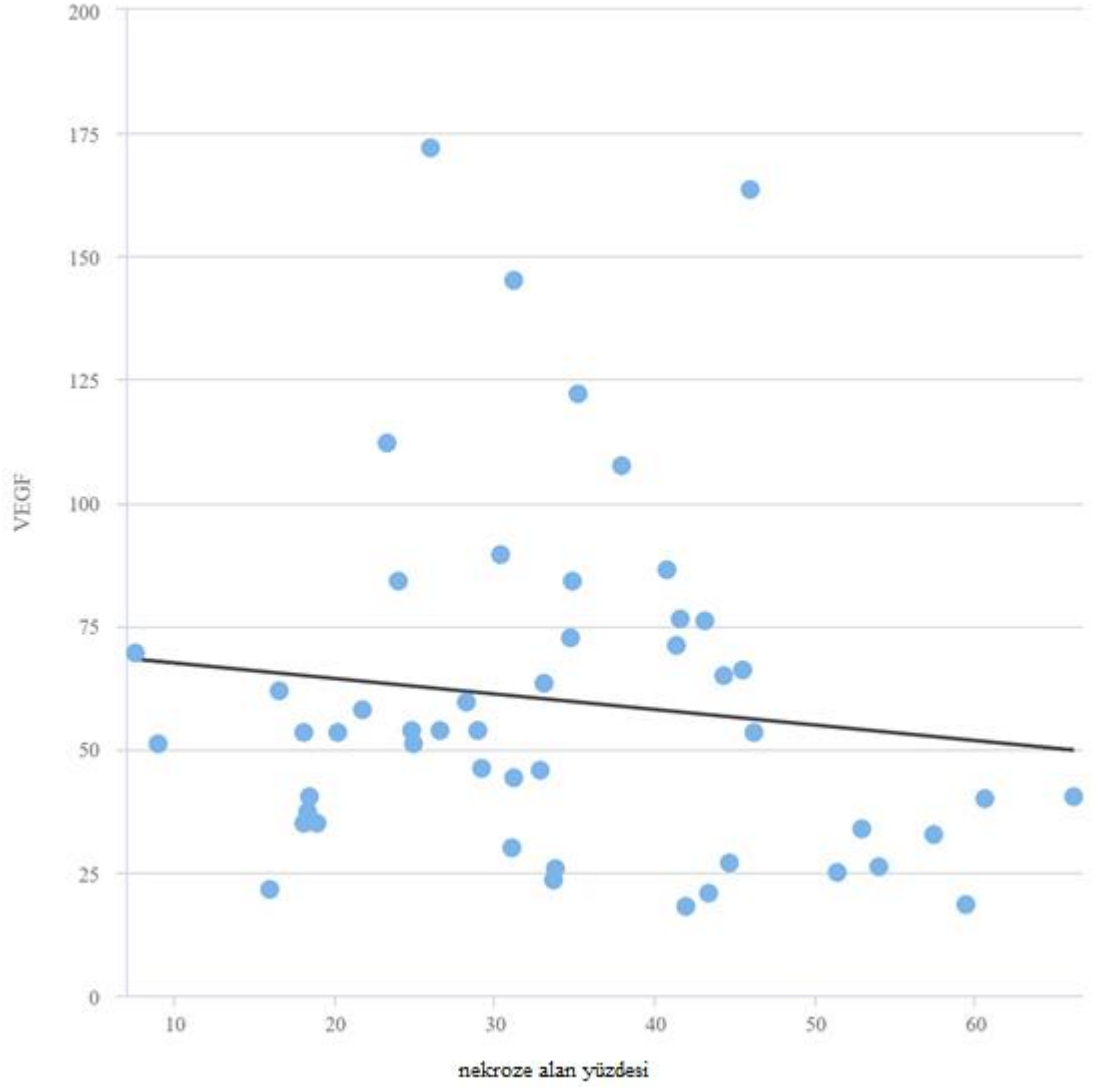
Gruplar	<i>p</i>
us- kontrol	0,021
us+tens - kontrol	0,002
tens- kontrol	0,191
Cerrahi geciktirme- kontrol	0,116
Cerrahi geciktirme- tens	0,999
Cerrahi geciktirme- us	0,372
Cerrahi geciktirme- us+tens	0,983
us - tens	0,895
us+tens - tens	1
us+tens - usg	0,713

Koyu satırlar istatistiksel olarak anlamlı çıkan test sonuçlarını göstermektedir (Tamhane T2).



Şekil 18. Gruplarda doku VEGF düzeyleri dağılımı (Hata Grafiği)

Nekroz alan yüzdesi ve doku VEGF düzeyi değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon yoktur ($r=-0.1213$, $p=0,401$) (Şekil- 19).



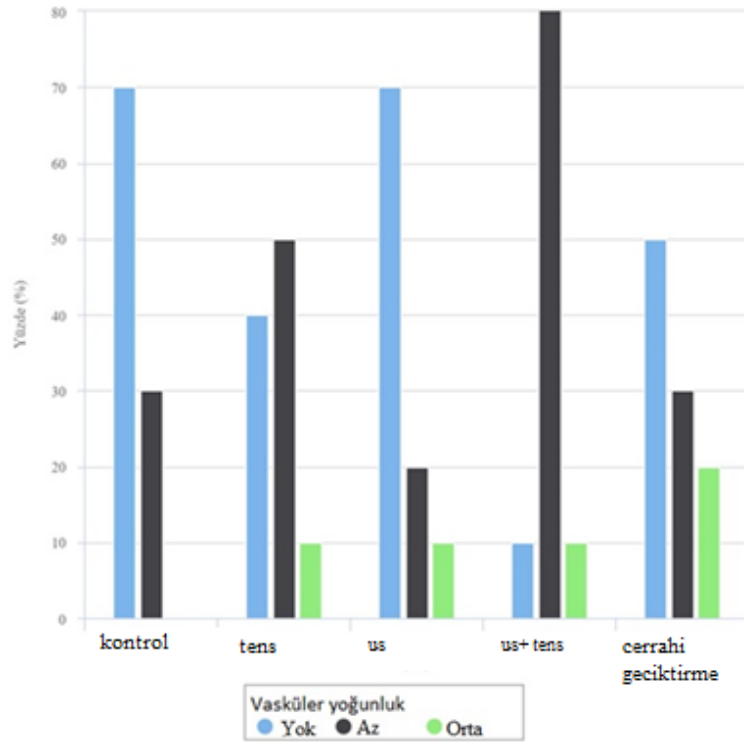
Şekil 19. Nekroz alan yüzdesi ve doku VEGF düzeyi değişkenleri ilişkisi

4.3. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik incelemede cerrahi işlem öncesinde alınan biyopsilerde elde edilen preparatların değerlendirilmesi sonucu gözlenen inceleme alanında izlenen vasküler yoğunluk, nekroz yüzdeleri, fibroblast-fibrosit yüzdeleri ve polimorf nüveli lökosit yüzdeleri skorlamaları aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir (Tablo- 9, 10, 11, 12). Gruplar arasında; gözlenen nekroz skorları, fibroblast-fibrosit skorlar, vasküler yoğunluk ve polimorf nüveli lökosit skorları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo- 9, 10, 11, 12).

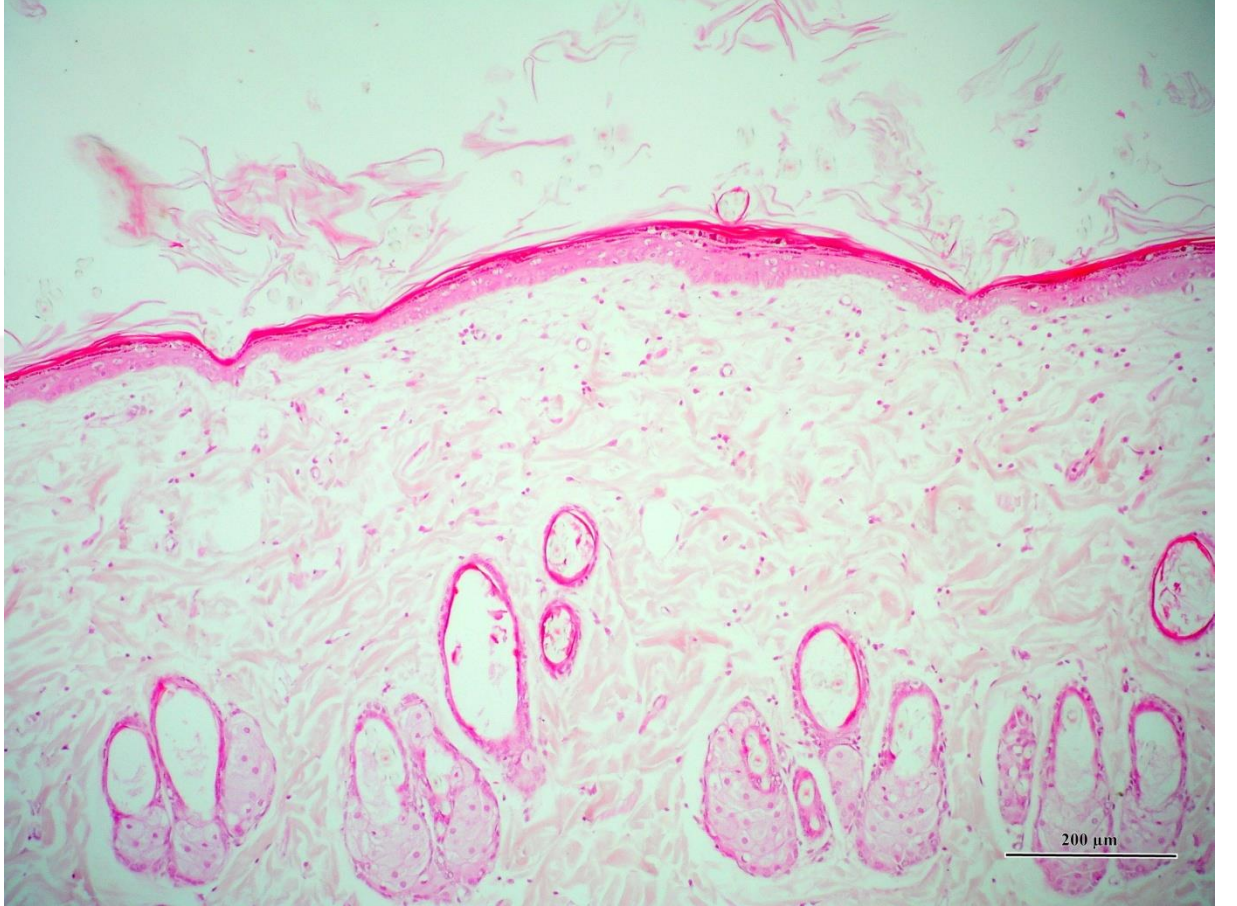
Tablo 9. Vasküler yoğunluk skorlamasının gruplara göre dağılımı

Vasküler Yoğunluk Skorlamaları	Kontrol % (n)	TENS % (n)	US % (n)	US+TENS % (n)	Cerrahi geciktirme % (n)	p
Yok	70(7)	40(4)	70(7)	10(1)	50(5)	0.127
Hafif	30(3)	50(5)	20(2)	80(8)	30(3)	
Orta	-	10(1)	10(1)	10(1)	20(2)	
Şiddetli	-	-	-	-	-	



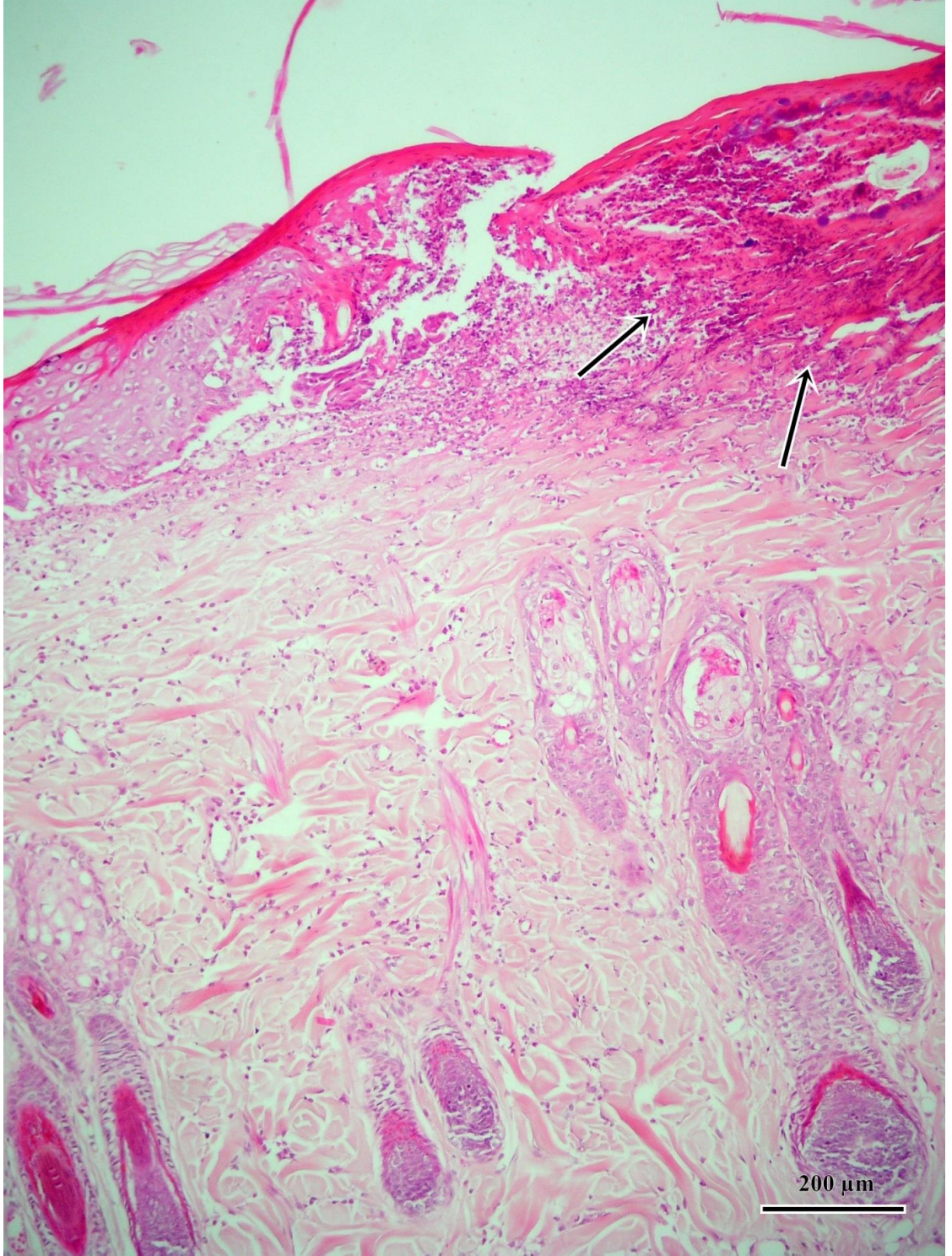
Şekil 20. Vasküler yoğunluk skorlamalarının gruplara göre dağılımı

Çalışma sonunda kontrol grubundaki ratların histopatolojik muayenesinde deriden alınan örneklerinin normal yapıda oldukları görüldü. Epitel bütünlüğünün ve kıl folüküllerinin sağlam olduğu dikkati çekti (Şekil-21).



Şekil 21. Kontrol grubu histopatolojik görünümü, Deri, Hx E, x20.

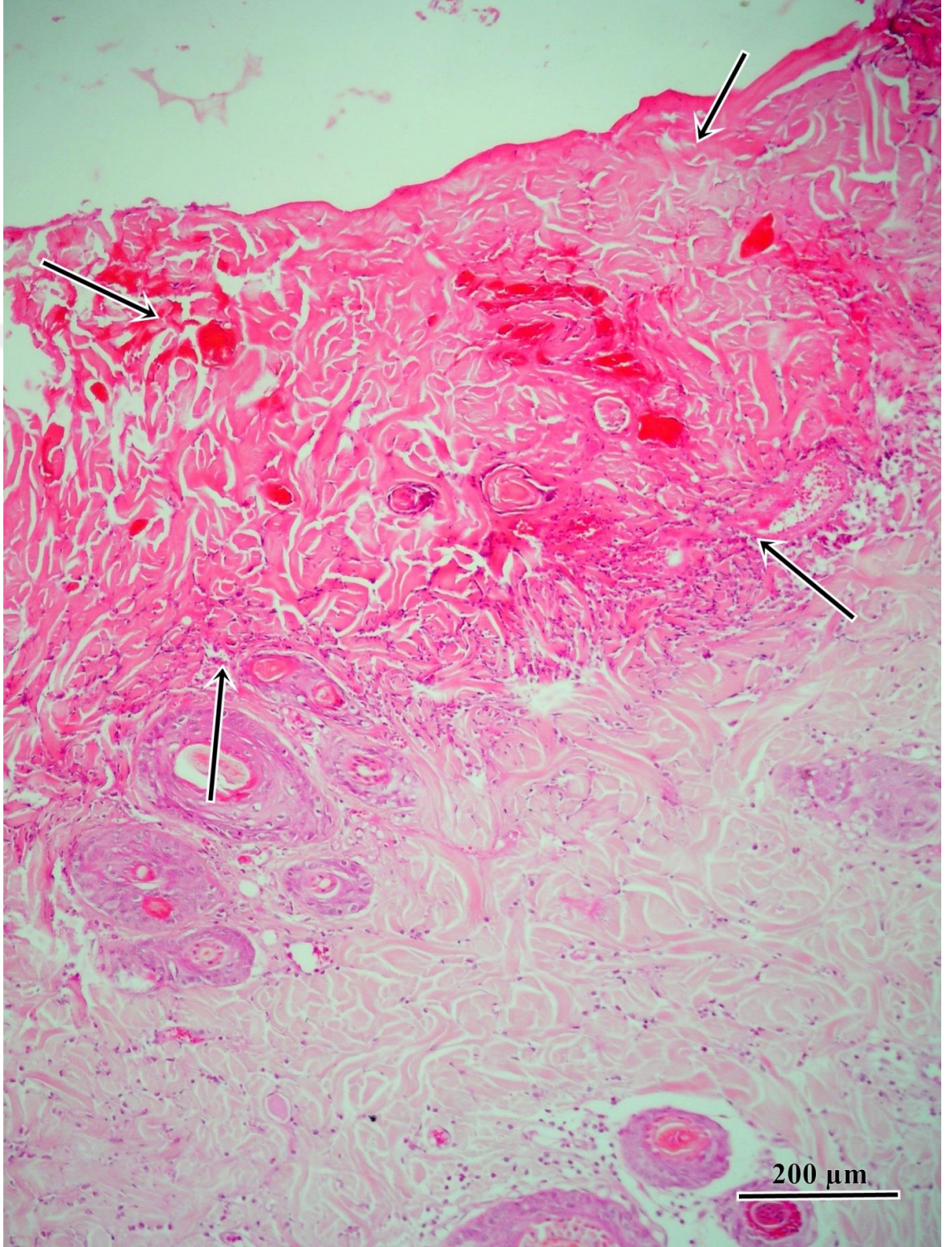
Çalışma sonunda TENS grubundaki 10 adet ratın hepsinin histopatolojik muayenesinde deriden alınan örneklerinin epitel bütünlüğünün bozulduğu dikkati çekti. Dokudaki yoğun nekrozun çevresinde polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil-22). Yeni damar oluşumları çok az sayıda göze çarpyordu. Ayrıca stratum bazalenin altında kısmen fibrosit-fibroblast hücrelerinde artış vardı.



Şekil 22. TENS grubundaki nekrotik (oklar) ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonlu alanların görünümü, Deri, Hx E, x20.

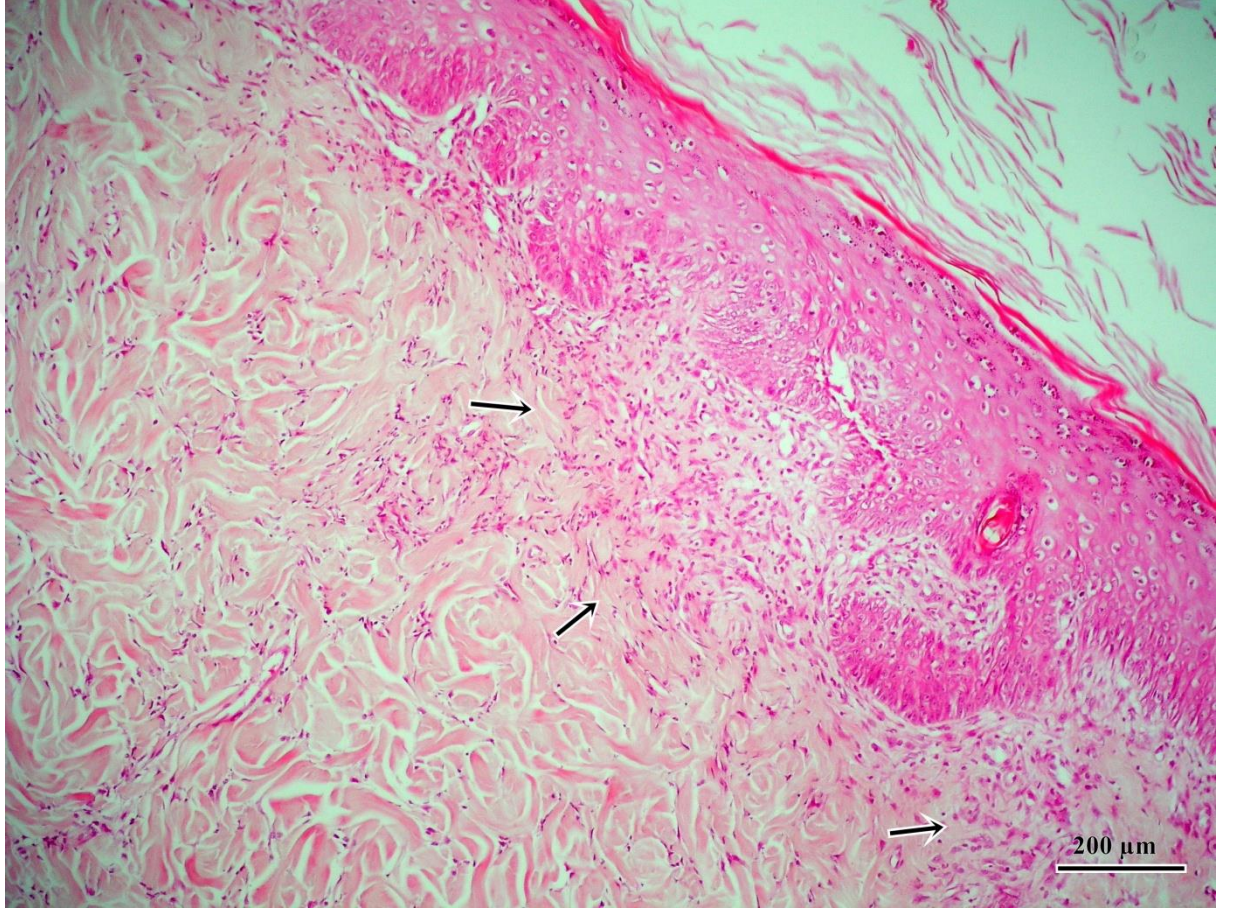
Çalışma sonunda US grubundaki 10 adet ratın hepsinin histopatolojik muayenesinde, deriden alınan örneklerinde yoğun nekrozun alanları dikkati çekti (Şekil-23). TENS

grubuna göre polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu kısmen daha az sayıda gözlendi. Yine damar oluşumları çok az sayıda göze çarpıyordu.

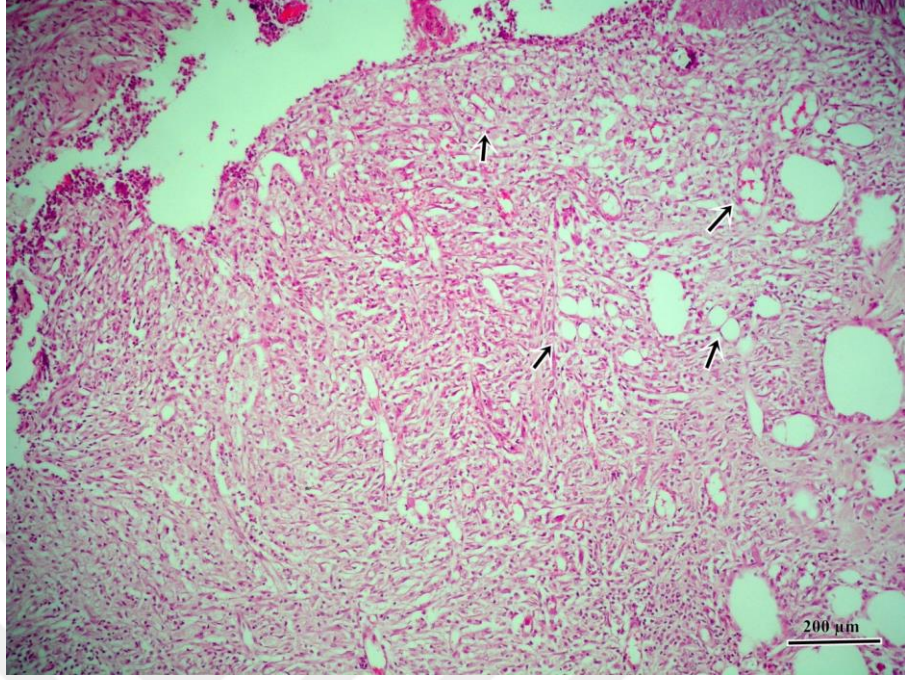


Şekil 23. US grubundaki nekrotik (oklar) alanların görünümü, Deri, Hx E, x20.

Çalışma sonunda US+TENS grubundaki 10 adet ratın hepsinin histopatolojik muayenesinde, deriden alınan örneklerinde stratum bazalenin altında kısmen fibrosit-fibroblast hücrelerinde artış dikkati çekti (Şekil-24). Ayrıca dermiste vaskülerite artışı gözlenmekteydi (Şekil-25).

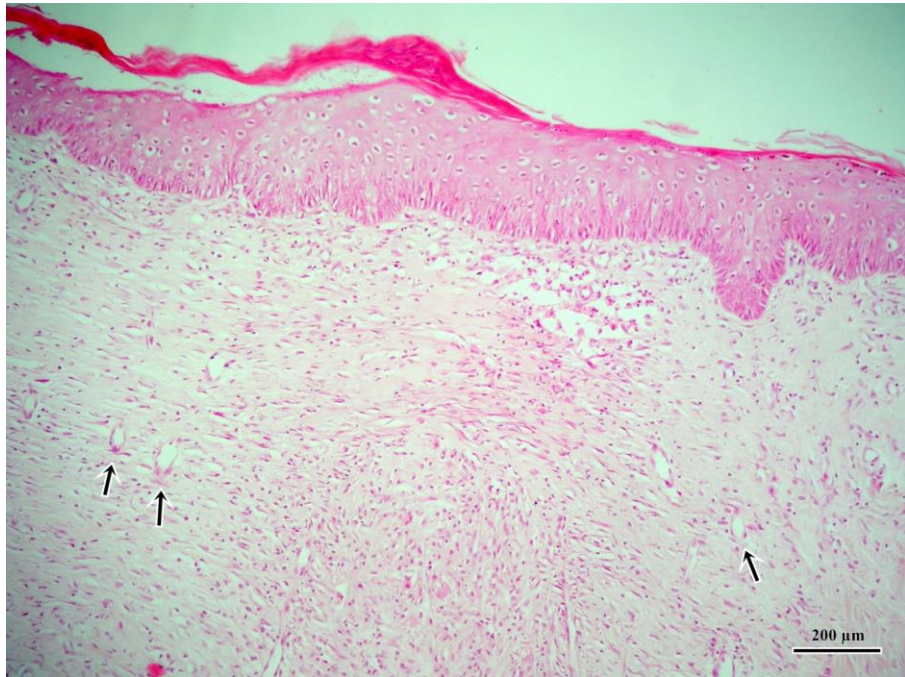


Şekil 24. US+TENS grubundaki fibrosit fibroblast hücrelerinin (oklar) görünümü, Deri, Hx E, x20.



Şekil 25. US+TENS grubundaki yeni damar oluşumlarının (oklar) görünümü, Deri, HxE, x20.

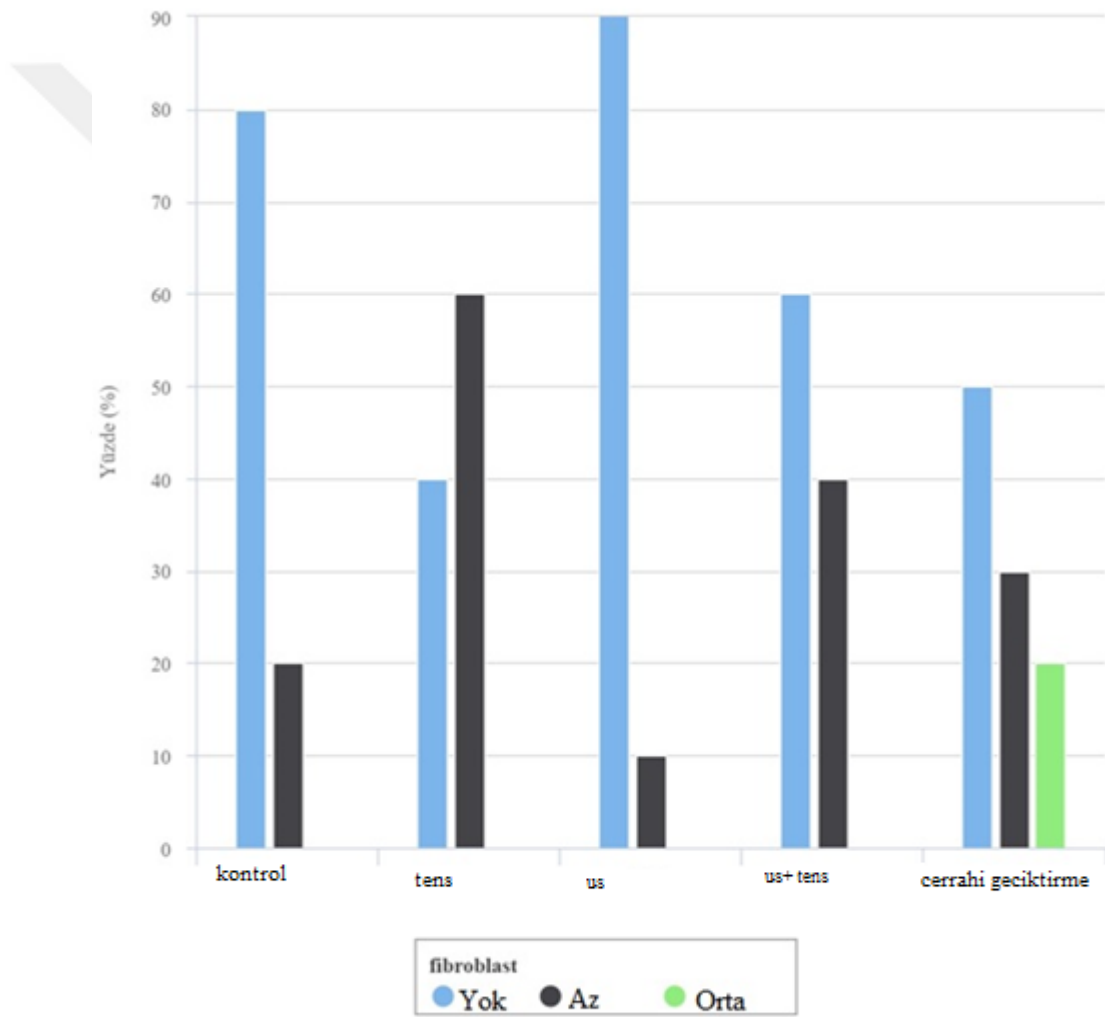
Çalışma sonunda Cerrahi geciktirme grubundaki 10 adet ratın 5 inde histopatolojik muayenesinde, deriden alınan örneklerinde vaskülerite artışı gözlemlendi (Şekil-26). Dermiste fibrosit fibroblast hücrelerinin varlığı dikkati çekti.



Şekil 26. Cerrahi geciktirme grubundaki yeni damar oluşumlarının (oklar) görünümü, Deri, HxE, x20.

Tablo 10. Fibroblast-fibrosit yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı

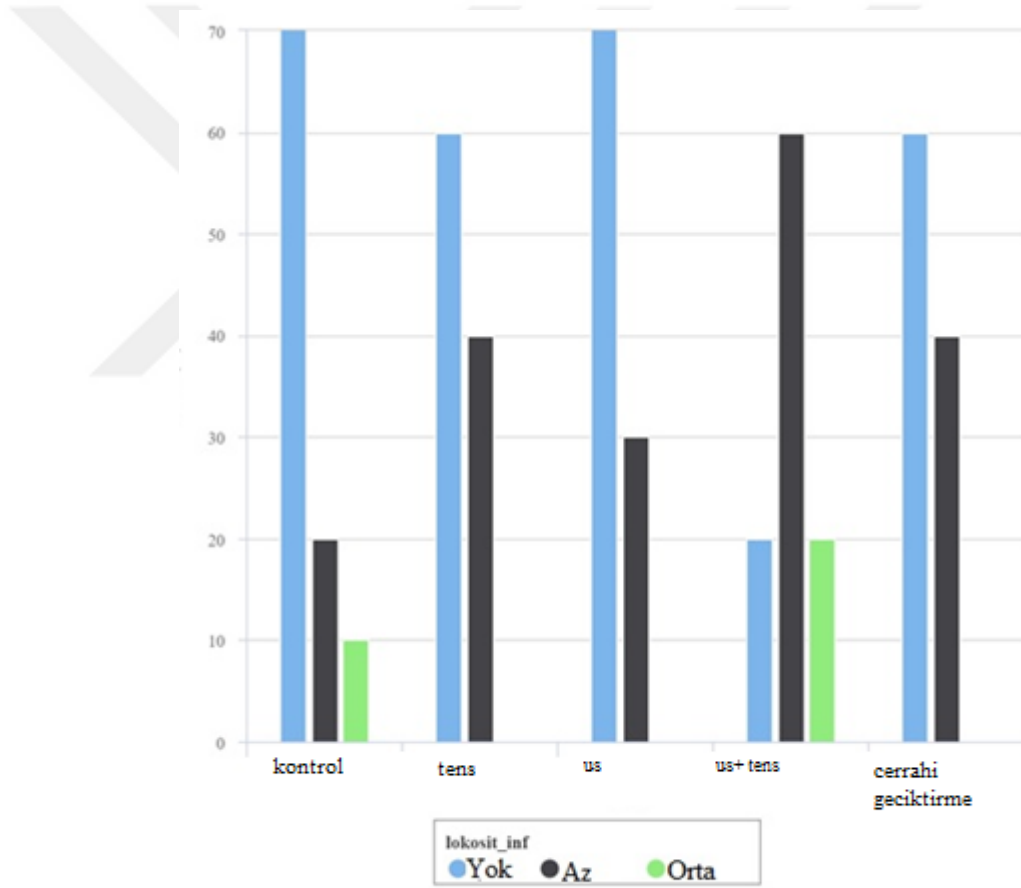
Fibroblast-Fibrosit skorlamaları	Kontrol % (n)	TENS % (n)	US % (n)	US+TENS % (n)	Cerrahi geciktirme % (n)	<i>p</i>
yok	80(8)	40(4)	90(9)	60(6)	50(5)	0.053
Az	20(2)	60(6)	10(1)	40(4)	30(3)	
Orta	-	-	-	-	20(2)	
Şiddetli	-	-	-	-	-	



Şekil 27. Fibroblast-fibrosit yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı

Tablo 11. Polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı.

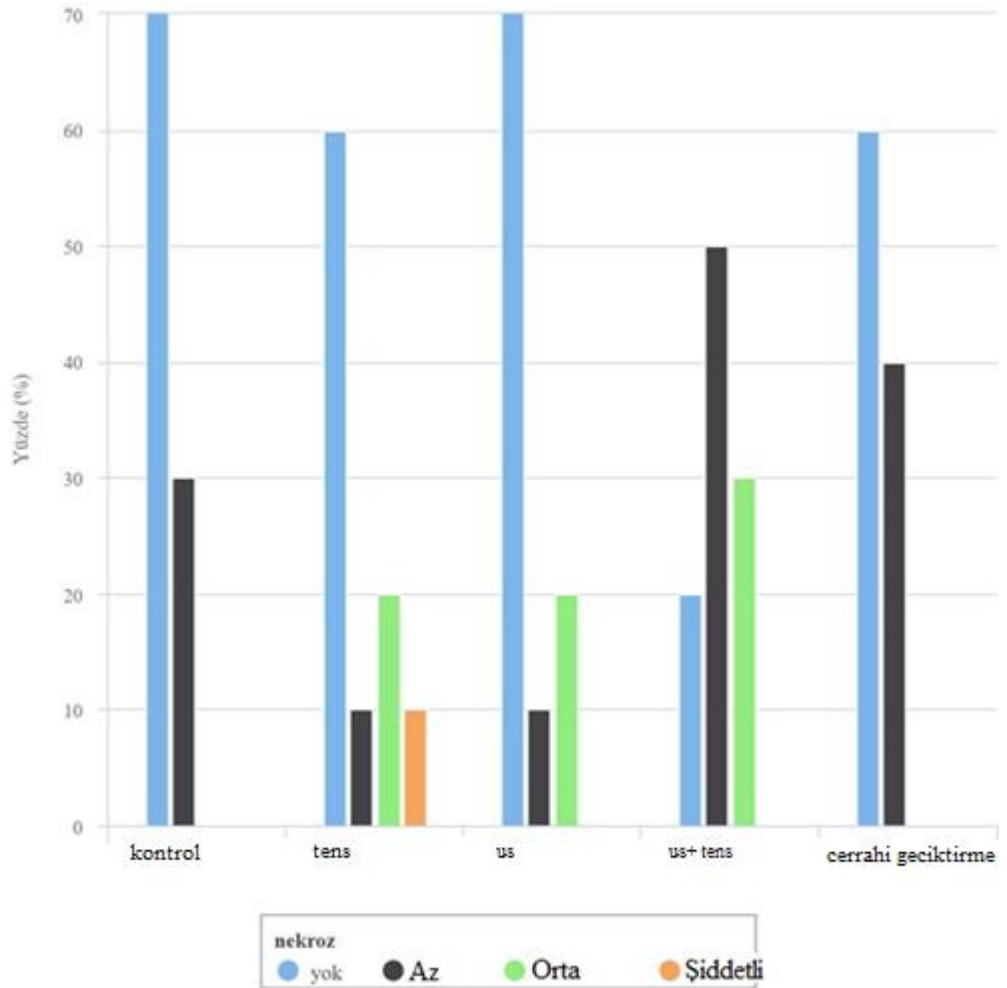
Polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu skorlamaları	Kontrol % (n)	TENS % (n)	US % (n)	US+TENS % (n)	Cerrahi geciktirme % (n)	p
yok	70(7)	60(6)	70(7)	20(2)	60(6)	0.218
Az	20(2)	40(4)	30(3)	60(6)	40(4)	
Orta	10(1)	-	-	20(2)	-	
Şiddetli	-	-	-	-	-	



Şekil 28. Polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı

Tablo 12. Nekrotik doku skorlamarının gruplara göre dağılımı

Nekrotik doku skorlamaları	Kontrol % (n)	TENS % (n)	US % (n)	US+TENS % (n)	Cerrahi geciktirme % (n)	<i>p</i>
Yok	70(7)	60(6)	70(7)	20(2)	60(6)	0.158
Az	30(3)	10(1)	10(1)	50(5)	40(4)	
Orta	-	20(2)	20(2)	30(3)	-	
Şiddetli	-	10(1)	-	-	-	

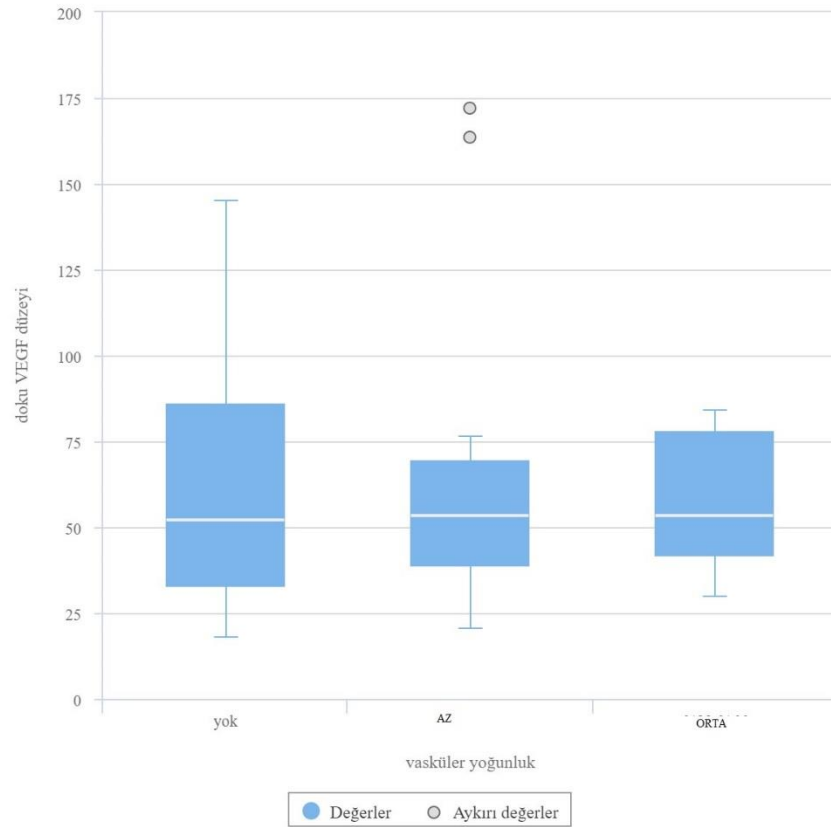


Şekil 29. Nekrotik doku yüzdesi skorlamarının gruplara göre dağılımı

Vasküler yoğunluk skor gruplarının VEGF düzeyleri ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0,963$) (Tablo – 13, Şekil -30).

Tablo 13. Vasküler Yoğunluk Skorları Grupları Arasında Doku VEGF Düzeyi dağılımlarının tablosu

	Vasküler Yoğunluk				<i>p</i>
VEGF	0 (yok)	1 (az)	2 (orta)	3 (şiddetli)	0,963
<i>n</i>	24	21	5	0	
Ortalama $\pm$ SD	59,98 $\pm$ 35,34	60,09 $\pm$ 39,66	58,46 $\pm$ 20,5	-	
Min-Max	18,2-144,92	20,59-172,07	30 – 84,24	-	



Şekil 30. Vasküler Yoğunluk Skorları Grupları Arasında Doku VEGF Düzeyi dağılımları

5. TARTIŞMA

Doku kayıplarının onarımında, birçok rekonstrüksiyon seçeneği vardır. Genellikle bu seçenekler basitten karmaşığa doğru tercih edilir. Bu rekonstrüksiyon basamakları sırasıyla; primer onarım, sekonder iyileşme, deri greftleri, lokal flep, uzak flep ve serbest fleple rekonstrüksiyon şeklindedir. Geleneksel yaklaşımın yanısıra, son dönemlerde rekonstrüksiyon asansörü yaklaşımı ortaya atılmıştır. Bu yaklaşım, rekonstrüksiyon yapılacak bölgenin ihtiyacına göre kar-zarar dengesi güdülerek, geleneksel yöntemde olan basamak yaklaşımının yerine, bazı basamakların atlanarak üst basamaklara direkt geçilebileceğini savunur (134). Her iki yaklaşım için de flep fizyolojisi ve cerrahisi büyük öneme sahiptir. Gelişen teknikler ve tariflenen yeni metotlara rağmen günümüzde hala fleplerde kayıplar meydana gelebilmektedir. Deri fleplerinde meydana gelebilecek kayıpları engellemeye yönelik deneysel çalışmaların sayısında gözlenen artış bu konunun hala üzerinde durulması gerektiği ve tamamen çözüme kavuşturulamadığı gerçeğini ortaya koymaktadır. Milton, Sasaki, Pang, Kerrigan ve Daniel gibi birçok araştırmacı, cerrahi flep elevasyonunun fizyolojik etkilerini ve fleplerin transferi hakkındaki önemli bilgileri elde etmemizi sağlayan sayısız çalışma yapmışlardır (6, 59, 69, 135, 136).

Flep kayıpları çeşitli etkenler nedeniyle meydana gelmektedir. Bu etkenler arasında en sık gözlenenler yetersiz kan akımı, flebin yanlış planlanması, enfeksiyon, hematoma, seroma, vasküler patolojiler olarak sıralanabilir (137). En önemli etken olarak kan akımı

yetersizliği söylenebilir. Yapılan deneysel araştırmaların büyük kısmı bu etken üzerinde durmakta ve kan akımını arttırabilecek metot veya ajanlar üzerinde çalışmaktadır (7-10, 21, 138-143).

Cerrahi işlem öncesinde flebi strese maruz bırakarak canlılığını arttırmaya yönelik yapılan işlemlere ön koşullama denir. Ön koşullama flebin iskemik bırakılması, farmakolojik ajanların uygulanması, çevresel faktörlerin değiştirilmesi şeklinde uygulanabilmektedir. Bu metotlar arasında en sık uygulanan ve klinikte en başarılı sonuçların elde edildiği metot flebin iskemik bırakılması sonucu yeni damar oluşumunu arttırma temeline dayanan cerrahi flep geciktirmesidir (17, 23, 24, 69, 77).

Geciktirme fenomeni olarak da bilinen “vasküler geciktirme” flebin alıcı alana transferinden önce kan akımının bir kısmının cerrahi olarak kesilmesi ve flepte vasküleriteyi arttırmak için dokuyu iskemide bırakma durumudur (69). Geciktirme fenomeninde amaç flebin yaşayabilirliğini arttırmaktır. Geciktirme fenomeni, random fleplerinin en-boy oranını artırırken, aksiyel paternli fleplerde daha geniş doku transferine olanak sağlar (66). 1965’de Milton; domuzlarda ventral tabanlı flep kullanarak geciktirme yönteminin değişik metotlarını karşılaştırarak ilk deneysel incelemeyi yapmış ve bunun sonucunda en uygun doku transferi zamanının geciktirme işleminden iki hafta sonra olması gerektiğini bildirmiştir (69).

Cerrahi flep geciktirmenin erken ve geç dönem etkileri bulunmaktadır. Erken dönemde sempatik denervasyon oluşturarak hiperadrenerjik tablonun oluşmasını engeller, komşu anjiozomlar arasındaki choke damarların açılmasını sağlar ve dokularda iskemiye toleransı artırır (70, 144, 145). Geç dönemde ise vazokonstriksiyona neden olan Thromboxane A₂ ve PGF_{2 α} salınımını azaltıp yerine vazodilatasyona neden olan PGE₂ salınmasını sağlar ve yeni damar oluşumunu uyarır (76, 78).

Cerrahi geciktirmenin bazı dezavantajları vardır. Bunlar; birden fazla ameliyat gerektirmesi, pedikülün kazara yaralanabilmesi, tekrarlayan ameliyatlardan nedeni ile uzun hastanede kalma süresi, invaziv olması, maliyeti, morbiditesinin fazla olması, ilk ameliyattan sonra oluşan ödem ve kontraksiyon nedeni ile oluşabilecek problemlerdir (146). Bu nedenle cerrahi geciktirmenin moleküler mekanizması anlaşılmaya çalışılmıştır ve bu yöntemin alternatifi olabilecek metotlar halen araştırılmaktadır.

Araştırmacılar cerrahi geciktirme yöntemine alternatif olabilecek farmakolojik uygulamalarla deri kan akımı ve flep canlılığını artırmaya çalışmışlardır. Bu çalışmaların iki önemi vardır. İlki bu çalışmalarla flep vaskülarizasyonu üzerindeki vazoaaktif ilaçların etkilerini gözlemleyerek deri dolaşımının düzenleyici mekanizmaları ile flepte iskemik nekroza yol açan nedenleri anlamak, ikincisi ise cerrahi geciktirme mekanizmasını taklit ederek flep kan akımını artıracak ilaç tedavi yöntemlerinin gelişimi ve flep canlılığını arttırmaktır.

Bu çalışma, cerrahi geciktirmenin etkilerini taklit edebilecek etkili, kolay, ucuz, noninvaziv, morbiditesi az olan, kolay uygulanabilen yöntemler olan elektrik stimülasyonun ve ultrasonun kullanılabileceği fikri ile planlanmıştır. Böylece USG ve TENS gibi enerji bazlı, invaziv olmayan alternatif metotların ön koşullama ile flep canlılığı üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmamızda iskemik flep modeli olarak random yapılı Mc Farlane flebi modifiye edilerek uygulandı (133). Orijinal modelin tariflendiği çalışmada geciktirme yapılan grupta flep yaşam oranının çok yüksek olması ve ratların bir kısmında flepte nekroz olmaması nedeni ile modeldeki 2.5/1 olan flep pedikül oranı çalışmamızda 4/1 olarak modifiye edildi. Böylece geciktirme gruplarında flep yaşam oranındaki artış miktarı sınırlandırılarak tam yaşam olasılığının önüne geçilmesi amaçlandı.

Elektrik stimülasyonunun iskemik dokularda kan akımını artırdığı, VEGF düzeyini artırdığı, doku oksijen yoğunluğunu düşürdüğü, antienflamatuar etki gösterdiği, kapiller yoğunluğu artırdığı ve anjiogenezisi artırdığı gösterilmiştir (25-27, 29, 30, 36, 147). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda elektrik stimülasyonunun; hipoksi, sitokinler, TGF- β , IGF-1'in hücreleri uyarak VEGF sekresyonunu artırmasına alternatif bir yol olabileceği gösterilmiştir (148). Ayrıca elektrik stimülasyonunun iskemik fleplerde flep yaşam oranını artırdığı da bilinmektedir (26, 28, 30-33, 147).

Kanno ve ark. kültüre edilmiş iskelet kası hücrelerine subkontraksiyon düzeyinde elektrik stimülasyonu verildiğinde VEGF mRNA transkripsiyonel aktivasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Elektrik stimülasyonunun VEGF düzeylerinde artmaya ve bununla endotel hücrelerinde büyümeye neden olduğunu göstermişlerdir. Yapılan

immünohistokimyasal çalışmada stimüle edilen kasta, VEGF protein sentezinin ve kapiller yoğunluğun arttığı gösterilmiştir (29).

Huai ve ark. yaptıkları çalışmada elektrik stimülasyonunun makrovasküler endotel hücrelerinde migrasyon, reoryantasyon ve uzama etkilerini değerlendirmişlerdir. İnsan mikrovasküler endotel hücrelerinin 11 mikronmetre /saat hızında katodal akıma doğru migrasyonunun olduğu diğer hücrelerin anodal akıma doğru göçtüğü görülmüştür (149).

Skorjanc ve ark. yaptıkları araştırmada elektrik stimülasyonunun kapillerizasyonu ilk iki günde artırdığı, 14. gün maksimum seviyeye ulaştırdığı, VEGF düzeylerini 6-8. günlerde belirgin yükselttiği, aerobik solunum belirteci olan sitrat sentazın 8. günde artırdığı bulunmuştur (27).

Yine Im ve ark. domuzlarda yaptıkları çalışmada elektrik stimülasyonunun negatif elektrot ile doku oksijen yoğunluğunu düşürerek flebin hücrelerinin oksijen toksititesinden korunduğunu ve lipit peroksidasyonunun önlendiğini, pozitif elektrot stimülasyonunda ise süperoksit radikallerin geç dönem etkisinin önlenerek flep ömürlerinin arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca negatif akımın sempatik uyarımı bloke ederek vazokonstriksiyonu önlediği ve deri flebinde geçiş zonunda iskemi reperfüzyonu azalttığını öne sürmüşlerdir (26).

Liebano ve ark. çalışmalarında sıçanlarda random deri fleplerinde değişik amplitüde akımlar vererek en uygun frekans ve amplitüd değerleri bulunmaya çalışılmıştır. Sonuçlarda 80 Hz 15 mA değerlerinde elektrik stimülasyonunun iskemik deri fleplerinin yaşamlarını artırmak için en etkin değer olduğunu öne sürmüşlerdir (31).

Kjartansson ve ark. yaptıkları çalışmada TENS ile verilen 80Hz-20 mA elektrik stimülasyonunun sıçanlarda iskemik dorsal muskulokutanöz flep yaşamını artırdığını göstermişlerdir ve bunu da TENS'in sempatik vasokonstriksiyon nöronlarını inhibe etmesine ve/veya küçük-orta büyüklükteki sensoryal nöronlardaki vasodilatatör nörotransmitterlerin salınımındaki artışa bağlamışlardır (28).

Yine Kjartanson ve ark. klinik çalışmalarında dolaşım bozukluğu olan fleplerde TENS ile elektrik stimülasyonu verip fleplerin ödem, staz ve kapiller dolumunu değerlendirip flep alanında lazer Doppler ile kan akımını ölçmüşlerdir. Sonuç olarak elektrik

stimülasyonunun iskemik flep yaşamını artırdığı, kan akımını artırdığı, ödem ve stazi azalttığı rapor edilmiştir (30).

Dolan ve ark. elektrik stimülasyonunun antienflamatuar etki ile ödemi azalttığını rapor etmişlerdir (25).

Atalay ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanlarda güçlü bir vazodilatatör olan nitrogliserin ile elektrik stimülasyonunun iskemik fleplerde flep yaşamına etkilerini karşılaştırmışlardır. Çalışmacılar elektrik stimülasyonunun, daha etkin olarak hem kontrol hem de nitrogliserin grubuna göre flep yaşamını daha çok artırdığını rapor etmişlerdir. Bu durum elektrik stimülasyonunun uygulandığı alandaki dolaşımın artmasına bağlanmıştır (32).

Patterson ve ark. elektrik stimülasyonunun iskelet kaslarını uyararak VEGF salınımını artırıp endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve reorganizasyonuna neden olabileceğini rapor etmişlerdir (148).

Çalışmamızda flep geciktirme yöntemlerini kıyaslamak için cerrahi geciktirme grubu, kontrol grubu, ultrason grubu, transkutanöz elektrik stimülasyon grubu ve hem ultrason hem transkutanöz elektrik stimülasyonu uygulaması grupları oluşturuldu. Ultrason probunun masaj etkisinde değerlendirildiği sham grubunu içeren Yücel ve ark. nın (22) ve Emsen'in (150) çalışmasında flep yaşamına kontrol grubuna göre anlamlı katkısı olmaması üzerine sham grubu oluşturulmadı. Yedi gün boyunca günlük anestezi verilerek bir saat uyutulan deneklere çalışmayan elektrodlar bağlanarak oluşturulması gereken sham grubunun oluşturulmaması çalışmamızın kısıtlamalarından biridir.

Ultrason uygulaması sonucunda uygulamanın yapıldığı bölgede inflamasyonun azaldığı, kan akımının arttığı, VEGF düzeylerinin arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (40, 43-48).

Terapötik US; kalsiyumun mast hücrelerine, nötrofillere ve makrofajlara girişini aktive eder, inflamasyonu azaltır, fibroblast ve endotel hücre aktivitesini artırır, proliferatif fazı stimüle eder (40, 47, 48) ve angiogenezi artırır (43, 44).

Yukarıda sıralanan tüm bu çalışmalar elektrik stimülasyonunun ve ultrason uygulamasının ister damarlanmayı artırarak ister dokuların iskemiye dayanıklılığını

artırarak isterse de dokuların inflamasyonunu azaltarak olsun, flep yaşamını artırdığı sonucunu göstermektedir. Bu etkiler ise bizim flep yaşamını artırmak amacıyla cerrahi geciktirme yöntemlerine alternatif olarak elektrik stimülasyonu ve/veya ultrason kullanılabileceği hipotezimiz tam olarak desteklemektedir.

Deneysel çalışmalarda iskemik bırakılan fleplerde VEGF düzeyleri artmaktadır. İskemik kalan dokularda anaerob metabolizma devreye girer ve pH düşmeye başlar. Bunun sonucu olarak da hem vazodilatasyon oluşturan hem de yeni damar oluşumunu arttıran VEGF salınmaya başlar. Bu artış iskeminin en yoğun olduğu bölgede daha yüksek seviyelere ulaşmaktadır. İskeminin en yoğun olduğu bölge nekroz-canlı bölge arasındaki geçiş zonedir (141).

Holzbach ve arkadaşları (151) tarafından yapılan çalışmada cerrahi geciktirme yapılan fleplerde en yüksek kan akım düzeyleri, VEGF düzeyinin en yüksek saptandığı günden(3. gün) 48 saat sonra ölçülmüştür. Fleplerin distal kısmında ölçülen kan akımının proksimal bölgeden daha yüksek olması VEGF' nin özellikle dolaşımın kritik olduğu distal alanda daha etkin olduğunu ortaya koymuştur. Artan VEGF düzeyine bağlı olarak anjiyogenezis de meydana gelmektedir.

Aynı çalışmada bakılan VEGF düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırmasında; 3 günlük cerrahi geciktirme yapılan grupta VEGF düzeyinin kontrol grubundan istatistiksel olarak farklılık gösteren düzeyde arttığı saptanmakla birlikte; 5 ve 7 günlük cerrahi geciktirme yapılan gruplarda ölçülen VEGF düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır. Benzer şekilde Yücel ve ark. (22) çalışmalarında, kontrol grubu ile cerrahi geciktirme grupları arasında VEGF düzeyleri (3. gün) bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit etmişlerdir.

Nagasaka ve ark. nın (36) çalışmalarında iskemik kalan rat iskelet kasında 5 günlük düşük voltaj elektrik stimülasyonu sonrasında kontrol grubuna göre iskemik kasta istatistiksel olarak anlamlı VEGF düzeyi artışı meydana gelmiştir. Skorjanc ve ark. nın (27) çalışmasında 6 ve 8 gün elektrik stümülasyonu uygulanan grupta diğer gruplardan anlamlı fark izlenmiştir.

Biz çalışmamızda VEGF düzeylerini, kuru ağırlık başına düşen VEGF miktarı (pg/ml) olarak değil, homojenize edilmiş preparattaki VEGF proteininin toplam doku protein

miktarına oranını ölçtük (pg/1 mg protein). Böylece kuru ağırlık metoduna göre, biyokimyasal olarak daha standart bir metot ile çalışıldı.

Çalışmada doku VEGF düzeyinin gruplar arasında anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu fark istatistiksel olarak US grubu-kontrol grubu ve US+TENS grubu-kontrol grubu arasındadır. TENS grubunun VEGF değerlerinin standart sapması, ortalamaya göre oldukça büyük değerler almaktadır. Bu nedenle ortanca ile ortalama değerleri hemen hemen aynı olmasına ve US+TENS grubunun ortalamasına oldukça yakın olmasına rağmen TENS grubu ile kontrol grubu arasında VEGF düzeyi bakımından istatistiksel anlamda fark çıkmamıştır. Dolayısıyla veriler istatistik analiz sonrası incelendiğinde TENS grubu-kontrol grubu arasında VEGF düzeyi bakımından klinik olarak anlamlı farklılık olduğu sonucuna varılmıştır ve bu şekilde yorumlanmıştır. Skorjanc'ın ve Nagasaka'nın yaptığı çalışmalar elektrik stimülasyonunun VEGF düzeyini artırmasını destekler literatür bilgileri idi. Daha öncesinde TENS ile önkoşullama yapılmış flep çalışmalarında VEGF düzeyi bakılmamış olması nedeniyle bu veriler bu konudaki ilk veriler olması sebebiyle çalışmamızı değerli kılmaktadır.

Cerrahi Geciktirme grubu VEGF düzeyinin, kontrol grubu VEGF düzeyleri ile karşılaştırıldığında da istatistiksel anlamlı olmaması Holzebach çalışmasındaki bulguları desteklemekteydi. Doku biyopsilerimizi 14. gün almamız sebebiyle iskemiye adapte olmaya başlayan cerrahi geciktirme fleplerimizde VEGF üretim stimülasyonlarının azaldığını düşünmekteyiz. Yücel ve Holzebach'ın cerrahi geciktirme gruplarında 3. gün doku biyopsilerindeki VEGF miktarının kontrol gruplarından yüksek olup anlamlı çıkması düşüncemizi desteklemektedir.

Cerrahi geciktirme grubu VEGF düzeyleri ile alternatif metotlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte, cerrahi geciktirme grubunun ortalama VEGF düzeyi alternatif metotlardan daha azdı. Alternatif metotlarda doku VEGF düzeyi ortalamaları fazla olmasına rağmen flep canlılığı açısından cerrahi geciktirme grubuna üstün olmamaları, neovaskülarizasyon süreci sonucu oluşan yeni damarlar ancak 21. günde tam anlamıyla fonksiyonellik kazandığı için olabilir (78). Aradaki zaman diliminde dokuların canlılıklarını devam ettirebilecek düzeyde yeterli kan akımına sahip olmamaları nedeniyle fleplerde nekroz meydana gelmektedir.

Park ve ark. nın (78) çalışmasında da belirttiği gibi VEGF düzeyleri artsa bile fonksiyonel bir damar oluşumu için yeterli sürenin olmadığını bunun yara iyileşmesinin geç fazı olan proliferasyon fazında olduğu, artan VEGF düzeylerinin endotelial düzenlemeleri ve kapiller sızmalar üzerine iyileşmenin inflamasyon fazında etkisi olması üzerine flep yaşamına olumlu etkisini düşünmekteyiz.

Yine de artan VEGF düzeyinin flep yaşamına etkisiz olacağını söylemek anlamsızdır. Çünkü erken dönemde VEGF proteininin kapiller geçirgenliği artırdığı ve damar çapını genişleterek distal beslenmeyi artırdığını bilmekteyiz. Fabrizio ve ark. nın (50), 15 dakikalık bir ultrason uygulamasından sonra popliteal arterdeki kan akış hızında bir artış bulması da, Noble ve ark. nın (49), devamlı dalga ve pulsed modlar kullanılarak yapılan 6 dakikalık bir uygulamanın, insan önkol derisindeki kan akışını artırdığını bulması da hipotezimizi desteklemektedir. Elektrik stimülasyonu ile kan akımının arttığı Doğan ve Özyazgan'ın (21), Kjartansson ve ark.(28, 30, 33, 147), Liebano ve ark.(31) ile Patterson ve ark.(148) tarafından yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Deneyisel çalışmalarda doku biyopsilerinin nereden alınacağı ile ilgili ortak bir uzlaşma bulunmamaktadır. Cerrahi işlem öncesinde flep canlılık oranları hakkında net bir veri olamayacağı ve bu bölgelerin kritik zona olan uzaklık veya yakınlıkları bilinemeyecek olması nedeniyle biyopsilerin pediküle belirli bir uzaklıkta bulunacak bir alandan alınması fikri uygun olmamaktadır. Biyopsilerin sadece nekroz hattı oluştuktan sonra, kritik zondan alınması ise özellikle kontrol grubunda artmış damar sayılarının görülmesine neden olacağından çalışma sonuçlarının doğru değerlendirilememesine neden olabileceği düşünülmektedir. Tacani ve ark. (152) yaptıkları çalışmada doku biyopsilerini flebin en proksimalinden başlayarak 20 mm aralıklarla olmak kaydıyla 4 adet örnek almışlardır ve bu örneklerin ortalaması hesaplanmıştır. Tacani ve ark. nın çalışmasında ultrason grubundaki damar yoğunluğu kontrol grubundan fazla bulunmuştur ve istatistiksel açıdan anlamlı çıkmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermemektedir. Bu farklılığın Tacani'nin çalışmasında, US uygulaması flep kaldırıldıktan sonra bizim çalışmamızda ise önkoşullama uygulaması şeklinde flebin henüz iskemiye maruz kalmadan uygulanması nedeniyle olduğunu düşünmekteyiz.

Fleplerde nekroz hattı oluştuktan sonra alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesi sonucu elde edilen değerlere bakıldığında US grubu hariç tüm guplarda kontrol grubundan daha fazla vasküler yoğunluk skorlanmıştı. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,127$). Histopatolojik incelemelerde vasküler yoğunluk skorlamalarına bakıldığında US+TENS grubunun %90'ında, TENS grubunun %60'ında ve cerrahi geciktirme grubunun %50'sinde vasküler yoğunluk skoru 0 (sıfır) puandan fazladır. Kontrol grubunun ise yalnızca %30'unda vasküler yoğunluk skoru 0 (sıfır) puandan fazladır. Bu üç gruptaki vasküler yoğunluk kontrol grubundan fazladır. Doğan ve Özyazgan'ın (21) çalışmasında mikroanjiyografi görüntüleme sonrasında TENS in vasküler yoğunluğu artırdığı gösterilerek dolaşımı artırdığı ileri sürülmüştür. Çalışmada da histopatolojik veriler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bu bulguyu destekler nitelikteydi. Alternatif önkoşullama uygulanan gruplardaki vasküler yoğunluk ve VEGF düzeyi ortalamaları kontrol grubundan oldukça fazla olmasına rağmen flep canlılık oranlarının cerrahi geciktirme kadar başarılı olamamasının nedeni yeni oluşan damarların tam anlamıyla fonksiyonellik kazanamaması olabilir. Bu konuda daha sonra yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Gürünlüoğlu ve ark. nın (153) çalışmasında da geçiş zonundan, nekroze alan- yaşayan alan geçişi, alınan biyopsilerin histolojik incelemesinde, vasküler yoğunlukta artış görülmesine rağmen kontrol grubuyla çalışma grubu arasında fark olmadığı ancak adeno virüs aracılı VEGF gen terapisi yapılan grubun kontrol grubuna göre olumlu anlamda flep yaşayışına katkısı tespit edilmiştir. Onlar gruplar arasında artan flep yaşayabilirliği ancak histopatolojik istatistiksel anlamsızlığın etkisinin subdermal enjeksiyon uygulamasından da olabileceğini düşünürken çalışmamızda biz herhangi bir invaziv işlem uygulamadık. Çalışmada Gürünlüoğlu'nun çalışmasına benzer şekilde uygulamalarımız flep yaşayışına anlamlı katkı sağlasa da vasküler yoğunluğun istatistiksel anlamlı olmadığını ortaya koydu.

Flep canlılığına yönelik uygulanan bir metot veya ajanın anjiyogenetik etkileri araştırılacaksa biyopsilerin cerrahi işlem öncesinde kaldırılması planlanan flebin komşuluğunda bulunan bir uygulama alanından alınmasının daha sağlıklı sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz. Bu sayede uygulamanın yapıldığı bölgede iskemik koşullar oluşmadan sadece uygulanan metodun etkileri gözlenebilecektir. Bu yaklaşımın sadece damar sayısı analizinde değil, uygulanan metodun etkinliğini göstermek amacıyla

araştırılan tüm parametreler için de aynı şekilde uygulanabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmada biyokimyasal parametre olan doku VEGF düzeyi için kontrol grubunda flep kaldırılırken örnek alınmıştır ve baz değer elde edilmiştir. Histopatolojik değişkenler için alınan biyopsinin nekroz oturduktan sonra alınması, uygulamaların önkoşullama etkisinin akut etkilerini değerlendirilmesinde kısıtlamalara neden olmuştur. Bu durum çalışmamızın limitasyonlarından biridir. Çalışmada biz sadece nekroz oturunca geçiş zonundan aldığımız histopatolojik örneklerle, önkoşullama yapılmış fleplerin bu koşullama sonucu yaşayabilirliklerini değerlendirip biyopsi alarak bunlar arasında ki bağlantıyı kurmaya çalıştık. Böylece uygulamalarımızın akut etkisini değil flepteki bütün etkisinin makroskopik görünümünden emin olduktan sonra histopatolojik değerlerini sağladık. Daha anlamlı ve karşılaştırmanın daha objektif olabileceği değerlendirmeleri ise biyopsilerin son ön koşullama işleminin bitişinin hemen ardına flep kaldırılırken alınması gerektiğini, kontrol grubunda ise bu bakılan histopatolojik verilerin baz değerini bulmak adına flep ilk kaldırılırken uzatılmış bir flebin en distalinden örnek alınması gerektiğini düşünmekteyiz. Böylece flep yaşayabilirliğinde etkili olabileceği düşünülen yöntemlerin ön koşullama sonrası flep oluşturulacak bölgede ya da geciktirilmiş flepteki etkilerinin ön koşullamanın hemen ardına nasıl olduğunu, kaldırılacak flebe etkilerinin nasıl olabileceği daha yüksek doğrulukla değerlendirilebilir. Daha sonraki çalışmalarda uygulamaların akut etkilerinin araştırılması gerekebileceğini düşünüyoruz.

Çalışmada histopatolojik incelemelerde fibrosit-fibroblast hücrelerinin skorlanması değerlendirilmesinde gruplar arasında anlamlı fark olmadı ($p=0,053$). Yine de cerrahi geciktirme ve TENS gruplarında sırasıyla 5 ve 6 denekte fibroblast yoğunluğu (skor=1, 2) görülmesi Bourguignon ve ark. nın, Kanno ve ark. nın, Kjartansson ve ark. nın çalışmaları ile uyumludur (28, 29, 37). US grubundaki 9 denekte hiç fibroblastik yoğunluk izlenmemesi (skor=0) ve US+TENS grubunun 6 deneğinde fibroblastik yoğunluk izlenmemesi (skor=0) US'nin, TENS in fibrositleri artıran potansiyel etkilerinin de sönümlendiği ancak US'nin literatürdeki çalışmaları(40, 44, 47) gibi fibroblast artışı sağlamaksızın var olan fibrositlerin etkinliğini artırarak proliferatif faza, iyileşmeye etkili olduğunu düşündürmüştür. İyileşen flep insizyonlarının çalışmamızda komplikasyon olmamasına bunun da flep yaşamını artırdığına etkili olduğunu düşünüyoruz.

Polimorf nüveli lökosit yoğunluğunun skorlandığı histopatolojik verimizde yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Yine nekrotik doku odaklarının skorlandığı verimizde de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. US ve TENS in antioksidan, iskemi reperfüzyon hasarını azaltan, süperoksit radikallerini azaltan etkilerini ortaya koyan literatürdeki Im ve ark. nın (26), Dolan ve ark. nın (25), Dyson ve ark. nın (40) ile Young ve ark. nın (44, 47, 48) çalışmaları mevcuttur. US ve TENS in bu özellikleri ile de flepte yaşayabilirliği artırdığını düşünmekteyiz. Histopatolojik değerlendirme sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız çıkması kantitatif analiz yerine semi-kantitatif skorlama şeklinde yapılması olabilir. Bu durum da çalışmamızın limitasyonlarından biridir.

Çalışmamızın nihai amacı olan flep yaşayışlarını değerlendirmek amacıyla flep nekroz oranlarına baktık. Cerrahi geciktirmeye alternatif olarak uyguladığımız US, TENS ve US+TENS yöntemlerinin her biri kontrol grubuna göre flep yaşayışındaki artışla istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. Ancak bu üç metodun hiç birisi flep canlılığı bakımından cerrahi geciktirme kadar başarılı olamamıştır.

Hipotezimizi oluştururken bize rehber çalışmalardan olan, TENS in ön koşullamada ve iskemik flepte kullanıldığı bir çalışmada; Doğan ve Özyazgan, elektrik stimülasyonunun flep kaldırılmadan önce uygulanmasının cerrahi geciktirmeden daha yüksek oranda flep yaşayışı olduğunu ve metodun cerrahi geciktirmeye alternatif olabileceğini öne sürmüşlerdir (21). Elektrik stimülasyonunun uygulanan alanda kan akımını artırdığını, mikrovasküler yapıları artırdığını, flep yaşayabilirliğini artırmak için flep kaldırılmadan önce uygulanabileceğini raporlamışlardır. Biz de çalışmamızda elektrik stimülasyonunun benzer etkilerini gözlemleyerek cerrahi geciktirmeden daha etkin olmasa da flep yaşamı üzerine olumlu etkilerini raporladık. Bunun nedeninin işlemler benzer tekniklerle yapılırsa da benzer standartizasyonların sağlanamamasından olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmada kranial bazlı fleple çalışılırken bizim çalışmamızda flep modeli kaudal bazlıydı. Elektrik stimülasyonunun galvanik etkileri vücut total elektrik aksından etkileneceğinden ve bu aksın bir sabit doğrusu olması TENS çalışmalarında bunlarında göz önünde bulundurulması gerektiğini düşündürmektedir. Görgülü(154) çalışmasında Mc farlane olarak tanımlanan birçok rat deri sırt random flebinin bir standartının olmadığını birçok çalışmada kaudal veya kranial bazlı flep çalışmasında flep nekroz oranlarının değişik çıkmasına dikkat

çekmiştir. Deneysel çalışmalar için ortak bir konsensus oluşması fikri tarafımızca da desteklenmektedir.

Doğan ve Özyazgan'ın, flep angiyogenezisini doku mikroanjiyografisiyle kan akımını ise lazer Doppler flowmetre ile değerlendirmişlerdir. Doku mikroanjiyografisi tekniğe hassas bir değerlendirme yöntemi olduğu için bizim çalışma tasarımıımızda bu değerlendirme yöntemi kullanılamamıştır. Ayrıca lazer Doppler flowmetre ile kan akımının ölçülmesi Doğan ve Özyazgan'ın, çalışmasında da bahsedildiği üzere standardize edilmesi güç bir metot olduğu için çalışmamızda bu değerlendirme yöntemi de kullanılmamıştır. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapılmıştır.

Rehber çalışmalarımızdan bir diğeri olan US'nin ön koşullamada ve iskemik flepte kullanıldığı çalışmada Yücel ve ark. nın, US'nin flep yaşayabilirliği üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında; flep yaşabilirliğini doku mikroanjiyografisiyle, doku VEGF düzeyleri ölçerek ve histopatolojik değerlendirmelerle incelemişlerdir (22). Bu çalışmada hem pre-op hem de post-op US uygulamasının flep canlılığını, cerrahi geciktirmeye alternatif olabilecek düzeyde artırabileceği sonucuna varılmıştır. US'nin uygulandığı alanda mikrovasküler yapıları artırdığı, US ile ön koşullamanın nekroz oranlarını azalttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde flep ön koşullamada cerrahi geciktirmeye yakın flep yaşam oranları, artmış VEGF düzeyleri ve azalmış nekroz oranları görülmüştür. Her iki çalışmadaki histopatolojik verilerin istatistiksel olarak anlamsız bulunması histopatolojik değerlendirme metodunun geliştirilmesi ile daha sonra yapılacak çalışmalarda incelenebilir.

Bizim çalışmamızda; TENS ve US nin flep önkoşullamada kullanılmasının nedeni, yukarıda bahsedilen her iki çalışmada da benzer şekilde bu metotların ön koşullamada uygulanmasının flep yaşayabilirliğine yeterli olumlu etki sağladığı ve US uygulamasında cerrahi geciktirmeye yakın sonuçlar verirken TENS uygulamasının cerrahi geciktirmeye alternatif olabilecek düzeyde flep yaşamında olumlu katkı sağlanmasının bildirilmesiydi. Her iki alternatif metodu kombinleyerek uygulama fikri ve böylece flep yaşayabilirliğinin cerrahi geciktirmeye alternatif olabileceği düşüncesi ile çalışma yapıldı.

Çalışmamızda TENS ve US uygulamasının kombine veya ayrı şekilde uygulanmasının flep canlılığı üzerinde alternatif metodlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkı olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak bu alternatif metodların tek başına veya birbiri içindeki kombinasyonunun geciktirme yöntemi olarak hiçbir uygulama yapılmamasından ise anlamlı derecede flep yaşayışına olumlu anlamlı etkisi olmuştur. Bu sonuç alternatif metotların klinik kullanım için non-invazif, kolay uygulanabilir ve morbit olmaması nedeniyle umut vadettiğini ortaya koymuştur. Flep canlılığı için bilinen en etkin yöntem olan cerrahi geciktirme halen alternatif metotlardan daha başarılıdır.



6. SONUÇLAR

- Flep kaldırılacak bölgeye flep kaldırılmadan önce US, TENS ve US+TENS ile ön koşullama yapılması nekroz oranlarını azaltmıştır. Ancak alternatif metotlar, cerrahi ön koşullama kadar başarılı olamamıştır.
- Fleplerdeki nekroz oranları; US, TENS ve US+TENS ile ön koşullama yapılmasına bağlı olarak değişkenlik göstermemektedir.
- US ve US+TENS ile ön koşullama uygulamasına bağlı olarak doku VEGF düzeyi artmaktadır. İstatiksel anlamlı artış olmasa da TENS ve Cerrahi geciktirme uygulamalarında da VEGF düzeyi artmaktadır. Bu artış US, TENS, US+TENS gruplarında cerrahi geciktirme grubundan daha fazladır.
- TENS ve US+TENS uygulamaları flep ön koşullamada vasküler yoğunluğu arttırmaktadır.
- US, TENS ve US+TENS ile ön koşullama uygulamaları; flep canlılığını arttırmak amacıyla yardımcı bir yöntem olarak flep kaldırılmadan önce uygulanabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Banic A, Boeckx W, Greulich M, et al. Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study. *J Plastic reconstructive surgery*. 1995;95:1195-204; discussion 205.
2. Geddes CR, Morris SF, Neligan PC. Perforator flaps: evolution, classification, and applications. *J Annals of plastic surgery*. 2003;50:90-9.
3. Watterson PA, Bostwick 3rd J, Hester Jr TR, Bried JT, Taylor GI. TRAM flap anatomy correlated with a 10-year clinical experience with 556 patients. *J Plastic reconstructive surgery*. 1995;95:1185-94.
4. Schusterman MA, Kroll SS, Weber RS, Byers RM, Guillamondegui O, Goepfert H. Intraoral soft tissue reconstruction after cancer ablation: a comparison of the pectoralis major flap and the free radial forearm flap. *J The American journal of surgery*. 1991;162:397-9.
5. Schusterman MA, Kroll SS, Weldon ME. Immediate breast reconstruction: why the free TRAM over the conventional TRAM flap? *J Plastic reconstructive surgery*. 1992;90:255-61; discussion 62.
6. Daniel RK KC. Principles and physiology of skin flap Surgery. In: Mc Carthy JG MJ, Littler JW editor. Philadelphia WB Saunders Company 1990. 275 p.
7. Emerson D, Sykes P. The effect of prostacyclin on experimental random pattern flaps in the rat. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1981;34:264-6.
8. Nieto CS, García MJS, García PB. A comparative study on the effect of various pharmacological agents on the survival of skin flaps in the rat. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1992;45:113-6.
9. Qi Z, Gu Y, Kim D, Hiura A, Sumi S, Inoue K. The effect of fibrin on the survival of ischemic skin flaps in rats. *J Plastic reconstructive surgery*. 2007;120:1148-55.
10. Lineaweaver WC, Lei M-P, Mustain W, Oswald TM, Cui D, Zhang F. Vascular endothelium growth factor, surgical delay, and skin flap survival. *J Annals of surgery*. 2004;239:866.
11. Goossens DP, Rao VK, Harms BA, Starling JR. Superoxide dismutase and catalase in skin flaps during venous occlusion and reperfusion. *J Annals of plastic surgery*. 1990;25:21-5.

12. Hashimoto I, Nakanishi H, Shono Y, Yamano M, Toda M. The features of thrombus in a microvessel injury model and the antithrombotic efficacy of heparin, urokinase, and prostaglandin E1. *J Plastic reconstructive surgery*. 2003;111:2307-14.
13. Akan M, Çakır B, Mısırlıoğlu A, Yildirim S, Taylan G, Aköz T. Effects of clopidogrel and high dose aspirin on survival of skin flaps in rats. *J Scandinavian journal of plastic reconstructive surgery hand surgery*. 2005;39:7-10.
14. Saray A, Ozakpinar R, Koc C, Serel S, Sen Z, Can Z. Effect of Chronic and Short-Term Erythropoietin Treatment on Random Flap Survival in Rats: An Experimental Study. *J The Laryngoscope*. 2003;113:85-9.
15. Hong JP, Kwon H, Chung YK, Jung SH. The effect of hyperbaric oxygen on ischemia–reperfusion injury: an experimental study in a rat musculocutaneous flap. *J Annals of plastic surgery*. 2003;51:478-87.
16. Kara IG, Kara CO, Özden A, Öçsel H. The effect of trimetazidine on the survival of rat island skin flaps subjected to ischemia-reperfusion injury. *J Annals of plastic surgery*. 2001;47:168-71.
17. Hosnuter M, Babuçcu O, Kargi E, Altinyazar C. Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. *J Annals of plastic surgery*. 2003;50:398-402.
18. Uysal OA. The effect of progesterone hormone on the viability of flaps. *J European Journal of Plastic Surgery*. 1991;14:192-6.
19. Khiabani KT, Stephenson LL, Gabriel A, Nataraj C, Wang WZ, Zamboni WA. A quantitative method for determining polarization of neutrophil adhesion molecules associated with ischemia reperfusion. *J Plastic reconstructive surgery*. 2004;114:1846-50.
20. Türegün M, Güdemez E, Newman P, Zins J, Siemionow M. Blockade of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) protects against ischemia-reperfusion injury in muscle flaps at microcirculatory level. *J Plastic reconstructive surgery*. 1999;104:1033-40.
21. Dogan F, Özyazgan IJAops. Flap preconditioning by electrical stimulation as an alternative to surgical delay: Experimental study. *Annals of Plastic Surgery*. 2015;75:560-4.

22. Yücel S, Günay GK, Ünverdi ÖF. Effects of Ultrasound-Assisted Preconditioning on Critically Ischemic Skin Flaps: An Experimental Study. *J Ultrasound in Medicine Biology*. 2020;46:660-6.
23. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG. An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical applications. *J Plastic reconstructive surgery*. 1992;89:408-16.
24. Restifo RJ, Ward BA, Scoutt LM, Brown JM, Taylor KJ. Timing, magnitude, and utility of surgical delay in the TRAM flap: II. Clinical studies. *J Plastic reconstructive surgery*. 1997;99:1217-23.
25. Dolan MG, Graves P, Nakazawa C, Delano T, Hutson A, Mendel FC. Effects of ibuprofen and high-voltage electric stimulation on acute edema formation after blunt trauma to limbs of rats. *Journal of Athletic Training*. 2005;40:111.
26. Im MJ, Lee WA, Hoopes JE. Effect of electrical stimulation on survival of skin flaps in pigs. *J Physical therapy*. 1990;70:37-40.
27. Skorjanc D, Jaschinski F, Heine G, Pette D. Sequential increases in capillarization and mitochondrial enzymes in low-frequency-stimulated rabbit muscle. *J American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1998;274:C810-C8.
28. Kjartansson J, Lundeberg T, Samuelson U, Dalsgaard CJ. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) increases survival of ischaemic musculocutaneous flaps. *J Acta physiologica scandinavica*. 1988;134:95-9.
29. Kanno S, Oda N, Abe M, et al. Establishment of a simple and practical procedure applicable to therapeutic angiogenesis. *J Circulation*. 1999;99:2682-7.
30. Kjartansson J, Lundeberg T. Effects of electrical nerve stimulation (ENS) in ischemic tissue. *Scandinavian journal of plastic reconstructive surgery hand surgery*. 1990;24:129-34.
31. Liebano RE, Ablá LEF, Ferreira LM. Effect of high frequency transcutaneous electrical nerve stimulation on viability of random skin flap in rats. *J Acta Cirurgica Brasileira*. 2006;21:133-8.
32. Atalay C, Koçkaya EA, Çetin B, Kismet K, Akay MT. Efficacy of topical nitroglycerin and transcutaneous electrical nerve stimulation on survival of random-pattern skin flaps in rats. *J Scandinavian journal of plastic reconstructive surgery hand surgery*. 2003;37:10-3.

33. Lundeberg T, Kjartansson J, Samuelsson U. Effect of electrical nerve stimulation on healing of ischaemic skin flaps. *J The Lancet*. 1988;332:712-4.
34. Taskan I, Özyazgan I, Tercan M, et al. A comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on wound healing in rats. *J Plastic reconstructive surgery*. 1997;100:966-72.
35. Zorlu Ü, Tercan M, Özyazgan I, et al. Comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on bone healing in rats1. *J American journal of physical medicine rehabilitation*. 1998;77:427-32.
36. Nagasaka M, Kohzuki M, Fujii T, et al. Effect Of Low-Voltage Electrical Stimulation On Angiogenic Growth Factors In Ischaemic Rat Skeletal Muscle. *J Clinical experimental pharmacology physiology*. 2006;33:623-7.
37. Bourguignon GJ, Bourguignon LY. Electric stimulation of protein and DNA synthesis in human fibroblasts. *J The FASEB Journal*. 1987;1:398-402.
38. Wolcott L, Wheeler P, Hardwicke H, Rowley B. Accelerated healing of skin ulcers by electrotherapy: preliminary clinical results. *J Southern medical journal*. 1969;62:795-801.
39. Rowley BA. Electrical current effects on E. coil growth rates. *J Proceedings of the Society for Experimental Biology Medicine & Health*. 1972;139:929-34.
40. Dyson M. Mechanics involved in therapeutic ultrasound. *J Phisiotherapy*. 1987;73:116-20.
41. Roustaei N, Lari SJM, Chalian M, Chalian H, Bakhshandeh H. Safety of ultrasound-assisted liposuction: a survey of 660 operations. *J Aesthetic plastic surgery*. 2009;33:213-8.
42. Ebenbichler G. Evidence-based medicine and therapeutic ultrasound of the musculoskeletal system. *J Zeitschrift fur Rheumatologie*. 2009;68:543-8.
43. Doan N, Reher P, Meghji S, Harris M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J Journal of oral maxillofacial surgery*. 1999;57:409-19.
44. Young S, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *J Ultrasound in medicine biology & Philosophy*. 1990;16:261-9.

45. Dinno M, Dyson M, Young S, Mortimer A, Hart J, Crum L. The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *J Physics in Medicine Biology & Philosophy*. 1989;34:1543.
46. Mortimer A, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. *J Ultrasound in medicine biology & Philosophy*. 1988;14:499-506.
47. Young S, Dyson M. Effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions. *J Ultrasonics*. 1990;28:175-80.
48. Young SR, Dyson M. Macrophage responsiveness to therapeutic ultrasound. *J Ultrasound in medicine biology & Philosophy*. 1990;16:809-16.
49. Noble JG, Lee V, Griffith-Noble F. Therapeutic ultrasound: the effects upon cutaneous blood flow in humans. *J Ultrasound in medicine biology & Philosophy*. 2007;33:279-85.
50. Fabrizio PA, Schmidt JA, Clemente FR, Lankiewicz LA, Levine ZA. Acute effects of therapeutic ultrasound delivered at varying parameters on the blood flow velocity in a muscular distribution artery. *J Journal of Orthopaedic Sports Physical Therapy*. 1996;24:294-302.
51. Robinson SE, Buono MJ. Effect of continuous-wave ultrasound on blood flow in skeletal muscle. *J Physical therapy*. 1995;75:145-9.
52. Converse MJ. Introduction to plastic surgery. In: *Reconstructive Plastic Surgery*. Converse MJ, editor. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1977. 3-69 p.
53. McGregor IA, Morgan G. Axial and random pattern flaps. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1973;26:202-13.
54. Orticochea M. The musculo-cutaneous flap method: an immediate and heroic substitute for the method of delay. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1972;25:106-10.
55. McCRAW JB, Dibbell DG, Carraway JH. Clinical definition of independent myocutaneous vascular territories. *J Plastic reconstructive surgery*. 1977;60:341-52.
56. Ponten B. The fasciocutaneous flap: its use in soft tissue defects of the lower leg. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1981;34:215-20.
57. Koshima I, Soeda S. Inferior epigastric artery skin flaps without rectus abdominis muscle. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1989;42:645-8.

58. Achauer B M EE. Flap physiology. Plastic Surgery (Indication, Operation, and Outcomes). : Mosby, Inc; 2000. 264-72 p.
59. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. J Plastic reconstructive surgery. 1983;72:766-77.
60. Myers M. Wound Tension And Vascularity In The Etiology And Prevention Of Skin Sloughs. J Surgery. 1964;56:945.
61. Myers M. Investigation of skin flap necrosis. J Skin flaps. 1975:3-10.
62. Wu G, Calamel PM, Shedd DP. The hazards of injecting local anesthetic solutions with epinephrine into flaps: experimental study. J Plastic reconstructive surgery. 1978;62:396-403.
63. Patterson SJT, Berry, J.W., Wiernic, G. The effect of radiation on the survival of experimental skin flaps. In: Skin Flaps. . Boston: Little Brown Comp.; 1975. P: 39-47 p.
64. Tsuchida, Y., Tsuya, A.: Measurement of skin blood flow in delayed deltopectoral flaps, using local clearance of ¹³³Xe., 1978, 62: 763. J Plastic reconstructive surgery.
65. Myers MB, Cherry G. Augmentation of tissue survival by delay: an experimental study in rabbits. J Plastic reconstructive surgery. 1967;39:397-401.
66. Myers MB, Cherry G. Differences in the delay phenomenon in the rabbit, rat, and pig. J Plastic reconstructive surgery. 1971;47:73-8.
67. Cormack GC, Lamberty BG. The arterial anatomy of skin flaps: Churchill Livingstone; 1994.
68. Gillies HD. The Tubed Pedicle In Plastic Surgery. J The Lancet. 1920;196:320.
69. Milton SH. The effects of "delay" on the survival of experimental pedicled skin flaps. British Journal of Plastic Surgery. 1969;22:244-52.
70. Pearl RM. A unifying theory of the delay phenomenon--recovery from the hyperadrenergic state. J Annals of plastic surgery. 1981;7:102-12.
71. Taylor G, Palmer J. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. Journal of Plastic, Reconstructive Aesthetic Surgery 1987;40:113-41.
72. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. J Circulation research. 1990;66:913-31.

73. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *J Cardiovascular research*. 1996;32:743-51.
74. Chen S, Li G, Long L. Clinical research of ischemic preconditioning on lung protection. *Bulletin of Hunan Medical University*. 1999;24:357-9.
75. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *J Hepatology*. 1999;30:1223-31.
76. Murphy RC, Lawrence WT, Robson MC, Heggors JP. Surgical delay and arachidonic acid metabolites: evidence for an inflammatory mechanism: an experimental study in rats. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1985;38:272-7.
77. Carroll SM, Carroll CM, Stremel RW, et al. Vascular delay and administration of basic fibroblast growth factor augment latissimus dorsi muscle flap perfusion and function. *J Plastic reconstructive surgery*. 2000;105:964-71.
78. Park S, Tepper OM, Galiano RD, et al. Selective recruitment of endothelial progenitor cells to ischemic tissues with increased neovascularization. *J Plastic reconstructive surgery*. 2004;113:284-93.
79. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *J Circulation*. 1986;74:1124-36.
80. Glazier SS, O'Rourke DM, Graham DI, Welsh FA. Induction of ischemic tolerance following brief focal ischemia in rat brain. *J Journal of Cerebral Blood FlowMetabolism*. 1994;14:545-53.
81. He W, Zhang J, Zhong A. [Acute ischemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig]. *Chinese journal of plastic surgery and burns*. 1999;15:348-50.
82. Peralta C, Closa D, Hotter G, Gelpi E, Prats N, Rosello-Catafau J. Liver ischemic preconditioning is mediated by the inhibitory action of nitric oxide on endothelin. *J Biochemical biophysical research communications*. 1996;229:264-70.
83. Turman MA, Bates CM. Susceptibility of human proximal tubular cells to hypoxia: effect of hypoxic preconditioning and comparison to glomerular cells. *J Renal failure*. 1997;19:47-60.

84. Hotter G, Closa D, Prados M, et al. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochemical biophysical research communications*. 1996;222:27-32.
85. Du ZY, Hicks M, Winlaw D, Spratt P, Macdonald P. Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat. *The Journal of heart lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. 1996;15:1258-67.
86. Mounsey R, Pang C, Boyd J, Forrest C. Augmentation of skeletal muscle survival in the latissimus dorsi porcine model using acute ischemic preconditioning. *J The Journal of otolaryngology*. 1992;21:315.
87. Wang WZ, Anderson G, Firrell JC, Tsai T-M. Ischemic preconditioning versus intermittent reperfusion to improve blood flow to a vascular isolated skeletal muscle flap of rats. *J Journal of Trauma Acute Care Surgery*. 1998;45:953-9.
88. Zhang F, Oswald T, Holt J, Gerzenshtein J, Lei M-P, Lineaweaver WC. Regulation of inducible nitric oxide synthase in ischemic preconditioning of muscle flap in a rat model. *J Annals of plastic surgery*. 2004;52:609-13.
89. Kinnunen I, Laurikainen E, Schrey A, Laippala P, Aitasalo K. Effect of acute ischemic preconditioning on blood-flow response in the epigastric pedicled rat flap. *J Journal of reconstructive microsurgery*. 2002;18:061-8.
90. Clark JE, Foresti R, Sarathchandra P, Kaur H, Green CJ, Motterlini R. Heme oxygenase-1-derived bilirubin ameliorates postischemic myocardial dysfunction. *J American Journal of Physiology-Heart Circulatory Physiology*. 2000;278:H643-H51.
91. Parfenova H, Carratu P, Tcheranova D, Fedinec A, Pourcyrus M, Leffler CW. Epileptic seizures cause extended postictal cerebral vascular dysfunction that is prevented by HO-1 overexpression. *J American Journal of Physiology-Heart Circulatory Physiology*. 2005;288:H2843-H50.
92. Yang ZF, Tsui TY, Ho DW, Tang TC, Fan ST. Heme oxygenase-1 potentiates the survival of small-for-size liver graft. *J Liver transplantation*. 2004;10:784-93.
93. Martins P, Reuzel-Selke A, Jurisch A, et al., editors. Induction of carbon monoxide in the donor reduces graft immunogenicity and chronic graft deterioration. *Transplantation Proceedings*; 2005: Elsevier.

94. Ghavami A, Nutt MP, Hardy SP. Heat shock protein and high-dose aspirin: effects on random skin flap survival in a rat model. *J Annals of plastic surgery*. 2002;48:60-7.
95. Harder Y, Contaldo C, Klenk J, Banic A, Jakob S, Erni D. Improved skin flap survival after local heat preconditioning in pigs¹. *J Journal of Surgical Research*. 2004;119:100-5.
96. Kubulus D, Amon M, Roesken F, Rücker M, Bauer I, Menger M. Experimental cooling-induced preconditioning attenuates skin flap failure. *J British journal of surgery*. 2005;92:1432-8.
97. Miyawaki T, Jackson IT, Elmazar H, et al. The effect of low-molecular-weight heparin in the survival of a rabbit congested skin flap. *J Plastic reconstructive surgery*. 2002;109:1994-9.
98. Stein H, Fayman M, Oosthuizen M, Hinder R. Verapamil improves survival of rat hyperemic island skin flaps. *J Surgery*. 1989;106:617-23.
99. Finseth F, Zimmermann J. Prevention of necrosis in island myocutaneous flaps in the pig by treatment with isoxsuprine. *J Plastic reconstructive surgery*. 1979;64:536-9.
100. Küntscher MV, Juran S, Menke H, Erdmann D, Germann G, Gebhard MM. The role of pre-ischaemic application of the nitric oxide donor spermine/nitric oxide complex in enhancing flap survival in a rat model. *J British Journal of Plastic Surgery*. 2002;55:430-3.
101. Frick A, Baumeister R, Menger M, Vollmar B, Wohllaib U, Wiebecke B. Secondary ischaemia in experimental free flaps—treatment by long acting prostacyclin analogues. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1999;52:392-8.
102. Armstrong Jr M, Kunar Jr DR, Cummings Jr CW. Third Place—Resident Clinical Science Award 1993: Effect of Pentoxifylline on Myocutaneous Flap Viability in Pigs. *J Otolaryngology—Head Neck Surgery*. 1993;109:668-75.
103. Gribbe O, Lundeberg T, Samuelson UE, Wiklund NP. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. *J Annals of plastic surgery*. 1999;42:180-4.
104. Jansen GB, Törkvist L, Löfgren O, Raud J, Lundeberg T. Effects of calcitonin gene-related peptide on tissue survival, blood flow and neutrophil recruitment in experimental skin flaps. *J British Journal of Plastic Surgery*. 1999;52:299-303.

105. Höckel M, Burke JF. Angiotropin treatment prevents flap necrosis and enhances dermal regeneration in rabbits. *J Archives of Surgery*. 1989;124:693-8.
106. Uhl E, Barker JH, Bondàr I, Galla TJ, Lehr H-A, Messmer K. Improvement of skin flap perfusion by subdermal injection of recombinant human basic fibroblast growth factor. *J Annals of plastic surgery*. 1994;32:361-5; discussion 5.
107. Kryger Z, Zhang F, Lineaweaver WC, Dogan T, Cheng C, Buncke HJ. The effects of VEGF on survival of a random flap in the rat: examination of various routes of administration. *J British Journal of Plastic Surgery*. 2000;53:234-9.
108. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, Petras S, Browne E. Improved perfusion after subcritical ischemia in muscle flaps treated with vascular endothelial growth factor. *J Plasticreconstructive surgery*. 2000;106:1541-6.
109. Padubidri A, Browne Jr E. Effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) on survival of random extension of axial pattern skin flaps in the rat. *J Annals of plastic surgery*. 1996;37:604-11.
110. Jansen G, Lundeberg T, Kjartansson J, Samuelson U. Acupuncture and sensory neuropeptides increase cutaneous blood flow in rats. *Neuroscience letters*. 1989;97:305-9.
111. Jansen G, Lundeberg T, Samuelson U, Thomas M. Increased survival of ischaemic musculocutaneous flaps in rats after acupuncture. *Acta physiologica scandinavica*. 1989;135:555-8.
112. Lima LP, de Oliveira Albuquerque A, de Lima Silva JJ, das Chagas Medeiros F, de Vasconcelos PRL, Guimarães SB. Electroacupuncture attenuates oxidative stress in random skin flaps in rats. *Aesthetic plastic surgery*. 2012;36:1230-5.
113. Niina Y, Ikeda K, Iwa M, Sakita M. Effects of electroacupuncture and transcutaneous electrical nerve stimulation on survival of musculocutaneous flap in rats. *The American journal of Chinese medicine*. 1997;25:273-80.
114. Wang L-R, Cai L-Y, Lin D-S, Cao B, Li Z-J. Effect of electroacupuncture at the zusanli point (stomach-36) on dorsal random pattern skin flap survival in a rat model. *Dermatologic Surgery*. 2017;43:1213-20.
115. Bossini PS, Fangel R, Habenschus RM, et al. Low-level laser therapy (670 nm) on viability of random skin flap in rats. *Lasers in medical science*. 2009;24:209-13.

116. Cury V, Moretti AIS, Assis L, et al. Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF, HIF-1 α and MMP-2. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2013;125:164-70.
117. Prado RP, Liebano RE, Hochman B, Pinfildi CE, Ferreira LM. Experimental model for low level laser therapy on ischemic random skin flap in rats. *Acta cirurgica brasileira*. 2006;21:258-62.
118. Macionis V. Clamp delay: An effective new method of nonsurgical delay. *Plastic and reconstructive surgery*. 2000;106:1321-5.
119. Haktanır NT, Yılmaz G, Bozkurt MF, Demir Y. Effects of insulin-like growth factor-1 on random pattern skin flap survival in rats. *Acta cirurgica brasileira*. 2016;31:513-9.
120. Kim TK, Oh EJ, Chung JY, Park JW, Cho BC, Chung HY. The effects of botulinum toxin A on the survival of a random cutaneous flap. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery*. 2009;62:906-13.
121. Temiz G, Yeşiloğlu N, Şirinoğlu H, et al. Increasing the survival of transverse rectus abdominis musculocutaneous flaps with a Botulinum toxin-A injection: A comparison of surgical and chemical flap delay methods. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery*. 2016;69:944-51.
122. Yildirim AM, Okur I, Örtör Z, Uysal A. Nonsurgical delay of dorsal rat cutaneous flap using botulinum toxin type A. *Plastic and reconstructive surgery*. 2008;122:53e-4e.
123. Newman PG, Rozycki GS. The history of ultrasound. *J Surgical clinics of north America*. 1998;78:179-95.
124. Aldrich JE. Basic physics of ultrasound imaging. *J Critical care medicine*. 2007;35:S131-S7.
125. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *J Physical therapy*. 2001;81:1351-8.
126. Kloth LC. Electrical stimulation for wound healing: a review of evidence from in vitro studies, animal experiments, and clinical trials. *J The international journal of lower extremity wounds*. 2005;4:23-44.

127. Barker A, Jaffe L, Venable Jr J. The glabrous epidermis of cavies contains a powerful battery. *J American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative Comparative Physiology*. 1982;242:R358-R66.
128. Dineur E. Note sur la sensibilite des leucocytes a l'electricite. *J Bull Seances Soc Belge Microsc*. 1891;18:113-8.
129. Eberhardt A, Szczypiorski P, Korytowski G. Effect of transcutaneous electrostimulation on the cell composition of skin exudate. *Acta Physiol Pol*. 1986;37:41-6.
130. Fang KS, Ionides E, Oster G, Nuccitelli R, Isseroff RR. Epidermal growth factor receptor relocalization and kinase activity are necessary for directional migration of keratinocytes in DC electric fields. *J Journal of cell science*. 1999;112:1967-78.
131. Chu C-S, McManus AT, Mason AD, Okerberg CV, Pruitt Jr BA. Multiple graft harvestings from deep partial-thickness scald wounds healed under the influence of weak direct current. *Army Inst Of Surgical Research Fort SamHouston Tx*, 1990.
132. J. L. Therapeutic US. Read A(eds). . 3th ed ed. J L, editor. Plymouth: Latimer Trend and Company Ltd; 2000. 172-212 p.
133. McFarlane R, DeYoung G, Henry R, McFarlane R. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *J Plastic reconstructive surgery*. 1965;35:177-82.
134. Gottlieb LJ, Krieger LM. From the reconstructive ladder to the reconstructive elevator. *LWW*; 1994.
135. Pang CY, Forrest CR, Neligan PC, Lindsay WK. Augmentation of blood flow in delayed random skin flaps in the pig: effect of length of delay period and angiogenesis. *Plastic and reconstructive surgery*. 1986;78:68-74.
136. Sasaki GH, Pang CY. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flaps in rats. *Plastic and reconstructive surgery*. 1980;65:152-8.
137. Kemaloğlu CA, Özyazgan İ, Ünverdi ÖF. A decision-making guide for the closure of myelomeningocele skin defects with or without primary repair. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*. 2016;18:187-91.
138. Özyazgan İ, İdacı O, Konaş O. An Attempt to Keep Flaps Alive with Artificial Perfusion in Rabbits. *Erciyes Medical Journal/Erciyes Tıp Dergisi*. 2016;38.

139. Özyazgan İ, Saraymen R. Rat İskemik Deri Fleplerinde Defibrotide (Cas 83712-60-1)'in Doku Nitrik Oksit ve Flep Yaşamına Etkisi. *Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi (Turk J Plast Surg)*. 2003;11:57-62.
140. Özyazgan I, Tuncer A, Yazıcı C, Günay GK. Reactive oxygen species in experimental ischemic flow-through venous flaps and effects of antioxidants on reactive oxygen species and flap survival. *Ann Plast Surg*. 2007;58:661-6.
141. Zacchigna S, Papa G, Antonini A, et al. Improved survival of ischemic cutaneous and musculocutaneous flaps after vascular endothelial growth factor gene transfer using adeno-associated virus vectors. *Am J Pathol*. 2005;167:981-91.
142. O'Toole G, MacKenzie D, Marucci D, et al. Vascular endothelial growth factor gene therapy in ischaemic rat skin flaps. *J British Journal of Plastic Surgery*. 2002;55:55-8.
143. Özyazgan İ, "Rat iskemik deri fleplerinde Defibrotide'in doku nitrik oksit ve flep yaşamına etkisi," *Türk Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi* , 2003, vol.11, pp.57-62
144. Dhar SC, Taylor GI. The delay phenomenon: the story unfolds. *J Plastic reconstructive surgery*. 1999;104:2079-91.
145. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is a surgical delay effective? An experimental study. *J Plastic reconstructive surgery*. 1995;95:526-33.
146. Mathes SJ. *Mathes Plastic Surgery*: Saunders; 2006. 365-482 p.
147. Kjartansson J, Lundberg T, Körlof B. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in ischemic tissue. *J Plastic reconstructive surgery*. 1988;81:813.
148. Patterson C, Runge MS. Therapeutic angiogenesis: the new electrophysiology?: *Am Heart Assoc*; 1999. 2614-6 p.
149. Bai H, McCaig CD, Forrester JV, Zhao M. DC electric fields induce distinct preangiogenic responses in microvascular and macrovascular cells. *J Arteriosclerosis, thrombosis, vascular biology*. 2004;24:1234-9.
150. Emsen IM. The effect of ultrasound on flap survival: An experimental study in rats. *J Burns*. 2007;33:369-71.

151. Holzbach T, Neshkova I, Vlaskou D, et al. Searching for the right timing of surgical delay: angiogenesis, vascular endothelial growth factor and perfusion changes in a skin-flap model. J Journal of plastic, reconstructive aesthetic Surgery. 2009;62:1534-42.
152. Tacani PM, Liebano RE, Pinfildi CE, Gomes HC, Arias VE, Ferreira LM. Mechanical stimulation improves survival in random-pattern skin flaps in rats. J Ultrasound in medicine biology & Philosophy. 2010;36:2048-56.
153. Gurunluoglu R, Meirer R, Shafighi M, et al. Gene therapy with adenovirus-mediated VEGF enhances skin flap prefabrication. J Microsurgery. 2005;25:433-41.
154. Görgülü T. Ratlardaki sırt cilt flebi çalışmalarında uygun pedikül seçimi. J Şişli Etfal Tıp Bülteni.50:93-6.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Osman Serdar BERK'e ait "RATLARDA Mc. FARLANE FLEP MODELİNDE
TRANSKUTANÖZ ELEKTRİK SINIR STİMÜLASYONU VE ULTRASON
UYGULANARAK ÖN KOŞULLAMANIN FLEP YAŞAMI ÜZERİNE ETKİLERİ"
adlı çalışma jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim
Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:28./12/2020

Başkan : Prof. Dr. İrfan Özyazgan

Üye : Doç. Dr. C. Alper Kemaloglu

Üye : Doç. Dr. Fatih Dagen